IMMUNOLOGY

fifth edition

IVAN ROITT

MA DSc (Oxon) Hon FRCP (Lond) FRCPath FRS

Emeritus Professor of Immunology
Director of Institute of Biomedical Science
University College London Medical School
London, UK

JONATHAN BROSTOFF

MA DM (Oxon) DSc FRCP (Lond) FRCPath

Professor of Allergy and Environmental Health
Centre for Allergy Research
Department of Immunology
University College London Medical School
London, UK

DAVID MALE

MA PhD

Senior Lecture in Neuroimmunology
Department of Neuroimmunology
Institute of Psychiatry
London, UK

Mosby

London Philadelphia St Louis Sydney Tokyo

А. РОЙТ, ДЖ. БРОСТОФФ, Д. МЕЙЛ

ИММУНОЛОГИЯ

Перевод с английского
д-ра мед. наук В.И. Кандрора, канд. мед. наук А.Н. Маца,
д-ра мед. наук Л.А. Певницкого и М.А. Серовой

Москва «Мир» 2000

УДК 57.083.3
ББК 28.073
Р65

Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д.
Р65 Иммунология. Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с., ил.
ISBN 5-03-003305-X

Авторитетное руководство по иммунологии для студентов медиков и биологов, многократно переиздававшееся в Великобритании. В сравнении с ранее выпущенной книгой того же автора (А. Ройт «Основы иммунологии», М. Мир, 1991) содержит много дополнительного материала, освещающего как вопросы теории иммунологии, так и ее клинические аспекты. Книга прекрасно иллюстрирована.

Для иммунологов, молекулярных биологов, студентов-медиков и врачей.

ББК 28.073

Федеральная программа книгоиздания России

Редакция литературы по биологии

Учебное издание

Айвен Ройт, Джонатан Бростофф, Дэвид Мейл

ИММУНОЛОГИЯ

Зав. редакцией канд. биол. наук М.Р. Погосбекова
Ведущий редактор О.Ю. Сенцова
Редактор Р.Ф. Куликова
Художник В.А. Медников
Технический редактор Л.П. Бирюкова
Корректор Р.Ф. Куликова
Оригинал-макет подготовлен О. Д. Эшлиман при участии
Б.Л. Будииаса, Н.Е. Кизиловой, Е.В. Кроминой, С.Н. Лаврентьевой и
В.В.Левтонова

Лицензия ЛР № 010174 от 20.05.97 г.

Подписано к печати 26.04.2000 г. Формат 84 × 108 $^{1}/_{16}$. Бумага офсетная.
Печать офсетная. Гарнитура NewtonC. Объем 18,50 бум. л. Усл. печ. л. 62,16.
Уч.-изд. л. 73,57. Изд. № 4/9666. Тираж 7000 экз. Зак. 877

Издательство «Мир» Министерства РФ по делам печати, телерадиовещания и
средств массовых коммуникаций

129820, Москва, И-110, 1-й Рижский пер., 2

Диапозитивы изготовлены в издательстве «Мир»

Отпечатано в полном соответствии
с качеством предоставленных диапозитивов
в ОАО «Можайский полиграфический комбинат»
143200, г. Можайск, ул. Мира, 93

ISBN 5-03-003305-X (рус.)
ISBN 0-7234-2918-9 (англ.)

© 1998 Mosby International Ltd
© перевод на русский язык,
«Мир», 2000

Предисловие

Пятое издание «Иммунологии» выходит в свет основательно дополненным, несмотря на то что предыдущее появилось всего лишь два года назад. Стремясь не отставать от развивающейся иммунологической науки, мы существенно переработали каждую из глав руководства и внесли в них новые сведения. Главы, посвященные клеточному и гуморальному иммунитету, переписаны заново с учетом современных представлений о Тх1/Тх2-вариантах иммунного ответа. Среди многочисленных дополнений – новые разделы о цитокинах, нормальных киллерных клетках и передаче сигналов активации внутри В- и Т-клеток.

Порядок изложения приведен в соответствие с современной программой преподавания иммунологии. Больше внимания уделено иммунологической недостаточности. Этой теме теперь отведены две главы: одна посвящена первичному, другая – вторичному иммунодефициту.

Существенно расширены и обновлены словарь терминов и приложения; таблица цитокинов увеличилась почти вдвое и уже включает интерлейкин-18.

Мы стремились сделать книгу максимально доступной для читательского восприятия. Каждая глава начинается с перечня основных положений и заканчивается вопросами, которые помогают усвоить прочитанное. Заголовки разделов внутри каждой главы выражают ключевую мысль данной части текста.

Хочется думать, что в этой книге нам удалось достичь главного, а именно четкого изложения основополагающих принципов клинической иммунологии в сочетании с данными гистологии, патоморфологии и описанием клинической картины. В английском издании этому же служит дополняющий книгу текст "Case Studies in Immunology"и новый компакт-диск (CD-ROM) "Immunology Interactive 2.0", помогающий студентам усваивать предмет при чтении основного текста.

Мы желаем нашим читателям успехов в изучении иммунологии – поистине увлекательном занятии.

А. Ройт
Дж. Бростофф
Д. Мейл

В редакторской деятельности мы опирались на помощь необычайно работоспособной издательской группы, в которую входили Д. Зак, Л. Кроу, П. Уайлдер, Л. Хоррел и К. Уотерз. Они трудились с неизменным вдохновением под умелым руководством Ф. Фоули.

Авторы отдельных глав

Frances R. Balkwill (гл. 10)
Biological Therapies Laboratory
Imperial Cancer Research Fund
London, UK

Ross St.C. Barnetson (гл. 26)
Department of Dermatology
University of Sydney
NSW 2050, Australia

Peter C.L. Beverley (гл. 20)
Edward Genner Institute for
Vaccine Research
Compton
Berkshire, UK

Janette E. Bradley (гл. 18)
Department of Biological Sciences
Salford University
Manchester, UK

Warwick J. Britton (гл. 26)
Department of Medicine
Royal Prince Alfred Hospital
Camperdown
NSW 2050, Australia

Jonathan Brostoff (гл. 23)
Department of Immunology
University College London Medical
School
London, UK

Ranjit K. Chandra (гл. 22)
Janeway Child Health Centre
St. John's, Newfoundland
Canada

Anne Cooke (гл. 13)
Immunology Division
Department of Pathology
University of Cambridge
Cambridge, UK

Marc Feldmann (гл. 11)
Kennedy Institute of Rheumatology
Hammersmith
London, UK

David Gawkrodger (гл. 26)
Department of Dermatology
University of Sheffield
Royal Hallamshire Hospital
Sheffield, UK

Carlo Enrico Grossi (гл. 2, 3, 12)
Department of Human Anatomy
University of Genoa and
National Institute for Cancer
Research
Genoa, Italy

Tony Hall (гл. 23)
Thallia Pharmaceuticals
69132 Lyon
Cedex, France

Frank C. Hay (гл. 8, 25)
Division of Immunology
St. Georges's Hospital Medical
School
London, UK

John Horton (гл. 15)
Department of Biological Sciences
University of Durham
Durham, UK

Ian V. Hutchinson (гл. 27)
School of Biological Sciences
University of Manchester
Manchester, UK

C.M. Lockwood (гл. 22)
Department of Medicine
School of Clinical Medicine
Cambridge, UK

Peter M. Lydyard (гл. 2, 3, 12)
Department of Immunology
University College London Medical
School
London, UK

David K. Male (гл. 1, 5, 24, 29)
Department of Neuropathology
Institute of Psychiatry
London, UK

Tony Nash (гл. 16)
Department of Veterinary Pathology
University of Edinburgh
Edinburgh, UK

Michael J. Owen (гл. 7, 9)
Lymphocyte Molecular Biology
Laboratory
Imperial Cancer Research Fund
London, UK

John N.L. Playfair (гл. 19)
Department of Immunology
Middlesex Hospital Medical School
London, UK

Norman Ratcliffe (гл. 15)
School of Biological Science
University College of Swansea
Swansea, UK

Ivan M. Roitt (гл. 1, 28)
Institute of Biomedical Science
University College
London Medical School
London, UK

Fred S. Rosen (гл. 21)
Department of Pediatrics
Division of Immunology
Harvard Medical School
Boston, USA

Graham Rook (гл. 10, 17)
Department of Bacteriology
University College London Medical
School
London, UK

Michael Steward (гл. 9, 29)
Department of Clinical Science
London School of Hygiene and
Tropical
Medicine
London, UK

Janice Taverne (гл. 18)
Department of Immunology
University College London Medical
School
London, UK

Malcolm W. Turner (гл. 6)
Immunology Unit
Institute of Child Health
University of London
London, UK

Mark J. Walport (гл. 4)
Division of Medicine
Imperial College School of Medicine
Hammersmith Campus
London, UK

Olwyn M.R. Westwood (гл. 8, 25)
School of Life Sciences
Roehampton Institute London
London, UK

Ian Weller (гл. 22)
Department of Sexually Transmitted
Disease
University College London Medical
School
London, UK

D.C. Wraith (гл. 14)
Department of Pathology and
Microbiology
School of Medical Sciences
University of Bristol, UK

Оглавление

Предисловие v
Авторы отдельных глав vi
Список сокращений x
Изображения-символы, принятые в книге x

1 Общие сведения об иммунной системе *(Перев. А.Н. Маца)* 1
Приобретенный и врожденный иммунитет 2
Клетки иммунной системы 4
Растворимые медиаторы иммунитета 7
Антигены 10
Иммунный ответ 10
Воспаление 13
Защита от внеклеточной и внутриклеточной инфекции 14
Вакцинация 15
Иммунопатология 16

2 Клетки, осуществляющие иммунный ответ *(Перев. А.Н. Маца)* 18
Лимфоидные клетки 19
Мононуклеарные фагоциты 32
Антигенпрезентирующие клетки 35
Полиморфноядерные гранулоциты, тучные клетки и тромбоциты 38

3 Лимфоидная система *(Перев. А.Н. Маца)* 44
Лимфоидные ткани входят в состав первичных и вторичных лимфоидных органов и образований 44
Первичные лимфоидные органы 45
Вторичные лимфоидные органы и образования 46
Циркуляция лимфоцитов 54

4 Комплемент *(Перев. А.Н. Маца)* 59
Введение 59
Активация комплемента 62
Рецепторы комплемента 72
Биологические эффекты комплемента 75

5 Миграция клеток и воспаление 83
(Перев. А.Н. Маца)
Миграция клеток 85
Молекулы межклеточной адгезии 86
Механизмы клеточной миграции 89
Воспаление 93

6 Антитела и клеточные рецепторы для них *(Перев. А.Н. Маца)* 97
Иммуноглобулины – особое семейство белков 97
Строение антител 100
Между молекулами антител возможны изотипические, аллотипические и идиотипические различия в аминокислотной последовательности 105
Эффекторные функции антител 106
Клеточные рецепторы для антител 107
Анализ структуры и функции антител 109

7 Антигенраспознающие рецепторы Т-клеток и молекулы MHC 114
(Перев. А.Н. Маца)
Т-клеточные рецепторы 114
Антигены главного комплекса гистосовместимости (MHC) 118
Геномная организация MHC 123

8 Источники разнообразия антигенраспознающих структур 129
(Перев. А.Н. Маца)
Теории образования антител 129
Вариабельность иммуноглобулинов 131
Рекомбинации генов Ig 133
Соматический мутагенез 138
Разнообразие иммуноглобулинов у других позвоночных 140
Гены константной области тяжелых цепей 142
Регуляция синтеза иммуноглобулинов 144
Гены антигенраспознающего Т-клеточного рецептора 145
Масштабы разнообразия 146

9 Распознавание антигена 149
(Перев. А.Н. Маца)
Связывание антител с антигеном 150
Специфичность и аффинность антител 153
Структура антигенов 158
Распознавание антигена Т-клетками 159
Процессинг и презентация антигена 159
Образование и строение комплекса антигенный пептид–молекула MHC 161

10 Реакции клеточного иммунитета 168
(Перев. А.Н. Маца)
Цитокины и их клеточные рецепторы 169
Защитные механизмы, независимые от Т-клеток 175
Т-зависимый клеточный иммунный ответ 177
Цитотоксичность Т- и НК-клеток 179
Роль макрофагов в иммунном ответе 184
Образование гранулем 187
Иммунопатология 188
Сетевые взаимодействия цитокинов 189

11 Взаимодействие клеток при гуморальном иммунном ответе 194
(Перев. Л.А. Певницкого)
Презентация антигена Т-клеткам 194
Взаимодействие В- и Т-клеток 199
Внутриклеточные сигналы при активации лимфоцитов 204

Действие цитокинов на B- и T-клетки 207
Гуморальный иммунный ответ in vivo 210

12 Развитие иммунной системы в онтогенезе *(Перев. В.И. Кандрора)* **216**
Миелоидные клетки 216
Система комплемента 219
Лимфоидные клетки 220
Разнообразие специфичностей антител 231
Разнообразие классов антител 232
Образование B-клеток иммунологической памяти 234

13 Регуляция иммунного ответа **237**
(Перев. Л.А. Певницкого)
Антиген как фактор иммунорегуляции 237
Антигенпрезентирующие клетки 239
Регуляторное влияние антител 240
Роль лимфоцитов в иммунорегуляции 242
Идиотипическая модуляция иммунного ответа 245
Нейроэндокринная регуляция иммунного ответа 246
Генетическая регуляция иммунного ответа 247

14 Иммунологическая толерантность *(Перев. Л.А. Певницкого)* **258**
Введение 258
Экспериментальная индукция толерантности 260
Центральная тимическая толерантность к аутоантигенам 260
Периферическая, или посттимическая, толерантность к собственным антигенам 264
Толерантность B-клеток к собственным антигенам 267
Толерантность, искусственно вызванная in vitro 270
Толерантность, искусственно вызванная in vivo 272
Индукция толерантности как возможное средство терапии 274

15 Эволюция иммунной системы **275**
(Перев. В.И. Кандрора)
Иммунитет у беспозвоночных 276
Иммунитет у позвоночных 285
Лимфомиелоидные ткани у низших позвоночных 294
Амфибии как модель для изучения онтогенеза иммунитета 299

16 Противовирусный иммунитет
(Перев. А.Н. Маца) **305**
Типы вирусных инфекций 305
Врожденный антивирусный иммунитет 306
Защитные механизмы с участием T- и B-клеток 308
Стратегии обхода вирусами иммунологического контроля 310
Иммунопатология 312

17 Иммунитет к бактериальным и грибковым инфекциям **316**
(Перев. А.Н. Маца)
Иммунитет к бактериям 316
Иммунитет к грибам 332

18 Иммунитет к паразитарным инвазиям *(Перев. М.А. Серовой)* **335**
Основные особенности паразитарных инвазий 336
Эффекторные механизмы 339
T-лимфоциты выполняют основную роль в развитии иммунитета 342
Механизмы защиты от иммунного ответа 349
Иммунопатологические последствия паразитарных инвазий 358
Вакцины 359

19 Вакцинация *(Перев. А.Н. Маца)* **361**
Антигенные препараты, используемые как вакцины 362
Эффективность вакцин 367
Безвредность вакцин 368
Стоимость вакцинации 369
Современные вакцины 369
Адъюванты 372
Пассивная иммунизация 373
Неспецифическая иммунотерапия 374
Применение вакцин в противораковой терапии 374
Противозачаточные вакцины 374

20 Иммунология опухолей **376**
(Перев. М.А. Серовой)
Опухоль как тканевой трансплантат 376
Иммунологический надзор 376
Опухолеассоциированные антигены, распознаваемые клетками иммунной системы 378
Опухолеассоциированные антигены, распознаваемые антителами 380
Иммунный ответ на опухоли у человека и механизмы, позволяющие опухолям «ускользать» от его действия 382
Иммунодиагностика 385
Иммунотерапия 385

21 Первичная иммунологическая недостаточность **393**
(Перев. Л.А. Певницкого)
B-клеточная недостаточность 394
T-клеточная недостаточность 397
Недостаточность белков системы комплемента 400
Дефекты фагоцитарных клеток 402

22 Вторичная иммунологическая недостаточность 405
(Перев. Л.А. Певницкого)
Иммунодефициты, вызываемые лекарственными препаратами 405
Питание и иммунологическая реактивность 408
СПИД 411

23 Гиперчувствительность – тип I 417
(Перев. В.И. Кандрора)
Гиперчувствительность I (немедленного) типа 418
Иммуноглобулины E 419
Генетика аллергических реакций у человека 422
Гены, регулирующие аллергенспецифичный ответ, сцеплены с HLA 424
Тучные клетки 425
Кожные реакции 430
Реакции бронхов 431
Факторы, определяющие развитие аллергии 435
Гипотеза аллергического прорыва 437
Десенсибилизация 437
Положительная роль IgE 438

24 Гиперчувствительность – тип II 441
(Перев. В.И. Кандрора)
Механизмы повреждений 441
Реакции против клеток крови 444
Реакции против тканевых антигенов 451

25 Гиперчувствительность – тип III 455
(Перев. В.И. Кандрора)
Типы болезней иммунных комплексов 455
Механизмы гиперчувствительности III типа 456
Экспериментальные модели болезней иммунных комплексов 457
Персистенция комплексов 460
Отложение комплексов в тканях 465
Обнаружение иммунных комплексов 467

26 Гиперчувствительность – тип IV 472
(Перев. В.И. Кандрора)
Контактная гиперчувствительность 473
Гиперчувствительность туберкулинового типа 478
Гранулематозная гиперчувствительность 479
Клеточные реакции при гиперчувствительности IV типа 480
Заболевания с гранулематозными реакциями гиперчувствительности IV типа 482

27 Трансплантация и отторжение 488
(Перев. Л.А. Певницкого)
Трансплантационный барьер 489
Антигены гистосовместимости 490
Законы трансплантации 491
Роль Т-лимфоцитов в отторжении трансплантата 492
Динамика отторжения 496
Предотвращение отторжения трансплантата 499

28 Аутоиммунные процессы и аутоиммунные заболевания 508
(Перев. В.И. Кандрора)
Связь аутоиммунитета с патологией 508
Спектр аутоиммунных заболеваний 509
Генетические факторы 510
Патогенез 512
Этиология 517
Диагностическое и прогностическое значение аутоантител 523
Лечение 523

29 Иммунологические методы 527
(Перев. Л.А. Певницкого)
Взаимодействие антиген–антитело 527
Получение чистых антител 532
Определение комплемента 539
Выделение популяций лимфоцитов 539
Методы определения эффекторных клеток 542
Трансгенные животные и направленная доставка генов 544

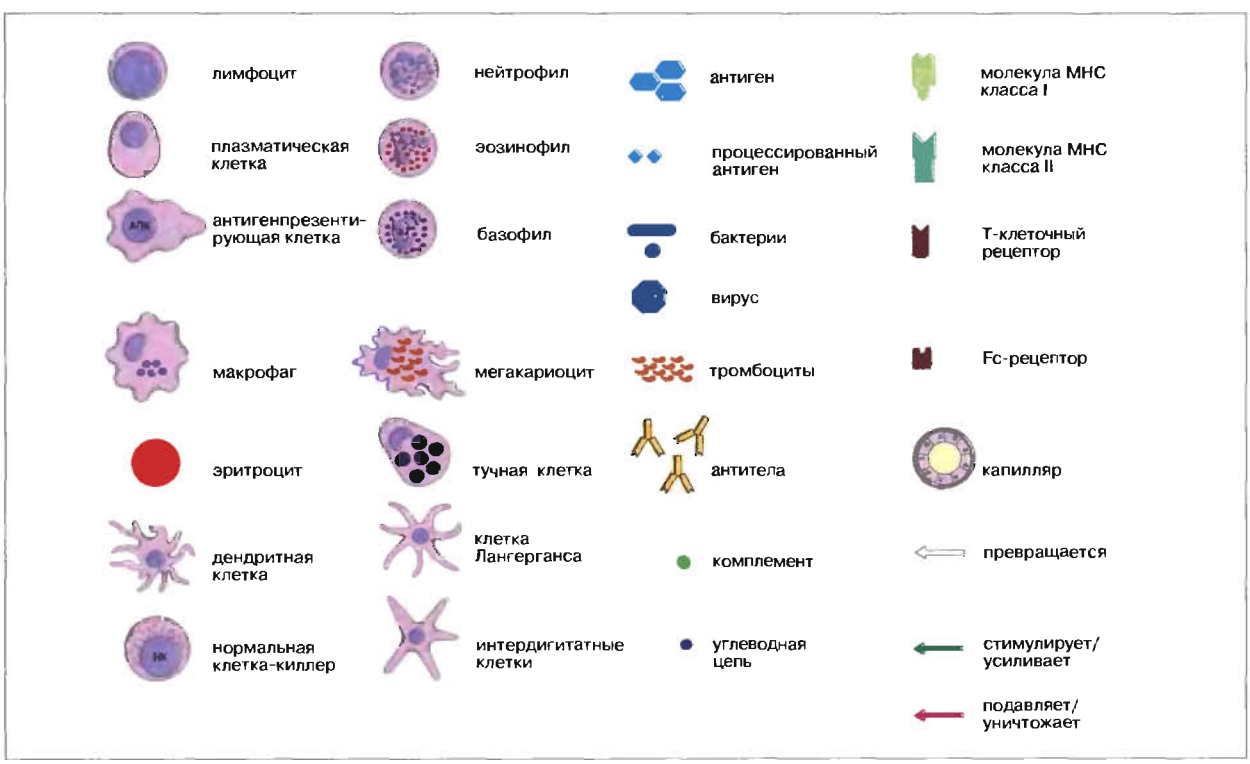
Приложения *(Перев. Л.А. Певницкого)* 547
Приложение I: HLA-специфичности 547
Приложение II:CD-маркеры 549
Приложение III: основные цитокины 554
Словарь терминов *(Перев. Л.А. Певницкого)* 556
Предметный указатель 566
Указатель латинских названий организмов 582

Список сокращений

АКТГ – адренокортикотропный гормон
АЗКЦ – антителозависимая клеточная цитотоксичность
АОК – антителообразующая клетка
АПК – антигенпрезентирующая клетка
ВЛХМ, или LCMV – вирус лимфоцитарного хориоменингита
ВЭБ, или EBV – вирус Эпштейна–Барр
ВЭВ – высокоэндотелиальные венулы (венулы с высоким эндотелием)
ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа
ИДК – интердигитатная дендритная клетка
ИЛ – интерлейкин
ИФ – интерферон
К – клетка-киллер
КОЕ – колониеобразующая единица
КСФ – колониестимулирующий фактор
ЛМК – лизирующий мембрану комплекс
ЛТС – лимфоидная ткань слизистых оболочек
МАСП – маннан-связывающая лектин-ассоциированная сериновая протеиназа
МКБ – мембранный кофакторный белок
Мф – макрофаг
НК – нормальная киллерная клетка
ОВИД – общий вариабельный иммунодефицит
СКВ – системная красная волчанка
ТКИД – тяжелый комбинированный иммунодефицит
ТФР – трансформирующий фактор роста
ФДК – фолликулярная дендритная клетка
ФНО – фактор некроза опухолей

В – В-клетка
ICAM – молекула межклеточной адгезии
LFA – лейкоцитарный функциональный антиген
LTB – лейкотриен В
МНС – главный комплекс гистосовместимости
Т – Т-клетка
ТкР – Т-клеточный рецептор
Тс – супрессорная Т-клетка
Тх – хелперная Т-клетка
Тц – цитотоксическая Т-клетка

Изображения-символы, принятые в книге



Общие сведения об иммунной системе 1

- **Иммунная система эволюционно формировалась для защиты макроорганизма от патогенных микробов.** Одни из них, такие как вирусы, проникают внутрь клеток хозяина, другие, например многие бактерии, размножаются внеклеточно в тканях или полостях тела.
- **В поддержании иммунитета принимают участие лимфоциты и фагоциты.** Лимфоциты распознают антигены патогенных микроорганизмов. Фагоциты поглощают и разрушают самих возбудителей.
- **Иммунный ответ состоит из двух фаз.** В ранней фазе происходит распознавание антигена специфически реагирующими лимфоцитами и их активация; в поздней (эффекторной) фазе эти лимфоциты осуществляют свою координирующую функцию в устранении источника чужеродных антигенов из организма.
- **Специфичность и память – это две основные характеристики приобретенного иммунитета.** На повторную встречу с тем же самым антигеном иммунная система отвечает более эффективно.
- **Лимфоциты специализированы по функциям.** В-клетки образуют антитела. Цитотоксические Т-лимфоциты уничтожают клетки, инфицированные вирусами. Хелперные Т-лимфоциты координируют иммунный ответ путем контактных межклеточных взаимодействий и выделения в межклеточную среду цитокинов, которые, например, помогают В-клеткам в образовании антител.
- **Антигены – это молекулы, распознаваемые рецепторами лимфоцитов.** В-лимфоциты обычно распознают нерасщепленные молекулы антигена, тогда как Т-лимфоциты чаще всего способны распознавать антигенные молекулы только в виде фрагментов на поверхности других клеток.
- **Узнавание молекул антигена специфичными к нему лимфоцитами влечет за собой селективное размножение лимфоцитарных клонов;** клональная экспансия сопровождается дифференциацией лимфоцитов на клетки-эффекторы и клетки иммунологической памяти.
- **При функционировании иммунной системы могут возникать нарушения,** приводящие к иммунодефицитному состоянию или к гиперчувствительности, а также к аутоиммунным заболеваниям.

В окружающей нас среде присутствуют в огромном разнообразии патогенные микробы – вирусы, бактерии, грибы, простейшие – и многоклеточные паразиты. Они способны вызывать заболевания и, если размножаются при этом в тканях организма бесконтрольно, в конце концов приводят его к гибели. Однако в норме, благодаря иммунной системе, которая защищает нас от патогенных микробов, большинство инфекций протекает кратковременно и практически без нарушающих здоровье последствий.

Поскольку микроорганизмы существуют во множестве форм, организм располагает широким набором факторов противоинфекционной резистентности и форм иммунного ответа. Прежде всего, эффективной преградой для большинства возбудителей инфекций служат наружные покровы тела – через неповрежденную кожу может проникнуть лишь очень небольшое число видов возбудителей *(рис. 1.1)*. Однако многие патогенные микробы способны проникать сквозь эпителий пищеварительной и мочеполовой систем, инфицировать носоглотку и легкие. Некоторые возбудители, например малярийный плазмодий и вирус гепатита В, вызывают инфекцию, только оказавшись непосредственно в крови.

Какая из форм иммунного ответа будет эффективной, зависит в значительной мере от локализации инфекции и типа возбудителя. Наиболее существенно при этом, проникают микробы внутрь клеток организма-хозяина или нет. Для того чтобы ликвидировать внутриклеточную инфекцию – такую вызывают все вирусы, некоторые бактерии и ряд паразитических простейших – иммунная система должна распознать и разрушить инфицированные клетки. В случае внеклеточного размножения инфицирующего агента в тканях, жидкостях или полостях организма – это характерно для многих бактерий и более крупных возбудителей – иммунный ответ совершенно

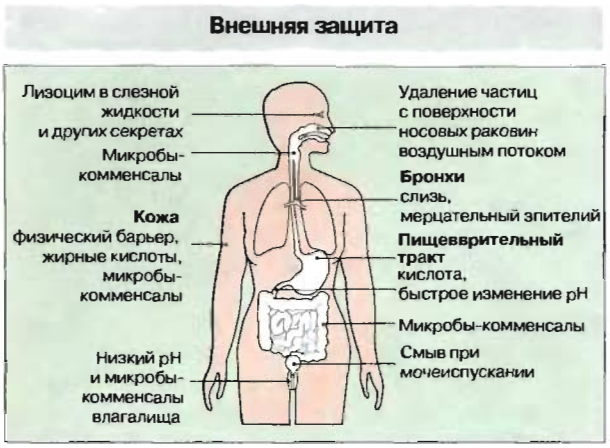


Рис. 1.1
Большинство возбудителей болезней не проникает во внутреннюю среду организма человека благодаря разнообразным физическим и биохимическим барьерам. Рост многих потенциально патогенных микроорганизмов эффективно подавляется (за счет конкуренции) микробами-комменсалами, к которым организм обладает устойчивостью.

иной. При развитии инфекции, однако, даже внутриклеточные возбудители, чтобы достичь соответствующих клеток-мишеней, передвигаются с током крови и тканевой жидкости, и в это время они уязвимы для тех факторов иммунной системы, которые в основном рассчитаны на внеклеточных возбудителей (*рис. 1.2*).

В этой главе приведены лишь самые основные сведения об иммунной системе и иммунологическом ответе. Подробнее эти вопросы рассмотрены в гл. 2–20. Различного рода нарушениям в деятельности иммунной системы, приводящим к иммунопатологическим реакциям, посвящена вторая половина книги. Важно, однако, отметить, что главная функция иммунной системы – это ликвидация инфекционных агентов и уменьшение причиняемого ими вреда.

ПРИОБРЕТЕННЫЙ И ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ

Как правило, иммунный ответ заключается, во-первых, в распознавании возбудителя или иного чужеродного материала и, во-вторых, в развертывании цепи реакций, направленных на их устранение. В широком смысле все разнообразные формы иммунного ответа можно разделить на два типа – врожденные и приобретенные реакции. Основное различие между этими двумя типами иммуннореактивности состоит в том, что приобретенный иммунитет высокоспецифичен в отношении каждого конкретного возбудителя. Кроме того, повторная встреча с тем или иным патогенным микроорганизмом не приводит к изменениям врожденного иммунитета, но повышает уровень приобретенного: иммунная система как бы «запоминает» возбудителя, чтобы впоследствии предотвращать вызываемую им инфекцию. Например, у перенесших корь и дифтерию часто возникает пожизненный приобретенный иммунитет к этим заболеваниям. Две главные характеристики приобретенного иммунитета – специфичность и иммунологическая память.

Иммунный ответ осуществляют прежде всего лейкоциты, которые представлены несколькими разновидностями.

Фагоциты и врожденный иммунитет Одну из важных групп лейкоцитов составляют фагоцитирующие клетки: моноциты, макрофаги и полиморфноядерные нейтрофилы. Они способны связывать микроорганизмы на своей поверхности, а затем поглощать и уничтожать их. Эта функция основана на простых, неспецифических механизмах распознавания, позволяющих связывать самые разнообразные микробные продукты, и относится к проявлениям врожденного иммунитета. Фагоциты образуют первую линию защиты против инфекции.

Лимфоциты и приобретенный иммунитет Другая важнейшая группа лейкоцитов – это лимфоциты. Им принадлежит ведущая роль во всех реакциях приобретенного иммунитета, поскольку они специфически распознают конкретный возбудитель, где бы он ни находился, внутри или вне клеток, в тканевой жидкости или в крови. Существуют различные типы лимфоцитов, но основных популяций две: Т-лимфоциты (или Т-клетки) и В-лимфоциты (или В-клетки). Последние противодействуют внеклеточным возбудителям и влиянию их продуктов, образуя антитела, молекулы которых способны специфически распознавать и связывать определенные молекулы-мишени – антигены. Антигенами могут служить молекулы на поверхности клеток микроорганизмов либо образуемые ими токсины. Т-лимфоциты, точнее разные их популяции вместе, обладают широким набором активностей. Одни Т-клетки участвуют в регуляции дифференцировки В-лимфоцитов и

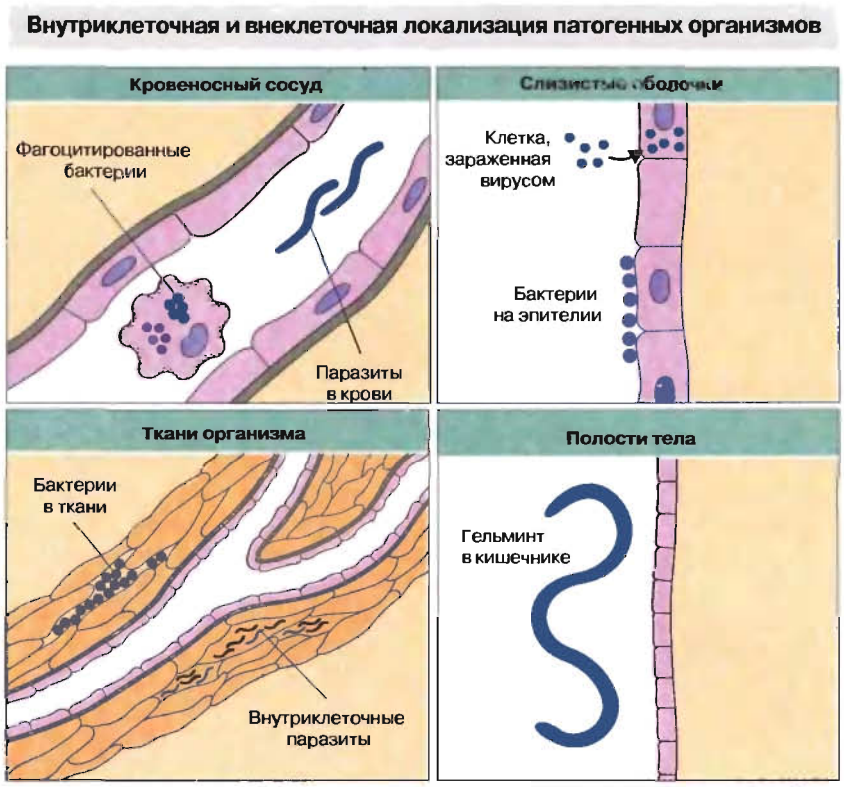


Рис. 1.2
Задача иммунной системы – распознавание возбудителей и ответ на инфекцию при любой ее локализации. Так, вирусам для размножения необходимо проникнуть в клетку. Внутриклеточную стадию развития имеют также простейшие, такие как малярийные паразиты (*Plasmodium* spp.) или трипаносомы (*Trypanosoma cruzi*, возбудитель болезни Чагаса), и бактерии, например *Salmonella typhi*. Некоторые паразитические простейшие (в том числе трипаносомы – возбудители африканской сонной болезни) паразитируют в крови, тогда как многие крупные многоклеточные паразиты – в тканях или полостях определенных органов (например, ленточные черви). Многие бактерии заселяют эпителиальные покровы и способны проникать во внутреннюю среду организма, чтобы размножаться в тканях.

образования антител. Другие взаимодействуют с фагоцитами, помогая им в разрушении поглощенных микробных клеток. Третья группа Т-лимфоцитов распознает и разрушает клетки, инфицированные вирусами.

Взаимодействие между лимфоцитами и фагоцитами
Масштабы таких взаимодействий весьма значительны. Например, определенные типы фагоцитирующих клеток способны после захвата антигенов представлять их Т-лимфоцитам в форме, подходящей для распознавания. Этот процесс назван представлением (презентацией) антигена. Распознав антиген, Т-лимфоциты в свою очередь выделяют растворимые факторы (цитокины), которые активируют фагоциты и вызывают разрушение ими поглощенных микробов. При взаимодействии другого характера фагоциты используют образуемые В-лимфоцитами антитела для собственного более эффективного распознавания возбудителей *(рис. 1.3)*. В результате иммунный ответ на инфекцию чаще всего складывается из различных взаимосвязанных эффектов как врожденного, так и приобретен-

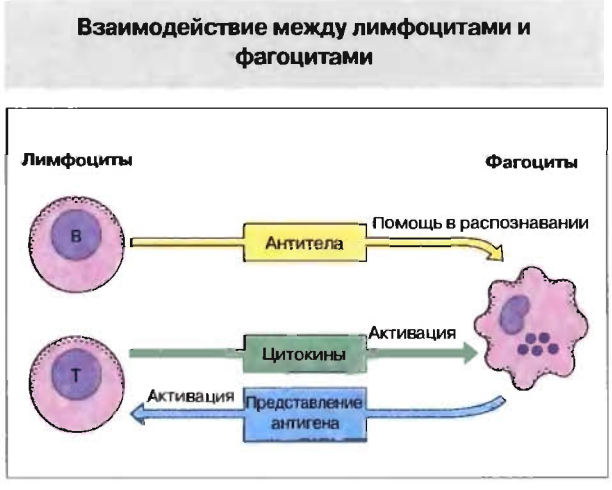


Рис. 1.3
В-лимфоциты выделяют антитела, взаимодействующие с патогенными микроорганизмами и продуктами их жизнедеятельности. Этим В-лимфоциты помогают в распознавании чужеродных антигенов фагоцитам, способным связывать антитела своими Fcγ-рецепторами. Выделяемые Т-лимфоцитами цитокины активируют фагоцитарные клетки для разрушения поглощенного ими материала. В свою очередь мононуклеарные фагоциты могут представлять фрагментированный антиген Т-клеткам, вызывая тем самым их активацию.

ного иммунитета. На ранних стадиях инфекции доминируют механизмы врожденного иммунитета, но позднее лимфоциты начинают осуществлять специфический ответ, свойственный приобретенному иммунитету. При этом они «запоминают» возбудителя и если впоследствии организм вновь подвергается заражению этим микробом, они «вспоминают» его и осуществляют более эффективный и быстрый иммунный ответ.

КЛЕТКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

В иммунном ответе участвует целый ряд клеток и выделяемых ими растворимых продуктов. Центральная роль всегда принадлежит лейкоцитам, однако другие клетки (например, тканевые) также вносят свой вклад, посылая сигналы лимфоцитам и отвечая на цитокины, выделяемые Т-клетками и макрофагами. На *рис. 1.4* перечислены основные клетки и молекулы, принимающие участие в иммунологических реакциях организма.

Фагоциты поглощают антигены и патогенные микроорганизмы и разрушают их

Мононуклеарные фагоциты Наиболее важная группа способных к фагоцитозу и долгоживущих клеток – популяции мононуклеарных фагоцитов. Эти клетки, происходящие из стволовых клеток костного мозга, несут функцию захвата частиц, в том числе инфекционных агентов, с их поглощением и разрушением. Для выполнения этой функции фагоциты стратегически располагаются в тех тканях организма, где возможно попадание таких частиц. Например, клетки Купфера выстилают кровеносные синусоидальные капилляры печени, а синовиальными А-клетками выстланы полости суставов (*рис. 1.5*). Мононуклеарные фагоциты, циркулирующие с кровью, называются моноцитами. Из крови они мигрируют в ткани, где превращаются в тканевые макрофаги, способные весьма эффективно презентировать антигены Т-лимфоцитам. Однако наиболее важны для презентации антигена покоящимся Т-клеткам интердигитатные дендритные клетки (см. гл. 2).

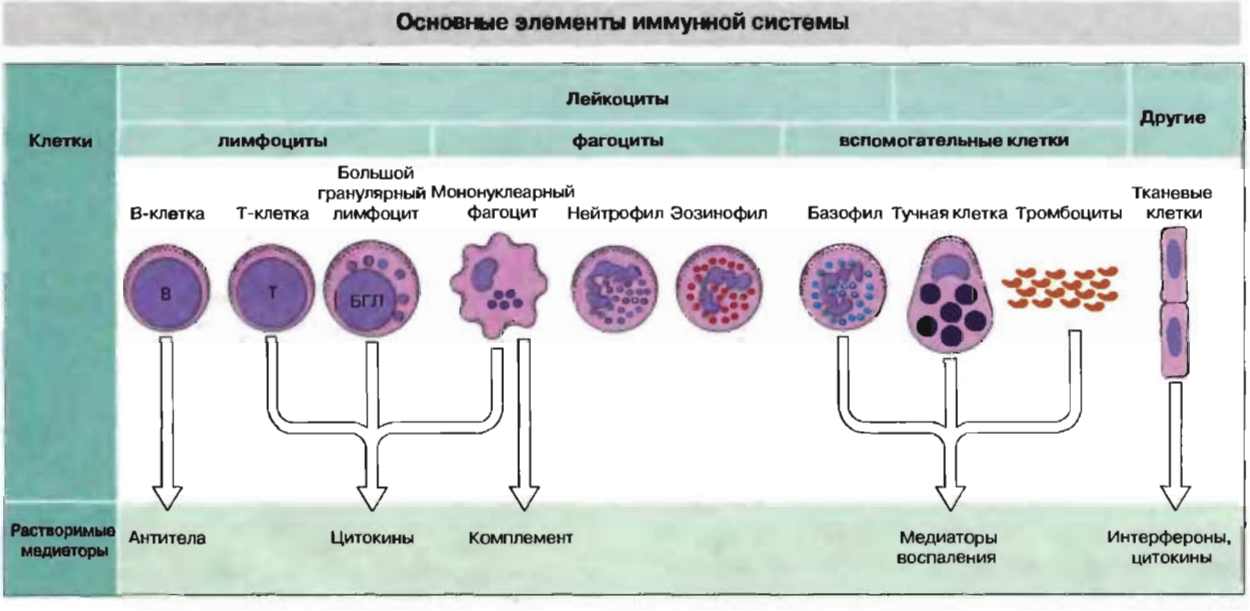


Рис. 1.4
Основные компоненты иммунной системы с указанием клеточного происхождения растворимых медиаторов иммунного ответа. Компоненты комплемента синтезируются преимущественно клетками печени и в некотором количестве мононуклеарными фагоцитами. Каждый тип клеток образует и выделяет строго определенный набор цитокинов или медиаторов воспаления. Кроме того, существует два типа дендритных (разветвленных) клеток, которые имеют важное значение в презентации антигенов лимфоцитам.

Фагоциты моноцитарного ряда

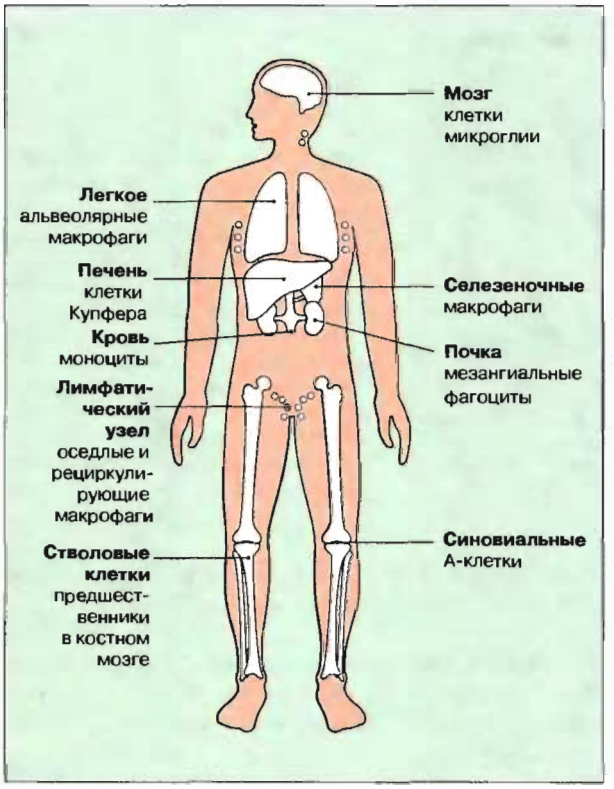


Рис. 1.5
Содержащиеся во многих органах фагоцитарные клетки происходят из моноцитов крови, производимых костным мозгом. Моноциты покидают кровеносное русло и в тканях становятся макрофагами. Местные фагоцитарные клетки различных тканей, ранее относимые к ретикулоэндотелиальной системе, тоже представляют собой, по-видимому, клетки моноцитарного ряда.

Полиморфноядерные нейтрофилы Вторая значительная группа фагоцитирующих клеток – это полиморфноядерные нейтрофильные гранулоциты, часто называемые просто нейтрофилами или ПМН (от англ. PMN – polymorphonuclear neutrophils). Нейтрофилы составляют большинство среди лейкоцитов крови и происходят от тех же ранних клеток-предшественников, что моноциты и макрофаги. Подобно моноцитам нейтрофилы мигрируют в ткани, отвечая на определенные стимулы, но в отличие от моноцитов относятся к короткоживущим клеткам, которые, поглотив чужеродный материал, разрушают его и затем погибают.

Лимфоциты представлены двумя большими популяциями – В-клетками и Т-клетками, которые ответственны за специфическое распознавание антигенов

Специфическое иммунологическое распознавание патогенных организмов – это всецело функция лимфоцитов, поэтому именно они инициируют реакции приобретенного иммунитета. Все лимфоциты происходят из стволовых клеток костного мозга, но Т-лимфоциты затем развиваются в тимусе, тогда как В-лимфоциты продолжают свое развитие в красном костном мозге (у взрослых особей млекопитающих).

В-клетки Каждая В-клетка генетически запрограммирована на синтез поверхностного рецептора, специфичного к одному определенному антигену. Встретив и распознав этот антиген, В-клетки размножаются и дифференцируются в плазматические клетки, которые образуют и выделяют в растворимой форме большие количества таких рецепторных молекул, называемых антителами. Антитела представляют собой крупные гликопротеины и содержатся в крови и тканевой жидкости. Благодаря своей идентичности исходным рецепторным молекулам они взаимодействуют с тем антигеном, который первоначально активировал В-клетки.

Т-клетки Имеется несколько субпопуляций Т-клеток с различными функциями. Одни взаимодействуют с В-клетками, помогая им размножаться, созревать и образовывать антитела. Другие взаимодействуют с мононуклеарными фагоцитами, способствуя разрушению локализованных в них микроорганизмов. Обе эти субпопуляции Т-клеток названы хелперными Т-клетками (Тх). Третья субпопуляция Т-клеток осуществляет разрушение клеток организма, зараженных вирусами или иными внутриклеточно размножающимися патогенными микробами. Этот тип активности Т-клеток назван цитотоксичностью, а сами клетки соответственно цитотоксическими Т-лимфоцитами (Тц). Как правило, распознавание антигена Т-клетками происходит только при том условии, что он презентирован на поверхности других клеток в ассоциации (комплексе) с молекулами MHC. В распознавании участвует специфичный к антигену Т-клеточный рецептор (ТкР), функционально и структурно сходный с той поверхностной молекулой Ig, которая у В-клеток служит антигенсвязывающим рецепто-

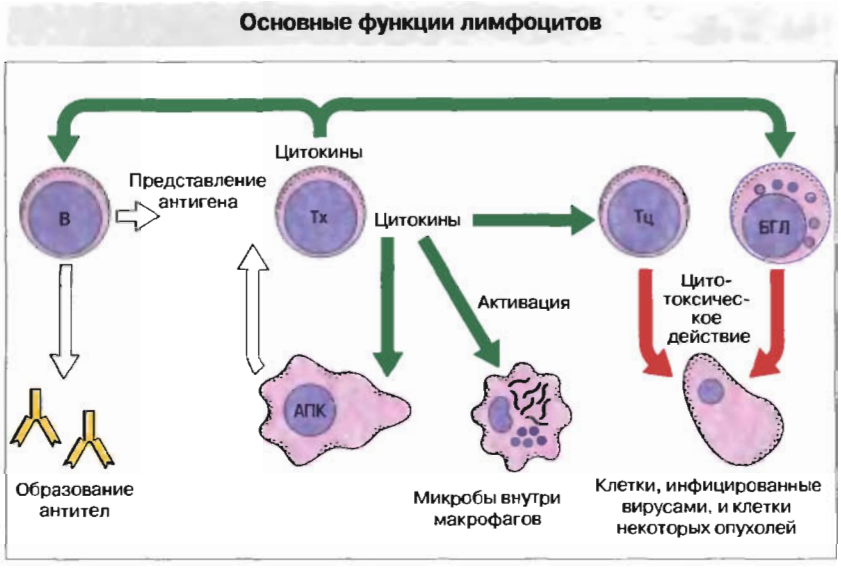


Рис. 1.6
В-клетки образуют антитела, а Т-хелперные (Тх) клетки – цитокины, регулирующие иммунный ответ. В стимуляции Тх для синтеза цитокинов участвуют клетки, презентирующие антиген (АПК) и выполняющие ту же функцию В-клетки. Активированные макрофаги приобретают способность уничтожать поглощенные ими микробы. Цитотоксические Т-лимфоциты (Тц) и большие зернистые (гранулярные) лимфоциты (БГЛ) могут распознавать и уничтожать клетки-мишени самого организма.

ром. Свои функции воздействия на другие клетки Т-лимфоциты осуществляют путем выделения растворимых белков – цитокинов, которые передают сигналы другим клеткам, или путем прямых межклеточных контактов. Основные функции лимфоцитов представлены на *рис. 1.6.*

Цитотоксические клетки распознают и уничтожают инфицированные клетки организма

Цитотоксичностью, направленной на другие клетки организма, обладает ряд клеток иммунной системы. Наиболее важны из них, вероятно, Тц-клетки.

Большие зернистые (гранулярные) лимфоциты (БГЛ) Эта популяция лимфоцитов, как и Т-клетки, способна распознавать те изменения клеточной поверхности, которые возникают при злокачественном перерождении или вирусной инфекции. Большие гранулярные лимфоциты поражают такие клетки-мишени, но кроме того, они в отличие от цитотоксических Т-лимфоцитов весьма эффективно распознают клетки, поверхность которых лишена вовсе или утратила частично свои молекулы MHC. Прежде цитотоксическое действие БГЛ рассматривали как активность нормальных киллерных (НК) клеток. Макрофаги и БГЛ распознают и уничтожают также некоторые клетки-мишени (или патогенные микроорганизмы), если поверхность последних покрыта связавшимися с ней специфическими антителами.

Эозинофильные полиморфноядерные гранулоциты, или эозинофилы Специализированная популяция лейкоцитов, способных поражать крупные внеклеточные паразитические организмы, например шистосомы.

Все типы цитотоксических клеток поражают свои мишени, выделяя вблизи них содержимое внутриклеточных гранул и другие, не запасаемые в гранулах молекулы.

Вспомогательные клетки регулируют воспаление

Ряд других клеток иммунной системы участвует в воспалительной реакции, основная цель которой – привлечение лейкоцитов и растворимых медиаторов иммунитета к очагу инфекции (см. ниже).

Базофильные сегментоядерные гранулоциты и тучные клетки Эти клетки заполнены гранулами, в которых содержатся различные медиаторы, вызывающие при высвобождении воспаление в окружающей ткани. Выделение медиаторов происходит при активации базофилов и тучных клеток. Эти клетки могут также синтезировать и выделять ряд медиаторов, регулирующих иммунный ответ. Тучные клетки располагаются во всех тка-

нях вблизи кровеносных сосудов и воздействуют посредством некоторых своих медиаторов на клетки сосудистой стенки. Базофилы сходны по функциям с тучными клетками, но в отличие от них циркулируют с кровью.

Кровяные пластинки (тромбоциты) Эти клетки, активированные в процессе свертывания крови или под действием комплексов антиген–антитело, также выделяют медиаторы воспаления.

РАСТВОРИМЫЕ МЕДИАТОРЫ ИММУНИТЕТА

В развитии иммунного ответа участвует целый ряд молекул-посредников, в том числе выделяемые лимфоцитами антитела и цитокины, а также различные белки сыворотки, обычно содержащиеся в ней в низкой концентрации. Эти белки названы острофазными, так как их концентрация быстро нарастает при инфекционном процессе. Один из примеров – это С-реактивный белок (CRP), названный так за способность связываться с С-белком пневмококков. Благодаря такому связыванию фагоциты начинают более активно поглощать пневмококки – процесс, называемый опсонизацией (см. *рис. 1.10*). В качестве опсонинов, т. е. опсонизирующих молекул, действуют главным образом антитела и компоненты комплемента.

Белки системы комплемента служат медиаторами фагоцитоза, регулируют воспалительную реакцию и, взаимодействуя с антителами, участвуют в иммунной защите организма

В систему комплемента входят около двух десятков сывороточных белков, общая функция которых состоит в регуляции воспаления. Компоненты комплемента взаимодействуют между собой и с другими элементами иммунной системы. Например, ряд микроорганизмов спонтанно активирует систему комплемента по так называемому альтернативному пути, представляющему собой механизм врожденного, неспецифического иммунитета. В результате с поверхностью микробов связываются компоненты комплемента, что приводит к поглощению этих возбудителей фагоцитами. Когда система комплемента принимает участие в реакциях специфического приобретенного иммунитета, ее обычно активируют по классическому пути антитела, связавшиеся с поверхностью клеток микроорганизма.

Активация комплемента – это каскад реакций, в котором каждый предшествующий компонент действует на последующий, подобно тому, как это происходит при свертывании крови. Как классический, так и альтернативный путь активации комплемента приводит к образованию белков или пептидных фрагментов, вызывающих следующие эффекты:

- опсонизация микроорганизмов с последующим поглощением и внутриклеточным разрушением их фагоцитами;
- привлечение фагоцитов к месту воспаления (хемотаксис);
- усиление тока крови в месте активации и повышение проницаемости капилляров для компонентов плазмы;
- повреждение собственных клеток организмов, грамотрицательных бактерий и вирусов или других микробов, вызвавших активацию комплемента; лизис возбудителя вследствие такого повреждения обеспечивает прекращение инфекции;
- дополнительное выделение медиаторов воспаления из тучных клеток.

Эти функции системы комплемента схематически представлены на *рис. 1.7* и подробно описаны в гл. 4.

Цитокины – разнообразные белки, осуществляющие передачу сигналов между лимфоцитами, фагоцитами и другими клетками организма

Цитокинами обобщенно называют большую группу соединений, участвующих в межклеточной передаче сигналов в ходе иммунного ответа. Все цитокины – это белки или пептиды; некоторые из них представляют собой гликопротеины. Цитокины подразделяют на несколько групп. Так, цитокины, выделяемые лимфоцитами, часто называют лимфокинами. Основные группы цитокинов приведены ниже.

Интерфероны (ИФ) Эти цитокины особенно важны в сдерживании некоторых вирусных инфекций. Одну группу интерферонов (ИФα и ИФβ) синтезируют клетки, инфицированные вирусами. Другой тип интерферона (ИФγ) выделяют некоторые активированные Т-клетки. Интерфероны сообщают противовирусную устойчивость незараженным тканевым клеткам (*рис. 1.8*). Они образуются на ранней стадии инфекции и созда-

Функции системы комплемента в антибактериальном иммунитете

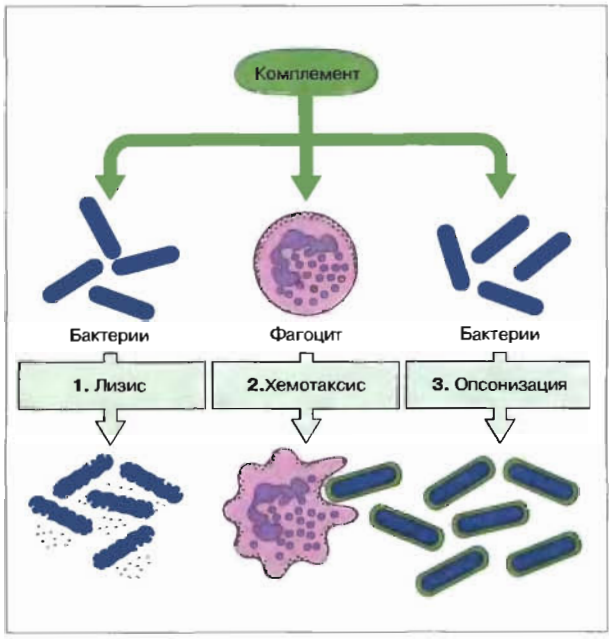


Рис. 1.7
1. Система комплемента способна без участия антител разрушать мембраны многих видов бактерий. **2.** Продукты активации комплемента привлекают к месту реакции фагоциты (хемотаксис). **3.** Покрывая в результате связывания поверхность бактерий (опсонизация), компоненты комплемента облегчают фагоцитам их распознавание и поглощение. Все эти реакции могут протекать за счет собственной способности комплемента к распознаванию микробных структур или с помощью антител, связавшихся с бактериями.

ют первую линию защиты против большинства вирусов.

Интерлейкины (ИЛ) Это большая группа цитокинов (от ИЛ-1 до ИЛ-17), синтезируемых в основном Т-клетками, но в некоторых случаях также мононуклеарными фагоцитами или другими тканевыми клетками. Интерлейкины обладают разнообразными функциями, но большинство их стимулирует другие клетки для деления или дифференцировки. Каждый интерлейкин действует на отдельную, ограниченную группу клеток, экспрессирующих специфичные для данного ИЛ рецепторы.

Колониестимулирующие факторы (КСФ) Эти цитокины участвуют в регуляции деления и дифференцировки стволовых клеток костного мозга и клеток – предшественников лейкоцитов крови. Балансом различных КСФ в определенной мере обусловлено соотношение между различными типами образующихся в костном мозге лейкоцитов. Некоторые КСФ стимулируют дальнейшую дифференцировку клеток и вне костного мозга.

Другие цитокины Среди них значительную роль играют факторы некроза опухолей (ФНОα и ФНОβ) и трансформирующий фактор роста β (ТФРβ). Они выполняют разнообразные функции, но особенно важны как медиаторы воспаления и цитотоксических реакций.

Антитела специфически связываются с антигеном и затем опосредуют вторичные эффекты

Антитела (Ат), называемые также иммуноглобулинами (Ig), – это семейство сывороточных белков, образуемых В-лимфоцитами. Как уже было отмечено выше, они представляют собой растворимую форму антигенсвязывающих В-клеточных рецепторов. Все поликлональные антитела дан-

Интерфероны

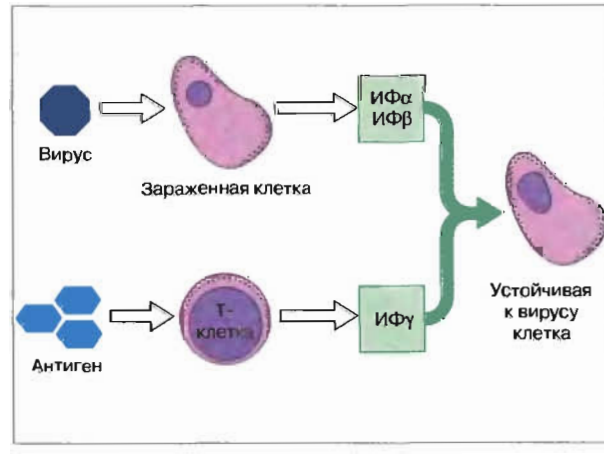


Рис. 1.8
Инфицированные вирусом клетки способны синтезировать интерферон, одни – интерферон-α (ИФα), другие – интерферон-β (ИФβ). Некоторые субпопуляции Т-лимфоцитов после активации антигеном образуют интерферон-γ (ИФγ). Воздействуя на другие клетки организма, интерфероны сообщают им устойчивость к вирусной инфекции. Интерферон-γ оказывает также много других эффектов.

Антитело – гибкая соединительная молекула

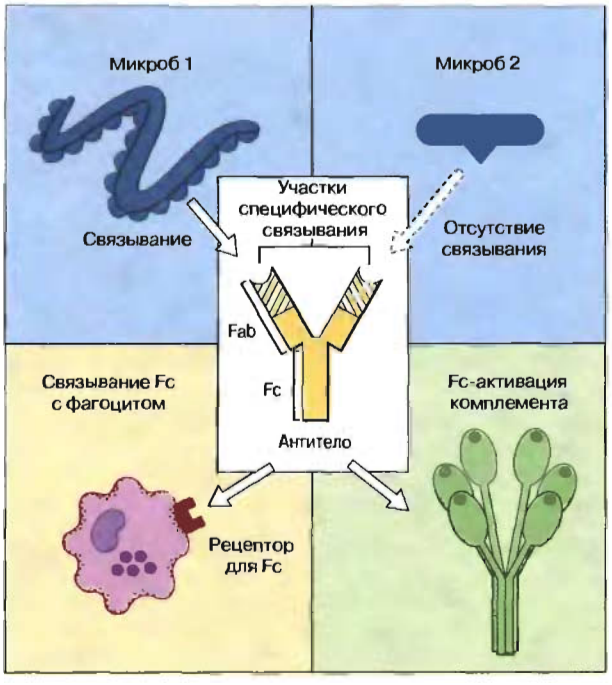


Рис. 1.9
Если микроб не обладает свойством активировать комплемент или связываться с фагоцитами, организм-хозяин образует против него антитела, которые как соединительные молекулы связывают микробные клетки с комплементом и фагоцитами. В организме человека могут синтезироваться несколько миллионов различных по специфичности антител, способных распознавать множество самых разнообразных инфекционных агентов. Например, изображенное на схеме антитело связывается своим антигенсвязывающим фрагментом (Fab) с микробом 1, но не с микробом 2. Fc-фрагмент антитела может активировать комплемент или связываться с рецепторами для Fc на клетках организма-хозяина, прежде всего на фагоцитах.

ного изотипа однотипны по строению молекулы, но различаются областью антигенсвязывающего центра. Как правило, каждое антитело может специфически связываться только с одним антигеном.

В то время как одна часть молекулы антитела (Fab-фрагмент) предназначена для связывания с антигеном, другая его часть (Fc-фрагмент) взаимодействует с различными элементами иммунной системы, например с фагоцитами или с одним из компонентов комплемента. Фактически, антитела действуют как молекулы-посредники, вовлекающие различные элементы иммунной системы в распознавание патогенных микробов и продуктов их метаболизма (*рис. 1.9*)

Та часть молекулы антитела, которая взаимодействует с клетками иммунной системы, названа Fc-фрагментом. Нейтрофилы, макрофаги и другие мононуклеарные фагоциты несут на своей поверхности рецепторы для Fc-фрагмента. Следовательно, если антитела связались с патогенным микроорганизмом, они могут своим Fc-фрагментом взаимодействовать и с фагоцитами. Благодаря этому клетки возбудителя будут поглощены (фагоцитированы) и разрушены фагоцитами. Антитела в данном случае действуют как опсонины. Кроме того, фагоциты распознают чужеродный материал, используя в качестве опсонина активированный компонент комплемен-

Опсонизация

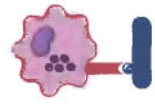
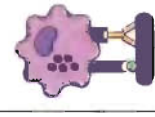
	Фагоцит	Опсонин	Связывание
1		–	±
2		Комплемент C3b	+ +
3		Антитело	+ +
4		Антитело и комплемент, компонент C3b	+ + + +

Рис. 1.10
1. Фагоциты обладают способностью непосредственно, т. е. без участия опсонинов, связывать бактерии и другие микроорганизмы, но при активации микробами комплемента связывание намного усиливается. **2.** В этом случае бактерии взаимодействуют с C3b, благодаря чему фагоциты получают возможность связывать их посредством рецепторов для C3b. **3.** Для фагоцитоза микробов, которые в полной мере или совсем не активируют комплемент, необходима опсонизация антителами (Ат), способными связываться с Fc-рецепторами на поверхности фагоцитов. **4.** Антитела могут сами активировать комплемент, и если микробы опсонизированы не только антителами, но также C3b, их связывание фагоцитами существенно возрастает.

та (C3b), но наиболее всего фагоцитоз эффективен в присутствии одновременно антител и комплемента (*рис. 1.10*).

АНТИГЕНЫ

Первоначально термин антиген (от англ. *anti*body *gen*erator) применяли для обозначения любой молекулы, индуцирующей образование В-клетками специфических антител. Однако теперь этот термин имеет более широкий смысл, означая любую молекулу, которую могут специфически распознавать элементы системы приобретенного иммунитета, т. е. В-клетки или Т-клетки, либо и те и другие.

Молекулы антител связываются не со всей поверхностью инфекционного агента. В соответствии со своей специфичностью каждая из них взаимодействует с одним из многих видов антигенных молекул на поверхности микробов. Против одного возбудителя может синтезироваться несколько различных по специфичности антител, связывающихся с разными антигенами на его поверхности. Антитела взаимодействуют с определенной областью молекулы антигена, названной эпитопом. Один антиген может иметь несколько различных или повторяющихся эпитопов (*рис. 1.11*). Антитела специфичны именно к эпитопам, а не ко всей молекуле антигена.

Механизмы, формирующие разнообразие антител, достаточное для связывания всех тех различных антигенов, с которыми организм может столкнуться в течение жизни, описаны в гл. 8.

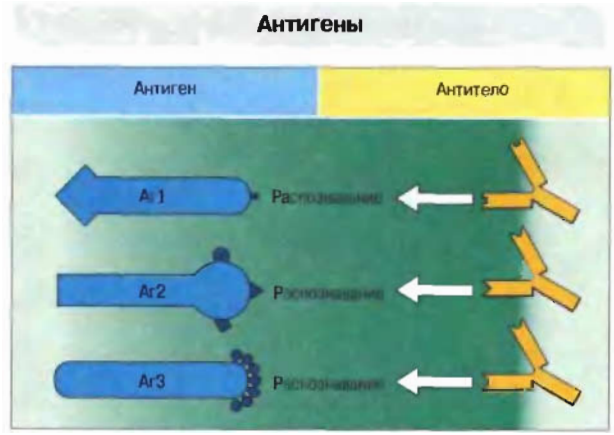


Рис. 1.11
Молекулы, вызывающие образование антител, называются антигенами. Каждая молекула антигена имеет набор антигенных детерминант, называемых эпитопами. Эпитопы одного антигена (Ar1) обычно отличаются от эпитопов другого (Ar2). Некоторые антигены (Ar3) имеют повторяющиеся эпитопы. Стереохимическая конфигурация эпитопов распознается антителами и Т-клеточными рецепторами, т. е. факторами приобретенного иммунитета. Каждая молекула антитела распознает не всю молекулу антигена, а один ее эпитоп. Даже самые простые по строению микроорганизмы обладают множеством различных антигенов белковой, липидной или углеводной природы.

Распознавание антигена – основа приобретенного иммунитета

В распознавании антигенов участвуют, помимо антител и В-клеток, также Т-клетки, но эти последние распознают антигены в виде небольших полипептидных фрагментов, локализованных вначале внутриклеточно, а затем представленных на поверхности других клеток организма. Например, клетки, инфицированные вирусами, начинают экспрессировать на своей поверхности мелкие фрагменты вирусных белков, делая их легкораспознаваемыми для цитотоксических Т-клеток. Презентацию фрагментов антигена на клеточной поверхности осуществляет специализированная группа так называемых MHC-молекул, кодируемых набором генов главного комплекса гистосовместимости (MHC, от *m*ajor *h*istocompatibility *c*omplex). Т-клетки распознают посредством своих антигенспецифичных рецепторов (TкР) пептидные фрагменты антигена, связанные с этими MHC-молекулами (*рис. 1.12*).

Важно запомнить, что антиген – это инициатор и движущая сила всех реакций приобретенного иммунитета. Иммунная система возникла для распознавания и разрушения чужеродных антигенов, а также устранения источника их образования – бактерий, инфицированных вирусом клеток и т. п. Когда антиген элиминирован, иммунный ответ прекращается.

ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Итак, любой иммунный ответ имеет две основные фазы:

- распознавание антигена;
- реакции, направленные на его устранение.

В реакциях приобретенного иммунитета распознавание антигена осуществляют лимфоциты, избирательно пролиферирующие благодаря клональной селекции.

Распознавание антигена Т-клеткой

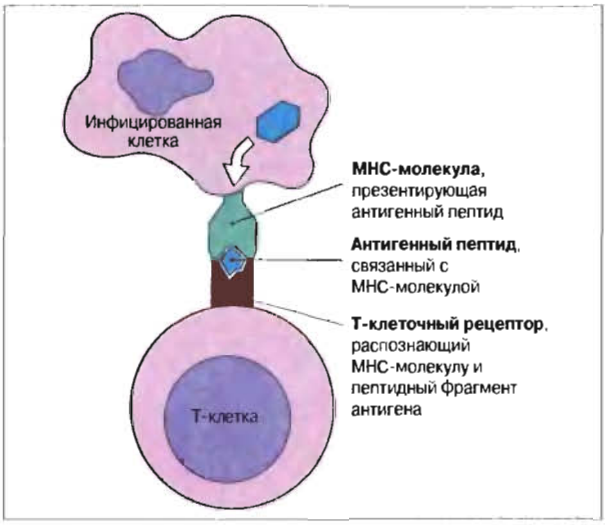


Рис. 1.12
Т-клетки распознают антигены, вначале локализованные внутриклеточно, а затем появляющиеся на поверхности других клеток, например вирусные пептиды из инфицированных клеток. Распознование происходит путем специфического связывания с антигенными пептидами, презентированными на клеточной поверхности МНС-молекулами – продуктами генов главного комплекса гистосовместимости (МНС). Распознавание уникального комплекса антигенный пептид + МНС-молекула Т-клетки осуществляют посредством своих антигенспецифичных рецепторов (ТкР). В отличие от В-клеток, распознающих определенный участок молекулы антигена, Т-клетки распознают эпитоп, образованный аминокислотными остатками антигенного пептида и МНС-молекулы.

Клональная селекция – пролиферация клеток, связавших специфический антиген

Каждый лимфоцит (как В-, так и Т-популяции) генетически запрограммирован распознавать в основном только один антиген, но иммунная система в целом может специфически распознать многие тысячи разных антигенов. Поэтому лимфоциты, способные распознать тот или иной антиген, должны составлять лишь очень малую часть общей популяции. Как же в таком случае организм адекватно отвечает на инфекцию? Объяснение состоит в том, что антиген, связавшись с теми немногими клетками, которые способны его распознать, вызывает их быструю пролиферацию. В течение нескольких дней появляется достаточно клеток для адекватного иммунного ответа. Иными словами, сам антиген выбирает и способствует образованию специфических клонов клеток, связывающих этот антиген (*рис. 1.13*), – процессу, названному клональной селекцией и свойственному как В-, так и Т-клеткам.

Кажется непостижимым, каким образом иммунная система может «предугадать» репертуар специфичностей антител, которые потребуются в течение будущей жизни индивида. На самом деле все обстоит иначе. Просто иммунная система производит антитела, способные распознать огромное разнообразие антигенов, еще до встречи с ними. Многие из этих антител никогда не будут востребованы для защиты данного индивида от инфекции. Однако бесчисленное множество па-

Клональная селекция В-клеток

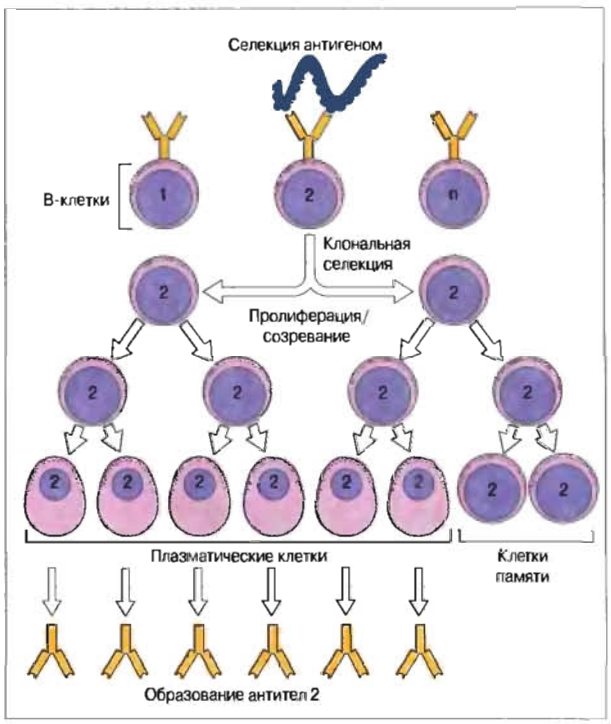


Рис. 1.13
Каждая антителообразующая клетка (В-клетка) запрограммирована синтезировать антитела только одной специфичности. Они расположены на ее поверхности в виде антигенсвязывающих рецепторов. Антиген связывается только с теми В-клетками, которые несут соответствующий поверхностный рецептор – в нашем примере В-клетка 2. Это взаимодействие стимулирует пролиферацию таких клеток и их созревание в клетки, образующие антитела, а также в долгоживущие клетки иммунологической памяти, все с той же исходной специфичностью связывания антигена.

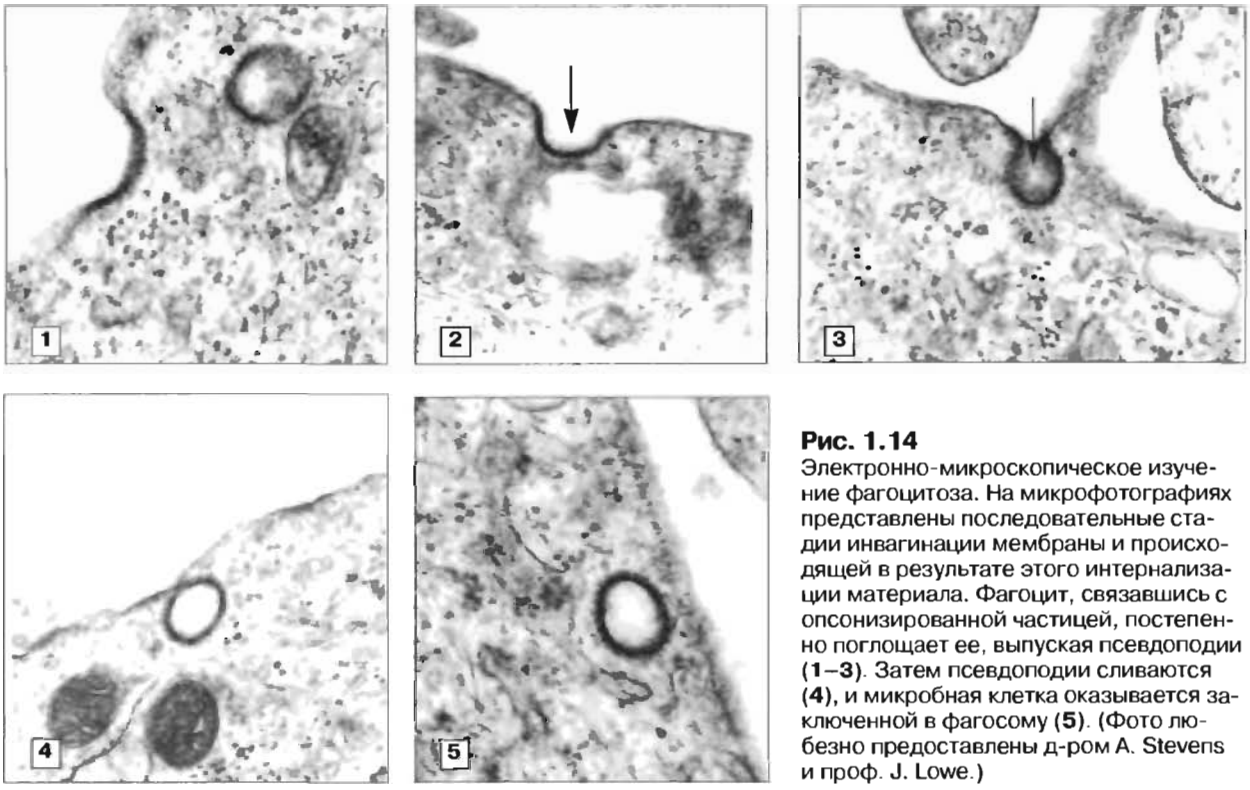


Рис. 1.14
Электронно-микроскопическое изучение фагоцитоза. На микрофотографиях представлены последовательные стадии инвагинации мембраны и происходящей в результате этого интернализации материала. Фагоцит, связавшись с опсонизированной частицей, постепенно поглощает ее, выпуская псевдоподии (**1–3**). Затем псевдоподии сливаются (**4**), и микробная клетка оказывается заключенной в фагосому (**5**). (Фото любезно предоставлены д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

тогенных микроорганизмов и их способность к изменению своего антигенного состава в результате мутаций делает наличие всех этих антител необходимым – на случай, когда они могут понадобиться.

Лимфоциты, активированные связыванием антигена, вступают в цикл клеточного деления. Они экспрессируют новые рецепторы, позволяющие им реагировать на выделяемые другими клетками цитокины, которые служат сигналами к пролиферации. Лимфоциты могут также сами начать выделение цитокинов. Обычно они проходят ряд циклов деления, прежде чем дифференцируются в зрелые клетки, снова под действием цитокинов. Например, пролиферирующие В-клетки в итоге созревают в образующие антитела плазматические клетки. Даже после устранения инфекции сохраняется некоторая часть новообразованных лимфоцитов, способных вновь активироваться, если антиген встретится им повторно. Их называют клетками памяти, так как они хранят иммунологическую память относительно отдельных антигенов. Существованием клеток памяти и обусловлен долгосрочный иммунитет к тому или иному возбудителю.

Для устранения патогенных микроорганизмов существуют различные эффекторные механизмы иммунного ответа

Иммунная система располагает множеством механизмов для разрушения патогенных микробов, и каждый из них соответствует данному типу инфекции и конкретной стадии жизненного цикла возбудителя. Эти механизмы защиты часто называют эффекторными системами.

Нейтрализация При действии одной из самых простых эффекторных систем антителам достаточно только связаться с определенным возбудителем, чтобы оказать ему противодействие. Например, антитела к наружным белкам капсида некоторых риновирусов (вызывающих простудные заболевания) могут воспрепятствовать связыванию вирусных частиц с клетками организма и их инфицированию.

Фагоцитоз Гораздо чаще антитела реализуют свой эффект, активируя комплемент или действуя в качестве опсонинов, усиливающих поглощение микробов фагоцитами. Связавшись с опсонизированным микробом, фагоцитарная клет-

ка поглощает его, окружая выступающими псевдоподиями. Псевдоподии сливаются, и микроб оказывается заключенным (эндоцитированным, интернализованным) в фагосому (*рис. 1.14*). Перерабатывают фагоциты поглощенный материал поразному. Макрофаги, например, восстанавливают молекулярный кислород с образованием бактерицидных реакционноспособных метаболитов кислорода, которые секретируются в фагосому. Нейтрофилы содержат лактоферрин, который хелатирует железо, лишая некоторые бактерии этого необходимого элемента питания. Наконец, с фагосомой сливаются гранулы и лизосомы, наполняя возникшую фаголизосому ферментами, разрушающими ее содержимое (*рис. 1.15*). Более полно механизмы фагоцитоза описаны в гл. 10 и 17.

Цитотоксические реакции и апоптоз Цитотоксические реакции – это эффекторные иммунные механизмы, направленные против целых клеток, обычно против тех, которые слишком крупны для фагоцитоза. Такая клетка-мишень распознается либо специфичными антителами, взаимодействующими с компонентами ее поверхности, либо Т-клетками посредством антигенспецифичных ТкР. В отличие от фагоцитоза, при котором содержимое лизосом изливается в фагосому, в цитотоксической реакции атакующая клетка направляет содержимое своих гранул наружу, к клетке-мишени. Гранулы цитотоксических Т-клеток содержат соединения, называемые перфоринами, которые способны создавать каналы в наружной мембране клеток-мишеней. (Подобно этому, антитела, связавшись с поверхностью клетки-мишени, могут привлечь комплемент для перфорирования ее цитоплазматической мембраны.) Некоторые цитотоксические клетки способны также своим сигналом включать программу саморазрушения клетки-мишени – процесс апоптоза.

ВОСПАЛЕНИЕ

Клетки иммунной системы в норме рассеяны по всем тканям тела, но если возникает очаг инфекции, эти клетки и их продукты выделения концентрируются именно в нем. Обеспечивающий это процесс называют воспалительной реакцией. Для воспаления характерны три основных проявления:

- увеличивается кровоснабжение инфицированной области;

Фагоцитоз

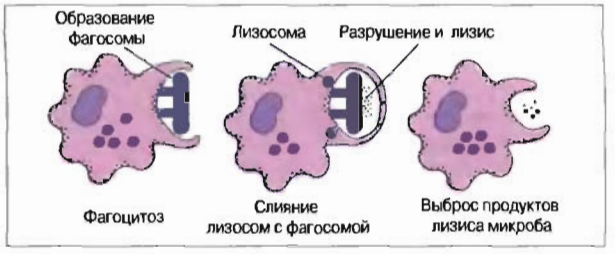


Рис. 1.15
Фагоциты поступают в очаг воспаления благодаря хемотаксису. Затем их поверхностные неспецифические рецепторы связываются с микробами, либо, если микробная поверхность опсонизирована фрагментом третьего компонента комплемента (C3b) и/или антителами, связывание происходит с участием фагоцитарных рецепторов для C3b и/или Fc (см. *рис. 1.10*). Когда в результате связывания фагоцит активируется, он окружает инфекционный агент псевдоподиями, заключая в фагосому; при этом происходит образование бактерицидных метаболитов кислорода. Как только микроб поступит внутрь клетки, лизосомы сливаются с фагосомой, образуя фаголизосому, в которой инфекционный агент уничтожается. Остатки микроба могут быть выделены клеткой наружу.

- благодаря сокращению эндотелиальных клеток, возрастает проницаемость кровеносных капилляров; за счет этого из капилляров могут выходить более крупные, чем в обычном случае, молекулы и таким образом растворимые медиаторы иммунитета достигают очага инфекции;
- лейкоциты мигрируют из венул в окружающие ткани. В самом раннем периоде воспаления в очаге инфекции больше всего нейтрофилов, но позднее к нему мигрируют также моноциты и лимфоциты.

Хемотаксис и миграция клеток Ключевой момент миграции клеток – это их прилипание (распластывание, адгезия) к сосудистому эндотелию воспаленных тканей в результате взаимодействия особых молекул на поверхности лейкоцитов и активированных эндотелиальных клеток (*рис. 1.16*). Проникнув в ткани, клетки мигрируют в направлении очага инфекции под влиянием химического притяжения, называемого хемотаксисом.

Фагоцитам свойственно активно мигрировать по градиенту концентрации определенных (хемотаксических) соединений. Особо сильный хемотаксис вызывается фрагментом одного из ком-

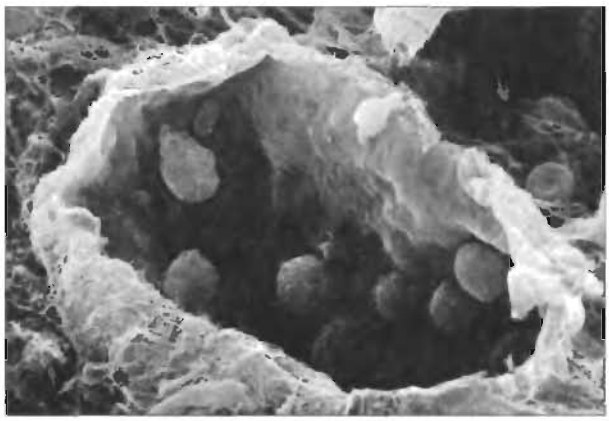


Рис. 1.16
На этой микрофотографии, полученной с помощью сканирующего электронного микроскопа, видны лейкоциты, прилипшие к стенке венулы в воспаленной ткани. (х 16 000. Фото любезно предоставлено проф. M. J. Karnovsky.)

понентов комплемента, C5a (*рис. 1.17*), привлекающего нейтрофилы и моноциты. При нанесении на кожу in vivo препарата очищенного C5a можно вскоре наблюдать прилипание нейтрофилов к эндотелию расположенных вблизи венул. Проскальзывая затем между эндотелиальными клетками, нейтрофилы проникают через базальную мембрану венул в ткани. Этот процесс, названный диапедезом, подробно описан в гл. 5.

ЗАЩИТА ОТ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ИНФЕКЦИИ

Иммунологические реакции на внеклеточную и внутриклеточную инфекцию принципиально различны. При реакции на патогенные микробы, размножающиеся внеклеточно, иммунная система стремится разрушить сами микроорганизмы и нейтрализовать токсическое действие продуктов их метаболизма. При реакции же на микробы, размножающиеся внутри клеток, возможны два альтернативных механизма – цитотоксическое действие Т-лимфоцитов, т. е. разрушение инфицированных клеток, либо активация Т-лимфоцитами этих клеток для уничтожения присутствующих в них микробов. Последнее происходит, например, когда Т-лимфоциты выделяют цитокины, стимулирующие разрушение макрофагами поглощенных микробов.

Поскольку для многих патогенных микроорганизмов характерны и внутриклеточная, и внеклеточная стадии инфекции, в разные ее моменты эффективны различные механизмы иммунного ответа. Например, вирус полиомиелита распространяется с кровотоком, чтобы инфицировать клетки-мишени. На этой ранней стадии инфекции особенно эффективны специфичные антитела. Однако, чтобы ликвидировать развившуюся инфекцию, каждую клетку организма, инфицированную вирусом, должны уничтожить цитотоксические Т-лимфоциты. Следовательно, роль антител состоит в том, чтобы ограничить распространение инфекции и предупредить по-

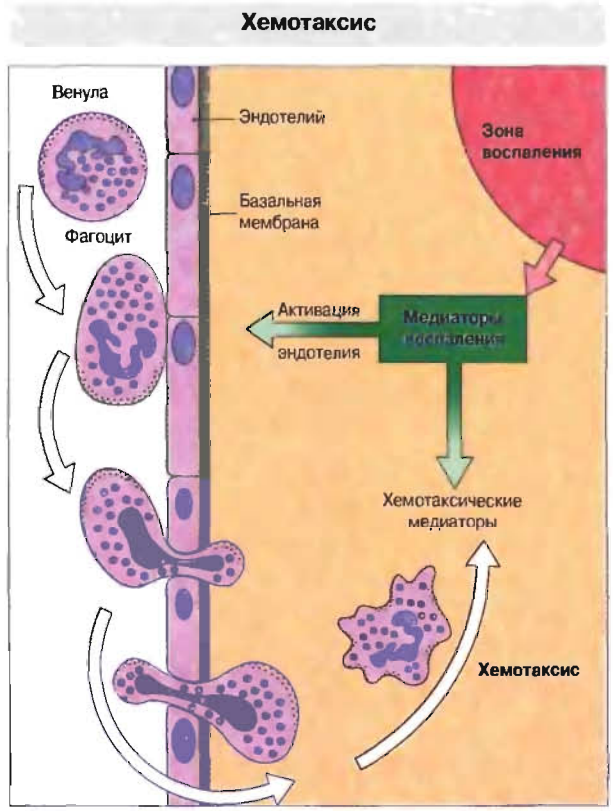


Рис. 1.17
Инфекционный агент вызывает в зоне воспаления повреждение тканей и активацию комплемента. Это в свою очередь приводит к высвобождению медиаторов воспаления (например, одного из наиболее важных хемотаксических пептидов C5a – фрагмента пятого компонента комплемента). Медиаторы воспаления диффундируют к близлежащим венулам, где вызывают прилипание фагоцитов к эндотелию. Прилипшие фагоциты проникают своими псевдоподиями между эндотелиальными клетками и растворяют базальную мембрану. Затем они покидают кровеносные сосуды и движутся по градиенту концентрации хемотаксических медиаторов к зоне воспаления (хемотаксис).

Реакция на внеклеточные и внутриклеточные возбудители инфекции

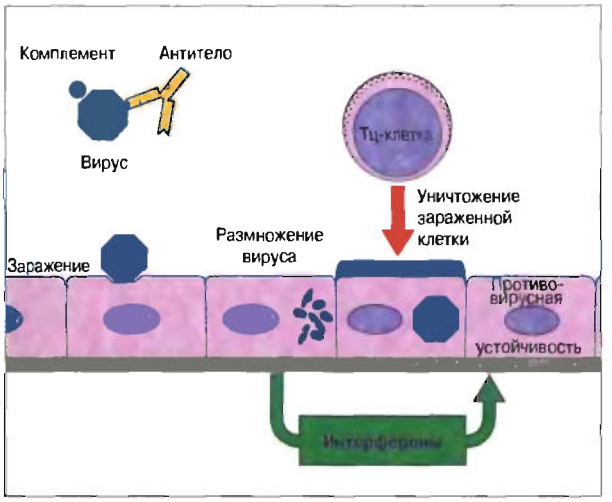


Рис. 1.18
При разных типах инфекции эффективны различные эффекторные механизмы иммунного ответа, что проиллюстрировано здесь на примере вирусной инфекции. Антитела и комплемент способны блокировать внеклеточную фазу жизненного цикла вируса и стимулировать фагоцитоз вируса. Выделяемые инфицированными клетками интерфероны могут стать сигналом, вызывающим у незараженных клеток состояние противовирусной устойчивости. Вирусы размножаются только в живых клетках. Цитотоксические Т-клетки способны распознать и разрушить зараженные клетки, прежде чем произойдет массовая репликация вируса.

вторную инфекцию тем же вирусом, тогда как цитотоксические Т-клетки важны для воздействия на инфицированные клетки (*рис. 1.18*). Это важно учитывать при разработке эффективных вакцин.

ВАКЦИНАЦИЯ

Наиболее быстрое и успешное применение результаты иммунологических исследований нашли в области вакцинопрофилактики инфекций. Принцип вакцинации основан на двух ключевых характеристиках приобретенного иммунитета, а именно на иммунологической специфичности и памяти. Благодаря клеткам памяти иммунная система способна гораздо сильнее отвечать на повторную встречу с данным антигеном. Такой вторичный ответ развивается быстрее и более эффективен, чем первичный.

При создании вакцины необходимо так изменить сам микроб или его токсин, чтобы они стали безвредными, но при этом не потеряли антигенности. Это возможно, поскольку антитела и Т-клетки распознают отдельные участки антигенов, эпитопы, а не целый микроорганизм или токсин. Рассмотрим, например, вакцинацию против дифтерии. Бактерия – возбудитель дифтерии образует токсин, разрушающий многие, в том числе мышечные клетки. Этот токсин можно модифицировать путем обработки формальдегидом так, что он, сохранив эпитопы, утратит свою токсичность; полученный анатоксин используется как дифтерийная вакцина (*рис. 1.19*). Другой подход состоит в том что инфекционный агент, например вирус полиомиелита, аттенуируют (ослабляют) настолько, что он утрачивает патогенность, сохранив антигенность. Проблемы вакцинации более подробно рассмотрены в гл. 19.

Принцип вакцинации

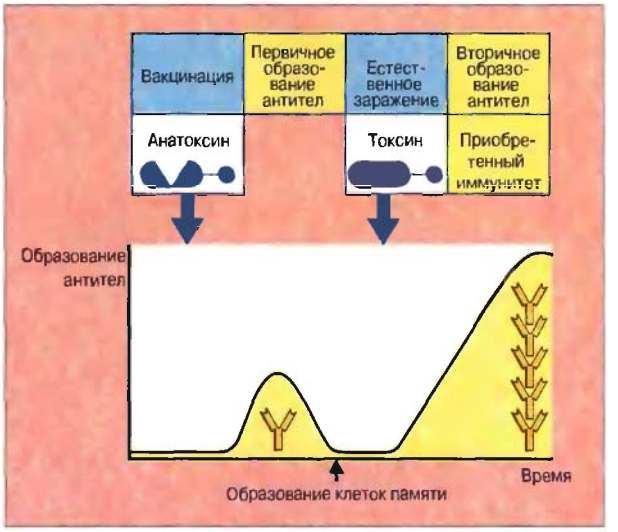


Рис. 1.19
Принцип вакцинации, иллюстрируемый на примере иммунизации дифтерийным анатоксином. Путем химической модификации дифтерийный токсин превращают в анатоксин, сохранивший эпитопы токсина, но утративший токсичность. Вакцинация таким анатоксином вызывает первичное образование антител к эпитопам токсина. В случае последующего естественного заражения дифтерией токсин рестимулирует В-клетки памяти, вызывая вторичное, более быстрое и усиленное образование антител, нейтрализующих токсин.

ИММУНОПАТОЛОГИЯ

Из описанного выше иммунная система предстает как безусловное благо и исключительно полезное приобретение, поскольку при недостатке любой ее функции организм подвергается серьезной угрозе инфекции, несмотря на способность других компонентов системы частично восполнять такую недостаточность. Совершенно очевидно также, что иммунная система в ее современной форме сформировалась в результате филогенетического развития, происходившего под сильным давлением отбора, связанного с патогенными микробами. Однако в некоторых случаях иммунная система сама вызывает заболевания или иные нежелательные последствия (*рис. 1.20*).

Патология иммунной системы может развиваться по одному из трех направлений.

Парадоксальная реакция на собственные антигены: аутоиммунопатология В норме иммунная система распознает все чужеродные антигены и реагирует против них, при этом ткани собственного тела она распознает как «свое», не давая на них никакой реакции. Механизмы, позволяющие отличать «свое» от «не-своего», описаны в гл. 14. Если же происходит реакция иммунной системы на компоненты собственного организма, возникает аутоиммунное заболевание, например ревматоидный артрит и гемолитическая анемия (см. гл. 28).

Неэффективный иммунный ответ: иммунодефицит Недостаток функции любого элемента иммунной системы лишает организм способности адекватно сопротивляться инфекции. Эта форма патологии названа иммунодефицитом (иммунологической недостаточностью). Некоторые виды подобной патологии относятся к наследственным нарушениям и начинают проявляться вскоре после рождения, тогда как другие – это приобретенные формы иммунодефицита, например вызванные, подобно синдрому приобретенного иммунодефицита (СПИД), инфекцией (см. гл. 21–22).

Иммунный ответ чрезмерной интенсивности: гиперчувствительность Иногда иммунологические реакции несоразмерны тому нарушению, которое может вызвать патогенный агент. Кроме того, иммунная система способна давать ответ и на совсем безвредные антигены, например на питательные вещества. Подобные иммунные реакции могут причинить больший вред, чем патогенный

Патология иммунной системы

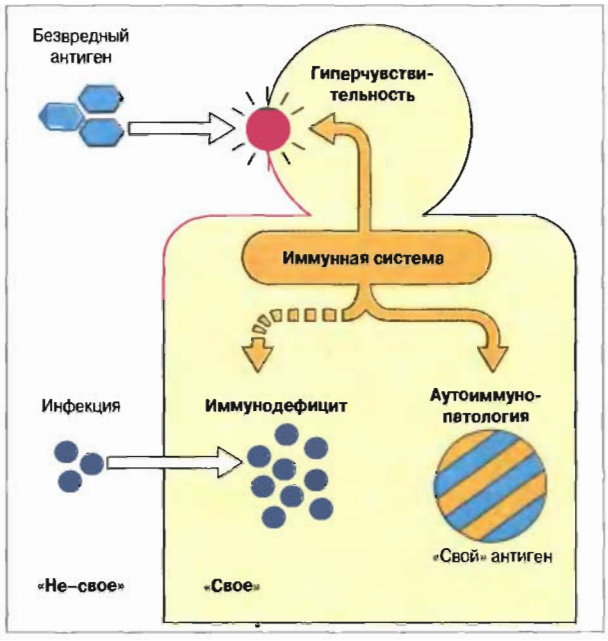


Рис. 1.20
Известны три основные формы патологии иммунной системы: гиперчувствительность, иммунодефицит и аутоиммунопатология. Первые две формы обусловлены соответственно чрезмерно сильным либо слишком слабым иммунным ответом. Причина аутоиммунопатологии лежит в неспособности отличать «свое» от «несвоего» при иммунологическом распознавании.

микроб или антиген, и в этом случае мы говорим о гиперчувствительности (см. гл. 23–26). Например, поверхностные компоненты пыльцы растений у некоторых индивидов распознаются как антигены, вызывая симптомы сенной лихорадки или бронхиальной астмы.

Наконец, в медицинской практике встречаются ситуации, когда иммунная система функционирует нормально, но нежелателен иммунный ответ, связанный с применением специфических методов лечения. Наиболее важное значение это имеет при переливании крови и пересадке органов и тканей. В этих случаях необходимо тщательно подбирать совместимые с реципиентом донорские ткани, так чтобы компоненты донорской крови или трансплантата не вызывали атаку иммунной системы реципиента. Однако эти проблемы – всего лишь малая плата за обладание важнейшей системой организма, которая жизненно необходима для защиты человека от инфекции.

Вопросы для размышления

- В клинической практике иногда встречаются больные с генетически обусловленным дефектом созревания лимфоцитов. Как, по-вашему, он будет проявляться?
- Почему иммунная система формировалась с образованием такого множества разнообразных механизмов защиты от микробов?
- Организм может синтезировать антитела, которые не распознают ни один из известных возбудителей. Какое это дает преимущество?
- При исследовании иммунологических функций индивида часто необходимо выделить из крови лимфоциты или фагоциты. Каковы (в общих чертах) функции этих клеток?

2 Клетки, осуществляющие иммунный ответ

- **Многие виды клеток различного происхождения** предназначены для выполнения специализированных функций в иммунном ответе.
- **B- и Т-лимфоциты** экспрессируют на своей поверхности антигенсвязывающие рецепторы и другие молекулы (маркеры), необходимые для осуществления разнообразных функций.
- Для Т-клеточного ответа требуется представление антигенов **антигенпрезентирующими клетками.** В-клетки способны распознавать нативные антигены, не процессированные и не представленные другими клетками.
- **Различные функциональные субпопуляции Т-лимфоцитов** проявляют хелперную, супрессивную или цитотоксическую активность.
- **Фагоцитарные клетки, несущие специфические поверхностные маркеры, циркулируют с кровотоком** (моноциты и гранулоциты) и присутствуют в тканях (например, клетки Купфера в печени).
- **Эозинофилы, базофилы, тучные клетки и тромбоциты** принимают участие в воспалительной реакции.

Предшественниками клеток иммунной системы служат плюрипотентные стволовые клетки, которые проходят два основных пути дифференцировки (*рис. 2.1*):

- лимфопоэз – образование лимфоцитов;
- миелопоэз – образование фагоцитов (моноцитов, макрофагов и гранулоцитов), а также других клеток.

Происхождение клеток, осуществляющих иммунный ответ

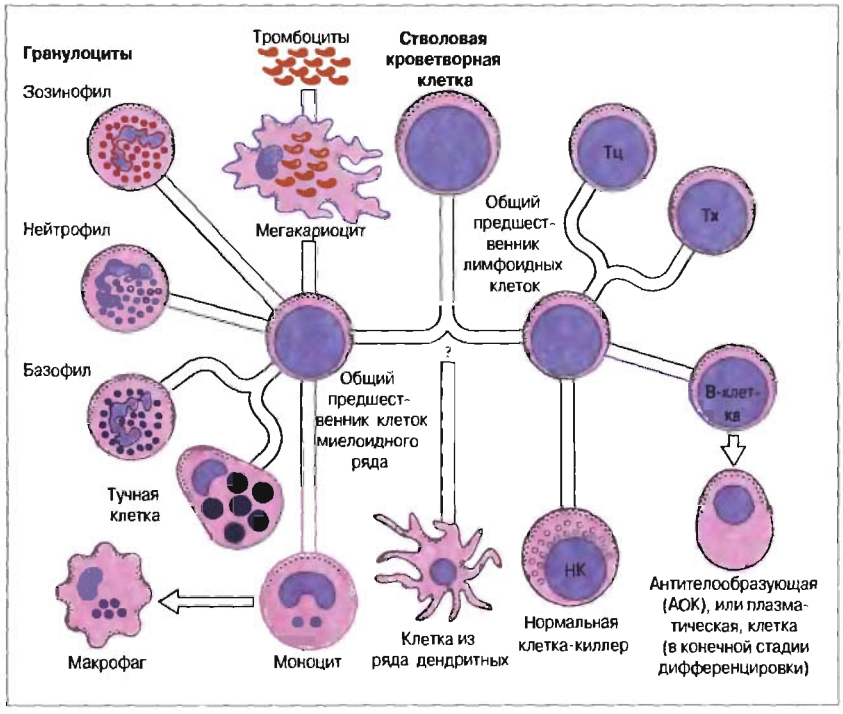


Рис. 2.1
Все клетки гемопоэтического происхождения образуются из плюрипотентных стволовых клеток, дающих начало клеткам двух основных направлений кроветворения: лимфоидного и миелоидного. В зависимости от микроокружения клетка-предшественник лимфоидного ряда может дифференцироваться либо в Т-, либо в В-клетку. У млекопитающих Т-клетки созревают в тимусе, тогда как В-клетки развиваются сначала в печени плода, а после рождения – в костном мозге. Точное происхождение отдельных видов антигенпрезентирующих клеток (АПК) остается пока неизвестным, хотя в общем все они образуются из гемопоэтических стволовых клеток. Нормальные клетки-киллеры (НК) происходят, вероятно, из общих предшественников лимфоидных клеток, созревающих в печени плода, а после рождения в костном мозге. Предшественники клеток миелоидного ряда дифференцируются в зрелые (коммитированные) клетки, изображенные слева. Эозинофилы, нейтрофилы и базофилы объединены под групповым названием гранулоциты.

Лимфоциты могут относиться к Т- , В- и НК-клеткам

Две главные популяции лимфоцитов названы Т-клетками и В-клетками. Т-клетки развиваются из своих предшественников в тимусе, тогда как В-клетки у млекопитающих сначала дифференцируются в печени плода, а после рождения – в красном костном мозге. У птиц дифференцировка В-клеток происходит в уникальном для этого класса позвоночных органе – фабрициевой сумке. Органы, где происходит дифференцировка лимфоцитов, относятся к центральным, или первичным, лимфоидным органам. Именно в них предшественники В- и Т-лимфоцитов приобретают способность распознавать антигены благодаря экспрессии антигенспецифичных поверхностных рецепторов.

Лимфоциты третьей популяции, не экспрессирующие антигенсвязывающих рецепторов, названы нормальными (естественными) клетками-киллерами (НК). Они происходят из предшественников лимфоидных клеток в костном мозге и функционально отличаются от Т- и В-клеток своей способностью лизировать in vitro клетки определенных опухолевых линий (но не свежеудаленных опухолей) без предварительной иммунизации. Морфологически это большие зернистые (гранулярные) лимфоциты (БГЛ) (см. ниже).

В качестве фагоцитов могут функционировать моноциты/макрофаги или полиморфноядерные гранулоциты

Подобно лимфоцитам, фагоциты также представлены двумя популяциями: моноцитами/макрофагами и полиморфноядерными гранулоцитами. У последних ядро неправильной формы, сегментированное (полиморфное). В зависимости от характера окрашивания цитоплазматических гранул кислыми и основными красителями гранулоциты относят к нейтрофилам, базофилам или эозинофилам. Эффекторные функции этих трех типов клеток различны. Наиболее многочисленны нейтрофилы, называемые также полиморфноядерными нейтрофилами (ПМН) и составляющие большинство лейкоцитов (белых кровяных телец) в циркулирующей крови (примерно 60–70% у взрослого человека).

Вспомогательные клетки (А-клетки)

Кроме лимфоцитов и фагоцитов, к компонентам иммунной системы относится ряд вспомогательных клеток.

- Антигенпрезентирующие клетки (АПК) – представляют антигены Т- и В-клеткам.
- Тромбоциты – участвуют в свертывании крови и в воспалительных реакциях.
- Тучные клетки, структурно и функционально сходные с базофильными полиморфноядерными гранулоцитами, — принимают участие в определенных типах воспаления (см. гл. 23).
- Эндотелиальные клетки – экспрессируют молекулы, способные узнавать циркулирующие с кровотоком лейкоциты, обеспечивая таким образом их адгезию – прилипание, а также распределение в сосудистом ложе.

ЛИМФОИДНЫЕ КЛЕТКИ

Ежесуточно в первичных (центральных) лимфоидных органах – тимусе и постнатальном костном мозге – образуется значительное количество лимфоцитов. Часть этих клеток мигрирует из кровотока во вторичные лимфоидные ткани – селезенку, лимфатические узлы и лимфоидные образования слизистых оболочек. В организме взрослого человека содержится примерно 10^{12} лимфоидных клеток и лимфоидная ткань в целом составляет приблизительно 2% общей массы тела. При этом на лимфоидные клетки приходится примерно 20% циркулирующих с кровотоком лейкоцитов. Многие зрелые лимфоидные клетки относятся к долгоживущим и могут многие годы существовать в качестве клеток иммунологической памяти.

Лимфоциты морфологически разнообразны

В обычном мазке крови лимфоциты различаются как по размерам (диаметр 6–10 мкм), так и по морфологии. Варьирует соотношение величина ядра : величина цитоплазмы (Я:Ц), а также форма самого ядра. В цитоплазме некоторых лимфоцитов могут содержаться азурофильные гранулы (*рис. 2.2*).

При световой микроскопии мазков крови, окрашенных, например, гематологическим красителем Гимза, можно обнаружить два морфологически различных типа циркулирующих лимфоцитов: первый – относительно мелкие клетки, в типичном случае лишенные гранул, с высоким соотношением Я:Ц – и второй – более крупные клетки с меньшим соотношением Я:Ц, содержащие в цитоплазме гранулы и известные как большие гранулярные лимфоциты. (Не следует путать БГЛ с гранулоцитами, моноцитами или их пред-

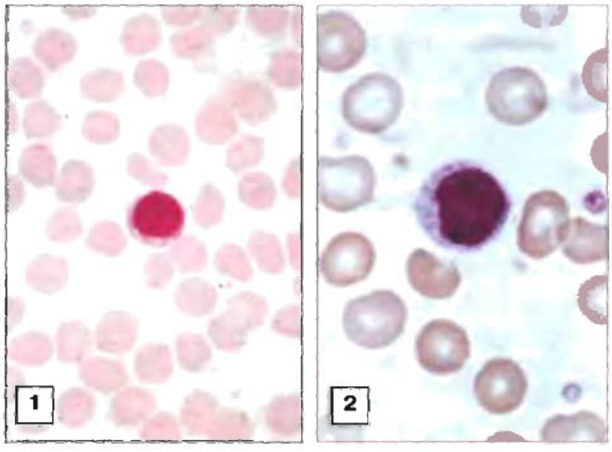


Рис. 2.2
Морфологическое разнообразие лимфоцитов. **1.** Малый лимфоцит имеет округлое ядро, высокое ядерноцитоплазматическое (Я:Ц) соотношение и не содержит гранул в цитоплазме. **2.** Большой гранулярный лимфоцит имеет меньшее соотношение Я : Ц, вогнутое ядро и азурофильные гранулы в цитоплазме. Окраска по Гимзе. (Фото любезно предоставлено дром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

шественниками, также содержащими азурофильные гранулы.)

Покоящиеся Т-клетки крови Большая часть их экспрессирует αβ-Т-клеточные рецепторы (αβ-Т-клетки; см. ниже) и может иметь один из двух описанных выше типов морфологии. Большинство (95%) хелперных Т-клеток (Тх) и часть (50%) цитотоксических Т-лимфоцитов (Тц) относятся к малым лимфоцитам, лишенным гранул и имеющим высокое соотношение Я:Ц. Кроме того, в их цитоплазме присутствуют особая структура, названная тельцем Голла, – скопление первичных лизосом возле липидной капли. Тельце Голла легко выявить при электронной микроскопии (*рис. 2.3*) или цитохимически, методом определения лизосомных ферментов. Менее 5% Тх-клеток и примерно половина Тц имеют другой тип морфологии, характерный для БГЛ, с рассеянными по цитоплазме первичными лизосомами и хорошо развитым комплексом Гольджи (*рис. 2.4*). Интересно, что у мыши нет цитотоксических Т-клеток, сходных по морфологии с БГЛ.

Признаки больших гранулярных лимфоцитов свойственны также еще одной субпопуляции Т-лимфоцитов, а именно Т-клеткам с γδ-рецепторами (γδ-Т-клетки). В лимфоидных тканях эти клетки имеют дендритную (ветвистую) морфологию (*рис. 2.5*); при культивировании in vitro они способны прикрепляться к подложке, принимая в результате разнообразную форму (*рис. 2.6*).

Неактивированные В-клетки крови Эти клетки не содержат тельца Голла и морфологически не сходны с большими гранулярными лимфоцитами; их цитоплазма в основном заполнена рассеянными монорибосомами (*рис. 2.7*). В кровотоке иногда можно наблюдать активированные В-клетки с развитым шероховатым эндоплазматическим ретикулумом (*рис. 2.8*).

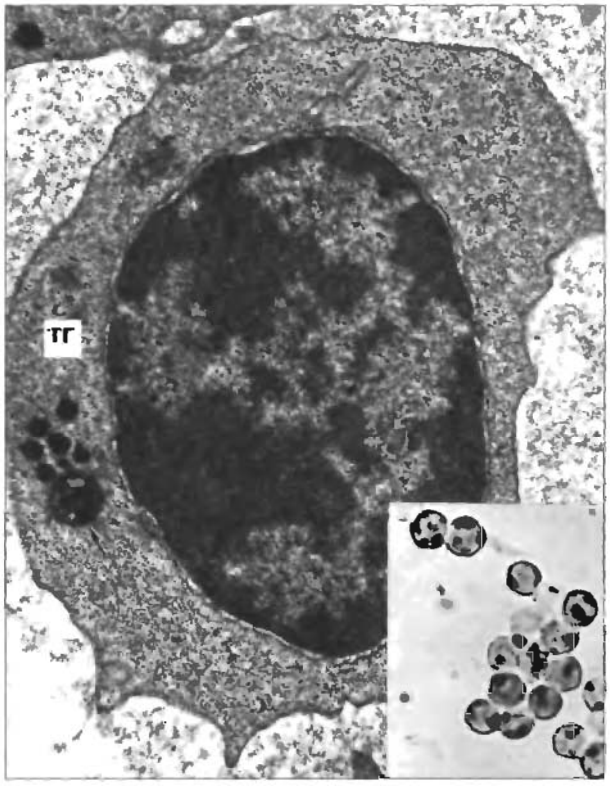


Рис. 2.3
Ультраструктура негранулярных Т-клеток. На электронной микрофотографии видно характерное для морфологии большинства покоящихся Т-клеток тельце Голла (ТГ). Оно состоит из первичных лизосом и липидной капли (показана стрелкой). × 10 500. Врезка: В световом микроскопе при окраске на неспецифические эстеразы тельце Голла выглядит как гомогенное пятно. × 400. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

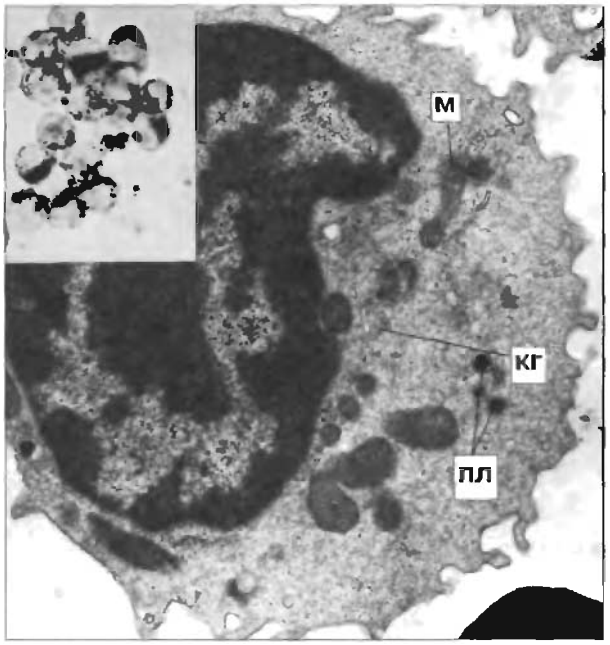


Рис. 2.4
Ультраструктура гранулярных Т-клеток. Для этих клеток характерно наличие рассеянных по цитоплазме и частично сосредоточенных вблизи хорошо развитого комплекса Гольджи (КГ) электроноплотных, не содержащих пероксидазу гранул (первичных лизосом, ПЛ) и большое количество митохондий (М). × 10 000. Врезка: Для световой микроскопии гранулы в Т-клетках можно выявить цитохимически с помощью метода выявления кислой фосфатазы. × 400. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

НК-клетки Нормальные киллерные клетки, подобно γδ-Т-клеткам и одной из субпопуляций Тц, имеют морфологию БГЛ. Однако при этом в их цитоплазме больше азурофильных гранул, чем у гранулярных Т-клеток.

Лимфоциты экспрессируют особые у каждой субпопуляции поверхностные маркеры

На поверхности лимфоцитов (как и других лейкоцитов) присутствует множество разнообраз-

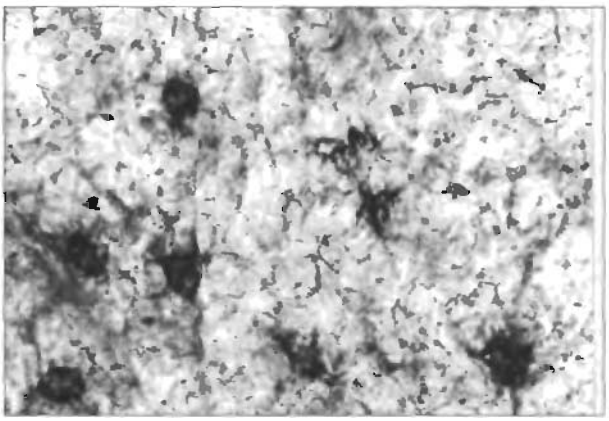


Рис. 2.5
Дендритная морфология γδ-Т-клеток в ткани миндалин. Эти γδ-Т-клетки расположены преимущественно в межфолликулярных Т-зависимых зонах. Заметна их разветвленная форма. Окраска с применением γδ-Т-специфичных моноклональных антител, конъюгированных с флуорохромом и пероксидазой. × 900. (*Eur. J. Immunol.* 1991. **21**: 173. Фото любезно предоставлено д-ром A. Favre.)



Рис. 2.6
Морфологические изменения клонированных γδ-Т-клеток при культивировании in vitro. 1. Клетки прилипают к подложке таким же образом, как макрофаги. × 6000. **2.** Клетки вытягиваются, образуя уроподы с выступающими на полюсах филоподиями. × 2000. **3.** На концах филоподий формируются участки адгезивного контакта. ×20 000. *Eur. J. Immunol.* 1991. **21**: 173. Фото любезно предоставлено д-ром G. Arancia и д-ром W. Malorni.

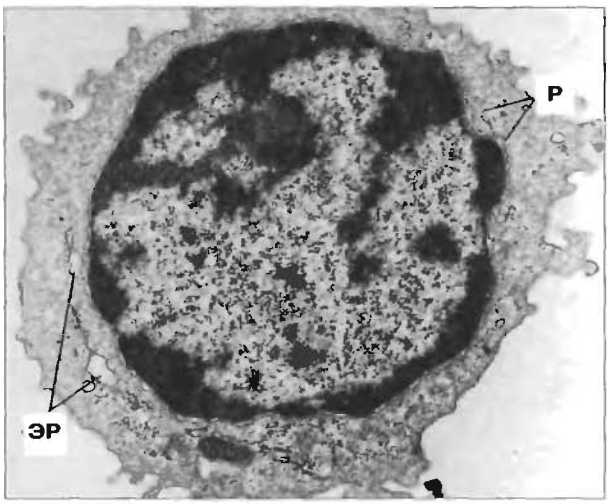


Рис. 2.7
Ультраструктура покоящихся В-клеток. В цитоплазме таких клеток отсутствуют тельца Голла и гранулы, но имеются рассеянные рибосомы (Р) и канальцы шероховатого эндоплазматического ретикулума (ЭР). После активации в В-клетках происходит ассоциация комплекса Гольджи с лизосомами. × 11 500.

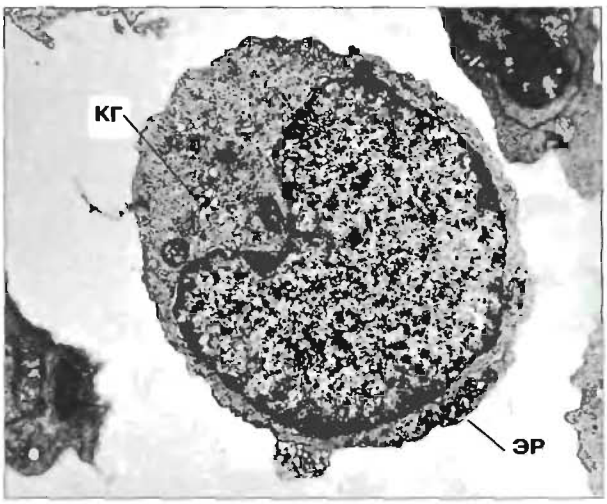


Рис. 2.8
Ультраструктура В-лимфобластов. Главный признак активации В-клеток – развитие структур для синтеза иммуноглобулинов: шероховатого эндоплазматического ретикулума (ЭР), свободных полирибосом и комплекса Гольджи (КГ), который принимает участие в гликозилировании иммуноглобулинов. × 7500.

ных молекул, которые могут служить метками (маркерами) различных субпопуляций. Значительная часть этих клеточных маркеров в настоящее время легко идентифицируется с помощью специфических моноклональных антител. Разработана систематизированная номенклатура маркерных молекул; в ней группы моноклональных антител, каждая из которых специфически связывается с определенной маркерной молекулой, обозначены символом CD (Cluster Designation – групповая метка). За основу CD-номенклатуры принята специфичность прежде всего мышиных моноклональных антител к лейкоцитарным антигенам человека. В создании этой классификации участвуют многие специализированные лаборатории разных стран. Для ее обсуждения проведена серия международных рабочих встреч, на которых удалось определить характерные наборы образцов моноклональных антител, связывающихся с различными популяциями лейкоцитов, а также молекулярные массы выявляемых при этом маркеров. Моноклональные антитела совпадающей специфичности связывания объединяют в одну группу, присваивая ей номер в системе CD. Однако в последнее время принято таким образом обозначать не группы антител, а маркерные молекулы, распознаваемые данными антителами (Перечень CD-маркеров приведен в приложении.)

В дальнейшем молекулярные маркеры стали классифицировать в соответствии с информацией, которую они несут об экспрессирующих их клетках, например:

- популяционные маркеры, которые служат характерным признаком данного цитопоэтического ряда, или линии; пример – маркер CD3, выявляемый только на Т-клетках;
- дифференцировочные маркеры, экспрессируемые временно, в процессе созревания; пример – маркер CD1, который присутствует на развивающихся тимоцитах, но не на зрелых Т-клетках;
- маркеры активации, такие как CD25 – низкоаффинный Т-клеточный рецептор для фактора роста (ИЛ-2), экспрессируемый только на Т-клетках, активированных антигеном.

Иногда такой подход к классификации маркеров весьма полезен, однако не всегда он возможен. У некоторых популяций клеток маркер активации и маркер дифференцировки – это одна и та же молекула. Например, CD10, присутствующий на незрелых В-клетках, исчезает при созревании, но появляется вновь при активации (*см. рис. 12.14*).

Кроме того, маркеры активации могут постоянно присутствовать на клетках в низкой концентрации, но в более высокой – после активации. Так, под действием ИФγ возрастает экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости (MHC) класса II на моноцитах.

Клеточные маркеры образуют несколько семейств

Компоненты клеточной поверхности относятся к различным семействам, гены которых произошли, вероятно, от нескольких предковых. Маркерные молекулы из разных семейств различаются по структуре и образуют следующие основные группы:

- суперсемейство иммуноглобулинов, включающее молекулы, близкие по строению к антителам; к нему относятся CD2, CD3, CD4, CD8, CD28, молекулы MHC классов I и II, а также многие другие;
- семейство интегринов – гетеродимерных молекул, образованных α- и β-цепями; существует несколько подсемейств интегринов; все члены одного подсемейства имеют общую β-цепь, но разные, уникальные в каждом случае, α-цепи; в одном из подсемейств (β_2-интегрины) β-цепь представляет собой маркер CD18. В комбинации с CD11a, CD11b, CD11c или αD он образует соответственно лимфоцитарные функциональные антигены LFA-1, Mac-1 (CR3) и p150, 95 (CR4) и молекулы клеточной поверхности $\alpha D\beta_2$, часто выявляемые на лейкоцитах. У второго подсемейства (β_1-интегрины) β-цепь представляет собой маркер CD29; в сочетании с различными α-цепями он образует маркеры поздней стадии активации (VLAs, от very late antigens);
- селектины (E, L и P), экспрессируемые на лейкоцитах (L) или на активированных клетках эндотелия (E и P). Они обладают лектиноподобной специфичностью в отношении сахаров в составе высокогликозилированных мембранных гликопротеинов; к селектинам относится, например, CD43;
- протеогликаны (типичный маркер – CD44), имеющие ряд глюкозаминогликановых участков связывания; пример – хондроитинсульфат.

Другие семейства клеточных маркеров – это суперсемейство рецепторов для фактора некроза опухолей (ФНО) и фактора роста нервов (ФРН), суперсемейство лектинов С-типа, включающее, например, CD23, а также суперсемейство многодоменных трансмембранных рецепторных белков, в которое входит рецептор для ИЛ-6.

Следует подчеркнуть, что маркеры, экспрессируемые лимфоцитами, можно обнаружить и на клетках иных линий. Так, CD44 часто выявляется на клетках эпителия. Молекулы клеточной поверхности можно выявить с помощью флуоресцирующих антител, используемых в качестве зондов (*рис. 2.9*). На этом подходе основан метод проточной иммунофлуоресцентной цитометрии, позволяющей сортировать и подсчитывать клетки в зависимости от их размеров и параметров флуоресценции (см. гл. 29). С помощью этого метода удается проводить детальную сортировку популяций лимфоидных клеток.

Т-клетки

Т-клетки различаются по своим антигенраспознающим рецепторам

Маркером, характеризующим линию Т-клеток, служит Т-клеточный рецептор для антигена (ТкР). Имеется два различных типа ТкР, и тот и другой – гетеродимеры из двух соединенных дисульфидными связями полипептидных цепей. ТкР первого типа образован цепями α и β, второго типа, сходный по структуре – цепями γ и δ. Оба рецептора ассоциированы на клеточной поверхности с пятью полипептидами CD3-комплекса, образуя вместе с ним рецепторный комплекс Т-клетки (ТкР–CD3-комплекс; см. гл. 7). Пример-

Иммунофлуоресцентное выявление Т-клеточных маркеров

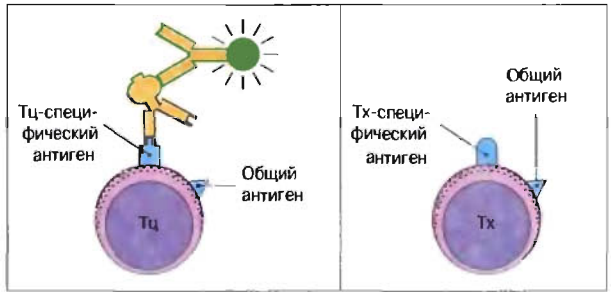


Рис. 2.9
Мышиные моноклональные антитела к специфическому антигену цитотоксических Т-лимфоцитов (Тц) (например, к CD8) связываются именно с Тц, а не с хелперными Т-клетками (Тх). Связавшиеся антитела легко выявить с помощью конъюгированных с флуорохромом антител к иммуноглобулинам мыши. Этот метод позволяет идентифицировать и определять количество Т-клеток, относящихся к разным субпопуляциям.

но 90–95% Т-клеток в крови представляют собой αβ-Т-клетки, остальные 5–10% – γδ-Т-клетки.

αβ-Т-клетки различаются в свою очередь по экспрессии CD4 или CD8

αβ-Т-клетки подразделяются на две различные, неперекрывающиеся субпопуляции: клетки одной из них несут маркер CD4 и в основном «помогают» в осуществлении иммунного ответа или «индуцируют» его (Тх), клетки другой несут маркер CD8 и обладают преимущественно цитотоксической активностью (Тц). Т-клетки $CD4^+$ распознают антигены, к которым они специфичны, в ассоциации с молекулами МНС класса II, тогда как Т-клетки $CD8^+$ способны узнавать антигены в ассоциации с молекулами МНС класса I (см. гл. 7). Таким образом, возможность взаимодействия Т-клетки с клеткой другого типа зависит (ограничена, или рестриктирована) от присутствия на первой маркера CD4 или CD8 (*рис. 2.10*). Небольшая часть αβ-Т-клеток не экспрессирует ни CD4, ни CD8. Подобным же образом «дважды отрицательны» большинство циркулирующих γδ-Т-клеток, хотя некоторые из них все же несут CD8. Напротив, большая часть γδ-Т-клеток в тканях экспрессирует этот маркер.

Функционально различные субпопуляции Т-клеток

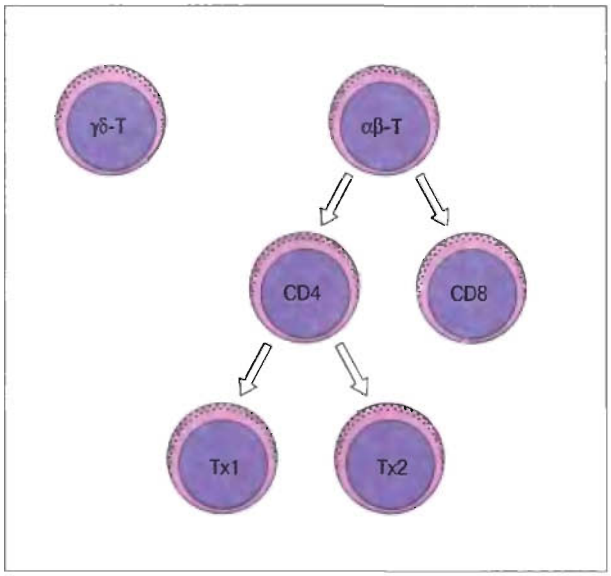


Рис. 2.10
Т-клетки экспрессируют либо γδ-, либо αβ-ТкР, и подразделяются на субпопуляции $CD4^+$ и $CD8^+$, распознающие пептиды антигена в ассоциации с молекулами МНС класса I или II соответственно. Т-клетки $CD4^+$ можно далее разделить на субпопуляции Тх1 и Тх2 по набору образуемых ими цитокинов. Четких данных о различии цитокиновых профилей у γδ-Т-клеток и у αβ-Т-клеток $CD8^+$ не получено.

αβ-Т-клетки $CD4^+$ и $CD8^+$ подразделяются на функционально различные субпопуляции

Как отмечено выше, примерно 95% Т-клеток $CD4^+$ и 50% Т-клеток $CD8^+$ морфологически представляют собой малые негранулярные лимфоциты. Эти популяции можно дифференцировать дальше по фенотипической экспрессии CD28 и CTLA-4 на функционально различные субпопуляции. Экспрессируемый Т-клетками $CD4^+$ маркер CD28 обеспечивает передачу костимулирующего сигнала активации при распознавании антигена. (В отсутствие такого сигнала контакт ТкР с антигеном может вызывать анергию.) Лигандами CD28 служат молекулы B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86) на АПК. Гомологичную CD28 молекулу CTLA-4 Т-клетки $CD4^+$ начинают экспрессировать после активации. CTLA-4 связывается с теми же лигандами, что и CD28, тем самым ограничивая активацию (см. гл. 11). Кроме того, αβ-Т-клетки экспрессируют различные изоформы общего лейкоцитарного антигена, CD45. Считается, что CD45RO, а не CD45RA, связан с клеточной активацией. Для выделения функционально различных субпопуляций αβ-Т-клеток используют также другие критерии, в частности экспрессию клеточных маркеров нормальных киллерных клеток (CD56, CD57 и CD11b/CD18), выявляемых на 5–10% циркулирующих Т-клеток. Эти клетки образуют ИЛ-4, но не ИЛ-2, и дают слабый пролиферативный ответ на антигены и митогены.

αβ-Т-лимфоциты можно классифицировать также по профилю цитокинов

Функциональное разнообразие Т-клеток можно продемонстрировать, анализируя профили секреции цитокинов разными клонами Т-хелперов. У мыши и человека идентифицировано по две группы Т-клеточных $CD4^+$-клонов. Субпопуляция Тх1 секретирует ИЛ-2 и ИФγ, а субпопуляция Тх2 – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6 и ИЛ-10 (*рис. 2.10;* см. также гл. 11). Клетки Тх1 принимают участие в активации цитотоксических Т-клеток и в местных воспалительных реакциях. Следовательно, они важны для противодействия организма внутриклеточной вирусной, бактериальной или паразитарной инфекции. Клетки же Тх2 более эф-

фективны в стимуляции В-клеток к пролиферации и образованию антител, поэтому их функции связаны в первую очередь с защитой организма от микробов, размножающихся внеклеточно (гуморальный иммунитет).

Перечень основных маркеров αβ-Т-клеток человека и мыши представлен на *рис. 2.11*.

γδ-Т-клетки – обычный компонент слизистых оболочек и эпидермиса у мыши

γδ-Т-клетки относительно часто встречаются в эпителии слизистых оболочек, но представляют лишь минорную субпопуляцию среди циркулирующих Т-клеток. У мыши почти все внутриэпителиальные лимфоциты относятся к γδ-Т-клеткам, экспрессирующим CD8 – маркер, который отсутствует на большинстве циркулирующих γδ-Т-клеток. Как установлено, γδ-Т-клетки $CD8^+$ обладают особым репертуаром Т-клеточных рецепторов, специфичных к определенным бактериальным и вирусным антигенам (суперантигенам). Согласно современной точке зрения, эти клетки могут играть важную роль в защите слизистых оболочек организма от инфекции.

Т-клетки обладают рядом общих маркеров с клетками других линий

До сих пор мы описывали клеточные маркеры и антигенспецифичные рецепторы, характерные для отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов. Однако ряд молекул экспрессируется на поверхности всех Т-клеток («пан-Т-клеточные маркеры»), а также на клетках других линий. Хороший пример – рецепторы для эритроцитов барана (CD2). В норме молекула CD2, связываясь с соответствующими лигандами, принимает участие в процессе активации Т-клеток вместе с ТкР – CD3-комплексом и другими гликопротеинами в составе мембран. Вместе с тем CD2 выявляется также у 75% НК-клеток $CD3^-$. Другая участвующая в Т-клеточной активации молекула – это маркер CD5, экспрессируемый на всех Т-клетках и на одной из субпопуляций В-клеток. Молекула CD5 может связываться с CD72, но вопрос о ее роли в качестве физиологического лиганда В-клеток остается открытым. Маркер CD7 присутствует почти на всех НК- и Т-клетках. Полный перечень Т-клеточных CD-маркеров, часть которых экспрессируется и на других клетках гемопоэтического происхождения, приведен в приложении. Т-клетки мыши экспрессируют маркеры, сходные с обнаруженными на Т-клетках человека.

Поверхностные маркеры Т-клеток человека и мыши

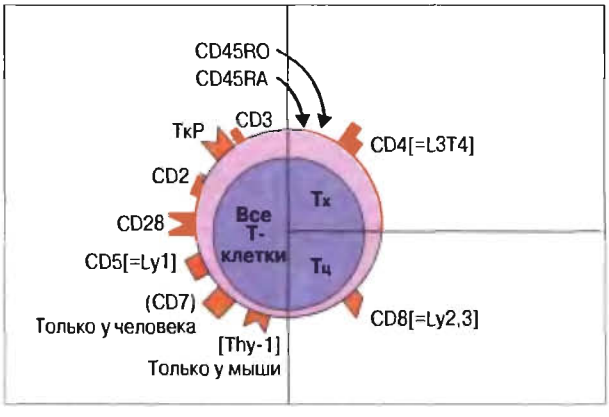


Рис. 2.11
К настоящему времени молекулярный маркер CD7 выявлен только у человека, тогда как Thy-1 – только у мыши. Другие маркеры, указанные в квадратных скобках, – это мышиные эквиваленты маркеров человека. Большинство маркеров относится к иммуноглобулиновому суперсемейству молекул межклеточной адгезии.

Супрессорные Т-клетки

Получены очевидные функциональные доказательства существования антигенспецифичных супрессорных Т-клеток (Тс), однако эти клетки, по-видимому, не составляют отдельной субпопуляции Т-клеток с исключительно супрессивной функцией. Доказано также, что Т-клетки, как $CD4^+$, так и $CD8^+$, способны подавлять иммунный ответ либо путем прямого цитотоксического действия на антигенпрезентирующие клетки, либо путем выделения «супрессивных» цитокинов (см. гл. 11), либо путем передачи сигнала отрицательной регуляции (при связывании CTLA-4 с его лигандами; см. выше), либо посредством идиотип-антиидиотипических сетевых взаимодействий (см. гл. 13).

В-клетки

От 5 до 15% циркулирующих с кровью лимфоидных клеток – это В-лимфоциты, выявляемые по наличию поверхностных иммуноглобулинов (Ig). Молекулы Ig синтезируются конститутивно; они встроены в цитоплазматическую мембрану клетки и функционируют как антигенспецифичные рецепторы. Такие рецепторы можно определить на клеточной поверхности, используя меченные флуорохромом антитела к иммуноглобулину.

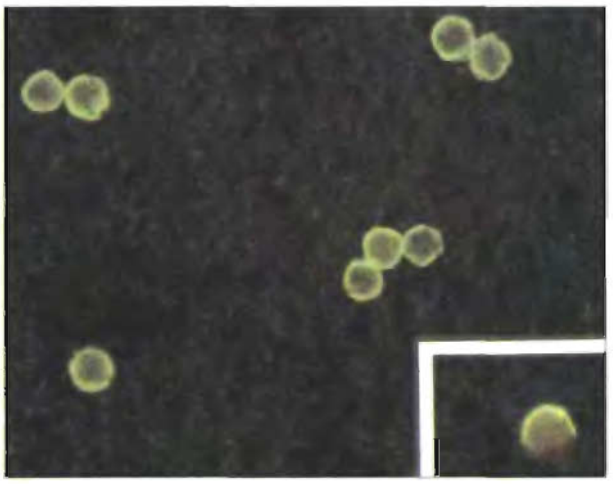


Рис. 2.12
В-клетки, окрашенные для выявления поверхностного иммуноглобулина. Окрашенные флуоресцирующими антителами к IgM на холоде В-клетки дают кольцеобразную флуоресценцию в ультрафиолетовом свете. Инкубация при 37 °С с этими антителами приводит к перераспределению (кэппингу) флуоресцентной метки на один из полюсов клетки (см. врезку). ×300. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology.* Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

Иммунофлуоресцентная окраска кольцеобразно охватывает В-клетку (*рис. 2.12*). Бивалентные антитела к иммуноглобулину, взаимодействуя с рецепторами, вызывают их перекрестное связывание с образованием иммуноглобулиновых «пятен» неправильной формы на клеточной поверхности. При повышении температуры большинство этих пятен активно перемещается по поверхности клетки и собирается на одном из ее полюсов в виде «колпачка» (*рис. 2.12*; врезка). За этим процессом, названным кэппингом, следует погружение (интернализация) молекул иммуноглобулина внутрь клетки, где они подвергаются расщеплению. Кэппинг можно также наблюдать с другими поверхностными гликопротеинами и не только на В-клетках.

«Рецепторный комплекс» В-клеток

Большинство В-клеток периферической крови человека экспрессирует на своей поверхности иммуноглобулины двух изотипов – IgM и IgD (см. гл. 6). На каждой отдельной В-клетке антигенсвязывающие центры у этих изотипов идентичны. Менее 10% В-клеток циркулирующей крови экспрессируют IgG, IgA и IgE, но в определенных областях тела такие клетки встречаются с большей частотой; например, В-клеток, несущих IgA, много в слизистой оболочке кишечника. Ассоциируя с другими молекулами на поверхности В-клеток, иммуноглобулин образует антигенраспознающий рецепторный комплекс В-клетки. К этим другим, «вспомогательным» молекулам относятся соединенные дисульфидными связями гетеродимеры, состоящие из Igα (CD79a) и Igβ (CD79b). Эти гетеродимеры, взаимодействуя (подобно составным частям TcR–CD3-комплекса Т-клеток) с трансмембранными сегментами иммуноглобулинового рецептора, участвуют в процессе активации В-клеток.

Другие В-клеточные маркеры и субпопуляции

Ряд других молекулярных маркеров экспрессируется на В-клетках и мыши, и человека (*рис. 2.13*). Большая часть В-клеток несет на поверхности антигены MHC класса II, которые важны для кооперативных (контактных) взаимодействий с Т-клетками. У мыши это антигены I-A или I-E, у

Поверхностные маркеры циркулирующих В-клеток человека и мыши

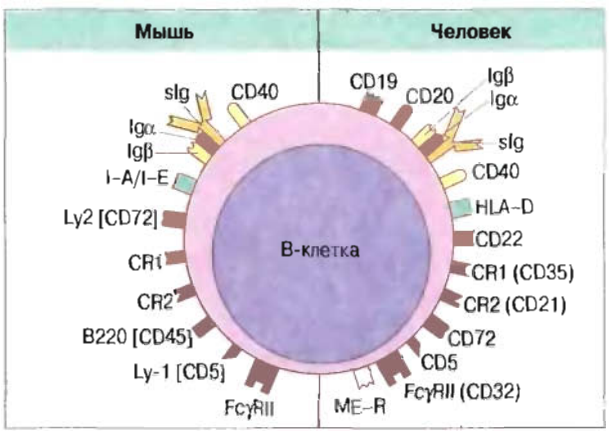


Рис. 2.13
Среди В-клеточных маркеров человека и мыши много гомологичных; они показаны одним цветом. Маркеры человека, эквивалентные мышиным, указаны в квадратных скобках. Маркер B220 ранее обозначали Lyb-5. Цепи Igα и Igβ, взаимодействуя с поверхностным иммуноглобулином (sIg), образуют рецепторный комплекс В-клетки. Номера по классификации CD приведены в скобках после функционального названия.

человека – HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR . Выявляемые почти на всех В-клетках рецепторы для компонентов комплемента C3b (CR1, CD35) и C3d (CR2, CD21) вовлечены в процессы клеточной активации и, вероятно, «хоминга». Взаимодействие CD19/CD21 с комплексом комплемент + антиген играет роль в активации В-клеток при участии антигенсвязывающего рецептора антител. На В-клетках имеются также Fc-рецепторы для экзогенного IgG (FcγR11, CD32), передающие сигналы отрицательной регуляции для В-клеток.

Основные маркеры, используемые в настоящее время для идентификации В-клеток человека, – это CD19, CD20 и CD22. Известны также другие В-клеточные маркеры человека – CD72 и CD78. Маркер CD72 обнаружен и на В-клетках мыши (Lyb-2) вместе с B220, представляющим собой высокомолекулярную (220 кДа) изоформу маркера CD45 (Lyb-5). Существенная роль в контактных взаимодействиях между Т- и В-клетками принадлежит маркеру CD40 (см. *рис. 11.5*).

В-клетки можно разделить на две субпопуляции: B-1 (Mac-1$^+$, CD23$^-$) и B-2 (Mac-1$^-$, CD23$^+$). Большинство B-1-клеток экспрессирует маркер CD5 (Ly1), первоначально обнаруженный только на Т-клетках. Функция CD5 для В-клеток человека пока неизвестна; этот маркер ассоциирован с В-клеточным рецептором и может участвовать в регуляции процесса активации В-клеток. B-1-клетки спонтанно синтезируют так называемые нормальные антитела к определенным бактериальным антигенам, а также к аутоантигенам, таким как ДНК, Fc-фрагмент IgG, фосфолипиды и белки цитоскелета. У человека B-1-клетки особенно часто выявляются в крови новорожденных, у мыши – преимущественно в перитонеальной полости. По некоторым данным, они проходят особый путь дифференцировки, отличающийся от созревания «обычных» В-клеток, которые относятся к субпопуляции B-2.

Кроме общего с Т-клетками маркера CD5, В-клетки имеют общие маркеры с другими клетками, например маркер CD40, который присутствует на некоторых дендритных клетках.

Нормальные (естественные) клетки-киллеры

Клетки, названные нормальными киллерами (НК), составляют до 15% лимфоцитов крови; они не экспрессируют ни Т-клеточных, ни В-клеточных антигенсвязывающих рецепторов.

Фенотипические маркеры НК-клеток

Большинство антигенов, выявляемых на поверхности НК с помощью моноклональных антител, присутствует также на Т-клетках и на моноцитах/макрофагах. Основные маркеры НК-клеток человека с указанием их перекрестной специфичности перечислены на *рис. 2.14*. В очищенных лимфоцитарных популяциях НК-клетки чаще всего выявляют с использованием моноклональных антител к CD16 (FcγRIII). Маркер CD16 участвует в одном из механизмов активации НК и экспрессируется также нейтрофилами, некоторыми разновидностями макрофагов и γδ-Т-клеток.

У гранулоцитов маркер CD16 связан с цитоплазматической мембраной посредством фосфатидилинозитолгликана, тогда как НК, макрофаги и γδ-Т-клетки экспрессируют трансмембранную форму этой маркерной молекулы. Другой важный для идентификации маркер НК – это CD56, представляющий собой гомофильную молекулу межклеточной адгезии (N-CAM) из суперсемейства иммуноглобулинов. У человека лимфоциты, лишенные CD3, но экспрессирующие по одному или оба маркера CD56 и CD16, вероятнее всего относятся к НК, хотя и тот, и

Поверхностные маркеры НК человека

Маркер	Экспрессия на других клетках
CD16 (FcγRIII)	Малая часть Т-клеток, гранулоциты, некоторые макрофаги
CD11b	Гранулоциты, моноциты, некоторые Т- и В-клетки
CD2*	Все Т-клетки
CD7	Все Т-клетки
CD8	Некоторые Т-клетки
CD56	Малая часть Т-клеток
CD57	Некоторые Т-клетки
ИЛ-2Р (β-цепь)	Покоящиеся и активированные Т-клетки
РИК	Некоторые Т-клетки
РАК	?
*Экспрессия на 10–80% НК	

Рис. 2.14
Ни один из этих маркеров не специфичен только для НК. (РИК – рецепторы для ингибиторов киллерных клеток; РАК – рецепторы для активаторов киллерных клеток.)

другой маркеры присутствуют и у небольшой части Т-клеток. Неактивированные НК экспрессируют, кроме того, β-цепь рецептора к ИЛ-2 (рецептор средней аффинности с мол. массой 70 кДа) и передающую сигнал γ-цепь, общую для рецепторов, связывающих ИЛ-2 и другие цитокины. Разумеется, прямая стимуляция интерлейкином-2 вызывает активацию НК. Представляет интерес тот факт, что рецептор с мол. массой 70 кДа экспрессируется также на всех Т-клетках, имеющих морфологию БГЛ, а именно на γδ-Т-клетках и на части αβ-Т-клеток $CD8^+$. Под влиянием ИЛ-2 все эти клетки, включая НК, приобретают неспецифическую цитотоксическую активность, превращаясь в клетки, известные под общим названием активированные лимфокином киллерные клетки (ЛАК). ЛАК-клетки проявляют цитотоксическое действие на свежевыделенные клетки опухолей, причем спектр их мишеней гораздо шире, чем у неактивированных НК.

По сравнению с НК человека НК мыши содержат в цитоплазме меньше азурофильных гранул, которые, однако, у них гораздо крупнее. Перечень фенотипических маркеров НК мыши представлен на *рис. 2.15*.

Функции нормальных клеток-киллеров

Функция НК – распознавание и уничтожение клеток некоторых опухолей (*рис. 2.16*), а также клеток, инфицированных вирусами. Механизм распознавания полностью пока неясен. Субпопуляции НК экспрессируют молекулы суперсемейства иммуноглобулинов, регулирующие их цитотоксическую активность. Продукты некоторых аллелей HLA класса I могут защищать клетки-мишени от НК, продукты других же, напротив, усиливают их цитолитическое действие. Так, например, некоторые экспрессируемые клеткой-мишенью молекулы HLA класса I (A, B и C), связавшись с «рецепторами для ингибиторов киллерных клеток» (РИК; например, p58 или p70) на НК, предотвращают цитолиз. Экспрессируемые НК «рецепторы для активаторов киллерных клеток» (например, p50.1, 50.2, 50.3) также могут связываться с продуктами различных аллелей HLA на клетках-мишенях. Эти взаимодействия сами по себе или вместе с другими, в частности со связыванием CD2/LFA-1, вызывают активацию НК. Например, клетки K562, используемые обычно для изучения функции НК, не экспрессируют молекулы HLA и, следовательно, не имеют лигандов для РИК. Однако они обладают LFA-1, что достаточно для осуществления НК-клетками, несущими CD2, своего действия. Каждая нормальная киллерная клетка несет по крайней мере один РИК, специфичный к собственным антигенам MHC, поэтому аутологичные НК не поражают собственные нормальные клетки. Уничтожение этих клеток нормальными киллерами возможно при модификации РИК-специфичных HLA-лигандов в случае спонтанной малигнизации или вирусной инфекции.

Поверхностные маркеры НК мыши

Маркер	Экспрессия на других клетках
Thy-1*	Т-клетки
Lyb-5 (B220)	В-клетки
NK1.1	Субпопуляция Т-клеток
2B4	Активированные Т-клетки
FCγRIII*	Некоторые Т-клетки, гранулоциты, некоторые моноциты/макрофаги
Asialo-GM1	–
CR3 (CD11b, CD18)	Гранулоциты, моноциты
Ly49a, Ly49c	Т-клетки

* Экспрессия на некоторых, но не на всех НК-клетках мыши

Рис. 2.15
Почти все молекулярные маркеры НК-клеток мыши экспрессируются и на других клетках, однако выявлены и НК-специфичные маркеры.

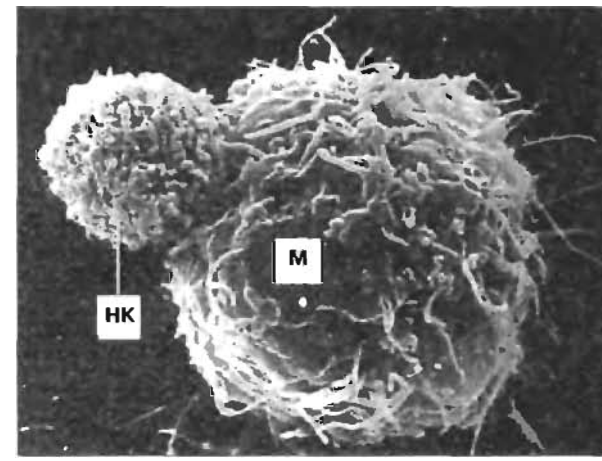


Рис. 2.16
Нормальная клетка-киллер (НК) атакует клетку-мишень (М). × 4500. (Фото любезно предоставлено д-ром G. Arancia и Malorni, Рим.)

Нормальные клетки-киллеры способны также поражать клетки-мишени, нагруженные антителами IgG, при участии своих рецепторов для IgG (FcγRIII, или CD16). Эта активность названа антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичностью (АЗКЦ). Активированные НК выделяют γ-интерферон (ИФγ) и другие цитокины (в частности, ИЛ-1 и ГМ-КСФ), которые могут играть важную роль в регуляции гемопоэза и иммунного ответа.

Активация В- и Т-клеток

В- и Т-клетки активируются, связываясь со специфическими антигенами. Т-клеткам для этого требуется «увидеть» антиген связанным с молекулами МНС на антигенпрезентирующих клетках, тогда как В-клетки могут связываться с нативными антигенами, но для активации им необходима помощь Т-клеток (в случае некоторых полимерных антигенов или митогенных по своей природе молекул эта помощь В-клеткам не требуется).

Помимо специфичного связывания антигена рецепторами, для эффективной активации Т- и В-клеток необходимо межклеточное взаимодействие с участием других компонентов поверхности, например, в случае Т-клеток, CD28 (см. гл. 11). Индуцированная антигеном активация и дифференцировка Т- и В-клеток обычно происходит в лимфоидных тканях и может быть воспроизведена in vitro при культивировании лимфоцитов в присутствии активирующего агента. Такими агентами могут служить:

- антиген, распознаваемый поверхностным антигенсвязывающим рецептором клетки;
- моноклональные антитела к ТкР – CD3-комплексу и
- лектины [например, фитогемагглютинин (ФГА), конканавалин А (КонА) и митоген лаконоса].

Лектины – это белки растительного и бактериального происхождения, связывающие углеводы. Некоторые из них способны активировать лимфоциты, перекрестно взаимодействуя с ВкР или ТкР, и служить митогенами (индукторами пролиферации). Считается, что митогенная стимуляция лимфоцитов in vitro довольно близко воспроизводит активацию специфическими антигенами. Лектины ФГА и КонА стимулируют Т-лимфоциты мыши и человека. Бактериальный липополисахарид (ЛПС) стимулирует В-клетки мыши, а митоген лаконоса вызывает пролиферацию и В-, и Т-клеток человека (*рис. 2.17*).

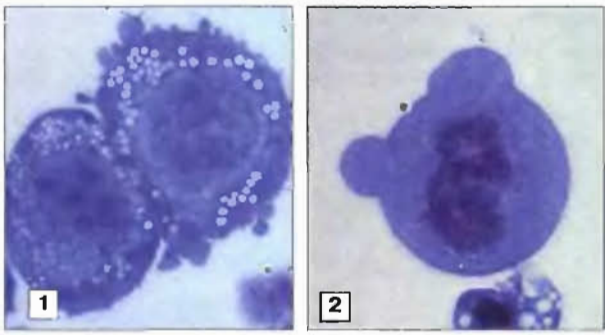


Рис. 2.17
Бласттрансформация лимфоцитов, индуцированная митогеном или антигеном. Представленные на фотографии Т- и В-клетки человека активированы митогеном лаконоса. **1.** Усиление базофилии цитоплазмы и увеличение объема клеток. **2.** При клеточном делении происходит конденсация хромосом, и они становятся хорошо видны. Окраска по Гимза. × 1500. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

Исследования in vitro с применением этих агентов показали, что активация Т- и В-клеток вызывает синтез цитокинов и рецепторов для них. Взаимодействие цитокинов с рецепторами индуцирует вступление клеток в цикл деления (пролиферация) и их последующее созревание с образованием эффекторных клеток или клеток иммунологической памяти. В условиях in vitro клетки памяти рециркулируют и в итоге расселяются по Т- и В-зависимым областям лимфоидных тканей, где они в дальнейшем остаются, сохраняя готовность к ответу при новой встрече с тем же антигеном.

Сигнал активации передают «вторые посредники»

В результате взаимодействия покоящихся лимфоцитов с антигеном индуцируется цепь биохимических процессов, приводящих к образованию внутри В- или Т-клетки «вторых посредников». Эти посредники ответственны за последующие изменения на уровне генов. Существует несколько основных механизмов активации лимфоцитов, но до конца они пока не ясны. Как в Т-, так и в В-клетках в передаче сигнала активации участвует гуанозинтрифосфат-связывающий (ГТФ-зависимый) белок (G-белок), который стимулирует метаболизм фосфатидилинозитола. В результате образуются два вторых посредника –

инозитол-1,4,5-трифосфат (IP3) и диацилглицерол (ДАГ). Посредник IP3 индуцирует выход ионов Ca^{2+} из внутриклеточных депо, а ДАГ активирует протеинкиназу С, которая вместе с другими киназами фосфолирует ряд компонентов плазматической мембраны, что приводит к появлению факторов транскрипции и последующей экспрессии определенных генов. Таким образом, сразу после контакта Т-лимфоцитов с антигеном на их поверхности экспрессируется ряд молекул, в том числе gp39 и рецептор для ИЛ-2. Дальнейшие межклеточные взаимодействия с участием этих молекул вызывают пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов.

Дифференцировка В-клеток приводит к образованию плазматических клеток и клеток иммунологической памяти

После активации митогеном или антигеном Т- и В-клетки претерпевают характерные ультраструктурные изменения, превращаясь в лимфобласты (*рис. 2.8* и *2.18*). Впоследствии многие В-лимфобласты созревают в антителообразующие клетки (АОК), которые in vivo развиваются затем в окончательно дифференцированные плазматические клетки. В некоторых В-лимфобластах не образуется цистерн шероховатого эндоплазматического ретикулума (ЭР). Такие клетки присутствуют в центрах размножения внутри лимфоидных фолликулов; они названы центральными клетками фолликула, или центроцитами (*рис. 2.19*).

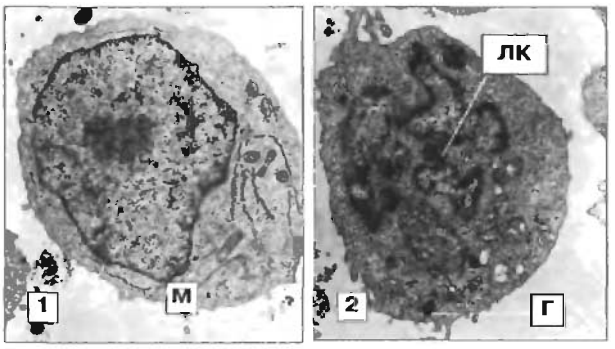


Рис. 2.18
Ультраструктура Т-лимфобластов. Т-лимфобласты, возникающие из Т-лимфоцитов после стимуляции антигеном или митогеном, – это крупные клетки с развитой цитоплазмой, содержащие разнообразные органеллы, в том числе митохондрии (М) и свободные полирибосомы. Лимфобласты могут быть «негранулярными» (**1**) или гранулярными (**2**) в зависимости от присутствия или отсутствия электроноплотных гранул (Г). В цитоплазме гранулярного лимфобласта видны также липидные капли (ЛК). × 3200.

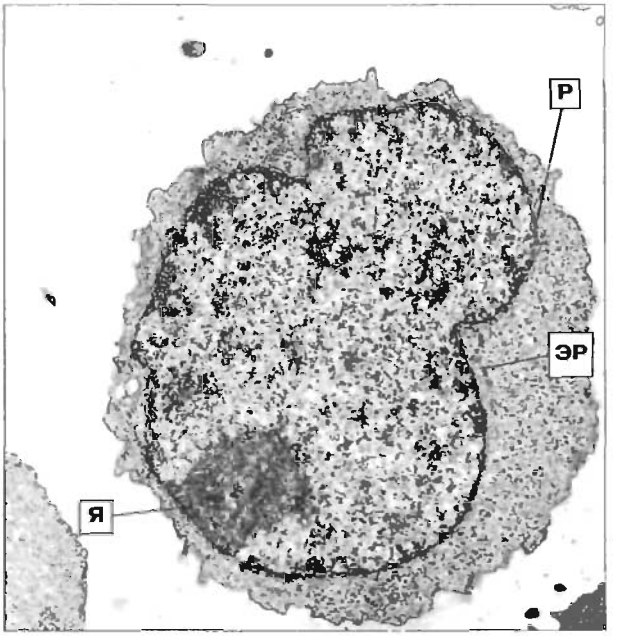


Рис. 2.19
Центральная клетка лимфоидного фолликула. Видна развитая цитоплазма, содержащая полирибосомы (Р) и несколько канальцев шероховатого эндоплазматического ретикулума (ЭР), однако стопки цистерн (параллельные ряды ЭР) отсутствуют. Заметно крупное эксцентрично расположенное ядрышко (Я), прилегающее к оболочке ядра. Возможно, такие клетки представляют собой В-клетки иммунологической памяти. Сходную морфологию имеют клетки некоторых лимфом, называемых центробластными или центроцитарными. × 8500.

Как показывает световая микроскопия, цитоплазма плазматических клеток базофильна, т. е. обладает сродством к основным красителям. Это свойство цитоплазмы объясняется присутствием в ней больших количеств РНК, обеспечивающей синтез антител на рибосомах шероховатого ЭР (*рис. 2.20*). С помощью электронного микроскопа в плазматических клетках можно наблюдать параллельные ряды шероховатого ЭР (*рис. 2.21*). Эти клетки редко появляются в кровотоке, составляя не больше 0,1% циркулирующих лимфоцитов. В норме плазматические клетки встречаются только во вторичных лимфоидных органах и тканях, и, кроме того, их довольно много в красном костном мозге. Антитела, образуемые одной плазматической клеткой, обладают одной антигенной специфичностью и принадлежат к одному изотипу иммуноглобулинов. Их можно вы-

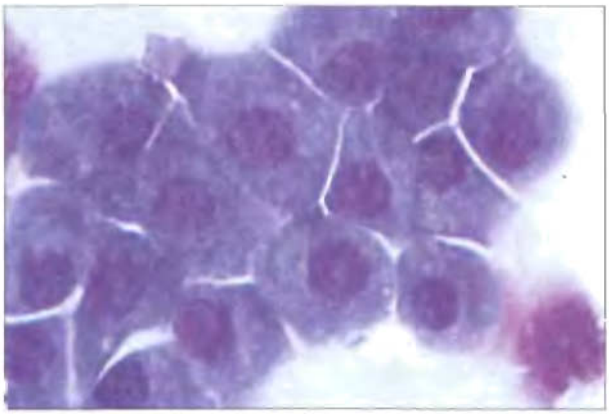


Рис. 2.20
Морфология плазматических клеток. Для зрелой плазматической клетки характерны эксцентричное расположение ядра и развитая базофильная цитоплазма (базофилия обусловлена высоким содержанием РНК, необходимой для синтеза белка). В несколько более светлой околоядерной области расположен комплекс Гольджи. Окрашивание по Маю-Грюнвальду–Гимзе. × 1000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd end. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.



Рис. 2.22
Иммунофлуоресцентное окрашивание иммуноглобулина в цитоплазме плазматических клеток. Фиксированные плазматические клетки человека окрашены меченными флуоресцеином антителами к IgM человека (зеленое свечение) и меченными родамином антителами к IgG человека (красное свечение). Видна интенсивная внутрицитоплазматическая флуоресценция. Разный характер окраски двух плазматических клеток свидетельствует о том, что в норме каждая из них образует антитела только одного класса или подкласса (изотипа). × 1500. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

явить в цитоплазме этих клеток с помощью меченных флуорохромом антиглобулиновых антител (*рис. 2.22*). Плазматические клетки имеют короткую продолжительность жизни; просуществовав лишь несколько дней, они погибают в процессе апоптоза (*рис. 2.23*).

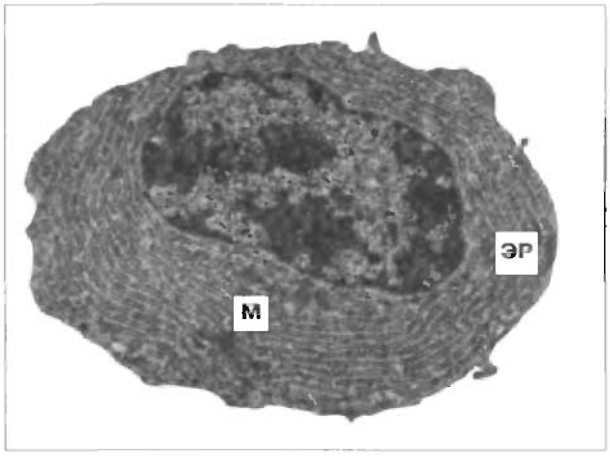


Рис. 2.21
Ультраструктура плазматической клетки. Видны характерные параллельные ряды шероховатого эндоплазматического ретикулума (ЭР). В зрелых клетках цистерны ЭР заполнены иммуноглобулинами. Видны также митохондрии (М). × 5000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

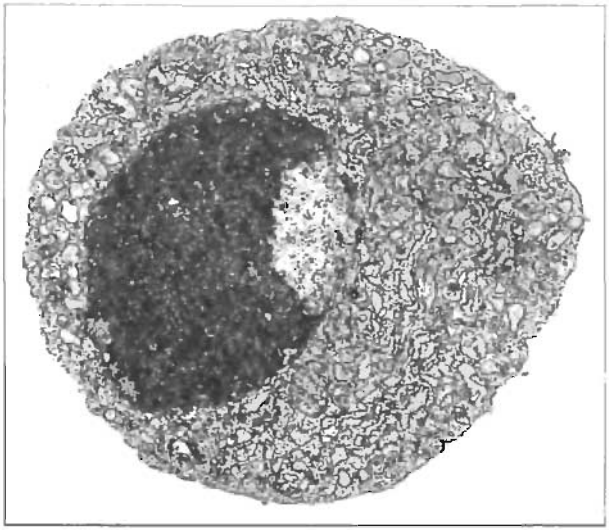


Рис. 2.23
Апоптотическая гибель плазматической клетки. Плазматические клетки живут недолго и погибают в результате апоптоза (запрограмированного самоуничтожения). Видны характерные для апоптоза изменения ядерного хроматина. × 5000.

Маркеры активации на лимфоцитах

Активация Т- и В-клеток вызывает синтез de novo ряда поверхностных маркеров и увеличение экспрессии других.

К этим маркерам активации относятся молекулы межклеточной адгезии, обеспечивающие более эффективное взаимодействие активированных клеток с другими, а также рецепторы факторов роста и дифференцировки, необходимые для постоянной пролиферации и созревания клеток. Один из них – рецептор для ИЛ-2 (ИЛ-2Р), экспрессируемый Т-клетками после активации; он состоит из трех субъединиц. В состоянии покоя Т-клетки постоянно экспрессируют γ-цепь (CD134) этого рецептора, а некоторые из них (БГЛ) образуют также его β-цепь (CD122). Активация вызывает синтез α-субъединицы ИЛ-2Р (CD25) и образование гетеротримерного высокоаффинного ИЛ-2Р. Временно активация Т-клеток вызывает также экспрессию gp39 (CD40L) и рецепторов трансферрина (CD71, важен для пролиферации), CD38 и CD69. Эти маркеры появляются в ранней фазе онтогенеза Т-клеток, но исчезают в ходе внутритимусного развития (см. гл. 12). Поздними маркерами активации Т-клеток человека служат молекулы MHC класса II (на Т-клетках мыши не выявляются). На Т-клетках, в частности Т-клетках иммунологической памяти, экспрессируется как поздний маркер активации CD29 (β1-цепь VLA). Поэтому функцию «памяти» субпопуляции Т-клеток $CD4^+CD29^+$ можно интерпретировать как индуцированное активацией увеличение числа различных молекул межклеточной адгезии, которые облегчают взаимодействие этих Т-клеток с другими, если организм встречается с данным антигеном вновь.

К маркерам активации В-клеток относятся высокоаффинный ИЛ-2Р и другие рецепторы для факторов роста и дифферецировки, таких как ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-6 (см. гл. 10). Все эти рецепторы изучены методами молекулярного клонирования и секвенирования. Кроме того, на активированных В-клетках экспрессируются рецепторы трансферрина (CD71) и в повышенной концентрации мембранные антигены MHC класса II. Экспрессируемый на активированных В-клетках человека и мыши маркер CD23 (FcεRII, низкоаффинный рецептор для IgE) участвует в индукции клеточного деления. Маркер CD38 отсутствует на зрелых В-клетках человека, но обнаруживается на конечной стадии дифференцировки плазматических клеток и клеток центров размножения, а также на В-клетках очень ранних стадий созревания. Молекулы специфического плазмоцитарного антигена-1 найдены на В-клетках человека только в плазмоцитарной стадии их дифференцировки. Клетки иммунологической памяти, выявляемые в центрах размножения внутри вторичных лимфоидных фоликулов (см. гл. 12), не экспрессируют ни IgD, ни CD22.

К маркерам активации НК-клеток относятся молекулы MHC класса II.

МОНОНУКЛЕАРНЫЕ ФАГОЦИТЫ

Система мононуклеарных фагоцитов выполняет две основные функции, осуществляемые двумя разными типами клеток костномозгового происхождения:

- «профессиональными» макрофагами, главная роль которых – устранение корпускулярных антигенов, и
- антигенпрезентирующими клетками (АПК), роль которых заключается в поглощении, процессинге и представлении антигена Т-клеткам.

(Ранее тканевые макрофаги вместе с эндотелиальными клетками функционально объединяли под названием ретикулоэндотелиальная система.) Макрофаги присутствуют во многих органах (*рис. 2.24*) и могут быть выявлены, например у мыши, путем введения в вену мельчайших частиц угля, которые оказываются локализованными в фагоцитах (*рис. 2.25*).

Миелоидные предшественники в костном мозге дифференцируются в промоноциты, а затем в зрелые моноциты, поступающие в кровь (см. гл. 12). Клетки этого циркулирующего пула мигрируют через стенки сосудов в различные органы, где превращаются в макрофаги. По сравнению с лимфоцитами моноциты человека – это более крупные клетки (диаметром 10–18 мкм) с характерным подковообразным ядром и азурофильными гранулами в цитоплазме (*рис. 2.26*). При электронно-микроскопическом исследовании ультраструктуры моноцитов обнаружены ее особенности – складчатость наружной мембраны, развитый комплекс Гольджи и большое количество лизосом в цитоплазме (*рис. 2.27*). Эти лизосомы содержат пероксидазу и несколько кислых гидролаз, необходимых для внутриклеточного разрушения микробных клеток.

Моноциты и макрофаги способны прочно прилипать к поверхности стекла и пластика, а также активно фагоцитировать микроорганизмы

и даже опухолевые клетки in vitro. При связывании специализированных моноцитарных рецепторов с микробными клетками происходит их адгезия и поглощение моноцитами. Эти рецепторы взаимодействуют с определенными углеводами в составе клеточных стенок микробов либо с IgG и компонентами комплемента, опсонизировавшими их поверхность.

Молекулярные маркеры моноцитов и макрофагов

У моноцитов и макрофагов человека и мыши имеются маннозил-фукозильные рецепторы, связывающиеся с этими сахарами на поверхности микробов или дефектных клеток организма-хозяина, например старых эритроцитов. К рецепторам углеводной специфичности относятся также N-ацетилглюкозаминовые рецепторы и рецепторы, распознающие клеточный детрит. Удаляемые моноцитами и макрофагами апоптотичные клетки распознаются, в частности, фосфатидилсериновыми рецепторами. Кроме того, моноциты/макрофаги экспрессируют CD14 – рецептор для липополисахаридсвязывающего белка, который в норме содержится в сыворотке и связывается с грамотрицательными бактериями. На поверхности моноцитов/макрофагов имеется также три разновидности рецепторов для Fc-фрагмента IgG:

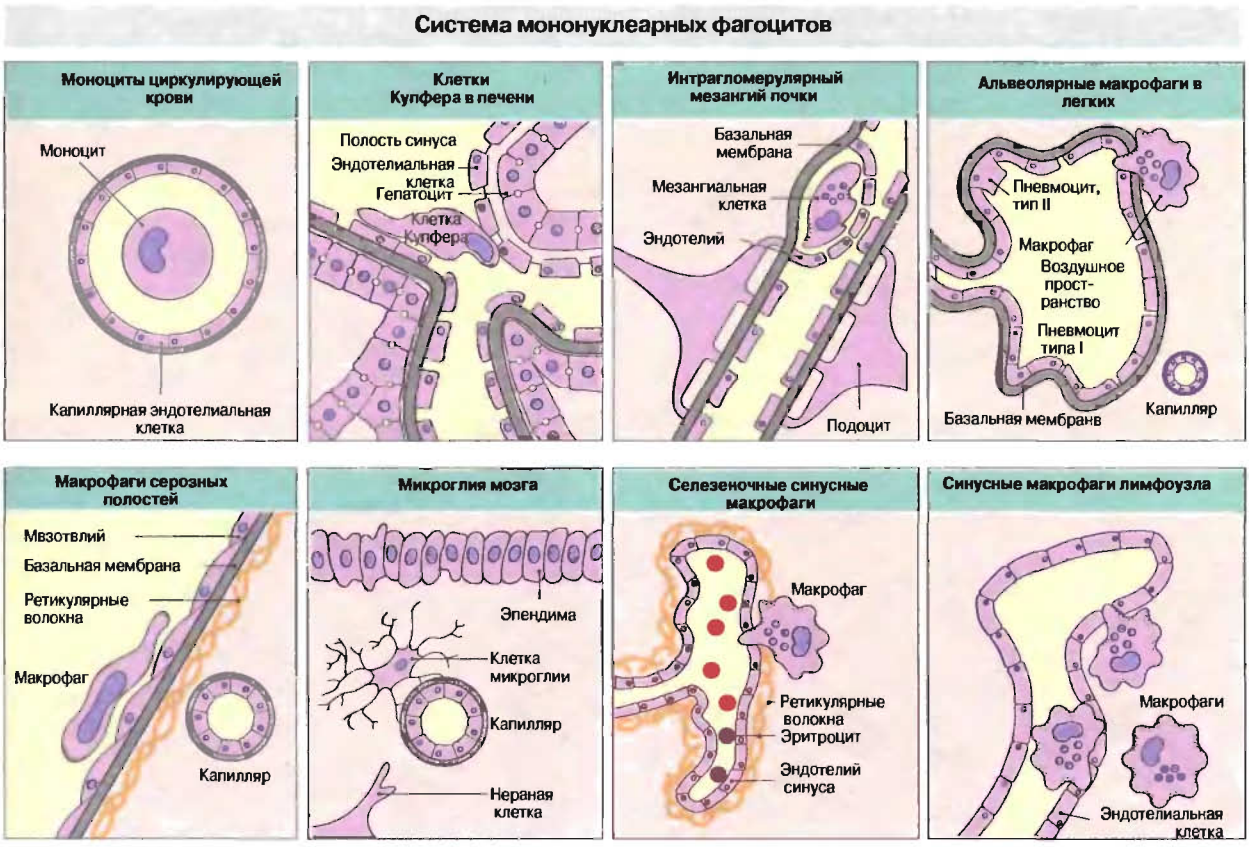


Рис. 2.24
В систему мононуклеарных фагоцитов входят моноциты крови, оседлые фагоциты тканей и макрофаги, прикрепленные к эндотелиальной выстилке кровеносных капилляров. Оседлые макрофаги печени известны как клетки Купфера, в то же время при локализации в почках они названы интрагломерулярными мезангиальными клетками. Альвеолярные макрофаги и фагоциты серозных полостей (например, перитонеальные) относятся к «блуждающим». Мозговая микроглия – это клетки, проникшие в нервную ткань в момент рождения и дифференцировавшиеся в фиксированные фагоциты. (Реальные соотношения размеров клеток на схеме не соблюдены.)



Рис. 2.25
Введенные в вену частицы локализуются в ретикулоэндотелиальной системе. В вену мыши ввели мельчайшие частицы угля и спустя 5 мин животное умертвили. Уголь накопился в органах, богатых мононуклеарными фагоцитами, – в легких (Л), печени (П), селезенке (С) и на стенке кишечника (СК). Слева – контрольная мышь (нормальная окраска внутренних органов).

- FcγRI (CD64); присутствует на клетках человека и обладает высокой аффинностью; гомологичен рецепторам FcγRIIa мыши;
- FcγRII (CD32); обладает средней аффинностью и эквивалентен FcγRIIb/1 мыши;
- FcγRIII (CD16); присутствует у одной из субпопуляций моноцитов, обладает низкой аффинностью, эквивалентен FcγR10 мыши.

Вероятно, эти виды Fc-рецепторов выполняют различные функции, среди которых – индукция внеклеточной цитотоксичности и фагоцитоза опсонизированных микробов. Для поглощения последних важен также рецептор комлемента CR1 (C3b-рецептор, CD35; см. гл. 4). В активации и адгезии обычно участвуют рецептор для комплемента CR3 (C3bi-рецепторы, CD11b/CD18, Mac-1, присутствующие прежде всего на активированных макрофагах), а также «лейкоцитарный функциональный антиген» LFA-1 (CD11a/CD18), p150,95 (CD11c/CD18) и $\alpha D\beta_2$. Маркеры LFA-1 и p150,95, обнаруженные в цитоплазматических везикулах макрофагов, экспрессируются сразу же после активации. На поверхности определенной части моноцитов и макрофагов присутствуют белки MHC класса II, необходимые для презентации антигенов Т-клеткам. Активированные макрофаги экспрессируют также низкоаффинный рецептор для Fc-фрагмента IgE (FcεRII, CD23). Кроме того, на макрофагах человека обнаружены маркеры CD13, CD15, CD68 и VLA-4 (CD29/CD49d). Необходимо отметить, что ни один из названных выше маркеров не специфичен только для моноцитов и макрофагов человека, но все же наиболее надежный признак этих клеток – FcγRI. В то же время у мыши к макро-

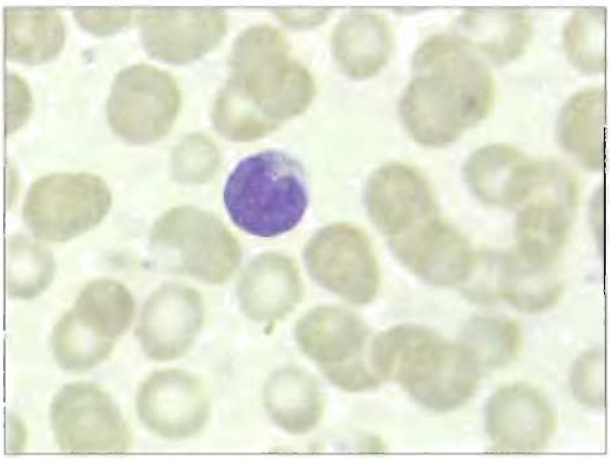


Рис. 2.26
Морфология моноцита. Моноциты крови крупнее большинства циркулирующих лимфоцитов и имеют характерное подковообразное ядро. Окрашивание по Гимзе. × 1200.

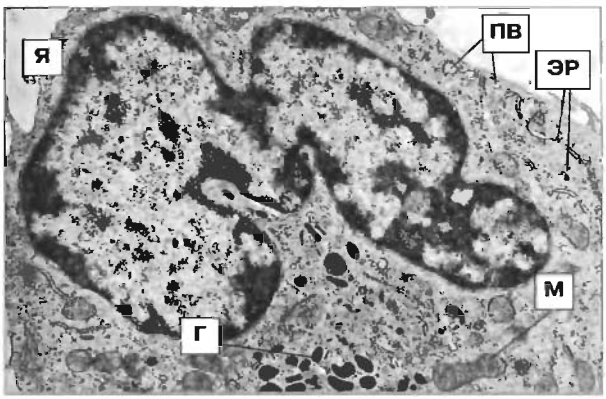


Рис. 2.27
Ультраструктура моноцита – подковообразное ядро (Я), пиноцитарные везикулы (ПВ), лизосомные гранулы (Г), митохондрии (М) и изолированные цистерны эндоплазматического ретикулума (ЭР). × 8000. (Фото любезно предоставлено д-ром B. Nichols; *J. Cell. Biol.* 1971. **50**: 498).

Основные поверхностные маркеры моноцитов и макрофагов человека и мыши

CD11a/CD18	CD32 (FcγRII)
CD11b/CD18 (CR3)	CD35 (CR1)
CD11c/CD18	CD36
αD/CD18	CD64 (FcγRI)
CD13	CDw65
CD14	CD68
CD15	МФР
CD16 (FcγRIII)	FcγRIIb/c*
CD17	FcγRIo*
CD25 (α-цепь ИЛ-2Р)	F40/80*
CD31	МНС класса II

*Исключительно на клетках мыши

Рис. 2.28
На клетках мыши не удалось пока идентифицировать ряд CD-молекул, эквивалентных маркерам человека. (МФР – рецептор для маннозил-фукозильных остатков.)

фаг-специфичным маркерам относятся F480 (160 кДа), рецептор к эритроцитам барана (SER; не путать с CD2 !) и рецептор к эритробластам (EbR). Основные маркеры моноцитов и макрофагов человека и мыши перечислены на *рис. 2.28.*

Помимо всех упомянутых выше молекулярных маркеров, моноциты и макрофаги имеют также рецепторы к цитокинам, таким как ИЛ-2, ИЛ-4 и ИФγ. Поэтому функциональная активность этих клеток может быть усилена Т-клеточными цитокинами через указанные рецепторы. Активированные таким образом моноциты и макрофаги сами продуцируют цитокины, в том числе ИФ, ИЛ-1 и ФНОα (см. гл. 10), и, кроме того, компоненты комплемента, простагландины, реакционноспособные метаболиты кислорода и оксид азота NO. Подобно нейтрофилам, моноциты и, в меньшей степени, зрелые макрофаги содержат пероксидазу, разлагающую пероксид водорода.

АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

Клетки, представляющие антиген (АПК), – это гетерогенная популяция лейкоцитов с весьма выраженной иммуностимулирующей активностью. Определенные АПК играют центральную роль в индукции функциональной активности Тх-клеток, некоторые взаимодействуют с другими клетками иммунной системы.

АПК локализованы преимущественно в коже, лимфатических узлах, селезенке, эпителиальном и субэпителиальном слоях большинства слизистых оболочек и в тимусе (*рис. 2.29*). Относящиеся к ним клетки Лангерганса из кожи и других плоскоэпителиальных покровов тела мигрируют в виде «вуалевидных» клеток по афферентным лимфатическим сосудам в паракортикальные области регионарных лимфоузлов. Там они взаимодействуют с многочисленными Т-клетками и представляют собой уже интердигитатные (переплетенные) клетки (ИДК) (*рис. 2.30*). Такая миграция обеспечивает эффективный механизм доставки антигенов из кожи и слизистых оболочек к Тх-клеткам лимфоузлов. На этих АПК обильно экспрессированы белки МНС класса II, необходимые для презентации антигена хелперным Т-клеткам.

Фолликулярные дендритные (разветленные) клетки (ФДК), презентирующие антигены В-клеткам, содержатся в первичных и вторичных фолликулах В-клеточных областей лимфоузлов, селезенки и лимфоидной ткани слизистых оболочек (ЛТС). Прочно соединяясь десмосомами отростков и образуя стабильную сеть, они не мигрируют из мест своего расположения. ФДК не экспрессируют белки МНС класса II, но связывают антигены посредством рецепторов к компонентам комплемента (CD21 и CD35), ассоциированным в данном случае с иммунными комплексами (иккосомами). Кроме того, ФДК экспрессируют рецепторы для Fc. Недавно в центрах размножения внутри вторичных В-клеточных фолликулов обнаружен другой вид АПК – дендритные клетки центров размножения, которые в отличие от ФДК экспрессируют белки МНС класса II и способны к миграции. В центре размножения они взаимодействуют с Т-клетками.

АПК присутствуют в тимусе, представляя собой здесь, как и в лимфоузлах, интердигитатные клетки; особенно велико их содержание в мозговой зоне тимуса. В этом органе, которому принадлежит основная роль в размножении и созревании Т-клеток, ИДК, по-видимому, ответственны за устранение Т-клеток, реагирующих на собственные антигены организма. Данный процесс назван отрицательной селекцией (см. гл. 12 и 14).

Большинство АПК образуется в костном мозге, хотя их гемопоэтический предшественник остается неизвестным. Например, через 100 сут по-

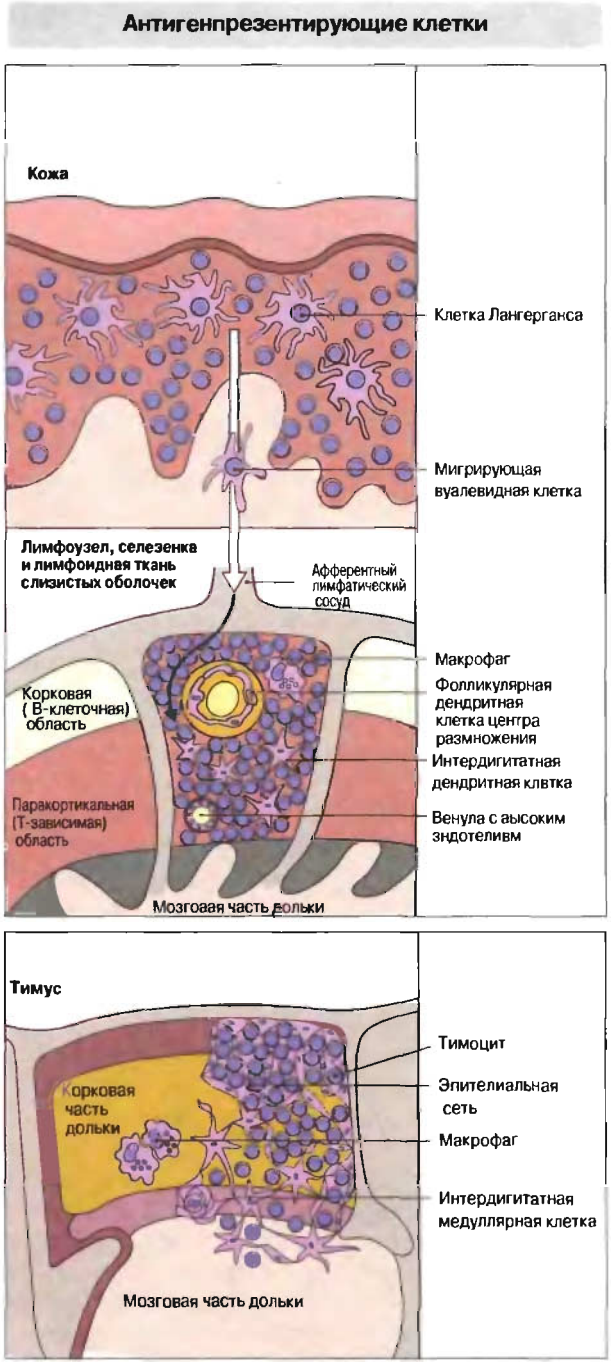


Рис. 2.29
Антигенпрезентирующие клетки (АПК) костномозгового происхождения выявляются главным образом в лимфоидной ткани, коже и слизистых оболочках. В эпидермисе они имеют вид клеток Лангерганса с характерными, напоминающими теннисные ракетки, бербековыми гранулами в цитоплазме. Эти клетки, богатые белками MHC класса II и нагруженные процессированным антигеном, мигрируют по афферентным лимфатическим сосудам (при этой локализации их называют вуалевидными клетками) в паракортикальные (Т-зависимые) области регионарных лимфоузлов. Здесь уже как интердигитатные клетки они контактируют с Т-клетками и презентируют им антиген. Экспонирование антигена В-клеткам происходит на фолликулярных дендритных клетках (ФДК) в центрах размножения внутри В-клеточных фолликулов. В качестве АПК действуют также некоторые макрофаги наружной кортикальной области и краевого синуса лимфоузлов. В тимусе АПК представлены интердигитатными (переплетенными отростками) клетками мозговой зоны.

сле трансплантации костного мозга (см. гл. 27) все клетки Лангерганса в коже реципиента имеют донорское происхождение. Моноциты, активированные in vitro гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором и интерлейкином-4, теряют способность к фагоцитозу и превращаются в АПК, приобретая морфологию дендритных клеток и начиная экспрессировать белки MHC класса II. Относительно ФДК первичных и вторичных лимфоидных фолликулов предполагается, что они имеют мезенхимное, а не костномозговое происхождение.

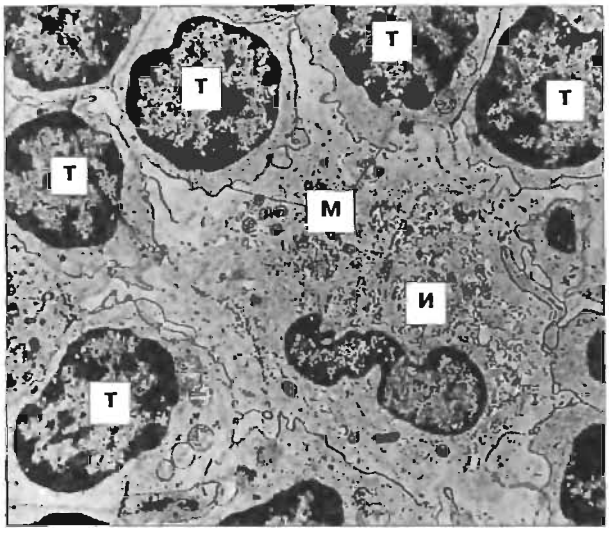


Рис. 2.30
Ультраструктура интердигитатной дендритной клетки (ИДК) в Т-зависимой области лимфоузла крысы. Характерные особенности: плотный контакт с плазматической мембраной окружающих Т-клеток, хорошо развитая эндосомная система в цитоплазме при отсутствии характерных для кожных клеток Лангерганса бербековых гранул. Т – ядро Т-клетки; И – ядро ИДК; М – мембрана ИДК. × 2000. (Фото любезно предоставлено д-ром B. Balfour.)

Маркеры различных антигенпрезентирующих клеток

Клеточный маркер	Тип клеток					
	клетки Лангерганса	интердигитатные клетки	интердигитатные клетки центров размножения	дендритные клетки центров размножения	В-клетки	макрофаги
MHC II	+	+	–	+	+	±
FcγR (CD32) FcγR (CD64)	+ ±	– –	+ –	+ –	+ –	+ +
CD35 (CR1)	+	–	+	+	+	+
CD21	–	–	Много	Мало	+	+
CD2	–	–	–	+	–	–
CD4	+	–	–	+	–	+
CD1a	+	–	–	–	–	–
CD40	?	Много	+	Мало	Много	+
НСЭ	–	–	–	–	–	+
Фагоцитоз	–	–	–	–	–	+

Рис. 2.31
Клетки Лангерганса (КЛ), интердигитатные клетки (ИДК), дендритные клетки центров размножения (ДКЦР) и В-клетки обильно экспрессируют белки MHC класса II для взаимодействия с Т-клетками $CD4^+$. Некоторые АПК экспрессируют также CD4, становясь потенциальным объектом для заражения вирусом иммунодефицита человека (см. гл. 22). Макрофаги синтезируют слишком мало белков MHC класса II, чтобы презентировать антигены, и поэтому функционируют в основном как фагоцитарные клетки. Фолликулярные дендритные клетки (ФДК), локализованные в первичных и вторичных фолликулах, не экспрессируют белки MHC класса II, но богаты FcγR, CR1 и CR2, что позволяет им связывать иммунные комплексы (иксосомы) и представлять содержащийся в комплексах антиген В-клеткам. (НСЭ – неспецифические эстеразы.)

Классические В-клетки обильно экспрессируют белки MHC класса II (особенно после активации) и способны, следовательно, расщеплять и представлять специфические антигены активированным Т-клеткам (см. гл. 11). Некоторые маркеры различных видов АПК приведены на *рис. 2.31*.

Не относящиеся к иммунной системе клетки организма в норме не экспрессируют белков

МНС класса II, но при индукции цитокинами, такими как ИФγ и ФНОα, некоторые типы соматических клеток, например кератиноциты, тироциты и эндотелиоциты, способны синтезировать продукты МНС класса II и презентировать антигены. Индукция этой «неуместной» экспрессии, вероятно, представляет собой элемент патогенеза аутоиммунных заболеваний и хронических воспалительных процессов.

ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ, ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ И ТРОМБОЦИТЫ

Полиморфноядерные гранулоциты (часто называемые просто гранулоцитами) – это в основном нейтрофилы (ПМН), которые высвобождаются костным мозгом со скоростью примерно 7 млн/мин. По сравнению с моноцитами и макрофагами, которые могут сохраняться месяцы или годы, гранулоциты – короткоживущие (всего 2–3 сут) клетки. Они составляют 60–70% общего числа лейкоцитов крови и содержатся также в тканях. Подобно моноцитам, ПМН могут прилипать к эндотелиальным клеткам, выстилающим кровеносные сосуды («краевое стояние») и покидать кровоток, протискиваясь между эндотелиальными клетками (см. *рис. 1.17*). Этот процесс известен как диапедез. Адгезию ПМН вызывают хемоаттрактанты (хемокины), такие как ИЛ-8 (см. гл. 5), и опосредуют гранулоцитарные рецепторы, взаимодействующие с лигандами на эндотелиальных клетках.

Гранулоциты не обладают какой-либо «врожденной» антигенной специфичностью, но им принадлежит важнейшая роль (обычно вместе с антителами и комплементом) в острой защитной воспалительной реакции на инфекцию. Главная функция этих клеток – фагоцитоз. Их значение становится очевидным на примере больных с пониженным содержанием гранулоцитов в крови или в случаях редко встречающегося наследственного иммунодефицита, при котором ПМН не способны мигрировать из сосудов в ответ на хемотаксический стимул; обе ситуации характеризуются повышенной восприимчивостью к инфекции.

Нейтрофилы

Эти лейкоциты составляют более 95% циркулирующих гранулоцитов; для них характерны многодольчатое (сегментированное) ядро и диаметр 10–20 мкм (*рис. 2.32* и *2.33*).

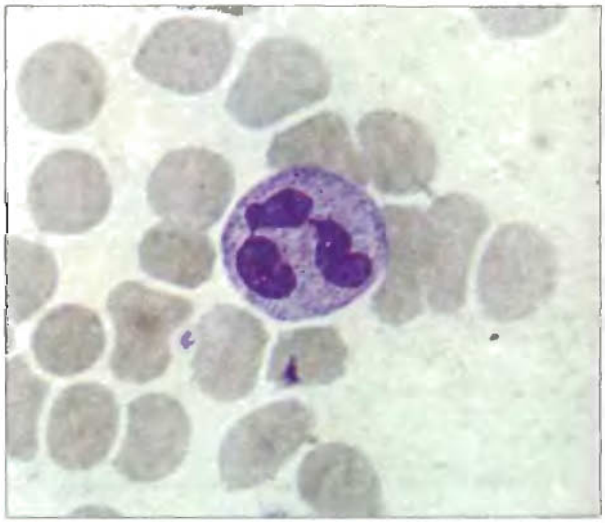


Рис. 2.32
Морфология нейтрофила. Зрелый нейтрофил с дольчатым (сегментированным) ядром в мазке крови. Четкое выявление в одной из таких клеток конденсированного хроматина в виде «барабанной палочки», представляющего собой инактивированную Х-хромосому, свидетельствует о принадлежности крови лицу женского пола. Окрашивание по Гимзе. × 1500. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

Хемотаксис нейтрофилов вызывают фрагменты белков, образующиеся в результате активации комплемента (например, C5a), факторы фибринолитической и кининовой систем, а также продукты лейкоцитарного, тромбоцитарного и бактериального происхождения. Под действием хемотаксических стимулов происходят «краевое стояние» (прилипание к эндотелиальным клеткам) и диапедез нейтрофилов. Подробно этот процесс описан в гл. 5.

Нейтрофилы обладают большим набором антибиотических белков, которые хранятся в гранулах двух типов (*рис. 2.33*). Первичные (азурофильные) гранулы – это лизосомы, содержащие кислые гидролазы, миелопероксидазу и мурамидазу (лизоцим). Во вторичных (специфических) гранулах дополнительно к лизоциму обнаружен лактоферрин. Кроме ферментов и лактоферрина, в этих гранулах содержатся в высоких концентрациях антибиотические белки – дефензины, сепроцидины, кателицидины и белок, индуцирую-

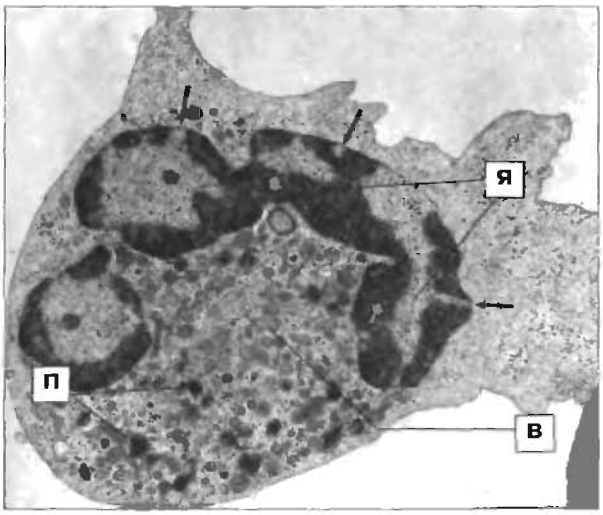


Рис. 2.33
Ультраструктура нейтрофила. Цитоплазма содержит первичные (П) и вторичные (В) гранулы. Первичные (более электроноплотных) гранул гораздо меньше. Ядро (Я) сегментированное, стрелками указаны поры в ядерной оболочке. × 17 500. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

щий проницаемость бактериальных клеток. Фагоцитированные нейтрофилами микробы находятся в вакуолях (называемых фагосомами), которые сливаются с лизосомами, превращаясь в фаголизосомы (*рис. 2.34*).

При активации иммунными комплексами, опосредованной Fcγ-рецепторами, нейтрофилы способны также высвобождать содержимое гранул и цитотоксические соединения во внеклеточное пространство. Вполне вероятно, что именно этот механизм лежит в основе патогенеза болезней иммунных комплексов (гиперчувствительность III типа; см. гл. 25).

Эозинофилы

Эозинофилы крови человека обычно содержат двухдольчатое ядро и множество цитоплазматических гранул, которые окрашиваются кислыми красителями, например эозином (*рис. 2.35*). Среди лейкоцитов крови здорового, не страдающего аллергией человека на эозинофилы приходится 2–5%. Они, по-видимому, способны фагоцитировать и уничтожать поглощенные микробные клетки, хотя это и не относится к их прямым функциям. Гранулы зрелых эозинофилов – это окруженные мембранами клеточные органеллы с «кристалловидной» сердцевиной, заметные на фоне окружающего матрикса благодаря их высокой электронной плотности (*рис. 2.36*).

Определенные стимулы вызывают дегрануляцию эозинофилов, т. е. слияние гранул с цитоплазматической мембраной и высвобождение их содержимого во внеклеточную среду. Реакция дегрануляции – это один из механизмов использования эозинофилами токсичного содержимого своих гранул для уничтожения крупных мишеней (например, шистосомул), которые не поддаются фагоцитозу (*рис. 2.37*). Другой механизм состоит в образовании токсичных реакционноспособных метаболитов кислорода. Оба механизма, вероятно, составляют основу противогельминтозного иммунитета, в котором, как предполагается, эозинофилам принадлежит особая роль (см. гл. 18).

Привлечение эозинофилов к месту инвазии паразита происходит за счет высвобождения Т-клетками, тучными клетками и базофилами особых продуктов, таких как анафилактический

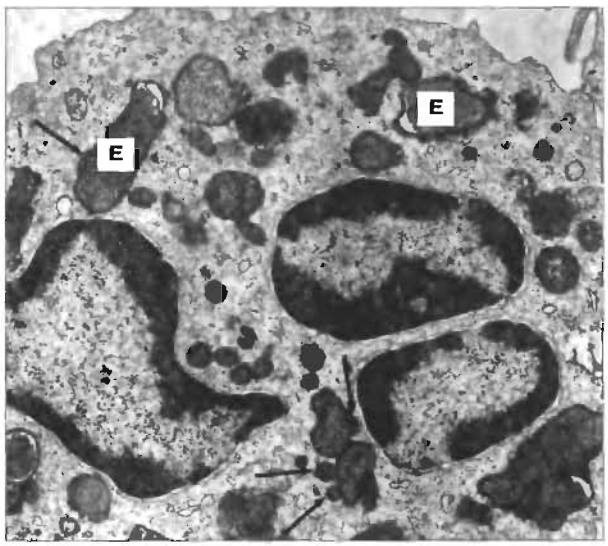


Рис. 2.34
Нейтрофил, фагоцитировавший клетки *Escherichia coli* (Е). В фаголизосомах видны многочисленные клетки этой бактерии. Нейтрофил почти полностью дегранулирован, и только отдельные лизосомы (указаны стрелками) еще находятся в процессе слияния с фагосомами. × 15 000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.



Рис. 2.35
Морфология эозинофила. Видны двухдольчатое ядро и эозинофильные гранулы в цитоплазме. Окраска по Гимзе. × 1000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

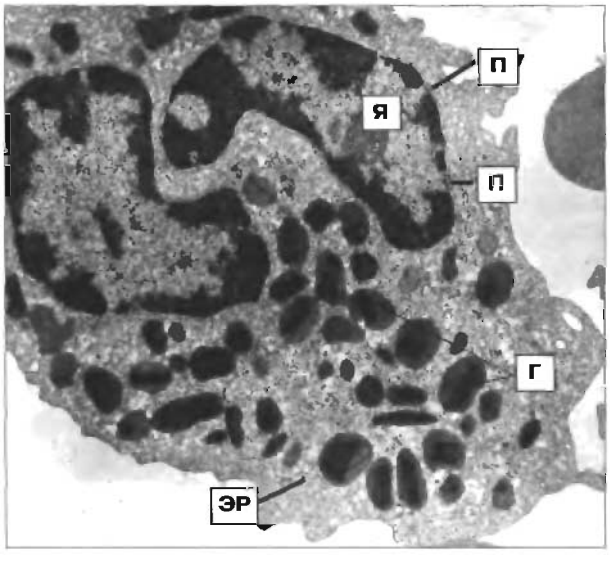


Рис. 2.36
Ультраструктура эозинофила человека. Зрелый эозинофил содержит в цитоплазме гранулы (Г) с кристалловидной сердцевиной. Я – ядро; ЭР – эндоплазматический ретикулум; П – ядерные поры. × 17 500. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

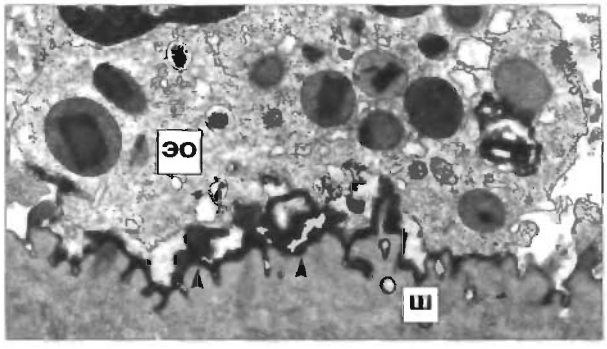


Рис. 2.37
Уничтожение шистосомулы эозинофилом. Эозинофил (ЭО) прикрепился к опсонизированной IgG молодой особи *Schistosoma mansoni* (Ш). В области контактов можно заметить электроноплотный материал (указан стрелками), содержащий главный основный белок и катионный белок эозинофилов. × 19 000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. Atlas of Blood Cells: Function and Pathology. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

фактор хемотаксиса эозинофилов (ФХЭ-А). В нашем примере они связываются с поверхностью шистосомул, опсонизированной специфичными антителами изотипа IgG или IgE, и в процессе дегрануляции выделяют токсин, названный главным основным белком. Этот токсин содержится в кристалловидной сердцевине эозинофильной гранулы; матрикс гранулы содержит другое токсическое вещество – катионный белок эозинофилов. Эозинофилы выделяют также гистаминазу и арилсульфатазу, которые инактивируют продукты выделения тучных клеток – гистамин и фактор анафилаксии, вызывающий замедленную реакцию (ФЗР-А). Таким образом, выделяемые эозинофилами продукты подавляют воспалительную реакцию и, в частности, миграцию гранулоцитов в очаг инвазии.

Базофилы и тучные клетки

Базофилы присутствуют в циркулирующей крови в очень незначительном количестве, менее 0,2% общего числа лейкоцитов (*рис. 2.38*). Тучные клетки вовсе не встречаются в циркуляции и по ряду свойств отличаются от базофилов.

Известны два вида тучных клеток – тучные клетки слизистых оболочек и тучные клетки соединительной ткани. Пролиферация первых, в отличие от вторых, зависит, по-видимому, от Т-клеток. Оба вида тучных клеток видны при свето-

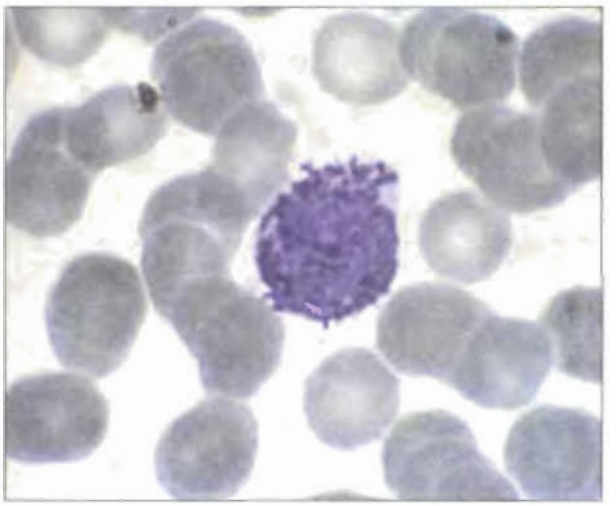


Рис. 2.38
Морфология базофила. В мазке крови, окрашенном по Райту, виден типичный базофильный гранулоцит с темно-лиловыми гранулами. × 1000.

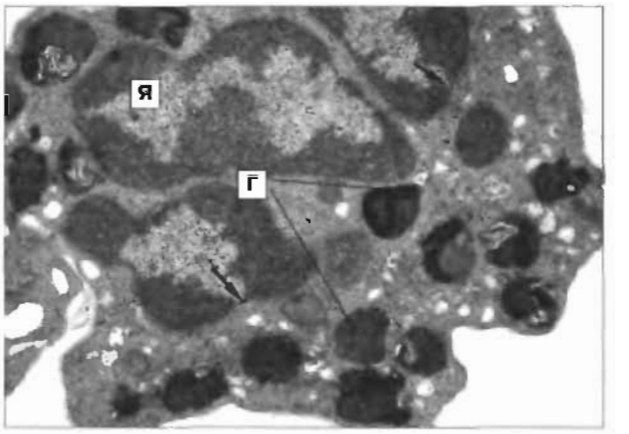


Рис. 2.40
Ультраструктура базофила. Видны сегментированное ядро (Я) и крупные цитоплазматические гранулы (Г). × 11 000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

вой микроскопии препаратов, окрашенных основными красителями (*рис. 2.39*). В цитоплазме зрелых базофилов крови присутствуют неравномерно распределенные и окруженные мембранами гранулы (*рис. 2.40*). Гранулы базофилов и тучных клеток содержат гепарин, ФЗР-А, гистамин и ФХЭ-А.

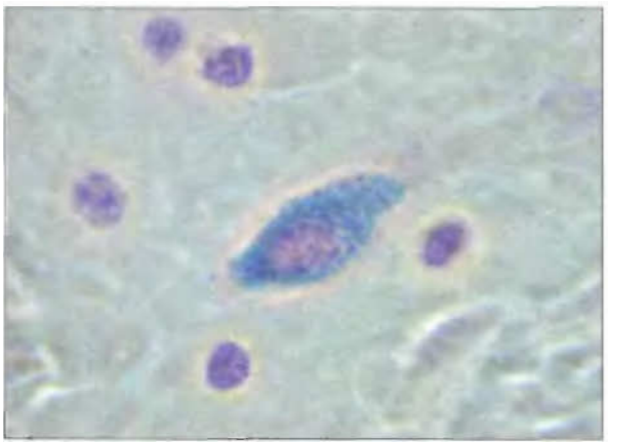


Рис. 2.39
Соединительнотканная тучная клетка человека на гистологическом срезе. Видна темно-голубая цитоплазма с лиловыми гранулами. Окрашивание альциановым синим и сафранином. × 600. (Фото любезно предоставлено д-ром T.S. Orr.)

Часто тот или иной аллерген (антиген, ставший причиной аллергической реакции) служит стимулом дегрануляции тучных клеток или базофилов. Для этого он должен перекрестно «сшить» соседние молекулы IgE, связанные с высокоаффинными рецепторами для IgE (FcεRI) на плазматической мембране тучной клетки или базофила. В результате дегрануляции происходит мгновенное высвобождение всего содержимого гранул. Сначала гранулы сливаются между собой внутри цитоплазмы, затем их содержимое выбрасывается из клетки (*рис. 2.41*). Секретируемые в результате дегрануляции медиаторы, например гистамин, вызывают патологические проявления аллергии, но, с другой стороны, играют положительную роль в антипаразитарном иммунитете, усиливая воспалительную реакцию. Функциональные маркеры гранулоцитов и тучных клеток приведены на *рис. 2.42*.

Тромбоциты (кровяные пластинки)

Тромбоциты, кроме свертывания крови, участвуют также в иммунном ответе, в частности воспалительных реакциях. Они образуются из костномозговых мегакариоцитов и содержат гранулы (*рис. 2.43*). У взрослого человека ежесуточно появляются 10^{11} новых тромбоцитов; в среднем 30% этих клеток депонируются в селезенке. Тромбо-

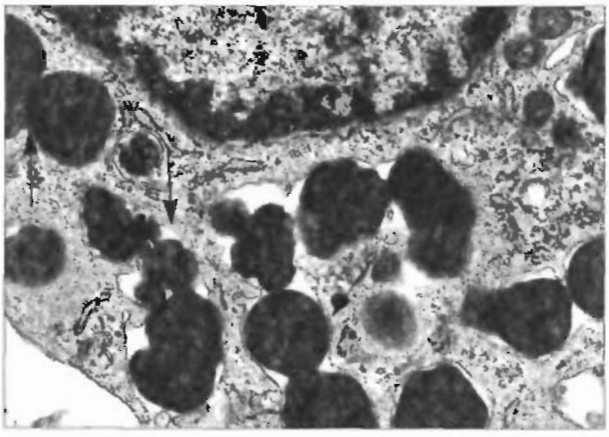


Рис. 2.41
Дегрануляция тучной клетки. Прежде чем произойдет выброс содержимого гранул, они сливаются одна с другой внутри цитоплазмы (указано стрелками). × 5000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

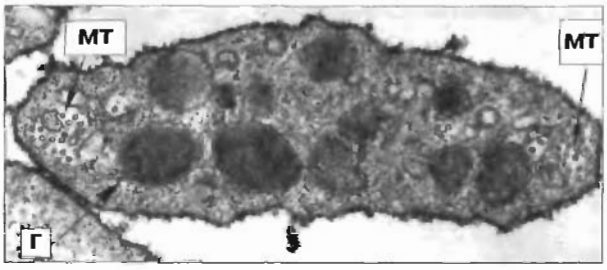


Рис. 2.43
Ультраструктура тромбоцита. На срезе кровяной пластинки видны два типа гранул (Г) и пучки микротрубочек (МТ) на полюсах. × 42 000. По Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E. et al. 1988. *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*. Vol. II. 2nd edn. Milan: E.E. Ermes, Philadelphia: Lea and Febiger.

циты экспрессируют белки MHC класса I, рецепторы для IgG (FcγRII; CD32) и низкоаффинные рецепторы для IgE (FcεRII; CD23). Кроме того, мегакариоциты и тромбоциты несут рецепторы для фактора VIII свертывания крови и другие функционально важные молекулы, такие как комплекс GpIIb/IIIa (CD41) и комплекс GpIb/GpIx (CD42). Первый из них – это цитоадгезин, ответственный за связывание с фибриногеном, фибронектином и витронектином. Оба эти комплекса представляют собой еще и рецепторы для фактора Виллебранда. Имеется также дополнительный рецептор к витронектину, CD51. И рецепторы, и молекулы адгезии важны для активации тромбоцитов. В случае повреждения эндотелия они прилипают к субэпителиальной поверхности поврежденной сосудистой стенки, образуя агрегаты. При этом из тромбоцитарных гранул двух типов высвобождается их содержимое, в том числе серотонин и фибриноген, что приводит к повышению проницаемости капилляров, активации комплемента и, вследствие этого, к привлечению лейкоцитов.

Функциональные маркеры гранулоцитов и тучных клеток

Тип клеток	Поверхностные маркеры									Гранулы		
	C5aR	CR1 (CD35)	CR3 (CD11b)	LFA-1 (CD11a)	VLA-4 (CD49d)	FcγRII (CD32)	FcγRIII (CD16)	FcεRI	FcεRII (CD23)	пероксидаза	кислая фосфатаза	щелочная фосфатаза
Нейтрофилы	+	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+
Эозинофилы	+	+	+	+	+	+	±	–	+	+	+	
Базофилы	+	+	+	+	+		+	+	–	+		
Тучные клетки	+	+	+	+	НД		+	+	–		+	+

Рис. 2.42
Нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и тучные клетки отвечают хемотаксисом на C5a и, следовательно, имеют к нему рецепторы. Все эти клетки обладают также рецепторами к C3 и экспрессируют молекулы межклеточной адгезии – LFA-1 (CD11a) и VLA-4 (CD49d). Кроме того, они экспрессируют FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16). Из этих клеток только базофилы и тучные клетки имеют высокоаффинный рецептор для IgE (FcεRI). На отдельных гранулоцитах выявляются некоторые другие гликопротеины, в том числе CD13 и CD14 (экспрессируемые слабо). Кроме того, все эти клетки несут гликолипидные молекулы, такие как гаптен группового антигена крови Льюис X (CD15) и лактозилцерамид (CD17). Гранулы клеток разных типов различаются по составу ферментов. НД – нет данных.

Вопросы для размышления

- Какие существуют функциональные субпопуляции Т-лимфоцитов и чем они различаются?
- Почему необходимо такое множество различных клеток, участвующих в иммунном ответе?
- Какие молекулы используются лимфоцитами а) в качестве антигенсвязывающих рецепторов и б) для взаимодействия между собой и другими клетками? Как называются различные семейства этих молекул?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Levy O. Antibiotic proteins of polymorphonuclear leukocytes. *Eur. J. Haematol.* **56**: 263–77, 1996.

Moller G. (ed.). Accessory molecules in the immune response. *Immunol. Rev.* **153**: 1996.

Peters J.H., Gieseler R., Thiele B., Steinbach F. Dendritic cells: from ontogenetic orphans to myelomonocytic descendants. *Immunol. Today* **17**: 273-8, 1996.

Playfair J.H.L. *Immunology at a glance*, 6th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1996.

Razin E., Pecht I., Rivera J. Signal transduction in the activation of mast cells and basophils. *Immunology Today* **16**: 370–3, 1995.

Reth M. The B-cell antigen receptor complex and coreceptors. *Immunol. Today* **16**: 310–13, 1995.

Roitt I.M. *Essential Immunology*, 9th ednd. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.

Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 227–57, 1994.

Wardlaw A.J., Moqbel R., Kay A.B. Eosinophils: biology and role in disease. *Adv. Immunol.* **60**: 151–266, 1995.

3 Лимфоидная система

- **Лимфоидные органы и ткани** относятся либо к первичным (центральным), либо ко вторичным (периферическим). Первичные лимфоидные органы – это тимус и красный костный мозг.
- **Лимфоциты дифференцируются из стволовых лимфоидных клеток** в первичных лимфоидных органах и мигрируют для выполнения своих функций во вторичные лимфоидные органы и ткани.
- **Вторичные лимфоидные органы** – это селезенка и лимфатические узлы; кроме того, в слизистых оболочках присутствуют участки вторичной лимфоидной ткани (лимфоидные образования), формирующие единую систему – лимфоидную ткань слизистых оболочек (ЛТС).
- Иммунный ответ на антигены, поступающие в организм через слизистые оболочки, начинается с примирования лимфоцитов, главным образом в **пейеровых бляшках.**
- **Разные лимфоидные органы защищают различные системы организма:** селезенка отвечает на антигены, циркулирующие в крови; лимфоузлы реагируют на антигены, поступающие по лимфатическим сосудам, ЛТС защищает слизистые оболочки.
- **Лимфоциты в большинстве не оседлые,** а циркулирующие клетки; они постоянно мигрируют из кровотока в лимфоидные ткани и вновь поступают в кровь через грудной лимфатический проток.

Клетки, участвующие в иммунном ответе, для наиболее эффективного функционирования действуют в составе специализированных тканей и органов, образующих вместе лимфоидную систему.

ЛИМФОИДНЫЕ ТКАНИ ВХОДЯТ В СОСТАВ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ И ОБРАЗОВАНИЙ

Функциональные клетки лимфоидной системы представлены лимфоцитами, вспомогательными клетками (макрофаги и антигенпрезентирующие клетки) и в некоторых тканях эпителиальными клетками. Все эти клетки функционируют в составе либо обособленных, окруженных капсулой лимфоидных органов, либо диффузных образований. Основные лимфоидные органы и ткани подразделяют на первичные (центральные) и вторичные (периферические) (*рис. 3.1*)

Первичные лимфоидные органы

Первичные лимфоидные органы служат основным местом развития лимфоцитов. Здесь лимфоциты дифференцируются из стволовых лимфоидных клеток, размножаются и созревают в функциональные клетки. У млекопитающих Т-клетки созревают в тимусе, а В-лимфоциты – в печени плода и в костном мозге (см. гл. 12). Птицы имеют особое место образования В-клеток – фабрициеву сумку. Именно в первичных лимфоидных органах формируется репертуар специфичностей лимфоцитарных антигенсвязывающих рецепторов и лимфоциты приобретают, таким образом, способность распознавать любые антигены, с которыми организм может столкнуться в течение жизни. Далее эти клетки подвергаются отбору на толерантность к аутоантигенам, после чего уже в периферических лимфоидных органах или образованиях распознают только чужеродные антигены. В тимусе, кроме того, Т-клетки «учатся» узнавать собственные молекулы MHC (см. гл. 12). Вместе с тем известно, что некоторые типы лимфоцитов развиваются вне первичных лимфоидных органов.

Вторичные лимфоидные органы

Вторичные лимфоидные органы и образования представлены селезенкой, лимфатическими узлами и лимфоидной тканью слизистых оболочек, включая миндалины глоточного кольца и пейеровы бляшки подвздошной кишки. Вторичная лимфоидная ткань – это то микроокружение, в котором лимфоциты могут взаимодействовать с антигенами, между собой и со вспомогательными клетками. Для возникающего здесь иммунного ответа необходимы фагоцитирующие макрофаги, антигенпрезентирующие клетки, а также зрелые Т- и В-лимфоциты.

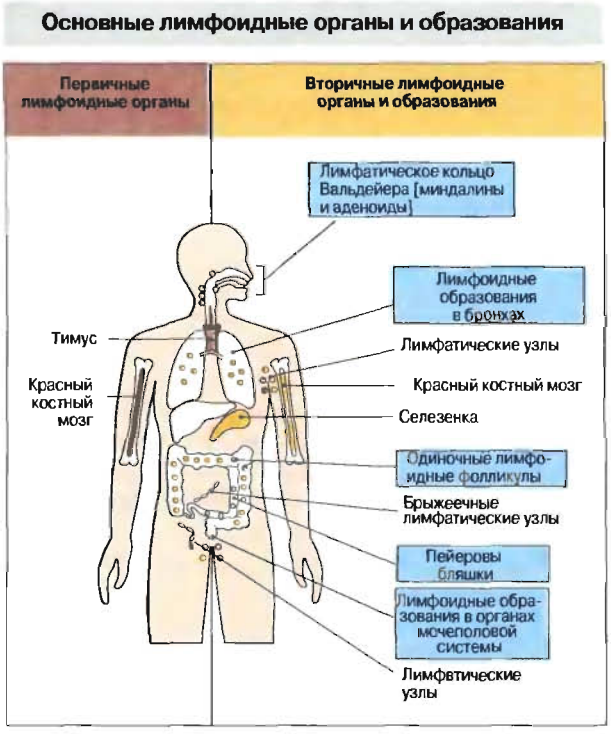


Рис. 3.1
Первичные лимфоидные органы – это тимус и костный мозг, в которых созревают Т- и В-клетки соответственно. Клеточный и гуморальный иммунные ответы возникают во вторичных (периферических) лимфоидных органах и образованиях. Вторичные лимфоидные органы можно классифицировать в соответствии с теми областями (системами) организма, иммунную защиту которых они обеспечивают. Селезенка отвечает преимущественно на антигены, циркулирующие в кровотоке. В лимфоузлах развиваются иммунные реакции на антигены, поступающие с лимфой, т. е. проникшие через кожу (подкожные лимфоузлы) или через слизистые оболочки (лимфоузлы внутренних органов). Миндалины, пейеровы бляшки и другие лимфоидные образования слизистой оболочки (*голубые прямоугольники*) реагируют на антигены, преодолевшие ее поверхностные барьеры. Красный костный мозг функционирует и как первичный, и как вторичный лимфоидный орган.

ПЕРВИЧНЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ

Тимус – место размножения и созревания Т-клеток

У млекопитающих тимус (вилочковая железа) состоит из двух долей и расположен в грудной полости, над сердцем и крупными кровеносными сосудами. Каждая его доля состоит из долек, разделенных между собой соединительнотканными перегородками. Внутри каждой дольки лимфоидные клетки (тимоциты) образуют наружную, корковую зону (кортекс) и внутреннюю, мозговую зону (медуллу) (*рис. 3.2*). В плотно заполненной корковой зоне преобладают относительно незрелые пролиферирующие тимоциты; в мозговой зоне находятся их более зрелые формы, в расположении которых виден градиент клеточной дифференцировки от корковой зоны к мозговой. Созревшие тимоциты мозговой зоны экспрессируют маркер CD44, отсутствующий на кортикальных тимоцитах. Этот маркер представляет собой рецептор, связывающий гиалуронат и другие компоненты внеклеточного матрикса соединительной ткани; он выявляется на всех циркулирующих, но не на оседлых лимфоцитах. Основу структуры тимусных долек составляет сеть эпителиальных клеток, которым принадлежит существенная роль в дифференцировке костномозговых предшественников тимоцитов, приводящей к образованию зрелых Т-лимфоцитов.

В тимусных дольках различают три типа эпителиальных клеток

По взаиморасположению, структуре, функции и фенотипу (набору) маркеров можно выделить не менее трех типов эпителия тимусной дольки. Основу корковой зоны образует сеть кортикальных эпителиальных клеток, и, кроме того, в ней присутствуют эпителиальные клетки-няни; в мозговой зоне эпителиальные клетки расположены

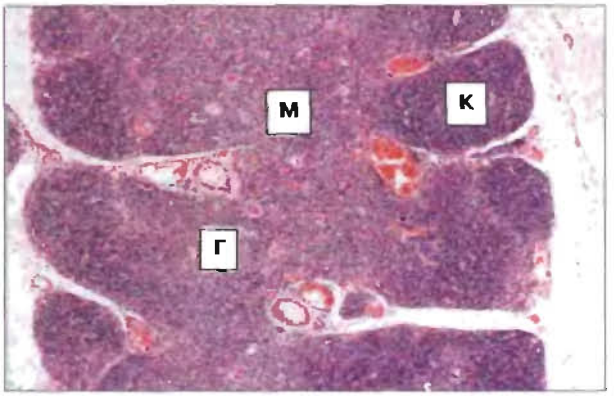


Рис. 3.2
Разделение тимуса на дольки (гистологический срез). На срезе видны две основные зоны дольки – наружная, корковая (К), содержащая незрелые клетки, и внутренняя, мозговая (М) с более зрелыми клетками. В мозговой зоне находятся также тельца Гассаля (Г). Окрашивание гематоксилином/эозином. × 25. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

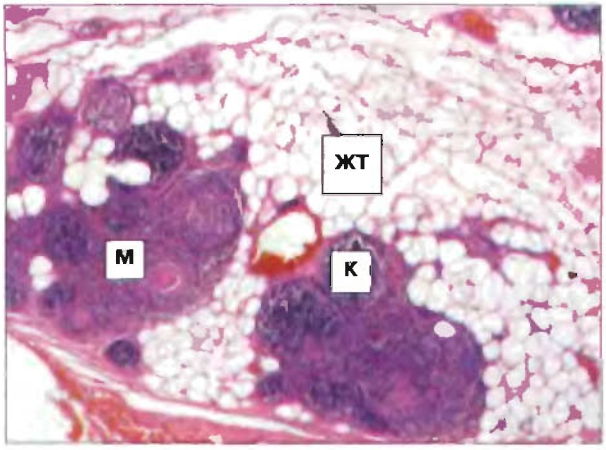


Рис. 3.3
Возрастная атрофия тимуса. Инволюция лимфоидной ткани с замещением ее жировой (ЖТ). Корковая зона дольки (К) почти исчезла, а уменьшенная мозговая (М) еще видна. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

главным образом в виде плотных скоплений – кластеров (см. гл. 12). Помимо этих клеток, в корковой же зоне, преимущественно на переходе ее в мозговую, присутствуют разветвленные клетки, переплетенные отростками – дендритные интердигитатные клетки, ИДК – и макрофаги (и те и другие костномозгового происхождения). Поступление клеток в тимус и их выход из него происходит по дольковым венулам с высоким эндотелием (ВЭВ). Все эпителиальные клетки, ИДК и макрофаги экспрессируют на поверхности молекулы МНС, важные для развития и отбора Т-клеток.

Мозговая зона тимусных долек содержит тельца Гассаля (тельца вилочковой железы). Функция их остается неизвестной; как установлено, они состоят из деградирующих эпителиальных клеток, богатых высокомолекулярными кератинами.

Тимус млекопитающих претерпевает по мере созревания и старения организма обратное развитие (*рис. 3.3*). У человека оно начинается в период полового созревания и продолжается до конца жизни. Возрастная инволюция прежде всего захватывает корковую зону долек вплоть до полного ее исчезновения, при сохранности мозговой зоны. Атрофия корковой зоны обусловлена чувствительностью кортикальных тимоцитов к кортикостероидным гормонам надпочечников. Например, атрофию тимуса вызывают все состояния, сопряженные с повышенной секрецией стероидов, в частности беременность и стресс. Однако генерация Т-клеток в тимусе может происходить и у взрослого индивида, хотя с низкой частотой.

Участки размножения и созревания В-клеток

Развитие В-клеток происходит в печени плода, а после рождения – в костном мозге

В-клетки образуются из стволовых клеток в островках гемопоэтической ткани печени и костного мозга плода, а также постнатального костного мозга (*рис. 3.4*). Кроме развивающихся В-клеток, в постнатальном костном мозге присутствуют зрелые плазматические и Т-клетки. Следовательно, у человека костный мозг функционирует и как важный вторичный лимфоидный орган.

У птиц дифференцировка В-клеток происходит в фабрициевой сумке, складки которой содержат лимфоидные фолликулы, имеющие корковую и мозговую зоны.

ВТОРИЧНЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ И ОБРАЗОВАНИЯ

Из первичных лимфоидных органов образовавшиеся здесь лимфоциты перемещаются во вторичные, периферические лимфоидные ткани –

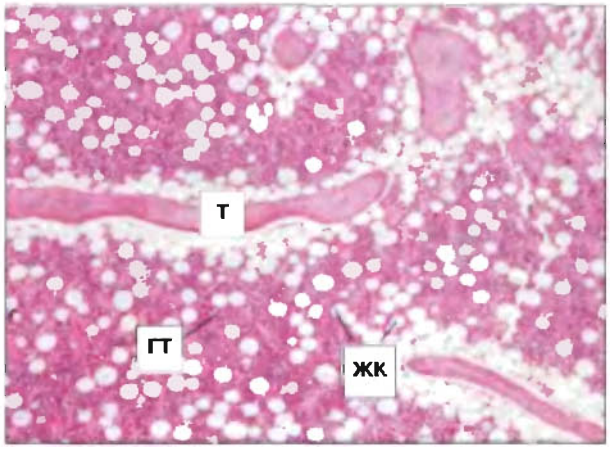


Рис. 3.4
Красный костный мозг. В биоптате между костными пластинками – трабекулами (Т) – видна гемопоэтическая ткань (ГТ). Определенное пространство занято также жировыми клетками (ЖК). (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

плотно структурированные, инкапсулированные органы (селезенка и лимфатические узлы) и бескапсульные скопления. Не окруженные капсулой островки лимфоидной ткани, расположенные большей частью в слизистых оболочках, названы лимфоидной тканью слизистых оболочек (ЛТС).

Функции лимфоидной ткани слизистых оболочек отличаются от функций других органов лимфоидной системы в иммунном ответе

Селезенка отвечает на антигены, находящиеся в крови (в случае удаления этого органа у больного повышается восприимчивость к возбудителям, проникшим в кровоток). Лимфатические узлы защищают организм от антигенов, проникающих через кожу или слизистые оболочки и затем транспортируемых с лимфой по лимфатическим сосудам. Иммунный ответ на проникшие такими путями антигены складывается из секреции антител в кровоток и из местных клеточных реакций. В отличие от этого лимфоидная ткань слизистых оболочек защищает именно слизистые. В ЛТС происходит примирование, т. е. первый контакт иммунных клеток с антигеном, поступающим с поверхности эпителия. Лимфоидная ткань присутствует в слизистой оболочке кишечника, дыхательных путей (в частности, бронхов) и мочеполовых путей. Основной эффекторный механизм местного иммунного ответа на уровне слизистой оболочки – это секреция и транспорт секреторных антител класса IgA (sIgA) непосредственно на поверхность ее эпителия. Не удивительно, что бо́льшая часть лимфоидной ткани организма (>50%) находится в слизистых оболочках и особенно обильно представлена в кишечнике, поскольку через слизистые оболочки и проникают в основном антигены извне. По той же причине антитела IgA представлены в организме в наибольшем количестве относительно других изотипов антител.

Инкапсулированные вторичные лимфоидные органы

Селезенка

Селезенка расположена в левом верхнем квадранте брюшной полости, позади желудка и вплотную к диафрагме. У взрослого человека она имеет размеры примерно 13 × 8 см и массу

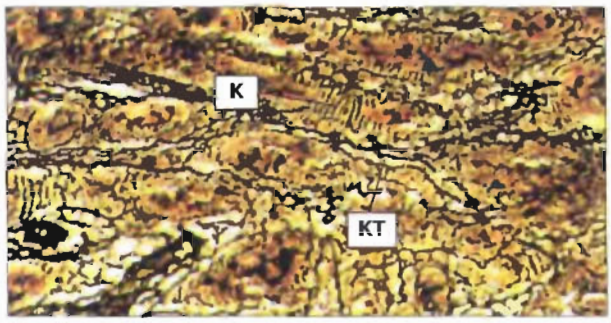


Рис. 3.5
Гистологический срез селезенки, демонстрирующий ретикулярную строму красной пульпы. Окрашивание на ретикулин позволяет выявить кольцеобразно расположенные ретикулиновые волокна (К), которые поддерживают эндотелиальные клетки венозных синусоидов. Стенка этих сосудов образована несплошным слоем базальной мембраны – между эндотелиальными клетками имеются щели, которые обеспечивают свободное протекание плазмы в просвет сосуда, а также избирательный переход клеточных элементов из тяжей красной пульпы (КТ). × 125.

180–250 г. Снаружи селезенка покрыта соединительнотканной капсулой из пучков коллагеновых волокон, которые проникают в паренхиму органа, образуя короткие перекладины (трабекулы). Вместе с ретикулярной стромой они создают структурный каркас для массы заполняющих селезенку разнообразных клеток (*рис. 3.5*). В селезенке различают два основных типа ткани: красную пульпу и белую пульпу (мякоть).

Белая пульпа Белая пульпа состоит из лимфоидной ткани, образующей вокруг центральных артериол периартериолярные лимфоидные «муфты» (ПАЛМ) (*рис. 3.6*). В ПАЛМ имеются Т- и В-клеточные области: Т-клетки непосредственно окружают центральную артериолу, тогда как В-клетки могут образовывать первичные, «нестимулированные» фолликулы (агрегаты никогда не встречавшихся с антигеном лимфоцитов) или вторичные, «стимулированные» фолликулы, содержащие центры размножения с клетками иммунологической памяти (*рис. 3.6* и *3.7*). В центрах размножения присутствуют также фолликулярные дендритные клетки и фагоцитирующие макрофаги. В краевой зоне, расположенной над мантией, локализованы специализированные макрофаги и субпопуляции В-клеток, отвечающих на тимус-независимые антигены II типа, например на полисахариды (см. гл. 11). Макро-

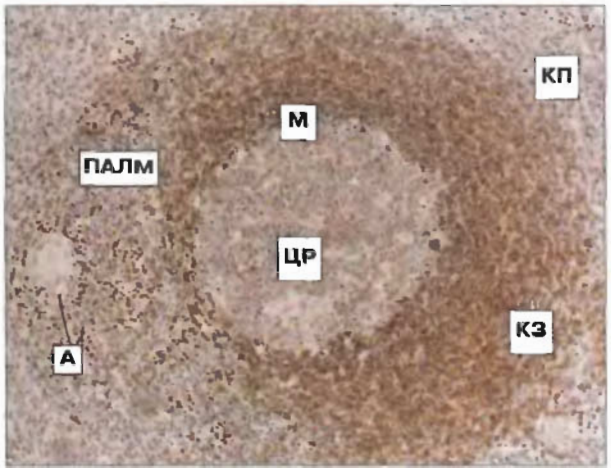


Рис. 3.6
Гистологический срез селезенки (лимфоидная ткань белой пульпы). Вторичный лимфоидный фолликул с центром размножения (ЦР) и мантией (М) окружен краевой зоной (КЗ) и красной пульпой (КП). Вблизи от фолликула проходит артериола (А), вокруг которой расположена периартериолярная лимфоидная муфта (ПАЛМ), состоящая в основном из Т-клеток. Краевая зона имеется лишь на одной стороне вторичного фолликула. (Фото любезно предоставлено проф. I. Maclennan.)

фаги и фолликулярные дендритные клетки в селезенке презентируют антигены В-клеткам. По входящим в краевую зону капиллярным ответвлениям центральной артериолы В-клетки и другие лимфоциты могут свободно поступать в ПАЛМ и покидать ее. Отдельные субпопуляции лимфоцитов, в частности созревающие плазмобласты, могут проходить через краевую зону в красную пульпу по сосудистым перемычкам.

Красная пульпа Эта ткань образована венозными синусоидами и клеточными тяжами (ретикулум), пространство между которыми заполняют оседлые макрофаги (*рис. 3.8*), эритроциты, тромбоциты, гранулоциты, лимфоциты и многочисленные плазматические клетки. Отметим, что помимо своих иммунологических функций селезенка выполняет функцию депонирования тромбоцитов, эритроцитов и гранулоцитов. В ней также разрушаются отжившие тромбоциты и эритроциты. Этот процесс, называемый гемокатерезом, протекает в красной пульпе. Осуществление депонирования и гемокатереза обеспечено особым строением кровеносной системы в селезенке (*рис. 3.7*). Окруженные ПАЛМ центральные артериолы оканчиваются капиллярами, которые свободно открываются в тяжах красной пульпы. Вследствие этого циркулирующие клетки, достигнув тяжей, задерживаются в них. Здесь макрофаги распознают и фагоцитируют отжившие тромбоциты и эритроциты. Не поглощенные и не разру-

Строение лимфоидной ткани в селезенке

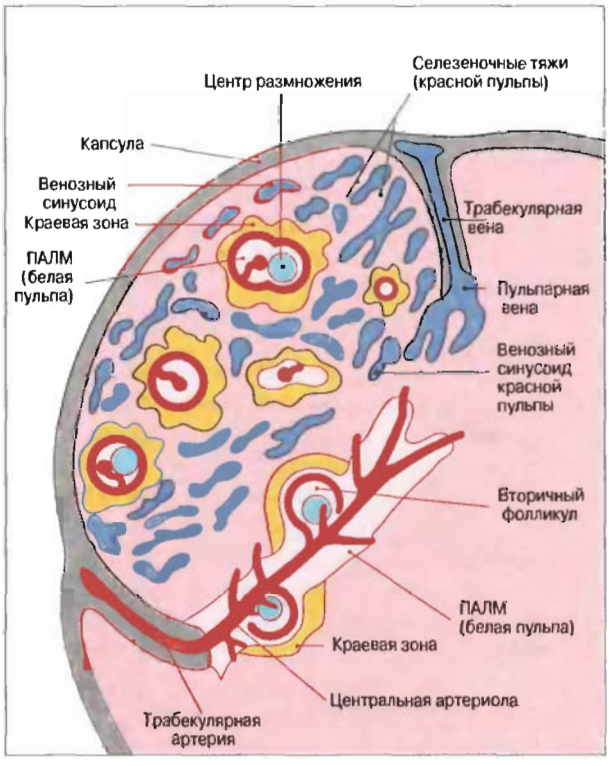


Рис. 3.7
Белая пульпа состоит из периартериолярных лимфоидных муфт (ПАЛМ), многие из которых содержат лимфоидные фолликулы. Она окружена краевой зоной, заполненной многочисленными макрофагами, антигенпрезентирующими клетками, медленно рециркулирующими В-лимфоцитами и нормальными киллерными клетками. В красной пульпе расположены венозные каналы (синусоиды), разделенные селезеночными тяжами. Кровь поступает в ткани селезенки по трабекулярным артериям, дающим начало ветвистым центральным артериолам. Часть этих артериол оканчивается в белой пульпе и питает центры размножения и краевую зону фолликула, но большинство достигает краевой зоны или соседних с нею участков. Некоторые ветви артериол заходят непосредственно в красную пульпу, оканчиваясь в селезеночных тяжах. Из венозных синусоидов кровь собирается в пульпарные вены, затем в трабекулярные вены и из них в селезеночную вену.

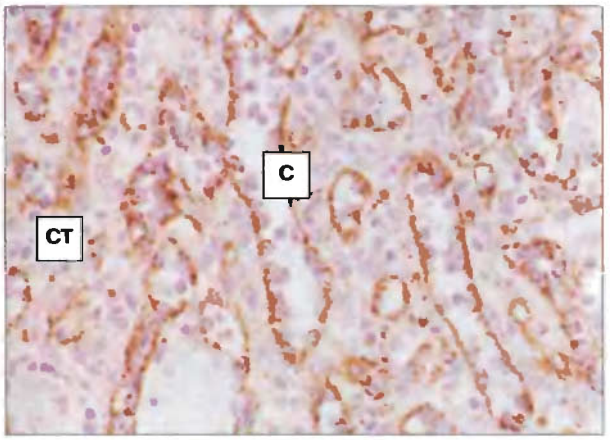


Рис. 3.8
Венозные синусоиды и тяжи красной пульпы. Иммуноферментное окрашивание катепсина D выявляет макрофаги в стенках синусоида (С) и в селезеночных тяжах (СТ). (Фото любезно предоставлено д-ром А. Stevens и проф. J. Lowe.)

шенные клетки крови возвращаются в кровоток, протискиваясь сквозь несплошную эндотелиальную выстилку венозных синусоидов (*рис. 3.8*) через щели между клетками, свободно пропускающие поток плазмы.

Лимфоузлы и лимфатическая система

Лимфатические узлы составляют часть системы, которая «вылавливает» антигены из тканевой жидкости и лимфы во время ее протекания от периферии к грудному протоку через главные лимфатические коллекторы (*рис. 3.9*). Лимфоузлы обычно расположены в местах разветвления лимфатических сосудов. В стратегических пунктах системы – шейной, подмышечной и паховой областях, средостении и брюшной полости – они образуют скопления, собирающие лимфу из соответствующих поверхностных и глубоких областей тела. Лимфоузлы, расположенные поверхностно и называемые подкожными, защищают кожу. Висцеральные (глубокие) лимфоузлы осуществляют защиту слизистых оболочек дыхательных путей, пищеварительного тракта и мочеполовых путей.

Лимфатические узлы человека – это образования округлой или бобовидной формы, диаметром 2–8 мм, с углублением для входа и выхода кровеносных сосудов, называемым воротами. Лимфа поступает в узел по нескольким приносящим (афферентным) лимфатическим сосудам и выходит из него по единственному выносящему (эфферентному) лимфатическому сосуду через ворота. Снаружи лимфоузел покрыт капсулой из коллагеновых волокон (*Рис. 3.10*). Радиально расположенные перегородки – трабекулы – вместе с тяжами ретикулярного остова поддерживают заполняющие узел разнообразные клетки. В лимфоузле различают В-клеточную корковую область, или кортекс, Т-клеточную (паракортикальную) область и центральную (мозговую) область (*рис. 3.11* и *3.12*). Последняя образована клеточными тяжами, содержащими Т- и В-лимфоциты, плазматические клетки и макрофаги.

Паракортикальная область содержит много переплетенных отростками (интердигитатных) клеток, экспрессирующих в большом количестве

Лимфатическая система

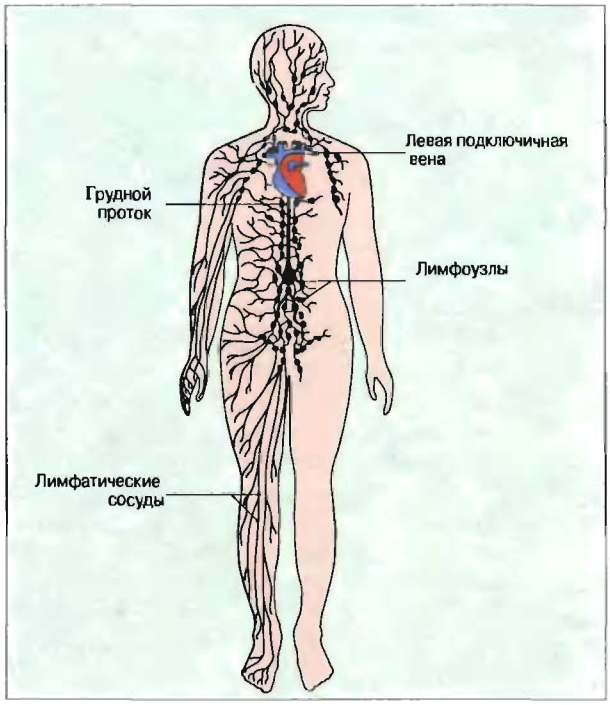


Рис. 3.9
Лимфоузлы находятся в местах слияния лимфатических сосудов и образуют сеть, которая собирает и фильтрует интерстициальную тканевую жидкость. Они подразделяются на подкожные и висцеральные, т. е. дренирующие глубокорасположенные ткани и внутренние органы тела. В конечном итоге лимфа достигает грудного лимфатического протока, впадающего в левую подключичную вену, и таким образом возвращается в кровоток.

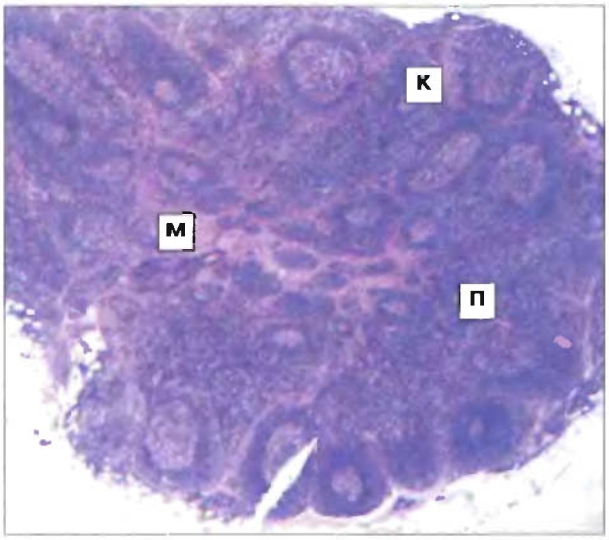


Рис. 3.10
Гистологический срез лимфоузла. Лимфоузел окружен соединительнотканной капсулой и имеет три основные области: В-клеточную корковую, или кортекс (К), Т-клеточную паракортикальную (П) и мозговую (М), образованную тяжами лимфоидной ткани (Т- и В-клеточная область, богатая плазматическими клетками и макрофагами). Окрашивание гематоксилином/эозином. × 10. По Zucker-Franklin D., Greaves V.F., Grossi C.E. et al. 1988. Atlas of Blood Cells: Function and Pathology. Vol. II. 2nd edn. Philadelphia: Lea and Febiger.

поверхностные антигены MHC класса II. Эти клетки собираются здесь, мигрируя из кожи (клетки Лангерганса) или из слизистых оболочек (дендритные клетки) и транспортируя при этом в лимфоузлы процессированные антигены из наружных покровов тела и слизистых оболочек (*рис. 3.13*). Основная масса лимфоидной ткани лимфатического узла сосредоточена в корковой и паракортикальной областях. Мозговая область образована тяжами, которые разграничивают лимфатические (мозговые) синусы, собирающие лимфу в краевой синус и далее в выносящий лимфатический сосуд (*рис. 3.12*). Вдоль синусов, большей частью в мозговой области, расположены клетки, фагоцитирующие детрит. В процессе протекания лимфы через лимфоузел из приносящих лимфатических сосудов в выносящий, эти фагоцитарные клетки вылавливают из нее корпускулярные антигены и транспортируют их в собственно лимфоидную ткань лимфатического узла.

В корковой области содержатся скопления В-клеток, образующих первичные и вторичные фолликулы, тогда как в паракортикальной области находятся главным образом Т-клетки. Вследствие этого после инъекции любого Т-зависимого антигена в кожу или слизистую оболочку (см. гл. 11) в паракортикальной области лимфоузла, дренирующего место введения, наблюдается активная пролиферация Т-клеток. Еще одно доказательство именно такой локализации Т-клеток демонстрируют больные с наследственной аплазией тимуса (синдром Ди Джорджи), у которых паракортикальные области лимфоузлов содержат меньше клеток, чем в норме. Подобные явления наблюдаются у неонатально тимэктомированных или наследственно бестимусных (голых) мышей и крыс.

Центры размножения можно обнаружить во вторичных фолликулах лимфоузлов, стимулированных антигеном. Они сходны с центрами размножения в В-клеточных областях селезеночных ПАЛМ и ЛТС. Большие и малые клетки фолликулярных центров размножения названы центробластами и центроцитами. У пролиферирующих В-клеток в центрах размножения ядро имеет характерную расщепленную форму, что служит

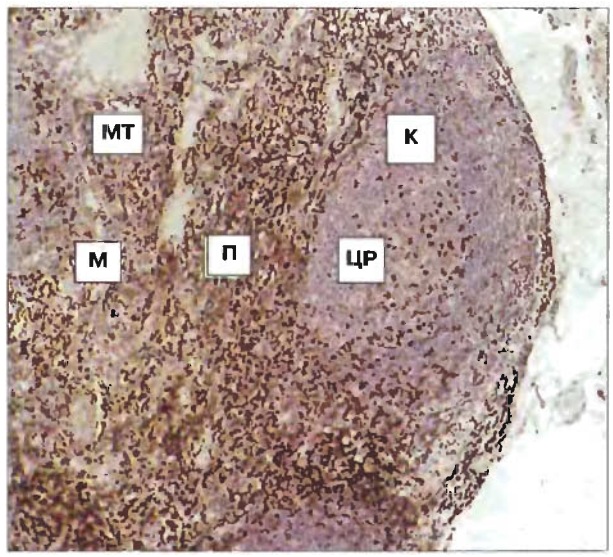


Рис. 3.11
Гистологическая структура лимфоузла. Видны корковая (К), паракортикальная (П) и мозговая (М) области. Срез окрашен для выявления локализации Т-клеток. Больше всего их в паракортикальной области и некоторое количество присутствует в центре размножения (ЦР) вторичного лимфоидного фолликула, в корковой области и мозговых тяжах (МТ). (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

Схема строения лимфоузла

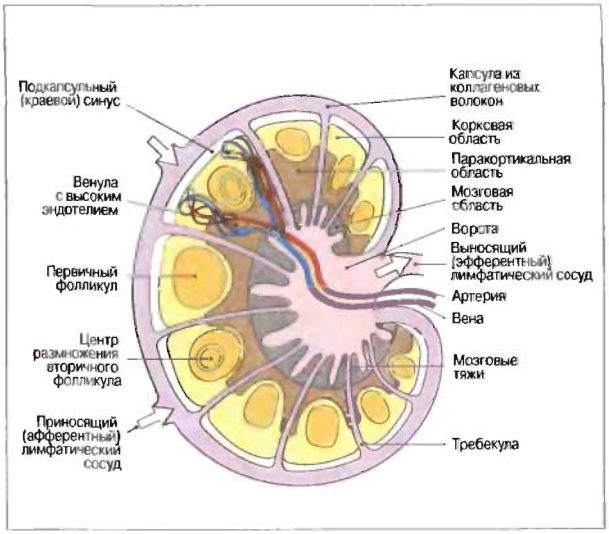


Рис. 3.12
Под капсулой, образованной коллагеновыми волокнами, находится подкапсульный синус, выстланный эндотелием и макрофагами. По приносящим лимфатическим сосудам из межклеточного пространства окружающих тканей и смежных лимфоузлов в него поступают лимфоциты и антигены. Корковая область заполнена в основном В-клетками, образующими первичные, а чаще всего вторичные (т. е. содержащие центры размножения) фолликулы. Паракортикальная область содержит главным образом Т-клетки. Каждый лимфоузел снабжен собственными артерией и веной. Поступление лимфоцитов из кровотока происходит в паракортикальной области по функционально специализированным венулам с высоким эндотелием (ВЭВ). В мозговой области содержится не только бóльшая часть плазматических клеток лимфоузла, но также Т- и В -клетки, образующие тяжи лимфоидной ткани. Лимфоциты покидают лимфоузел через выносящий лимфатический сосуд.

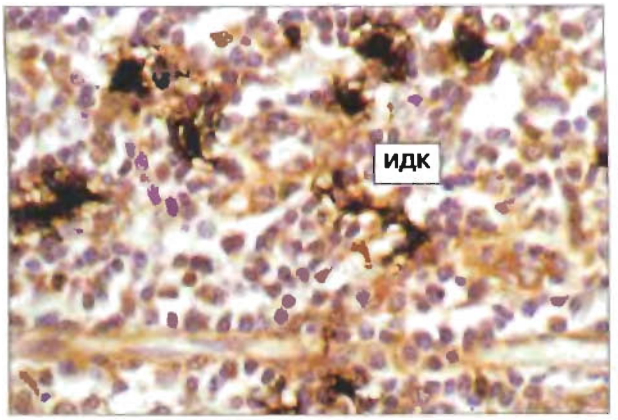


Рис. 3.13
Разветвленные, переплетенные отростками (дендритные интердигитатные) клетки (ИДК) в паракортикальной области лимфоузла контактируют между собой и с Т-лимфоцитами. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

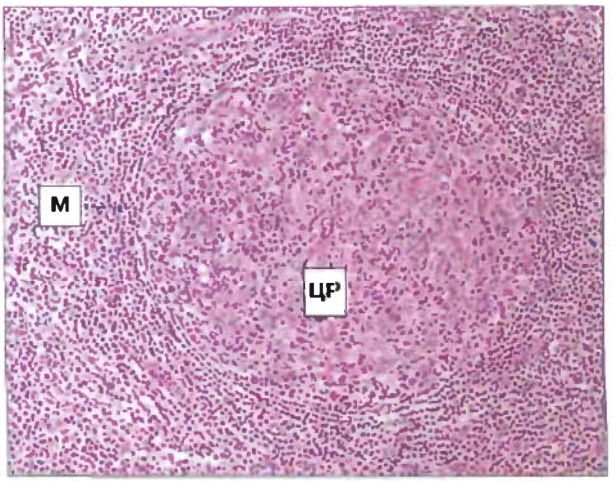


Рис. 3.14
Структура вторичного фолликула лимфатического узла. Крупный центр размножения (ЦР) окружен мантией (М).

ценным признаком для дифференциальной диагностики некоторых злокачественных лимфопролиферативных заболеваний, таких как центробластно-центроцитарные лимфомы, возникающие из этих клеток.

Центры размножения окружены мантией из лимфоцитов (*рис. 3.14*). На В-клетках в зоне мантии сопряженно экспрессируются (коэкспрессия) поверхностные IgM и IgD (*рис. 3.15*). Мантия большинства вторичных фолликулов имеет утолщение (корону) со стороны капсулы лимфоузла (*рис. 3.15*). Кроме В-клеток, во вторичных фолликулах содержатся фолликулярные дендритные клетки (ФДК) (*рис. 3.16*), некоторое количество макрофагов (*рис. 3.17*) и небольшое число Т-клеток $CD4^+$, которые взаимодействуют с дендритными клетками центров размножения (см. гл. 2). Все перечисленные клетки вместе со специализированными макрофагами краевого синуса способствуют, по-видимому, возникновению В-клеточного иммунного ответа, в частности развитию иммунологической В-клеточной памяти — одной из главных функций центров

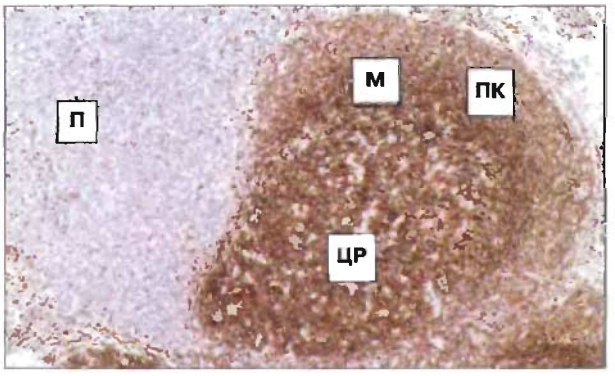


Рис. 3.15
Распределение В-клеток в корковой области лимфоузла. Иммуногистохимическое окрашивание поверхностных иммуноглобулинов выявило В-клетки, в наибольшем числе сконцентрированные во вторичном фолликуле – центре размножения (ЦР) и мантии (М), а также между фолликулом и капсулой узла, в подкапсульной зоне (ПК). Некоторое количество В-клеток присутствует в паракортикальной области (П), состоящей в основном из Т-клеток (см. *рис. 3.11*).

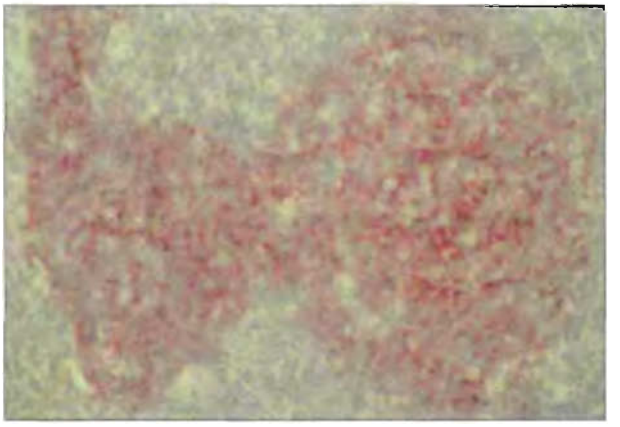


Рис. 3.16
Срез вторичного лимфоидного фолликула, демонстрирующий сеть из дендритных клеток (окрашивание с помощью конъюгированных с ферментом моноклональных антител, специфичных к ФДК).

размножения (более подробно клеточное строение центра размножения изложено в гл. 12).

Лимфоидная система слизистых оболочек

Лимфоидная ткань слизистых оболочек

Скопления бескапсульной лимфоидной ткани можно обнаружить в собственной пластинке слизистых оболочек и в подслизистой ткани желудочно-кишечного тракта, дыхательных и мочеполовых путей (*рис. 3.1*). Лимфоидные клетки образуют в них одиночные или агрегированные скопления с центрами размножения (вторичные фолликулы). Так, в миндалинах человека, где содержание лимфоидной ткани значительное, часто присутствуют крупные вторичные фолликулы; они перемежаются Т-клеточными зонами, через

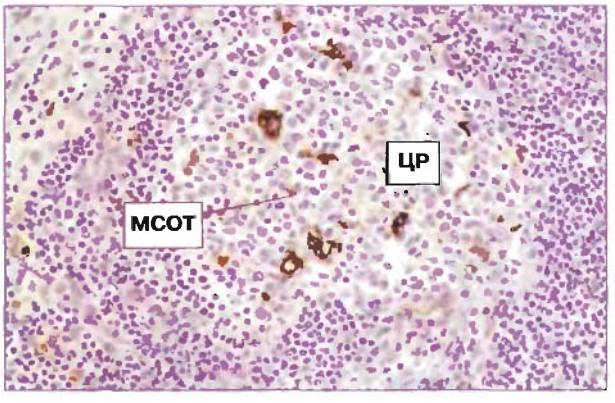


Рис. 3.17
Макрофаги центра размножения. Иммуноферментное окрашивание, специфичное для катепсина D, выявило несколько макрофагов, локализованных в центре размножения (ЦР) вторичного фолликула. В случае, когда эти клетки фагоцитируют апоптотичные В-лимфоциты, их называют макрофагами, содержащими окрашенные тельца (остатки В-клеточных ядер) (МСОТ).

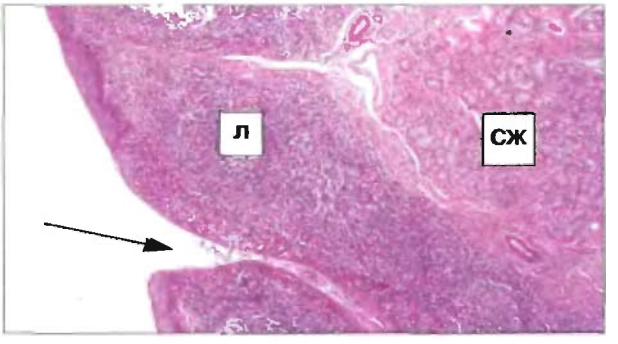


Рис. 3.18
Структура язычной миндалины. Язычная миндалина расположена в задней трети языка и состоит из скоплений лимфоидной ткани (Л), которая содержит крупные вторичные фолликулы и ассоциирована со слизистой оболочкой, образующей в этом участке глубокие щелеподобные инвагинации (*стрелка*). Вокруг миндалины видны содержащие слизь слюнные железы (СЖ). Такую же структуру имеют все прочие миндалины. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

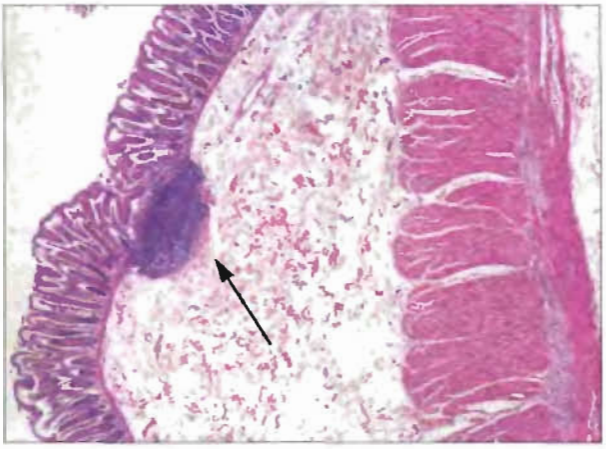


Рис. 3.19
Одиночный лимфоидный фолликул в толстой кишке. Этот узелок лимфоидной ткани расположен в слизистой оболочке и в подслизистой основе кишечной стенки (*стрелка*). (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

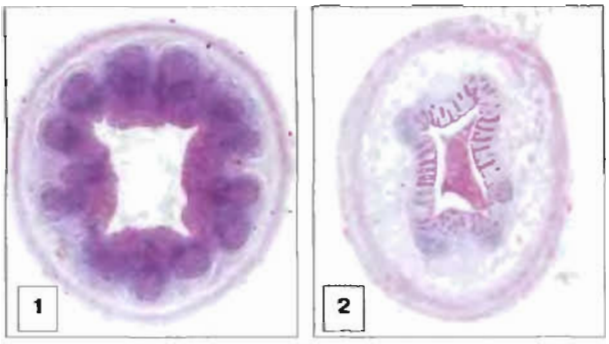


Рис. 3.20
Лимфоидные узелки в червеобразном отростке у человека. 1. Аппендикс десятилетнего ребенка; крупные лимфоидные узелки в слизистой оболочке, распространяющиеся в подслизистую основу. **2.** Аппендикс мужчины 36 лет; заметно существенное сокращение лимфоидной ткани с фактически полным исчезновением фолликулов – возрастная атрофия лимфоидной ткани, характерная не только для червеобразного отростка. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

которые проходят венулы с высоким эндотелием. Миндалины, названные в соответствии с их расположением нёбными, глоточными (аденоиды) и язычными, образуют кольцо Вальдейера (*рис. 3.1*). Гистологический срез язычной миндалины представлен на *рис. 3.18*. Аналогичные лимфоидные образования прилежат к слизистой оболочке, выстилающей бронхи и мочеполовые пути. Сами слизистые оболочки пищеварительной, дыхательной и мочеполовой систем содержат дендритные клетки, необходимые для поглощения, процессинга и транспорта антигенов в регионарные лимфоузлы. Скопления лимфоидной ткани, расположенные в собственной пластинке слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, часто распространяются в подслизистый слой. Они имеют форму одиночных фолликулов (*рис. 3.19*) или сгруппированных узелков, как, например, в червеобразном отростке слепой кишки (*рис. 3.20*). Пейеровы бляшки обычно встречаются в нижней части подвздошной кишки. Покрывающий их эпителий кишечника (эпителий, ассоциированный с фолликулами) способен транспортировать антигены и микробы в лимфоидную ткань. Эту специализированную функцию выполняют особые эпителиальные клетки, рассеянные среди энтероцитов; они названы М-клетками, поскольку их обращенная в просвет кишечника поверхность образует многочисленные микроскладки (*рис. 3.21*). В базолатеральной области М-клеток имеются глубокие инвагинации плазматической мембраны – карманы, в которых располагаются В- и Т-лимфоциты, дендритные клетки и макрофаги (*рис. 3.22*). Антигены и микробы подвергаются трансцитозу в эти карманы и далее в организованную субэпителиальную лимфоидную ткань слизистой оболочки. М-клетки встречаются не только в участках пейеровых бляшек, но и в других лимфоидных образованиях слизистых оболочек.

При местном гуморальном иммунном ответе на уровне слизистой оболочки происходит образование антител в основном изотипа IgA. Секреторные IgA – это антитела, способные проникать через мембраны эпителиальных клеток для обеспечения защиты от патогенных микробов (*рис. 3.23*).

Лимфоциты слизистых оболочек

Дополнительно к организованной лимфоидной ткани, образующей единую систему ЛТС, в слизистой оболочке желудка, кишечника, верхних и нижних дыхательных путей и некоторых других органов присутствует множество рассеянных лимфоцитов и плазматических клеток. Лимфоциты обнаруживаются в соединительной ткани собственной пластинки и в эпителиальной выстилке.

Среди лимфоцитов собственной пластинки (ЛСП) преобладают активированные Т-клетки, но в значительном количестве присутствуют так-

Строение пейеровой бляшки

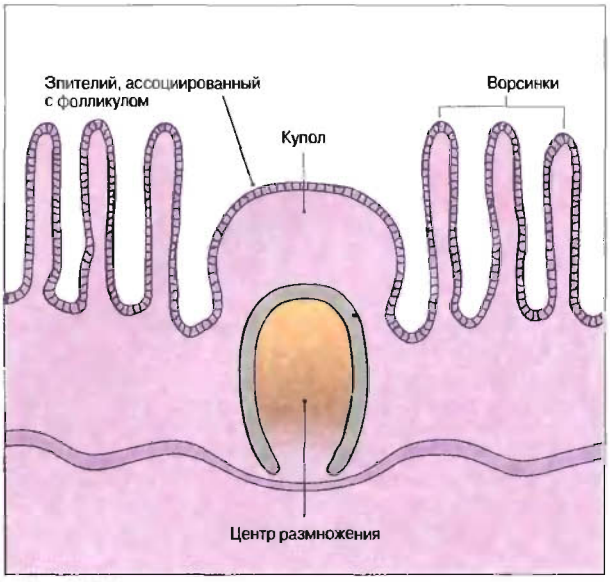


Рис. 3.21
Куполообразный выступ, образуемый слизистой оболочкой кишечника, на участке, лишенном ворсинок. Поверхностный эпителий в этом участке, называемый эпителием, ассоциированным с фолликулами (ЭАФ), содержит М-клетки. В глубине слизистой оболочки расположено скопление вторичных лимфоидных фолликулов с крупными центрами размножения. Окружающие тимус-зависимые межфолликулярные зоны содержат интердигитатные клетки и венулы с высоким эндотелием. Область купола между ЭАФ и фолликулами заполнена преимущественно В-клетками, большинство которых относится к клеткам иммунологической памяти.

же активированные В-клетки и плазмоциты. Эти плазматические клетки секретируют антитела преимущественно изотипа IgA, транспортируемые через клетки эпителия и высвобождаемые в просвет органа (*рис. 3.23*).

Внутриэпителиальные лимфоциты (ВЭЛ) представлены в основном Т-клетками, отличными по феногипу от ЛСП (*рис. 3.24*).

Большинство ЛСП и ВЭЛ относятся к клеткам иммунологической памяти, несущим маркер CD45RO. Они слабо отвечают на стимуляцию антителами к CD3, но чувствительны к другим механизмам активации, например опосредованным CD2 или CD28.

Покоящиеся Т-клетки периферической крови не экспрессируют интегриновую α-цепь HML-1 (CD103), но стимуляция фитогемагглютинином (ФГА) индуцирует ее синтез. Антитела к этой цепи митогенны для тех же клеток и вызывают у них экспрессию α-цепи низкоаффинных рецепторов ИЛ-2 (CD25). Полипептид HML-1 – это α-цепь из семейства интегринов, образующая при взаимодействии с β_7-цепью гетеродимер αHML-1-β_7 – интегрин, который синтезируют ВЭЛ и другие активированные лимфоциты.

Внутриэпителиальные лимфоциты выделяют ряд цитокинов, в том числе ИФγ и ИЛ-5. Одна из функций ВЭЛ состоит, предположительно, в иммунологическом надзоре, направленном на устранение мутантных или инфицированных вирусами клеток.

ЦИРКУЛЯЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ

Миграция лимфоцитов из первичных во вторичные лимфоидные ткани уже описана выше. Ока-

Схематическое изображение М-клетки кишечного ЭАФ

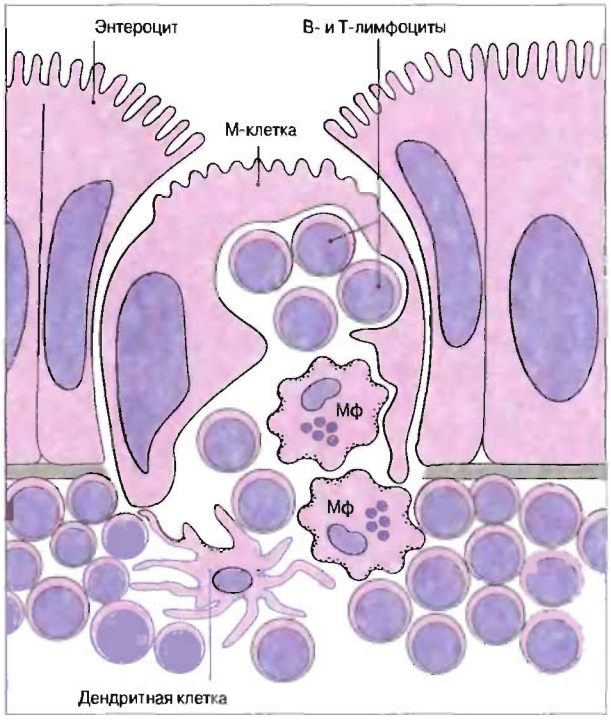


Рис. 3.22
Во внутриклеточном кармане находятся лимфоциты и нередко макрофаги (Мф). Эндоцитированные М-клеткой антигены попадают через этот карман в субэпителиальную лимфоидную ткань. (ЭАФ – эпителий, ассоциированный с фолликулами.)

Транспорт антител IgA через эпителий слизистой оболочки

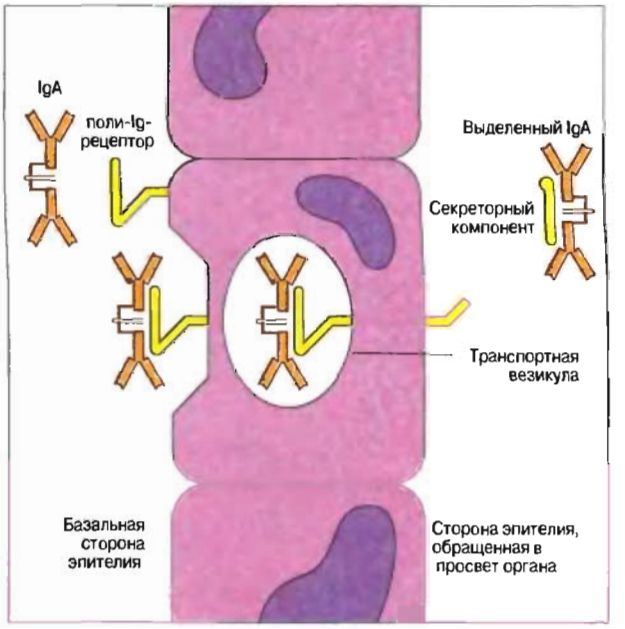


Рис. 3.23
Димеры IgA (sIgA), выделяемые плазматическими клетками в собственной пластинке слизистой оболочки кишечника, связываются поли-Ig-рецепторами на базальной стороне эпителия. Затем комплексы sIgA–рецептор путем эндоцитоза и переноса через клетку в транспортных везикулах (с мембраной которых они связаны) доставляются на поверхность эпителия, обращенную в просвет кишечника. Здесь транспортные везикулы сливаются с плазматической мембраной клеток эпителия, высвобождая димеры IgA с присоединенным секреторным компонентом (фрагмент рецептора) в просвет, где секреторный компонент предохраняет димеры IgA от расщепления протеолитическими ферментами.

Фенотипические различия между ЛСП и ВЭЛ человека

Тип клетки	αβ-TкР	γδ-TкР	CD4	CD8
Лимфоциты собственной пластинки	>95%	<5%	70%	30%
Внутриэпителиальные лимфоциты	60–90%	10–40%	<10%	70%

Рис. 3.24
Фенотипические маркеры лимфоцитов собственной пластинки слизистой оболочки кишечника (ЛСП) в основном сходны с маркерами лимфоцитов периферической крови. Значительная часть внутриэпителиальных лимфоцитов (ВЭЛ) относится к γδ-Т-клеткам, многие из которых экспрессируют CD8, вероятно как маркер активации.

завшись во вторичных лимфоидных органах и образованиях, многие лимфоциты не остаются в них, а перемещаются из одного лимфоидного органа в другой по кровеносным и лимфатическим сосудам (*рис. 3.25*).

Лимфоциты выходят из кровотока в лимфоидную ткань через стенки венул с высоким эндотелием

Некоторые лимфоциты переходят из кровотока в лимфоидную ткань через обычные посткапиллярные венулы, однако у большинства млекопитающих этот переход осуществляется преимущественно через специализированные участки венозного русла – венулы с высоким эндотелием, или высокоэндотелиальные венулы (ВЭВ) (*рис. 3.26* и *3.27*). В лимфоузлах эти сосуды находятся главным образом в паракортикальной области и иногда в корковой, но не в мозговой. Вместе с тем часть лимфоцитов, в первую очередь Т-клетки, поступают в регионарный лимфоузел из дренируемой им области по приносящим лимфатическим сосудам, а не по ВЭВ. Тем же путем в лимфоузлы поступает большинство антигенов. Венулы с высоким эндотелием обнаружены не только в лимфоузлах, но и в ЛТС, а также в тимусе.

Венулы с высоким эндотелием управляют циркуляцией лимфоцитов

Эти венулы выстланы кубическими эндотелиальными клетками, которые в отличие от покоящих-

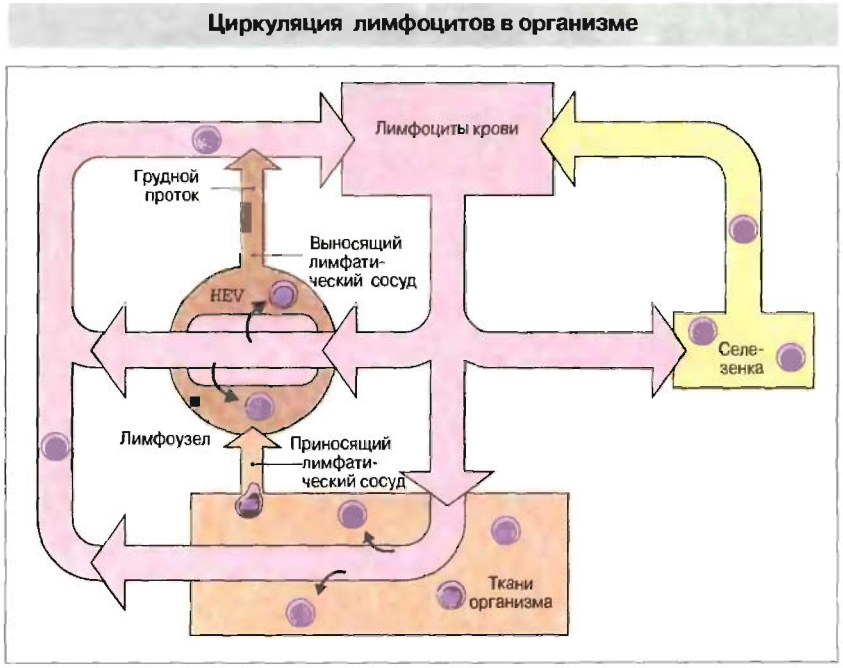


Рис. 3.25
Лимфоциты из кровотока проникают в лимфоузлы и в ЛТС через специализированный высокий эндотелий посткапиллярных венул (ВЭВ); затем они покидают лимфоидную ткань по выносящим лимфатическим сосудам и, пройдя сквозь другие лимфоузлы, возвращаются в кровоток по грудному протоку, впадающему у человека в левую подключичную вену. В селезенке лимфоциты входят в белую пульпу через краевые зоны; затем, попав в синусоиды красной пульпы, покидают орган через селезеночную вену.

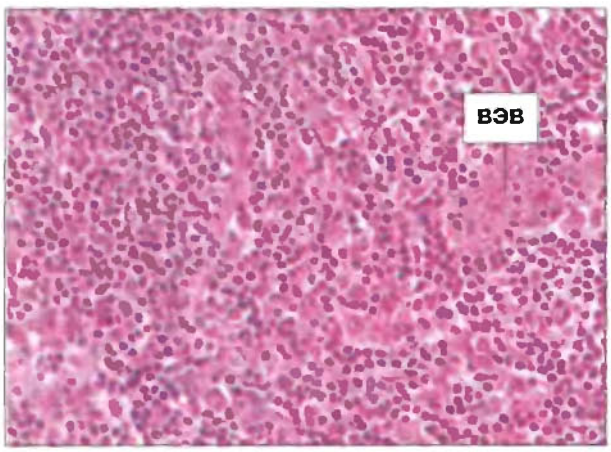


Рис. 3.26
Венула с высоким эндотелием (ВЭВ) в паракортикальной области лимфоузла. Лимфоциты выходят из кровотока через высокий эндотелий (ВЭВ) и проникают в лимфоузел. Окрашивание гематоксилином/эозином. × 200. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

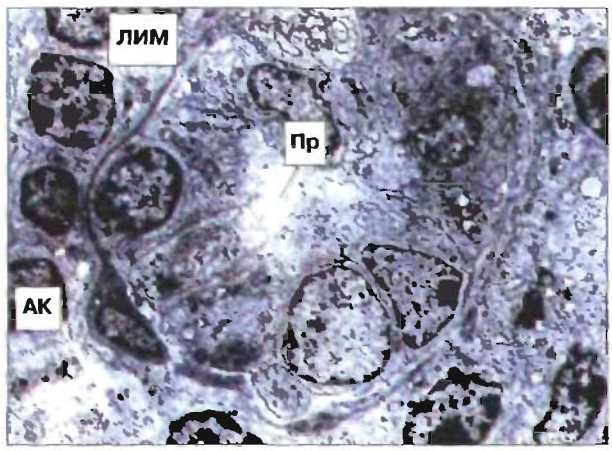


Рис. 3.27
Электронная микрофотография венулы с высоким эндотелием в паракортикальной области лимфоузла. Вблизи базальной мембраны виден лимфоцит (ЛИМ), покидающий просвет (Пр) венулы, которая снаружи частично охвачена адвентициальной клеткой (АК). × 1600.

ся плоских клеток эндотелиальной выстилки обычных венул экспрессируют при активации разнообразные молекулы межклеточной адгезии. Один из механизмов активации клеток эндотелия опосредован локально синтезируемыми цитокинами, такими как ИФγ, ИЛ-1 и ФНО.

Эндотелий обычных венул может превращаться в кубический в участках хронического воспаления, например в коже или в синовиальных оболочках, где ВЭВ в норме отсутствуют. Появившиеся ВЭВ направляют в очаг воспаления специализированные субпопуляции Т-лимфоцитов. Активированные кубические эндотелиоциты экспрессируют ряд молекул межклеточной адгезии из суперсемейства иммуноглобулинов [ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102) и VCAM-1 (CD106)] или из семейства селектинов, в том числе Е-селектин [ELAM-1 (CD62E)] и Р-селектин (CD62P). Р-селектин хранится в тельцах Вейбеля–Палада эндотелиальных клеток кровеносных капилляров и при активации быстро доставляется на поверхность эндотелиоцита (см. гл. 5). Ведущая роль в прилипании лимфоцитов к эндотелию принадлежит CD44 – белку с мол. массой 90 кДа, который экспрессируют все лейкоциты. Предположительно, между лимфоцитами и эндотелием возникают специфические лиганд-рецепторные взаимодействия, в результате которых лимфоциты направляются в определенные ткани-мишени. Это происходит за счет экспрессии эндотелием специфичных для данного органа «адрессинов», например MAdCAM-1 на эндотелиоцитах в кишечнике и VCAM-1 на эндотелиальных клетках в других органах. Для избирательного органоспецифического распределения лимфоцитов важны также особые молекулы «хоминга» (от англ. homing – возврат). Например, решающее значение для возвращения лимфоцитов в лимфоидную ткань кишечника имеют их интегрины $\alpha_4\beta_7$, которые связываются с адрессинами MAdCAM-1 на эндотелиальных клетках ВЭВ в пейеровых бляшках. У мышей, дефектных по гену β_7, образование лимфоидной ткани кишечника существенно нарушено.

Благодаря рециркуляции любой антиген экспонируется множеству лимфоцитов

Из лимфоузлов лимфоциты возвращаются в кровоток по выносящим лимфатическим сосудам, через грудной проток и подключичную вену. Ежечасно в рециркуляцию вовлекается 1–2% лимфоцитов. В итоге этот процесс позволяет множеству антигенспецифичных лимфоцитов встретиться с соответствующими антигенами, проникшими в их микроокружение в периферических лимфоидных органах. Особая важность рециркуляции становится очевидной, если вспомнить, что лимфоидные клетки моноспецифичны, и лишь ограниченное число лимфоцитов способно распознавать каждый конкретный антиген.

В норме рециркуляция лимфоцитов через лимфоузлы происходит постоянно, но если в лимфоидную ткань ранее сенсибилизированного к тому или иному антигену животного повторно попадает данный антиген, рециркуляция прекращается приблизительно на 24 ч. Временная остановка рециркуляции обусловлена в этом случае избирательной задержкой антигенспецифичных лимфоцитов в лимфоузлах, дренирующих место проникновения антигена. Например, образовавшиеся в результате контакта с антигеном лимфобласты уже не рециркулируют, оставаясь, по-видимому, в участке встречи с антигеном.

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками, отличается как система от других лимфоидных органов в том числе и тем, что лимфоциты ЛТС возвращаются в процессе рециркуляции главным образом в эту ткань. Так, лимфоциты, стимулированные в пейеровых бляшках, проходят через регионарные лимфоузлы в кровоток, а затем возвращаются «домой», в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника (*рис. 3.28*). Такая специфическая рециркуляция объясняется тем, что эти лимфоциты эспрессируют молекулы «возврата домой», которые связываются со специфическими молекулами адгезии – адрессинами – на поверхности эндотелиоцитов. Адрессины экспрессирует только эндотелий венул лимфоидной ткани слизистых оболочек, но не ВЭВ обычных лимфоузлов (см. выше), что и обеспечивает избирательную рециркуляцию. По той же причине стимуляция антигеном в области слизистой оболочки (в том или ином участке организма) вызывает системное образование антител преимущественно в ЛТС.

Рециркуляция лимфоцитов в системе лимфоидных тканей слизистых оболочек

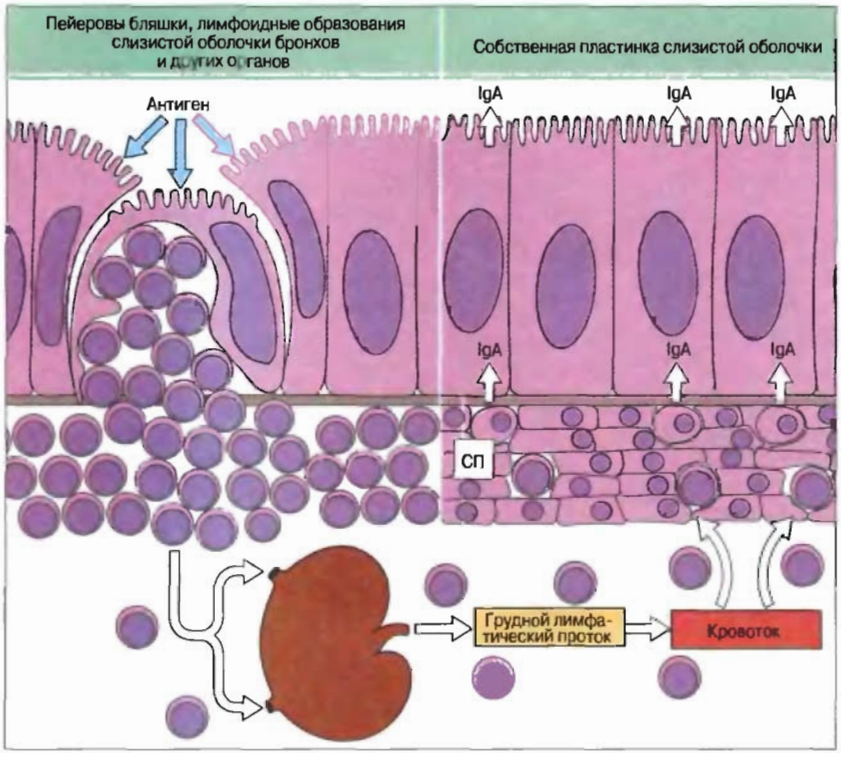


Рис. 3.28
Лимфоидные клетки, активированные антигеном в пейеровых бляшках (или в лимфоидных образованиях, ассоциированных с бронхами и другими слизистыми оболочками) через регионарные лимфоузлы и затем по грудному протоку мигрируют в кровяное русло, из которого вновь возвращаются в собственную пластинку (СП) эпителия кишечника и других слизистых оболочек, вблизи места антигенного примирования или на значительном удалении от него. Таким образом лимфоциты, стимулированные на слизистой оболочке в одной из частей тела, могут избирательно распределяться по системе ЛТС. Избирательность расселения достигается благодаря экспрессии особых молекул межклеточной адгезии на лимфоцитах и на клетках ВЭВ слизистых оболочек.

Вопросы для размышления

- Почему млекопитающие нуждаются в столь высокоспециализированной лимфоидной системе, тогда как более примитивные животные способны выживать без нее?
- Насколько важна рециркуляция лимфоцитов в системе лимфоидной ткани слизистых оболочек и какие молекулы обеспечивают ее избирательность?
- В чем сходство и различия между лимфоидной тканью слизистых оболочек и остальными органами лимфоидной системы? Важна ли для выживания одна из этих частей лимфоидной системы более, чем другая?
- Чем лимфоидная система отличается от любой другой системы организма, например от дыхательной или репродуктивной? (Возможно, для ответа вам понадобится освежить знания о различных системах организма по учебнику физиологии.)
- Какие вспомогательные клетки присутствуют в лимфоидных тканях и в чем их функции? В чем состоят функции первичных и вторичных лимфоидных органов и образований?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Butcher E.C., Picker L.J. 1996. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* **272**: 6--66.

Hogg N., Berlin C. 1995. Structure and function of adhesion receptors in leukocyte trafficking. *Immunol. Today* **16**: 327–330.

Kuby J. 1997. Immunology. 3rd edn. *Cells and Organs of the Immune System*. New York: W.H. Freeman and Co. 47–83.

Playfair J.H.L. *Immunology at a Glance*. 6th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1996.

Roitt I.M. *Essential Immunology*. 9th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.

Комплемент

4

- **Система комплемента – это одна из основных систем врожденного иммунитета,** функция которой состоит в том, чтобы отличать «свое» от «не-своего». Такая дифференциация осуществляется благодаря присутствию на собственных клетках организма регуляторных молекул, подавляющих активацию комплемента.
- **Существует два главных пути (механизма) активации комплемента** – классический и альтернативный. При классической активации происходит связывание иммунных комплексов с C1q, что соединяет приобретенный иммунитет (антитела) с врожденным (комплемент).
- **В плазме крови постоянно происходит «холостая» активация C3,** приводящая к фиксации небольшого числа его молекул на поверхности как «своего», так и «не-своего». На поверхности собственных клеток регуляторные белки вызывают разрушение связавшихся молекул C3 и подавляют дальнейшую активацию комплемента. На чужеродных структурах, лишенных регуляторных белков, напротив, начинается альтернативная активация комплемента.
- **Наличие внутренней тиоэфирной связи в белках C3 и C4** позволяет им ковалентно взаимодействовать с гидрокси- и аминогруппами других молекул. Образование этой связи составляет ключевой момент локальной активации комплемента в очагах воспаления.
- **При активации комплемента действуют два механизма усиления**. Первый известен как «запуск ферментного каскада». «Пусковым сигналом» служит связывание небольшого числа молекул C1q, вызывающее затем последовательную активацию ряда зимогенов (профер-ментов), которые расщепляют уже значительно большее число молекул C3.
- **Второй механизм усиления – это действующая по принципу положительной обратной связи «петля усиления».** Расщепление небольшого количества молекул C3 с образованием C3b способствует появлению фермента C3-конвертазы, который расщепляет гораздо больше C3. На собственных клетках организма имеются молекулы, подавляющие действие этой петли усиления путем расщепления C3b на неактивные продукты. На чужеродных структурах действие «петли усиления» не встречает препятствий.
- **Эффекторные механизмы системы комплемента делятся на пять групп** в зависимости от функции: 1) опсонизация микробов для поглощения их фагоцитами; 2) непосредственное уничтожение микроорганизмов путем лизиса; 3) активация и хемотаксическое привлечение лейкоцитов в очаг воспаления; 4) процессинг (специфическое расщепление) иммунных комплексов; 5) индукция специфических антител путем, во-первых, усиленной локализации антигенов на поверхности B-лимфоцитов и антиген-презентирующих клеток и, во-вторых, снижения порога активации B-лимфоцитов.
- **Патогенные микробы вырабатывают механизмы, позволяющие им избежать уничтожения системой комплемента,** а в некоторых случаях даже использовать ее для усиления своей патогенности.
- **Система комплемента может участвовать в патогенезе заболевания,** если происходит ее генерализованная активация in vivo или активация на собственных тканях в результате связывания комплемента аутоантителами.

ВВЕДЕНИЕ

Термин «комплемент» первоначально применил Эрлих для описания «дополнительной», присутствующей в сыворотке активности, без которой специфичные антитела не могут лизировать бактерии. Открытие этой термолабильной активности в сыворотке крови обычно приписывают Борде (1895), хотя нечто подобное несколькими годами раньше описал Наттолл. В 1907 г. Феррата, диализуя сыворотку против подкисленной воды, установил, что белки комплемента можно разделить на две фракции: выпадающие в осадок эуглобулины и водорастворимую альбуминовую фракцию (псевдоглобулины). Активность комплемента проявлялась только в присутствии обеих

фракций, названных тогда средней и концевой частями, а позднее – C′1 и C′2 компонентами. В последующем Сакс и Омороков обнаружили, что яд кобры инактивирует другой компонент комплемента (C′3), а Гордон установил, что следующий компонент (C′4) разрушается аммиаком. Последовательность открытия перечисленных компонентов комплемента не соответствует очередности их вступления в реакцию активации системы, и этим объясняется кажущаяся нелогичность ее современной номенклатуры.

Сложная номенклатура системы комплемента

Белки классического пути активации и лизирующего мембрану комплекса обозначены каждый своим номером и вступают в реакцию активации в следующем порядке: C1q, C1r, C1s, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9. Среди них много предшественников ферментов – проферментов, которые приобретают активность только после расщепления. Обозначение активного фермента отличается от обозначения его неактивного предшественника надбуквенной чертой, например $\overline{C1r}$. Продукты расщепления обозначаются так же, как исходные компоненты комплемента, но с добавлением строчных букв – обычно для меньшего фрагмента – «a», а для большего – «b», например C3a и C3b. Из этого правила имеется одно исключение: C2b означает меньший, а C2a – больший фрагмент C2.

Белки альтернативного пути активации называют факторами и обозначают однобуквенными символами. В тексте слово фактор обычно сокращается до первой буквы F или вовсе опускается, и в результате фактор B может быть обозначен аббревиатурой FB или просто B. Регуляторные белки чаще всего обозначают аббревиатурами названий их функциональной активности: например, белок, ускоряющий диссоциацию C3-конвертазы классического пути, имеет символ DAF (decay accelerating factor), или, по-русски, ФУД (фактор ускорения диссоциации).

Клеточные рецепторы, связывающие компоненты комплемента, названы по аббревиатурам своих лигандов (например, C5a-рецептор) или как маркерные молекулы в номенклатуре CD-системы. Отдельно пронумерованы рецепторы для главных фрагментов C3 как рецепторы комплемента типов 1, 2, 3 и 4 (CR1, CR2, CR3 и CR4). К сожалению, в результате этого некоторые рецепторы в современной литературе имеют по три синонима, например C3b-рецептор = CR1 = CD35.

Белки системы комплемента относятся к различным суперсемействам

Белки, объединенные в одно суперсемейство – например иммуноглобулинов (см. гл. 6) – имеют много общих структурных и функциональных свойств. В систему комплемента входят белки, относящиеся к нескольким суперсемействам.

Классификация белков комплемента по суперсемействам позволяет лучше понять их структурные и функциональные взаимосвязи

Поясним это на примере суперсемейства регуляторных белков комплемента, называемых также регуляторами активации комплемента. К ним относятся:

- фактор H – белок плазмы крови с молекулой удлиненной конфигурации;
- C4-связывающий белок [Cd-bp (binding protein)] – гептамерный белок плазмы, молекула которого имеет паукообразную форму;
- фактор, ускоряющий диссоциацию C3-конвертазы (ФУД, CD55), – белок клеточной мембраны, закрепленный в ней на своеобразной гликофосфолипидной «ножке»;
- мембранный кофакторный белок (МКБ, CD46) – трансмембранный белок, действующий как кофактор расщепления C3b;
- рецепторы комплемента I типа (CR1, CD35) и 2 типа (CR2, CD21) – клеточные рецепторы, имеющие трансмембранные домены.

Семейство регуляторных белков комплемента кодирует группа тесно сцепленных генов, расположенных в хромосоме 1. При очевидных различиях структуры все эти белки содержат одинаковый домен, состоящий примерно из 60 аминокислотных остатков и названный коротким общим повтором. Этот домен может много раз встречаться в структуре каждой молекулы, образуя ее каркас и, возможно, определяя специфичность связывания. Синтез этих белков кодируют гомологичные, тандемно расположенные экзоны.

Составляющие это семейство шесть белков выполняют также ряд общих функций в активации комплемента: фактор H, C4-bp, ФУД, МКБ и CR1 подавляют образование комплексов C4b2a и C3bBb, т. е. C3-конвертаз классического и альтернативного путей активации. Некоторые из

этих белков имеют и другие общие функции, но не идентичные, а лишь частично перекрывающиеся. Такие функции включают: подавление связывания C2 с C4b и фактора B с C3b, индукцию диссоциации C2a от C4b и Bb от C3b, действие в качестве кофакторов фактора I – фермента, ответственного за катаболизм C3b и C4b.

Следует отметить, что короткие общие повторы имеются и в других белках, которые, однако, не взаимодействуют с белками комплемента; это рецептор для ИЛ-2, β_2-гликопротеин I и фактор XIII системы свертывания крови.

Структура большинства белков комплемента «мозаичнв»

Молекулярная основа родства белков внутри разных семейств становится яснее благодаря клонированию их генов. По современным представлениям, в ходе эволюции происходила многократная дупликация экзонов и их «перетасовка» между различными генами. Находясь одновременно в составе разных генов, эти дуплицированные сегменты ДНК эволюционировали параллельно и во многих случаях сохранили сходные последовательность и функцию, хотя в ряде случаев активность утрачена или приобретена новая.

Многие белки комплемента представляют собой «мозаику» из продуктов экзонов, относящихся к генам разных суперсемейств. Так, C1s, фермент классического пути, содержит участки аминокислотной последовательности из сериновой эстеразы и рецептора для липопротеинов низкой плотности, а также короткий общий повтор, встречающийся в суперсемействе регуляторных белков комплемента. Точно так же, C6, C7, C8 и C9 – компоненты лизирующего мембрану комплекса – имеют общие свойства с перфорином цитотоксических Т-лимфоцитов и катионным белком эозинофилов.

Активация комплемента – один из главных эффекторных механизмов воспаления

Система комплемента относится к факторам врожденного иммунитета и включает в себя ряд белков, действующих последовательно, т. е. каскадом, в котором каждый фермент катализирует активность следующего. Наиболее важный компонент комплемента – это C3, присутствующий в плазме крови в той же концентрации (1–2 мг/мл), что и некоторые иммуноглобулины.

Два главных пути активации комплемента отражают особенности его участия в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета. Классический путь связан с приобретенным иммунитетом, поскольку белок C1q взаимодействует с антителами, образовавшими комплекс с антигеном. Альтернативный путь активации комплемента относится к механизмам врожденного иммунитета, начинаясь иммуно*не*специфическим связыванием C3b с поверхностью микроорганизма.

Активность отдельных компонентов комплемента in vivo можно проиллюстрировать на примерах расстройств, вызванных недостаточностью этих белков (см. гл. 21). У таких больных наблюдается повышенная восприимчивость к рецидивирующим гнойным бактериальным инфекциям, а также к заболеваниям, для которых характерно повышенное образование аутоантител и иммунных комплексов. Эти наблюдения свидетельствуют о необходимости комплемента как для антибактериальной защиты, так и для устранения иммунных комплексов, которые иначе способны вызывать аутоиммунные заболевания и болезни иммунных комплексов (см. гл. 25).

В результате активации комплемента при воспалении происходят:

- опсонизация микроорганизмов и иммунных комплексов;
- активация лейкоцитов;
- лизис клеток-мишеней (*рис. 4.1*).

Опсонизация Это стимуляция фагоцитоза в результате прикрепления белков комлемента к поверхности мишеней (микробов, иммунных комплексов и др.). Обладая рецепторами к опсонизирующим белкам, фагоцитарные клетки связывают мишени, что вызывает активацию фагоцитов и эндоцитоз или фагоцитоз мишеней.

Активация лейкоцитов Полиморфноядерные гранулоциты и макрофаги обладают специфическими рецепторами к мелким фрагментам белков комплемента, образующимся на поверхности мишеней в результате каскада протеолитических реакций. Диффундируя в окружающую среду, эти фрагменты привлекают фагоциты (направленное движение клеток, или хемотаксис) и, связываясь с ними, вызывают их активацию.

Лизис клеток-мишеней Протеолитический каскад комплемента завершается погружением гидрофобного «зонда» в липидный бислой мембраны

Три главные функции комплемента в воспалительном процессе

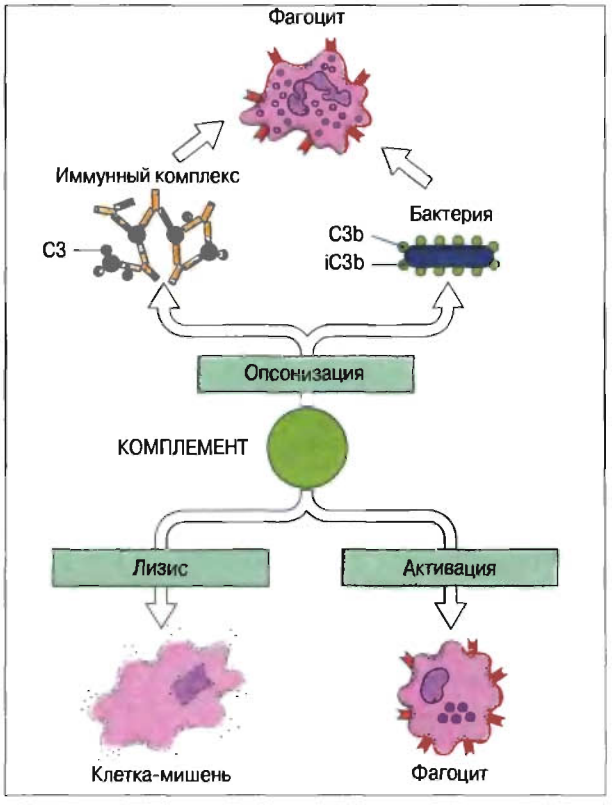


Рис. 4.1
1. Опсонизация («одевание») комплементом микроорганизмов и иммунных комплексов для их распознавания клетками, экспрессирующими рецепторы комплемента. **2.** Лизис клеток-мишеней. **3.** Активация фагоцитов, включая макрофаги и нейтрофилы.

клетки-мишени и ее последующим осмотическим разрывом и лизисом.

Комплемент способен отличать «свое» от «не-своего»
Относясь к факторам врожденного иммунитета, комплемент реализует механизмы, позволяющие отличать «свое» от «не-своего». Ключевой момент этой функции заключается в немедленном связывании C3b со всеми чужеродными объектами, будь то микроорганизмы или иммунные комплексы; поверхность собственных клеток организма защищена особыми молекулами, которые весьма эффективно ограничивают отложение C3b.

АКТИВАЦИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Существует три пути (механизма) активации комплемента: классический, лектиновый и альтернативный. Все они ведут к образованию конвертазы, расщепляющей C3 на C3a и C3b, – центральный момент любого из каскадов комплемента (*рис. 4.2*).

Конвертаза классического и лектинового путей представляет собой комбинацию фрагментов C4 и C2 – C4b2a, тогда как конвертаза альтернативного пути – это комплекс C3 с FB – $C\overline{3b}\overline{Bb}$. Фрагмент C3b, который отщепляют от C3 обе конвертазы, связывается с мембраной мишени и становится фокусом дополнительного образова-

Сопоставление классического и альтернативного путей активации комплемента

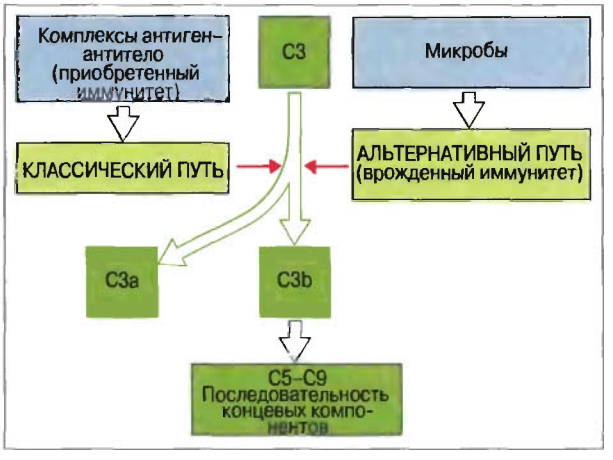


Рис. 4.2
Активация комплемента как по классическому, так и по альтернативному пути приводит к появлению C3-конвертазы, которая превращает C3 в C3b, и эта конверсия – центральное событие всего каскада. В свою очередь, C3b активирует цепочку концевых компонентов комплемента (C5–C9), образующих литический комплекс. При активации по классическому пути сначала антиген связывается со специфическими антителами и только затем происходит фиксация C3. В альтернативной активации антитела не участвуют. Она начинается ковалентным связыванием C3b с гидроксильными группами на цитоплазматической мембране микробной клетки. Активация по альтернативному пути служит механизмом неспецифического врожденного иммунитета, тогда как классический путь представляет собой связующее звено между врожденным и приобретенным иммунитетом, появившееся в филогенезе сравнительно недавно.

ния C3b – эта ступень каскада получила название петля усиления.

Присоединяя дополнительно молекулу C3b, обе C3-конвертазы могут превращаться в конвертазу C5, которая функционирует как катализатор на первой ступени каскада, ведущего к образованию лизирующего мембрану комплекса.

Классический путь активации комплемента чаще всего запускается иммунными комплексами

Зависимая от антител активация комплемента развертывается в основном по классическому пути (*рис. 4.3*); роль первого ферментного комплекса в нем выполняет белок C1.

Активацию инициирует связывание C1 с антителами в составе иммунных комплексов

Ферментный комплекс C1 состоит из 5 молекул – одной C1q, двух C1r и двух C1s; их соединение зависит от Ca^{2+} (*рис. 4.4*). Первая ступень каскада активации по классическому пути – это связывание антитела не менее чем с двумя из шести сферических доменов молекулы C1q. В этом высокоавидном связывании участвуют Cн2-домены (части Fc-областей) агрегированных молекул IgG в составе комплекса с антигеном. Молекулы C1q могут также связываться Cн3-доменами неагрегированной молекулы IgM, конформация которой изменилась с «плоской» на «сложенную» в результате образования комплекса с антигеном.

Предполагается, что многоточечное связывание сферических доменов C1q с входящими в иммунные комплексы молекулами IgG или IgM ведет к изменению конформации всего комплекса C1, вызывая автокаталитическую самоактивацию сначала одной, а затем и другой молекул C1r с превращением их в две молекулы активного фермента C1r, которые расщепляют обе молекулы C1s с образованием соответственно двух молекул C1s, обладающих активностью сериновой эстеразы.

Лектиновый путь активации комплемента почти идентичен классическому, но запускается независимо от антител

Белок C1q относится к семейству кальций-зависимых лектинов, названных коллектинами (коллагеновые лектины). В это же семейство белков входят маннан-связывающий лектин (МСЛ), называемый иначе маннан-связывающим белком (МСБ), конглютинин и легочные поверхностно-активные белки A и D. Сывороточный МСЛ может связываться с концевыми маннановыми группами на поверхности клеток бактерий, приобретая за счет этого способность к взаимодейст-

Активаторы комплемента

	Иммуноглобулины	Микроорганизмы			Прочие
		вирусы	бактерии	прочие	
Классический путь	Комплексы IgM, IgG1, IgG2 или IgG3 с антигеном	Ретровирусы мыши, вирус везикулярного стоматита	–	Микоплазмы	Полианионы, в частности связанные с катионами, PO_4^{3-} (ДНК, липид A, кардиолипин), SO_4^{2-} (декстрансульфат, гепарин, хондроитинсульфат)
Лектиновый путь			Многие грам-положительные и грамотрицательные бактерии		Биополимеры с многочисленными концевыми остатками маннозы
Альтернативный путь	Комплексы IgG, IgA или IgE с антигеном (менее эффективны, чем при активации по классическому пути)	Клетки, инфицированные некоторыми вирусами (например, вирусом Эпштейна–Барр)	Многие грам-положительные и грамотрицательные бактерии	Трипаносомы, лейшмании, многие грибы	Декстрансульфат, гетерологичные эритроциты, полисахариды (например, агароза).

Рис. 4.3
В таблице перечислены основные активаторы комплемента по классическому, лектиновому и альтернативному механизмам.

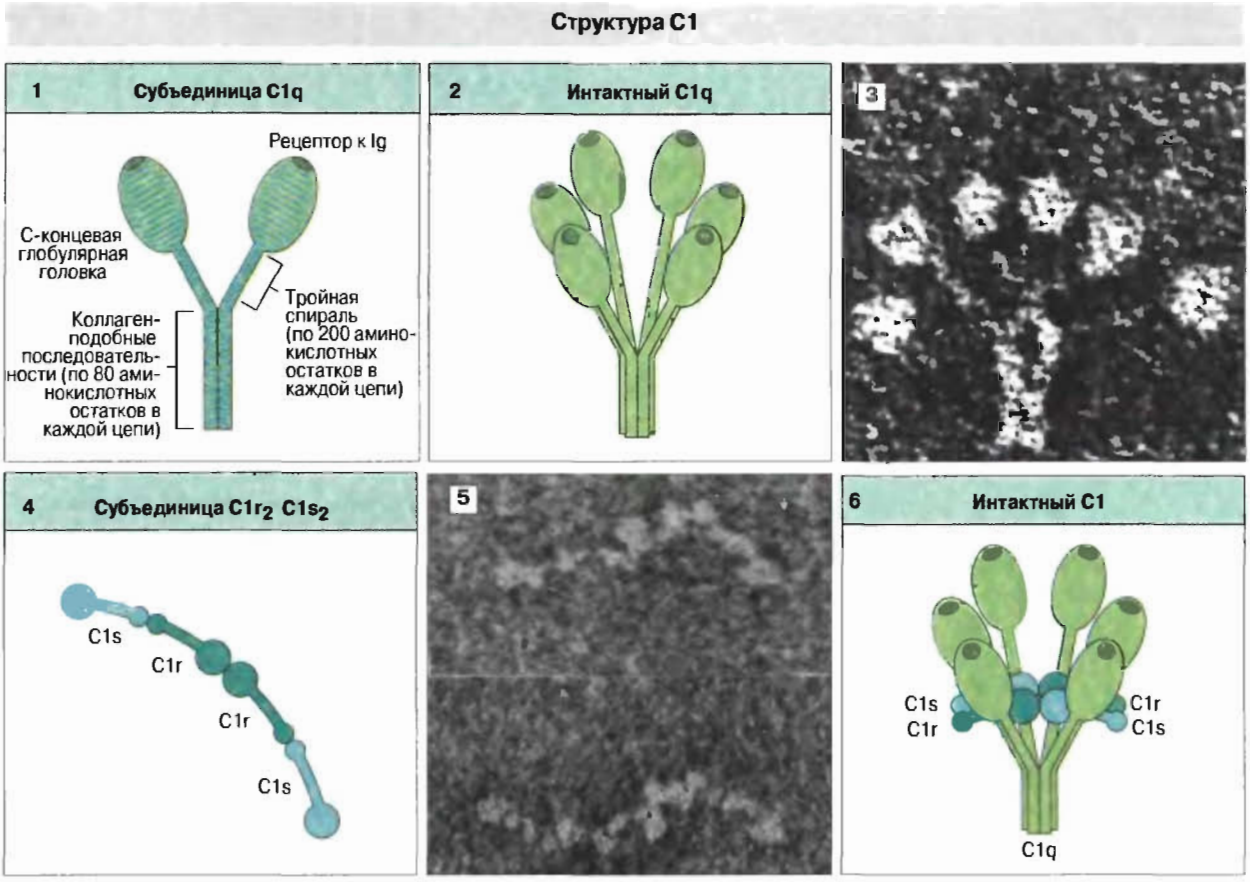


Рис. 4.4
Каждая субъединица C1q имеет Y-образную форму, при этом обе ветви Y оканчиваются сферическими головками (**1**). Молекула C1q образована тремя такими субъединицами, соединенными вместе (**2, 3**). Субъединица состоит из шести, а целая молекула C1q из 18 полипептидных цепей. Сферические головки субъединиц служат рецепторами для Fc-области IgG и образуют кольцо по периметру молекулы C1q. Пары молекул C1r и C1s, объединенные в одну структурную единицу (**4, 5**), располагаются поперек молекулы C1q (**6**). Каталитические участки C1r и C1s находятся рядом в центре кольца. Взаимное сцепление всех единиц комплекса C1 зависит от Ca^{2+}. [**3** и **5** по Ross G.D. (см. дополнит. лит.); фото любезно предоставлены д-ром N. Hughes-Jones.]

вию с двумя маннан-связывающими лектин-ассоциированными сериновыми протеиназами, МАСП1 и МАСП2, гомологичными по структуре C1r и C1s. Это взаимодействие подобно взаимодействию C1q с C1r и C1s и приводит к независимой от антител активации комплемента по классическому пути.

Кроме того, C1q связывается непосредственно, т. е. без участия антител, с некоторыми микробами, в частности с микоплазмами и рядом ретровирусов (но не ВИЧ).

Под действием C1 происходит расщепление C4 с образованием активированного C4b

Белок C4 комплемента содержит внутреннюю тиоэфирную связь, участок расположения которой высокогомологичен тиоэфир-содержащему участку C3 (см. ниже). При расщеплении C4 под действием C1s возникает два фрагмента: C4a, обладающий слабой анафилатоксической активностью, и более крупный (нестабильный, промежуточный), C4b*. (Звездочка указывает на нестабильное состояние молекулы, в которой активи-

рован участок связывания.) В течение нескольких миллисекунд C4b* подвергается атаке расположенных в непосредственной близости нуклеофильных групп. Большинство молекул C4b* гидролизуется с образованием инактивированного iC4b. Однако C4b* может образовывать ковалентные связи с амино- или гидроксигруппами молекул клеточной мембраны, превращаясь в связанный на поверхности C4b.

Известны два изотипа C4 – C4A и C4B. Их кодируют расположенные тандемно гены главного комплекса гистосовместимости. Активированный C4A взаимодействует преимущественно с аминогруппами, а C4B – с гидроксигруппами, образуя соответственно амидные и эфирные связи. Таким образом, C4A связывается в основном с белками, а C4B с углеводами.

В результате присоединения C2 к связанному на клеточной поверхности C4b образуется C3-конвертаза классического пути

Связанный на клеточной поверхности C4b становится, в свою очередь, участком связывания для профермента C2. Связанный C2 служит субстратом для C1s, который расщепляет его с освобождением C2b, при этом более крупный фрагмент, C2a, остается присоединенным к C4b, в результате чего образуется C4b2a – ферментный комплекс, называемый C3-конвертазой классического пути.

Образующийся под действием C3-конвертазы белок C3b может ковалентно связываться с молекулами клеточной поверхности

Полипептид C3 относится к белкам с необычными посттрансляционными изменениями структуры. Расположенные на близком расстоянии остатки цистеина и глутамина образуют за счет элиминации аммиака метастабильную внутреннюю тиоэфирную связь. Электрофильная (акцептирующая электроны) карбонильная группа ($—C^{+}=O$) этого тиоэфира чувствительна к атаке нуклеофильных групп (доноры электронов), в том числе амино- и гидроксигрупп приближающихся белковых и углеводных молекул. Таким образом, C3 способен ковалентно связываться с этими молекулами (*рис. 4.5*).

Протеолитическое отщепление C3a от N-конца α-цепи C3 под действием C3-конвертазы приводит к конформационному изменению оставшейся части молекулы (т. е. C3b*), делающему внутреннюю тиоэфирную связь весьма нестабильной. Она становится новым участком связывания внутри C3b*, способным очень активно взаимодействовать с находящимися вблизи нуклеофильными группами. Как и в случае C4b*, большая часть молекул C3b* подвергается гидролизу, однако некоторые молекулы связываются с белками и углеводами, находящимися в непосредственной близости от места активации. Поскольку C3-конвертаза обычно образуется на чужеродной поверхности или на иммунных комплексах, C3b накапливается в основном там же. Затем связанный C3b становится фокусом дальнейшей активации комплемента по так называемой петле усиления альтернативного пути (см. ниже) (*рис. 4.6*).

Дестабилизация тиоэфирной связи в молекуле C3

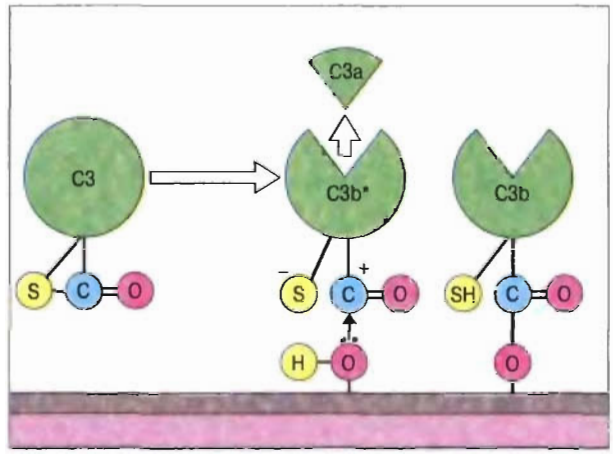


Рис. 4.5
α-Цепь молекулы C3 содержит тиоэфирную связь, образованную остатками цистеина и глутамина. В результате расщепления C3 на C3a и C3b* эта связь становится нестабильной и чувствительной к нуклеофильной атаке —OH- и $—NH_2$-групп (доноров электронов), что позволяет C3b ковалентно связываться с белками и углеводами.

Активация комплемента по классическому пути тонко регулируется

Существует два механизма регуляции классического пути активации комплемента в жидкой фазе. Первый – это действие C1-ингибитора, т. е. ингибитора сериновых протеиназ (серпина), связывающего и инактивирующего $\overline{C1r}$ и $\overline{C1s}$.

Второй механизм состоит в подавлении образования C3-конвертазы классического пути, $\overline{C4b2a}$. В жидкой фазе так действуют фактор I и

Классический путь активации комплемента

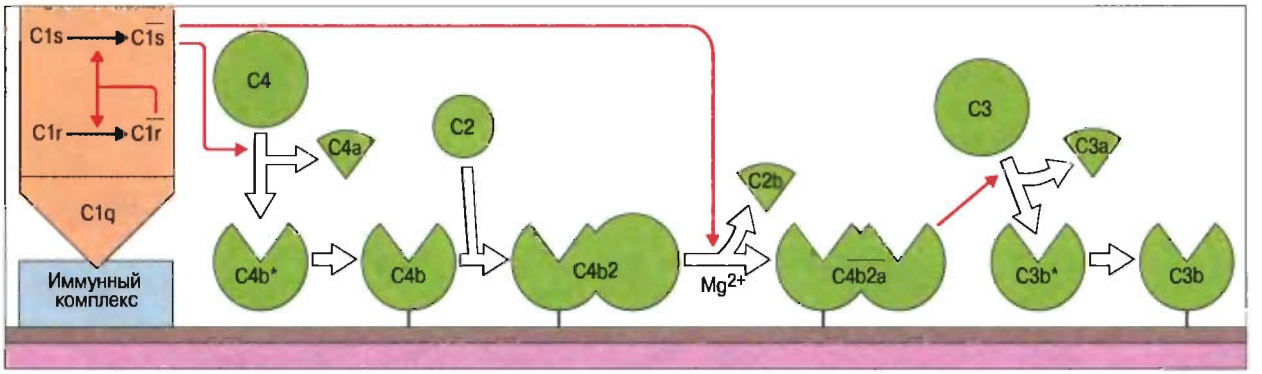


Рис. 4.6
В результате связывания C1q с иммунными комплексами происходит каталитическая самоактивация C1r и активация C1s. Затем C1s расщепляет C4 с освобождением C4a; фрагмент C4b* остается при этом на месте и немедленно связывается с расположенными вблизи белками или углеводами. Связавшийся таким образом с клеточной поверхностью C4b в свою очередь связывает C2 (в присутствии Mg^{2+}). Затем C1s отщепляет от образовавшегося комплекса C2b, при этом C2a остается связанным. (Напомним, что вопреки общему принципу обозначения фрагментов, C2a – это больший фрагмент. Внесены предложения об изменении номенклатуры и принятии более четкой системы обозначений, однако в этой книге еще использованы данные ранее обозначения.) Комплекс C4b2a – это C3-конвертаза классического механизма. Здесь и в последующих диаграммах в этой главе все ферментативные реакции обозначены красными стрелками.

C4-связывающий белок (C4-bp), вместе расщепляющие C4b. Кроме того, C4-bp вызывает диссоциацию C4b2a на C2a и C4b.

Активация по классическому пути регулируется также путем подавления взаимодействия комплемента с поверхностью клеток хозяина. Ингибирование осуществляют регуляторные белки комплемента: фактор, ускоряющий диссоциацию C3-конвертазы (ФУД, CD55), рецепторы комплемента 1 типа (CR1, CD35) и мембранный кофакторный белок (МКБ, CD46). Эти белки действуют следующим образом (*рис. 4.7*):

- подавляют связывание C2 с C4b (ФУД или CR1);
- вызывают и ускоряют диссоциацию C4b2a на C2a и C4b (ФУД и CR1);
- действуют как кофакторы, стимулируя катаболизм C4b под действием фактора I (МКБ или CR1).

Регуляция активности C3-конвертаз

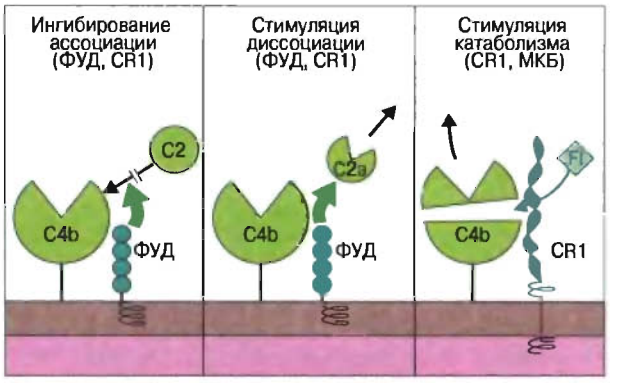


Рис. 4.7
Фактор, ускоряющий диссоциацию C3-конвертазы (ФУД), и CR1 ингибируют связывание C2 с C4b и вызывают распад уже образовавшегося комплекса C4bC2a. Белок CR1 и мембранный кофакторный белок (МКБ) индуцируют расщепление C4b под действием фактора I (FI). Эти молекулы регулируют также взаимодействие C3b с фактором B.

Существует самопроизвольная активация комплемента по альтернативному пути

*«Холостая» альтернативная активация комплемента постоянно поддерживает в плазме крови небольшую концентрацию C3b**

Внутренняя тиоэфирная связь в нативной молекуле C3 чувствительна к спонтанному гидролизу

«Холостая» активация C3

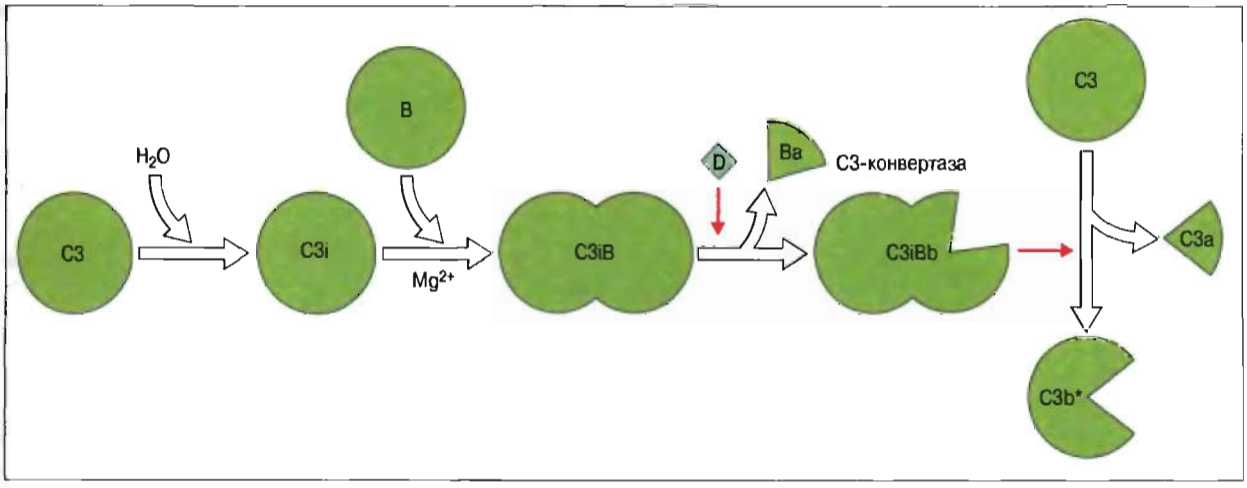


Рис. 4.8
В результате гидролиза тиоэфирной связи в молекуле нативного C3 этот компонент превращается в C3i [C3(H_2O)], который в присутствии Mg^{2+} связывается с фактором B. Возникший комплекс в результате расщепления фактора B фактором D превращается в жидкофазную C3-конвертазу, которая может уже непосредственно расщеплять нативный C3 на C3a и C3b.

с превращением в активированную форму – C3i. (Эта постоянная, происходящая на низком уровне, самопроизвольная активация C3 в плазме крови называется «холостой».) Образующийся C3i связывает фактор B с образованием C3iB (*рис. 4.8*). [Аналогичным образом, C2 связывается с C4b *(рис. 4.9)*.] Связанный фактор B расщепляется фактором D с высвобождением Ba. Оставшийся комплекс C3iBb представляет собой жидкофазную C3-конвертазу альтернативного пути (*рис. 4.8*), расщепляющую C3 на C3a и C3b. Запуск петли усиления альтернативного пути связанным на поверхности аутологичных клеток C3b предотвращают регуляторные белки комплемента.

Поскольку C3-конвертаза альтернативного пути действует в жидкой фазе, большая часть образовавшегося в результате ее активности C3b* гидролизуется и инактивируется водой. Однако в случае контакта с чужеродной поверхностью, в частности с мембраной бактериальной клетки, C3b* ковалентно связывается и инициирует действие петли усиления альтернативного пути. Общая схема взаимодействия компонентов комплемента при активации по классическому, лектиновому и альтернативному механизмам представлена на рис. 4.9.

На поверхности микробной клетки C3b защищен от протеолиза

Поверхности, интенсивно активирующие комплемент, названы защитными (*рис. 4.12*), поскольку связанный с ними C3b защищен от протеолиза. Чужеродная поверхность, подобная мембране бактериальной клетки, «защищает» C3, поскольку, связавшись с ней, он проявляет более высокую аффинность к фактору B, чем к фактору H, и образует, вероятно, более стабильную конвертазу. Кроме того, на чужеродной поверхности отсутствуют регуляторные белки организма-хозяина, ингибирующие активацию комплемента.

Хотя не совсем ясно, каковы конкретные структурные характеристики, необходимые для того, чтобы поверхность была защитной, особое значение имеет, по-видимому, ее углеводный состав. Например, присутствие кислых сахаров, в частности сиаловой кислоты, способствует, по-видимому, защите мембраны собственных клеток организма от повышенного отложения C3b.

За первоначальным прикреплением одной молекулы C3b к «защитной» поверхности следует стадия амплификации, в результате которой в том же месте фиксируется много дополнительных молекул C3b. Ключевым моментом для быстрого накопления C3b служит образование мембраносвязанной C3-конвертазы.

Аналогичные этапы активации комплемента по классическому, лектиновому и альтернативному механизмам

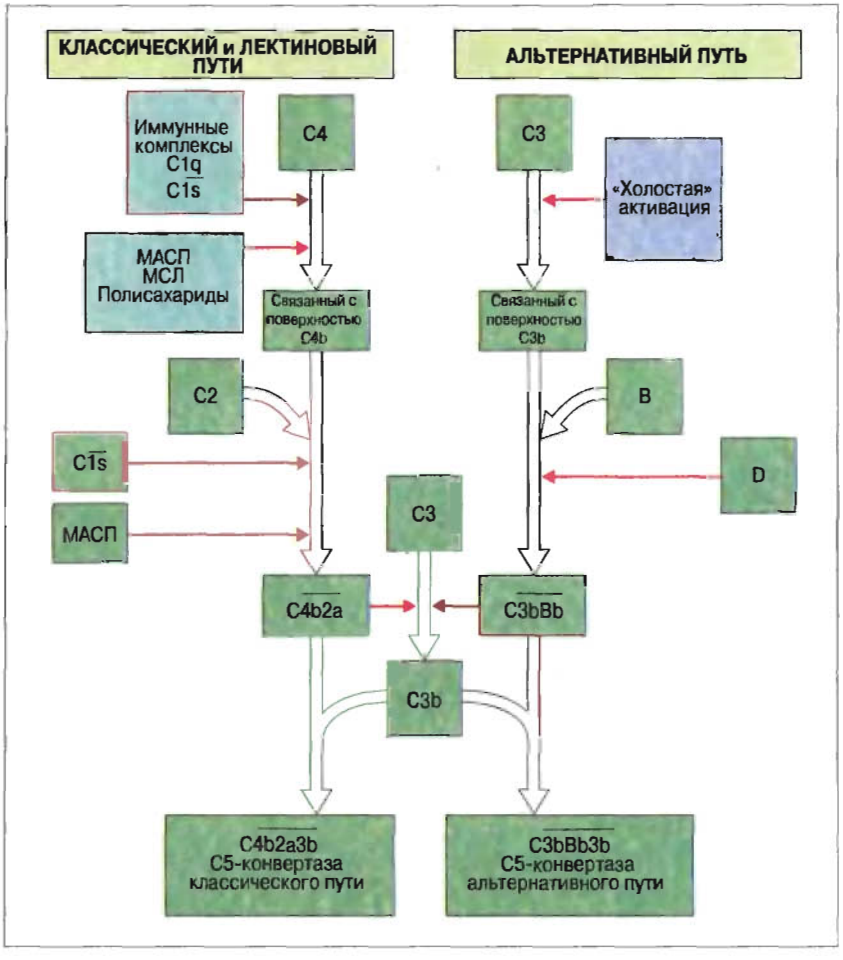


Рис. 4.9
Как классический, так и альтернативный путь активации комплемента приводит к появлению С3-конвертазы: C4b2a и C3bBb соответственно. Классический путь начинается с активации C1s комплексом антиген–антитело и последующего расщепления активированным C1s компонентов С4 и С2. Фрагменты меньшего размера, С4а и С2b, высвобождаются, а более крупные образуют C4b2a. Компоненты С4 и С2 могут быть активированы также МАСП (маннан-связывающей лектин-ассоциированной сериновой протеиназой) – белком лектинового пути, аналогичным C1s, и МСЛ (сывороточным маннан-связывающим лектином). На первых этапах альтернативного пути возникший в результате «холостой» активации и связавшийся с поверхностью белок С3b соединяется с фактором В, от которого фактор D отщепляет меньший фрагмент – Ba. Больший фрагмент В, т. е. Bb, остается связанным с С3b, образуя C3bBb – С3-конвертазу, которая расщепляет дополнительное количество молекул С3 (механизм положительной обратной связи). Поверхность, активирующая комплемент (например, микроорганизмов), стабилизирует С3b, обеспечивая его связывание с фактором В. Это способствует дальнейшей альтернативной активации комплемента. С3-конвертазы классического и альтернативного путей могут дополнительно присоединять С3b, образуя ферментные комплексы, называемые С5-конвертазами (C4b2a3b и C3bBb3b соответственно), которые активируют следующий компонент системы комплемента – С5.

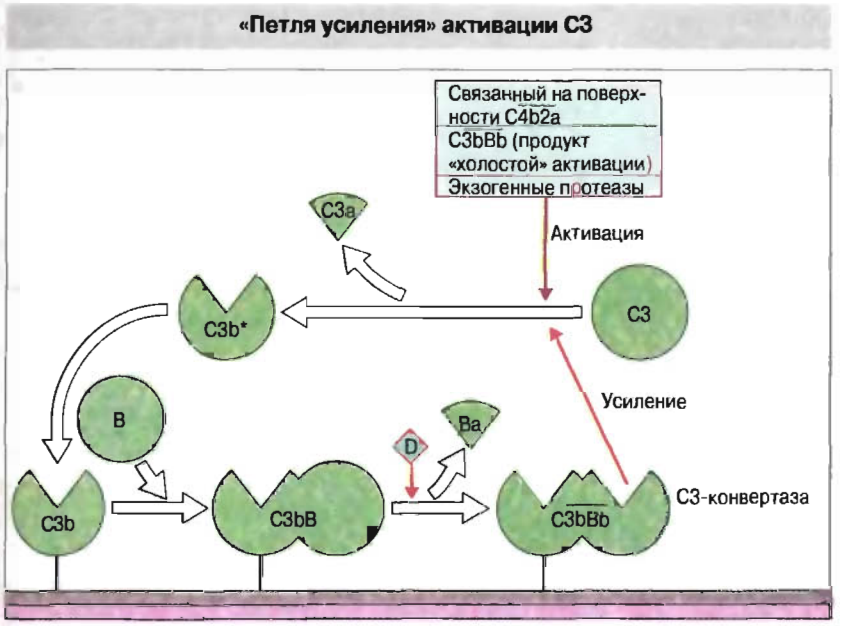


Рис. 4.10
Фрагмент C3b может образовываться по действием C3-конвертазы классического (C4b2a) или альтернативного (C3bBb) пути. Образовавшийся C3b связывается с фактором B в Mg^{2+}-зависимый комплекс (C3bB), на который воздействует фактор D. Последний отщепляет от фактора B фрагмент Ba, и комплекс превращается в C3-конвертазу альтернативного пути (C3bBb), которая в свою очередь, действуя на все новые молекулы C3, может дать добавочное количество C3b. Так функционирует механизм положительной обратной связи («петля»), усиливая первоначальную активацию комплемента.

Петля усиления – это механизм положительной обратной связи в активации комплемента по альтернативному пути

Связанный с поверхностью C3b присоединяет фактор B. Образовавшийся C3bB становится субстратом для фактора D – сериновой эстеразы, отщепляющей от фактора B небольшой фрагмент, Ba. Остающийся на поверхности комплекс C3bBb весьма быстро диссоциирует, если не будет стабилизирован в результате связывания пропердина (P) с образованием комплекса C3bBbP, представляющего собой связанную с поверхностью C3-конвертазу альтернативного пути.

Комплекс C3bBbP расщепляет много все новых молекул C3. Поскольку конвертаза локализована на «защитной» поверхности, образующиеся молекулы C3b* будут связываться именно там, а не в каком-либо ином месте (*рис. 4.10*).

Отметим, что петля усиления функционирует и в том случае, когда C3b фиксируется на поверхности в результате классической (зависимой от антител) активации комплемента.

Активацию комплемента по альтернативному пути, включая петлю усиления, контролируют регуляторные белки

Альтернативная активация в жидкой фазе, когда C3b не связан с поверхностью, жестко регулируется белками, подобными или идентичными тем, которые «сдерживают» классическую активацию комплемента. Гомологичный C4-связывающему белку фактор H, ген которого входит в кластер RCA, вызывает диссоциацию Bb из его комплексов с C3i или C3b, а также действует в качестве кофактора при катаболизировании C3i и C3b с участием фактора I (*рис. 4.11*).

Регуляция механизма усиления чрезвычайно важна для организма. Если она не функционирует, усиление (как циклический процесс, протекающий по принципу положительной обратной связи) идет до полного расщепления всех молекул C3. (Впервые это наблюдали у больного с на-

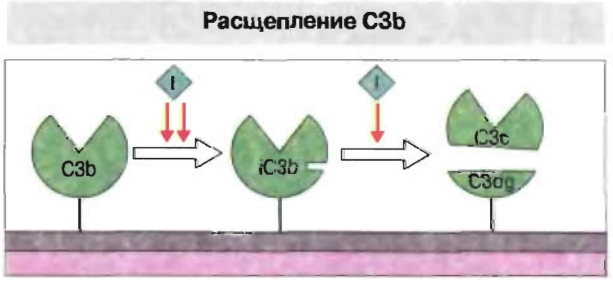


Рис. 4.11
Фактор I расщепляет C3b в трех участках, высвобождая C3c и оставляя связанным с поверхностью C4dg – фрагмент α-цепи C3. Два первых расщепления, дающие промежуточный продукт, iC3b, стимулирует фактор H, МКБ или CR1. Расщепление в третьем участке стимулируется CR1.

следственным дефицитом регуляторного фермента – фактора I. В отсутствие фактора I петля усиления действует вплоть до превращения всех молекул С3 сыворотки больного в С3b.)

На мембранах собственных клеток организма как ФУД, так и CR1 ускоряют диссоциацию комплекса C3bBb с высвобождением C3b. И CR1, и МКБ действуют как кофакторы расщепления C3b фактором I (см. *рис. 4.7*). Полностью аналогичным образом ФУД, МКБ и CR1 регулируют активность C4b2a (С3-конвертазы классического пути), когда она связана с клеточными мембранами.

Таким образом, судьба связанного на поверхности C3b – это наиболее важный этап в том неспецифическом механизме, с помощью которого система комплемента отличает «свое» от «несвоего». Для связанного C3b существуют две возможности.

- Усиление: C3b связывает фактор B с образованием конвертазы, которая вызывает фиксацию все новых молекул C3b на той же самой поверхности.
- Подавление: C3b расщепляется фактором I при участии одного из трех кофакторов: фактора H (из плазмы), CR1 или МКБ (связанного на поверхности).

Какая из этих возможностей реализуется, зависит от природы поверхности, связавшей C3b (*рис. 4.12*). Присутствие на аутологичной (в частности, клеточной) поверхности собственных молекул, таких как ФУД, CR1 и МКБ, эффективно ограничивает образование С3-конвертаз. Напротив, чужеродная поверхность, например мембрана бактериальной клетки, обеспечивает «защиту» для C3b, так как именно на ней фактор B имеет большую аффинность к C3b, чем фактор H. В результате фиксация всего нескольких молекул C3b приводит к образованию относительно стабильной С3-конвертазы альтернативного пути – C3bBbP, ферментного комплекса, который вызывает связывание все новых молекул C3b в том же участке.

Конечная фаза активации комплемента – это образование лизирующего мембрану комплекса

Каскад реакций активации комплемента завершается образованием литического комплекса (лизирующий, или атакующий, мембрану комплекс, ЛМК) в результате ферментативного расщепления С5 – белка, гомологичного С3 и С4, но не содержащего внутренней тиоэфирной связи.

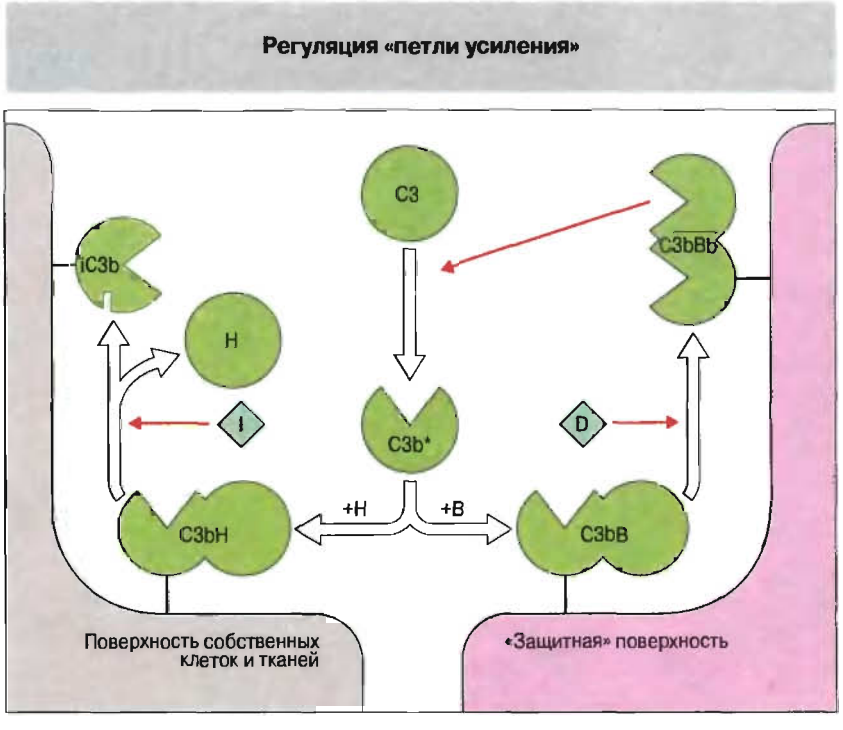


Рис. 4.12
Активация комплемента по альтернативному пути зависит от наличия «защитных» поверхностей, т. е. поверхностей, способных защитить связанный с ними C3b от протеолиза. С фиксированным на такой комплемент-активирующей поверхности C3b связывается фактор B; образующаяся в результате С3-конвертаза альтернативного пути (C3bBb) инициирует действие петли усиления. В отличие от этого на поверхности собственных клеток и тканей организма C3b предпочтительно связывает фактор H и инактивируется фактором I. Следовательно, от связывания фактора B или H зависит развитие реакций альтернативного пути. Кроме того, на мембране собственных клеток присутствует несколько регуляторных белков, подавляющих активацию комплемента (см. *рис. 4.7* и *4.14*).

Прежде чем подвергнуться расщеплению С5-конвертазой, С5 избирательно связывается с С3b в ее составе. С5-конвертаза классического пути – это трехмолекулярный комплекс, $\overline{C4b2a3b}$, в котором С3b, ковалентно присоединенный к С4b, обладает более высокой константой связывания с С5, чем С3b, связанный с другими молекулами клеточной поверхности. С5-конвертаза альтернативного пути представляет собой также трехмолекулярный комплекс – $\overline{C3bBb3b}$, в котором один С3b ковалентно связан с другим. При расщеплении С5 высвобождается небольшой пептидный фрагмент С5а – высокоактивный анафилатоксин.

Лизирующий мембрану комплекс образуется путем неферментативной сборки С5b–9

Последующее формирование ЛМК происходит без участия ферментов. Компонент С5b связывается с С6 с образованием С5b6, который взаимодействует с С7, образуя комплекс С5b67 (*рис. 4.13*). В результате связывания С7 гидрофильный С5b6 превращается в гидрофобный комплекс С5b67, способный преимущественно встраиваться в липидный бислой. К этому комплексу присоединяется С8 и затем последовательно до 14 мономеров С9. В результате формируется литический «зонд», или порообразующая молекула, первые электронные микрофотографии которой

Формирование лизирующего мембрану комплекса

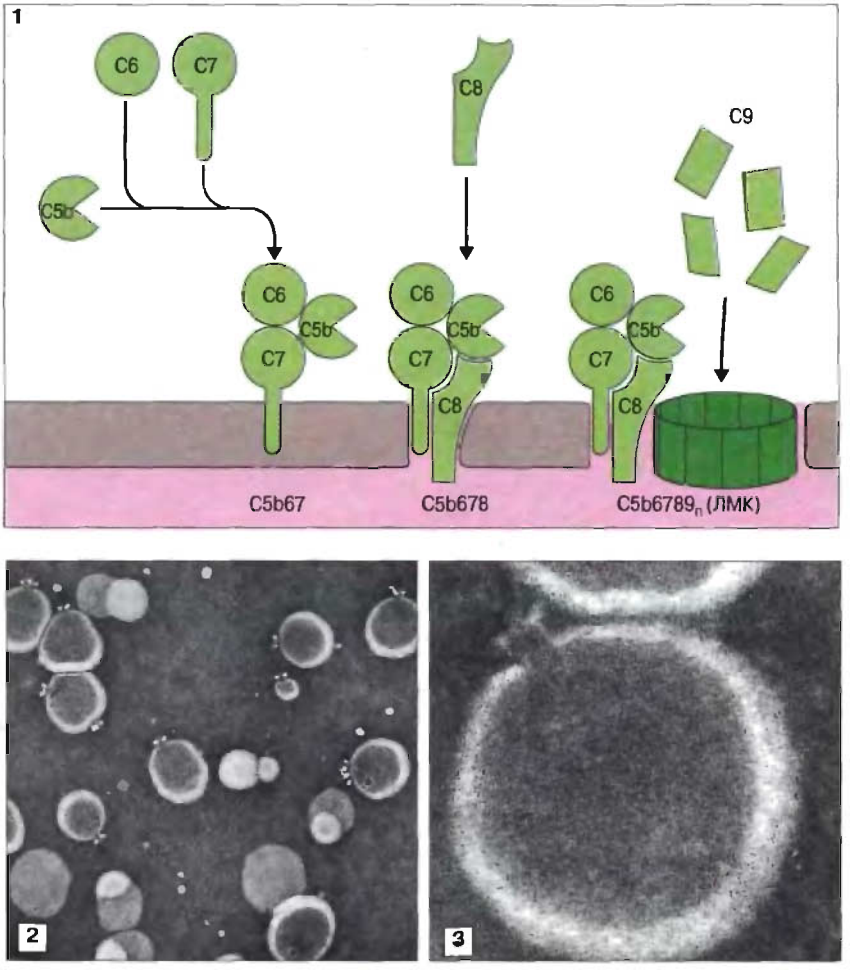


Рис. 4.13
1. Компонент С5b связывает С6 и С7 с образованием гидрофобного комплекса С5b67, особый участок которого фиксируется на плазматической мембране вблизи локуса активации комплемента. Затем к комплексу присоединяется С8, который проникает через мембрану. После этого в нее встраивается и полимеризуется ряд молекул С9, завершая образование лизирующего мембрану комплекса (ЛМК). **2** и **3.** Электронные микрофотографии лизирующего мембрану комплекса. Похожий на воронку канал (**3**) в лецитиновой липосомной мембране, возникший в результате встраивания в нее комплекса С5b–9 человека. × 234 000. (Фото любезно предоставлены проф. J. Tranum-Jensen и д-ром S. Bhakdi.)

получили Хамфри и Дурмашкин (*рис. 4.13*). Хотя после присоединения С8 к С5b67 комплекс уже проявляет незначительную литическую активность, полное ее развитие зависит от полимеризованного С9. (Отметим, что комплекс С5b6789 обычно обозначают аббревиатурой С5b–9; подобным же образом могут обозначаться и предшествующие продукты сборки, например, С5b–8.)

Полимеризация гидрофобных молекул для образования пор в мембране – это обычный механизм клеточной цитотоксичности. Т-лимфоциты поражают клетки-мишени, погружая в их мембрану порообразующие молекулы, названные перфоринами (см. гл. 9). Перфорины структурно гомологичны С9; подобные же молекулы найдены в гранулах эозинофилов (катионные белки эозинофилов). Некоторые бактериальные токсины, например стрептолизин О, также представляют собой порообразующие молекулы.

CD59 подавляет связывание С9 с С5b–8

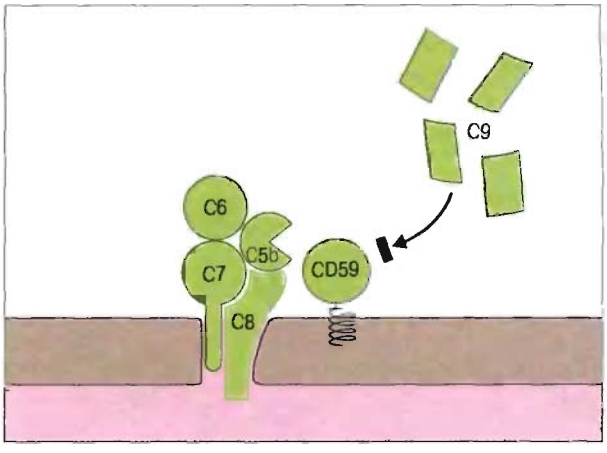


Рис. 4.14
Белок CD59, связываясь с С8 в составе комплекса С5b–8, блокирует присоединение С9 и тем самым – формирование ЛМК.

Образование лизирующего мембрану комплекса регулируется для сдерживания «реактивного лизиса»

Сформированный гидрофобный комплекс С5b67 способен самопроизвольно внедряться в мембраны других клеток, расположенных вблизи от клеточной поверхности, где происходит первичная активация комплемента. Этот процесс «реактивного лизиса» в отсутствие регуляции способен принести вред собственным тканям организма.

Комплекс С5b67 может быть инактиаироаан а жидкой фазе

Ряд белков может угнетать «реактивный лизис» путем связывания с С5b67 в жидкой фазе, прежде чем произойдет его фиксация на мембранах собственных клеток организма. Из таких белков в плазме крови в наибольшей концентрации содержится S-белок, или витронектин. Образуемый им комплекс SC5b67 лишен способности внедряться в двойной липидный слой; такая способность отсутствует также и у комплекса С5b678, поскольку он связывается с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП). если присоединение С8 к С5b67 происходит в жидкой фазе.

Мембрана клеток организма-хозяина содержит белки, защищающие ее от лизиса под действием ЛМК

Эритроциты, как в свое время было установлено, легко лизируются гетерологичным комплементом и труднее – гомологичным. Основа такой видовой рестрикции стала понятной после открытия особых мембранных белков, которые защищают клетки собственного организма от лизиса под действием ЛМК. Два таких белка уже подробно изучены.

Первый из них – это CD59, заякоренный гликофосфолипидной «ножкой» в мембранах многих клеток белок. Он связывается с С8 в составе комплекса С5b–8 и подавляет погружение и развертывание С9 в клеточной мембране (*рис. 4.14*).

Второй белок – фактор гомологичной рестрикции (ФГР), проявляющий ту же активность, что и CD59, но при этом более слабый ингибитор внедрения в мембрану С9. ФГР (мол. масса 65 кДа) также связан с мембраной гликофосфолипидом; его аминокислотная последовательность пока не установлена.

Примечательно, что клетки, имеющие ядро, в частности клетки собственной иммунной системы организма, более эритроцитов устойчивы к комплемент-зависимому лизису благодаря способности активно удалять ЛМК путем эндоцитоза и экзоцитоза тех фрагментов мембраны, в которые он проник.

РЕЦЕПТОРЫ КОМПЛЕМЕНТА

Многие образующиеся в процессе активации фрагменты белков комплемента взаимодействуют со специфическими рецепторами на поверх-

ности клеток иммунной системы. Благодаря этому реализуются физиологические эффекты комплемента, в том числе фагоцитоз опсонизированных им частиц и активация обладающих такими рецепторами клеток.

Известно четыре типа рецепторов, ковалентно связывающих фрагменты C3

Три субкомпонента C3 (иногда называемых опсонизирующими фрагментами) – C3b, iC3b и C3dg – связываются с мембранами клеток-мишеней. Для них на поверхности клеток имеется четыре типа рецепторов, названных рецепторами комплемента 1, 2, 3 и 4 типов (CR1, CR2, CR3 и CR4); их клеточное распределение и лиганды представлены на *рис. 4.15*.

CR1 в качестве рецептора для C3b и iC3b физиологически многофункционален

Первой реакцией, классифицированной как комплемент-зависимое клеточное связывание, был феномен, названный позже иммуноадгезией. В этой реакции трипаносомы или другие микробы, опсонизированные антителами и комплементом, прилипают к тромбоцитам грызунов или к эритроцитам приматов.

Иммуноадгезия происходит при участии CR1 (называемого также рецептором иммуноадгезии, рецептором C3b/C4b или CD35). Предполагается, что он предназначен для выполнения следующих четырех физиологических функций:

- участие в эндоцитозе или фагоцитозе в качестве рецептора (к опсонизирующим фрагментам C3) на нейтрофилах, моноцитах и макрофагах, примированных (подготовленных) соответствующим образом (*рис. 4.16*);
- участие в качестве кофактора в расщеплении C3b и iC3b фактором I до C3c и C3dg; при расщеплении C3b до iC3b фактор H как кофактор, видимо, важнее CR1, но последний, вероятно, служит единственным кофактором дальнейшего расщепления iC3b и в этой своей роли защищает собственные клетки организма от лизиса комплементом;
- «вылавливание» из плазмы опсонизированных комплементом иммунных комплексов или бактерий и доставка их к фиксированным мононуклеарным фагоцитам (*рис. 4.17*); для выполнения этой функции CR1 экспрессирован на эритроцитах или тромбоцитах (в зависимости от вида);
- участие в качестве рецептора вместе с CR2 в активации комплементом B-лимфоцитов.

Рецептор CR2 участвует в активации B-лимфоцитов, а также связывает вирус Эпштейна–Барр

Рецептор CR2 (CD21), экспрессируемый B-лимфоцитами, фолликулярными ветвистыми (денд-

Клеточные рецепторы для фрагментов C3

Рецептор	Лиганды	Распределение по клеткам
CR1 (CD35)	C3b>iC3b C4b	B-клетки, нейтрофилы, моноциты, макрофаги, эритроциты, фолликулярные дендритные клетки, эпителий почечных клубочков
CR2 (CD21)	iC3b, C3dg, вирус Эпштейна–Барр, α-интерферон	B-клетки, фолликулярные дендритные клетки, эпителий шейки матки и носоглотки
CR3 (CD18/CD11b)	iC3b, зимозан, некоторые бактерии, фибриноген, фактор X, ICAM-1	Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, НК-клетки, фолликулярные дендритные клетки
CR4 (p150-95) (CD18/CD11c)	iC3b, фибриноген	Нейтрофилы, моноциты, тканевые макрофаги

Рис. 4.15
Клеточные рецепторы для фрагментов C3. Рецептор CR1 связывает C3b прочнее, чем iC3b. Эти рецепторы позволяют клеткам поглощать частицы или иммунные комплексы, предварительно связавшиеся с соответствующим фрагментом C3.

Опсонизация и фагоцитоз

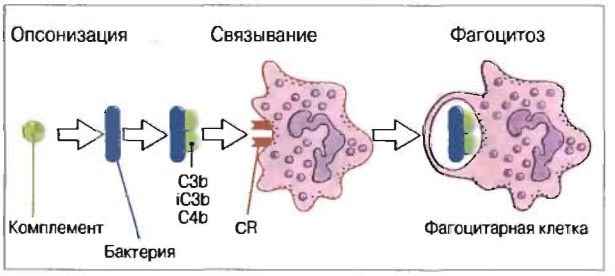


Рис. 4.16
Этапы поглощения частицы на примере микробной клетки, опсонизированной C3b или C4b.

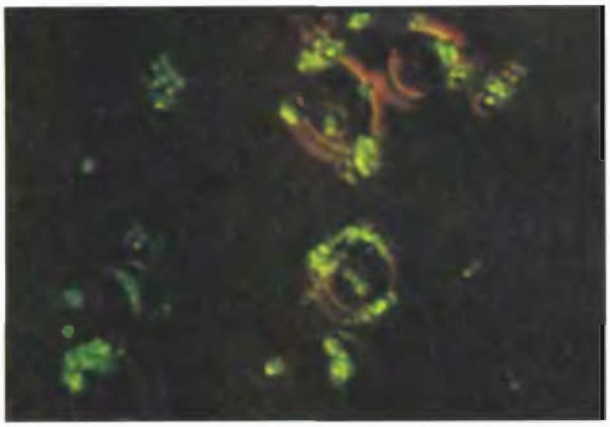


Рис. 4.17
Иммуноадгезия. На этой микрофотографии видны опсонизированные антителами и комплементом бактерии (окраска флуоресцеином) на поверхности эритроцитов человека. Адгезия обусловлена связыванием фиксированных на бактериях C3b, iC3b и C4b с эритроцитарным CR1. (Фото любезно предоставлено проф. G.D. Ross.)

ритными) клетками и эпителиальными клетками определенного типа, связывает iC3b, C3dg, ИФα и вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ). На В-клетках CR2, по-видимому, функционирует как вспомогательный рецептор при специфическом иммунном ответе. Связывание с ним iC3b или C3dg снижает порог сигнала для активации В-клеток, происходящей в результате связывания антигена с их антигенспецифичными рецепторами (мембраносвязанные антитела). Иммунные комплексы, в которых антитела и субкомпоненты комплемента образуют перекрестные связи с антигеном, гораздо эффективнее активируют В-клетки, чем сам по себе антиген.

Главная физиологическая активность CR2, связанная с цитопатологией, состоит в том, что он служит рецептором для ВЭБ. Распределение вируса по тканям in vivo соответствует локализации клеток, несущих CR2; вероятно, ВЭБ проникает в клетки, связываясь с CR2 без участия комплемента.

CR3 и CR4 относятся к суперсемейству лейкоцитарных β_2-интегринов – молекул межклеточной адгезии

Лейкоцитарные интегрины – это гетеродимеры, образованные общей β-цепью (CD18) и одной из трех различных α-цепей (CD11a, CD11b или CD11c). Интегрин CD18/11a известен как LFA-1 – функциональный лимфоцитарный антиген 1 типа; интегрин CD18/11b называют также CR3, а CD18/11c – CR4 (он известен и как p150, 95).

Интегрины, к которым относятся три указанные молекулы, образуют суперсемейство структурно родственных, локализованных на клеточной поверхности рецепторов и молекул адгезии. В него входят, например, рецепторы к фибронектину и витронектину (S-белку), а также тромбоцитарный рецептор для фибриногена. Связывание этих рецепторов с их лигандами зависит от кальция.

CR3 (CD18/11b) – присутствует на клетках миелоидного ряда и служит важным рецептором и молекулой межклеточной адгезии. Этот белок опосредует фагоцитоз частиц, опсонизированных iC3b, и функционирует, кроме того, как лектин, способный связывать некоторые углеводы. Ряд видов дрожжей, включая *Saccharomyces cerevisiae*, непосредственно связывается с CR3 без участия комплемента, как и другие микробы, например *Staphilococcus epidermidis* и *Histoplasma capsulatum*. Другими лигандами для CR3 служат фибриноген, гемокоагуляционный фактор X и молекула межклеточной адгезии 1.

CR4(p150-95, CD18/11c) – наименее изученный рецептор данной группы. Установлено, однако, что в присутствии Ca^{2+} он связывает iC3b. Кроме того, известно, что этот интегрин связывается с фибриногеном и участвует в прилипании моноцитов и нейтрофилов к эндотелию. Он присутствует на клетках как миелоидного, так и лимфоидного ряда и обильно экспрессирован на поверхности тканевых макрофагов, где функционирует, по-видимому, как необходимый рецептор для частиц, опсонизированных iC3b.

Клеточные рецепторы для субкомпонентов C3a и C5a относятся к родопсиновому суперсемейству рецепторов, связывающих G-белок

Мелкие фрагменты белков комплемента, C3a и C5a, называемые анафилатоксинами, способны запускать дегрануляцию тучных клеток. Они действуют, связываясь со специфическими рецепторами, которые имеются на всех клетках миелоидного ряда (нейтрофилах, эозинофилах, базофилах и тучных клетках, моноцитах и макрофагах).

Рецепторы к C3a и C5a входят в родопсиновое суперсемейство рецепторов, связывающих G-

белки. Для этих рецепторов характерна извитая структура с семью гидрофобными трансмембранными доменами, гомологичная структуре некоторых рецепторов, опосредующих хемотаксические сигналы, в том числе N-формилметионинового рецептора (f-met-leu-phe), связывающего бактериальные пептиды, и рецепторов для хемокинов – ИЛ-8 и RANTES [1].

Связанный с рецептором C5a подвергается поглощению клеткой и расщеплению на неактивные пептидные фрагменты; в этом состоит важный механизм регуляции и ограничения активности анафилатоксина.

Другие рецепторы комплемента связываются с коллектинами

Среди клеточных рецепторов идентифицирован мембранный белок с мол. массой 70 кДа, связывающий коллагеноподобную часть молекулы C1q (*рис. 4.4*) и другие молекулы из семейства коллектинов, например маннан-связывающий лектин (МСЛ). Этот рецептор обнаружен на полиморфноядерных гранулоцитах, моноцитах, макрофагах, В-клетках, тромбоцитах и эндотелии. Его физиологическая функция неясна, но, по всей вероятности, он может способствовать поглощению иммунных комплексов, опсонизированных C1q, или бактерий, нагруженных МСЛ.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕМЕНТА

Биологические активности системы комплемента можно подразделить на полезные для организма-хозяина и вредные.

Основные полезные эффекты комплемента:

- содействие в уничтожении микроорганизмов;
- интенсивное удаление иммунных комплексов;
- индукция и усиление гуморального иммунного ответа.

Система комплемента может вызывать повреждение клеток и тканей собственного организма в следующих случаях:

- если происходит ее генерализованная массированная активация, например при септицемии, вызванной грамотрицательными бактериями;
- если ее активация происходит в очаге тканевого некроза, в частности при инфаркте миокарда;
- если активация происходит при аутоиммунной реакции в тканях.

Комплемент способствует уничтожению микроорганизмов

Усиление ликвидации микробов достигается несколькими путями, включая:

- образование анафилатоксинов, которые повышают проницаемость стенок сосудов, облегчая тем самым поступление в очаг инфекции других защитных факторов воспалительной реакции;
- опсонизация микробов для усиления фагоцитоза;
- внедрение лизирующего мембрану комплекса в мембрану микробных клеток.

Анафилатоксины – сильные индукторы воспаления

Активация системы комплемента приводит к образованию анафилатоксинов C3a и C5a, физиологическая роль которых состоит в привлечении клеток воспалительного экссудата в очаг воспаления, а также в активации их эффекторных механизмов.

Системное введение C5a или генерализованная внутрисосудистая активация комплемента (например, при сепсисе, вызванном грамотрицательными бактериями), может привести к сердечно-сосудистому коллапсу и бронхоспазму – т. е. к состоянию, напоминающему анафилаксию (отсюда название анафилатоксины).

Активности C5a C5a служит сильным активатором всех типов клеток миелоидного ряда (*рис. 4.18*). Этот анафилатоксин вызывает хемокинез и хемотаксис нейтрофилов, их дегрануляцию, а также вспышку клеточного дыхания с образованием кислородных радикалов. Кроме того, C5a вызывает метаболизирование арахидоновой кислоты, входящей в состав мембран, с образованием простагландинов и эйкозаноидов. При этом возрастает также поверхностная экспрессия молекул межклеточной адгезии, что способствует прилипанию клеток к сосудистому эндотелию (*рис. 4.18*). У моноцитов и макрофагов C5a вызывает аналогичные реакции и, кроме того, секрецию ИЛ-1 и ИЛ-6, а у базофилов и тучных клеток – дегрануляцию с высвобождением гистамина и других вазоактивных медиаторов.

[1] RANTES – Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted – хемокин, выделяемый неимунными Т-клетками при активации; мол. масса 7,8–8,7 кДа; хемоаттрактант для моноцитов и Т-клеток фенотипа $CD4^+/CD45RO^+$. – *Прим. перев.*

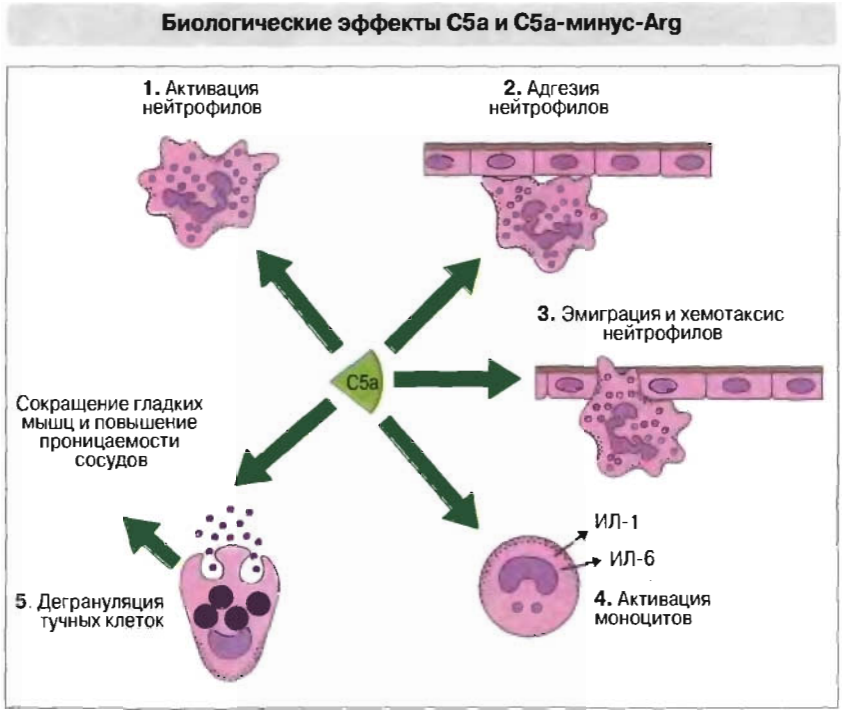


Рис. 4.18
Анафилатоксин C5a вызывает **1**) активацию нейтрофилов, **2**) повышенную экспрессию ими молекул межклеточной адгезии, **3**) эмиграцию нейтрофилов и хемотаксис, **4**) активацию моноцитов и **5**) дегрануляцию тучных клеток, в результате которой происходит сокращение гладкой мускулатуры и повышение проницаемости сосудов.

Активируя эти клетки, C5a опосредованно влияет на кровеносные сосуды, повышая их проницаемость, и на гладкую мускулатуру, вызывая ее сокращение. Кроме того, C5a может действовать синергично с другими медиаторами воспаления, например, вместе с ИФγ или эндотоксином стимулировать секрецию ИЛ-1 моноцитами.

Время полужизни C5a Присутствие C5a в кровотоке весьма кратковременно, как и следует ожидать для столь мощного медиатора воспаления. Содержащийся в крови фермент карбоксипептидаза N отщепляет от C5a C-концевой остаток аргинина, в результате чего все биологические активности этого эффектора, за исключением хемотаксической, существенно ослабевают. Затем происходит связывание его рецептором для C5a, интернализация и быстрое внутриклеточное расщепление протеазами на неактивные фрагменты.

Активность C3a По сравнению с C5a этот субкомпонент комплемента обладает гораздо меньшей активностью и связывается с иным клеточным рецептором. Он вызывает слабую агрегацию нейтрофилов и вспышку клеточного дыхания, но в противоположность C5a не обладает хемотаксической активностью.

Отметим, что образование анафилатоксинов происходит в результате активации не только комплемента, но и других ферментных систем, которые непосредственно расщепляют C3, C4 и C5. К таким ферментам относятся плазмин, калликреин, тканевые и лейкоцитарные (лизосомные) протеазы (в частности, эластаза нейтрофилов), а также протеолитические ферменты микробного происхождения, например гингипаин-1 из бактерии *Porphyromonas gingivalis*, которая встречается при патологии периодонта.

Фиксированные C3b и C4b действуют как опсонины, усиливая фагоцитоз

Ковалентно связываясь с поверхностью бактерий и иммунными комплексами, C3b и C4b делают их лигандами для рецепторов комплемента на фагоцитарных клетках. Тем самым они обеспечивают очистку крови от бактерий и иммунных комплексов. Связывание C3b и C4b с рецепторами комплемента на поверхности нейтрофилов, моноцитов и макрофагов может вызывать, кроме стимуляции фагоцитоза, экзоцитоз гранул, содержащих протеолитические ферменты, и образование свободных кислородных радикалов в результате вспышки клеточного дыхания (*рис. 4.19*).

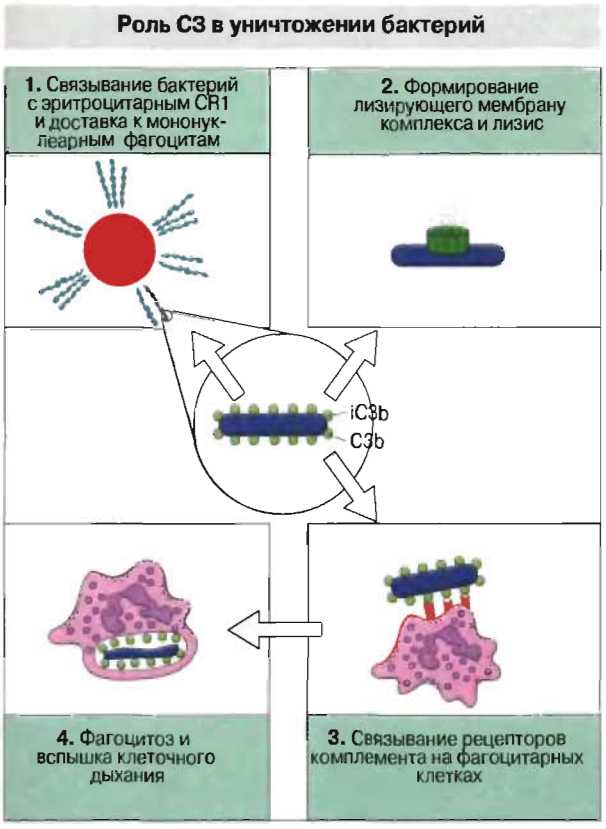


Рис. 4.19
Компонент C3, связанный с бактериальной клеткой в виде C3b или iC3b, **1**) взаимодействует с CR1 эритроцитов, на которых бактерии транспортируются кровотоком, **2**) служит «причалом» для лизирующего мембрану комплекса на поверхности бактериальных клеток, **3**) «сшивает» рецепторы комплемента на фагоцитах, **4**) активирует фагоциты, стимулируя фагоцитоз, вспышку клеточного дыхания и бактерицидную активность.

Недостаточность комплемента ассоциирована с подверженностью инфекционным заболеваниям

Физиологическая роль комплемента в опсонизации и бактериолизе становится совершенно ясной, если проанализировать две формы его наследственной недостаточности. Недостаточность компонентов классического пути и C3 и недостаточность семейства рецепторов CR3/CR4/LFA-1 ассоциированы с частым возникновением инфекций, вызываемых гноеродными бактериями. Тот факт, что дефицит опсонинов либо рецепторов приводит к одинаковым последствиям, убедительно свидетельствует о важной роли комплемента в уничтожении этих бактерий путем фагоцитоза и внутриклеточного разрушения.

В отличие от этого недостаточность компонентов ЛМК ассоциирована почти исключительно с повышенной восприимчивостью к заражению *Neisseria meningitidis*. Можно предполагать, что устойчивость организма в отношении этой бактерии, которая способна выживать внутри фагоцитов, основана на комплемент-зависимом бактериолизе в плазме крови.

Менее важен, по-видимому, комплемент для противовирусной защиты, в которой решающая роль принадлежит Т-клеткам. Недостаточность комплемента обычно не сопровождается повышенной восприимчивостью к вирусным инфекциям.

Лизирующий мембрану комплекс принимает также участие в воспалительной реакции

Согласно традиционному представлению, ЛМК уничтожает любую клетку, образуя поры в мембране и вызывая ее лизис. Однако не так давно было установлено, что содержащие ядро клетки, например клетки иммунной системы организма, относительно устойчивы к литическому действию ЛМК; отчасти это обусловлено присутствием на мембране регуляторных молекул типа CD59, но, кроме того, и способностью этих клеток устранять путем эндоцитоза или экзоцитоза те участки своей плазматической мембраны, в которые проник ЛМК. Даже в случае сублетального воздействия ЛМК вызванное им изменение структуры мембранного бислоя может стимулировать клетки иммунной системы (в зависимости от их тканевого происхождения) к высвобождению и метаболизированию арахидоновой кислоты, усилению окислительного метаболизма, дегрануляции или секреции цитокинов. Эти реакции, возможно, важны для усиления воспаления в участках активации комплемента.

Патогенные микроорганизмы противодействуют эффектам комплемента

Взаимодействие между системой комплемента и микробами можно рассматривать как фактор продолжающейся эволюционной межвидовой борьбы. По мере развития системы комплемента, вероятно под давлением отбора, связанного главным образом с инфекционными заболеваниями, у микробов в свою очередь появились механизмы выхода из-под удара комплемента и даже «использования» этой системы для развития инфекции. Фактически, патогенные микробы патоген-

ны именно благодаря своей способности обходить в известной мере механизмы защиты организма от инфекции.

Грамотрицательные бактерии экспонируют связывающие C3b и ЛМК структуры, на которых бактериолитическая активность комплемента лишена эффективности

Наружный слой клеточной стенки большинства грамотрицательных бактерий содержит липополисахарид (ЛПС) с длинными О-специфическими боковыми полисахаридными цепями, выступающими из мембраны наружу. Они эффективно активируют комплемент, но локализуют ковалентное связывание C3 и фиксацию ЛМК на таком удалении от цитоплазматической мембраны бактериальной клетки, при котором опсонизация и лизис невозможны. В подобных случаях в качестве фактора приобретенного иммунитета могут функционировать только бактерицидные антитела. Они активируют комплемент в непосредственной близости к тем участкам бактериальной поверхности, где его опсонизирующий и литический эффекты могут реализоваться.

Некоторые бактерии имеют наружный покров, устойчивый к опсонизации

Ряд микроорганизмов устойчив к действию комплемента за счет присутствия на их поверхности молекул, препятствующих альтернативной активации комплемента и усилению фиксации C3. Например, штаммы патогенных грамположительных бактерий отличаются от своих непатогенных аналогов наличием богатой сиаловыми кислотами капсулы, на которой C3b связывает фактор H, а не фактор B, в результате чего подвергается расщеплению.

Микробы могут экспрессировать молекулы, подавляющие активацию комплемента

Другая стратегия обхода микробами действия комплемента – это экспрессия ингибиторов, подобных тем, которыми обладает организм-хозяин. Известны присутствующие на поверхности бактериальных клеток молекулы с Fc-рецепторными свойствами, например стафилококковый белок A и Fc-рецептор, имеющийся у многих герпесвирусов. Недавно обнаружена также экспрессия рецептора (гликопротеин-C) для комплемента вирусом простого герпеса. Грибы *Candida albicans* экспрессируют молекулы, подобные CR2 и CR3 и имеющие даже антигенное сходство с CR3 человека. Все эти молекулы способны защитить микроорганизмы от обычных последствий связывания антител и комплемента. Так, IgG или C3, связавшись с рецепторами на поверхности микробов, могут утратить способность к взаимодействию с Fc-рецепторами на фагоцитарных клетках. Еще один стратегический путь заключается в экспрессии регуляторных молекул, подавляющих активацию комплемента. Так, например, трипаносомы образуют ФУД- и CD59-подобные молекулы, тогда как шистосомы просто адсорбируют ФУД организма-хозяина, достигая той же цели.

Некоторые вирусы используют систему комплемента для усиления своего патогенного действия

Наиболее важная стадия в патогенезе вирусных инфекций – это проникновение возбудителя в клетки организма-хозяина. Как установлено, некоторые вирусы используют связанные с клеточными мембранами компоненты комплемента в качестве рецепторов для усиления проникновения в клетку. Так, вирус Эпштейна–Барр использует CR2, вирус кори – мембранный кофакторный белок (МКБ, CD46), а ряд эховирусов – фактор, ускоряющий диссоциацию C3-конвертазы (ФУД, CD55).

Проникновению ряда других вирусов в клетки может способствовать их связывание с антителами и C3b в жидкой фазе. В частности, в результате взаимодействия с антителами усиливается поглощение клетками флавивирусов (в том числе вируса денге) при участии макрофагальных Fc-рецепторов, а связывание C3 с вирусными частицами способствует поглощению вируса Западного Нила (также флавивируса) при участии CR3.

Комплементу принадлежит важная вспомогательная роль в индукции иммунного ответа

Система комплемента облегчает контакт и взаимодействие антигенпрезентирующих клеток и B-клеток с антигеном (*рис. 4.20*). Например, от комплемента зависит необходимая для формирования B-клеток памяти локализация иммунных комплексов в центрах размножения внутри лимфоузлов.

На B-клетках и АПК выявлены следующие рецепторы комплемента:

- В-клетки: CR1, связывающий C3b и iC3b, а также CR2, связывающий iC3b и C3dg;
- моноциты и макрофаги: CR1 и CR3;
- фолликулярные дендритные клетки (единственный тип клеток, обладающий всеми тремя рецепторами): CR1, CR2 и CR3.

Лица с наследственным дефицитом C3 страдают лишь умеренным нарушением продукции антител. Однако у морских свинок, дефицитных по C2, C3 или C4, наблюдается заметное угнетение первичного и вторичного иммунных ответов на малые дозы Т-зависимых антигенов. Эти факты свидетельствуют о вспомогательной (но не решающей) роли комплемента в эффективной индукции образования антител.

Комплемент участвует в процессинге иммунных комплексов

В 1940-х гг. Гейдельбергером было установлено, что комплемент препятствует формированию решетчатой структуры преципитирующих комплексов антиген–антитела. На структуру и размеры иммунных комплексов влияют многие факторы, включая следующие:

- концентрация реагентов (антител и антигена);
- аффинность антител к гомологичному антигену;
- валентность как антител, так и антигена (чем выше валентность, тем крупнее образующиеся комплексы).

Активация комплемента по классическому пути подавляет образование преципитатов иммунных комплексов в плазме крови. Подобным же образом, активация по альтернативному пути может вызвать растворение иммунных комплексов, уже образовавших преципитаты в плазме, а также в тканях. Растворение происходит в результате ковалентного включения C3 в решетчатую структуру иммунного преципитата: C3 разрушает связь антител с эпитопами антигена, ограничивая тем самым возможность образования крупных агрегатов (см. гл. 25).

Активация комплемента иммунными комплексами в норме физиологически полезна, так как связанные с C3 комплексы эффективно удаляются из тканей и кровотока моноцитами и прочими фагоцитарными клетками (*рис. 4.20*). Однако в некоторых случаях интенсивное образование иммунных комплексов продолжается хронически, и тогда активация ими комплемента имеет вредные последствия; в частности это происходит при подостром бактериальном эндокардите и системной красной волчанке.

Роль C3 в процессинге иммунных комплексов

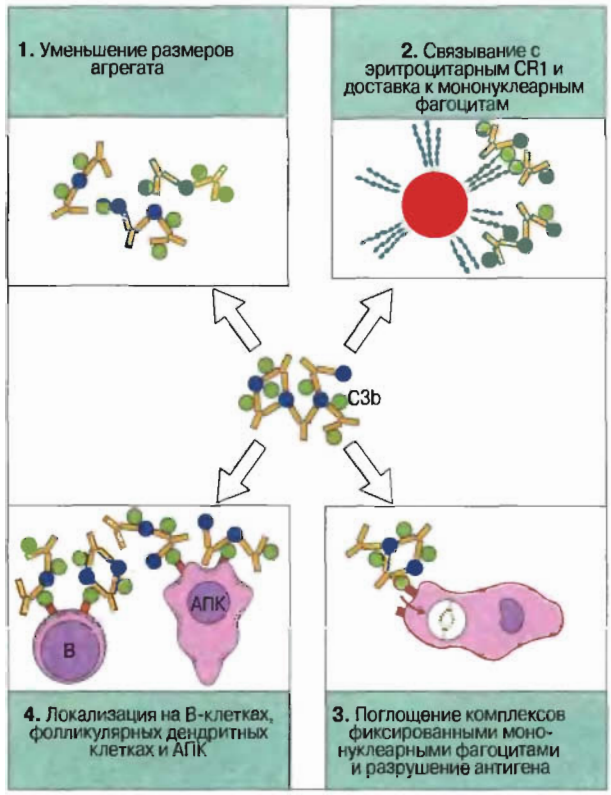


Рис. 4.20
Компонент C3 связывается с иммунными комплексами и благодаря этому **1)** уменьшает размеры иммунных агрегатов решетчатой структуры, **2)** опосредует связывание циркулирующих иммунных комплексов с CR1 на эритроцитах, которые транспортируют эти комплексы в кровотоке, **3)** способствует поглощению иммунных комплексов фиксированными мононуклеарными фагоцитами и тем самым разрушению антигена и **4)** способствует локализации антигена в виде иммунных комплексов на В-лимфоцитах и антиген-презентирующих клетках, в том числе на специализированных фолликулярных (дендритных) клетках лимфоузлов.

Комплемент способствует развитию некоторых заболеваний

Системная активация комплемента приводит к образованию больших количеств анафилатоксинов

В определенных условиях активация комплемента in vivo играет вредную, а не полезную роль

Комплемент в патогенезе заболеваний

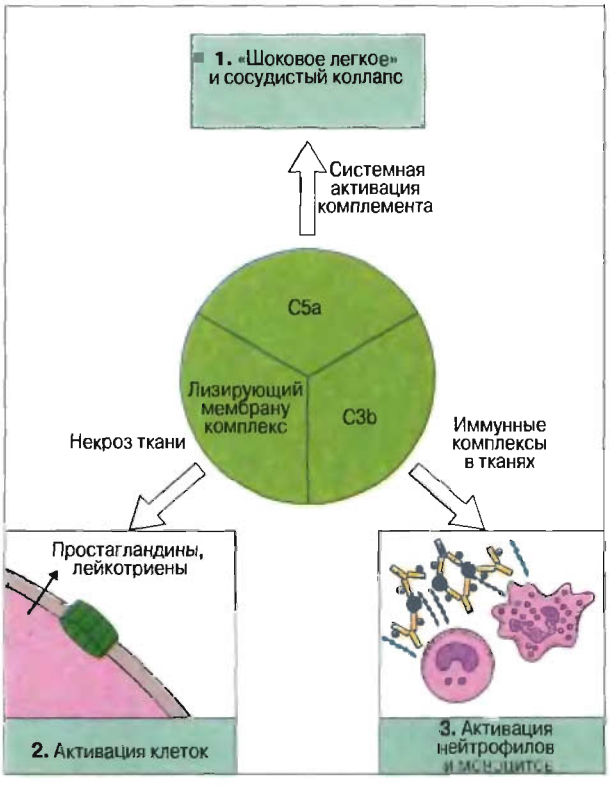


Рис. 4.21
Активация комплемента может вызвать патологические реакции в результате **1**) системного образования анафилатоксинов (например, при септицемии, вызванной грамотрицательными бактериями), **2**) внедрения лизирующего мембрану комплекса в мембраны собственных клеток организма (при этом происходит активация клеток и высвобождение метаболитов арахидоновой кислоты, входящей в состав мембран) и **3**) фиксации C3 (привлекающего и активирующего тканевые и циркулирующие лейкоциты) на иммунных комплексах, локализованных в тканях.

(*рис. 4.21*). Например, шок при бактериемии, вызванной грамотрицательными бактериями, отчасти обусловлен системной активацией комплемента эндотоксином. Возникающие при этом в больших количествах C3a и C5a вызывают активацию и дегрануляцию нейтрофилов, базофилов и тучных клеток. Внутрисосудистая агрегация нейтрофилов приводит к диссеминированному свертыванию крови и задержке образовавшихся микроэмболов в капиллярах легких, где продукты лейкоцитарного происхождения (включая эластазу и свободные радикалы) могут вызвать синдром «шокового легкого». Он характеризуется интерстициальным отеком легкого вследствие повреждения мелких сосудов, образованием нейтрофильного экссудата в альвеолах и артериальной гипоксемией.

Искусственное кровообращение через аппараты сердце–легкие или купрофановые диализаторы может стать причиной экстракорпоральной активации комплемента, которая сопровождается временной лейкопенией, примерно такой же, как при агрегации нейтрофилов в легких.

Тканевой некроз активирует комплемент

Повреждение ткани вследствие ишемического некроза способно вызвать локальную активацию комплемента и интенсивную фиксацию ЛМК на клеточной мембране. О возможной патофизиологической роли активации комплемента в этом случае свидетельствуют данные экспериментального моделирования инфаркта миокарда, при котором снижение концентрации комплемента уменьшает масштабы повреждения ткани. Подобный же эффект, как установлено недавно, вызывает введение растворимого рекомбинантного CR1.

Активация комплемента вследствие образования иммунных комплексов in vivo – возможная причина повреждения тканей

Активация комплемента имеет существенное значение в патогенезе тканевой деструкции при заболеваниях, обусловленных образованием иммунных комплексов. Формирование таких комплексов возможно в тканях, например в почечных клубочках при нефропатии, вызванной образованием аутоантител к гломерулярной базальной мембране, или на концевых пластинках двигательных нейронов при злокачественной миастении с образованием аутоантител к холинорецепторам (см. гл. 24). В других случаях циркулирующие иммунные комплексы могут отлагаться в стенках кровеносных сосудов (см. гл. 25). Например, при бактериальном эндокардите инфицированный сердечный клапан представляет собой источник образования иммунных комплексов, которые оседают в почках или других участках микрососудистого русла.

При болезнях иммунных комплексов комплемент провоцирует воспаление главным образом двумя следующими путями:

- с C3b и C4b, фиксированными на иммунных комплексах, связываются лейкоциты, активи-

руемые и привлекаемые в места отложения этих комплексов образовавшимися здесь анафилатоксинами; так начинается повреждение тканей при синдроме Гудпасчера и для подавления воспалительной реакции на экспериментальных моделях этого заболевания достаточно уменьшить содержание в крови комплемента или нейтрофилов;

- ЛМК (лизирующий мембрану комплекс) повреждает клеточную мембрану и стимулирует при этом образование простагландинов из арахидоновой кислоты. Этим обусловлено повреждение тканей при мембранозном нефрите, который в эксперименте удается вызвать антителами к субэпителиальным антигенам. Воспалительную реакцию в этом случае не подавляет устранение нейтрофилов, однако она почти полностью отсутствует у животных, дефицитных по С5. Базальная мембрана, вероятно, служит физическим барьером на пути миграции нейтрофилов, поэтому наблюдаемая высокая протеинурия обусловлена только фиксацией лизирующего мембрану комплекса.

Вопросы для размышления

- Каков механизм защиты тканей организма от повреждения собственной системой комплемента?
- С чего начинается активация комплемента?
- Как может повлиять наследственная недостаточность фактора Н на систему комплемента ребенка? Какие заболевания возможны у таких детей?
- В чем состоят эффекторные механизмы системы комплемента?
- Что представляет собой внутренняя тиоэфирная связь в структуре С3 и С4? Каково ее значение для системы комплемента?
- Чем обусловлена та избирательность, благодаря которой активация комплемента происходит на поверхности чужеродных клеток, а не собственных клеток организма?
- Как взаимодействуют между собой система комплемента и микробы?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Ahearn J.M., Fischer M.B., Croix D. et al. 1996. Disruption of the Cr2 locus results in a reduction in B-1α cells and in an impaired B cell response to T-dependent antigen. *Immunity* **4**: 251–262.

Aulak K.S., Donaldson V.H., Coutinho M. et al. 1993. C1-inhibitor: structure/function and biologic role. *Behring Inst. Mitt.* **93**: 204–213.

Bkakdi S., Tranum Jensen J. 1991. Complement lysis: a hole is *a* hole. *Immunol. Today* **12**: 318–320.

Campbell R.D., Law S.K.A., Reid K.B.M. et al. 1988. Structure, organization and regulation of the complement genes. *Annu Rev. Immunol.* **6**: 161–195.

Colten H.R., Rosen F.S. 1992. Complement deficiencies. *Annu. Rev. Immunol.* **10**: 809–834.

Cooper N.R. 1985. The classical complement pathway: activation and regulation of the first complement component. *Adv. Immunol.* **37**: 151–216.

Davies K.A., Schifferli J.A., Walport M.J. 1994. Complement deficiency and immune complex disease. *Springer Semin. Immunopathol.* **15**: 397–416.

Dodds A.W., Ren X.D., Willis A.C. et al. 1996. The reaction mechanism of the internal thioester in the human complement component C4. *Nature* **379**: 177–179.

Esser A.F. 1991. Big MAC attack: complement proteins cause leaky-patches. *Immunol. Today* **12**: 316–318.

Farries T.C., Atkinson J.P. 1991. Evolution of the complement system. *Immunol. Today* **12**: 295–300.

Fearon D.T., Locksley R.M. 1996. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* **272**: 50–53.

Frank M.M. 1992. The mechanism by which microorganism avoid complement attack. *Curr. Opion. Immunol.* **4**: 14–19.

Frank M.M., Fries L.F. 1991. The role of complement in inflammation and phagocytosis. *Immunol. Today* **12**: 322–326.

Gerard C., Gerard N.P. 1994. C5a anaphylatoxin and its seven transmembrane-segment receptor. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 775–808.

Holmskov U., Mathotra R., Sim R.B. et al. 1994. Collectins: collagenous C-type lectins of the innate immune defense system. *Immunol. Today* **14**: 67–74.

Hourcade D., Holers V.M., Atkinson J.P. 1989. The regulators of complement activation (RCA) gene cluster. *Adv. Immunol.* **45**: 381–416.

Joiner K.A. 1988. Complement evasion by bacteria and parasites. *Annu. Rev. Microbiol.* **42**: 201–230.

Kinoshita T., Inoue N., Takeda J. 1996. Role of phosphatidylinositol-linked proteins in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria pathogenesis. *Annu. Rev. Med.* **47**: 1–10.

Lachmann P.J., Walport M.J. 1987. Deficiency of the effector mechanisms of the immune response and autoimmunity. In: Whelan J. (ed.). *Autoimmunity and Autoimmune Diseases*. Chichester: Wiley, 149–171.

Liszewski M.K., Farries T.C., Lublin D.M. et al. 1996. Control of the complement system. *Adv. Immunol.* **61**: 201–283.

Moffitt M.C., Frank M.M. 1994. Complement resistance in microbes. *Springer Semin. Immunopathol.* **15**: 327–344.

Morgan B.P. 1995. Complement regulatory molecules: application to therapy and transplantation. *Immunol. Today* **16**: 257–259.

Morgan B.P., Meri S. 1994. Membrane proteins that protect against complement lysis. *Springer Semin. Immunopathol.* **15**: 369–396.

Morgan B.P., Walport M.J. 1991. Complement deficiency and disease. *Immunol. Today* **12**: 301–306.

Muller-Eberhard H.J. 1986. The membrane attack complex of complement. *Annu. Rev. Immunol.* **4**: 503–528.

Muller-Eberhard H.J., Schreiber R.D. 1980. Molecular biology and chemistry of the alternative pathway of complement. *Adv. Immunol.* **29**: 1–53.

Reid K.B.M., Day A.J. 1989. Structure-function relationships of the complement components. *Immunol. Today* **10**: 177–180.

Reid K.B.M., Porter R.R. 1981. The proteolytic activation systems of complement. *Annu. Rev. Biochem.* **50**: 433–464.

Reid K.B.M., Turner M.W. 1994. Mammalian lectins in activation and clearance mechanisms involving the complement system. *Springer Semin. Immunopathol.* **15**: 307–326.

Ross G.D. (ed.) 1986. *Immunobiology of the Complement System*. New York: Academic Press.

Smith G.L. 1994. Virus strategies for evasion of the host response to infection. *Trends Microbiol.* **2**: 81–88.

Walport M.J. 1993. Inherited complement deficiency – clues to the physiological activity of complement in vivo. *Q.J. Med.* **86**: 355–358.

Walport M.J., Lachmann P.J. 1993. Complement. In: Lachmann P.J., Peters D.K., Rosen F.S., Walport M.J. (eds.). *Clinical Aspects of Immunology*, 5th edn. Oxford: Blackwell Scientific Press., 347–375.

Миграция клеток и воспаление 5

- **Воспаление** – это реакция организма, обеспечивающая привлечение лейкоцитов и растворимых компонентов плазмы в очаги инфекции или повреждения ткани. К его основным проявлениям относятся повышение кровенаполнения капилляров и их проницаемости для сывороточных макромолекул, а также усиленная миграция лейкоцитов в направлении воспалительного очага через эндотелий расположенных поблизости сосудов.
- **Миграция лейкоцитов** представляет собой сложный процесс, который зависит от особенностей данной популяции мигрирующих клеток, уровня активации клеток и характера их взаимодействия с эндотелием в разных участках сосудистого русла.
- Путь миграции частично определяется **уровнем активации клеток:** покоящиеся или еще не встречавшие антиген лимфоциты имеют тенденцию мигрировать через венулы с высоким эндотелием в лимфоидные ткани, тогда как активированные лимфоциты – в очаги воспаления.
- **Молекулы адгезии,** регулирующие миграцию лейкоцитов, по структурным признакам относятся к разным, но родственным семействам, в том числе к суперсемейству иммуноглобулинов (эндотелиальные молекулы клеточной адгезии), семейству селектинов или семейству интегринов. В эндотелиальных клетках синтез молекул адгезии индуцируют цитокины. Экспрессия лейкоцитарных молекул адгезии зависит от популяции клеток и стадии их дифференцировки.
- **Хемотаксические молекулы** определяют направление миграции лейкоцитов и, кроме того, инициируют этот процесс при контакте лейкоцитов с поверхностью эндотелия.
- **Медиаторы воспаления,** выделяемые тучными клетками, тромбоцитами и лейкоцитами при иммунологических реакциях организма или повреждении тканей, действуют совместно с продуктами активации ферментных систем плазмы, осуществляя регуляцию проницаемости и кровенаполнения сосудов.

В норме лейкоциты, циркулирующие с кровью, мигрируют по всем тканям организма, но при этом каждая их популяция имеет свой особый характер миграции. Кроме того, путь миграции зависит от стадии дифференцировки и уровня активации клеток :

- **фагоциты,** в том числе нейтрофилы и моноциты, покинув костный мозг, мигрируют в те периферические ткани организма, где имеются очаги воспаления; для нейтрофилов это путешествие в одном направлении, но моноциты, превратившись в макрофаги, могут вернуться во вторичные лимфоидные ткани и функционировать там в качестве антигенпрезентирующих клеток (АПК):
- **непримированные** (не контактировавшие с антигеном) **лимфоциты** мигрируют из тимуса и костного мозга во вторичные лимфоидные ткани; после активации антигеном Т-клетки стремятся проникнуть в очаг воспаления (*рис. 5.1*), тогда как В-клетки и Т-клетки иммунологической памяти расселяются по соседним лимфоидным органам и образованиям.
- **дендритные клетки,** в частности кожные клетки Лангерганса, представляют собой потомство костномозговых стволовых клеток, заселившее вторичные лимфоидные ткани; захватив антиген, они могут мигрировать в регионарные лимфоузлы, чтобы презентировать его Т-клеткам $CD4^+$.

Миграция лимфоцитов позволяет каждой «горстке» лимфоцитов, специфичных к какому-либо отдельному антигену, встретиться именно с ним. Пути оттока лимфы и перемещения клеток обеспечивают встречу лимфоцитов, АПК и поступающего из инфицированных и воспаленных тканей антигена в лимфатических узлах; антигены, проникшие в кровоток, задерживаются селезенкой. Во вторичных лимфоидных тканях происходит первоначальная клональная экспансия антигенспецифичных лимфоцитов, после чего они поступают в циркуляцию через выносящие лимфатические сосуды (*рис. 5.2*). Дальнейшая миграция их из кровотока зависит от экспрессии на клетках эндотелия молекул адгезии; например, при появлении таких молекул на эндотелии в



Рис. 5.1
Взаимодействие лимфоцитов с эндотелием.
1. Активированная антигеном Т-клетка, связавшаяся in vitro с эндотелием сетчатки. Мигрируя по эндотелию, она прилипает к его поверхности и затем выпускает псевдоподии, нащупывая подходящую для перемещения точку. Сканирующая электронная микроскопия (фото любезно предоставлено д-ром J.Greenwood). **2.** Лимфоцит, прилипший к эндотелию мозгового сосуда вблизи межэндотелиоцитарного соединения (экспериментальный аллергический энцефаломиелит). Вслед за прилипанием происходит трансэндотелиальная миграция лимфоцита в очаг воспаления. Просвечивающая электронная микроскопия (фото любезно предоставлено д-ром C. Hawkins).

очаге воспаления их распознают рецепторы активированных лимфоцитов или фагоцитов и в результате там и накапливаются эти клетки. Весь комплекс реакций, возникающих в тканях в ответ на повреждение или инфекцию, назван воспалением. Для воспаления характерны три основных признака:

- **усиленное кровоснабжение** воспаленной области, способствующее доставке в нее лейкоцитов и растворимых компонентов плазмы;
- **повышенная проницаемость капилляров** и вследствие этого экссудация белков плазмы (антител, комплемента, кининогенов и др.), необходимых для сдерживания инфекции;
- **усиленная миграция** лейкоцитов.

При иммунологической реакции на антиген различные популяции мигрирующих клеток появляются в ткани, как правило, поочередно (фазовая смена). Тип клеток, присутствующих в каждый данный момент, преобладание тех или иных и время появления – все это зависит от природы антигена и от участка организма, где развертывается иммунологическая реакция. Обычно первыми в очаг острого воспаления, вызванного инфекцией, прибывают нейтрофилы, преобладающие затем в нем в течение нескольких суток. На вторые сутки в очаг начинают поступать мононуклеарные фагоциты и лимфоциты. Позже прибывают обычно Т-клетки $CD8^+$ и немногочисленные В-клетки. Обратное развитие острой реакции зависит от того, удалось ли организму освободиться от антигена или инфекции. Если не удалось, острая воспалительная реакция переходит в хроническую, при которой в очаге мало нейтрофилов, но в значительном количестве накапливаются Т-клетки $CD4^+$ и мононуклеарные

Рециркуляция лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток

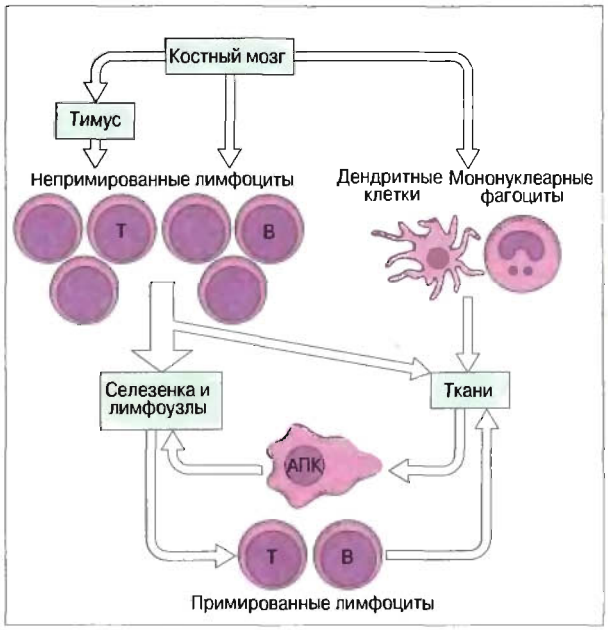


Рис. 5.2
Непримированные лимфоциты мигрируют из первичных лимфоидных тканей, в частности из костного мозга, во вторичные, например в селезенку и лимфоузлы. Антигенпрезентирующие клетки (АПК), в том числе дендритные (ветвистые) клетки и мононуклеарные фагоциты, также происходят из стволовых костномозговых клеток. АПК проникают в различные ткани организма, захватывают там антиген и доставляют его в лимфоидные ткани для презентации Т- и В-клеткам. Затем примированные лимфоциты, покинув лимфоидную ткань, скапливаются преимущественно в очагах инфекции и воспаления.

фагоциты. Реакции на паразитарные инвазии (например, заражение шистосомами) нередко сопровождаются эозинофильной инфильтрацией. Эозинофилы вместе с базофилами и макрофагами преобладают также в инфильтрате тканей бронхиальной стенки после астматических приступов.

МИГРАЦИЯ КЛЕТОК

В миграции лейкоцитов выделяют две главные стадии. Первая – это прилипание (адгезия) циркулирующих клеток к сосудистому эндотелию с последующим проникновением между эндотелиоцитами или сквозь них (*рис. 5.3*). На второй стадии лейкоциты, преодолевшие эндотелий, мигрируют в направлении очага инфекции или воспаления, привлекаемые хемотаксическими стимулами. Эти процессы регулируются присутствующими на поверхности мигрирующих клеток белками (которые взаимодействуют с эндотелием, тканевыми клетками или внеклеточным матриксом), а также растворимыми сигнальными молекулами – хемокинами и другими хемоаттрактантами.

Пути клеточной миграции разнообразны и зависят не только от типа клетки, но и от стадии ее дифференцировки или уровня активации. Помимо этих факторов, существуют влияющие на миграцию особенности сосудистого эндотелия в разных участках организма. Так, венулы с высоким эндотелием (высокоэндотелиальные венулы, ВЭВ), характерные для вторичной лимфоидной ткани, по строению совершенно отличны от венул нелимфоидных тканей (см. гл. 3). Эндотелий мелких сосудов в различных нелимфоидных тканях морфологически чрезвычайно разнообразен, и к тому же любая местная воспалительная реакция приводит к изменениям в экспрессии ряда его поверхностных молекул. От всех этих факторов зависит, клетки какого типа окажутся способными проникнуть сквозь эндотелиальную выстилку. Как правило, на миграцию лейкоцитов через эндотелий влияют 1) величина поверхностного заряда взаимодействующих клеток, 2) сила гемодинамического смыва в сосудистом русле и 3) экспрессия комплементарного набора молекул адгезии на поверхности как лейкоцитов, так и эндотелиальных клеток. Поэтому лейкоциты мигрируют из кровеносного русла через стенку именно венул, где поверхностный заряд эндотелиоцитов самый низкий, гемодинамический смыв незначителен, а молекулы клеточной адгезии экспрессируются избирательно (*рис. 5.4*).

Лимфоцитарная миграция в лимфоидную ткань отличается от миграции в очаги воспаления

Для разных стадий жизненного цикла лимфоцитов характерны различные пути миграции. Например, неактивированные Т-клетки имеют тенденцию проникать через ВЭВ во вторичные лимфоидные ткани, тогда как активированные мигрируют в очаги воспаления. К тому же наблюдается избирательная миграция в определенные участки организма: лимфоциты, выделенные из

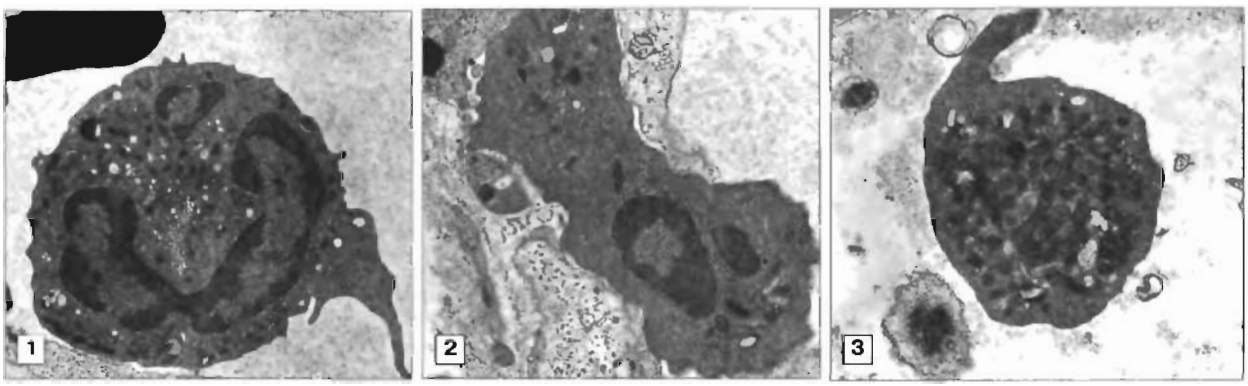


Рис. 5.3
Три стадии миграции нейтрофилов. 1. Полиморфноядерный лейкоцит прилипает к эндотелию капилляра. **2.** Лейкоцит проникает между эндотелиальными клетками. **3.** Нейтрофил, проходящий сквозь клетку эндотелия. Иногда этот процесс в целом называют «диапедезом». × 4000. (Фото любезно предоставлены д-ром I. Jovis.)

Миграция лейкоцитов через эндотелий

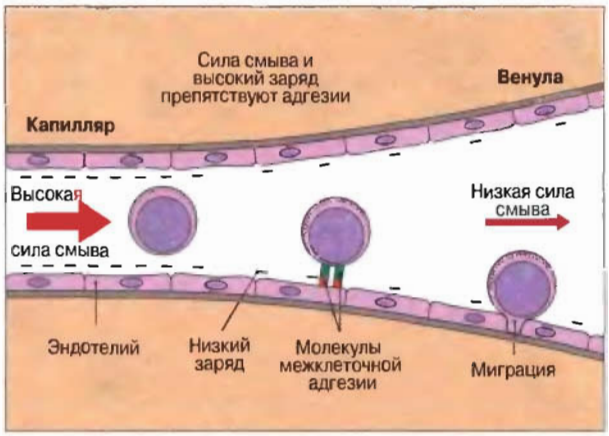


Рис. 5.4
Лейкоциты, циркулирующие в сосудистом русле, способны взаимодействовать с эндотелием венул при участии целого ряда поверхностных молекул клеточной адгезии. В венулах сила гемодинамического смыва незначительна, поверхностный заряд эндотелия низкий и экспрессия молекул адгезии происходит избирательно. При адекватной стимуляции лейкоцитов за адгезией следует миграция.

пейеровых бляшек, при введении в кровь вновь локализуются в кишечнике, а лимфоциты селезенки возвращаются в нее же.

Миграция лимфоцитов из кровотока в лимфоузлы, пейеровы бляшки и лимфоидную ткань слизистых оболочек происходит через ВЭВ (см. гл. 3). Именно через стенки этих венул выходит из кровотока до 25% лимфоцитов, поступающих в лимфоузел по кровеносным сосудам. В противоположность этому через обычный эндотелий венул (в других тканях) проникает при каждом цикле лишь ничтожная часть циркулирующих лимфоцитов. Тем не менее эта слабая миграция крайне важна, так как позволяет лимфоцитам осуществлять «надзор» за всеми тканями организма; при развитии воспаления она многократно усиливается.

Венулы с высоким эндотелием выполняют, таким образом, особо важную роль в рециркуляции лимфоцитов. В норме ВЭВ присутствуют только во вторичных лимфоидных тканях, но могут возникать и в очагах хронического воспаления. Кроме характерной кубовидной формы, к особенностям эндотелиоцитов ВЭВ относится экспрессия различных наборов сульфатированных и обильно гликозилированных молекул межклеточной адгезии, которые связываются с циркулирующими Т-клетками, направляя их тем самым из кровотока в лимфоидную ткань. Эти молекулы адгезии отличаются от тех, которые регулируют миграцию лимфоцитов в очаг острого воспаления. При этом в разных лимфоидных тканях (пейеровых бляшках, лимфоузлах слизистых оболочек и др.) на эндотелии ВЭВ экспрессированы различные молекулы клеточной адгезии. Ранее эти молекулы адгезии были названы сосудистыми адрессинами (см. стр. 89); их экспрессия на эндотелии различных ВЭВ обеспечивает возвращение лимфоцитов в собственную лимфоидную ткань.

Миграцию регулирует ряд факторов, как эндотелиального, так и лейкоцитарного происхождения

Миграция лейкоцитов зависит от присутствия молекул адгезии на поверхности как эндотелия, так и лейкоцитов, от подвижности самих клеток и от наличия хемотаксических агентов. Для объяснения сложного и изменчивого характера клеточной миграции необходимо учитывать множество влияющих на нее факторов. К ним относятся:

- **характер активации мигрирующих лимфоцитов или фагоцитов:** экспрессия молекул адгезии и их функциональная аффинность варьируют в зависимости от типа клеток и от того, активированы они антигеном, цитокинами или межклеточными взаимодействиями;
- **типы молекул адгезии, экспрессируемых сосудистым эндотелием:** они определяются тем, в какой анатомической области проходит сосуд и был ли эндотелий активирован цитокинами;
- **присутствие специфичных хемотаксических молекул и цитокинов в тканях:** для разных популяций лейкоцитов характерны различные специализированные рецепторы, поэтому каждый хемотаксический агент избирательно привлекает только определенный тип клеток.

Прежде чем рассматривать участие молекул адгезии в лейкоцитарной миграции, необходимо познакомиться с их разнообразием и межклеточным распределением.

МОЛЕКУЛЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ

Молекулы межклеточной адгезии – это связанные с плазматической мембраной белки, которые

обеспечивают механическое взаимодействие клеток друг с другом. Часто это молекулы, пронизывающие мембрану и присоединенные к цитоскелету; с их помощью клетки при движении могут подтягиваться к другим клеткам или перемещаться по внеклеточному матриксу. Во многих случаях отдельная молекула межклеточной адгезии способна взаимодействовать не с одним, а с несколькими лигандами, для чего служат разные участки связывания. Хотя связывание индивидуальных молекул адгезии со своими лигандами обычно происходит с низким сродством, авидность взаимодействия может быть довольно высокой, за счет того что молекулы адгезии расположены на поверхности клеток компактными «пятнами», или кластерами, и образуют участки многоточечного связывания.

Адгезия клеток одного типа к клеткам другого типа может изменяться в результате увеличения числа молекул адгезии на клеточной поверхности либо при изменении их аффинности и/или авидности (*рис. 5.5*). Существуют два механизма увеличения числа молекул адгезии на поверхности клеток: у многих клеток большие запасы этих молекул хранятся во внутриклеточных везикулах, которые способны через несколько минут после активации устремляться к поверхности цитоплазматической мембраны; другой механизм состоит в синтезе таких молекул de novo и переносе их на поверхность (эти процессы занимают, как правило, несколько часов).

Число известных молекул межклеточной адгезии, имеющих значение для лейкоцитарной миграции, ошеломляюще велико. Тем не менее все их можно распределить по четырем семействам структурно родственных молекул. Миграция клеток – это сложный процесс, в котором на разных стадиях принимают участие несколько наборов молекул адгезии.

Нарастание лейкоцитарной адгезии

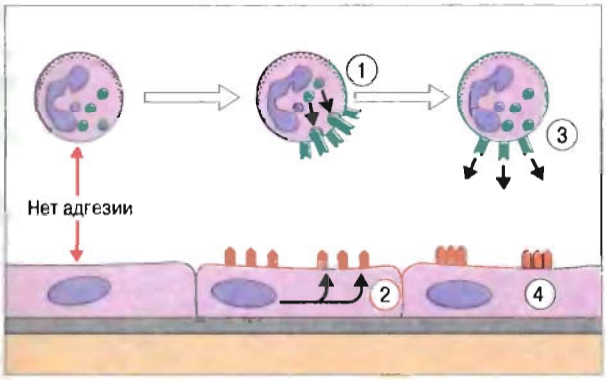


Рис. 5.5
Четыре механизма для усиления связывания лейкоцитов с эндотелием. **1.** Многие лейкоциты обладают внутренними запасами молекул адгезии, которые могут быстро доставляться на поверхность. **2.** Эндотелиальные клетки в очагах воспаления способны синтезировать молекулы межклеточной адгезии de novo. **3.** В результате активации клеток возможно возрастание аффинности связывания, например LFA-1. **4.** Перераспределение молекул адгезии на клеточной поверхности приводит к образованию высокоавидных участков связывания. В реальных условиях клетки одновременно используют несколько механизмов и после первоначального межклеточного взаимодействия аффинность связывания молекул адгезии может существенно изменяться.

Некоторые эндотелиальные молекулы адгезии относятся к иммуноглобулиновому суперсемейству

К суперсемейству иммуноглобулинов принадлежит ряд молекул адгезии эндотелиальных клеток, в том числе молекула межклеточной адгезии I типа (ICAM-1, от англ. intercellular adhesion molecula-1) и 2 типа (ICAM-2), молекула адгезии сосудистого эндотелия I типа (VCAM-1, от от англ. vascular cellular adhesion molecula-1) и молекула адгезии ВЭВ лимфоидных образований в слизистых оболочках, названная ранее адрессином I типа – MAdCAM-1 (от от англ. mucosal adressin CAM-1). Экспрессия этих молекул на эндотелии сосудов может быть постоянной или индуцибельной. ICAM-1 имеет пять внеклеточных доменов, из которых два N-концевых структурно гомологичны двум внеклеточным доменам ICAM-2. В составе VCAM-1 шесть внеклеточных доменов; эти же данные присутствуют в структуре MAdCAM-1 (*рис. 5.6*).

В адгезии лейкоцитов к эндотелию и внеклеточному матриксу участвуют интегрины

Интегрины – это обширная группа молекул межклеточной адгезии, которые присутствуют на поверхности различных клеток, в том числе лейкоцитов. Все белки, входящие в это крупное семейство, состоят из двух нековалентно связанных полипептидных цепей (α и β); обе цепи пронизывают клеточную мембрану. Семейство интегри-

Молекулы адгезии эндотелиальных клеток

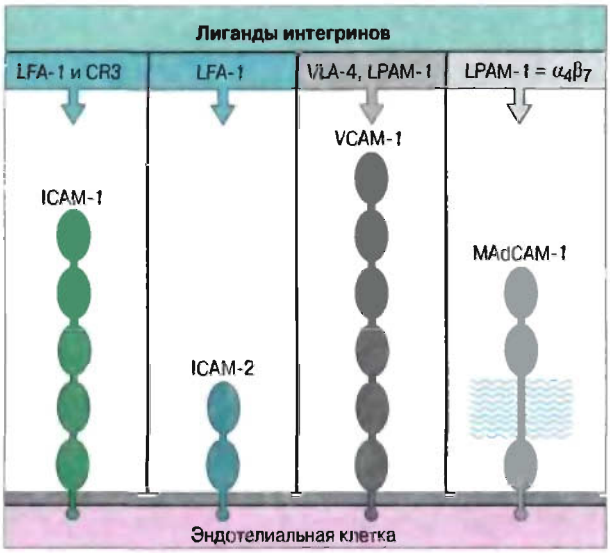


Рис. 5.6
Схематическое изображение эндотелиальных молекул межклеточной адгезии ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 и MAdCAM-1 с Ig-подобными доменами. Их лиганды, входящие в семейство интегринов, приведены в верхней части рисунка. В структуре MAdCAM-1 имеется также обильно гликозилированный сегмент, который связывает L-селектин.

нов делят на три основные подсемейства по типу β-цепи (β_1, β_2 или β_3). Тип α-цепи, соединенной с β-цепью, оказался не так важен для функциональной активности, как предполагали первоначально. В основном β_1-интегрины участвуют в связывании клеток со структурами внеклеточного матрикса, β_2-интегрины – в адгезии лейкоцитов к эндотелию или другим клеткам иммунной системы, а β_3-интегрины (цитоадгезины) – в слипании тромбоцитов с нейтрофилами в очагах воспаления или местах повреждения сосудов. Из этой простой схемы имеется, однако, несколько исключений и, кроме того, описаны дополнительные β-цепи (например, β_7). Каждая β-цепь может ассоциировать с одной из различных α-цепей, в результате чего образуются разнообразные молекулы адгезии. Способность интегринов связываться со своими лигандами зависит от двухвалентных катионов. Например, LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$-интегрин) в норме экспрессирован на лейкоцитах в низкоаффинном состоянии, но при повышении концентрации Mg^{2+} становится высокоаффинным. При повышении концентрации Ca^{2+} интегрины на поверхности клеток перераспределяются, формируя высокоавидные «пятна». Некоторые интегрины, важные для миграции, указаны на *рис. 5.7*.

Селектины – группа лейкоцитарных и эндотелиальных молекул межклеточной адгезии, которые связываются с углеводами

Группа селектинов включает Е-селектин, Р-селектин и L-селектин, экспрессируемые на эндотелии, тромбоцитах и некоторых типах лейкоцитов соответственно (*рис. 5.8*). Молекулы селектинов пронизывают мембрану и имеют ряд внеклеточных доменов, гомологичных доменам регуляторных белков комплемента, например фактору Н.

Интегрины



Интегрин	Лиганды интегрина	Экспрессия на клетках
VLA-1 $\alpha_1\beta_1$	?	Т-клетки, фибробласты
VLA-2 $\alpha_2\beta_1$	Коллаген	Активированные Т-клетки, тромбоциты
VLA-3 $\alpha_3\beta_1$	Ламинин, коллаген, фибронектин	Почка, щитовидная железа
VLA-4 $\alpha_4\beta_1$	VCAM-1,фибронектин	Лимфоциты, некоторые типы фагоцитов
VLA-5 $\alpha_5\beta_1$	Фибронектин	Некоторые типы лейкоцитов, тромбоциты
VLA-6 $\alpha_6\beta_1$	Ламинин	Многие типы клеток
LPAM-1 $\alpha_4\beta_7$	MAdCAM-1 (VCAM-1)	Некоторые субпопуляции Т-клеток
LFA-1 $\alpha_L\beta_2$	ICAM-1, ICAM-2 (ICAM-3)	Большинство типов лейкоцитов
CR3 $\alpha_M\beta_2$	C3b, C4b, ICAM-1	Мононуклеарные фагоциты, нейтрофилы
CR4 $\alpha_X\beta_2$	C3b, C4b, ICAM-1 ?	Макрофаги

Рис. 5.7
Вверху схематически изображена молекула интегрина, состоящая из двух нековалентно связанных полипептидных цепей. В таблице указаны свойства некоторых интегринов, опосредующих связывание (прилипание) лейкоцитов с сосудистым эндотелием или внеклеточным матриксом.

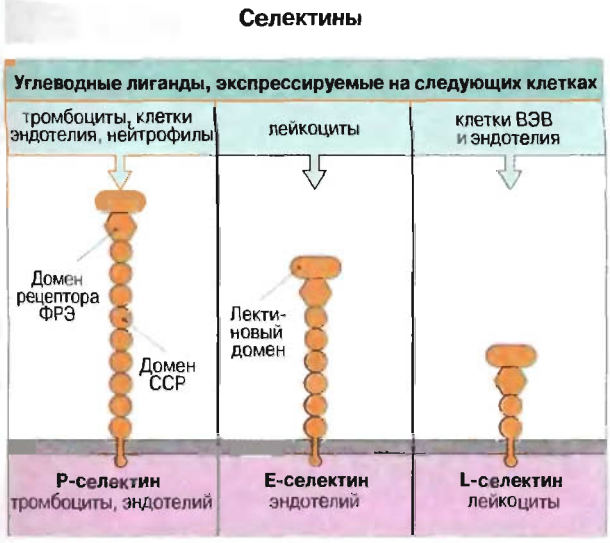


Рис. 5.8
Строение трех селектинов. Концевой лектиновый домен каждого из них связывается с углеводными лигандами клеток, указанных вверху. Селектины имеют также и другие общие структурные характеристики.

Внеклеточная часть их молекул содержит также домен, близкий по структуре рецептору для фактора роста эпидермиса (ФРЭ), и N-концевой домен, обладающий лектиноподобными свойствами, т. е. связывающий углеводные остатки (отсюда название «селектины»). Соответственно этому в состав лигандов, с которыми связываются селектины, входят углеводы.

Лиганды селектинов – это углеводные компоненты различных гликопротеинов лимфоцитарной и эндотелиальной поверхности

Углеводные лиганды для селектинов встречаются в структуре разнообразных белков. Так, многочисленные O-связанные углеводные остатки, которые служат лигандами для лимфоцитарного L-селектина, содержит гликопротеин Sgp-200, экспрессируемый на эндотелии ВЭВ. (Вследствие связывания L-селектина с этими углеводными остатками лимфоциты из кровотока направляются в периферические лимфоузлы.) L-селектины могут также связываться с углеводами в составе MAdCAM-1, который экспрессирован на эндотелии ВЭВ лимфоидных образований в слизистых оболочках. Эти гликопротеины, названные в соответствии с их функцией сосудистыми адрессинами, присутствуют главным образом на клетках ВЭВ в лимфоидных тканях, но могут быть индуцированы при хроническом воспалении и в других участках организма (*рис. 5.9*).

E- и P-селектины, экспрессируемые на активированных эндотелиоцитах, связываются с сиалированной формой углеводной детерминанты Le^x (групповой антиген крови системы Льюис – Lewis-X), ассоциированной с белком CD15, который присутствует на лейкоцитах многих субпопуляций. В результате этого связывания движение лейкоцитов с током крови прекращается и наступает первая фаза миграции (*рис. 5.10*).

МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ МИГРАЦИИ

Выход лейкоцитов из сосудистого русла через эндотелий происходит в несколько этапов (первые три из них показаны на *рис. 5.10*).

- **Краевое стояние:** движение лейкоцитов по венуле замедляется и они катятся по эндотелию. Это обусловлено в основном взаимодействием селектинов с углеводными лигандами.
- **Активация:** остановленные лейкоциты подвергаются воздействию цитокинов, хемотаксических агентов, компонентов поверхности эндотелия и внеклеточного матрикса. Эти факторы

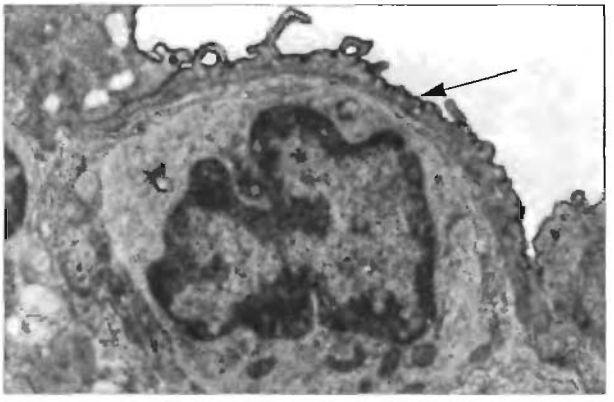


Рис. 5.9
Адрессины слизистых оболочек на поверхности эндотелия. Электронная микрофотография среза мозга при хроническом экспериментальном рецидивирующем аллергическом энцефаломиелите у мышей линии Biozzi AB/H, вызванном иммунизацией основным белком миелина. Срез окрашен для выявления MAdCAM-1 (темная кайма, указанная стрелкой), экспрессированного на поверхности эндотелия в просвете мозгового сосуда. (Фото любезно предоставлено д-ром J.K. O'Neill и д-ром C. Butter с разрешения издательства; *Immunology*, 1991; **72**: 520–525.)

Трехфазная модель адгезии лейкоцитов к эндотелию

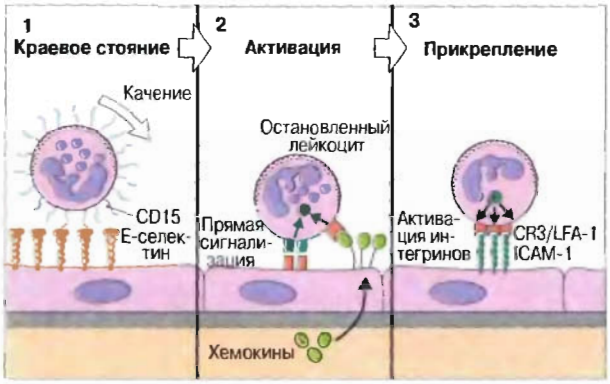


Рис. 5.10
Три фазы адгезии лейкоцитов на примере нейтрофила (у лейкоцитов других типов и в иных ситуациях действуют другие наборы молекул межклеточной адгезии). **1.** Краевое стояние: связывание лейкоцитарного CD15 с E-селектином приводит к замедлению и к постепенной остановке нейтрофила, когда он катится по эндотелию. **2.** Активация: задержанный нейтрофил активируется, непосредственно взаимодействуя с компонентами поверхности клеток эндотелия или с хемокинами и другими хемотаксическими молекулами, присутствующими на эндотелии. **3.** Прикрепление: активация мобилизует лейкоцитарные интегрины (CR3 и LFA-1) для связывания с ICAM-1, экспрессия которой на поверхности эндотелия индуцируется при активации.

способны активировать клетку и включить программу ее миграции.

- В результате **прикрепления лейкоцитов и мобилизации интегринов** повышается аффинность лейкоцитарных интегринов, которые взаимодействуют с эндотелиальными молекулами межклеточной адгезии и активируют клетку для миграции.
- **Миграция:** при участии нового набора молекул адгезии лейкоциты связываются с базальной мембраной эндотелия и проникают сквозь нее.
- **Лизис:** мигрирующие клетки выделяют ферменты, лизирующие коллаген и другие компоненты базальной мембраны эндотелия; это позволяет лейкоцитам проникнуть в ткань.

Молекулы межклеточной адгезии регулируют прилипание лейкоцитов и прохождение их через эндотелий

Для каждого типа перемещения клеток характерно участие специфического набора молекул адгезии и хемотаксических агентов.

Миграция лейкоцитов к очагу воспаления Нейтрофилы появляются в очаге острого воспаления на его ранней стадии, и отчасти это обусловлено индукцией цитокинами экспрессии E-селектина на поверхности эндотелия в этой области. Стимуляция клеток эндотелия in vitro такими цитокинами, как, например, фактор некроза опухолей α (ФНОα) или интерлейкин 1 (ИЛ-1) индуцирует экспрессию E-селектина спустя 4–12 ч, а через 24 ч она прекращается (*рис. 5.11*); аналогичным образом in vivo эта молекула межклеточной адгезии появляется на ранней стадии воспалительной реакции. Клетки, трансфицированные геном E-селектина, экспрессируют его в значительном количестве, приобретая при этом выраженную способность связывать нейтрофилы. Все эти данные указывают, что остановка нейтрофилов при участии E-селектина – это первая необходимая стадия их миграции.

Важную роль в миграции нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов выполняют также экспрессируемые на лейкоцитах β_2-интегрины LFA-1 и CR3, которые связываются с эндотелиальными молекулами межклеточной адгезии из суперсемейства иммуноглобулинов. Так, LFA-1 связывается с ICAM-1 и ICAM-2 на эндотелии сосудов. В

Экспрессия и индукция молекул адгезии на эндотелии

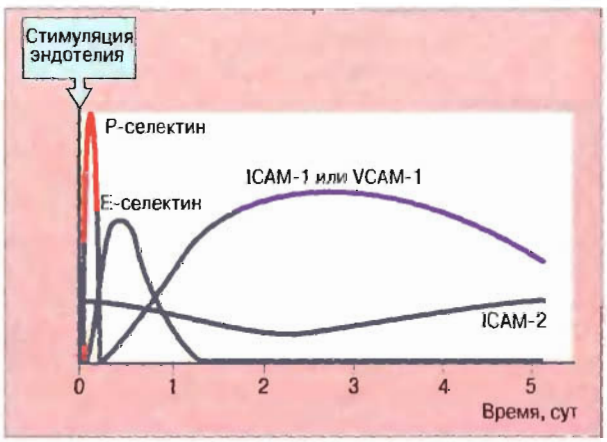


Рис. 5.11
Динамика экспрессии различных молекул межклеточной адгезии на клетках эндотелия пупочной вены человека после стимуляции ФНОα in vitro.

культуре клетки эндотелия конститутивно синтезируют ICAM-2; в связи с этим высказано предположение, что именно данный белок определяет фоновый уровень связывания лимфоцитов с эндотелием различных типов in vivo. Например, уровень экспрессии ICAM-2 на эндотелии мозговых сосудов в норме относительно низок и этому соответствует весьма незначительная трансэндотелиальная миграция лимфоцитов. Напротив, экспрессия ICAM-1, в норме низкая на поверхности эндотелия, может быть резко повышена цитокинами (ФНОα, ИЛ-1 или ИФγ, в зависимости от вида животных). В условиях in vitro индуцированная экспрессия ICAM-1 наблюдается в период 8–96 ч после стимуляции (рис. 5.11), что соответствует более позднему прибытию в очаг воспаления in vivo лимфоцитов и моноцитов. Роль CR3 в привлечении фагоцитов показали опыты in vivo с использованием антител анти-CR3, которые, как было при этом установлено, подавляют миграцию данных клеток. У больных с дефицитом лейкоцитарной адгезии, подверженных в результате слабого накопления фагоцитов тяжелым инфекционным заболеваниям, отмечена недостаточность всех β_2-интегринов (LFA-1, CR3, CR4). Следует отметить, что CR3 и LFA-1 связываются с разными участками ICAM-1.

Экспрессия VCAM-1, как и ICAM-1, индуцируется в области воспаления, причем in vitro индукция этих двух молекул происходит синхронно (*рис. 5.11*). (VCAM-1 связывается с интегрином $\alpha_4\beta_1$, который экспрессируют лимфоциты некоторых субпопуляций, а также опосредует избирательную адгезию базофилов и эозинофилов, играя тем самым важную роль в аллергических реакциях.) Вместе с тем механизмы индукции E-селектина, ICAM-1 и VCAM-1 у разных популяций лимфоцитов и клеток эндотелия на различных участках сосудистого русла тонко различаются. Это обеспечивает точную настройку миграции лейкоцитов сквозь эндотелий при воспалении и последовательное прибытие в очаг различных клеточных популяций. Прилипание лимфоцитов к эндотелию можно подавить антителами к молекулам межклеточной адгезии лимфоцитов или эндотелия либо растворимыми препаратами самих этих молекул. Именно на таком подходе основан новый способ лечения болезней иммунологического патогенеза.

Нормальная миграция лейкоцитов Описанные выше молекулы, регулирующие миграцию клеток в область воспаления, необходимо отличать от молекул, ответственных за нормальную миграцию лимфоцитов. Непримированные лимфоциты экспрессируют L-селектин, обеспечивающий связывание с углеводными лигандами на эндотелии ВЭВ (и принимающий участие в прилипании к эндотелию) в лимфоидных образованиях слизистых оболочек и в периферических лимфоузлах. Останавливаясь, например, в пейеровой бляшке, они могут связываться при участии интегрина $\alpha_4\beta_7$ с MAdCAM-1 на поверхности эндотелия. Поскольку интегрин $\alpha_4\beta_7$ обеспечивает миграцию лимфоцитов в лимфоидную ткань слизистых оболочек, а интегрин $\alpha_4\beta_1$ – связывание с VCAM-1 на активированном эндотелии или с фибронектином во внеклеточном матриксе, экспрессия той или другой из этих молекул означает различное направление миграции – непримированных лимфоцитов в нормальную лимфоидную ткань или активированных Т-клеток в очаг воспаления.

Взаимодействие лейкоцитов с внеклеточным матриксом Пройдя сквозь эндотелий сосуда и проникнув в ткань, лейкоциты неминуемо должны взаимодействовать с белками внеклеточного матрикса (коллаген, ламинин, фибронектин и др.), а также с клетками ткани. Покинувшие кровеносный сосуд лимфоциты сразу теряют в результате энзиматического расщепления уже ненужный им L-селектин. Происходит смена функционального фенотипа: циркулировавшая клетка становится приспособленной к перемещению в тканях.

Многие из молекул лейкоцитарной поверхности, обеспечивающих взаимодействие с внеклеточным матриксом, входят в группу β_1-интегринов; они названы «очень поздними антигенами» (very late antigens, VLA), поскольку впервые были идентифицированы на поверхности Т-клеток в поздней стадии активации. Теперь все β_1-интегрины называют VLA, хотя большинство их присутствует не только на лимфоцитах. Эта группа включает рецепторы для коллагена (VLA-2 и VLA-3), ламинина (VLA-3 и VLA-6) и фибронектина (VLA-3, VLA-4 и VLA-5). Сам факт появления некоторых из этих молекул, означающий отдаленный результат активации лимфоцитов, свидетельствует о выполнении клетками некой про-

граммы дифференцировки, в которой взаимодействие с внеклеточным матриксом – это один из наиболее поздних этапов.

Хемотаксические молекулы стимулируют лейкоциты к миграции и определяют ее направление

Интегрины, с помощью которых лейкоциты проникают сквозь эндотелий, присутствуют на клеточной поверхности или, прежде чем попасть на нее, сохраняются во внутриклеточных гранулах; при этом большинство из них неактивно и для функционирования нуждается в исходящем от эндотелия сигнале активации. Сигнальные молекулы могут быть продуктами самого эндотелия или осевшими на нем пептидами, которые выделяет подлежащая ткань. Многие из сигнальных молекул обладают также хемотаксическими свойствами; в том числе это C5a, лейкотриен-B_4 и разнообразные низкомолекулярные цитокины, получившие общее название «хемокины» (*рис. 5.12*).

Хемотаксическую активность клеток следует отличать от хемокинетической: хемотаксис – это направленная миграция клеток по градиенту концентрации хемотаксических молекул, а хемокинез – беспорядочное перемещение клеток. В основе направленной миграции лежит способность клетки отвечать на градиент концентрации хемотаксического медиатора при величине этого градиента между ее ведущим и концевым полюсами не менее 0,1% . Хемокинез связан с усилением общей подвижности клеток под действием того или иного медиатора, например гистамина.

Хемокины Это группа хемотаксических гепарин-связывающих молекул, в которую входят не менее 25 низкомолекулярных цитокинов, в частности ИЛ-8 и RANTES [1]. Хемокины высвобождаются в очаге воспаления и могут связываться на поверхности эндотелия, взаимодействуя с сульфатными группами присутствующего на нем гепарина. Многие из этих цитокинов связывает также антиген DARC – групповой антиген крови системы Даффи, избирательно экспрессируемый

Хемотаксические молекулы

Фактор	Характеристика	Источник	Действие на
C5a	Пептид из 77 аминокислотных остатков	N-концевой фрагмент α-цепи C5	Нейтрофилы, эозинофилы, макрофаги
Формил-Мет-Лей-Фен (f.Met-Leu-Phe)	Трипептид с N-концом, блокированным метионином	Прокариоты	
Лейкотриен B_4	Продукт метаболизирования арахидоновой кислоты по липоксигеназному пути	Тучные клетки, базофилы, макрофаги	
Хемокины (ИЛ-8, MIP-α, MIP-1β, RANTES и др.)	Белки 10 кДа	Различные популяции лейкоцитов	Избирательное привлечение разных популяций лейкоцитов

Рис. 5.12
Молекулы, вызывающие хемотаксис разных популяций лейкоцитов в зависимости от экспрессии на их поверхности специфических рецепторов. Некоторые из этих хемокинов оказывают на клетки хемотаксическое действие, другие – только активирующее.

на эндотелии венул. Связанные с поверхностью эндотелия хемокины могут вызывать повышение авидности интегринов на лейкоцитах в фазе «краевого стояния», остановленных при участии селектинов. Большинство хемокинов синтезируется лейкоцитами, однако ИЛ-8 и хемотаксический для макрофагов белок 1 (MCP-1, от англ. macrophage chemotactic protein-1) продуцирует, например, культура клеток эндотелия, причем активация этих клеток цитокинами, способствующими развитию воспаления, усиливает синтез. Хемокины и другие хемотаксические молекулы, рассматриваемые ниже, воздействуют на клетки посредством «змеевидных» рецепторов, обладающих семью трансмембранными сегментами. Различные змеевидные рецепторы (разной специфичности) избирательно распределены среди отдельных популяций лейкоцитов, чем отчасти можно объяснить избирательность действия различных хемокинов, например тот факт, что макрофагальный воспалительный белок 1β (MIP-1β) стимулирует исключительно Т-клетки $CD8^+$. Некоторые хемокины только активируют клетки, другие проявляют в первую очередь хемотаксические свойства, третьи сочетают обе функции. С чем связана необходимость в таком разнообразии хемокинов, неясно, но можно предполагать, что за счет этого разнообразия возможна избиратель-

[1] RANTES – Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted – хемокин, выделяемый неиммунными Т-клетками при активации; мол. масса 7,8–8,7 кДа; хемоаттрактант для моноцитов и Т-клеток $CD4^+/CD45RO^+$. – *Прим. перев.*

ная регуляция перемещения лейкоцитов как у поверхности эндотелия, так и в тканях.

Другие хемотаксические молекулы Ряд белков вызывает хемотаксис нейтрофилов и макрофагов (*рис. 5.12*). Эти клетки имеют рецепторы для пептидов, блокированных на N-конце формилметионином, в частности рецептор, связывающий трипептид f.Met-Leu-Phe (f.MLP). Поскольку при трансляции всех белков у прокариот в отличие от эукариот инициаторной аминокислотой служит метионин, он и выполняет роль простого специфического сигнала присутствия бактерий, по направлению к которым должны устремиться фагоциты. Нейтрофилы и макрофаги имеют также рецепторы для C5a и лейкотриена B_4. Оба эти хемоаттрактанта образуются в очаге воспаления: C5a – в результате активации комплемента, лейкотриен LTB_4 – при активации разнообразных клеток, чаще всего макрофагов и тучных. Кроме того, хемотаксис фагоцитов вызывают молекулы, образуемые системой свертывания крови, прежде всего фибриновый пептид B и тромбин.

Клетки, прибывшие в очаг воспаления первыми, способны в результате активации вызвать следующую волну лейкоцитарной миграции. Так, активированные моноциты выделяют ИЛ-8, который может вызвать хемотаксис нейтрофилов и базофилов. Подобно этому, активация макрофагов приводит к метаболизированию арахидоновой кислоты с образованием и выделением лейкотриена B_4.

ВОСПАЛЕНИЕ

Воспаление – это реакция организма на внедрение инфицирующего агента, введение антигена или физическое повреждение тканей. Помимо усиления клеточной миграции, описанного выше, воспаление вызывает приток различных растворимых молекул из плазмы крови. В противоположность лейкоцитам, которые мигрируют через эндотелий венул, молекулы плазмы крови попадают в воспалительный экссудат главным образом из капилляров, где кровяное давление выше. Этот процесс обеспечивается двумя механизмами:

- усилением кровенаполнения капилляров в области воспаления и
- увеличением проницаемости капилляров.

Проницаемость капилляров повышается вследствие втягивания (ретракции) клеток эндотелия и, возможно, также усиления транспорта везикул сквозь эндотелий. Это обеспечивает поступление в очаг воспаления более крупных молекул, чем

Медиаторы воспаления

Медиатор	Происхождение	Эффекты
Гистамин	Тучные клетки, базофилы	Повышение проницаемости сосудов, сокращение гладких мышц, хемокинез
5-гидрокси-триптамин (серотонин)	Тромбоциты, тучные клетки (у грызунов)	Повышение проницаемости сосудов, сокращение гладких мышц
Фактор активации тромбоцитов	Базофилы, нейтрофилы, макрофаги	Высвобождение медиаторов из тромбоцитов, повышение проницаемости сосудов, сокращение гладких мышц, активация нейтрофилов
Хемотаксический фактор для нейтрофилов	Тучные клетки	Хемотаксис нейтрофилов
ИЛ-8	Моноциты и лимфоциты	Привлечение полиморфноядерных гранулоцитов и моноцитов
C3a	C3 (компонент комплемента)	Дегрануляция тучных клеток, сокращение гладких мышц
C5a	C5 (компонент комплемента)	Дегрануляция тучных клеток, хемотаксис нейтрофилов и макрофагов, активация нейтрофилов, сокращение гладких мышц, повышение проницаемости капилляров
Брадикинин	Кининовая система (кининоген)	Расширение сосудов, сокращение гладких мышц, повышение проницаемости капилляров, боль
Фибринопептиды и продукты распада фибрина	Система свертывания крови	Повышение проницаемости сосудов, хемотаксис нейтрофилов и макрофагов
Простагландин E_2 ($ПГЕ_2$)	Циклооксигеназный путь метаболизма арахидоновой кислоты в тучных клетках	Расширение сосудов, усиление повышенной гистамином и брадикинином проницаемости сосудов
Лейкотриен B_4	Липоксигеназный путь метаболизма арахидоновой кислоты в тучных клетках	Хемотаксис нейтрофилов, синергичное с $ПГЕ_2$ действие, повышающее проницаемость сосудов
Лейкотриен D_4	Липоксигеназный путь метаболизма арахидоновой кислоты	Сокращение гладких мышц, повышение проницаемости сосудов

Рис. 5.13
Основные медиаторы воспаления, регулирующие кровенаполнение и проницаемость сосудов или миграцию лейкоцитов.

те, которые обычно могут проникать сквозь эпителий. Таким образом в очаг воспаления поступают антитела, компоненты комплемента и другие ферментные системы плазмы крови.

Воспаление регулируется хемокинами, ферментными системами плазмы, цитокинами, а также продуктами метаболизма тучных клеток, тромбоцитов и лейкоцитов

Развитие воспалительного процесса происходит при участии 1) хемокинов, 2) продуктов активации ферментных систем плазмы и 3) вазоактивных медиаторов, выделяемых лейкоцитами (*рис. 5.13*). Воспалительные реакции разного типа регулируются различными медиаторами. Немедленный ответ зависит от быстродействующих вазоактивных аминов и продуктов кининовой системы (см. ниже). Позднее привлечение и активация лейкоцитов происходят под действием вновь синтезированных медиаторов, таких как лейкотриены.

Достигая очага инфекции или воспаления, лейкоциты ранней волны миграции выделяют медиаторы, которые обеспечивают дальнейшее накопление и активацию клеток. Однако роль главного регулятора воспалительных реакций, инициированных иммунной системой, как и иммунного ответа вообще, принадлежит самому антигену. Поэтому очаг хронической инфекции или аутоиммунных реакций (где антиген не удается устранить окончательно) существенно отличается по клеточному составу инфильтрата от очагов воспаления, быстро освобождаемых от антигена.

Ферментные системы плазмы Существенная роль в гемостазе и регуляции воспаления принадлежит четырем главным ферментным системам плазмы крови: системе свертывания, системе фибринолиза (плазминовая система), системе кининов и системе комплемента. Система комплемента опосредует многообразные взаимодействия между иммунным ответом и воспалением (см. гл. 4). К кининовой системе относятся медиаторы брадикинин и лизилбрадикинин (каллидин). Брадикинин – это функционально весьма сильный вазоактивный нонапептид, вызывающий увеличение просвета венул и сосудистой проницаемости, а также сокращение гладких мышц. Он образуется в результате активации фактора Хагемана (XII), относящегося к системе

Иммунный ответ при остром воспалении

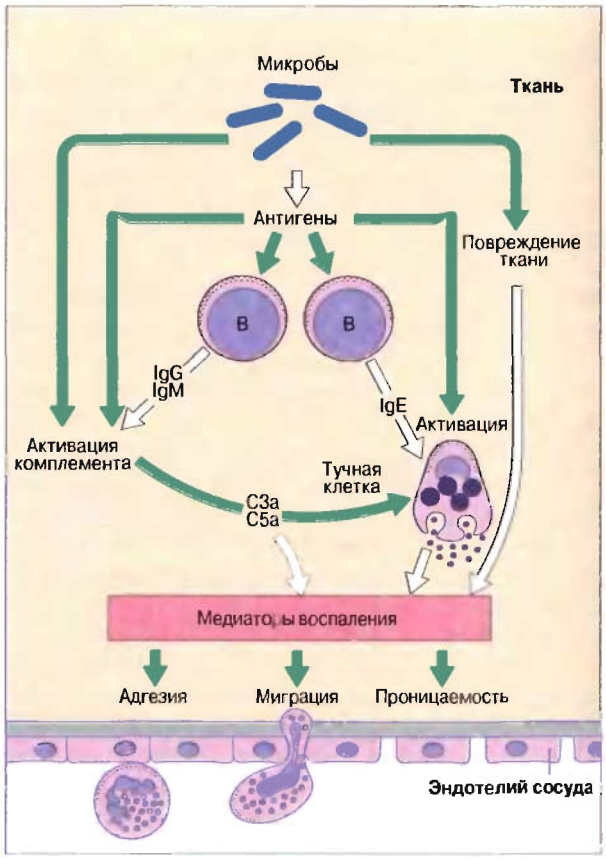


Рис. 5.14
Приобретенный иммунитет влияет на воспалительные процессы через систему комплемента. Антигены (например, микробного происхождения) стимулируют В-клетки для продукции антител, в том числе IgE, связывающихся с тучными клетками, а также IgG и IgM, активирующих комплемент. Кроме того, комплемент может активироваться и без участия антител (в частности, микробами) по альтернативному пути. Сенсибилизированные антителами тучные клетки, встретившись с антигеном, выделяют из своих гранул медиаторы и эйкозаноиды (продукты метаболизма арахидоновой кислоты, такие как простагландины и лейкотриены). Вместе с комплементом (который непосредственно своими субкомпонентами C3a и C5a может вызывать дегрануляцию тучных клеток) эти медиаторы индуцируют ограниченный очаг воспаления, способствуя накоплению в нем лейкоцитов и продуктов активации ферментных систем плазмы.

свертывания крови, тогда как для образования каллидина необходимы активация плазминовой системы или участие ферментов, выделяемых поврежденными тканями.

Вспомогательные клетки воспаления К ним относятся тучные клетки, базофилы и тромбоциты; все эти клетки служат важным источником вазоактивных медиаторов – гистамина и 5-гидрокситриптамина (серотонина), вызывающих вазодилатацию и увеличение проницаемости сосудов. Многие из провоспалительных эффектов C3a и C5a обусловлены их способностью вызывать высвобождение содержимого гранул из тучных клеток. Об этом свидетельствует факт подавления данных эффектов антигистаминными препаратами. Кроме того, тучные клетки и базофилы могут стать непосредственной причиной воспаления, вызванного специфическим иммунным ответом, так как IgE сенсибилизирует их для дегрануляции при встрече с антигеном. Взаимодействие между механизмами приобретенного иммунитета и воспаления схематично представлено на *рис. 5.14*. Тучные клетки служат также важным источником медленнореагирующих медиаторов воспаления, в том числе лейкотриенов, простагландинов и тромбоксанов (см. гл. 23). Тромбоциты, как и тучные клетки, могут быть активированы продуктами иммунной системы – иммунными комплексами или фактором активации тромбоцитов, выделяемым нейтрофилами, базофилами и макрофагами. Предполагается, что этот механизм важен в реакциях гиперчувствительности II и III типов.

Цитокины Подобно другим медиаторам, цитокины служат для межклеточной сигнализации при развитии воспалительного процесса. На его начальных стадиях местные тканевые клетки могут выделять такие цитокины, как ИЛ-1 и ИЛ-6. Как только в очаге воспаления появляются лимфоциты и мононуклеарные фагоциты, они могут, активируясь под действием антигена, выделять свои собственные цитокины (ИЛ-1, ФНО, ИЛ-4, ИФγ), которые, воздействуя на эндотелий местных сосудов, дополнительно усиливают клеточную миграцию. Другие цитокины, например ИЛ-8, могут оказывать хемотаксическое или активирующее действие на прибывающие клетки.

Вопросы для размышления

- Если бы вы смогли удалить из генома лабораторной мыши ген, кодирующий VCAM-1, какое действие это оказало бы на миграцию лимфоцитов и нейтрофилов?
- Если в пластырную основу добавить очищенный C5a, как это повлияет на циркуляцию лейкоцитов, кровоток и сосудистую проницаемость в месте наложения такого пластыря? Каков будет механизм вызванных эффектов?
- Лекарственное средство индометацин подавляет образование простагландинов и лейкотриенов. Какое, по-вашему, действие оно оказывает на воспалительный процесс и за счет какого механизма?
- Вы исследуете процессы хронического отторжения почечных аллотрансплантатов. Какие из следующих молекул адгезии целесообразно выявлять на клетках эндотелия: P-селектин, E-селектин, VLA-4, ICAM-1, ICAM-2, LFA-1, MAdCAM-1, и почему?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Baggiolini M., Dewald P., Moser B. 1977. Human chemokines: an update. *Annu. Rev. Immunol.* **15**: 675–705.

Davies P., Bailey P.J., Goldenberg M.M. et al. 1984. The role of arachidonic acid oxygenation products in pain and inflammation. *Annu. Rev. Immunol.* **2**: 335–358.

Ebnet K., Kaldjian E.P., Anderson A.O. et al. 1996. Orchestrated information transfer underlying leukocyte endothelial interactions. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 155–177.

Hemler M.E. 1990. VLA proteins in the integrin family: structures, functions and their role on leucocytes. *Annu. Rev. Immunol.* **8**: 365–400.

Hynes R.O. 1992. Integrins: versatility, modulation and signalling in cell adhesioin. *Cell* **69**: 11–25.

Lub M., van Kooyk Y., Figdor C.G. 1996. Ins and outs of LFA-1. *Immunol. Today* **16**: 479–483.

Male D.K. 1996. Cell traffic and inflammation. In: Male D.K., Cooke A., Owen M., Trowsdale J., Champion B.R. (eds). *Advanced Immunology*. 3rd edn. London: Mosby.

Proud D., Kaplan A.P. 1988. Kinin formatiion: mechanism and role in inflammatory disorders. *Annu. Ref. Immunol.* **6**: 49–83.

Shimizu Y., Newman W., Gopal T.V. et al. 1991. Four molecular pathways of T cell adhesion to endothelial cells. Roles of LFA-1, VCAM-1 and ELAM-1 and changes of pathway hierarchy under different activatiion conditions. *J. Cell. Biol.* **113**: 1203–1212.

Springer T.A. 1990. Adhesion receptors in the immune system. *Nature* **346**: 425–434.

Springer T.A. 1994. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leycocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* **76**: 301–314.

Антитела и клеточные рецепторы для них 6

- **Циркулирующие антитела** распознают антиген в крови и в тканевой жидкости.
- У большинства видов млекопитающих **пять классов антител – IgG, IgA, IgM, IgD и IgE.**
- **Основная структурная единица иммуноглобулинов состоит из двух легких и двух тяжелых цепей.** Классы различаются между собой тяжелыми цепями. IgA и IgM – это олигомеры основной четырехцепочечной единицы.
- **Цепи иммуноглобулинов свернуты в несколько глобулярных структур, называемых доменами;** легкие цепи образуют по два домена, тяжелые – четыре или пять в зависимости от класса Ig.
- С помощью протеолитических ферментов можно получать **фрагменты иммуноглобулинов** для исследовательских либо медицинских целей. Папаин расщепляет молекулу IgG на три фрагмента – два антигенсвязывающих (**Fab**) и один **Fc**; пепсин отщепляет крупный **F(ab′)$_2$**-фрагмент, содержащий оба антигенсвязывающих центра.
- **Антигенсвязывающие центры образованы гипервариабельными (V) участками цепей Ig.** В V-доменах любой легкой или тяжелой цепи имеется по три таких участка. Свертывание цепей в домены приводит к тому, что гипервариабельные участки группируются на выступающих частях молекулы, образуя два антигенсвязывающих центра в каждой четырехцепочечной единице.
- **Все антитела несут две функции.** Кроме связывания антигена, они осуществляют одну или несколько **эффекторных функций.** Структурные участки молекулы иммуноглобулина, ответственные за эффекторную активность (например, за активацию комплемента или связывание с клетками), пространственно удалены от антигенсвязывающих центров и находятся главным образом в Fc-области.
- **Рецепторы для иммуноглобулинов** присутствуют на поверхности мононуклеарных лейкоцитов, нейтрофилов, нормальных клеток-киллеров, эозинофилов, базофилов и тучных клеток. Взаимодействуя с Fc-областью иммуноглобулинов разных изотипов, рецепторы стимулируют, например, фагоцитоз, противоопухолевую цитотоксическую активность и дегрануляцию тучных клеток. Большинство Fcγ-рецепторов относится к молекулам иммуноглобулинового суперсемейства и имеет два или три внеклеточных иммуноглобулин-подобных домена.

Основная функция специфического иммунного ответа – это специфическое распознавание чужеродных антигенов. В распознавании участвуют молекулы двух разных типов – иммуноглобулины и Т-клеточные рецепторы антигенов (ТкР) (*рис. 6.1*). Структурное разнообразие этих молекул (см. гл. 8), благодаря которому они способны распознавать множество самых разных антигенов, возникает в результате многочисленных генных рекомбинаций. Т-клеточные рецепторы подробно рассмотрены в гл. 7.

Иммуноглобулины представляют собой группу гликопротеинов, которые содержатся в плазме крови и в тканевой жидкости у всех млекопитающих. Некоторые иммуноглобулиновые молекулы структурно связаны с плазматической мембраной В-клеток и функционируют как антигенспецифичные рецепторы. Другие (антитела) присутствуют в плазме или в лимфе как свободные молекулы. Синтез антител осуществляют В-клетки, но для этого необходим контакт с антигеном и вызванное им созревание В-клеток в антителообразующие клетки (АОК). К АОК относятся, в частности, секретирующие значительные количества антител плазматические клетки (так первоначально гистологи назвали АОК, выявляемые в крови и тканях). Мембраносвязанные иммуноглобулины незрелых В-клеток (предшественников) имеют ту же самую антигенсвязывающую специфичность, что и антитела, образуемые зрелыми АОК.

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ – ОСОБОЕ СЕМЕЙСТВО БЕЛКОВ

У большинства высших млекопитающих обнаружено пять классов иммуноглобулинов – IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, которые различаются по раз-

Молекулы, распознающие антиген (принцип строения)

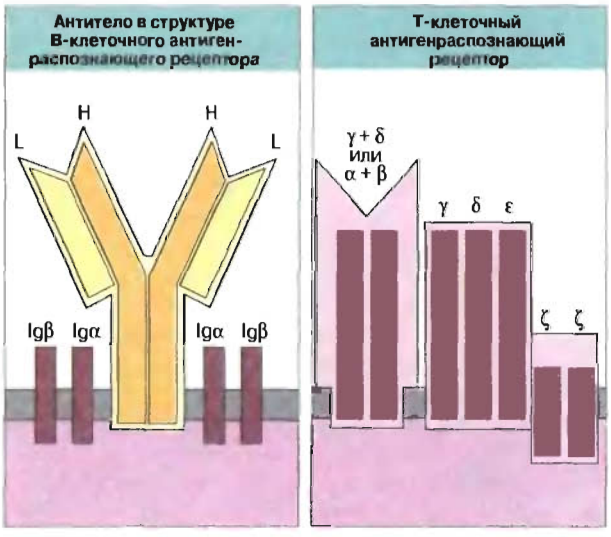


Рис. 6.1
Антигенраспознающие рецепторы Т- и В-клеток происходят, вероятно, от общего филогенетического предшественника и принадлежат к иммуноглобулиновому суперсемейству. Основную часть В-клеточного рецептора образуют две одинаковых тяжелых (H) и две одинаковых легких (L) цепи. С основной частью рецептора непосредственно связаны дополнительные компоненты (Igα и Igβ), по-видимому, соединяющие его с путями внутриклеточной передачи сигнала. Циркулирующие антитела структурно подобны основной части этих В-клеточных рецепторов, но лишены их трансмембранных и внутрицитоплазматических сегментов. Антигенсвязывающий центр Т-клеточного рецептора состоит из одной α-цепи и одной β-цепи (или одной γ- и одной δ-цепи), которые ассоциированы с 4 структурно отличными от них трансмембранными пептидами (γ, δ, ε и ζ).

мерам молекул, заряду, аминокислотному составу и содержанию углеводов.

Помимо различий между классами, существует и весьма значительная гетерогенность в пределах каждого класса. Так, по электрофоретическим свойствам иммуноглобулины настолько разнообразны, что встречаются во всех фракциях нормальной сыворотки, от α до γ (*рис. 6.2*).

Иммуноглобулины – бифункциональные молекулы

Каждый иммуноглобулин выполняет две функции. Одна область его молекулы предназначена для связывания с антигеном, другая осуществляет так называемые эффекторные функции. К ним относится связывание иммуноглобулина с тканями организма, различными клетками иммунной системы, определенными фагоцитарными клетками и первым компонентом комплемента (C1q) при активации этой системы по классическому пути.

Принадлежность иммуноглобулина к определенному классу и подклассу определяется структурой тяжелой цепи

Основная структурная единица иммуноглобулина любого класса состоит из двух одинаковых легких и двух одинаковых тяжелых полипептидных цепей, удерживаемых вместе дисульфидными связями (*рис. 6.3*). От типа тяжелых цепей зависит принадлежность молекулы иммуноглобулина к тому или иному классу и подклассу. Так, у человека четыре подкласса IgG (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) имеют тяжелые цепи соответственно γ1,

Распределение основных изотипов иммуноглобулинов

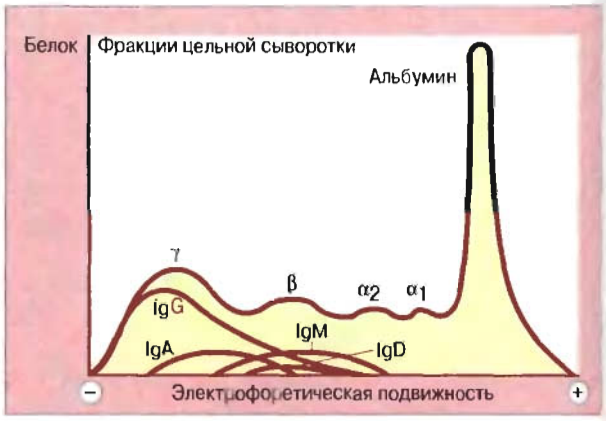


Рис. 6.2
Электрофореграмма сыворотки крови человека, показывающая распределение четырех основных классов иммуноглобулинов. В электрическом поле происходит разделение сывороточных белков соответственно заряду их молекул на фракции α_1, α_2, β и γ в зависимости от подвижности. (IgE по подвижности сходен с IgD, но из-за низкой концентрации в сыворотке не представлен здесь количественно.) Класс IgG наиболее гетерогенен по заряду молекул; другие классы иммуноглобулинов имеют более узкий интервал подвижности, главным образом в β- и «быстрой» γ-области электрофореграммы.

Структура основной четырехцепочечной единицы иммуноглобулиновых молекул

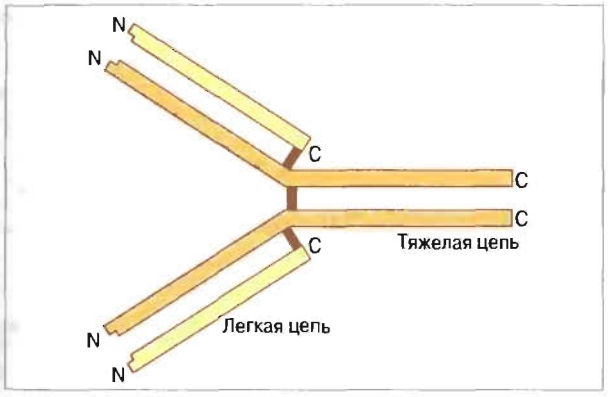


Рис. 6.3
Основная структурная единица иммуноглобулинов состоит из двух одинаковых легких и двух одинаковых тяжелых полипептидных цепей, соединенных вместе дисульфидными связями (красные линии). Обратите внимание на положение аминоконцевых (N) и карбоксиконцевых (C) участков пептидных цепей.

γ2, γ3 и γ4; все они выявляются иммунохимически как γ-цепи, но незначительно отличаются друг от друга.

К 1, 2, 3 и 4 подклассам IgG относится соответственно около 66%, 23%, 7% и 4% общего числа молекул этого класса. Известны также два подкласса IgA (IgA1 и IgA2), но подклассов IgM, IgD и IgE человека пока не обнаружено. Разнообразие классов и подклассов иммуноглобулинов обусловлено изотипической изменчивостью их молекул.

В процессе эволюции подклассы иммуноглобулинов возникли, по-видимому, позже классов. Поэтому подклассы IgG человека очень сильно отличаются от четырех подклассов IgG, идентифицированных у мыши.

У каждого класса иммуноглобулинов свой набор функций

Все иммуноглобулины – это гликопротеины; содержание углеводов в них варьирует от 2–3% у IgG до 12–14% у IgM, IgD и IgE. Физико-химические свойства иммуноглобулинов приведены на *рис. 6.4.*

IgG Это главный изотип Ig нормальной сыворотки человека; на его долю приходится 70–75% общего количества сывороточных иммуноглобулинов. Молекула IgG представляет собой четырех-

Рис. 6.4
Иммуноглобулины каждого класса – IgG, IgM, IgA, IgD и IgE – имеют свой характерный тип тяжелой цепи – γ, μ, α, δ и ε соответственно. Внутри некоторых классов существуют разные варианты тяжелых цепей, определяющие разделение класса на подклассы. Например, пул IgG человека включает четыре подкласса, различия между которыми состоят в строении γ-цепи. Классы (изотипы) иммуноглобулинов различаются по свойствам. Примечательно, что в выделениях организма IgA представлен секреторной формой (sIgA) – димером, соединенным с дополнительной пептидной цепью (она названа секреторным компонентом). Концентрация sIgA в сыворотке крови очень низка, тогда как в кишечном соке может быть весьма значительной.

Физико-химические свойства иммуноглобулинов человека

Свойства	Изотип иммуноглобулина									
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	sIgA	IgD	IgE
Тяжелая цепь	γ_1	γ_2	γ_3	γ_4	μ	α_1	α_2	α_1/α_2	δ	ε
Средняя конц. в сыворотке, мг/мл	9	3	1	0,5	1,5	3,0	0,5	0,05	0,03	0,00005
Коэф. седиментации	7S	7S	7S	7S	19S	7S	7S	11S	7S	8S
Мол. масса ($\times 10^{3}$)	146	146	170	146	970	160	160	385	184	188
Время полужизни, сут	21	20	7	21	10	6	6	?	3	2
Внутрисосудистый пул, %	45	45	45	45	80	42	42	Следы	75	50
Содержание углеводов, %	2-3	2-3	2-3	2-3	12	7-11	7-11	7-11	9-14	12

цепочечный мономер с коэффициентом седиментации 7S и мол. массой 146 кДа. При этом белки IgG3 несколько крупнее белков других подклассов из-за слегка большей по размерам γ3-цепи. Иммуноглобулины класса G равномерно распределены между внутри- и внесосудистым пулами и составляют большинство антител вторичного иммунного ответа, а также основную часть антитоксинов. Кроме того, именно (материнские) IgG обеспечивают невосприимчивость ребенка к инфекциям в первые несколько месяцев жизни. У человека антитела всех подклассов IgG проникают через плаценту в организм плода, создавая напряженный пассивный иммунитет на весь неонатальный период. У млекопитающих тех видов, для которых характерна передача материнского иммуноглобулина потомству только после рождения, например у свиньи, IgG, поступающий с молоком, избирательно проникает из желудочно-кишечного тракта в кровоток новорожденного.

IgM К этому классу относится примерно 10% общего пула иммуноглобулинов сыворотки. Молекула IgM представляет собой пентамер основной четырехцепочечной единицы. Отдельная тяжелая цепь имеет мол. массу ~65 кДа, а вся молекула – 970 кДа. Антитела этого класса содержатся преимущественно во внутрисосудистом пуле иммуноглобулинов и доминируют в качестве «ранних» антител, чаще всего при иммунном ответе на сложные по антигенному составу патогенные микроорганизмы.

IgA Белки этого класса составляют 15–20% общего количества иммуноглобулинов в сыворотке человека, где они более чем на 80% представлены в виде мономера – четырехцепочечной единицы. Однако в сыворотке большинства других млекопитающих IgA присутствует большей частью в полимерной форме, чаще всего как димер четырехцепочечной единицы. IgA – это главный класс иммуноглобулинов серозно-слизистых секретов, таких как слюна, молозиво и молоко, а также отделяемого слизистой оболочки дыхательных и мочеполовых путей.

Секреторные IgA (sIgA) относятся к подклассу IgA1 или IgA2 и представлены в основном димерной формой с коэффициентом седиментации 11S и мол. массой 385 кДа. Они присутствуют в большом количестве в серозно-слизистых секретах, где связаны с другим белком, называемым секреторным компонентом.

IgD Этот класс составляет менее 1% всех иммуноглобулинов плазмы, но обильно представлен на мембране многих В-клеток. Биологическая роль данного класса иммуноглобулинов до конца не известна. Предположительно он участвует в антиген-зависимой дифференцировке лимфоцитов.

IgE Концентрация этого класса иммуноглобулинов в сыворотке исчезающе мала, но он выявляется на поверхностной мембране базофилов и тучных клеток у любого человека. Кроме того, IgE сенсибилизированы клетки слизистых оболочек, в частности носовой полости, бронхов и конъюнктивы. Возможно, IgE имеют существенное значение в антигельминтозном иммунитете, однако в развитых странах с ними чаще всего связан патогенез аллергических заболеваний, например бронхиальной астмы и сенной лихорадки.

СТРОЕНИЕ АНТИТЕЛ

Основная четырехцепочечная структурная единица (мономер) иммуноглобулиновых молекул (*рис. 6.5*) образована полипептидными цепями двух разных типов. Меньшие по размерам (легкие, L – от англ. light) цепи имеют мол. массу 25 кДа и одинаковы у всех классов, тогда как более крупные (тяжелые, H – от англ. heavy) цепи, мол. массой 50–77 кДа, структурно различны у разных классов и подклассов иммуноглобулинов. Полипептидные цепи удерживаются вместе ковалентными и нековалентными связями.

Каждая цепь содержит вариабельную и константную области

У большинства позвоночных легкие цепи существуют в двух различных изотипических формах, обозначенных каппа (κ) и лямбда (λ). В молекуле иммуноглобулина могут объединяться пары легких и тяжелых цепей любого типа, но обе цепи в паре относятся к одному типу.

Как установили Хильшманн, Крейг и др. (1965 г.), легкие цепи состоят из двух различных областей. С-концевая половина (приблизительно 107 аминокислотных остатков) цепи одинакова (константна) у легких цепей всех типов (исключая некоторые аллотипические и изотипические варианты, см. ниже); она названа константной, или CL-областью (от англ. constant light chain). В то же время N-концевая половина этой цепи имеет множество вариантов аминокислот-

Общая схема строения IgG1

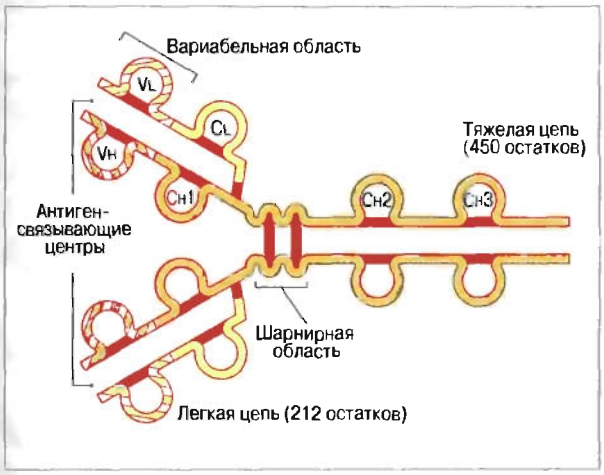


Рис. 6.5
N-концевой последовательности как легких (L), так и тяжелых (H) цепей IgG1 свойственна вариабельность (V), поэтому эти области названы соответственно VL и VH. Остальные части молекулы имеют относительно неизменную (константную – C) структуру. Константная область легкой цепи обозначается CL. Константная область тяжелой цепи подразделяют еще на три структурно обособленные области – CH1, CH2 и CH3. И вариабельные, и константные области легких и тяжелых цепей образуют стабилизированные внутрицепочечными дисульфидными связями (показаны красным цветом) глобулярные структуры, называемые доменами. Антигенсвязывающие центры молекулы иммуноглобулина образованы вариабельными доменами VL и VH. Отрезок тяжелой цепи между доменами CH1 и CH2 называют «шарнирной» областью; она обладает гибкостью, которая позволяет обоим антигенсвязывающим центрам функционировать независимо один от другого. За исключением домена CH2, домены одной тяжелой цепи тесно прилежат к гомологичным (V и C) доменам легкой цепи и к CH3-области другой тяжелой цепи (см. *рис. 6.7*). К CH2-доменам присоединяются углеводные компоненты.

ной последовательности, из-за чего названа вариабельной, или VL-областью (от variable light chain).

Молекулы IgG имеют «типичную» для антител структуру

В качестве «типичного» антитела можно рассматривать молекулу IgG (*рис. 6.5*). В ней имеется две внутрицепочечные дисульфидные связи в каждой легкой цепи — по одной в вариабельной и константной областях (*рис. 6.6*) — и четыре таких связи в каждой тяжелой (γ) цепи, которая вдвое длиннее легкой. Каждая дисульфидная связь замыкает пептидную петлю из 60–70 аминокислотных остатков; при сравнении аминокислотных последовательностей этих петель выявляется удивительно высокая степень их гомологии. В основном поэтому каждая полипептидная цепь иммуноглобулина образует несколько глобулярных доменов с весьма сходной вторичной и третичной структурой. Это иллюстрирует на примере легкой цепи *рис. 6.6*.

Пептидная петля, замкнутая дисульфидной связью, — это центральная часть «домена», в котором всего насчитывается примерно 110 аминокислотных остатков. Как в легких, так и в тяжелых цепях первые от N-конца домены образованы соответственно вариабельными областями VL и VH (*рис. 6.7*). Тяжелые цепи IgG, IgA и IgD имеют еще три домена – CH1, CH2 и CH8, составляющих константную область. В цепях μ и ε непо-

Стереотипная пространственная укладка легкой цепи иммуноглобулинов

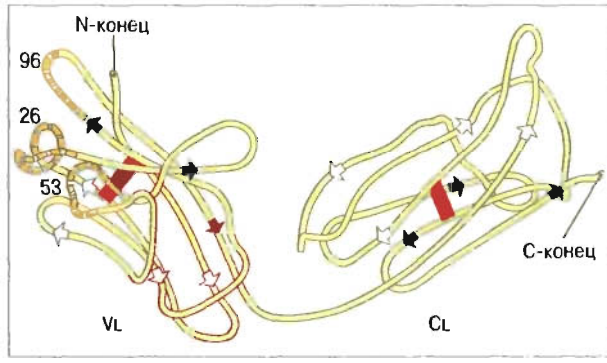


Рис. 6.6
Легкая цепь иммуноглобулина стереотипно свертывается так, что ее прямолинейные полипептидные отрезки формируют два домена – вариабельный и константный, располагаясь в них параллельно продольной оси домена и образуя два слоя со взаимно противоположным направлением аминокислотной последовательности. В пространство между слоями обращены многочисленные гидрофобные боковые цепи аминокислот. Один из слоев в каждом домене сформирован четырьмя отрезками полипептидной цепи (отмечены белыми стрелками), другой – тремя (отмечены черными стрелками); эти два слоя соединены одной дисульфидной связью (красная полоса). Отрезки VL-домена уложены так, что гипервариабельные участки выступают на поверхность тремя отдельными (но пространственно сближенными) петлями. В каждом гипервариабельном участке указан номер позиции одного из аминокислотных остатков.

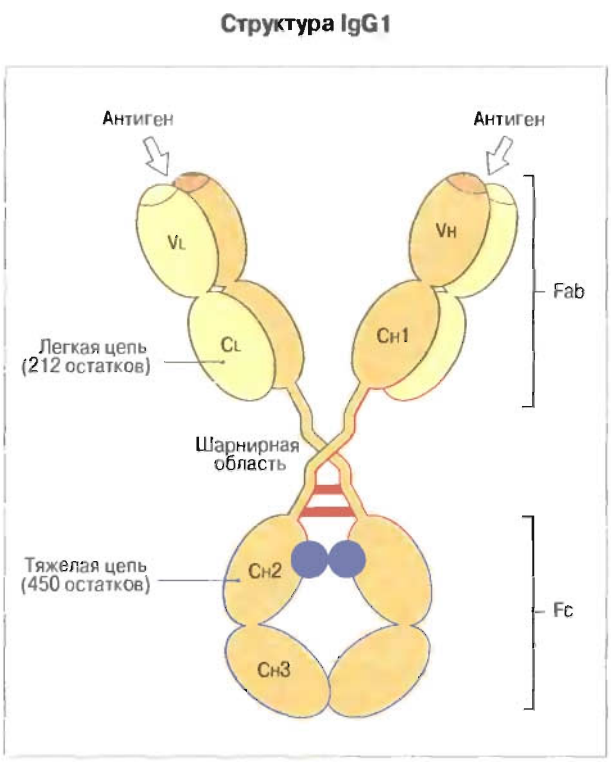


Рис. 6.7
Модель молекулы IgG1 с изображением глобулярных доменов тяжелой (H) и легкой (L) цепей. Обратите внимание на взаимное сближение доменов CH3 и разделение доменов CH2, между которыми расположены углеводные компоненты (показаны синим). На этом рисунке (а также на *рис. 6.10*) дисульфидные связи между H- и L-цепями не показаны.

средственно за CH1 следует один дополнительный домен (см. *рис. 6.10*), поэтому С-концевые домены тяжелых цепей IgM и IgE (обозначаемые Cμ4 и Cε4) гомологичны CH3-домену IgG (Cγ3).

По данным рентгеноструктурного анализа удалось реконструировать α-углеродный скелет и построить компьютерные модели целых молекул IgG (*рис. 6.8*). Модельные IgG имеют вид Y- и T-образных структур, и аналогичные формы IgG выявлены с помощью электронной микроскопии.

В Fab-области молекулы иммуноглобулина гомологичные домены легких и тяжелых цепей располагаются парами (как показано на *рис. 6.7*); Cγ3-домены двух тяжелых цепей также образуют пару, но Cγ2-домены разделены углеводными компонентами.

Несмотря на структурное сходство гомологичных доменов, междоменные взаимодействия в разных парах существенно различаются. Например, вариабельные домены контактируют друг с другом слоями, состоящими из трех сегментов цепи, а константные – слоями из четырех сегментов (схему двуслойной укладки сегментов легкой цепи в двух ее доменах см. на *рис. 6.6*). Модель молекулы IgG1, представленная на *рис. 6.7*, в общем адекватно отражает структуру элементарных единиц в составе иммуноглобулинов всех изотипов, однако каждый класс и подкласс имеет свои характерные отличия в деталях строения.

IgG Четыре подкласса IgG человека лишь слегка различаются по аминокислотной последовательности тяжелых цепей. Этими различиями, отно-

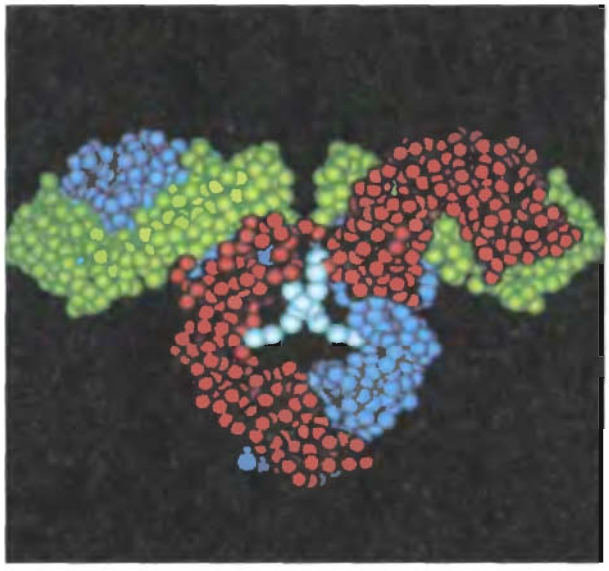


Рис. 6.8
Компьютерная модель IgG1 человека, построенная по данным рентгеноструктурного анализа белка Dob, лишенного шарнирной области. Молекулы белков такого типа не обладают гибкостью, характерной для нормальных молекул IgG человека. Именно жесткость их структуры позволяет получить при анализе более высокое разрешение. Одна тяжелая цепь окрашена синим, другая – красным, а обе легкие цепи – зеленым цветом. Углеводные цепи, присоединяющиеся к полипептидным в Fc-части молекулы, показаны бирюзовым цветом. Согласно этой модели, Cγ2-домены весьма слабо взаимодействуют друг с другом, а Cγ3-домены довольно сильно. (По David R. Davies et al. 1977. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **74**. Компьютерная графика получена с использованием системы, разработанной Richard J. Feldmann (Национальные институты здоровья, США).

Структура IgG3 человека

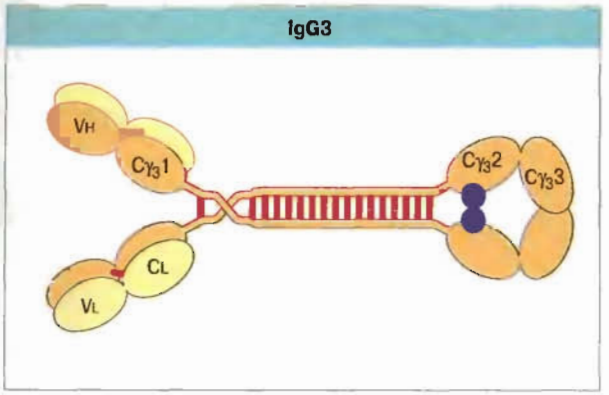


Рис. 6.9
Схематическое изображение молекулы IgG3 человека. Обратите внимание на удлиненную шарнирную область тяжелых цепей.

сящимися в основном к шарнирной области, обусловлены изотипические вариации расположения и числа межцепочечных дисульфидных связей. Из четырех подклассов наиболее выраженной структурной особенностью – удлиненной шарнирной областью – обладает IgG3, чем объясняется его более высокая мол. масса и, отчасти, повышенная биологическая активность (*рис. 6.9*).

IgM У человека IgM обычно обнаруживается в виде пентамера основной четырехцепочечной структурной единицы (*рис. 6.10*). Отличие его μ-цепи от γ-цепей IgG состоит в иной аминокислотной последовательности и наличии дополнительного константного домена с С-концевым пептидом из 18 аминокислотных остатков. Субъединицы пентамера соединены дисульфидными связями между Cμ3-доменами и, вероятно, между С-концевыми пептидами. По данным электронной микроскопии молекула IgM имеет плотно сложенный центр, от которого расходятся пять ветвей.

На микрофотографиях антитела IgM, связавшиеся с бактериальным жгутиком (или с полиовирусным вирионом, как на *рис. 6.11*), видны в «крабовидной» конфигурации. Такая форма молекулы IgM свидетельствует о том, что тяжелые цепи в области между Cμ2 и Cμ3 могут легко изгибаться, хотя по структуре эта область не гомологична шарнирной области IgG. Взаимное расположение разных частей молекулы IgM, принявшей «крабовидную» конфигурацию, по-видимому, связано с активацией ею комплемента.

Молекулу IgM характеризуют еще два свойства: многочисленные присоединенные к μ-цепи олигосахариды и добавочная пептидная J-цепь (от англ. joining – соединение), которая предположительно принимает участие в полимеризации мономерных единиц, предшествующей выходу IgM из синтезирующей его клетки. J-цепь представляет собой полипептид из 137 аминокислотных остатков, образующий домен иммуноглобулинового типа. Каждая молекула IgM содержит только одну J-цепь. Она соединена дисульфидными связями с С-концевыми, состоящими из 18 аминокислотных остатков пептидами тяжелых цепей отдельных мономеров (дисульфидную

Структура IgM человека

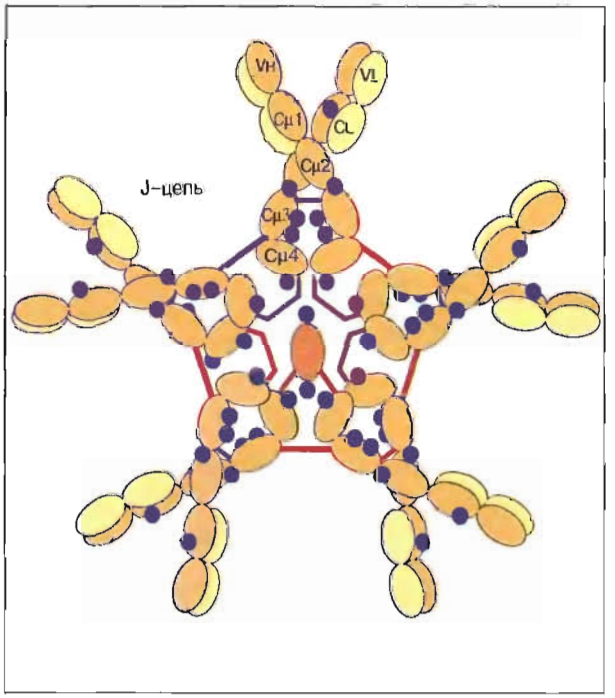


Рис. 6.10
Тяжелые цепи IgM пространственно свертываются с образованием пяти доменов, причем Cμ3- и Cμ4-домен каждой цепи соединен дисульфидной связью с аналогичным доменом соседнего мономера. Показаны также участки присоединения углеводных боковых цепей (синим цветом) и возможное расположение J-цепи. В молекуле IgM нет протяженных шарнирных областей, однако они способны изгибаться в области Cμ2-доменов.

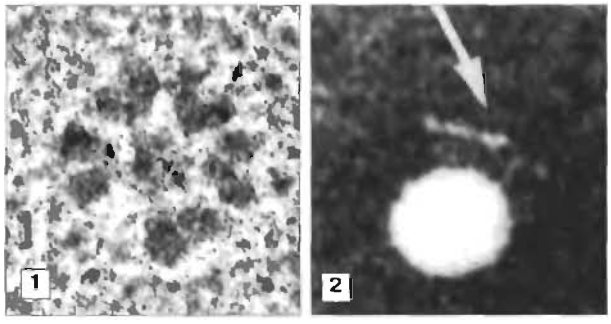


Рис. 6.11
Электронные микрофотографии молекул IgM.
1. Молекула IgM оленя в растворе принимает характерную форму звезды. ×195 000. (Фото любезно предоставлено д-рами E. Holm и Nielson P. Storgaard и проф. S.-E. Svehag.) **2.** Связавшаяся с полиовирусным вирионом молекула IgM кролика (под стрелкой) в «крабовидной» конфигурации; частично видна центральная округлая часть молекулы. × 190 000. (Фото любезно предоставлено д-ром B. Chesebro и проф. S.-E. Svehag.)

связь образует остаток цистеина в предпоследней позиции). Имеется наблюдение, что в клетках, секретирующих IgM преимущественно в форме гексамера, отсутствуют свободные J-цепи.

IgA Состоящая из 472 аминокислотных остатков α-цепь свертывается с образованием четырех доменов: Vн, Cα1, Cα2 и Cα3 (*рис. 6.12*). Аналогично IgM тяжелая цепь IgA содержит дополнительный С-концевой пептид из 18 аминокислотных остатков с остатком цистеина в предпоследней позиции. Этот остаток способен ковалентно взаимодействовать с J-цепью, соединяющей две молекулы с образованием димера. На электронных микрофотографиях димеры IgA выглядят как двойные Y-формы, что свидетельствует о соединении двух мономерных субъединиц конец-в-конец и об участии в этом соединении С-концевых областей Cα3 (*рис. 6.13*).

Секреторный IgA (sIgA) представлен главным образом димерной формой с коэффициентом седиментации 11S (мол. масса 380 кДа). Полностью собранная молекула состоит из двух мономеров IgA, одного секреторного компонента (мол. масса 70 кДа) и одной J-цепи (мол. масса 15 кДа) (*рис. 6.14*). Как все эти пептидные цепи связаны между собой, до конца не ясно. В противоположность J-цепи секреторный компонент синтезируется не в плазматических, а в эпителиальных клетках. Молекулы IgA, удерживаемые в димерной конфигурации J-цепью и секретируемые субэпителиальными плазматическими клетками слизистых оболочек, при прохождении через эпителиальный покров активно связывают секреторный компонент. Он способствует доставке антител sIgA в выделения организма, а также защищает эти антитела от протеолиза.

Преобладающий подкласс IgA, как в сыворотке, так и в выделениях организма (носовой секрет, слюна, слезы, молоко), – это IgA1 (~90% и 70–95% соответственно). Однако в просвете толстой кишки около 60% IgA составляет подкласс IgA2. Многие бактерии в микрофлоре верхних дыхательных путей, приспособленные к условиям обитания, выделяют протеазы, расщепляющие IgA1.

IgD К IgD относится меньше 1% иммуноглобулинов сыворотки. Этот белок гораздо более чувствителен к протеолизу, чем IgG1, IgG2, IgA или IgM и, кроме того, проявляет тенденцию к спон-

Структура IgA1 человека

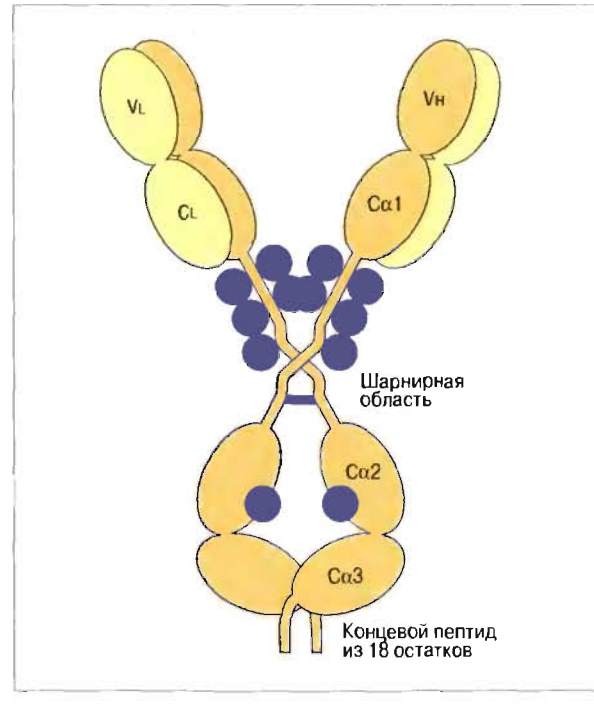


Рис. 6.12
Доменная структура IgA1 и вероятное расположение углеводных цепей (показаны синим). Отмечен «хвостовой» пептид из 18 аминокислотных остатков на С-конце (общий признак с IgM) и шарнирная область.

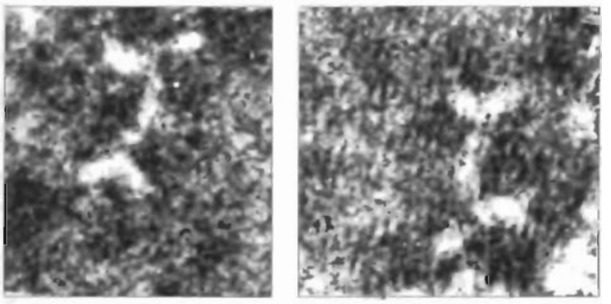


Рис. 6.13
Электронные микрофотографии димерных молекул IgA человека. Сдвоенные Y-формы свидетельствуют о соединении двух мономерных субъединиц конец-в-конец в области Cα3-домена. × 250 000. (Фото любезно предоставлено проф. S.-E. Svehag.)

танному протеолизу. По-видимому, его δ-цепи удерживаются вместе всего одной дисульфидной связью и соединены с большим количеством углеводых (олигосахаридных) цепей (*рис. 6.15*).

IgE Молекула IgE (*рис. 6.16*) состоит из более крупных (по сравнению с другими изотипами) ε-цепей (72,5 кДа), содержащих большее число аминокислотных остатков (приблизительно 550) и образующих пять доменов (Vн, Cε1, Cε2, Cε3, и Cε4).

МЕЖДУ МОЛЕКУЛАМИ АНТИТЕЛ ВОЗМОЖНЫ ИЗОТИПИЧЕСКИЕ, АЛЛОТИПИЧЕСКИЕ И ИДИОТИПИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ В АМИНОКИСЛОТНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Изотипические различия Гены изотипических вариантов антител в норме присутствуют в геноме всех представителей данного вида. Например, в геноме каждого человека имеются одновременно гены γ1-, γ2-, γ3-, γ4-, μ-, α1-, α2-, δ-, ε-, κ- и λ-цепей, представляющих собой поэтому изотипы.

Аллотипические различия Они отражают генетические различия между особями одного вида, в том числе по аллелям данного локуса. Например, у человека вариант IgG3 с остатком фенилаланина в 436 позиции γ3-цепи, названный G3m(b°), встречается не у всех индивидов, т. е. представляет собой аллотип. Чаще всего аллотипы различаются константной областью тяжелых цепей.

Структура секреторного IgA (sIgA) человека

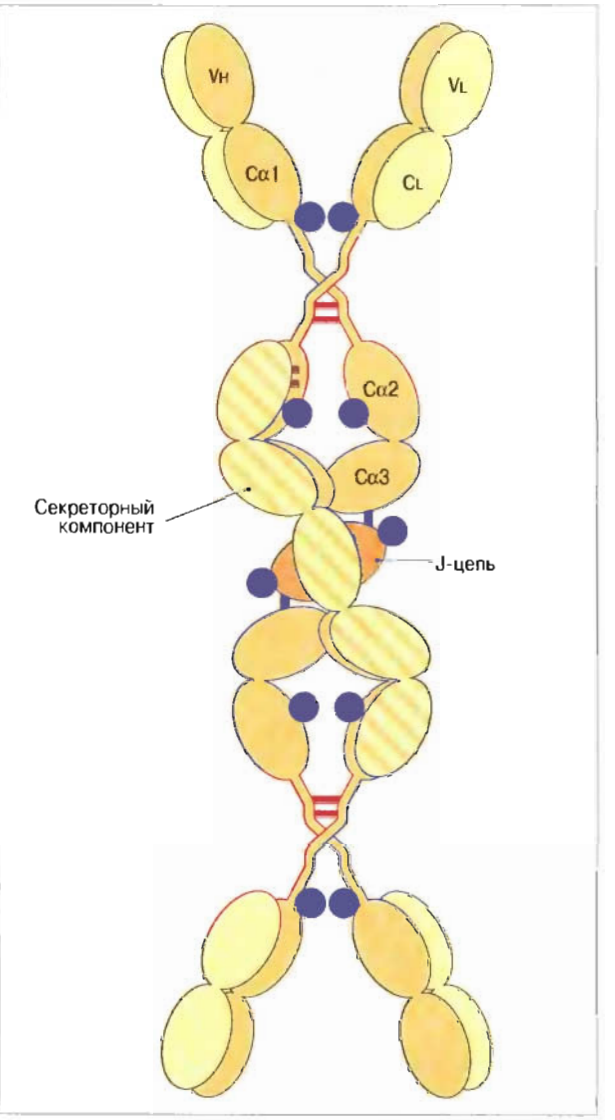


Рис. 6.14
Секреторный компонент, вероятно, обвивается вокруг димера sIgA, присоединяясь двумя дисульфидными связями к Cα2-домену одного из мономеров. J-цепь необходима для соединения двух мономеров вместе.

Идиотипические различия Существование разных идиотипов антител обусловлено различиями в аминокислотной последовательности вариабельных доменов, и особенно их гипервариабельных участков. Эти же области определяют специфичность антигенсвязывающего центра антител. Индивидуальные (частные) идиотипы антител

Структура IgD человека

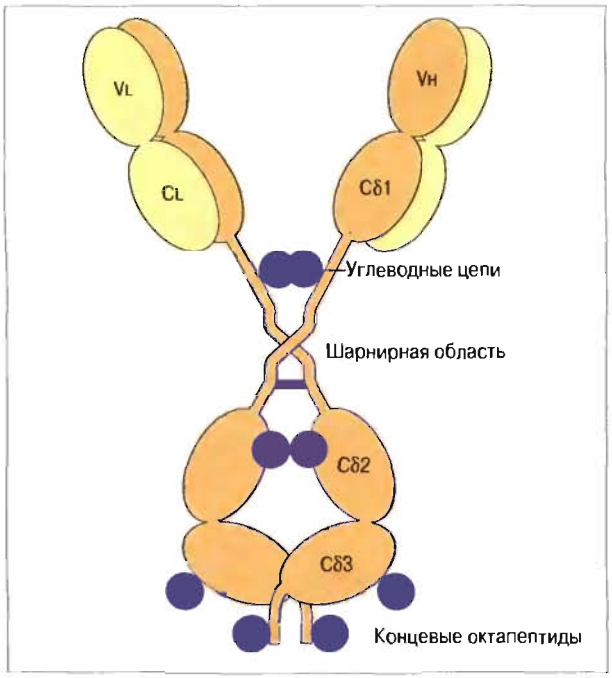


Рис. 6.15
Доменная структура IgD с типичным для этого изотипа большим числом олигосахаридных цепей. Отмечена шарнирная область и короткие С-концевые октапептиды.

Структура IgE человека

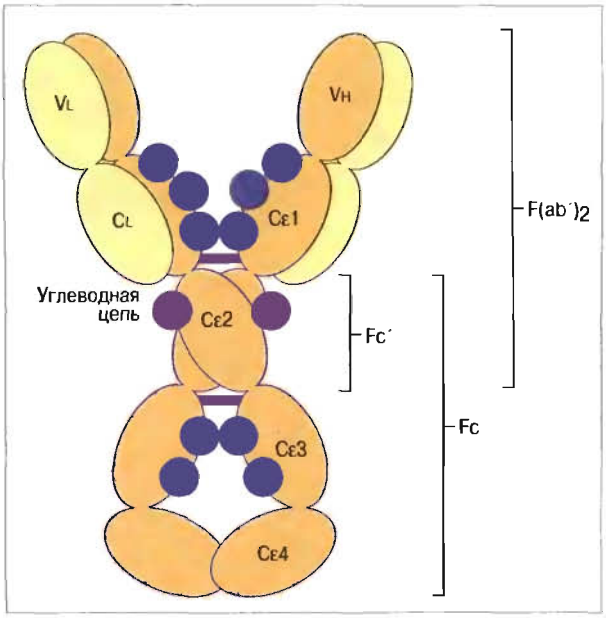


Рис. 6.16
Молекула IgE может расщепляться под действием ферментов на фрагменты $F(ab')_2$, Fc и Fc'. Шарнирная область отсутствует.

обычно характерны для разных клонов В-клеток. Однако иногда у различных В-клеточных клонов идиотипы антител могут быть общими (перекрестнореагирующими или повторяющимися).

ЭФФЕКТОРНЫЕ ФУНКЦИИ АНТИТЕЛ

Основная, первичная функция антител – связывание с антигеном. В некоторых случаях оно непосредственно ведет к достижению эффекта, например обеспечивая нейтрализацию бактериального токсина или предотвращая проникновение вируса в клетки. Однако чаще взаимодействие антител с антигеном остается безрезультатным, пока они не осуществят свои вторичные, «эффекторные» функции (см. *рис. 6.17* и *6.18*).

Один из наиболее важных эффекторных механизмов действия IgG1 и IgG3 состоит в активации системы комплемента – группы особых сывороточных белков, принимающих участие в воспалительных реакциях (см. гл. 5). Связываясь с

Отдельные эффекторные функции антител человека, относящихся к разным изотипам

Эффекторные функции	Изотип иммуноглобулина							
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA	IgD	IgE
Связывание комплемента по классическому пути	++	+	+++	–	+++	–	–	–
Проникновение через плаценту	+	+	+	+	–	–	–	–
Связывание со стафилококковым белком А	+++	+++	–	+++	–	–	–	–
Связывание со стрептококковым белком G	+++	+++	+++	+++	–	–	–	–

Рис. 6.17
Осуществление эффекторных функций антител связано с различными участками Fc-области их молекул. В переносе IgG через плаценту у человека и через кишечный эпителий у грызунов участвует рецепторная молекула, подобная молекулам MHC класса I (см. *рис. 6.23*).

антигеном, IgM, IgG1 и IgG3 способны активировать каскад протеолитических реакций, осуществляемых системой комплемента. Менее эффективен в этом отношении IgG2; антитела же IgG4, IgA, IgD и IgE не активируют комплемент.

Отдельные примеры связывания иммуноглобулинов человека с клеточными рецепторами

Рецептор		Изотип иммуноглобулина									
		IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	sIgA	IgD	IgE
Мононуклеарные клетки	FcγRI	++	–	+++	++	–	–	–	–	–	–
	FcγRIIa	+	(+)	++	–	–	–	–	–	–	–
	FcγRIIIa	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–
	FcμR	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
	FcεRII	–	–	–	–	–	–	–	–	–	++
	FcαR	–	–	–	–	–	++	++	++	–	–
Нейтрофилы	FcγRIIa	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–
	FcγRIIIb	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–
	FcαR	–	–	–	–	–	++	++	++	–	–
Тучные клетки/ базофилы	FcεRI	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+++

Рис. 6.18
Становятся известны все новые представители гетерогенного семейства рецепторных молекул, способных связывать иммуноглобулины (здесь приведены лишь отдельные примеры). Рецептор FcμR экспрессируют активированные В-клетки, но не Т-клетки и моноциты. Рецептор FcεRII экспрессируют, кроме клеток, указанных в таблице, эозинофилы, тромбоциты, Т-клетки и В-клетки.

К эффекторным функциям иммуноглобулинов относится также их избирательное взаимодействие с различными типами клеток при участии специальных рецепторов клеточной поверхности (*рис. 6.18*).

КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ДЛЯ АНТИТЕЛ

Существует три типа рецепторов клеточной поверхности для IgG

Клеточные рецепторы для IgG опосредуют ряд эффекторных функций антител. Перекрестная сшивка антигеном антител Ig, связанных с рецепторами, инициирует ту или иную биологическую активность клетки, причем разные рецепторы могут индуцировать одни и те же активности, среди которых главные – фагоцитоз, зависимая от антител клеточная цитотоксичность, высвобождение медиаторов и презентация антигена.

На поверхности клеток выявлены к настоящему времени три группы рецепторов IgG человека: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16). Все они имеют внеклеточные домены, в значительной степени гомологичные V-областям иммуноглобулинов, т. е. относятся к иммуноглобулиновому суперсемейству молекул, как и специфичный для IgA рецептор FcαR.

Свойства и распределение рецепторов для IgG

Рецептор FcγRI (CD64) на клетках человека связывает с высоким сродством (10^8–10^9 M^{-1}) мономерный IgG и имеет более ограниченное распространение, чем другие рецепторы.

Рецептор FcγRII (CD32) экспрессируют очень многие клетки, часто как единственный рецептор Ig. Он связывает с низким сродством (<10^7 M^{-1}) IgG, причем только в составе иммунных комплексов или агрегатов.

Рецептор FcγRIII (CD16) обильно гликозилирован и экспрессируется в формах с мол. массой от 50 до 80 кДа. В форме FcγRIIIa его экспрессируют макрофаги, НК-клетки и некоторые Т-клетки; эта форма связывает мономерный, а также включенный в иммунный комплекс IgG с аффинностью 3×10^7 M^{-1}. В форме FcγRIIIb, связанной с клеточной мембраной посредством GPI (фосфатидилинозитолгликан), этот рецептор экспрессируют только гранулоциты; FcγRIIIb связывает IgG с низким сродством (<10^7 M^{-1}).

Дополнительное разнообразие клеточных рецепторов для IgG

Три типа Fcγ-рецепторов встречаются в 12 различных изоформах, и, кроме того, описан генетический полиморфизм для FcγRII и FcγRIII. Наряду с этой внутренней гетерогенностью существует, как установлено, и другая, обусловленная экспрессией данных рецепторов на клеточной поверхности в виде комплексов с полипептидными цепями иного происхождения. Два типа таких цепей идентифицированы. Они соединяются с рецепторами разных типов:

Примеры фагоцитарных рецепторов, взаимодействующих с иммуноглобулинами

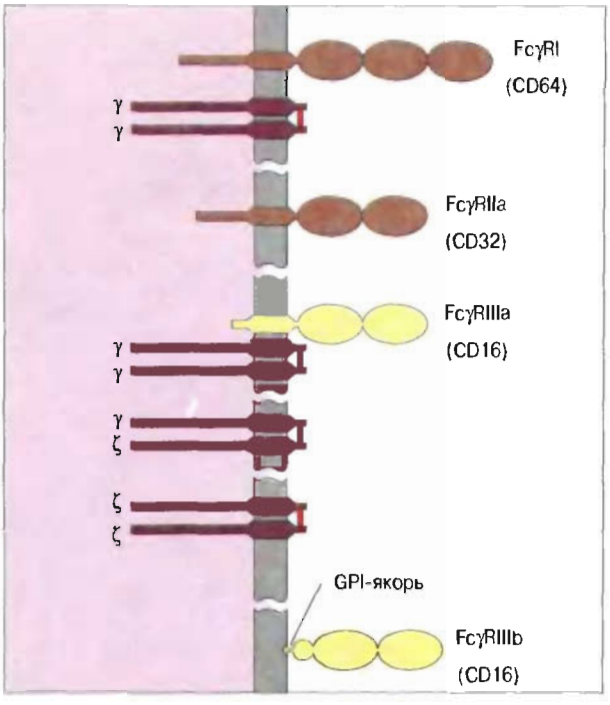


Рис. 6.19
Структура Fcγ-рецепторов человека: FcγRI (экспрессируется моноцитами), FcγRIIa (экспрессируется моноцитами и нейтрофилами), FcγRIIIa (экспрессируется моноцитами и связан с поверхностью клетки как обычный трансмембранный белок) и FcγRIIIb (экспрессируется нейтрофилами и «заякорен» в клеточной мембране фосфатидилинозитолгликаном [GPI]). Каждый тип рецепторов входит в иммуноглобулиновое суперсемейство молекул и имеет два или три внеклеточных иммуноглобулин-подобных домена. Как теперь известно, некоторые рецепторы представляют собой комплексы из различных субъединиц, соединенных дисульфидными связями. Рецепторы FcγRI и FcγRIII ассоциированы с димером γ-цепи, первоначально описанным в составе высокоаффинного комплекса FcεRI (см. рис. 6.20). Рецептор FcγRIIIa ассоциирован с димером ζ-цепи, ранее обнаруженным в составе комплекса TкР–CD3. В ассоциации с FcγRIIIa могут быть как гомодимерные (γ-γ или ζ-ζ), так и гетеродимерные (γ-ζ) субъединицы. По-видимому, они важны для экспрессии на поверхности и для передачи сигнала через мембрану. При взаимодействии с иммуноглобулином FcγRI, вероятно, связывается со структурным участком вокруг остатка лейцина в позиции 235 домена Cн2. Такой структурный мотив присутствует в тяжелых цепях IgG1, IgG3 и IgG4.

- FcγRI, аналогично FcεRI, образует комплекс с димером из γ-цепей, соединенных дисульфидной связью,
- FcγRIIIa может ассоциировать с теми же димерами γ-цепи, либо с димерами ζ-цепи (из TкР-комплекса), либо с гетеродимерами из γ- и ζ-цепей.

Ассоциированные цепи, вероятно, обеспечивают экспрессию рецепторов на плазматической мембране и, кроме того, важны, по-видимому, для передачи сигнала внутрь клетки. В случае FcγIIIb, заякоренного в мембране при помощи GPI, вероятно нет необходимости ни в γ-, ни в ζ-цепях (*рис. 6.19*).

Клеточные Fc-рецепторы для IgE

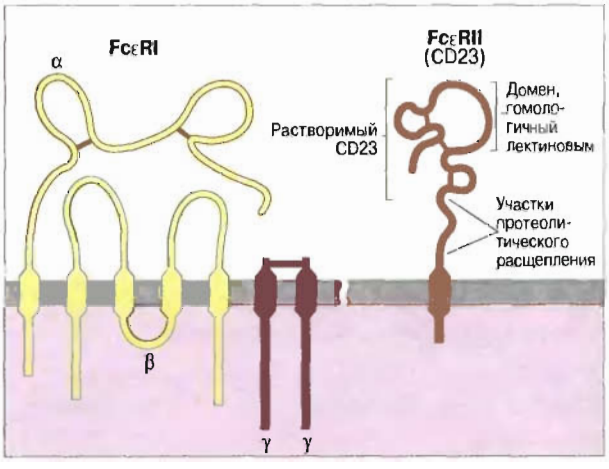


Рис. 6.20
Согласно этой модели, FcεRI состоит из четырех компонентов: одной α-цепи с двумя петлями, которые замкнуты дисульфидными связями и напоминают иммуноглобулиновые, одной β-цепи с двумя внеклеточными сегментами и двух расположенных поблизости γ-цепей, соединенных дисульфидной связью (красная полоска). Решающее значение в связывании FcεRI с IgE имеет α-цепь. Гипотетическая модель FcεRII основана на данных секвенирования и гомологии с животными лектинами. При протеолизе этих рецепторов образуется несколько типов IgE-связывающих факторов, в том числе растворимые молекулы CD23 (мол. массой 25 кДа), имеющие лектиновый домен. Судя по выраженному увеличению экспрессии FcεRII на лимфоцитах, культивируемых в присутствии IgE, этот иммуноглобулин ингибирует протеолиз рецепторов.

IgE связывается с двумя различными клеточными Fce-рецепторами

В настоящее время известны два различных клеточных рецептора для IgE (*рис. 6.20*). На тучных клетках и базофилах обнаружен высокоаффинный «классический» рецептор FcεRI, относящийся к иммуноглобулиновому суперсемейству молекул. Существенно отличный от него низкоаффинный Fc-рецептор для IgE выявлен на лейкоцитах, в том числе и на лимфоцитах. Низкоаффинный рецептор не принадлежит к иммуноглобулиновому суперсемейству, но в значительной степени гомологичен некоторым лектинам животных, например лектину, связывающему маннозу.

FcεRI – высокоаффинный клеточный рецептор к IgE

Молекула FcεRI образована 4 полипептидными цепями (см. *рис. 6.20*). Входящая в ее состав гликозилированная α-цепь (45 кДа) экспонирована над поверхностью клетки. Антитела к α-цепи способны блокировать связывание IgE с этим рецептором и самостоятельно индуцировать высвобождение гистамина из лейкозных базофилов крысы. Углеводные компоненты α-цепи, вероятно, защищают ее (как и в случае многих других белков клеточной поверхности) от действия сывороточных протеаз, но не имеют значения для связывания IgE и обусловленного IgE высвобождения гистамина.

Одна β-цепь (33 кДа) и две соединенные дисульфидной связью γ-цепи (9 кДа) – это важные компоненты $\alpha\beta\gamma_2$-рецепторной единицы. Они необходимы для экспрессии рецептора на поверхности клетки и, вероятно, для трансмембранной передачи сигнала.

Рецептор FcεRI взаимодействует с С-концевой частью тяжелых цепей IgE, а именно с Cε2- и/или Cε3-доменами. Это связывание высокоспецифично и характеризуется очень высокой константой ($\sim 10^{10}$ M^{-1}). Однако ни взаимодействие рецептора с одновалентным IgE, ни связывание специфического лиганда одной молекулой IgE, по-видимому, не активирует тучные клетки или базофилы, поскольку при этом не происходит высвобождения гистамина. Для начала дегрануляции необходимо, чтобы несколько соединенных с клеточной поверхностью молекул IgE были перекрестно связаны антигеном или другими лигандами, вызывающими дегрануляцию.

Углеводные компоненты молекулы IgE, вероятно, не участвуют во взаимодействии с FcεRI; они важны для секреции IgE В-клетками.

Раньше считалось, что высокоаффинные рецепторы для IgE имеются только на тучных клетках и базофилах, но недавно установлено, что они могут присутствовать также на клетках Лангерганса и на стволовых клетках.

FcεRII – низкоаффинный клеточный рецептор для IgE

Лимфоцитарный FcεRII человека, или антиген CD23 (45 кДа), содержит типичный для мембраносвязанной молекулы трансмембранный домен, но расположен в мембране необычно – «вверх ногами», т. е. С-концом снаружи клетки (*рис. 6.20*). В отличие от других Fc-рецепторов он относится не к иммуноглобулиновому суперсемейству молекул, а к филогенетически более древнему суперсемейству животных лектинов.

К настоящему времени идентифицированы, клонированы и секвенированы две формы FcεRII человека, одинаковые по структуре внеклеточных доменов, но различные в N-концевой, цитоплазматической области. Рецептор FcεRIIa постоянно присутствует в норме на В-клетках, тогда как экспрессия FcεRIIb индуцируется цитокином ИЛ-4 на Т-клетках, В-клетках, моноцитах и эозинофилах. Часто эта экспрессия бывает повышенной на В-клетках и моноцитах у больных экземой и на лимфоцитах при сенной лихорадке.

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ АНТИТЕЛ

Получение протеолитических фрагментов для анализа структуры и функции антител

Растительная протеаза папаин расщепляет молекулу IgG в шарнирной области между Cγ1- и Cγ2-доменами на два идентичных антигенсвязывающих фрагмента Fab (от antigen binding fragment) и один способный кристаллизоваться фрагмент, Fc (от crystallisable fragment). Изучение этих фрагментов существенно помогло установлению структуры и функций антител, поскольку дало возможность отделить область Fab, взаимодействующую с антигеном, от области Fc, ответственной за эффекторные функции, например за фиксацию комплемента, связывание с моноцитами или проникновение через плаценту.

При продолжительном папаиновом гидролизе от Fc-фрагмента отщепляется фрагмент Fc′, состоящий из двух неполных Cγ3-доменов. Некоторые из основных точек ферментативного расщепления IgG1-молекулы человека представлены на *рис. 6.21*.

Ферментативное расщепление IgG1 человека

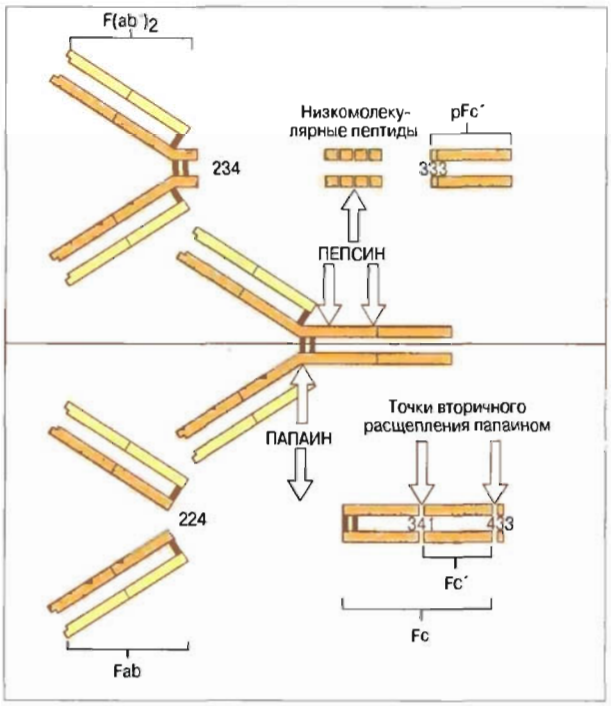


Рис. 6.21
Пепсин расщепляет тяжелую цепь IgG1 человека в позициях 234 и 333 с образованием фрагментов $F(ab')_2$ и pFc′. Дальнейший гидролиз пепсином приводит к распаду центральной части молекулы на низкомолекулярные пептиды. Папаин расщепляет молекулу IgG1 в шарнирной области тяжелых цепей (в позиции 224) на два Fab-фрагмента и один Fc-фрагмент. Повторное воздействие папаином на Fc-фрагмент приводит к разрушению пептидной связи в позициях 341 и 433 с освобождением Fc′.

Другой фермент, часто применяемый в структурно-функциональных исследованиях, — пепсин.Он расщепляет молекулу IgG на два крупных фрагмента – $F(ab')_2$, включающий в себя целиком обе Fab-части, соединенные в шарнирных областях тяжелых цепей, и pFc′, который соответствует двум Cγ3-доменам этой молекулы.

Молекулу IgG расщепляют и многие другие ферменты. Так, кратковременное воздействие трипсином на обработанные кислотой Fc-фрагменты позволяет выделить Cγ2-домен для последующего структурно-функционального сопоставления его с другими субфрагментами молекулы IgG, в частности с pFc′.

Связывание антителами разнообразных антигенов обеспечивают гипервариабельные последовательности антигенраспознающих центров

Аминокислотная последовательность некоторых коротких участков вариабельной области тяжелых и легких цепей чрезвычайно изменчива. В легких цепях эти сегменты, названные гипервариабельными, находятся вблизи 30, 50 и 95 позиций (*рис. 6.22*). Их называют также участками, определяющими комплементарность (CDRs, от complementarity determining regions), поскольку именно они образуют антигенсвязывающие центры молекулы антитела. Последовательности между гипервариабельными сегментами названы

Вариабельность аминокислот V-области легких цепей иммуноглобулина

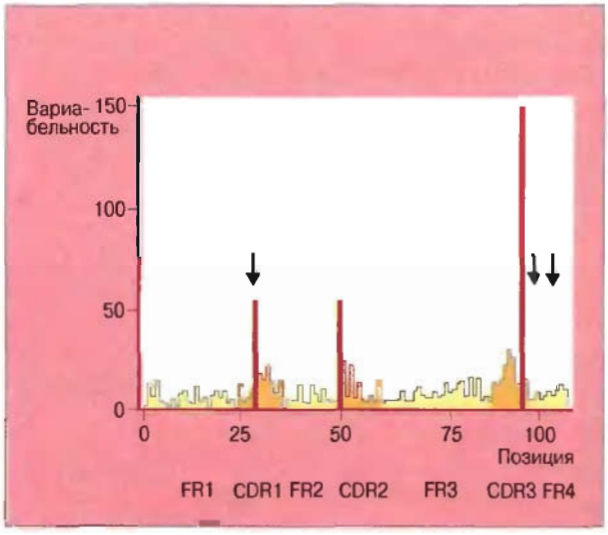


Рис. 6.22
Вариабельность рассчитывают путем сопоставления последовательностей многих отдельных легких цепей, как отношение числа различных аминокислотных остатков, обнаруженных в данной позиции, к частоте наиболее часто встречающегося остатка. Участки наибольшей вариабельности, из которых три относятся к V_L-домену, названы гипервариабельными. В некоторых последовательностях были обнаружены дополнительные остатки (в позициях, указанных стрелками), но здесь они не учтены (для повышения сопоставимости). Темно-желтым цветом отмечены участки гипервариабельности (CDR), красным – наиболее гипервариабельные позиции, желтым – четыре каркасных участка (FR). (Иллюстрация любезно предоставлена проф. E.A. Kabat.)

каркасными (FR, от framework regions). В V-области каждой легкой и тяжелой цепи имеется по три CDR (CDR1–CDR3) и по четыре FR (FR1–FR4). Молекулярная основа гипервариабельности рассмотрена в гл. 8.

Вариабельные области легких и тяжелых цепей пространственно свернуты так, что гипервариабельные участки находятся близко друг к другу и образуют на поверхности молекулы структуру, связывающую антиген. Такие сегменты располагаются чаще всего на изгибах пептидной цепи (см. *рис. 6.6*).

В структуре антител идентифицировано много участков, отвечающих за эффекторные функции

Если локализация антигенсвязывающих центров была установлена очень быстро, то последовательности, ответственные за большинство эффекторных функций, долгое время не удавалось точно локализовать. Некоторые предварительные данные были получены в опытах по ингибированию функциональной активности антител их субфрагментами, образующимися при ферментативном расщеплении, однако дело продвигалось медленно, пока не стало возможным применение метода сайт-направленного мутагенеза, который позволяет вызывать избирательно замену различных аминокислотных остатков в известной пептидной последовательности и таким образом определять значение различных остатков для осуществления функции.

Прежде всего этот метод был использован для изучения механизма активации комплемента антителами IgG. К тому времени уже было известно, что C1q (субкомпонент C1) взаимодействует с Cγ2-доменом IgG. С помощью сайт-направленного мутагенеза удалось выявить участок связывания C1q – боковые цепи трех аминокислотных остатков в Cγ2-домене, Glu-318, Lys-320 и Lys-322. Эта последовательность, по-видимому, типична для участков взаимодействия молекул IgG с C1q.

В случае IgM механизм активации комплемента, вероятно, иной. Свободный циркулирующий IgM в звездообразной конфигурации не способен, очевидно, активировать комплемент, но приобретает эту способность после связывания с антигеном. По предположению Файнстайна и др. (1986), при связывании с полимерным или перекрестносвязанным антигеном $F(ab')_2$-единицы IgM отклоняются от плоскости своего исходного положения так, что пентамер приобретает «крабовидную» конфигурацию, вполне различимую при электронной микроскопии (см. *рис. 6.11*). Эти конформационные изменения, вероятно, обнажают кольцо сайтов для связывания C1q, скрытых при звездообразной конфигурации пентамерной молекулы IgM из-за тесного сближения соседних мономеров. Участок связывания C1q (предположительно остатки His 430, Asp/Gly 432 и Pro 436) находится в Cμ3-домене, причем его структурная локализация аналогична локализации возможного сайта той же специфичности в Cγ2-домене.

Молекулы IgG взаимодействуют с разнообразными клеточными Fc-рецепторами. По данным исследований с применением сайт-направленного мутагенеза, высокоаффинный рецептор FcγRI на моноцитах связывается со структурным мотивом γ-цепи, расположенным вокруг остатка лейцина в позиции 235, между Cγ2-доменом и шарнирной областью.

Не так давно раскрыт механизм взаимодействия IgG материнского молока с FcRn (рецептор, подобный молекуле MHC класса I), экспрессированным на кишечном эпителии новорожденного крысенка (см. *рис. 6.23*); предполагается, что он близок к механизму связывания материнского IgG человека с hFcRn – плацентарным аналогом FcRn. Сайт в составе Fc, связывающий

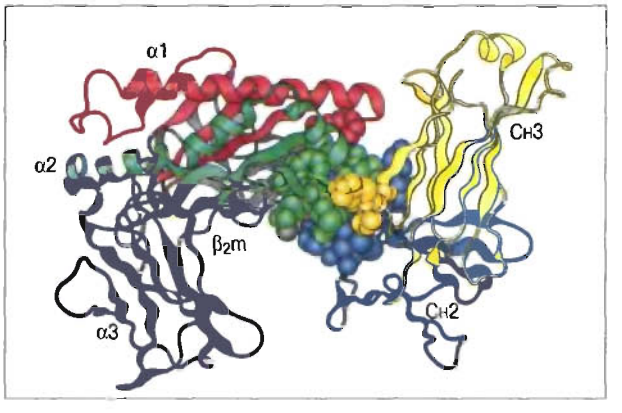


Рис. 6.23
Основные взаимодействия между FcRn кишечного эпителия новорожденного крысенка (домены α2, α2, α3 и β_2m, окрашенные в красный, зеленый, фиолетовый и серый цвета соответственно) и Fc-частью IgG материнского молока (домены – Cн2 и Cн3, окрашенные синим и желтым). Главные контактные остатки FcRn – 90 в α-домене, 113–119 и 131–135 в α2-домене, 1–4 и 86 в β_2m-домене – изображены в виде глобулярных структур. (С разрешения по Ravetch, Margulies, 1994)

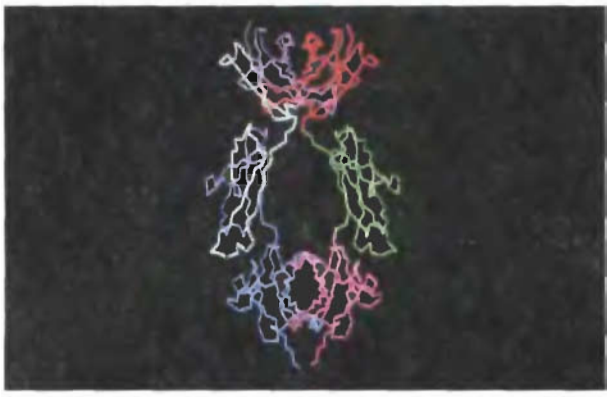


Рис. 6.24
Предполагаемая локализация в IgE человека сайта связывания с рецептором FcεRI тучных клеток. Домены Cε2, Cε3 и Cε4 расположены в этом порядке сверху вниз. Связывающийся пептид (изображен белым), по-видимому, начинается остатком глутамина в позиции 301 и оканчивается остатком аргинина в позиции 376. (С разрешения по Helm et al., 1988.)

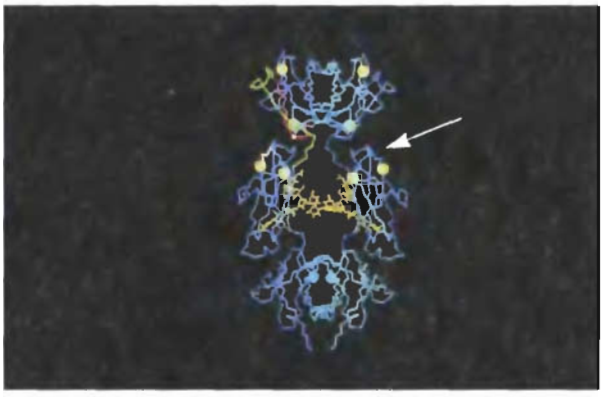


Рис. 6.25
Предполагаемая локализация в IgE человека сайта связывания с рецептором FcεRII В-клеток. Домены Cε2, Cε3 и Cε4 расположены в этом порядке сверху вниз. Для связывания основное значение предположительно имеют остатки от лизина-367 до валина-370 включительно (Cε3-домен) в обеих ε-цепях (с одной стороны они указаны стрелкой, с другой отмечены белым цветом). (С разрешения по Vercelli et al., 1989.)

FcRn, находится на стыке доменов Cн2 и Cн3, перекрывая участок взаимодействия со стафилококковым белком А. Вероятно, основное функциональное значение в этом участке имеют три или четыре остатка гистидина: по-видимому, от них зависит связывание IgG с FcRn при pH 6,5 (pH молока, поступившего в просвет кишечника) и его высвобождение при pH 7,5 (pH крови).

Для идентификации сайтов молекулы IgE, связывающихся с FcεRI тучных клеток или с FcεRII В-клеток, были применены методы генетической инженерии. Синтез рекомбинантных пептидов, соответствующих тем или иным отрезкам последовательности ε-цепи, и сопоставление их ингибирующего влияния на взаимодействие IgE с клеточными рецепторами позволили установить, что связывание IgE с FcεRI, по-видимому, опосредовано пептидом из 76 остатков между Cε2 и Cε3 (*рис. 6.24*), тогда как FcεRII, вероятно, распознает структуру, состоящую из аминокислотных остатков Cε3-доменов обеих ε-цепей (*рис. 6.25*).

Получены также некоторые данные о топографии взаимодействий между Fc-частью молекулы IgG и белком А *Staphylococcus aureus*. Сайт связывания находится, предположительно, в области соединения доменов Cγ2 и Cγ3 IgG.

Вопросы для размышления

- Молекулы антител структурно различны в так называемых константных областях. Как проявляется это разнообразие и какое преимущество оно дает организму?
- Предполагается, что иммуноглобулины происходят филогенетически от некого белка-предшественника, соответствующего одному домену. Каким образом генные дупликации, создавая мультидоменный белок, способствовали формированию функционально полноценной молекулы?
- Идентифицировано большое семейство разнообразных Fcγ-рецепторов. Объясните, исходя из общей схемы их строения, как можно было бы усилить иммуноглобулин-рецепторные взаимодействия?
- Как методы молекулярной биологии помогают картировать структурные сайты иммуноглобулинов, ответственные за эффекторные функции? Насколько они эффективнее методов, применявшихся в прошлом?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Burmeister W.P., Huber A.H., Bjorkman P.J. 1994. Crystal structure of the complex of rat neonatal Fc receptor with Fc. *Nature* **372**: 379.

Burton D.R. 1990. Antibody: the flexible adaptor molecule. *Trends. Biochem. Sci.* **15**: 64–69.

Conrad D.H. 1990. The low affinity receptor for IgE. *Annu. Rev. Immunol.* **8**: 623–645.

Davies A.C., Schulman M.J., 1989. IgM – molecular requirements for its assembly and function. *Immunol. Today* **10**: 118–122, 127–128.

Davies D.R., Metzger H. 1984. Structural basis of antibody function. *Ann. Rev. Immunol.* **1**: 87–117.

Doncan A.R., Winter G. 1988. The binding site of C1q on IgG. *Nature* **332**: 738–740.

Duncan A.R., Woof J.M., Partridge L.J. et al. 1988. Localization of the binding site for the human high-affinity Fc receptor on IgG. *Nature* **332**: 563–564.

Feinstein A., Richardson N., Taussig M.J. 1986. Immunglobulin flexibility in complement activation. *Immunol. Today* **7**: 169–173.

Hahn G.S. 1982. Antibody structure, function and active sites. In: Ritzman S.E. (ed.). *Physiology of Immunoglobulins: Diagnostic and Clinical Aspects.* Alan Liss. New York, Inc.,193–304.

Helm B., Marsh P., Vercelli D. et al. 1988. The mast cell binding site on human immunoglobulin E. *Nature* **331**: 180–183.

Kerr M.A. 1990. The structure and function of Human IgA. *Biochem. J.* **271**: 285–296.

Kilian M., Russell M.W. 1994. Function of mucosal immunoglobilins. *In:* Ogra P., Mestecky J., Lamm M.E et al., (eds). *Handbook of Mucosal Immunology.* San Diego, Academic Press. 127–137.

Möller G. (ed.) 1977. Immunoglobulin D: structure, synthesis, membrane representation and function, *Immunol. Rev.* 37.

Möller G. (ed.) 1978. Immunoglobulin E. *Immunol. Rev.* **41**.

Möller G. (ed.) 1992. Fc receptors. *Immunol. Rev.* **125**.

Möller G. (ed.) 1993. The B-cell antigen receptor complex. *Immunol. Rev.* **132**.

Nisonoff A. 1984. *Introduction to Molecular Immunology.* 2nd edn, Sinauer Associates Inc., Baltimore, 326.

Perkins S.J., Nealis A.S., Sutton B.J. et al. 1991. Solution structure of human and mouse immunoglobulin M by synchrotron X-ray scattering and molecular graphics modelling. *J. Mol. Biol.* **221**: 1345–1366.

Ravetch J.V., Kinet J.-P. 1991. Fc receptors. *Ann. Rev. Immunol.* **9**: 457–492.

Ravetch J.V., Margulies D.H. 1994. New tricks for old molecules. *Nature* **372**: 323–324.

Shakib F. (ed.) 1990. The human IgG subclasses. Molecular analysis of structure, function, and regulation. Pergamon Press, Oxford.

Story C.M., Mikulska J.E., Simister N.E. 1994. A major histocompatability complex Class I-like Fc receptor cloned from human placenta: possible role in transfer of immunoglobilin G from mother to fetus. *J. Exp. Med.* **180**: 2377–2381.

Underdown B.J., Schiff J.M. 1986. Immunoglobulin A: strategic defence initiative at the mucosal surface. *Annu. Rev. Immunol.* **4**: 389–417.

Van de Winkel J.G.J., Capel P.J.A. 1993. Human IgG Fc receptor heterogeneity: molecular aspects and clinical implications. *Immunol. Today* **14**: 215–221.

Vercelli D., Helm B., Marsh P. et al. 1889. The B cell binding site on human immunoglobulin E. *Nature* **338**: 649–651.

Williams A.F., Barclay A.N. 1988. The immunoglobulin superfamily-domains for cell surface recognition. *Annu. Rev. Immunol.* **6**: 381–405.

ОБРАЩЕНИЕ В INTERNET

Страница информационных ресурсов об антителах
http://www-chem.ucsd.edu/faculty/goodman/antibody.html/ab page.html

7 Антигенраспознающие рецепторы Т-клеток и молекулы MHC

- **Антигенраспознающий Т-клеточный рецептор** – это гетеродимерный (αβ или γδ) гликопротеин, благодаря которому Т-клетки способны распознавать разнообразные антигены. На поверхности Т-клеток он ассоциирован с полипептидным комплексом, имеющим групповое название CD3.
- **Главный комплекс гистосовместимости (MHC)** кодирует два набора высокополиморфных белков клеточной поверхности, названных молекулами MHC класса I и класса II. αβ-ТкР распознает процессированный антиген в виде пептидных фрагментов, связанных с молекулами MHC класса I или II. При этом и молекула MHC, и фрагмент антигена контактируют с ТкР.
- Укладка полипептидных цепей молекулы MHC обеспечивает образование полости, в которой **связываются пептидные фрагменты** процессированного антигена для их презентации Т-клеткам. Молекулы класса I способны связывать пептиды из 8–9 аминокислотных остатков, молекулы класса II – несколько более длинные.
- **Карманы антигенсвязывающей полости** могут вмещать пептиды различной структуры в зависимости от гаплотипа MHC. Высокий полиморфизм молекул MHC, а также способность каждой АПК экспрессировать несколько разных молекул MHC обеспечивают возможность презентации Т-клеткам множества самых различных антигенных пептидов.

Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Специфическое распознавание антигена Т-лимфоцитами – это центральный момент запуска и регуляции эффективного иммунного ответа. От выяснения природы выполняющих данную функцию Т-клеточных рецепторов зависит решение многих принципиальных проблем иммунологии.

Т-клеточные рецепторы (ТкР) были выявлены и получены в очищенном виде (с применением соответствующих антирецепторных антител) как некие специфичные для каждого отдельного клона Т-клеток поверхностные структуры. Первоначально ТкР был обозначен αβ, поскольку, как выяснилось, он представляет собой гетеродимер из одной α-цепи и одной β-цепи, соединенных дисульфидной связью. В исследованиях другого направления из библиотек комплементарных ДНК (кДНК) были выделены гены, предположительно предназначенные для кодирования цепей ТкР – каждая пара таких генов экспрессировалась клетками лишь одного определенного клона. Последовательность аминокислот, предсказанная на основе нуклеотидной последовательности этих генов, совпала с данными секвенирования фрагмента α- и β-цепей ТкР, выделенных с использованием моноклональных антител. Таким образом, двумя альтернативными методическими подходами была идентифицирована одна и та же структура. В дальнейшем были обнаружены и выделены также ТкР другой разновидности, обозначенные γδ.

Как αβ-, так и γδ-форма Т-клеточного рецептора находится в ассоциации с CD3-комплексом

На клеточной поверхности и αβ-, и γδ-формы ТкР располагаются непосредственно рядом с полипептидным комплексом, имеющим групповое название CD3. Это соседство необходимо для экспрессии всего рецепторного комплекса на поверхности клеток. Полипептиды CD3 имеют одинаковую аминокислотную последовательность у всех Т-клеток и, следовательно, ассоциируя с ТкР, не могут добавить разнообразия рецепторным комплексам. Вероятнее всего, через них происходит передача сигналов, возникающих в результате распознавания антигена гетеродимером ТкР. Комплекс CD3 состоит из четырех инвариантных полипептидов, обозначаемых γ, δ, ε и ζ. В результате альтернативного сплайсинга вместо ζ-цепи может экспрессироваться полипептид η (также идентифицированный). Строение Т-клеточного рецепторного комплекса схематически представлено на *рис. 7.1*.

Полипептиды γ, δ, и ε, входящие в состав CD3, кодируются тремя тесно сцепленными генами, весьма близки по аминокислотной после-

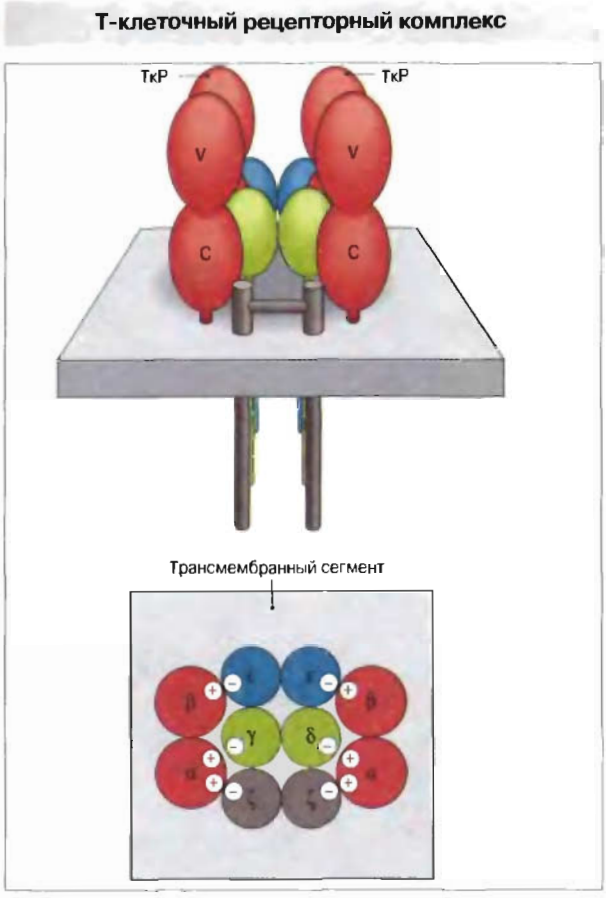


Рис. 7.1
Каждая α- и β-цепь (или γ- и δ-цепь) в составе ТкР имеет по одному наружному V- и С-домену, трансмембранный сегмент, содержащий положительно заряженные аминокислотные остатки, и короткий цитоплазматический «хвост». Цепи соединены между собой дисульфидной связью, которую образуют их С-домены вблизи клеточной мембраны. Каждый из полипептидов, входящих в состав CD3, γ, δ и ε, имеет наружный С-домен, подобный иммуноглобулиновым, трансмембранный сегмент, содержащий отрицательно заряженный аминокислотный остаток, и длинный цитоплазматический хвост. С комплексом CD3 ассоциирован также димер ζζ, ηη или ζη. Получен ряд доказательств существования полного рецепторного комплекса ТкР/CD3 в виде димера на поверхности Т-клетки. Предполагается, что заряды трансмембранных сегментов важны для сборки и экспрессии комплекса. На схеме представлена такая укладка цепей, при которой заряды противоположных знаков нейтрализованы.

довательности и относятся к суперсемейству иммуноглобулинов. Каждый из них имеет внеклеточный домен и следующий за ним трансмембранный сегмент, а также цитоплазматический хвост из 40 или большего числа аминокислотных остатков, последовательность которых высококонсервативна. Примечательная особенность трансмембранных сегментов состоит в том, что каждый из них содержит одну отрицательно заряженную (полярную) аминокислоту и не является, таким образом, полностью неполярным.

Ген CD3 ζ, в отличие от комплекса генов CD3 γδε, расположен в другой хромосоме, и между полипептидами ζ и γδε имеются существенные структурные различия. Представляющие собой продукты альтернативного сплайсинга полипептиды ζ и η содержат небольшой внеклеточный домен, состоящий всего из девяти аминокислотных остатков, трансмембранный сегмент с одним отрицательно заряженным остатком и длинный цитоплазматический хвост, который в С-концевой части у полипептида η на 42 аминокислотных остатка длиннее, чем у полипептида ζ. Полипептиды CD3 ζ и η существуют в виде трех димеров – ζ-ζ, η-η и ζ-η, в которых цепи соединены дисульфидной связью.

Стехиометрия (состав и соотношение структурных компонентов) Т-клеточного рецепторного комплекса и предполагаемый механизм взаимодействия полипептидов CD3 с αβ- или γδ-гетеродимером рассмотрены ниже.

Антигенраспознающий центр ТкР образован цепями αβ- или γδ-гетеродимера

В состав комплекса αβ-ТкР входит гетеродимер из двух соединенных дисульфидной связью полипептидных цепей – α (40–50 кДа) и β (35–47 кДа). Модель этого гетеродимера представлена на *рис. 7.1*. Внеклеточная часть каждой из его цепей свернута в два иммуноглобулин-подобных домена, содержащих примерно по 110 аминокис-

лотных остатков. Цепи «заякорены» в клеточной мембране своими трансмембранными сегментами, имеющими короткий цитоплазматический хвост. У человека за счет дополнительного N-концевого углеводного компонента α-цепи имеют большую мол. массу, чем β-цепи. Функция этих углеводных компонентов пока неясна.

N-концевые домены α- и β-цепей, подобно вариабельным доменам иммуноглобулинов, характеризуются выраженным разнообразием аминокислотной последовательности. Каждый такой домен кодируют гены, образованные в результате рекомбинации V-, D- и J-сегментов в случае β-цепей и V- и J-сегментов в случае α-цепей (см. гл. 8). В аминокислотной последовательности V-доменов ТкР обнаружены области повышенной вариабельности, которые соответствуют гипервариабельным участкам цепей Ig, известным также как участки, определяющие комплементарность (CDRs, от complementarity-determining regions).

Соединяющая α- и β-цепи дисульфидная связь образуется в участке между константным доменом и трансмембранным сегментом каждого мономера. Характерная особенность обеих цепей – это наличие в трансмембранном сегменте положительно заряженных аминокислотных остатков (см. *рис. 7.1*), имеюших весьма существенное значение при сборке и внутриклеточном транспорте рецепторного комплекса Т-клеток.

С помошью рентгеноструктурного анализа установлена трехмерная структура двух известных разновидностей ТкР. αβ-Форма ТкР, распознающая антиген в комплексе с молекулой MHC класса I, изображена на *рис. 7.2*. Общая схема укладки α- и β-цепей, образующих ТкР, очень напоминает укладку Fab-фрагмента молекулы антитела. Значение такой структуры ТкР для распознавания антигена рассмотрено в гл. 9.

Структура рецепторного комплекса Т-клетки

Стехиометрия и характер взаимодействия субъединиц, образующих компоненты рецепторного комплекса Т-клетки, остаются предметом многостороннего изучения. С помощью мутационного анализа in vitro установлено, что заряженные аминокислотные остатки в составе трансмембранных участков полипептидных цепей имеют решающее значение для сборки и экспрессии полного рецепторного комплекса на поверхности клетки. Как предполагается, при сборке воз-

Т-клеточный антигенраспознающий рецептор

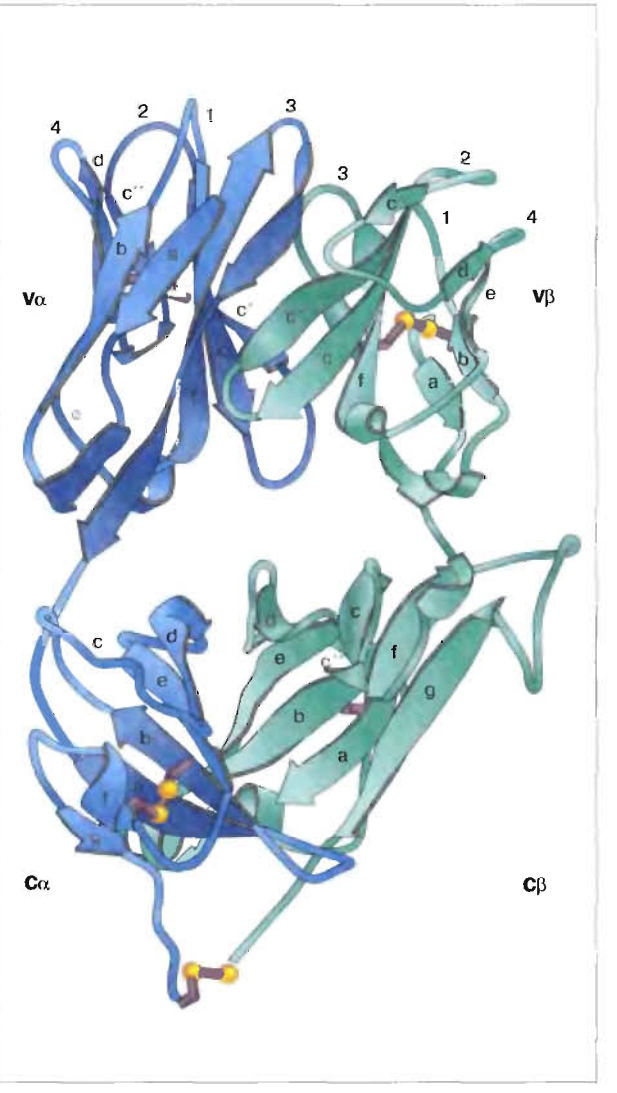


Рис. 7.2
Трехмерная структура αβ-формы ТкР – «скелетно-ленточная» двухцепочечная модель. В синий цвет окрашена α-цепь (аминокислотные остатки 1–213), в зеленый – β-цепь (аминокислотные остатки 3–247). Стрелками изображены антипараллельные тяжи β-структуры, обозначенные строчными буквами латинского алфавита, как это общепринято для описания пространственной укладки иммуноглобулинов. Четыре внутридоменные и одна С-концевая межцепочечная дисульфидные связи показаны лиловым цветом, атомы серы – желтыми шариками. Гипервариабельные области отмечены цифрами от 1 до 4 на каждой цепи. (По Garcia, Degano, Stanfield et al. 1996. An αβ T cell receptor structure at 2.5 Å and its orientation in the TCR-MHC complex. *Science* 1996; **274**: 209–19.)

никают ионные или водородные связи внутри липидного бислоя, в частности между щелочными аминокислотными остатками α- и β-цепей ТкР и комплементарными им кислыми остатками в составе полипептидов CD3.

Иммуноглобулин-подобные внеклеточные домены полипептидных цепей ТкР (αβ или γδ) и CD3 (γ, δ и ε), по-видимому, также ассоциируют между собой. При этом V-домены α- и β-цепей ТкР объединяются почти таким же образом, как Vн и Vl-домены в молекуле иммуноглобулина, пространственно сближая шесть своих гипервариабельных участков, чтобы образовать антигенсвязывающий центр (*рис. 7.2*). В отличие от иммуноглобулина, антигенраспознающий центр ТкР связывает не только антиген, но и участки презентирующей его молекулы MHC.

Комплекс ТкР/CD3 на поверхности Т-клетки представляет собой, вероятно, структуру более высокого порядка по сравнению с образующими его компонентами. Как показали стехиометрические исследования, в зрелом состоянии он содержит две копии полипептида CD3ε, причем эти полипептиды присутствуют в соотношении 1:1 с αβ-гетеродимером. Судя по этому, а также по результатам определения мол. массы солюбилизированного ТкР/CD3-комплекса, наиболее вероятен следующий его состав: $(\alpha\beta)_2$, γ, δ, ε_2, ζ_2. Именно такая модель представлена на *рис. 7.1* в точном соответствии с распределением зарядов противоположных знаков на трансмембранных сегментах полипептидных цепей.

γδ- и αβ-формы ТкР весьма сходны по структуре

По общему строению γδ-форма ТкР очень близка к своему αβ-двойнику. Каждая цепь состоит из внеклеточных V- и C-доменов, трансмембранного сегмента, содержащего положительно заряженные аминокислотные остатки, и короткого цитоплазматического хвоста.

У человека структура γδ-формы ТкР вариабельна в большей степени, чем у мыши, а сами цепи γ и δ могут соединяться дисульфидной связью, образуя димер, либо существовать в виде несвязанных мономеров; наличие дисульфидной связи обусловлено присутствием экзона Cγ2, а не Cδ1, поскольку лишь в последовательности Cγ2 имеется цистеин. (О формировании генов ТкР см. в гл. 8.) В результате дупликации или трипликации экзона Cγ2 мол. масса γ-цепей ТкР может иметь различную величину. Биологическое значение связанных с этим структурных различий остается неясным. Пока не опубликовано сообщений о существовании лишенной дисульфидной связи γδ-формы ТкР у мыши.

Т-клетки, несущие αβ- или γδ-рецептор, распределены по тканям организма различным образом

Анатомическая локализация Т-клеток различается в зависимости от того, какой разновидностью ТкР они обладают. Форму αβ несет большинство ТкР-экспрессирующих тимоцитов и свыше 95% периферических Т-клеток. Форму γδ, напротив, несут Т-клетки, встречающиеся только в определенных тканях организма: они составляют небольшую долю Т-клеток тимуса и вторичных лимфоидных органов, но при этом значительную часть Т-клеток эпителиальных покровов, например эпидермиса (у мыши, но не у человека), а также эпителия, выстилающего слизистую оболочку кишечника, матки и языка.

В каждой эпителиальной ткани Т-клетки, несущие γδ-форму ТкР, относятся к отдельной субпопуляции, отличающейся по структуре этого рецептора, а именно по V-области его γ- и δ-цепей. Дифференциальная экспрессия V-генов в γδ-Т-клетках различных субпопуляций возникает, по всей вероятности, в онтогенезе. Например, у мыши γδ-Т-клетки, заселяющие кожу (дендритные эпидермальные клетки), экспрессируют только Vγ3- и Vδ1-области (см. гл. 8), тогда как на внутриэпителиальных лимфоцитах желудочно-кишечного тракта выявляются, за редким исключением лишь Vγ5-области (чаще всего в комбинации с Vδ4-, Vδ5-, Vδ6- или Vδ7-областью). Считается, что эти субпопуляции могут возникать на определенных стадиях созревания Т-клеток в тимусе.

Распознавание антигена γδ-Т-клетками

Природа антигенных структур, распознаваемых (связываемых) γδ-Т-клетками, остается предметом споров. Установлено, что эти клетки способны распознавать самые разнообразные антигены, например N-формилированные бактериальные пептиды и аутоантигены – белки теплового шока – или неклассические (дополнительные) антигены MHC класса I, такие как продукты TL-локуса у мыши или молекулы CD1 у человека. Некото-

рые γδ-Т-клетки человека и мыши распознают также классические антигены МНС классов I и II, но данных о том, что это общее свойство всей популяции таких клеток, почти нет.

В общем, γδ-Т-клетки могут выполнять существенную роль в противоинфекционном иммунитете, распознавая бактериальные пептиды (презентированные, вероятно, на неклассических антигенах МНС), или белки, (например, теплового шока), которые синтезируются клетками организма в очаге бактериальной инфекции. В сущности, эти клетки создают первую линию защиты, сдерживая распространение инфекции до тех пор, пока не разовьется иммунный ответ, основанный на распознавании антигена αβ-Т-клетками в комплексе с молекулами МНС.

АНТИГЕНЫ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ (МНС)

Генетические локусы, ответственные за отторжение чужеродных (т. е. отличных от своих) тканей, образуют в хромосоме область, названную главным комплексом гистосовместимости (МНС, от англ. major histocompatibility complex). Высокополиморфные поверхностные клеточные структуры, которые принимают участие в реакциях отторжения, называются антигенами МНС, поскольку первоначально они были идентифицированы с использованием аллоантител, полученных при иммунизации мышей одной инбредной линии клетками мышей других линии, отличающихся только по генам МНС. Впоследствии (благодаря кроссинговерам в пределах МНС у мышей инбредных линий) удалось получить антитела, специфичные к продуктам разных областей этого комплекса, и применить эти антитела для его подробного картирования. Аналогичный серологический подход позволил выявить продукты генов МНС у человека, относящиеся к системе лейкоцитарных антигенов (HLA, от англ. human leucocyte antigens). Такое название продуктов МНС человека обусловлено способом их идентификации: они выявляются как антигены, связывание с которыми аллоантител вызывает комплемент-зависимое разрушение лейкоцитов. Хотя эти молекулы и названы антигенами, они проявляют антигенность только в том случае, когда распознаются иммунной системой не собственного, а генетически иного организма, например при аллотрансплантации органов.

Порядок расположения генов МНС человека и мыши схематично представлен на *рис. 7.3*. Кодируемые этими генами молекулы относятся к трем классам (I, II и III). Между молекулами первых двух классов имеются выраженные структурные различия; но при этом по общему плану строения все они однотипны, несмотря на существование в МНС весьма значительного числа разных генов классов I и II. В то же время между продуктами генов класса III, с одной стороны, и классов I и II, с другой, не найдено никакого функцио-

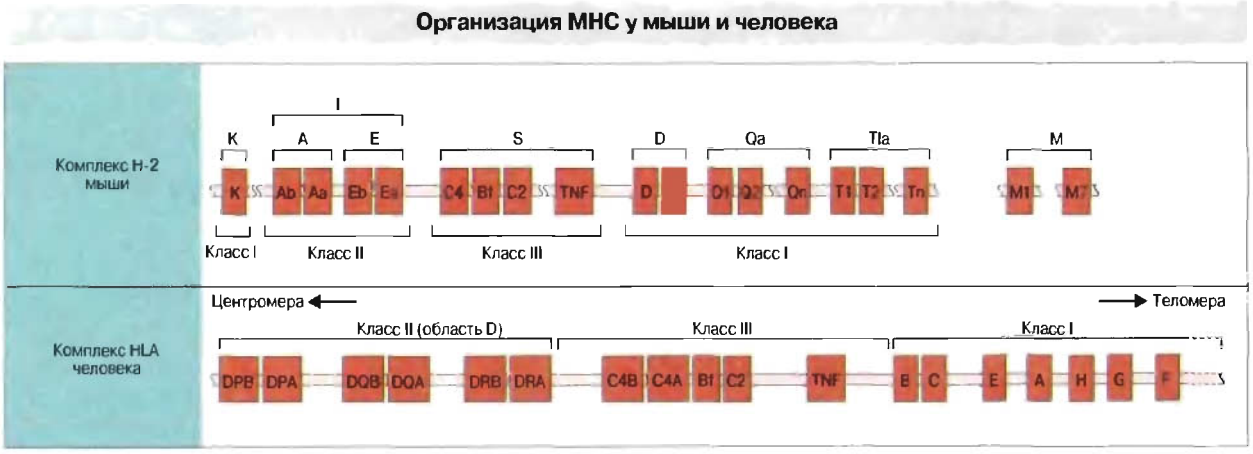


Рис. 7.3
Взаимное расположение областей МНС, а также их главных генов у мыши и человека. Характерное для человека расположение локусов, при котором гены класса II локализованы между центромерой и генами класса I, обнаружено у всех до сих пор изученных видов млекопитающих. МНС мыши и человека занимают в хромосоме области длиной 3000–4000 т.п.н.

нального или структурного сходства. Группа из более чем 20 генов класса III вообще функционально обособлена – некоторые из этих генов, например, кодируют белки системы комплемента (C4, C2, фактор B) и молекулы, участвующие в процессинге антигена. Поэтому в данной главе мы рассмотрим гены лишь тех локусов МНС, которые участвуют в активации Т-лимфоцитов, т. е. генов классов I и II, а также их продуктов.

Структура молекул МНС класса I

Схематичное изображение молекулы МНС класса I представлено на *рис. 7.4*. Она состоит из одной гликозилированной тяжелой цепи (45 кДа), нековалентно связанной с β_2-микроглобулином (12 кДа) – полипептидом, который встречается также в свободной форме в сыворотке крови.

Тяжелая цепь молекул МНС класса I имеет три внеклеточных домена

Тяжелая цепь молекул МНС класса I состоит из внеклеточной части (образующей три домена, которые обозначены, начиная с N-конца, α_1, α_2 и α_3), трансмембранного сегмента и цитоплазматического хвостового домена. Каждый из трех внеклеточных доменов содержит примерно 90 аминокислотных остатков, и все их вместе можно отделить от клеточной поверхности путем обработки папаином (протеолиз). В α_2- и α_3-доменах имеется по одной внутрицепочечной дисульфидной связи, замыкающей петлю из 63 и 86 аминокислотных остатков соответственно. Домен α_3 гомологичен по аминокислотной последовательности С-доменам иммуноглобулинов. В зависимости от вида и гаплотипа внеклеточная часть тяжелых цепей молекул МНС класса I в разной степени гликозилирована. Трансмембранный сегмент состоит из 25 преимущественно гидрофобных аминокислотных остатков и пронизывает липидный бислой, вероятнее всего, в α-спиральной конформации. Гидрофильный цитоплазматический домен из 30–40 остатков может быть фосфорилирован in vivo.

β_2-Микроглобулин необходим для экспрессии молекул МНС класса I

У человека β_2-микроглобулин (β_2m) имеет неизменную последовательность, но у мыши встречается в двух формах, различающихся одной аминокислотной заменой в позиции 85. По структуре этот белок соответствует С-домену иммуноглобулинов. Молекула β_2m способна также нековалентно взаимодействовать с неклассическими молекулами класса I, например с продуктами генов *CD1* (расположенных в хромосоме 1) у человека и с рецепторами к Fc, которые служат для переноса IgG материнского молока через кишечный эпителий у новорожденных крысят. β_2-Микроглобулин необходим для экспрессии на по-

Схема строения интактной молекулы МНС класса

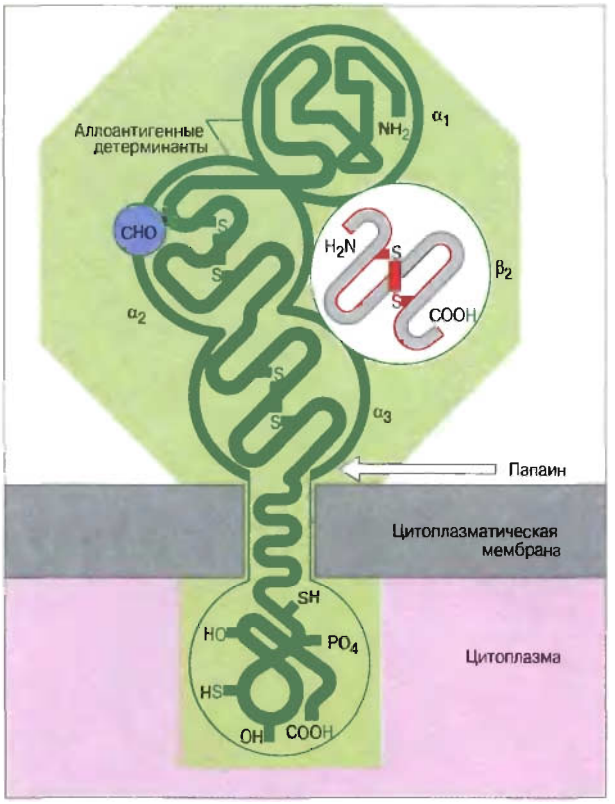


Рис. 7.4
Три внеклеточных глобулярных домена (α_1, α_2 и α_3) показаны темно-зеленым цветом. С α_3-доменом тесно ассоциирован β_2-микроглобулин (белок, который кодируется геном, расположенным вне МНС). Трехмерная структура β_2-микроглобулина (показана серым) стабилизирована внутрицепочечной дисульфидной связью (показана красным) и напоминает иммуноглобулиновый домен. Участки аминокислотной последовательности, специфичные для каждого индивида и поэтому несущие аллоантигенные детерминанты, имеются в α_1- и α_2-доменах. В α_2-домене к полипептидной цепи присоединен углеводный компонент (CHO). Папаин расщепляет молекулу вблизи наружной поверхности цитоплазматической мембраны.

верхности клеток всех молекул MHC класса I – у мутантных мышей, лишенных β_2m, они не экспрессируются.

α_1- и α_2-домены тяжелой цепи класса I образуют полость для связывания процессированного антигена

По данным рентгеноструктурного анализа удалось установить трехмерную структуру внеклеточной части (домены α_1, α_2, α_3 и β_2m) нескольких молекул MHC класса I человека (*рис. 7.5*). Как и предполагалось, укладка α_3- и β_2m-доменов подобна иммуноглобулиновой. Однако взаимодействие β_2m, при его угловом расположении под доменами α_1 и α_2, с доменом α_3 иное, чем между константными доменами в молекулах антител.

Внеклеточные домены молекулы MHC класса I

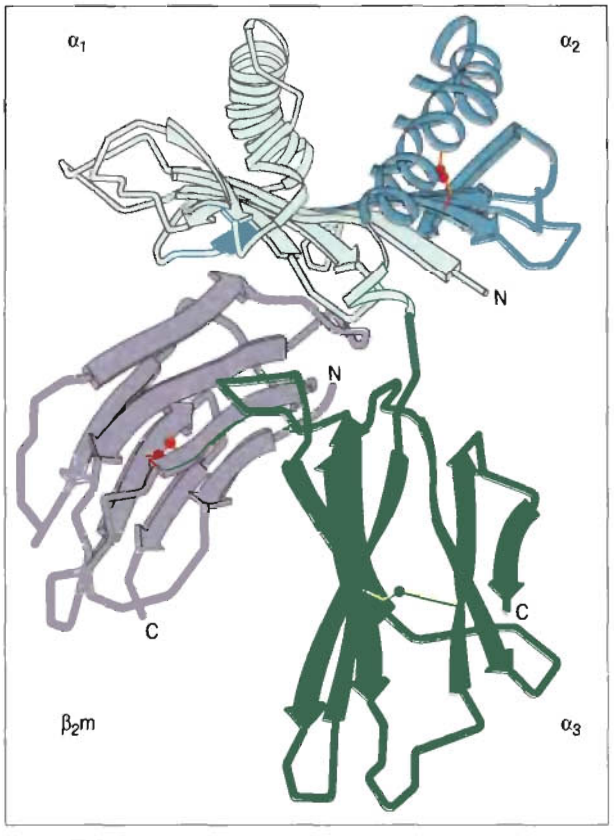


Рис. 7.5
Полипептидный остов внеклеточной части молекулы HLA-A2. Каждый из трех доменов тяжелой цепи взаимодействует с β_2m. Ясно видна антигенсвязывающая полость, сформированная доменами α_1 и α_2.

Верхняя поверхность молекулы HLA-A2

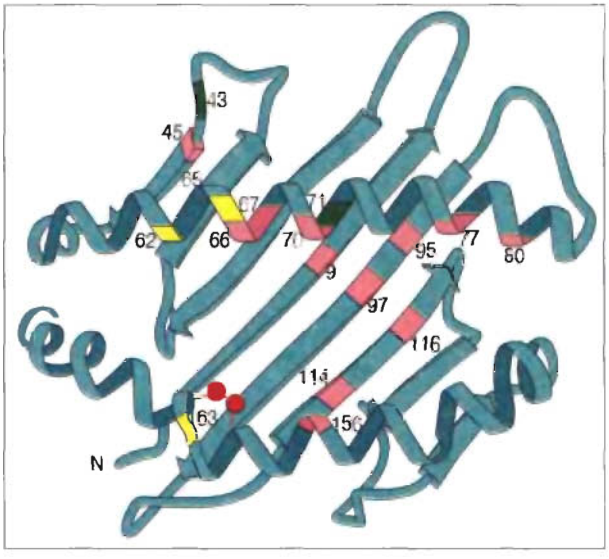


Рис. 7.6
Структура антигенсвязывающей полости в молекуле HLA-A2. Примерно с этой стороны ее «видит» Т-клеточный антигенраспознающий рецептор. Тяжелая цепь, свертываясь в домены α_1 и α_2, формирует в каждом из них по четыре антипараллельные β-складки и переходит в длинную α-спираль. Сблизившись, эти домены образуют один общий β-слой из восьми складок, покрытый сверху α-спиралями. Позиции наиболее вариабельных аминокислотных остатков выделены цветом. Пять таких остатков, выделенных розовым цветом на центральных β-складках в полости между двумя спиральными сегментами, могут образовывать контакт со связанными там антигенными пептидами. Шесть вариабельных остатков (также отмеченных розовым цветом) расположены на стороне спиралей, обращенной внутрь полости. Другие три вариабельных остатка (показаны желтым) находятся на стороне спиралей, обращенной кверху, и предположительно могут вступать в прямое взаимодействие с TкР. Вариабельные остатки, показанные темно-зеленым, занимают позиции, не влияющие на связывание антигенных пептидов. (По Bjorkman et al., 1987, с изменениями.)

Домены α_1 и α_2 вместе образуют платформу из восьми антипараллельных β-складок, поддерживающую две также антипараллельные α-спирали (*рис. 7.6*). Внутри α_2-домена N-концевая β-складка соединяется с α-спиралью дисульфидной связью.

α-Спирали α_1- и α_2-доменов разделяет удлиненная полость. В первом исследовании методом рентгеноструктурного анализа в такой полости

молекулы HLA-A2 была обнаружена диффузная «избыточная электронная плотность», указавшая на то, что эта полость служит местом связывания процессированного антигена. В пользу данной точки зрения говорит и то, что большинство вариабельных аминокислотных остатков, определяющих полиморфизм молекул класса I и входящих в структуру их Т-клеточных эпитопов, расположено именно в этой полости или поблизости от нее (см. *рис. 7.6*).

Изменение аминокислотной последовательности в молекулах МНС класса I разной специфичности сопровождается изменением формы антигенсвязывающей полости

Структурная основа связывания антигенных пептидов молекулами МНС класса I стала гораздо понятнее при сравнении молекул HLA-A2 и HLA-Aw68. Их аминокислотные последовательности различаются в 13 позициях: по шести замен имеет каждый из доменов α_1 и α_2 и по одной – домены α_3 (в позиции 245, определяющей взаимодействие с CD8). Десять вариабельных остатков α_1- и α_2-доменов расположены в той части тяжелой цепи, которая образует дно и боковую стенку антигенсвязывающей полости (*рис. 7.7*). За счет различий в аминокислотной последовательности сравниваемые молекулы HLA существенным образом различаются между собой конфигурацией антигенсвязывающей полости; соответственно различаются по строению и связываемые ими пептиды. Следует отметить, что данная полость – это не простое углубление с гладкими стенками, а структура сложной формы, имеющая на внутренней поверхности ряд субцентров связывания в виде складок и карманов, где возможно взаимодействие с боковыми цепями аминокислотных остатков (*рис. 7.8*). Например, боковые цепи или концы антигенных пептидов могут заполнить два кармана, которые открываются под спиралью α_1-домена. В зависимости от аминокислотных замен в образующих полость полипептидных последовательностях пространственное расположение этих карманов может изменяться (см. *рис. 7.8*). Такими изменениями определяются различия между молекулами МНС класса I по аффинности связывания антигенных пептидов; от величины этой аффинности зависит, в свою очередь, произойдет ли иммунный ответ на данный антиген.

HLA-A2 и HLA-Aw68

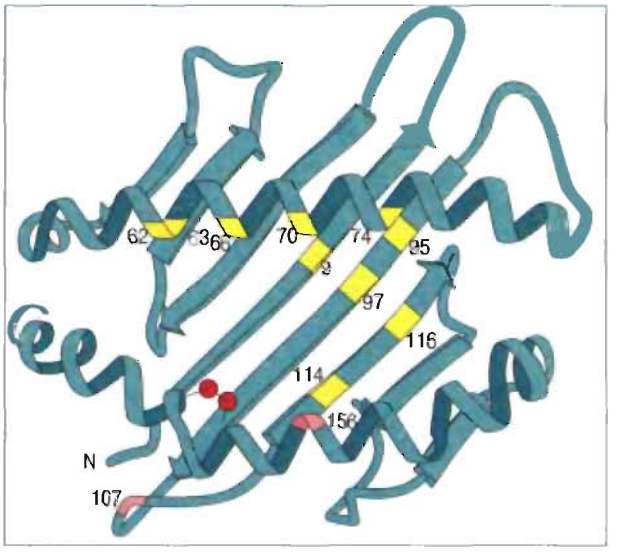


Рис. 7.7
Молекулы HLA-2A и HLA-Aw68 различаются по 13 аминокислотным остаткам, 12 из которых находятся в доменах α_1 и α_2. Десять вариабельных остатков, занимающих позиции на внутренних стенках антигенсвязывающей полости, показаны цветом (9 желтым, 1 розовым). (По Parham, 1989, с изменениями.)

HLA-Aw68 и HLA-A2

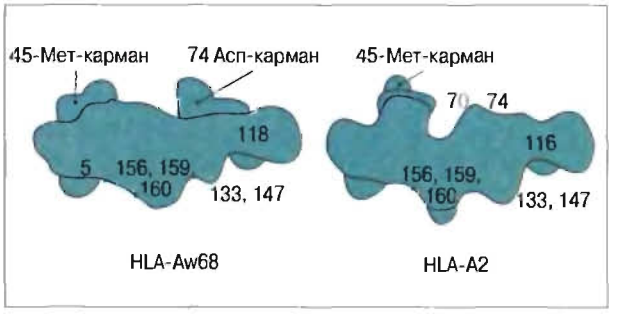


Рис. 7.8
Контурное изображение тех полостей, в которых происходит связывание пептидов чужеродного антигена молекулами HLA-A2 и HLA-Aw68. Показаны карманы, в которые предположительно погружаются аминокислотные остатки связанных антигенных пептидов.

Структура молекул МНС класса II

По общему строению молекулы класса II подобны молекулам класса I

Продукты МНС-генов класса II (A и E у мыши и DR, DQ и DP у человека) – это гетеродимерные

гликопротеины, состоящие из тяжелой (α) и легкой (β) полипептидных цепей. α-Цепи имеют мол. массу 30–34 кДа, β-цепи – от 26 до 29 кДа в зависимости от локуса кодирующего их гена. Ряд фактов указывает на близкое сходство α- и β-цепей по общему строению.

Внеклеточная часть обеих цепей свернута в два домена (α_1 и α_2 или β_1 и β_2) и соединена коротким пептидом с трансмембранным сегментом (длиной примерно 30 аминокислотных остатков), который переходит в цитоплазматический домен, содержащий примерно 10–15 остатков.

Подобно α_3-домену класса I и β_2m, домены α_2 и β_2 класса II имеют структурные характеристики константных доменов иммуноглобулинов. Дисульфидная связь внутри β_1-домена замыкает петлю из 64 аминокислотных остатков. Межцепочечные различия по мол. массе у продуктов MHC класса II обусловлены главным образом разной степенью гликозилирования: домены α_1, α_2 и β_1 N-гликозилированы, а β_2 нет.

С продуктами MHC класса II связаны корецепторные молекулы CD4. Результаты мутационного анализа HLA-DR1 указывают на то, что CD4 присоединяется к β_3-домену. Предположительно ассоциация CD4 с TкР-комплексом важна для мобилизации киназы $p56^{lck}$, которая связывается с цитоплазматическим сегментом CD4 и индуцирует тем самым активацию Т-клеток.

Антигенсвязывающая полость молекул MHC класса II вмещает более длинные пептиды

Трехмерная структура молекул HLA-DR1, установленная с помощью рентгеноструктурного анализа, оказалась подобной структуре молекул HLA класса I (*рис. 7.9*) при одном существенном отличии: антигенсвязывающая полость молекул HLA-DR1 сформирована не двумя доменами одной α-цепи, как у молекул класса I, а двумя доменами разных цепей αβ-гетеродимера. Как и в случае молекул класса I, здесь антигенные пептиды связываются в развернутой конформации. Однако в структуре молекул класса II полость больше открыта, поэтому в ней могут поместиться более длинные пептиды (*рис. 7.10* и *7.11*). Структурные особенности антигенсвязывающего

Внеклеточные домены молекул антигенов гистосовместимости

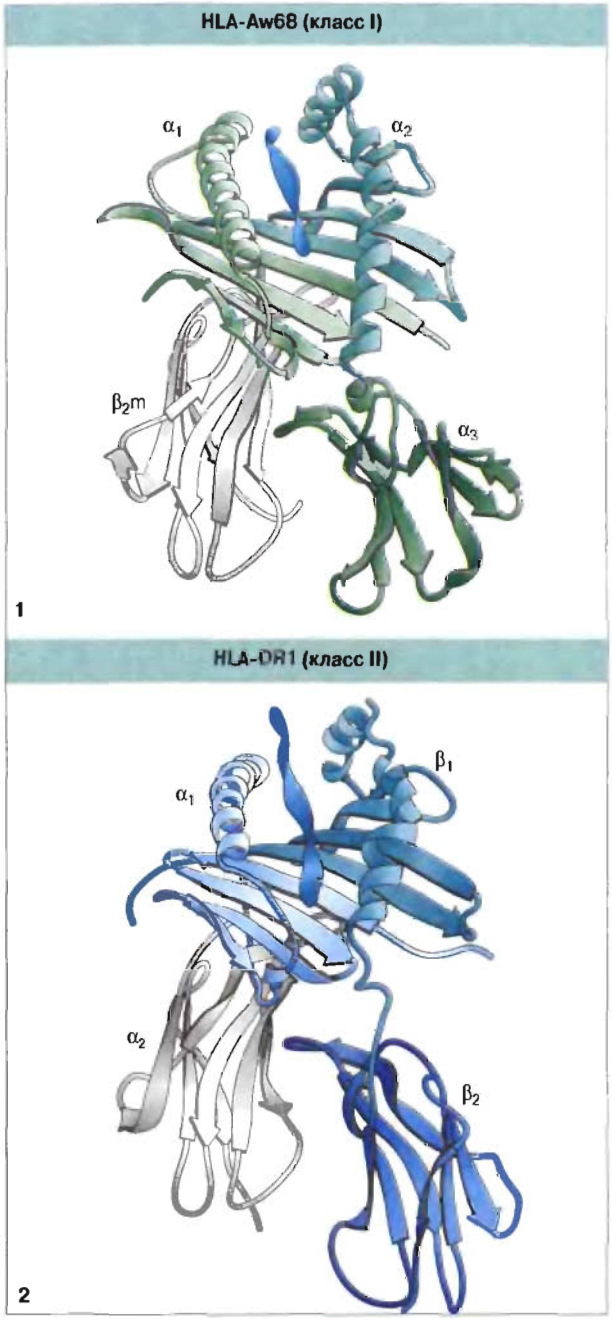


Рис. 7.9
«Ленточные» схемы внеклеточных доменов в молекулах антигенов гистосовместимости: **1)** HLA-Aw68 (класс I), **2)** HLA-DR1 (класс II). В антигенсвязывающей полости каждой молекулы виден занимающий ее антигенный пептид. Схемы отражают сходство трехмерной структуры молекул классов I и II. (С разрешения по Stern, Wiley . 1994.

Антигенсвязывающие центры молекул класса I (H-2Kb) и класса II (HLA-DR1)

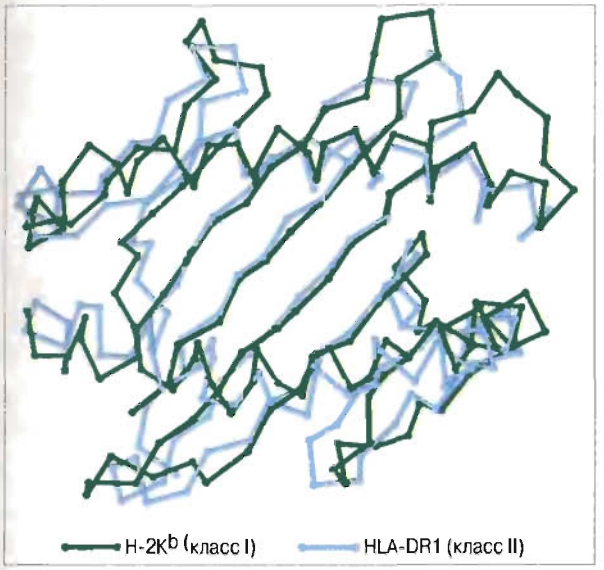


Рис. 7.10
Антигенсвязывающие полости (центры) молекул класса I (H-2K^b) и класса II (HLA-DR1), показанные как диаграммы расположения α-углеродных атомов (вид сверху). Можно заметить явное сходство между центрами обеих молекул при наличии определенных различий, часть из которых касается предпочтительной длины связываемого антигенного пептида (8–10 аминокислотных остатков у молекул класса I и более 12 аминокислотных остатков у молекул класса II). (С разрешения по Stern , Wiley, 1994.)

Водородные связи с основной цепью антигенного пептида

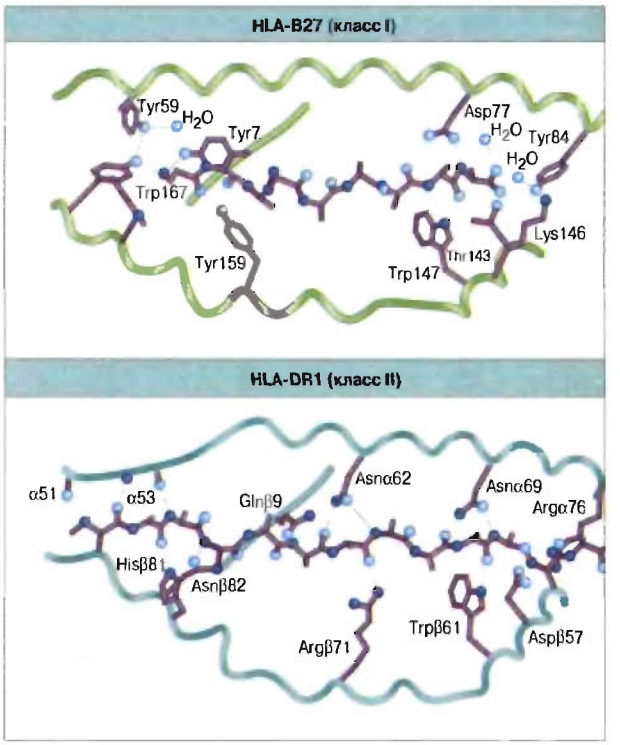


Рис. 7.11
Образование водородных связей между основной цепью антигенного пептида и молекулами класса I (HLA-B27) и класса II (HLA-DR1).(По характеру межмолекулярных взаимодействий подобного рода оба класса молекул МНС существенно различаются.) Главное различие между двумя классами состоит в том, что устойчивые водородные связи в случае молекул класса I сосредоточены на концах антигенного пептида, а в случае молекул класса II распределены по всей его длине. (С разрешения по Stern , Wiley, 1994.)

центра (полости) молекул класса II были выявлены путем рентгеноструктурного анализа комплексов HLA-DR1 с пептидом вируса гриппа (см. *рис. 7.11*). Внутри антигенсвязывающего центра ясно видны карманы, в которых размещаются пять боковых цепей связанного вирусного пептида; наличием этих карманов объясняется антигенсвязывающая специфичность молекул HLA-DR1.

ГЕНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МНС

Локусы класса I у мыши

Для МНС мыши принято обозначение H-2. Области H-2, в которых расположены гены классов I и II, обозначены буквами, например область локализации генов МНС класса I – H-2K. Сами гены МНС, а также их локусы высокополиморфны – разные линии мышей различаются как по структуре этих генов, так и по числу их аллелей в локусах. Поэтому различным комплексам H-2 даются еще и надстрочные буквенные обозначения, например гаплотип мышей линии BALB/c обозначен H-2^d.

МНС мыши (H-2) содержит три локуса класса I, но разные гаплотипы различаются по числу генов класса I

Гаплоидный геном мыши содержит около 30 генов класса I, но разные линии мышей могут различаться по числу этих генов. Гены класса I, кодирующие классические, выявляемые в сероло-

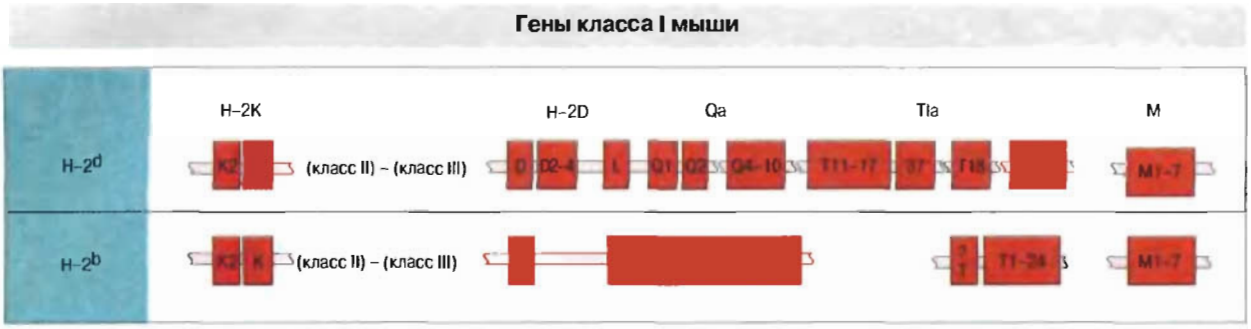


Рис. 7.12
Порядок расположения генов MHC класса I в хромосоме у мышей двух гаплотипов: BALB/c (H-2^d) и B10 (H-2^b). Между областями H-2K и H-2D расположены гены классов II и III. Чтобы аллели одного локуса разных гаплотипов расположить один под другим, на линейных картах произвольно сделаны разрывы, показанные фигурным краем. В области Tla локализованы многочисленные гены класса I с неизвестной функцией.

гических тестах антигены гистосовместимости, находятся в локусах H-2K, H-2D и H-2L. Функциональное значение большинства остальных генов класса I, картированных в локусах Qa, Tla и M (*рис. 7.12*), остается пока неясным, хотя известно, что посредством молекул Qa можно вызвать активацию Т-клеток.

Строение области H-2K одинаково у всех до сих пор изученных линий мышей. В ней расположены два гена класса I, названные K и K2 (см. *рис. 7.12*). Ген H-2K кодирует антиген H-2K, который экспрессируется и серологически выявлен на клетках большинства типов, тогда как характер экспрессии гена H-2K2 варьирует в зависимости от линии.

В гаплотипах H-2^d и H-2^b область H-2D/H-2L содержит разное число генов класса I (см. *рис. 7.12*). У мышей BALB/c (гаплотип H-2^d) в этой области картированы пять таких генов. Два из них кодируют серологически выявляемые антигены H-$2D^d$ и H-$2L^d$. Три остальных гена класса I локализованы в участке хромосомы между генами H-$2D^d$ и H-$2L^d$ (расположенными соответственно проксимально и дистально) и названы $D2^d$, $D3^d$ и $D4^d$. Функция их неизвестна. В то же время у мышей B10 (гаплотип H-2^b) в области H-2D идентифицирован только один ген класса I.

Гены локусов Qa, Tla и M кодируют «неклассические» молекулы MHC класса I

Продукты генов, расположенных в локусах Qa, Tla и M, по структуре сходны с описанными выше молекулами класса I, поэтому их называют иногда «неклассическими» молекулами класса I. Локус Qa занимает участок длиной примерно 200 т.п.н. дистальнее области H-2D/L (см. *рис. 7.12*) и содержит гены серологически выявляемых специфичностей Qa-2, 3, 4 и 5, а также кластер, включающий от 8 (BALB/c) до 10 (B10) генов класса I.

В локусе Tla, который первоначально считали местом расположения генов, кодирующих только антигены TL (от англ. thymus leukaemia), т. е. антигены клеток тимуса и Т-клеточных лейкозов, впоследствии было обнаружено множество генов класса I и большое число структурных различий между гаплотипами H-2b и H-2d (линии B10 и BALB/c соответственно) (см. *рис. 7.12*). Расположенный между областями K и A район M содержит ряд идентифицированных недавно генов класса I, названных M1–M7, с низкой степенью полиморфизма.

MHC человека содержит три локуса класса I

У человека область генов класса I содержит три локуса, названных HLA-A, HLA-B и HLA-C, и занимает участок длиной более 1500 т.п.н. (*рис. 7.13*). Гены каждого локуса кодируют тяжелые цепи «классических» антигенов MHC класса I. При более детальном изучении данной области вне этих локусов были найдены многочисленные дополнительные гены, кодирующие белки MHC класса I. Это гены локусов HLA-E, HLA-F и HLA-G. Продукт гена HLA-G экспрессируется, как установлено, на клетках плаценты во вневорсиночном цитотрофобласте, защищая их предположительно от материнских НК-клеток (см. гл. 10). Другие гены класса I – возможные аналоги



Рис. 7.13
В хромосоме человека гены класса I расположены ближе к теломере, чем гены классов II и III. В дополнение к генам классических трансплантационных антигенов (HLA-A, HLA-B и HLA-C) в этом участке идентифицировано несколько «класс I-подобных» генов, вероятно, эквивалентных мышиным генам области Tla/Qa. Здесь же содержится ряд других генов, отличных от генов класса I.

мышиных генов Qa, Tla и M – локализованы вблизи локусов HLA-G и HLA-A.

Гены класса II обнаружены в области H-2I

У мыши α- и β-цепи молекул класса II кодируются отдельными генами, расположенными в области I комплекса H-2 (*рис. 7.14*). Так, цепи α и β молекулы A кодируются генами Aa и Ab, а те же цепи молекулы E – генами Ea и Eb соответственно. (В обозначении гена сначала указывают локус, а затем кодируемую цепь.) Белковые продукты нескольких других клонированных генов a и b класса II идентифицировать не удалось. Один из них, Pb, – это псевдоген, а два других, Ob и Eb2, возможно несут ту или иную функцию. Последние два гена проявляют низкую степень полиморфизма и определенно транскрибируются, но, неясно, происходит ли их трансляция.

Область H-2I почти полностью картирована. Проксимально она соседствует в хромосоме с областью H-2R^k, гены которой кодируют молекулы класса I. У мышей гаплотипов b, s, f и q не наблюдается экспрессии молекул класса II, кодируемых генами субрайона I-E. При гаплотипах b и s отсутствует транскрипция гена Ea, но определяется нормальная цитоплазматическая концентрация цепей Eβ. У мышей гаплотипов f и q не образуются цепи Eα и Eβ.

Гены класса II человека расположены в области HLA-D

Гены области HLA-D кодируют не менее шести вариантов α- и десяти вариантов β-цепей, обра-

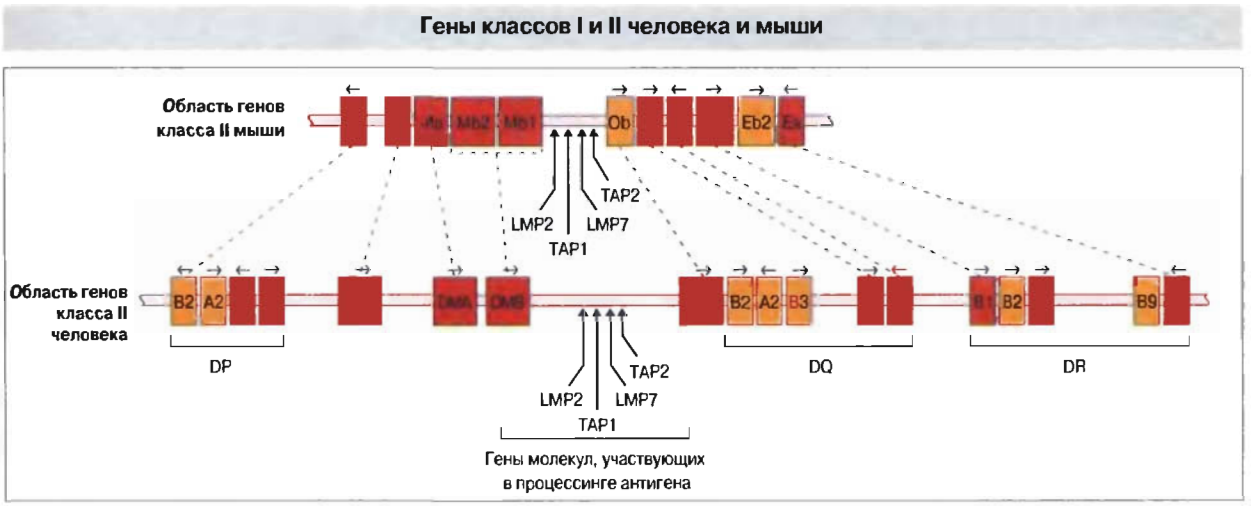


Рис. 7.14
Порядок расположения генов MHC у мыши и человека. Прерывистыми линиями соединены гомологичные гены. Экспрессируемые гены классов I и II отмечены оранжевым цветом, псевдогены – желтым.

зующих молекулы класса II (см. *рис. 7.14*). Эти гены занимают три локуса – DR, DQ и DP. К продуктам их экспрессии относится большинство молекул класса II у человека. Идентифицированы также дополнительные гены класса II, расположенные вне этих локусов. Локус DR содержит один ген α-цепи (DRA) и до девяти генов β-цепей (DRB1-9), включая псевдогены. Известно несколько вариантов расположения генов внутри этого локуса. В каждом из локусов DQ и DP имеется по одному экспрессируемому гену α- и β-цепей и дополнительная пара аналогичных генов, функциональных или нефункциональных.

Как и в аналогичных молекулах мыши, α-цепи DR, DQ и DP человека в составе молекулы связаны с β-цепями, кодируемыми преимущественно генами того же самого локуса. С помощью специфических антител обнаружено, что при образовании молекул HLA-DP класса II соединяются продукты генов DPA1 и DPB1. Подобно этому, гены DQA1 и DQB1 кодируют антигены HLA-DQ.

Организация и протяженность области DRB варьирует в зависимости от гаплотипа (*рис. 7.15*),

Число локусов DRB различно в разных гаплотипах

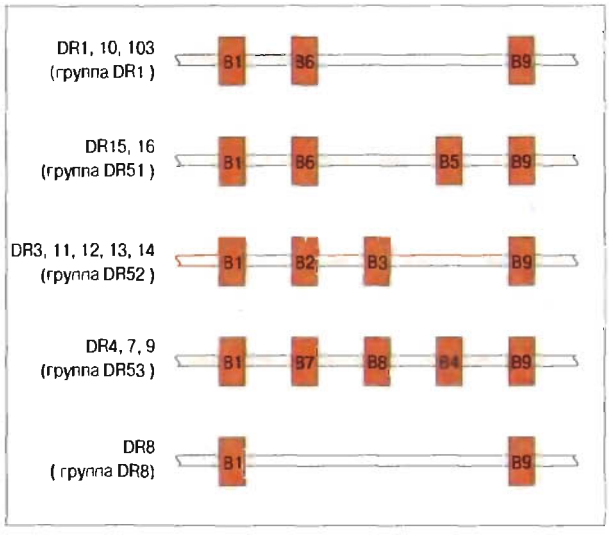


Рис. 7.15
Число локусов DRB различно в разных гаплотипах. Показано их расположение для гаплотипов DR1, DR10, DR103 (верхняя линия), DR15 и DR16 (вторая сверху линия) и т. д. Из этих локусов не все служат матрицами для синтеза мРНК DRβ-цепей.

как и число экспрессируемых вариантов β-цепей. Локус DRB2 представляет собой псевдоген. Гены DRB1, DRB3 и DRB4 обычно функциональны, тогда как DPA2, DPB2 и DQB3 – это чаще всего псевдогены и поэтому они не экспрессируются. Гены DNA, DOB и DQA2 могут быть функциональными.

Область HLA-D содержит также гены белков, участвующих в презентации антигена, но не экспрессируемых на клеточной поверхности. Эти гены и их продукты рассмотрены в гл. 9.

Методами картирования длинных участков ДНК удалось выяснить порядок расположения всех идентифицированных генов класса II в области HLA-D. Вся эта область составляет отрезок ДНК длиной примерно 1000 т.п.н. Линейное расположение и ориентация гомологичных локусов класса II у человека и мыши совпадают.

Полиморфные участки молекул MHC сосредоточены в основном в области антигенсвязывающего центра

Уникальная особенность MHC – это чрезвычайный полиморфизм (структурная вариабельность) кодируемых его генами молекул. Однако не все продукты MHC полиморфны в одинаковой степени. Антигены Qa, Tla и M, близкие по структуре к молекулам класса I, гораздо менее полиморфны, чем классические антигены классов I и II. Перечень специфичностей антигенов HLA классов I и II, а также аллелей каждого локуса HLA приведен в приложении I.

Структурные различия между вариантами молекулы данного класса касаются в основном определенных участков полипептидных цепей; например, у молекул класса I они сосредоточены в доменах α_1 и α_2. Домен α_3, по-видимому, более консервативен.

Степень изменчивости молекул класса II зависит от локуса и может различаться у разных цепей; например, исключительным полиморфизмом обладают цепи DRβ, DQβ и в несколько меньшей степени DPβ. Цепи DQα вариабельны, тогда как DRα считаются инвариантными, а DPα имеют лишь две аллельные формы. В аутбредных популяциях у носителей двух гаплотипов MHC могут экспрессироваться гибридные молекулы класса II с цепями разных гаплотипов, что вносит дополнительное структурное разнообразие.

Большинство вариабельных аминокислотных остатков в антигенах MHC классов I и II сосредо-

точено в верхней части молекулы, где она образует глубокую полость для связывания чужеродного пептида. Более того, почти все позиции аминокислотных замен собраны вместе на дне этой полости или на обращенных внутрь полости сторонах α-спиралей. Функциональный смысл такого скопления вариабельных остатков (в отношении распознавания антигена Т-клетками) подробнее рассмотрен в гл. 9.

Вопросы для размышления

- В антигенсвязывающую полость молекулы класса I помещается пептид из 8–9 аминокислотных остатков. Существует ли причина, по которой у человека не могло бы быть молекул MHC, вмещающих пептиды из 3 или 30 остатков?
- Определение трехмерной структуры молекул классов I и II позволило понять механизм связывания ими антигенных пептидов. В связи с этим высказано предположение, что иммунный ответ можно усиливать или подавлять, вводя в организм пептиды, которые связываются с молекулами MHC. Каким образом знание механизма связывания могло бы помочь в создании лекарственных препаратов из таких пептидов?
- В отличие от В-клеточного рецептора ТкР обычно обладает низким сродством к антигену и распознает его только в комплексе с молекулами MHC класса I или II. Во взаимодействиях Т-клеток с клетками-мишенями ключевая роль принадлежит также вспомогательным молекулам клеточной поверхности, выполняющим ряд функций. Какие процессы, кроме распознавания антигена, происходят в том случае, когда Т-клетка вступает в контакт с инфицированной вирусом клеткой-мишенью?
- По сравнению с молекулами класса I антигенсвязывающая полость молекул класса II может вмещать пептид большей длины. Какое этим создается преимущество?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Bentley G.A., Mariuzza R.A. 1996. The structure of the T cell antigen receptor. *Annu. Rev. Immunol.* **15**: 563–590.

Bjorkman P.J., Parham P. 1990. Structure, function and diversity of Class I major histocompatibility complex molecules. *Annu. Rev. Biochem.* **59**: 253–288.

Bjorkman P.J., Saper M.A., Samraoui B. et al. 1987. The structure of the human Class I histocompatibility antigen HLA-A2. *Nature* **329**: 506–512.

Bjorkman P.J., Samraoui B., Bennett W.S. et al. 1987. The foreign antigen binding site and T-cell recognition regions of Class I histocompatibility antigens. *Nature* **329**: 512–516.

Bodmer J.G., Marsh S.E., Albert E.D. et al. 1994. Nomenclature for factors of the HLA system, 1994. *Tissue Antigens* **44**: 1–18.

Brenner M.B., MacLean J., Dialynas D.P. et al. 1986. Identification of a putative second T-cell receptor. *Nature* **322**: 145–149.

Brown J.H., Jardetzky T.S., Gorga J.C. et al. 1993. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* **364**: 33–39.

Carosella E.D., Dausset J., Kirzenbaum H. 1996. HLA-G revisited. *Immunol. Today* **17**: 407–409.

Clevers H., Alarcon B., Wileman T. et al. 1988. The T-cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble. *Annu. Rev. Immunol.* **6**: 629–662.

Garcia K.C., Degano M., Stanfield R.L. et al. 1996. An αβ T cell receptor structure at 2.5Å and its orientation in the TCR-MHC complex. *Science* **274**: 209–219.

Garratt T.P.J., Saper M.A., Bjorkman P.J. et al. 1989. Specificity pockets for the side chains of peptide antigens in HLA-w68. *Nature* **342**: 692–696.

Green N.M. 1991. The semiotics of charge. *Nature* **351**: 349.

Hass W., Pereira P., Tonegawa S. 1993. Gamma/delta cells. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 637–685.

Koop B.F., Hood L. 1994. Striking sequence similarity over almost 100 kilobases of human and mouse T-cell receptor DNA. *Nat. Genet.* **7**: 48–53.

Lefranc M.-P., Rabbitts T.N. 1989. The human T-cell receptor γ (TRG) genes. *Trends. Biochem. Sci.* **14**: 214–218.

Madden D.R., Gorga J.C., Strominger L. et al. 1991. The structure of HLA-B27 reveals nonamer self-peptides bound in an extended conformation. *Nature* **353**: 321–325.

Manolios N., Letourneur F., Bonifacino J.S. et al. 1991. Pairwise cooperative and inhibitory interactions describe the assembly and probable structure of the T-cell antigen receptor. *EMBO J.* **10**: 1643–1651.

Neefjes J.J., Momburg F., Hämerling B.J. 1993. Selective and ATP-dependent translocation of peptides by the MHC-encoded transporter. *Science* **261**: 769–771.

Powis S.H., Trowsdale J. 1994. Human major histocompatibility complex genes. *Behring Inst. Mitt.* **94**: 17–25.

Raulet D.H. 1994. How γδ T cells make a living. *Curr. Biol.* **4**: 246–251.

Salter R.D., Benjamin R .J., Wesley P.K. et al. 1990. A binding site for the T-cell co-receptor CD8 on the α_3 domain of HLA-A2. *Nature* **345**: 41–46.

Sloan-Lancaster J., Allen P.M. 1996. Altered peptide-ligand induced partial T cell activation: molecular mechanisms and role in T cell biology. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 1–27.

Stern L.J., Wiley D.C. 1994. Antigenic peptide binding by class I and class II histocompatibility proteins. *Structure* **2**: 245–61.

Stern L.J., Brown J.H., Jardetzky T.S. et al. 1994. Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with an influenza virus peptide. *Nature* **368**: 215–221.

Weiss A., Littman D.R. 1994. Signal transduction by lymphocyte antigen receptor. *Cell* **76**: 263–274.

Williams A.F., Barclay A.N. 1988. The immunoglobulin superfamily – domains for cell surface recognition. *Annu. Rev. Immunol.* **6**: 381–405.

Источники разнообразия антигенраспознающих структур

8

- Благодаря огромному разнообразию антител, синтезируемых В-клетками, и антигенраспознающих рецепторов, экспрессируемых Т-клетками, **иммунная система способна распознавать множество различных антигенов и отвечать на них.**
- **Молекула иммуноглобулина состоит из тяжелых и легких цепей;** легкие цепи могут относиться к κ- или λ-типу. Общее количество возможных вариантов антигенсвязывающих центров рассчитывается как произведение чисел различных тяжелых и легких цепей.
- **Легкие цепи иммуноглобулинов кодируются генными сегментами V и J;** в кодировании тяжелых цепей также участвуют сегменты V и J, но дополнительное разнообразие вносят сегменты D.
- **Рекомбинации ограниченного числа генных сегментов V, D и J** создают бесконечное число вариабельных доменов разной специфичности.
- После антигенной стимуляции в генах **легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов** происходят точечные соматические мутации. Гены Т-клеточных рецепторов при этом не подвергаются изменениям.
- **В кодировании ТкР участвуют четыре группы генов:** гены α и β экспрессирует большинство периферических Т-клеток, а гены γ и δ – одна из субпопуляций Т-клеток тимуса и небольшая часть периферических Т-клеток.
- **Разнообразие ТкР,** подобно разнообразию антител, создается в результате рекомбинаций между генными сегментами V, D и J, происходящих в каждом из локусов α-, β-, γ- или δ-цепей с небольшими различиями в механизмах.
- **Рекомбинацию генных сегментов V, D и J,** кодирующих иммуноглобулины и Т-клеточные рецепторы, регулируют (по крайней мере отчасти) два активирующих ее гена (RAG-1 и RAG-2).
- **Кроме простых перестановок генных сегментов V, D и J** в создании разнообразия иммуноглобулинов и ТкР имеют значение вставки добавочных нуклеотидов («N-региональная» вариабельность), изменение позиций стыковки генных сегментов и рамок считывания сегментов D.
- **Переключение изотипа иммуноглобулинов обусловлено рекомбинацией VDJ-генов** с различными С-генами и дифференциальным сплайсингом РНК.

Способность иммунной системы распознавать антигены целиком зависит от антител, синтезируемых В-клетками, и антигенсвязывающих рецепторов, экспрессируемых Т-клетками. Обе эти клеточные популяции способны распознать множество разнообразных антигенов, но разными путями. Хотя антитела отличаются от Т-клеточных рецепторов (ТкР), разнообразие антигенной специфичности тех и других формируют весьма сходные механизмы, которые и будут рассмотрены в данной главе.

Благодаря своему поразительному разнообразию по специфичности центров связывания антигена антитела обеспечивают распознавание миллионов различных антигенов, встречающихся в окружающей среде. Кроме того, у антител каждого класса имеется характерная эффекторная область молекулы: например, IgE может связываться с Fc-рецепторами тучных клеток, тогда как IgG способен присоединяться к фагоцитам. Подсчитано, что структурных вариантов антител в организме образуется гораздо больше, чем всех прочих белков вместе взятых. Число синтезируемых организмом вариантов антител фактически превышает количество генов в нашем геноме. Как может возникать разнообразие такого масштаба? Первоначальные представления о процессах образования антител с годами существенно изменились, но все же вызывает удивление, как удалось Эрлиху в начале столетия своей гипотезой боковых цепей вплотную приблизиться к современным взглядам (*рис. 8.1*). Его идея о селекции антигеном клеток, образующих антитела, почти совпадает с современной клонально-селекционной теорией, исключая размещение нескольких рецепторов разной специфичности на одной и той же клетке.

ТЕОРИИ ОБРАЗОВАНИЯ АНТИТЕЛ

В послеэрлиховский период представления об образовании антител утратили первоначальную

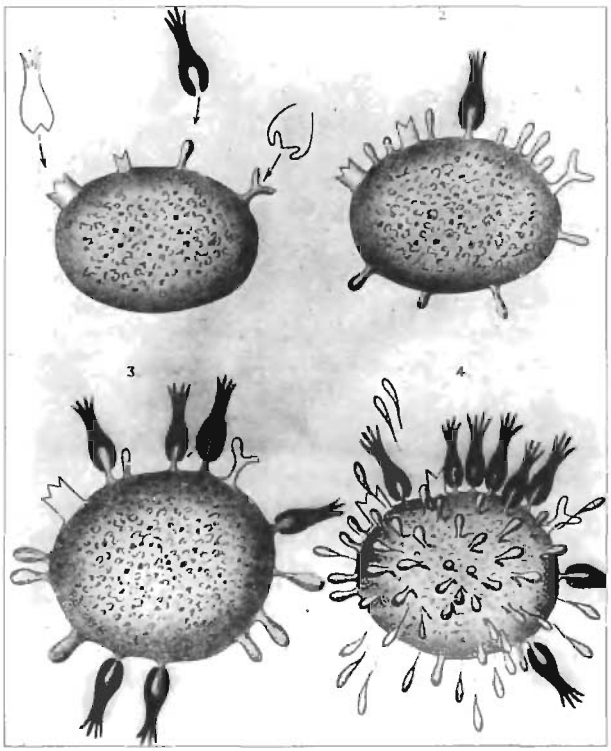


Рис. 8.1
Предложенная Эрлихом теория боковых цепей. Эрлих предположил, что соединение антигена с уже имеющимся рецептором на поверхности В-клетки (теперь известно, что это мембраносвязанный иммуноглобулин) заставляет ее синтезировать и секретировать повышенное количество таких рецепторов. Хотя, как показано на рисунке, Эрлих считал, что одна клетка способна производить антитела, связывающие более чем один тип антигена, тем не менее он предвосхитил и клонально-селекционную теорию иммунитета, и фундаментальное представление о существовании рецепторов к антигену еще до контакта с ним иммунной системы.

простоту. Необходимость их пересмотра возникла в связи с тем, что химики научились синтезировать новые, отсутствующие в природе органические соединения и, как показал Ландштейнер, иммунная система оказалась способной отвечать образованием специфических антител на каждое из них. Сама возможность появления в результате естественного отбора в клетках иммунной системы тех генов, которые необходимы для образования антител ко всем этим новым, синтетическим веществам, казалась невероятной. В итоге появилась инструктивная гипотеза образования антител, согласно которой антиген, воздействуя на гибкую молекулу иммуноглобулина («инструктируя»), формирует в ней комплементарный себе центр связывания. Стремительный прогресс молекулярной биологии в 50–60-х гг. сделал инструктивную гипотезу образования антител неприемлемой, так как стало очевидным, что механизма «инструктирующего» действия антигена просто не существует. На новом витке развития научной мысли предпочтение вновь завоевали селекционные идеи. Почти одновременно Ерне и Бернетом была выдвинута клонально-селекционная теория, утверждавшая, что каждый лимфоцит образует иммуноглобулины только одной специфичности и что антиген выбирает и стимулирует клетки, несущие специфичные именно к нему антитела.

Однако еще оставался без ответа вопрос об источниках разнообразия антител. Теоретическое допущение о существовании своего особого гена для антител каждой из множества специфичностей немедленно открыло другую проблему. Половина аминокислотной последовательности любой легкой и четверть любой тяжелой цепи иммуноглобулинов всегда вариабельна, а остальная часть константна. Каким образом в случае предполагаемого множества генов антител возможно сохранение неизменной последовательности в константных областях иммуноглобулиновых цепей? На этот вопрос ответили Драйер и Беннетт, предположив, что вариабельные и константные области кодируются отдельными генами, причем существует множество генов для вариабельных (V) и один или весьма ограниченное число генов для константных (C) областей. Теперь оставалось только объяснить источник многообразия вариабельных областей! Основой для этого стала идея соматического мутагенеза, согласно которой из относительно небольшого числа гаметных генов (гены зародышевой линии) в течение жизни индивида возникает множество модифицированных, т. е. подвергшихся мутациям генов. Кроме того, было высказано предположение, что полный V-ген может появляться в результате рекомбинации ряда генных сегментов. При разрезании и соединении фрагментов ДНК между ними могут встраиваться добавочные нуклеотиды, создавая дополнительную вариабельность, названную N-региональной, поскольку новая нуклетидная последовательность отличается от гаметной. Вместо мутаций источником разнообразия вариабельных областей могла бы служить, как предполагалось, генная конверсия с участием набора

псевдогенов. В итоге было определено пять возможных источников разнообразия антигенраспознающих структур:

- множественность гаметных генов V-областей;
- соматический мутагенез;
- соматические рекомбинации между сегментами, образующими полный V-ген;
- генные конверсии;
- вставки добавочных нуклеотидов.

Сегодня известно, что у млекопитающих для создания разнообразия антител могут действовать все эти пять механизмов (*рис. 8.2*). Примечательно, что акулы располагают значительным числом кодирующих антитела генов и «не испытывают необходимости» в соматических рекомбинациях, тогда как у курицы число гаметных генов антител ограниченно и для этого вида характерен высокий уровень генной конверсии (см. гл. 15).

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Молекулы иммуноглобулинов состоят из легких и тяжелых полипептидных цепей. Легкие цепи относятся к κ- или λ-типу. Теоретически любая легкая цепь может объединяться с любой тяжелой, поэтому количество возможных антигенсвязывающих центров разной специфичности равно произведению числа цепей одного типа и числа цепей другого. Например, если имеется 10^4 различных легких цепей, способных объединиться с любой из 10^4 разных тяжелых цепей, то вполне возможно появление 10^8 молекул антител различной специфичности. У каждого типа цепей существует свой собственный механизм увеличения многообразия, поскольку они кодируются генами, локализованными в разных хромосомах (*рис. 8.3*).

Полиморфизм иммуноглобулинов проявляется как вариабельность разных частей их молекул (*рис. 8.4.*). Рассмотрим вначале идиотипическую вариабельность, обусловленную разнообразием структуры антигенсвязывающих центров.

Ву и Кэботом был проведен анализ аминокислотных последовательностей большого числа легких и тяжелых цепей различных по специфичности антител. Источником идентичных иммуноглобулинов служили миеломы (моноклональные В-клеточные опухоли). Результаты показа-

Источники разнообразия антител

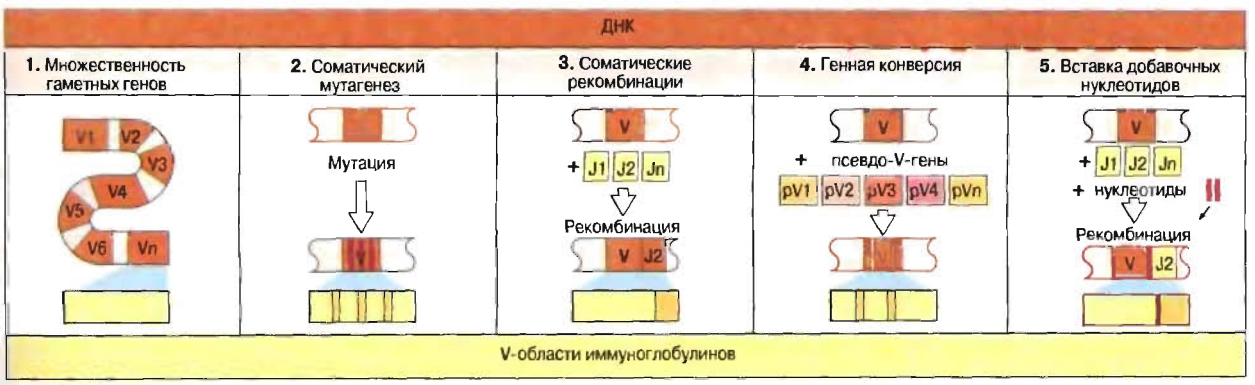


Рис. 8.2
Пять возможных источников структурного разнообразия V-областей H- и L-цепей иммуноглобулинов.
1. Многочисленность гаметных генов. Имеется большое число отдельных неперестроенных генов (V1–Vn), каждый из которых кодирует V-домен отдельной специфичности.
2. Соматический мутагенез. В онтогенезе В-клеток в результате мутаций гаметного V-гена в разных В-клеточных клонах возникают различные V-гены.
3. Соматическая рекомбинация. В онтогенезе В-клеток происходит рекомбинация ряда генных сегментов (J1–Jn), соединяющихся с основной частью V-гена. В результате синтезируется белок, отдельные элементы которого кодируются разными генными сегментами.
4. Генная конверсия. Отрезки ДНК, принадлежащие ряду псевдо-V-генов, могут копироваться в функциональном V-гене, меняя его исходную нуклеотидную последовательность.
5. Вставка добавочных нуклеотидов. При рекомбинации перед соединением вырезанных V- и J-сегментов ДНК возможно встраивание между ними добавочных нуклеотидов, кодирующих дополнительные аминокислотные остатки V-областей.

Все эти пять механизмов служат источниками разнообразия антител у млекопитающих.

Хромосомная локализация генов МНС и антигенсвязывающих рецепторов

Пептид	Мышь	Человек
IgH	12	14 (15, 16)
λ	16	22
κ	6	2
α-цепь ТкР	14	14
β-цепь ТкР	6	7
γ-цепь ТкР	13	7
δ-цепь ТкР	14	14
МНС	17	6
β_2-Микроглобулин	2	15

Рис. 8.3
Числа означают номера хромосом, в которых локализованы гены, кодирующие различные полипептиды иммуноглобулинов, ТкР и продуктов МНС человека и мыши. Заметьте, что все локусы располагаются совершенно раздельно, за исключением локуса δ-цепей ТкР, локализованного среди генов локуса α-цепей ТкР.

Вариабельность структуры иммуноглобулинов

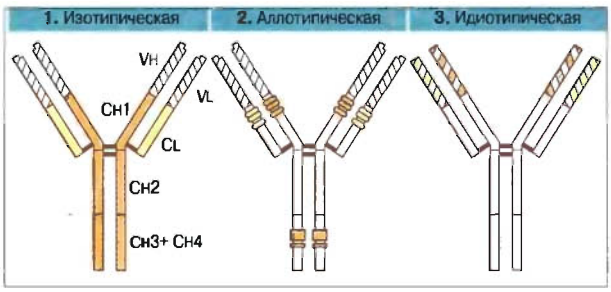


Рис. 8.4
Все иммуноглобулины построены из разного количества сходных четырехцепочечных единиц и могут иметь варианты трех типов:
1. Изотипические варианты, обусловленные экспрессией гаметных генов, присутствующих у всех особей данного вида и кодирующих тяжелые (μ, δ, γ, ε, α) и легкие (κ и λ) цепи, а также «каркасные» аминокислотные остатки в составе их V-областей (подгруппы).
2. Аллотипические варианты, обусловленные внутривидовой аллельной изменчивостью.
3. Идиотипические варианты, представляющие разнообразие антигенсвязывающих центров (паратопов) и обусловленные, в частности, изменчивостью гипервариабельных участков V-областей.

ли, что вариабельность легких цепей λ-типа обусловлена аминокислотными заменами в трех гипервариабельных участках, окруженных относительно неизменными «каркасными» остатками. Позднее, когда было установлено, что именно эти гипервариабельные участки контактируют с антигеном, они были названы участками, «определяющими комплементарность» (CDR, от англ. complementarity-determining regions).

Варибельность легких цепей l-типа

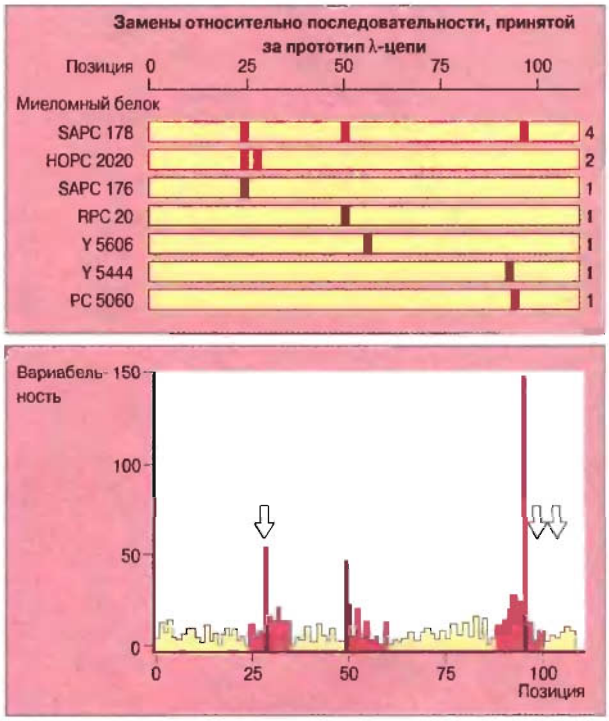


Рис. 8.5
Аминокислотная последовательность семи мышиных миеломных λ1-белков. В позициях, окрашенных желтым цветом, находятся те же аминокислотные остатки, что и в последовательности, принятой за прототип (MOPC 104E). Красным цветом отмечены позиции, в которых имеются замены. Справа указано число специфических нуклеотидных замен в ДНК, которые требуются, чтобы получить наблюдаемые изменения в аминокислотной последовательности. В нижней части рисунка помещен график вариабельности аминокислотных остатков в разных позициях легких цепей (по Кэботу и Ву), рассчитанной как частное от деления числа различных остатков в данной позиции на частоту наиболее часто встречающегося остатка (ср. гл. 6). В некоторых цепях были обнаружены дополнительныв остатки (в позициях, указанных стрелками), но здесь для лучшей сопоставимости они опущены.

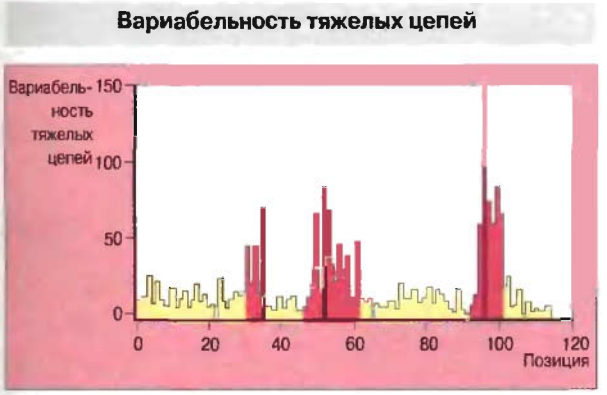


Рис. 8.6
График Ву и Кэбота, показывающий, что вариабельные аминокислотные остатки сосредоточены в трех участках V-области тяжелых цепей.

Вначале были изучены CDR мыши – вида, особенность которого состоит в ограниченном разнообразии λ-цепей (их содержат менее 5% антител) из-за весьма малого числа Vλ-генов. Так, например, из 19 λ-цепей, для которых была определена аминокислотная последовательность, 12 оказались идентичными, а 7 остальных отличались одна от другой и от последовательности, принятой за прототип, всего лишь несколькими остатками (*рис. 8.5*).

Вариабельные остатки в составе тяжелых цепей подобным же образом сосредоточены в трех гипервариабельных участках (CDR), с обеих сторон окруженных почти неизменными «каркасными» участками (*рис. 8.6*), которые по сходству или идентичности можно разделить на группы (*рис. 8.7*).

РЕКОМБИНАЦИИ ГЕНОВ Ig

Ген, кодирующий V-домен легкой цепи, образуется в результате рекомбинации V- и J-сегментов

Возможность изучения генов антител появилась благодаря разработке технологии рекомбинантных ДНК. С помощью этого метода было установлено, что константные и вариабельные области легких цепей кодируются двумя отдельными сегментами ДНК. В клетках, совсем не образующих антитела, эти генные сегменты расположены в отдаленных один от другого участках хромосомы, но при синтезе антител они оказываются в непо-



Рис. 8.7
Аминоконцевая последовательность (позиции 1–65) попавших в группу VhIII тяжелых цепей шести миеломных белков человека сопоставлена на диаграмме с последовательностью TEI, принятой за прототип. Остатки, идентичные прототипу, окрашены желтым цветом, а отличающиеся в тех же позициях – темно-красным. Большинство различий между тяжелыми цепями, относящимися к одной группе, сосредоточено в участках, определяющих комплементарность – CDR-1 и CDR-2. Участок CDR-3 на рисунке не показан.

средственной близости. Однако даже в полностью дифференцированной В-клетке два этих сегмента непосредственно не соединяются – они разделены участком длиной примерно 1500 п.н. Между сегментами V и С в неперестроенной хромосоме, а также вплотную к сегменту V после внутрихромосомной рекомбинации располагается короткий участок ДНК, известный как соединительный сегмент J (от англ. joining). (J-сегмент не следует путать с J-цепью в молекулах IgM и димерного IgA.)

Система генов, кодирующих легкие цепи Генный Vκ-сегмент кодирует V-область легких цепей с 1 по 95 позицию, а Jκ-сегмент – остальную часть V-области (*рис. 8.8*). В геноме человека обнаружен лишь один ген константной области легких цепей κ-типа и 76 Vκ-сегментов, из которых только 35 потенциально способны функционировать, 16 имеют минорные дефекты, а 25 представляют собой псевдогены. В результате рекомбинации ДНК в процессе дифференцировки лимфоидных клеток один из V-сегментов соединяется с одним из пяти J-сегментов. Впоследствии это может дать не менее 150 (т. е. 30 × 5) разных вариабельных областей κ-цепей. Каждому V-сегменту предшествует участок ДНК, кодирующий короткий сигнальный (лидерный) пептид, который состоит из гидрофобных аминокислотных остатков и служит «опознавательным знаком» синтезируемой цепи для направления ее в эндоплазматический ретикулум, где лидерный пептид отщепляется. Далее начинается внутриклеточный процессинг молекулы иммуноглобулина с образованием его секретируемой формы и ее движение по пути выделения из клетки.

Локус генов легких λ-цепей у человека содержит набор V-генов и семь С-генов, причем каждый С-ген сопровождается расположенным рядом с ним J-геном. Несмотря на это отличие от локуса κ-цепей, процесс рекомбинации V–J в локусе λ-цепей в общем весьма сходен с аналогичным процессом в локусе κ-цепей (*рис. 8.9*).

После рекомбинации сегментов V и J между перестроенными VJ-генами и С-геном еще сохраняется интрон (некодирующая промежуточная последовательность). Весь этот отрезок ДНК (от лидерной последовательности до 3′-конца С-гена, включая интроны) полностью транскрибируется в гетерогенную ядерную РНК (гяРНК) – предшественник мРНК, из которого после удаления интронов и соединения экзонов образуется молекула мРНК, способная транслироваться в белок.

Ген, кодирующий V-домен тяжелой цепи, образуется в результате рекомбинации V-, D- и J-сегментов

Вариабельные области тяжелых цепей, как и легких, кодируются генными сегментами V и J. Дополнительный вклад в разнообразие антител вносит третий генный сегмент, D (от англ. diversity – разнообразие) (*рис. 8.10*). Он высоко-

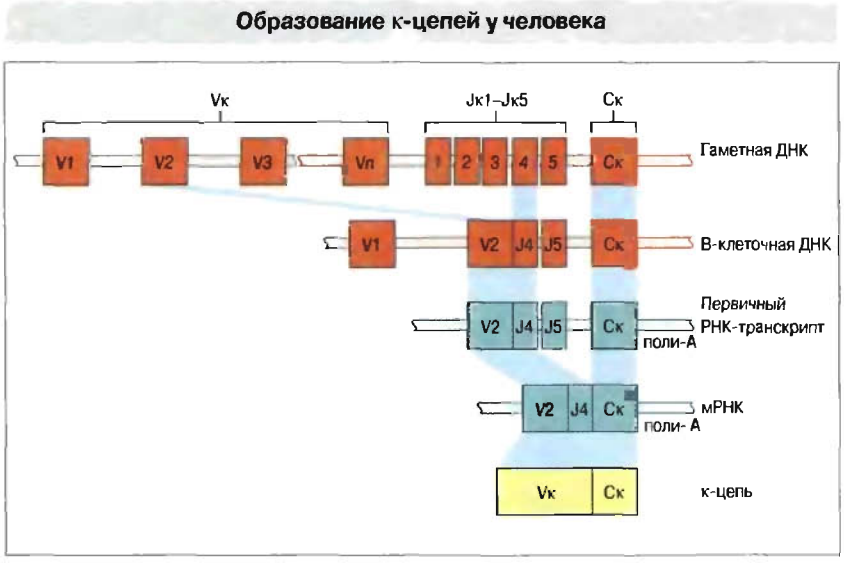


Рис. 8.8
В процессе созревания пре-В-клетки один сегмент из группы Vκ-сегментов (V1–Vn) гаметной ДНК в результате рекомбинаций сближается с одним из пяти Jκ-сегментов (Jκ1–Jκ5). В зрелой В-клетке перестроенный сегмент ДНК транскрибируется в первичный РНК-транскрипт, который содержит длинную промежуточную последовательность добавочных J-сегментов и интроны. Путем сплайсинга (объединения) экзонов первичный РНК-транскрипт превращается в зрелую мРНК, которая транслируется в рибосомах в каппа (κ)-цепи. Перестройка генов представлена здесь лишь одним из многих возможных типов рекомбинаций.

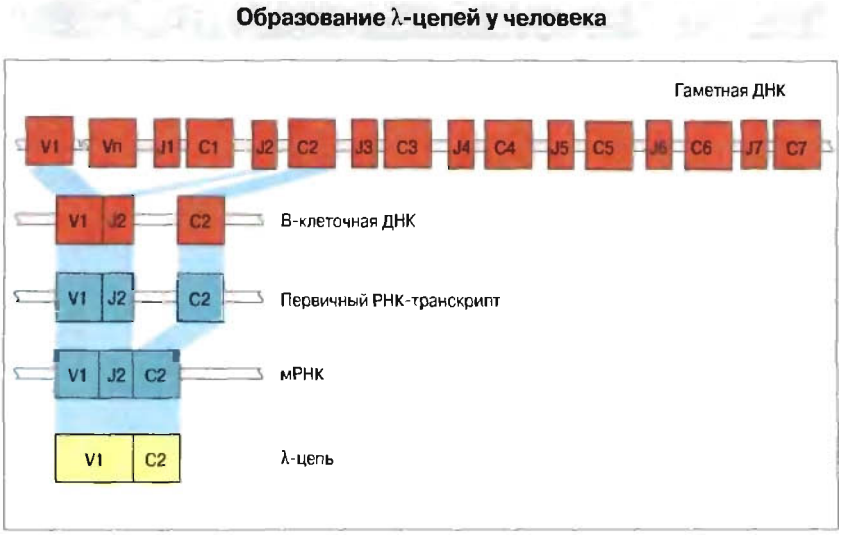


Рис. 8.9
В ходе дифференцировки В-клетки один из гаметных Vλ-сегментов соединяется с одним из J-сегментов, образуя ген V–J. Перестроенный таким образом ген транскрибируется в первичный РНК-транскрипт, содержащий интроны (некодирующие сегменты), экзоны (кодирующие белок) и полиаденилатный «хвост» (поли-А). В результате сплайсинга из первичного РНК-транскрипта вырезаются интроны, а экзоны образуют молекулу мРНК, с которой затем транслируется белок.

вариабелен по нуклеотидной последовательности и по числу кодонов. В молекулах антител к декстрану он определяет два аминокислотных остатка; в антителах к фосфорилхолину – вставку до восьми дополнительных аминокислотных остатков, в антителах к левану этот участок аминокислотной последовательности полностью отсутствует. Несколько соединенных последовательно D-сегментов могут образовать увеличенную D-область с тремя потенциальными рамками считывания без стоп-кодонов, что дополнительно увеличивает разнообразие тяжелых цепей. В гаметных генах к настоящему времени идентифицировано всего 30 D-сегментов. Как установлено, 14-я хромосома содержит 87 Vн-сегментов, из которых не менее 32 – псевдогены. Примечательно, что дополнительные, «безродные» Vн- и D-сегменты были найдены в 15 и 16 хромосомах; некоторые из них, возможно, функциональны, но пока еще нет доказательств их вклада в разнообразие тяжелых цепей. Рекомбинационное соединение сегментов V, D и J – это основной источник гипервариабельности тяжелых цепей в третьем участке, определяющем комплементарность, – CDR-3, который представляет собой существенную часть антигенсвязывающего центра. При иммунном ответе на некоторые антигены, например декстраны, почти все различия между молекулами антител разной специфичности касаются именно CDR-3.

Перестройка и экспрессия генов V-областей происходит по особой программе в раннем периоде внутриутробного развития

При иммунизации животных внутриутробно или сразу после рождения способность к ответу на

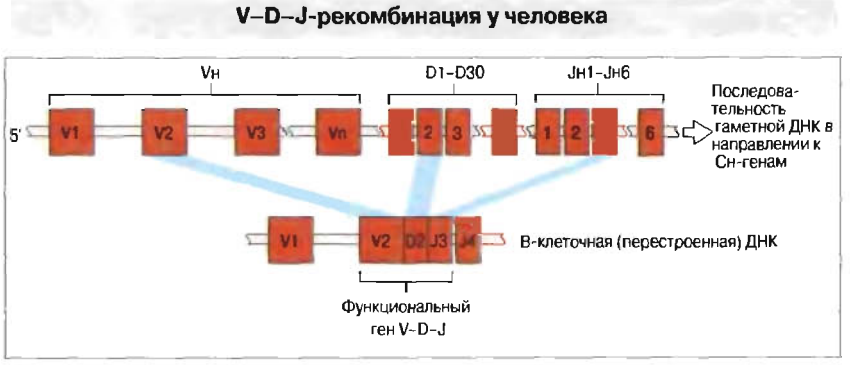


Рис. 8.10
В локусе генов тяжелых цепей путем соединения трех сегментов ДНК образуется экзон V–D–J, кодирующий Vн-домен. Из 80 Vн-генов около 50 функциональны, а остальные – псевдогены. При рекомбинации V-гена с одним из 30 D-сегментов и с одним из шести J-сегментов в В-клетке образуется функциональный ген V–D–J.

каждый антиген развивается четко определенным, вероятно запрограммированным, образом. Согласно этой программе, у человека первыми используются V-сегменты, ближайшие к J-сегментам, причем интересно, что среди таких сегментов V61 представляет собой единственный участок консервативной последовательности. У всех приматов, чьи Vн-гены удалось изучить, этот генный сегмент представлен единственной копией без внутривидовых вариантов, а различия между человеком и другими приматами касаются только 2 % нуклеотидов.

Фетальный репертуар специфичностей сверхширок представлен в аутоантителах как свидетельство того, что аутоиммунопатология отчасти может быть следствием задержанной перестройки гаметных V-генов. Подобным образом неперестроенные V-сегменты обильно представлены в незрелых В-клетках лимфом; 20 таких V-сегментов выявлены в 85 % случаев хронического лимфолейкоза.

Нуклеотидные последовательности, примыкающие к неперестроенным V-, D- и J-генам, управляют их рекомбинацией

Рекомбинация генных сегментов — это ключевой момент формирования функциональных генов вариабельных областей легких и тяжелых цепей. В настоящее время уже известен тонкий механизм этих генных перестроек и идентифицированы специфические нуклеотидные последовательности, действующие в этом процессе в качестве сигнальных (RSS, от англ. recombination signal sequences) (*рис. 8.11*).

Сигнальная последовательность, расположенная ниже (с 3′-стороны) V- и D-сегментов, состоит из гептамера CACAGTG (или его аналога), следующего за ним спейсера неконсервативной структуры из 12 нуклеотидов и соседнего со спейсером наномера ACAAAAACC или его аналога. Сигнальная последовательность, примыкающая непосредственно (с 5′-стороны) ко всем гаметным D- и J-сегментам, состоит из наномера, расположенного выше него неконсервативного спейсера из 23 нуклеотидов и — еще выше — гептамера. Следующие за Vʟ-, Vн- и D-сегментами гептамеры и наномеры комплементарны аналогичным последовательностям, предшествующим Jʟ-, D- и Jн-сегментам, и вступают с ними в рекомбинацию. Спейсер из 12 нуклеотидов соответствует приблизительно одному, а из

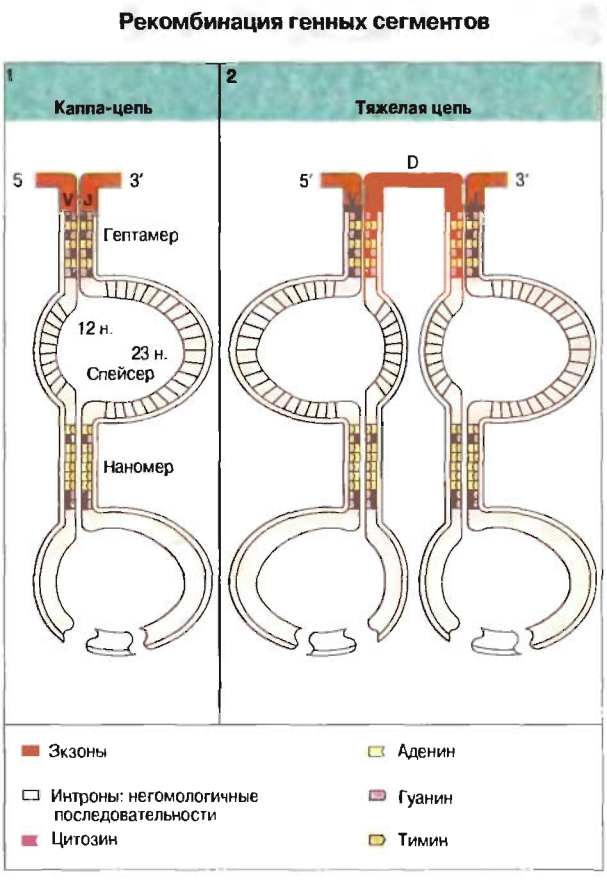


Рис. 8.11
Рекомбинация заключается в сплайсинге (соединении) сегментов V и J (например, в случае легких к-цепей) (**1**) или в сплайсинге V, D и J (в случае тяжелых цепей) (**2**). Ей способствует узнавание белками RAG-1 и RAG-2 нуклеотидной последовательности интронов на 3′-конце V- и D-сегментов и на 5′-конце J- и D-сегментов. Спейсеры из 12 и 23 нуклетидов имеют неконсервативную последовательность, но фиксированную длину, соответствующую примерно одному и двум виткам двойной спирали ДНК соответственно. Благодаря этому гептамеры и наномеры обеих спиралей идут рядом, что позволяет им одновременно взаимодействовать с белками RAG.

23 — двум виткам спирали ДНК.

Рекомбинационный процесс регулируют (по крайней мере отчасти) два гена, активирующих рекомбинацию (RAG-1 и RAG-2, от англ. recombination-activating genes). У мышей, лишенных этих генов, не образуются Т-клеточные рецепторы и иммуноглобулины и поэтому отсутствуют зрелые Т- и В-клетки. На уровень экспрессии генов RAG-1 и RAG-2 влияет интерлейкин-7 (ИЛ-7) — цитокин, выделяемый стромальны-

ми клетками костного мозга. Очищенные белки RAG-1 и RAG-2, воздействуя на синтетические фрагменты ДНК, содержащие гептамеры и наномеры вместе со спейсерами из 12 и 23 нуклеотидов, как на субстрат, способны вызывать образование синаптического комплекса из двух RSS. Сначала белок RAG-1 связывается с наномером, а неспособный прямо связаться с ДНК белок RAG-2 присоединяется к комплексу RAG-1/ДНК непосредственно рядом со спейсером из 12 нуклеотидов. После этого между спейсерами из 12 и 23 нуклеотидов возникает синапс (связывание), по-видимому, как результат взаимодействия между комплексами RAG-1–наномер–спейсер (23 н.) и RAG-2–RAG-1–наномер–спейсер (12 н.). После связывания происходит направляемое гептамерами расщепление ДНК на границах между ними и соединяющимися генными сегментами V–(D)–J.

Расщепление ДНК начинается с надреза цепи на границе между 5′-концом сигнального гептамера и функциональным геном. Затем белки RAG углубляют первоначальный надрез до полного разрыва обеих цепей с образованием «шпильки» на конце функционального гена, что in vitro вполне доступно для наблюдения. Проследить этот процесс in vivo труднее, поскольку шпильки еще до соединения генных сегментов часто подвергаются дальнейшим изменениям (*рис. 8.12*).

Место сшивки генных V- и J-сегментов может незначительно варьировать

Небольшие отклонения в позициях соединения генных сегментов при рекомбинации служат еще одним источником разнообразия антител. На-

Механизм V–D-рекомбинации

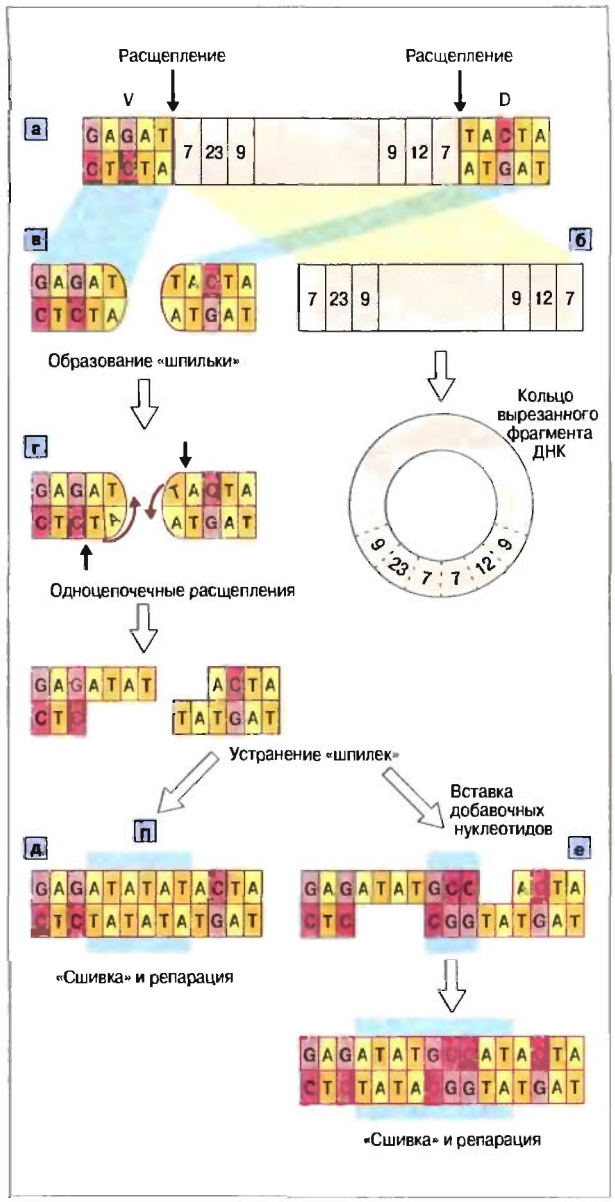


Рис. 8.12
а. После образования синаптического комплекса сигнальные последовательности рекомбинации (RSS) соединяющихся генных сегментов вырезаются вместе с промежуточным участком ДНК и затем (**б**), соединяясь противоположными концами, замыкаются в кольцо. **в.** Концы двух цепей двойной спирали каждого функционального гена соединяются ковалентно, принимая форму, напоминающую шпильку для волос. Для удаления «шпилек» эндонуклеаза надрезает одну из цепей ДНК в любой точке (**г**). Разрывы в нуклеотидной последовательности восполняются путем синтеза ДНК, и два конца «сшиваются» таким образом вместе (**д**). Расщепление одной из цепей ДНК вызывает образование палиндромных последовательностей (П), увеличивающих длину области соединения (голубой квадрат). Дополнительное разнообразие создается путем добавления нуклеотидов (N-региональная вариабельность) с помощью концевой дезоксинуклеотидил-трансферазы; в частности, это обнаружено при перестройке генов тяжелых цепей, но может происходить также при синтезе одной из подгрупп легких цепей (**е**).

Разнообразие легких цепей за счет вариабельности рекомбинации

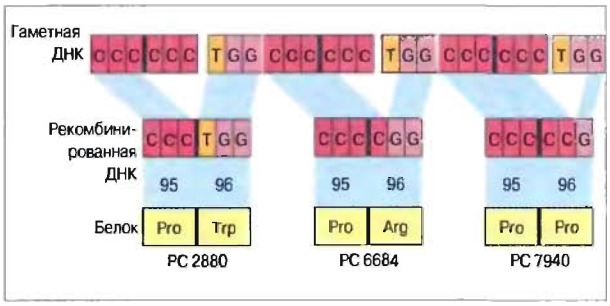


Рис. 8.13
В результате рекомбинационной вариабельности одни и те же гаметные Vκ21- и J1-сегменты кодируют три разных белка – PC2880, PC6684 и PC7940. Благодаря рекомбинации, затронувшей конец кодона CCC, 95 и 96 позиции в белке PC 2880 занимают остатки пролина и триптофана соответственно. Рекомбинация одного нуклеотида, расположенного ниже кодона CCC, вызывает появление в указанных позициях белка PC6684 остатков пролина и аргинина. После рекомбинации двух нуклеотидов, расположенных ниже конца Vκ21-сегмента, в этих позициях белка PC 7940 находятся 2 остатка пролина.

пример, последний кодон Vκ-сегмента обычно кодирует 95-й, а первый Jκ-триплет – 96-й аминокислотный остаток легкой κ-цепи, но иногда 96-й остаток кодируется составным триплетом, у которого второй и третий нуклеотиды (или только третий) принадлежат первому Jκ-триплету, а первый (либо первый и второй) – относится к интрону на 3′-конце Vκ-сегмента (*рис. 8.13*), что вызывает вариации аминокислотной последовательности. Разумеется, для синтеза функционально полноценной легкой цепи необходима правильная рамка считывания; если при рекомбинации генных сегментов произойдет ее сдвиг, синтезируемые антитела могут быть неактивными.

Подобная погрешность соединения наблюдается и при рекомбинации генных сегментов D и J тяжелой цепи; отклонения могут достигать 10 нуклеотидов (*рис. 8.14*). Кроме того, возможна вставка еще нескольких нуклеотидов между сегментами D и Jн, а также между сегментами Vн и D, при участии концевой дезоксинуклеотидилтрансферазы без какой-либо матрицы (*рис. 8.12*). Добавлением таких «N-нуклеотидов» создается дополнительное аминоконцевое разнообразие антител. У мышей активность концевой дезоксинуклеотидил-трансферазы с возрастом повышается, приводя к накоплению длинных N-сегментов у взрослых животных. В результате рекомбинационная вариабельность D-участка может быть настолько высокой, что изменяются все до одного генные D-сегменты.

При тяжелом комбинированном иммунодефиците (SCID, от англ. severe combined immune deficiency) из-за дефекта рекомбинаций V–(D)–J не образуются функциональные Т- или В-клетки.

СОМАТИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ

Мутации генов тяжелых и легких цепей происходят после антигенной стимуляции

Соматические мутации, которые могут происхо-

Разнообразие тяжелых цепей вследствие вариабельной рекомбинации

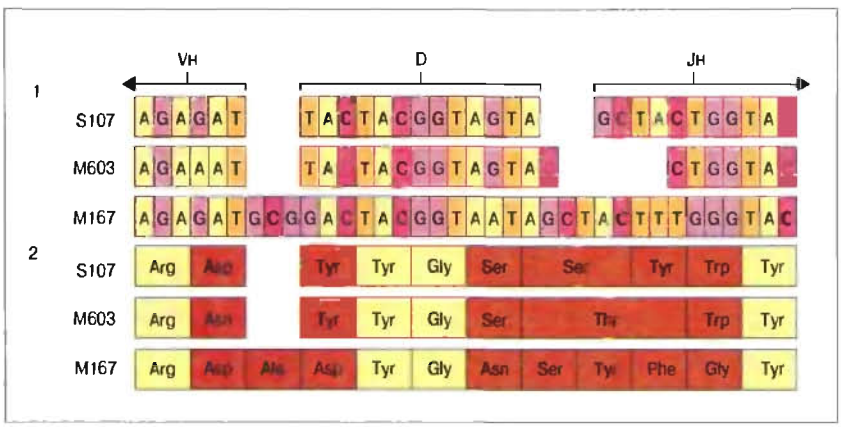


Рис. 8.14
Нуклеотидная последовательность (**1**) кодирующих генов сопоставлена с аминокислотной последовательностью (**2**) тяжелых цепей трех образцов антител к фосфорилхолину. Вариабельные рекомбинации между гаметными Vн-, D- и Jн-сегментами вызывают вариации аминокислотных последовательностей (показано коричневым цветом). В некоторых случаях (пример – белок M167), по-видимому, происходит вставка добавочных кодонов. При этом, однако, общая рамка считывания не сдвигается, так как число вставленных нуклеотидов кратно трем.

дить в течение всей жизни индивида, служат дополнительным источником разнообразия антител. Эта идея была убедительно аргументирована еще много лет назад. Как отмечено выше (*рис. 8.5*), большинство легких λ1-цепей мыши имеет почти идентичную последовательность с несколькими заменами в CDR, дающими в общей сложности восемь вариантов последовательности. Однако в гаметном геноме мыши был найден лишь один-единственный Vλ1-сегмент, кодирующий основную аминокислотную последовательность, принятую за прототип. Следовательно, все варианты легких λ1-цепей должны появляться не иначе, как в результате соматических мутаций в виде замен отдельных нуклеотидов. Продукты соматических мутаций были выявлены также среди легких цепей к-типа и тяжелых цепей определенных изотипов.

Дополнительным аргументом в пользу идеи соматического мутагенеза как источника разнообразия антител стали результаты изучения семейства генов, кодирующих антитела к фосфорилхолину. Из 19 полностью секвенированных Vн-сегментов 10 имели идентичную, принятую за «прототип», нуклеотидную последовательность, а у остальных девяти обнаружилось от 1 до 8 замен. В гаметном геноме была найдена лишь одна последовательность, принятая за прототип, что однозначно указывает на соматические мутации как на причину появления других ее вариантов (*рис. 8.15*). Примечательно, что все возникшие в результате соматических мутаций варианты V-областей были обнаружены только в составе молекул IgA и IgG, поэтому можно предполагать, что они каким-то образом связаны с переключением изотипа иммуноглобулинов. Вероятно, благодаря лучшей комплементарности в отношении антигена мутантные последовательности имеют селективные преимущества. При оценке связывания с фосфорилхолином варианты, появившиеся в результате соматических мутаций, проявляют более высокую аффинность, чем антитела, кодируемые гаметным Vн-сегментом.

Известно, что участок ДНК, кодирующий вариабельные области молекул иммуноглобулинов, может проявлять повышенную подверженность мутациям. Например, Vн-гены двух разных образцов антител к фосфорилхолину идиотипа T15 имеют по сравнению с гаметной последовательностью многочисленные нуклеотидные замены (3,8 % мутировавших нуклетидов в Vн-гене белка

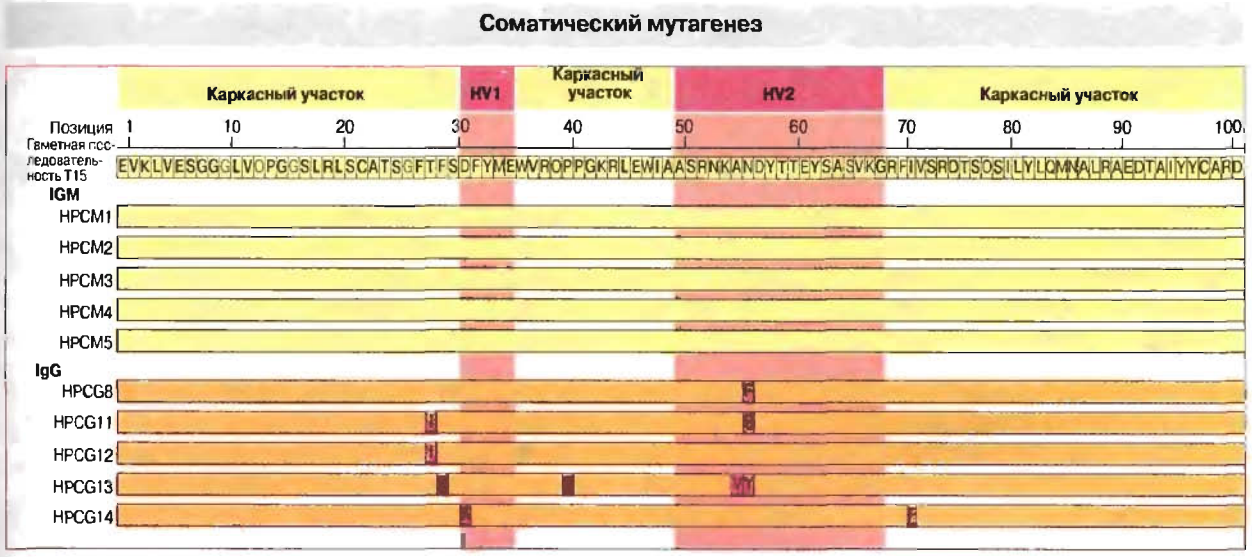


Рис. 8.15

Аминокислотная последовательность Vн-областей моноклональных антител к фосфорилхолину (по пять образцов IgM и IgG) сопоставлена с первичной структурой продукта гаметного VнT15-гена. Позиции, в которых остатки в той и другой последовательности одинаковы, окрашены желтым и темно-желтым цветом; аминокислотные замены окрашены розовым; указаны также гипервариабельные участки (HV1, HV2). Как можно заметить, мутационные замены аминокислотных остатков произошли только в молекулах IgG, как в гипервариабельных, так и в «каркасных» участках Vн-областей.

Мутации в двух Vн-генах антител идиотипа T15

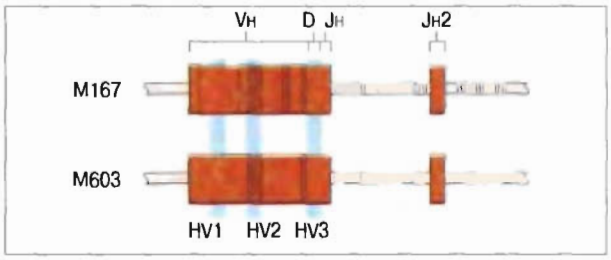


Рис. 8.16
Гены, кодирующие синтез двух образцов моноклональных антител идиотипа T15 к фосфорилхолину. Черными вертикальными линиями указаны позиции, в которых обнаружены замены нуклеотидов (мутации) по сравнению с гаметной последовательностью. Значительное число мутаций имеется в интронах и экзонах обоих генов, но особенно их много во втором гипервариабельном участке – HV2. В отличие от этого в генах константных областей мутаций не обнаружено.

Семь источников разнообразия антител

1. Множественность гаметных V-генов
2. V–J- и V–D–J-рекомбинации
3. Добавочные N-нуклеотиды
4. Генная конверсия
5.Ошибка рекомбинационных соединений
6. Соматические точечные мутации
7. Свободное сочетание легких и тяжелых цепей

Рис. 8.17
Каждый из источников разнообразия антител может функционировать совместно с любым другим, поэтому возможности увеличения вариантов специфичности возрастают на каждом следующем этапе продукции иммуноглобулинов.

M167). Мутации были найдены как в интронах, так и в экзонах Vн-гена, но не в соседних участках ДНК, что указывает на особую мутабильность всей области V-генов (*рис. 8.16*). Их соматические мутации происходят в центрах размножения B-клеток в лимфоидной ткани, и там же антиген определяет селекцию (выживание и размножение) клеток, образующих высокоаффинные антитела. Полнее этот процесс изложен в гл. 11. Он зависит как от T-клеток, так и от клеточных элементов самих центров размножения. У бестимусных мышей отсутствуют T-клетки и центры размножения и в связи с этим нет увеличения (созревания) аффинности антител к антигену. У лягушек имеются T-клетки, но не образуются центры размножения, и (как у бестимусных мышей) отсутствует созревание аффинности антител.

Итак, разнообразие антител возникает в результате действия нескольких механизмов. Первый – это появление многочисленных V-генов при рекомбинации V-, J- и D-сегментов. Дополнительное разнообразие возникает вследствие неточности соединения генных сегментов. Заслуживает внимания тот факт, что первый и второй гипервариабельные участки V-областей полностью кодируются гаметными последовательностями нуклеотидов. Широкое разнообразие CDR-2 исходно закодировано в геноме, вариабельность CDR-1 создается соматическим мутагенезом, а CDR-3 – в основном рекомбинациями. Поскольку теоретически любая легкая цепь может образовать пару с любой тяжелой, их комбинирование почти беспредельно увеличивает разнообразие антител (*рис. 8.17*). Вероятно, лишь менее 5 % совокупной вариабельности нуклеотидных последовательностей обусловлено соматическим гипермутированием. Однако до 90 % B-клеток экспрессируют Vн-гены, претерпевшие соматические мутации.

РАЗНООБРАЗИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У ДРУГИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Иммуноглобулины акул имеют ограниченный репертуар специфичности

Расширение репертуара специфичности антител имело решающее значение в эволюции позвоночных, причем у разных групп животных оно было достигнуто различными путями. Так например, у пластиножаберных рыб, к которым относятся акулы и скаты, разнообразие генов тяжелых цепей создается примерно так же, как и разнообразие легких цепей λ-типа у мыши. Основная единица Vн–Dн1–Dн2–Jн–Cн в геноме этих рыб повторена многократно, но, за исключением перестроек внутри каждой такой единицы, все формы свободной рекомбинации между различными генными сегментами отсутствуют.

Это приводит к существенному ограничению репертуара специфичности антител.

У курицы крайне ограниченный репертуар генов Ig расширяется за счет генной конверсии

В отличие от акул у курицы число генов, кодирующих иммуноглобулины, крайне ограниченно. Для легких цепей имеется лишь по одному V-, J- и C-сегменту и в кодировании тяжелых цепей участвуют также всего по одному V- и J-сегменту. Правда, у этого вида найдено около 16 Dн-сегментов, но все они весьма сходны по последовательности нуклеотидов и мало увеличивают разнообразие антител. Несмотря на столь жесткие ограничения, для курицы характерна способность к иммунному ответу на весьма широкий спектр антигенов и к синтезу антител с разнообразной аминокислотной последовательностью.

Выше функционального Vʟ-гена расположен участок ДНК, содержащий 25 нуклеотидных последовательностей, похожих на Vʟ, но лишенных лидерного экзона, промоторов и характерных, необходимых для V–J-рекомбинаций, последовательностей гептамер–спейсер–наномер. Эти псевдогены не остаются неиспользованными; они участвуют в генной конверсии, при которой происходит вставка фрагментов псевдогена в функциональный Vʟ-ген. Этот процесс протекает непрерывно, как многочисленные акты конверсии, на протяжении жизни B-клетки даже после того, как она покинет фабрициеву сумку.

Аналогичный механизм расширения репертуара действует в локусе генов тяжелых цепей, содержащем до 100 Vн-псевдогенов, принимающих участие в конверсии.

Генная конверсия может служить механизмом расширения репертуара специфичности антител у кролика

Кроличьи иммуноглобулины всегда представляли собой загадку, особенно в отношении механизма, регулирующего экспрессию их аллотипов. У кролика имеется довольно много Vн-генов, однако более чем в 80 % B-клеток используется лишь один Vн-ген, расположенный ближе всего к D-сегменту. Как установлено недавно, в качестве источника разнообразия на основе этого единственного гена у кролика может действовать механизм генной конверсии.

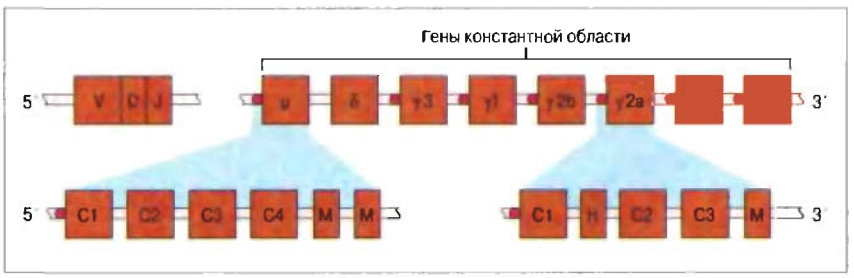
Псевдогены могут участвовать в повышении разнообразия антител у человека

Некоторые V- и J-сегменты генов Ig человека также представляют собой псевдогены. Однако возможная роль генной конверсии в формировании перестроенных V-генов — это пока лишь предмет гипотез и исследований.

У овцы и коровы разнообразие антител создается соматическими мутациями

У жвачных животных в течение всей жизни происходит экспрессия единственного семейства Vн-генов, однако благодаря интенсивному со-

Рис. 8.18
Гены константной области Ig мыши



У мыши гены константной области расположены на 8,5 т.п.н. ниже перестроенных сегментов V–D–J. Перед каждым C-геном, за исключением Cδ, расположены (один или несколько) участки переключения (красные кружки), повторяющие нуклеотидную последовательность, которая предшествует 5′-концу Cμ-гена. Эти участки переключения позволяют любому из C-генов рекомбинироваться с генами V–D–J. Перестройки Cδ-генов, по-видимому, происходят с участием тех же участков переключения, что и в случае Cμ-генов, но при образовании РНК для IgD транскрипт Cμ-гена вырезается из первичного РНК-транскрипта. В нижнем ряду на развернутых схемах организации генов Cμ и Cγ2a показаны интроны, расположенные между экзонами для каждого домена (C1, C2 и т. д.). Гены Cγ также имеют отдельный экзон, кодирующий шарнирную область γ-цепи (H), и во всех этих генах содержится один или несколько дополнительных экзонов, необходимых для кодирования мембраносвязанной формы иммуноглобулина (M).

«Созревание» иммунного ответа и переключение изотипа

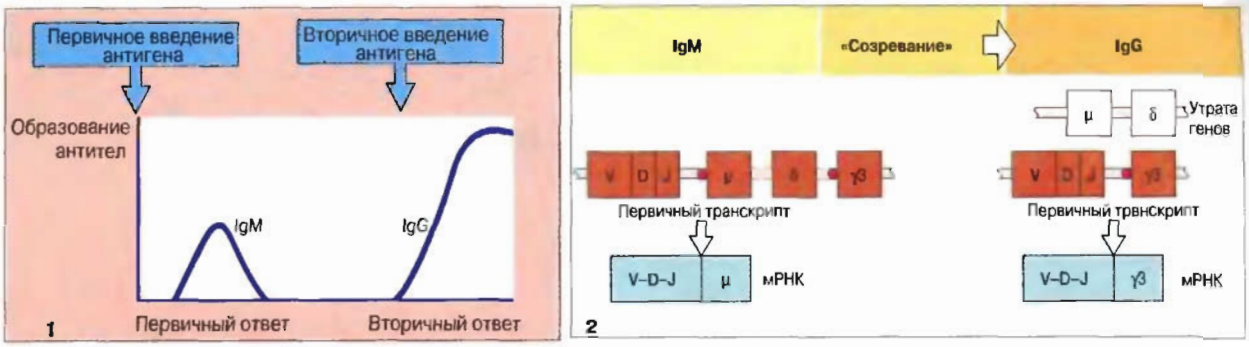


Рис. 8.19

1. Первичная иммунизация вызывает образование антител преимущественно изотипа IgM; повторное введение антигена стимулирует образование антител в основном изотипа IgG. Механизм переключения изотипа схематично представлен справа. **2.** При первичном ответе рекомбинированный участок V–D–J считывается вместе с Cμ-геном. После удаления интронов при процессинге первичного РНК-транскрипта образуется мРНК для секретируемой формы IgM. В процессе «созревания» иммунного ответа происходит переключающая изотип рекомбинация между участком Sμ и расположенным ниже С-геном (в данном случае Cγ3). Разделяющий их участок ДНК образует петлю, а затем вырезается. В результате происходит утрата генов Cμ и Cδ, а два участка переключения (Sμ и Sγ3) соединяются.

матическому мутагенезу достигается их разнообразие.

ГЕНЫ КОНСТАНТНОЙ ОБЛАСТИ ТЯЖЕЛЫХ ЦЕПЕЙ

Для кодирования иммуноглобулинов всех классов используется один и тот же набор генов вариабельной области. «Переключение» изотипа в зрелой клетке, образующей антитела, заключается всего лишь в смене функционального гена константной области. Это удалось выяснить при анализе двойных миелом, в сыворотке носителей которых одновременно содержатся моноклональные антитела двух изотипов. Например, у больного множественной миеломой были обнаружены IgM и IgG с идентичными легкими цепями и Vн-областями – IgG отличались от IgM только заменой цепей μ на γ. Подобно этому, на поверхности одного лимфоцита часто одновременно присутствуют IgM и IgD и, несмотря на разные изотипы, эти мембраносвязанные иммуноглобулины имеют идентичные антигенсвязывающие центры.

Все гены константной области расположены в хромосоме ниже J-сегментов. У мыши имеется по одному гену константной области для каждого класса иммуноглобулинов – IgM, IgE, IgD и IgA (Cμ, Cε, Cδ, и Cα) – и для каждого из подклассов IgG (Cγ1, Cγ2a, Cγ2b и Cγ3) (*рис. 8.18*). За исключением Cδ, перед каждым С-геном расположена последовательность переключения, S (от англ. switch) (*рис. 8.19*).

Расположение С-генов локуса IgH человека и порядок их переключения представлены на *рис. 11.23.*

Переключение изотипа может происходить либо в результате рекомбинации генов, либо вследствие дифференциального сплайсинга мРНК

Переключение изотипа, весьма существенное для «созревания» иммунного ответа, могут предварять или сопровождать соматические мутации генов иммуноглобулинов. Вначале полностью транскрибируется весь отрезок ДНК, включающий рекомбинированный Vн-ген, а также Cμ- и Cδ-гены; затем из первичного транскрипта в результате дифференциального сплайсинга могут образоваться молекулы мРНК двух разных типов – с последовательностями, комплементарными одному и тому же Vн-гену, но разным С-генам – Cμ или Cδ. Высказано предположение, что так иногда транскрибируются и намного более длинные отрезки ДНК, после чего путем дифференциального сплайсинга формируются мРНК для других изотипов Ig с одинаковыми Vн-областями (*рис.*

Переключение изотипа путем дифференциального сплайсинга

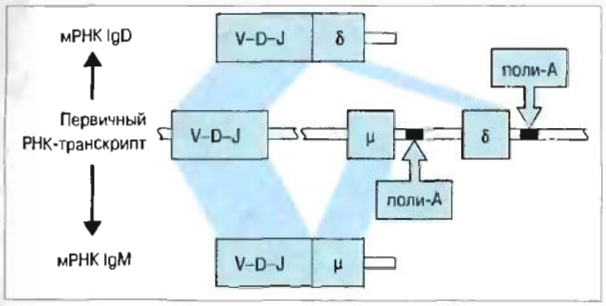


Рис. 8.20
Некоторые В-клетки образуют антитела нескольких изотипов, используя один длинный первичный РНК-транскрипт. Здесь представлен транскрипт, содержащий последовательности Cμ и Cδ. От расположения полиаденилатных участков (которое может быть различным) зависит вид дифференциального сплайсинга, создающего мРНК для синтеза либо IgD (вверху), либо IgM (внизу). Дополнительные полиаденилатные участки в пределах этой же области РНК-транскрипта определяют форму, мембраносвязанную или секретируемую, в которой будет транслирован иммуноглобулин.

8.20). Подобный процесс наблюдается в клетках, одновременно синтезирующих IgM и IgE.

Наиболее часто механизмом переключения изотипа служит рекомбинация между S-участками (путем образования петли ДНК и ее последующего вырезания), в результате которой другой С-ген занимает место рядом с перестроенным геном V–D–J (*рис. 8.19* и *11.23*).

Образование мембраносвязанной и секретируемой форм иммуноглобулинов определяется дифференциальным сплайсингом РНК-транскриптов для тяжелых цепей

Мембраносвязанная форма иммуноглобулина (антигенраспознающий рецептор) идентична его секретируемой форме (антитело), за исключением того, что содержит добавочную С-концевую последовательность в составе тяжелой цепи. Поэтому мембраносвязанные иммуноглобулины несколько крупнее своих растворимых аналогов. Дополнительная аминокислотная последовательность пронизывает клеточную мембрану и «заякоривает» молекулу в липидном бислое. Например, в случае мембраносвязанного IgM между расположенными по две стороны мембраны гидрофильными аминокислотными остатками находятся гидрофобные (липофильные) остатки (*рис. 8.21*), которые предположительно образуют внутри мембраны α-спиральный участок цепи. Мембраносвязанные иммуноглобулины существуют только в форме основной четырехцепочечной единицы; их молекулы не полимеризуются.

Синтез двух форм иммуноглобулинов возможен благодаря дифференциальной транскрип-

Секретируемые и мембраносвязанные IgM у мыши

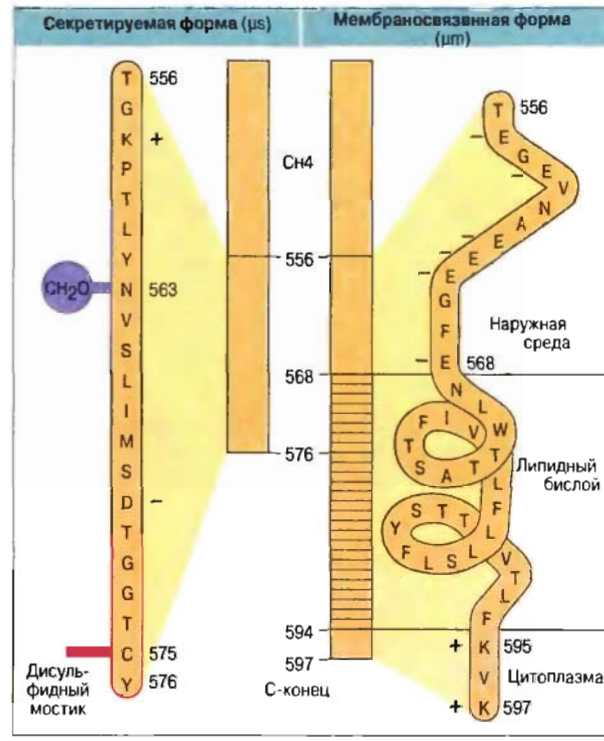


Рис. 8.21
До 556 позиции С-концевые аминокислотные последовательности μ-цепей секретируемого и мембраносвязанного IgM идентичны. После 556 остатка μ-цепь секретируемого IgM насчитывает 20, а мембраносвязанного – 41 остаток. У секретируемой формы к остатку аспарагина в 563 позиции присоединена углеводная единица, а остаток цистеина в 575 позиции участвует в образовании межцепочечного дисульфидного мостика. Мембраносвязанная форма IgM содержит расположенный между заряженными (гидрофильными) остатками участок из 26 гидрофобных аминокислотных остатков (с 568 по 595), который способен двумя витками α-спирали проникать сквозь клеточную мембрану. Короткий положительно заряженный хвостовой сегмент тяжелой цепи погружен в цитоплазму.

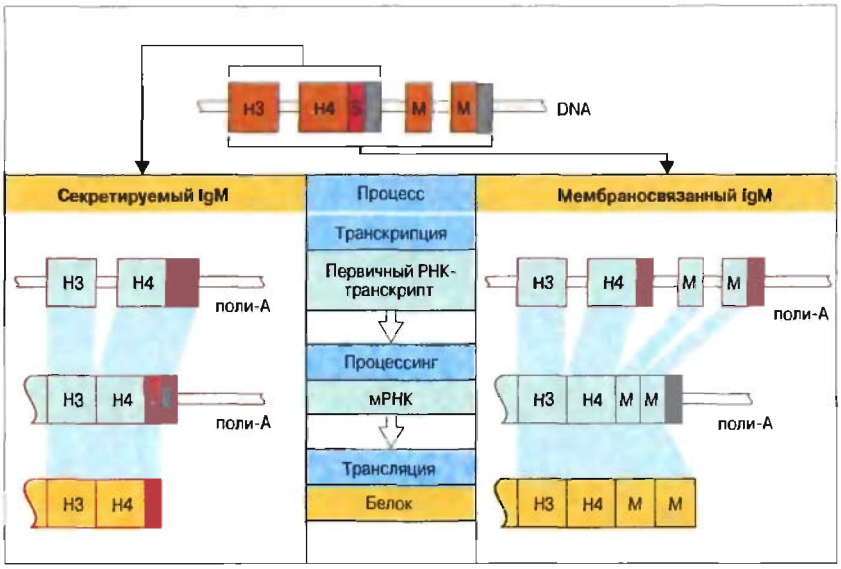


Рис. 8.22
Схематическое изображение части генных элементов, кодирующих IgM. Показаны экзоны для доменов Cμ3 и Cμ4 (H3 и H4), а также для трансмембранного и цитоплазматического сегментов (M) μ-цепи мембраносвязанного IgM. На 3′-конце экзона H4 и дополнительного трансмембранного сегмента M имеется нетранслируемая последовательность (показана серым цветом). S – стоп-кодоны. Транскрипция ДНК может происходить двумя путями. Если она заканчивается на S, транскрипт с полиаденилатным хвостом (поли-A) в результате процессинга превращается в мРНК секретируемой формы IgM. Если транскрипция идет дальше, включая экзоны трансмембранных сегментов, то при последующем процессинге транскрипта будут удалены кодоны C-концевых аминокислот и стоп-кодон H4. В результате транслируемый белок будет иметь иную C-концевую последовательность.

ции гаметного C-гена (*рис. 8.22*). Считается, что тип РНК-транскрипта зависит от полиаденилатной (поли-A) последовательности, но точный механизм этой регуляции неизвестен.

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Очевидна сложность внутриклеточной регуляции синтеза иммуноглобулинов. На первой его стадии генный сегмент D сближается с сегментом J и затем к ним присоединяется сегмент V. У пре-B-клеток полностью собранные μ-цепи обнаружены в цитоплазме. Эти вновь синтезированные тяжелые цепи сохраняют связь с белками BiP/GRP78 эндоплазматического ретикулума, пока не соединятся с легкими цепями. Пре-B-клетки не образуют легких цепей, но синтезируют небольшие количества сходных с ними псевдоцепей (λ5 и V_{preB} у мыши, 14,1 и V_{preB} у человека), которые ассоциируют с μ-цепями. В результате на клеточную поверхность транспортируется небольшое количество IgM-подобных молекул, функция которых еще неясна. Известно, однако, что у мышей, неспособных синтезировать легкие псевдоцепи, существенно снижено количество B-клеток. Присутствующие в цитоплазме пре-B-клеток μ-цепи стимулируют рекомбинацию сегментов V–J в локусе κ-цепей, а затем (если необходимо) и в локусе λ-цепей. Предполагается, что стимуляция рекомбинаций в указанных локусах то материнской, то отцовской хромосомы повторяется периодически, пока либо не появится функциональный рекомбинированный ген V-области легкой цепи, либо не истощится генетический материал, либо не будет устранена сама B-клетка. Если не учитывать возможные соматические мутации, рекомбинантные V-гены легких цепей в дальнейшем существенно не меняются. Однако B-клетке еще предстоит переключение Cн-генов для синтеза иммуноглобулинов разных изотипов и переход после активации на продукцию его секретируемой формы. Факты и гипотезы, касающиеся биосинтеза иммуноглобулинов, представлены на *рис. 8.23*.

Цепи иммуноглобулинов транслируются в рибосомах и переносятся через мембрану эндоплазматического ретикулума

Прежде чем начнется синтез антител, первичный транскрипт РНК должен освободиться от интронов путем сплайсинга. В начале и в конце каждо-

Сводная схема образования иммуноглобулинов

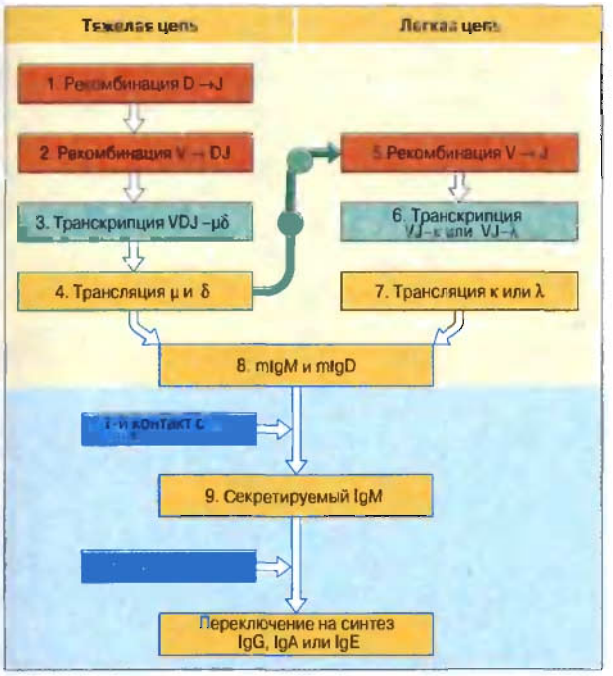


Рис. 8.23
Стадии образования иммуноглобулинов в В-клетках. В пре-В-клетках периодически инициируются попытки рекомбинации D- и J-сегментов, а затем V-сегмента для получения функционального V–D–J-гена тяжелой цепи, который транскрибируется вместе с Cμ- и Cδ-генами и транслируется в μ- и δ-цепи мембраносвязанных Ig. В свою очередь μ-цепи индуцируют рекомбинации в локусах легких цепей. Клетка пытается создать функциональные цепи, используя локусы то материнской, то отцовской хромосомы, пока не достигнет успеха или не кончатся неперестроенные наборы генных сегментов. Невозможность синтеза функционального иммуноглобулина приводит к устранению данного клона В-клеток. Зрелые В-клетки экспрессируют мембраносвязанные IgM и IgD. После первичной антигенной стимуляции эти клетки способны синтезировать секретируемый IgM; после иммунизации Т-зависимым антигеном В-клетки могут с помощью Т-клеток переключаться на синтез IgG, IgA или IgE. На этой стадии часто возникают соматические мутации V-генов.

го интрона находятся особые нуклеотидные последовательности РНК, названные донорным и акцепторным контактами. Предполагается, что они взаимодействуют друг с другом и с ядерными рибонуклеопротеинами и в результате происходит вырезание интронов с последующей сшивкой разрыва для восстановления непрерывности цепи мРНК. Конечно, очень важно, чтобы этот процесс осуществлялся точно, без сдвига рамки считывания.

Матричная (информационная) РНК иммуноглобулиновых цепей транслируется на рибосомах, и новосинтезированные полипептиды направляются в эндоплазматический ретикулум, где легкие и тяжелые цепи образуют молекулу антитела (*рис. 8.24*). Мембраносвязанная и секреторная формы иммуноглобулина процессируются по-разному для правильной внутриклеточной сортировки, механизм которой пока полностью не выяснен, и достижения места назначения.

ГЕНЫ АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩЕГО Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА

Структуры ТкР, связывающие антиген и молекулы МНС, кодируются четырьмя различными группами генов. Гены α- и β-цепей экспрессируются большинством периферических Т-клеток, тогда как гены γ- и δ-цепей – одной из субпопуляций тимоцитов и одной минорной популяцией периферических Т-клеток. Две пары цепей (α/β или γ/δ) в ассоциации с цепями γ, δ, ε, и ζ полипептидного комплекса CD3 образуют полный ТкР (см. гл. 7).

Общий порядок расположения генов ТкР в хромосоме удивительно напоминает расположение генов тяжелых цепей иммуноглобулинов. Интересно, что δ-гены ТкР со всеми своими наборами D-, J- и C-сегментов располагаются среди α-генов (*рис. 8.25*).

Разнообразие генов ТкР создается рекомбинациями V–D–J с небольшими различиями для каждого локуса

Генные сегменты, кодирующие α-цепи, расположены на первый взгляд просто. Сложность состоит только в том, что между V- и J-локусами α-цепей находятся V-, D- и J-локусы δ-цепей. Подобно V-областям κ-цепей иммуноглобулинов, V-области α-цепей ТкР кодируются геном, возникающим в результате рекомбинаций Vα- и Jα-сегментов. Степень вариабельности α-цепей существенно увеличена за счет необычайно большого числа Jα-сегментов.

Локус β включает два комплекта D-, J- и C-сегментов. Большинство Vβ-сегментов сгруппировано вместе, но один (Vβ14) удален на 3′-конец локуса. Тандемные дупликации генных Dβ-, Jβ- и Cβ-сегментов, по-видимому, возникли в до-

вольно ранний период эволюции млекопитающих, так как они имеются как у мыши, так и у человека. Широкое разнообразие β-цепей возникает в процессе рекомбинаций, поскольку к всевозможным перестройкам V–D–J добавляются варианты сочетаний V–J и V–D–D–J. Использование всех трех рамок считывания D-сегментов дополнительно увеличивает разнообразие.

Порядок расположения генных сегментов в локусе γ-цепей у мыши и человека весьма различен. Мышиный локус удивительно напоминает локус легких цепей иммуноглобулинов – он содержит четыре Cγ-гена (включая один псевдоген), каждый из которых может сочетаться с одним J-сегментом и присоединять от одного до четырех Vγ-сегментов. В локусе γ-цепей нет ни одного D-сегмента. У человека имеется восемь Vγ-сегментов, за которыми по направлению вверх (5′) следуют три Jγ-сегмента, Cγ1-ген, два добавочных Jγ-сегмента и Cγ2-ген. Существенный вклад в разнообразие γ-цепей вносят погрешности соединений V- и J-сегментов между собой и вставки добавочных нуклеотидов в местах такого соединения.

Локус δ-цепей (он был открыт при изучении α-локуса) организован довольно просто и содержит только пять Vδ-, два Dδ- и шесть Jδ-сегментов, однако расчетное число вариантов δ-цепей, которые могут появляться в результате неточности соединения, вставок добавочных нуклеотидов и использования всех трех рамок считывания D-сегментов, достигает 10^{14}.

Гены TкР имеют, по-видимому, одинаковый с В-клеточными Ig-генами механизм рекомбинаций, поскольку фланкирующие сигнальные последовательности рекомбинации (гептамер – 12- или 23-нуклеотидный спейсер – наномер) тех и других сходны. И в В-, и в Т-клетках действуют подобные или идентичные ферменты рекомбинации; генные Dβ- и Jβ-сегменты TкР, экспериментально трансфицированные в В-клетки, могут и в них рекомбинировать адекватным образом. Существенный вклад в разнообразие TкР вносит заметно развитая «N-региональная» вариабельность.

Такой важный источник разнообразия иммуноглобулинов, как соматический мутагенез, не оставляет последствий в генах TкР. Вероятно, это обусловлено тем, что Т-клетки должны распознавать продукты MHC и поддерживать толерантность к собственным антигенам организма.

Синтез секретируемого иммуноглобулина

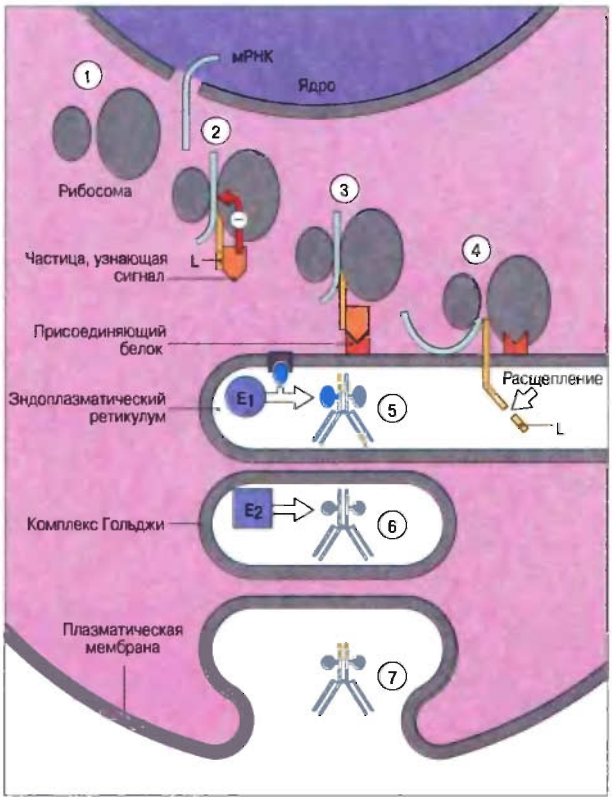


Рис. 8.24
Матричная РНК для тяжелой цепи секретируемой формы Ig покидает ядро и поступает в цитоплазму, где связывается с рибосомой (**1**). Транслированная на рибосоме лидерная (сигнальная) последовательность (L) синтезируемого полипептида связывается с частицей, узнающей сигнал (SRP, от англ. signal recognition particle), которая блокирует дальнейшую трансляцию (**2**). Комплекс SRP–рибосома мигрирует к эндоплазматическому ретикулуму (ЭР), на мембране которого SRP взаимодействует с присоединяющим белком (**3**). Трансляция при этом может продолжаться, и синтезируемая цепь проникает сквозь мембрану внутрь ЭР (**4**). Лидерная последовательность в просвете ЭР отщепляется, и готовая цепь объединяется с другими H- и L-цепями в субъединицу молекулы иммуноглобулина (**5**). Группа ферментов (E_1) присоединяет к иммуноглобулину углеводы (показаны синим) и одновременно от ЭР отделяется транспортный пузырек (**6**). В комплексе Гольджи другая группа ферментов (E_2) модифицирует углеводные единицы иммуноглобулина, и затем полностью готовая молекула секретируется из клетки путем обратного пиноцитоза (**7**).

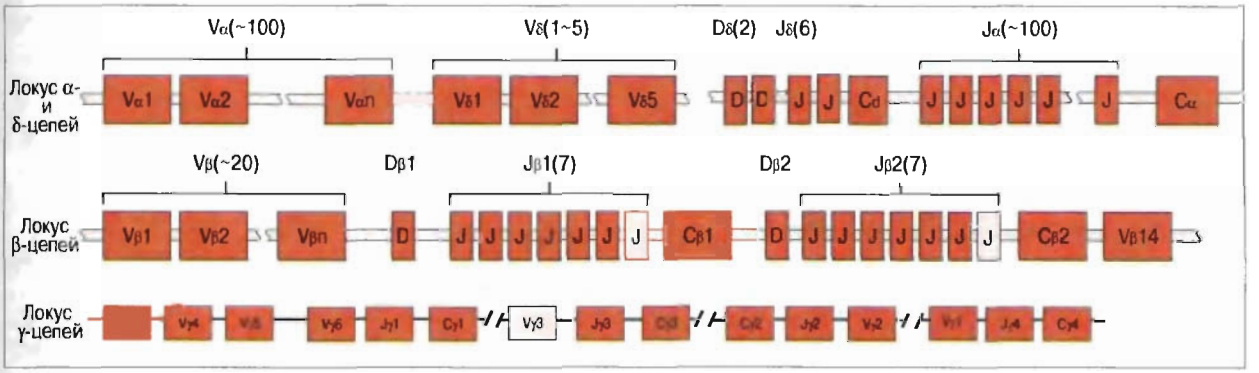


Рис. 8.25
По механизму рекомбинаций гены ТкР сходны с генами тяжелых цепей иммуноглобулинов. На рисунке представлено расположение генов в локусах α-, δ-, β- и γ-цепей Т-клеточного рецептора мыши. Гены δ-цепей размещаются среди генов α-цепей. В локусе β-цепей имеются два кластера тандемных дупликаций J-сегментов. Последние сегменты каждого Jβ-кластера и Vγ3-сегмент – это псевдогены.

МАСШТАБЫ РАЗНООБРАЗИЯ

Репертуар специфичности ТкР создается благодаря простым комбинациям V-, D- и J-сегментов, вставкам добавочных нуклеотидов («N-региональная вариабельность»), варьированию позиций при стыковке генных сегментов и рамок считывания D-сегментов. В частности непостоянно число нуклеотидов, разделяющих после рекомбинации гаметные V- и J-сегменты; оно соответствует примерно 6–15 аминокислотным остаткам V-области β-цепей и 3–7 остаткам V-области α-цепей. Ханкапиллер и Худ рассчитали, что за счет этого может возникать до $4{,}4 \cdot 10^{13}$ различных форм Vβ- и $8{,}5 \cdot 10^{12}$ Vα-генов. Если лишь 1 % из них кодирует жизнеспособные белки, то, согласно тем же расчетам, возможно появление $2{,}9 \cdot 10^{22}$ рецепторов разной специфичности. Предположим, что 99% из них должно быть устранено из-за комплементарности к аутоантигенам или иных дефектов. Но все же число потенциальных ТкР у мыши остается равным примерно $2{,}9 \cdot 10^{20}$. Поскольку за время жизни особи тимус покидает не более 10^9 Т-клеток, возникает вопрос: насколько случайна специфичность их рецепторов? В этом же смысле загадочен репертуар специфичности иммуноглобулинов, так как его расчетное разнообразие на много порядков превышает общее число образующихся В-клеток.

Вопросы для размышления

- Каким образом ограниченное число генов может кодировать антитела и рецепторы для почти бесконечного числа антигенов?
- Что такое соматические мутации и как они могут способствовать или препятствовать иммунному ответу?
- Сравните индивидуальный и популяционный полиморфизм антител и продуктов МНС.
- Как микробы могли влиять на эволюцию иммунной системы?
- Если животное лишено активирующих рекомбинацию генов (RAG-1 и RAG-2), как это отражается на иммунной системе в целом и на формировании разнообразия антител?
- Какие изменения, ведущие к повышению (созреванию) аффинности антител, происходят в генах Ig после антигенной стимуляции? Каков механизм селекции генов с полезными мутациями? Что происходит с клонами клеток, гены которых несут бесполезные мутации?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Appasamy P.M., Kenniston T.W. Jr., Weng Y. et al. 1993. Interleukin 7-induced expression of specific T cell receptor gamma variable regions in murine fetal liver culture. *J. Exp. Med.* **178**: 2201–2206.

Austen B.M., Westwood O.M.R. *Protein Targeting & Secretion*. Oxford: IRL Press, 1991.

Berens S.J., Wylie D.E., Lopez O.J. 1997. Use of a single VH family and long CDR3s in the variable region of cattle Ig heavy chains. *Internat. Imunnol.* **9**: 189–199.

Blackwell T.K., Alt F.W. 1989. Mechanism and developmental program of immunoglobilin gene rearrangement in mammals. Annu. Rev. Genet. **23**: 605–636.

Brack C., Hirama M., Lenhard-Schuller R. et al. 1978. A complete immunoglobulin gene is created by somatic recombination. *Cell* **15**: 1–14.

Chang B., Gasali P. 1994. The CDR-1 sequences of major proportion of human germline Ig VH genes are inherently susceptible to amino acid replacement. *Immunol. Today* **15**: 367–373.

Davis M.M., Bjorkman P.J. 1988. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. *Nature* **334**: 395–402.

Difilppantonio M.J., McMahan C.J., Estman Q.M. et al. 1996. Schatz D.G, RAG-1 mediates signal sequence recognition and recruitment of RAG-2 in V(D)J recombination. *Cell* **87**: 253–262.

Haas W., Pereira P., Tonegawa S. 1993. Gamma/Delta cells. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 637–685.

Harriman W., Volk H., Defanoux N. et al. 1993. Immunoglobulin class switch recombinations. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 361–384.

Hiom K., Gellert M. 1997. A stable RAG1–RAG2–DNA complex that is active in V(D)J cleavage. *Cell* **88**: 65–72.

Honjo T., Alt F.W. *Immunoglobilin Genes*. London: Academic Press, 1995.

Hunkapiller T., Hood L. 1990. Diversity of the immunoglobulin gene superfamily. *Adv. Immunol.* **44**: 1–63.

Leiden J.M. 1993. Transcriptional regulation of N cell receptor genes. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 539–570.

Lewis S.M. 1994. The mechanism of V(D)J joining: lessons from molecular, immunological and comparative analyses. *Adv. Immunol.* **56**: 27–150.

Owen M.J., Lamb J.R. *Immune Recognition*. Oxford: IRL Press, 1988.

Pascual V., Capra J.D. 1991. Human immunoglobulin heavy-chain variable region genes: organization, polymorphism and expression. *Adv. Immunol.* **49**: 1–74.

Rast J.P., Anderson M.R., Strong S.J. et al. 1997. α, β, γ and δ T cell antigen receptor genes arose early in vertebrate phylogeny. Immunity **6**: 1–11.

Spanopoulou E., Zaitseva F., Wang F. et al. 1996. The homeodomain region of Rag-1 reveals the parallel mechanisms of bacterial and V(D)J recombination. *Cell* **87**: 263–276.

Wu T.T., Kabat E.A. 1970. An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myelome light chains and their implications for antibody complementarity. *J. Exp. Med.* **132**: 211–250.

Распознавание антигена

9

- **Антитела высокоспецифичны по отношению к трехмерной конформации эпитопов антигена, вызвавшего их образование.**
- **Аффинность (сродство) антитела** – мера прочности связи антигенсвязывающего центра молекулы антитела с отдельным эпитопом антигена. Функциональная аффинность, или авидность, взаимодействия антител с антигеном определяется также числом антигенсвязывающих центров в молекуле антитела и их способностью связываться с многочисленными эпитопами данного антигена.
- **Т-клетки распознают связанные (презентируемые) другими клетками антигены в ассоциации с молекулами МНС класса I или класса II.** Пептидные фрагменты процессированных антигенов связываются в специальной полости молекул МНС.
- **Молекулы МНС класса I и класса II презентируют пептиды соответственно эндогенных и экзогенных антигенов.** В зависимости от своего происхождения процесированные антигены встречаются и связываются с молекулами МНС в различных внутриклеточных органеллах.
- **Антигенные пептиды, связываемые молекулами МНС класса I, образуются в цитоплазме в результате расщепления антигенов органеллами, названными протеазомами.** Движение этих пептидов по эндоплазматическому ретикулуму обеспечивают транспортные белки из суперсемейства «ABC». Комплекс из трех компонентов – тяжелая цепь класса I – β_2-микроглобулин – пептид – перемещается на клеточную поверхность.
- **Антигенные пептиды, связываемые молекулами МНС класса II, образуются из поглощенных путем эндоцитоза экзогенных антигенов, в результате их процессинга в эндосомах или лизосомах.** Молекулы МНС класса II в составе комплекса с инвариантной (Ii) полипептидной цепью транспортируются через комплекс Гольджи в эндосомы, где утрачивают Ii-цепь в результате диссоциации и присоединяют антигенные пептиды.
- **Комплексы антигенных пептидов с молекулами МНС,** экспонированные на клеточной поверхности, могут распознаваться специфическими рецепторами Т-клеток. Однако для последующей активации Т-клеток требуется ряд дополнительных взаимодействий с участием вспомогательных молекул.

Антитела и антигенраспознающие рецепторы Т-клеток обладают рядом общих свойств. В составе тех и других имеются константные (С) и вариабельные (V) домены; кроме того, сходным образом происходит рекомбинация генных V-, D- и J-сегментов, кодирующих V-домены этих молекул (см. гл. 8). Тем не менее механизмы распознавания антигена В- и Т-клетками совершенно различны. Антитела способны распознавать антигены и в растворе, и на поверхности клеток, но всегда в нативной конформации. Для распознавания же антигена рецепторами Т-клеток обязательно требуется его ассоциация с молекулами МНС на клеточной поверхности. Часто антиген, распознаваемый Т-клетками, подвергается предварительному расщеплению, или, иначе, определенному процессингу, и в результате детерминанта, которую распознает ТкР, представляет собой лишь небольшой фрагмент исходного антигена.

Еще одно отличие антител от ТкР заключается в том, что первые существуют в двух формах – в виде В-клеточных антигенсвязывающих рецепторов и в виде выделяемых клеткой молекул, а ТкР – это всегда сложный комплекс белков клеточной мембраны. Секретируемые клеткой антитела чаще всего представляют собой бифункциональные молекулы: их V-домены предназначены для связывания с антигенами, тогда как С-домены взаимодействуют с рецепторами на клетках организма-хозяина или с компонентами комплемента.

В этой главе рассмотрено строение антигенсвязывающих центров молекул антител и ТкР, а также их взаимодействие со специфическими антигенами или комплексами антиген–МНС. Избирательность таких взаимодействий лежит в основе специфичности приобретенного иммунитета.

СВЯЗЫВАНИЕ АНТИТЕЛ С АНТИГЕНОМ

Между антителом и антигеном образуется множество нековалентных связей

Методом рентгеноструктурного анализа V-доменов установлено, что на концах Fab-ветвей молекул антител сосредоточены гипервариабельные участки полипептидной цепи (см. гл. 6 и 8). Отдельные аминокислотные остатки в этих участках специфически взаимодействуют с эпитопами антигена (*рис. 9.1*). Каркасные остатки в тех же участках, обычно не принимающие участия в связывании антигена, имеют весьма существенное значение для укладки V-домена, которая обеспечивает адекватную конформацию антигенсвязывающего центра.

При контакте специфических антител с антигеном между аминокислотными остатками антигенсвязывающего центра и эпитопом антигена образуются многочисленные нековалентные связи. По сравнению с ковалентными связями силы нековалентного межмолекулярного взаимодействия (водородные связи, электростатические, ван-дер-ваальсовы и гидрофобные взаимодействия) по отдельности весьма слабы, однако при большом числе слабых взаимодействий суммарная энергия связывания получается значительной.

Антигенсвязывающий центр антитела

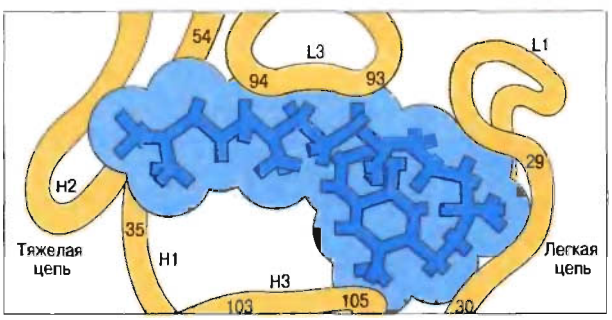


Рис. 9.1
Молекула антигена попадает в полость между легкой и тяжелой цепями антитела – антигенсвязывающий центр. Примером такого взаимодействия может служить связывание γ-гидроксилированной формы витамина K с иммуноглобулином G (миеломный белок NEW). По данным рентгеноструктурного анализа, с антигеном контактируют 10–12 аминокислотных остатков, расположенных в гипервариабельных участках тяжелой и легкой цепей; на рисунке эти остатки обозначены цифрами, указывающими их позиции.

Конформации антигенсвязывающего центра антитела и антигена-мишени комплементарны

Сила нековалентной связи зависит прежде всего от расстояния (d) между взаимодействующими химическими группами. При электростатических взаимодействиях она пропорциональна $1/d^2$, а при ван-дер-ваальсовых – $1/d^7$, т. е. становится значительной только при тесном сближении молекул (*рис. 9.2*). Для связывания антигенной детерминанты (эпитопа) с антигенсвязывающим центром антитела (паратопом) (*рис. 9.3*) требуется взаимное притяжение атомных групп на участках молекул антигена и антитела, контактирующих благодаря соответствию (комплементарности) конформаций эпитопа и паратопа, и одновременное образование в результате несколь-

Силы межмолекулярного притяжения

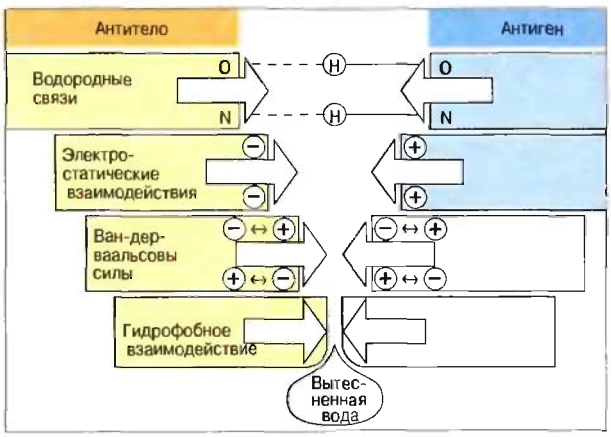


Рис. 9.2
Для возникновения сил связывания (между антителом и антигеном) требуется тесное сближение взаимодействующих атомных групп. Водородные связи образуются за счет водородных мостиков между такими группами. Электростатическое взаимодействие возникает вследствие притяжения противоположно заряженных атомных групп, расположенных на боковых цепях связывающихся белков. Ван-дер-ваальсовы связи обусловлены взаимодействием между электронными оболочками молекул (в данном случае между индуцированными колебательными диполями). Гидрофобное взаимодействие, способное обеспечивать до 1/2 общей энергии связи между антигеном и антителом, – это сильное притяжение в воде между неполярными (гидрофобными) группами, которое почти полностью устраняет их контакт с водой. В зависимости от типа связи различаются величины оптимального для связывания расстояния между взаимодействующими группами.

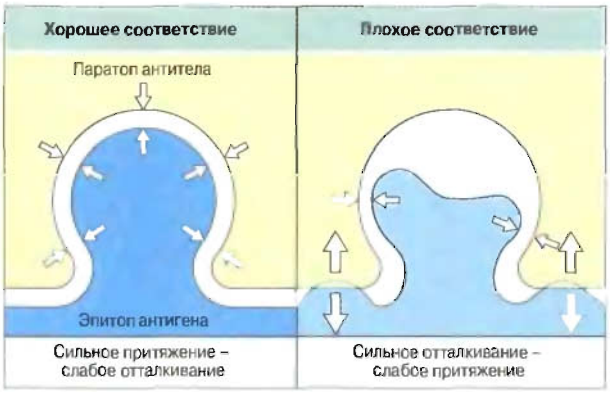


Рис. 9.3
Соответствие конформации антигенсвязывающего центра антитела конформации антигенной детерминанты благоприятствует возникновению сил межмолекулярного притяжения и одновременно в большой степени препятствует возникновению сил отталкивания. При неполном соответствии конформаций, напротив, силы отталкивания преобладают. Если электронные оболочки эпитопов и паратопов перекрываются, возникают значительные силы отталкивания, превышающие любые слабые силы притяжения.

ких нековалентных связей. При определенном уровне комплементарности величина энергии притяжения становится достаточной, чтобы не происходило термодинамического разрыва связей. В то же время при перекрывании электронных оболочек молекул антигена и антитела между ними возникают силы отталкивания, величина которых обратно пропорциональна 12-й степени величины межмолекулярного расстояния: $F \propto 1/d^{12}$. Именно действием этих сил обусловлена специфичность антител к данному антигену (т. е. способность различать антигены), поскольку любое искажение идеально комплементарных конформаций вызывает снижение общей энергии связывания вследствие нарастания сил отталкивания и уменьшения сил притяжения (*рис. 9.3*).

При изучении взаимодействия между лизоцимом и Fab-фрагментом антилизоцимных антител было обнаружено, что поверхности эпитопа и паратопа комплементарны, причем и за пределами гипервариабельных участков. В общей сложности 17 аминокислотных остатков молекулы антитела контактируют с 16 остатками в молекуле лизоцима (*рис. 9.4*). В формирование антигенсвязывающего центра вносят вклад все гипервариабельные участки легкой и тяжелой цепей иммуноглобулина, но, по-видимому, важнее других

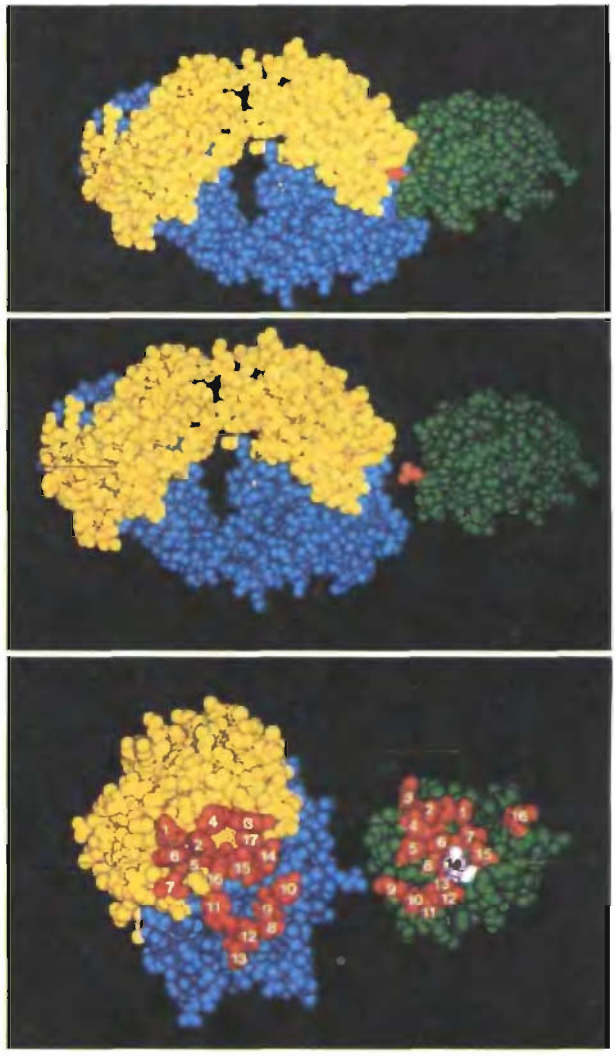


Рис. 9.4
Иммунный комплекс, образованный Fab-фрагментом антилизоцимного антитела с лизоцимом (объемная модель). *Вверху:* лизоцим (показан зеленым цветом) связан с гипервариабельными участками тяжелой (синий цвет) и легкой (желтый цвет) цепей Fab-фрагмента антитела D1.3. *В центре:* диссоциированный комплекс; принадлежащий лизоциму остаток глутамина в позиции 121, отмеченный красным цветом, погружается в центр полости между тяжелой и легкой цепями антитела. *Внизу:* те же молекулы, но повернутые на 90°, чтобы были видны контактирующие друг с другом аминокислотные остатки антитела и антигена. (С разрешения по R. J. Poljak. 1986. *Science* 1986; **233**: 747–753.)

при этом участок CDR-3, кодируемый V–D–J-сегментом гена тяжелой цепи. Вероятно, это обусловлено его большей вариабельностью за счет рекомбинации V-, D- и J-сегментов.

Аффинность антитела – это прочность связи одного антигенсвязывающего центра с индивидуальным эпитопом антигена

Аффинностью, или сродством, антител к антигену называют силу их взаимодействия (прочность связи) – результирующую перечисленных выше сил притяжения и отталкивания (*рис. 9.5*). Взаимодействие антигенсвязывающего центра с антигеном можно исследовать термодинамическим методом. Для измерения аффинности отдельного антигенсвязывающего центра используют моновалентный антиген, или, точнее, изолированную антигенную детерминанту (гаптен). Поскольку нековалентные связи между паратопами и эпитопами способны диссоциировать, образование иммунных комплексов – процесс обратимый; применив к нему закон действующих масс, можно определить константу равновесия K, которая собственно и представляет собой константу аффинности (сродства) (*рис. 9.6*).

Авидность антител – это суммарная сила взаимодействия антитела с антигеном

Основная единица молекул иммуноглобулинов, состоящая из 4 полипептидных цепей, содержит

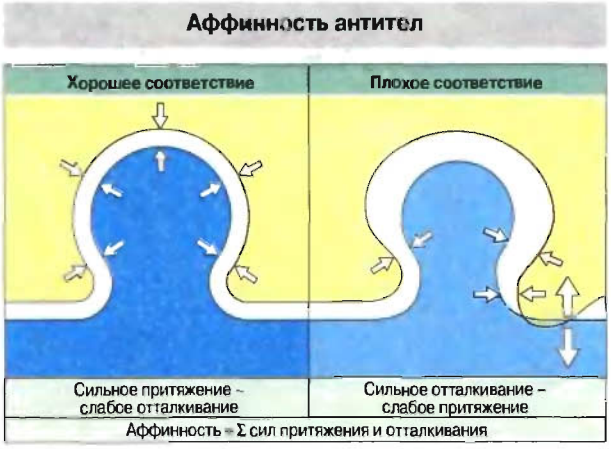


Рис. 9.5
Аффинность антитела к антигену – это результирующая возникающих между ними сил притяжения и отталкивания. Высокоаффинные антитела точно комплементарны по конформации антигену, а низкоаффинные, напротив, неточно.

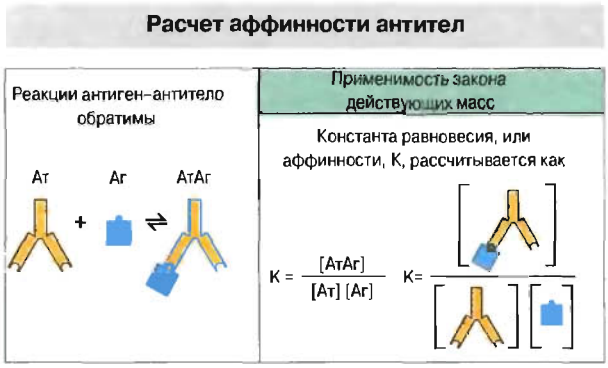


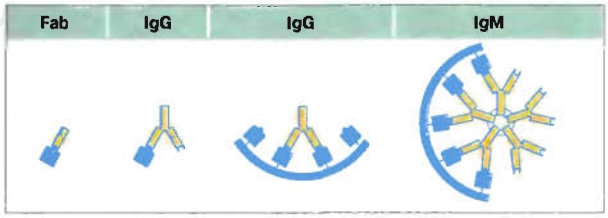
Рис. 9.6
Все реакции антиген–антитело обратимы. Поэтому они описываются законом действующих масс, что позволяет рассчитать аффинность антител как константу равновесия, K. (Квадратные скобки означают концентрацию реагентов.)

два антигенсвязывающих центра, поэтому антитела потенциально поливалентны по отношению к антигену. Кроме того, сами антигены могут быть моновалентны (например, гаптены) или поливалентны (в частности, микробные клетки). В отличие от аффинности как меры сродства между отдельной антигенной детерминантой и антигенсвязывающим центром сила взаимодействия поливалентных антител с поливалентным антигеном названа авидностью. Она зависит от сродства индивидуальных антигенсвязывающих центров к детерминантам данного антигена, но всегда больше их арифметической суммы, если с антигеном могут связаться оба центра. Поливалентность антигена и антител существенно усиливает прочность их соединения, поскольку для диссоциации иммунных комплексов необходим разрыв сразу всех связей (*рис. 9.7*). Применительно к физиологическим условиям более адекватно рассматривать авидность, а не аффинность антител, поскольку природные антигены обычно поливалентны. Однако для изучения иммунохимических аспектов взаимодействия антител с антигеном требуется точное измерение аффинности антител к гаптенам.

Кинетика реакций антиген–антитело

Величины аффинности антител относятся к условиям равновесия. Аффинность отражает способность антител формировать стабильные иммунные комплексы. Однако для проявления многих биологических активностей антител су-

Аффинность и авидность



Антитела	Fab	IgG	IgG	IgM
Эффективная валентность антител	1	1	2	до 10
Валентность антигена	1	1	n	n
Константа равновесия, л/моль	10^4	10^4	10^7	10^{11}
Увеличение аффинности за счет мультивалентности	–	–	10^3-кратное	10^7-кратное
Характер связывания	Аффинность	Аффинность	Авидность	Авидность
	Собственная аффинность		Функциональная аффинность	

Рис. 9.7
Если судить по величине константы равновесия, поливалентное связывание антител с антигеном (функциональная аффинность, или авидность) значительно прочнее простого моновалентного связывания (собственно аффинности, константа которой принята в данном случае произвольно за 10^4 л·моль$^{-1}$). Раньше этот феномен называли усиливающим эффектом поливалентности; благодаря такому эффекту энергия связывания увеличивается, например, в случае IgG в 10^3 раз при участии в нем обоих антигенсвязывающих центров молекулы и в случае IgM в 10^7 раз.

щественное значение имеет, по-видимому, кроме аффинности, кинетика реакции с антигеном.

Кинетически связывание антител с антигеном характеризуется константами скоростей прямой (ассоциация) и обратной (диссоциация) реакций, соответственно $K_{1,2}$ (моль$^{-1}$·с$^{-1}$) и $K_{2,1}$ (с$^{-1}$). В условиях равновесия отношение этих двух констант скоростей дает константу равновесия, которая характеризует аффинность данного образца антител. Прежде считалось, что различия между антителами по аффинности проявляются в первую очередь различиями в скорости диссоциации иммунных комплексов, но совсем недавно было обнаружено, что скорость ассоциации также зависит от аффинности.

В исследованиях последних лет удалось выяснить, что при «созревании» гуморального иммунного ответа происходит отбор В-клеток по способности быстро связывать антиген (кинетическая селекция) и по прочности связывания антигена (термодинамическая селекция).

СПЕЦИФИЧНОСТЬ И АФФИННОСТЬ АНТИТЕЛ

Реакциям антиген–антитело свойственна высокая специфичность. Например, противокоревые антитела связываются с вирусами кори и создают иммунитет к этому заболеванию, но не способны связаться с вирусами других видов, в частности с вирусами полиомиелита, и не защищают от них организм. Специфичность антисыворотки суммарно отражает специфичность содержащихся в ней антител, в популяции которых может присутствовать множество паратопов, способных связываться с различными эпитопами или даже с разными частями одного и того же эпитопа (*рис. 9.8*). Однако, если антиген А имеет общие эпитопы с антигеном Б, часть антител, специфичных к А, будет реагировать также и с Б. Этот феномен назван перекрестной реактивностью.

Антитела распознают наружную конформацию антигенов

Антитела распознают, разумеется, не отдельные химические группы, а пространственную форму эпитопов (*рис. 9.9*), причем с поразительной специфичностью, улавливая, кроме различий в распределении зарядов, в оптической и стереоизо-

Специфичность, перекрестная реактивность и отсутствие реакции

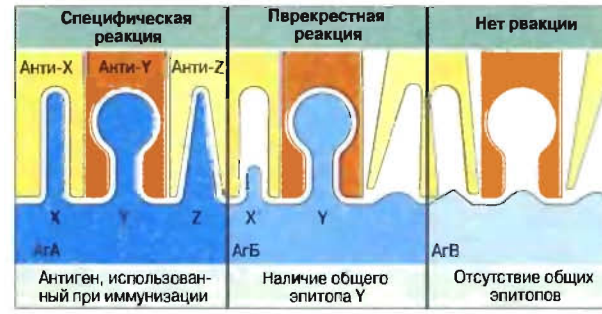


Рис. 9.8
Специфичность антисыворотки отражает специфичность содержащихся в ней отдельных молекул антител (например, антител анти-X, анти-Y и анти-Z к эпитопам X, Y и Z, встречающимся на разных антигенных молекулах). Антиген А (АгА) и антиген Б (АгБ) обладают общим эпитопом Y. Антисыворотка против АгА (анти-XYZ) не только специфически связывается с АгА, но и перекрестно реагирует с АгБ (благодаря распознаванию эпитопов Y и X′), но не дает реакции с АгВ, поскольку он не имеет общих эпитопов с АгА.

Специфичность и перекрестная реактивность

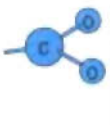
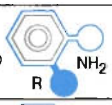
Радикал (R)	Сульфонат	Арсонат	Карбоксилат
			
	Тетра-эдрический	Тетра-эдрический	Плоский
орто-изомер 	++	–	–
мета-изомер 	+++	+	±
пара-изомер 	±	–	–

Рис. 9.9
Антисыворотка, полученная при иммунизации животных *мета*-аминобензолсульфонатом в качестве гаптена, была исследована в реакции связывания с *орто*- и *пара*-изомерами того же гаптена, а также с тремя изомерами (*орто*-, *мета*- и *пара*-) двух различных, но химически родственных антигенов – аминобензоларсоната и аминобензолкарбоксилата. Антисыворотка специфически реагирует с гаптеном, сульфонатная группа которого находится в *мета*-положении, но дает также перекрестную (хотя и слабую) реакцию с *орто*-изомером того же гаптена. Еще более слабые перекрестные реакции наблюдаются с гаптеном, имеющим арсонатную или карбоксилатную группу в *мета*-, но не в *орто*- или *пара*-положении. В отличие от сульфонатной группы, арсонатная группа крупнее по размерам и имеет дополнительный атом водорода, тогда как карбоксилатная группа меньше той и другой. Эти данные свидетельствуют о том, что для связывания антител с антигеном важна не только его конфигурация, но и отдельные содержащиеся в его молекуле химические группы.

мерии, также и минимальные различия в первичной аминокислотной последовательности (в случае белковых антигенов) (*рис. 9.10*). Вследствие столь тонкой специфичности большая часть антител способна связываться только с нативными (не денатурированными) антигенами или с такими фрагментами антигена, которые сохраняют третичную структуру, необходимую для множественных взаимодействий при образовании связи между паратопом и эпитопом.

В связи с этим в иммунологических исследованиях при получении специфических антител могут возникать затруднения. Для упрощения работы часто в качестве антигена используют специально синтезированный короткий полипептид известной первичной структуры, поскольку это легче, чем путем очистки получить достаточное количество нативного антигена. Однако антитела, образующиеся в результате иммунизации синтетическими пептидами, часто не обладают требуемой специфичностью и аффинностью к антигену в его нативной форме.

Модифицируя гены, можно получать антитела заданной конструкции

Благодаря достижениям молекулярной биологии стало возможным получать моноклональные антитела (мАт) заданной специфичности, аффинности и изотипа и, более того, конструировать гены антител, содержащие V-гены мыши и C-гены человека. Иммунизируя мышей, можно вызвать образование антител нужной специфичности, а затем придать им видовую антигенность антител человека. Благодаря весьма низкой чужеродности таких мАт для человека они могут использоваться в клинике. Еще более изощренные методы конструирования позволяют дополнять каркас V-домена антител, получаемых от животных одного вида, набором участков, опре-

Конфигурационная специфичность

Антисыворотка	Антиген		
	Лизоцим	Изолированный пептид, образующий петлю	Незамкнутый пептид
			
Антилизоцимная	++	+	–
«Антипетлевая»	+	++	–

Рис. 9.10
В молекуле лизоцима имеются внутрицепочечные дисульфидные связи (показаны красными полосками), благодаря которым полипептид образует петли. Антисыворотки к целой молекуле лизоцима (антилизоцимная) и к одной из пептидных петель («антипетлевая») различают оба эти антигена, но не реагируют с тем же пептидом в незамкнутой (восстановленной) форме. Этим подтверждается значение третичной структуры антигена как фактора, определяющего специфичность антител.

деляющих комплементарность (CDR, см. гл. 8), из антител животных другого вида. Можно даже производить замены определенных аминокислотных остатков в антигенсвязывающем центре для увеличения аффинности антител (*рис. 9.11*).

Полифункциональные антигенсвязывающие центры могут быть одновременно комплементарны различным эпитопам

Не так давно было обнаружено, что одно и то же антитело может быть комплементарно к нескольким различным антигенным детерминантам. Они конкурируют за связывание с этим антителом и, по-видимому, занимают различные участки полости, образуемой антигенсвязывающим центром (*рис. 9.12*).

Специфичность популяции поликлональных антител к данному антигену (А) не означает, что каждый вид входящих в нее антител взаимодействует исключительно с А. Просто большая часть этих антител обладает полифункциональным активным центром, способным связывать А, и суммарная реактивность в отношении А существенно превышает реактивность в отношении прочих антигенов. Иными словами, специфичность (поликлональных) антител может быть популяционным феноменом – усредненной характеристикой всех антител, содержащихся в антисыворотке (*рис. 9.13*).

Высокоаффинные антитела часто эффективнее низкоаффинных

Аффинность связывания антител с антигеном представляет не только теоретический интерес. От нее, как и от авидности, зависят физиологические и патологические эффекты антител. Высокоаффинные антитела гораздо активнее низкоаффинных в ряде биологических реакций (*рис. 9.14*). В экспериментах на животных иммунные комплексы, содержащие низкоаффинные антитела, длительно персистируют в циркуляции и

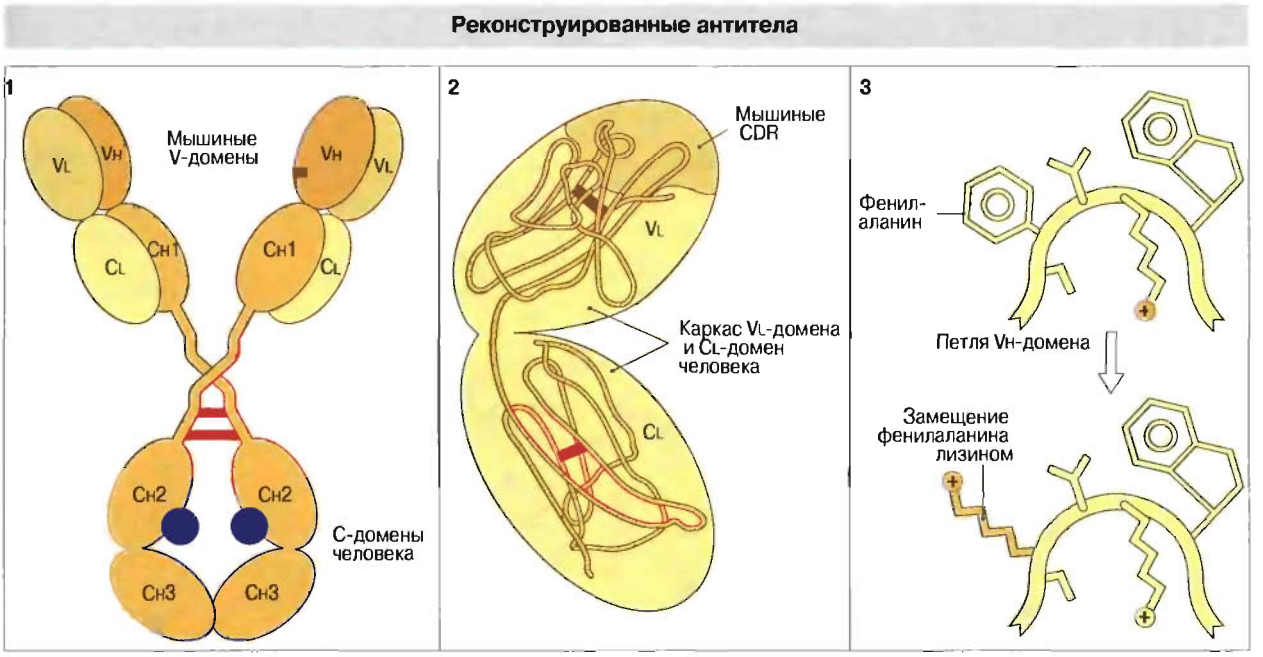


Рис. 9.11
Мышиные V-гены можно соединить с С-генами человека и ввести продукт рекомбинации в геном клетки, которая в результате будет синтезировать химерные «мышино-человеческие» антитела (**1**). Другой вариант конструирования антител заключается в присоединении к каркасу V-области легкой цепи гипервариабельных участков (CDR) нужной структуры (**2**). Кроме того, аффинность антигенсвязывающего центра можно изменить, вызвав точечную мутацию в том участке ДНК, который кодирует гипервариабельные петли Vн-домена (в данном случае показана замена фенилаланина на лизин) (**3**).

Полифункциональные антигенсвязывающие центры

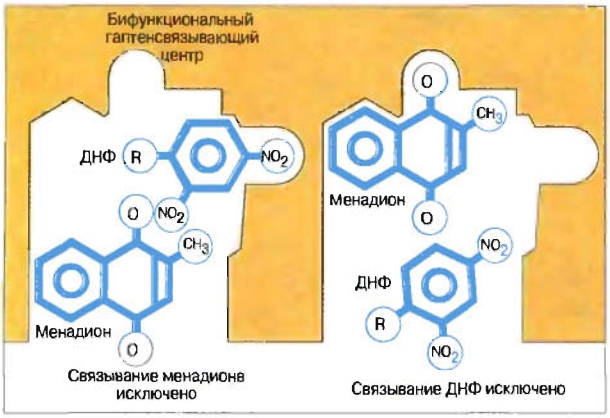


Рис. 9.12
Один и тот же антигенсвязывающий центр способен соединяться с несколькими разными антигенными детерминантами. Например, в антигенсвязывающем центре антител 460 имеются две ниши, расположенные на расстоянии 1,2–1,4 нм, одна из которых связывает менадионовую (витамин K_3), а другая – динитрофенильную (ДНФ) гаптенную группу. Это связывание происходит конкурентно, т. е. связывание одного гаптена исключает последующее связывание другого. Антигенсвязывающие центры, способные взаимодействовать с несколькими антигенными детерминантами, названы полифункциональными.

Специфичность антисыворотки

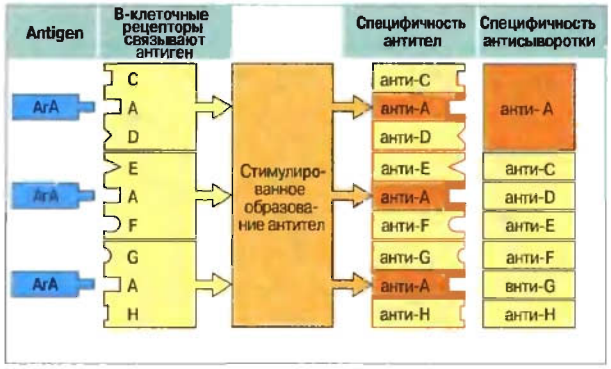


Рис. 9.13
Специфичность антисыворотки как популяционный феномен. Отдельно взятый антиген А (АгА) может связаться с рецепторами разных В-клеток, специфичными не только к А, но и к другим антигенам (С, D, E, F и т. д.), т. е. обладающими полифункциональными активными центрами. Каждая В-клетка, активированная АгА, образует антитела, специфичные не только к АгА, но и к другим антигенам. Однако благодаря тому, что все активированные В-клетки специфичны к АгА, но не все из них специфичны к другим антигенам, концентрация антител к АгА будет высокой, а к другим антигенам – низкой.

откладываются на базальной мембране капилляров почек, нарушая их функцию. В то же время иммунные комплексы, образованные высокоаффинными антителами, намного быстрее выводятся из кровотока и локализуются в мезангии почечных клубочков, мало влияя на их функцию.

Аффинность антител к большинству Т-зависимых антигенов нарастает в ходе иммунного ответа. Ее увеличения можно достичь также особыми способами иммунизации. Например, субпопуляция высокоаффинных антител в сыворотке увеличится, если антиген вводить вместе с ИФγ (*рис. 9.15*). Ряд иммуноадъювантов стимулирует образование антител, но лишь некоторые способны повысить их аффинность. Поскольку от этого свойства зависит эффективность антител, ИФγ вполне пригоден для использования в качестве адъюванта в составе вакцин.

Определение аффинности антител

Существует ряд методов определения аффинности антител и авидности антисывороток. Проце-

Преимущества высокоаффинных антител выявляются в следующих реакциях

Гемагглютинация
Гемолиз
Связывание комплемента
Пассивная кожная анафилаксия
Бактерицидная активность
Нейтрализация токсинов
Опсонизация
Иммунная элиминация антигена
Повреждение мембран
Нейтрализация вирусов
Защита от бактерий и вирусов
Инактивация ферментов
Разрушение D^+-эритроцитов *in vivo*

Рис. 9.14
Биологические реакции, в которых высокоаффинные антитела эффективнее низкоаффинных.

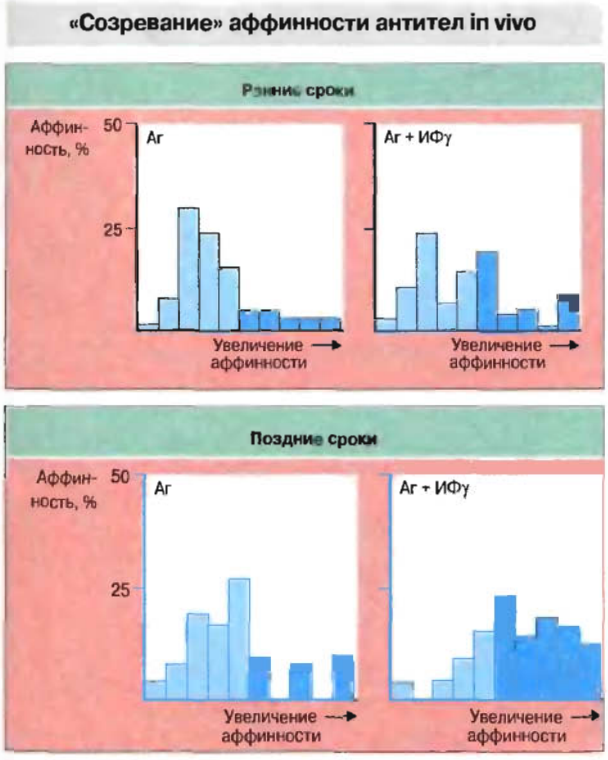


Рис. 9.15
Мышей опытной группы иммунизировали антигеном вместе с 30 000 ЕД ИФγ (Аг + ИФγ), а контрольной – только антигеном (Аг). Аффинность образующихся антител определяли на ранних и поздних сроках после иммунизации. В сыворотке мышей опытной группы независимо от сроков взятия крови выявлялось больше высокоаффинных антител (темно-голубые столбики), чем в сыворотке контрольной группы. (По Holland, Holland and Steward, 1990. *Clin. Exp. Immunol.* **82**: 221–226.)

дура каждого из них заключается в том, чтобы создать условия, в которых взаимодействие антител с антигеном достигает равновесия: Ат + Аг ⇔ АтАг, а затем, не нарушая этого равновесия, измерить концентрации свободного и связанного антигена. Сделать это можно по-разному, например отделяя свободный антиген от связанного с помощью таких методов, как диализ, гель-фильтрация, центрифугирование или избирательное осаждение, либо определяя изменения флуоресценции антигена или антител после образования иммунного комплекса.

Используя полученные данные для расчета по формуле закона действующих масс, можно вычислить константу равновесия (аффинности), K:

$$K = \frac{[АтАг]}{[Ат]\,[Аг]},$$

где [АтАг] – концентрация иммунных комплексов, [Аг] – концентрация свободного антигена и [Ат] – концентрация незанятых антигенсвязывающих центров в условиях равновесия. Если половина антигенсвязывающих центров связана с антигеном и, следовательно, [Ат] равна [АтАг], значение K равно 1/[Аг]. Иными словами, для связывания 50 % активных центров в случае высокоаффинных антител (т. е. имеющих высокую K) достаточно низкой концентрации антигена, а в случае низкоаффинных антител нужна его высокая концентрация.

Распределение содержащихся в антисыворотке антител по аффинности отличается от нормального

В реакциях взаимодействия фермента с субстратом константа равновесия (K) неизменна при различных концентрациях субстрата. При связывании же антител с гомологичным антигеном дело обстоит иначе – популяция поликлональных антител гетерогенна по этой константе, т. е. по величине аффинности. Ранее предполагалось, что в любой антисыворотке количественное распределение антител по аффинности имеет характер нормального (Гауссова) распределения. Как теперь установлено, это предположение было ошибочным. Графический анализ данных по аффинности для реакции между антисывороткой и антигеном показывает, что распределение антител по аффинности не соответствует нормальному (*рис. 9.16*). Однако среднюю аффинность популяции антител в данной антисыворотке (K_0) можно определить с хорошим приближением как величину, обратную такой концентрации свободного антигена, которая необходима для насыщения половины всех антигенсвязывающих центров антител: $K_0 = 1/[Аг_{своб.}]$.

Гетерогенность популяции антител по аффинности трудно оценить экспериментальными методами

Гетерогенность популяции антител по аффинности невозможно точно описать математической формулой, поскольку нельзя с уверенностью предполагать характер их распределения по этой величине в каждой отдельной антисыворотке – соответствует ли он нормальному, асимметрич-

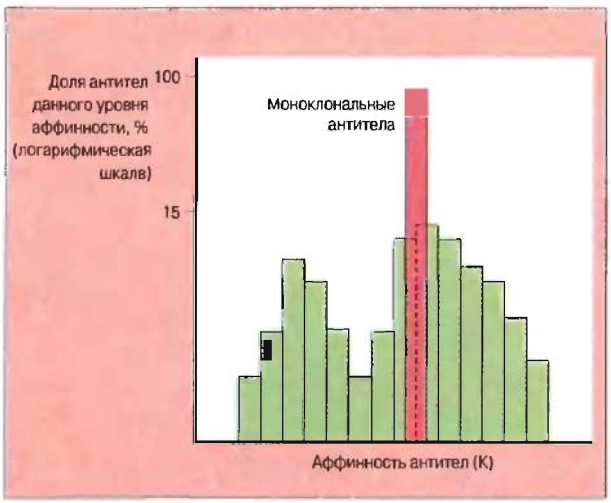


Рис. 9.16
Гистограмма типичного распределения антител по аффинности в антисыворотке к данной антигенной детерминанте в сравнении с однородной по аффинности популяцией моноклональных антител к той же детерминанте. В отличие от поликлональных все моноклональные антитела характеризуются одинаковой аффинностью. Распределение поликлональных антител, содержащихся в антисыворотке, по аффинности отличается от нормального.

ному, би- или полимодальному. Для определения такой гетерогенности используется довольно сложный компьютерный анализ кривых связывания, основанный на допущении, что распределение соответствует нормальному. Описан, однако, и простой экспериментальный подход для ее оценки, не основанный на таком допущении. Согласно этой методике, в панели для микротитрования, лунки которых предварительно нагружены, т. е. покрыты, иммобилизованным антигеном, вносят раствор исследуемых антител в известной концентрации и серийные разведения (растворы последовательно уменьщающихся концентраций) свободного антигена, подавляющего связывание антител с антигеном, иммобилизованным на поверхности лунок. Затем рассчитывают в процентах подавление связывания для каждого разведения свободного антигена и определяют молярную концентрацию, обеспечивающую 50 % подавление ($I_{0,5}$). Выразив результаты в процентилях, строят гистограмму и анализируют по ней разброс значений аффинности. Математической величиной для его выражения может служить индекс Шаннона, высокие значения которого свидетельствуют о широком диапазоне аффинности в популяции антител, а низкие соответственно об узком диапазоне.

СТРУКТУРА АНТИГЕНОВ

Число различных по специфичности антител, которые могут продуцироваться в ответ на введение любого антигена, весьма велико, так как все антигены представляют собой трехмерные структуры, экспонирующие В-клеткам самые разнообразные конфигурации. Один и тот же антиген часто способен связывать разные по специфичности антитела перекрывающимися эпитопами своей поверхности. Подобно этому различные антитела могут связываться одним и тем же участком молекулы антигена, но не одним и тем же эпитопом.

Иммунодоминантные эпитопы расположены на выступающих, гибких частях молекулы антигена

Организм способен образовать антитела почти к любой части молекулы антигена, но при нормальном иммунном ответе этого обычно не происходит. Как правило, некоторые эпитопы антигена обладают особой антигенностью, и большинство антител образуется именно к ним. Эти эпитопы, названные иммунодоминантными, почти всегда расположены на выступающих частях молекулы антигена, в частности представляют собой полипептидные петли, не имеющие жесткой третичной структуры.

В некоторых случаях иммунодоминантные эпитопы локализованы в наиболее пластичных частях молекулы антигена. В связи с этим возникло предположение, что исходные конфигурации взаимодействующих молекул антигена и антитела не точно комплементарны друг другу. Определенная пластичность, присущая эпитопу антигена и гипервариабельным участкам молекулы антитела, по всей вероятности, способствует достижению оптимального уровня энергии связывания. Это, в частности, достоверно подтвердили результаты рентгеноструктурного анализа комплексов, образованных Fab-фрагментами антител с нейраминидазой вируса гриппа, использованной в качестве антигена. Параметры и функциональное значение взаимной комплементарности

для связывания антител с антигеном рассмотрены выше (*рис. 9.2, 9.3* и *9.4*).

РАСПОЗНАВАНИЕ АНТИГЕНА Т-КЛЕТКАМИ

Т-клетки распознают антиген, связанный другими клетками и представленный на их поверхности в ассоциации (комплексе) с молекулами MHC класса I или II, функционирующими как «системы наведения» для Т-клеток. Необходимость ассоциации с молекулами MHC называют иначе MHC-рестрикцией. Принцип такой рестрикции (ограничения) наиболее очевидно выявляется при Т-клеточном иммунном ответе на экспериментальную вирусную инфекцию у мыши (*рис. 9.17*). Цитотоксические Т-лимфоциты (Тц) зараженного животного способны поражать инфицированные вирусом клетки-мишени того же самого, но не иного H-2-гаплотипа.

Преимущество такой системы двойного распознавания чужеродных антигенов состоит в том, что свободный (не ассоциированный с молекулами MHC) вирус не может полностью заблокировать все специфичные к нему Тц-рецепторы. Еще более важно, что благодаря MHC-рестрикции Т-клетки способны отличать эндогенные антигены от экзогенных.

На сходных принципах рестриктированного по MHC распознавания основано функционирование хелперных Т-клеток (Тх). Они распознают антиген, например на макрофагах и В-клетках, в ассоциации с молекулами MHC класса II, которые служат для передачи сигналов распознавания между антигенпрезентирующими клетками (в частности, макрофагами) и Тх.

MHC-рестрикция цитотоксической активности Т-клеток

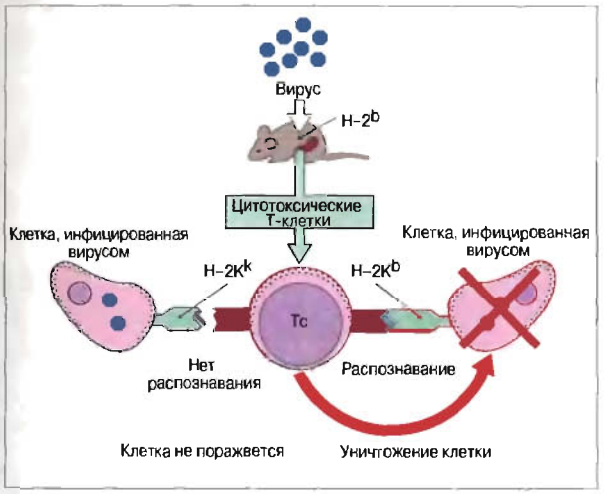


Рис. 9.17
Рестриктированное по гаплотипу поражение инфицированных вирусом клеток-мишеней цитотоксическими Т-лимфоцитами (Тц). Мышей гаплотипа H-2^b примировали вирусом, после чего из селезенки выделяли Тц и определяли их способность поражать инфицированные тем же вирусом клетки-мишени гаплотипов H-2^b и H-2^k. Тц поражают клетки-мишени H-2^b, но не H-2^k, т. е. Т-клетки распознают специфическую структуру, возникающую в результате ассоциации продукта класса I H-2K (или H-2D) с вирусным антигеном (например, комплекс вирус/H-2K). В контрольном эксперименте клетки-мишени обоих гаплотипов обработаны антителами, распознающими отпочковывающийся вирус и не ограниченными в своем эффекте гаплотипом. В результате противовирусные антитела и комплемент поражают инфицированные клетки-мишени независимо от гаплотипа.

ПРОЦЕССИНГ И ПРЕЗЕНТАЦИЯ АНТИГЕНА

Презентации антигенов Т-клеткам предшествует процессинг

Циркулирующие антитела и реакции клеточного иммунитета, как правило, специфичны в отношении разных детерминант одного и того же антигена. Например, у мыши В-клетки распознают аминоконцевые эпитопы глюкагона, тогда как Т-клетки – его карбоксиконцевые детерминанты

Т-клеточные эпитопы отличаются от В-клеточных

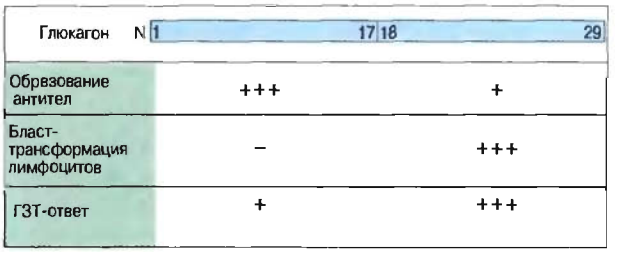


Рис. 9.18
Различные формы иммунного ответа при иммунизации двумя пептидами, из которых состоит молекула глюкагона. Антитела (В-клеточный ответ) направлены преимущественно к эпитопам N-концевого пептида, тогда как С-концевой пептид (позиции 18–29) стимулирует Т-клеточный ответ, в частности бласттрансформацию лимфоцитов in vitro и гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) in vivo.

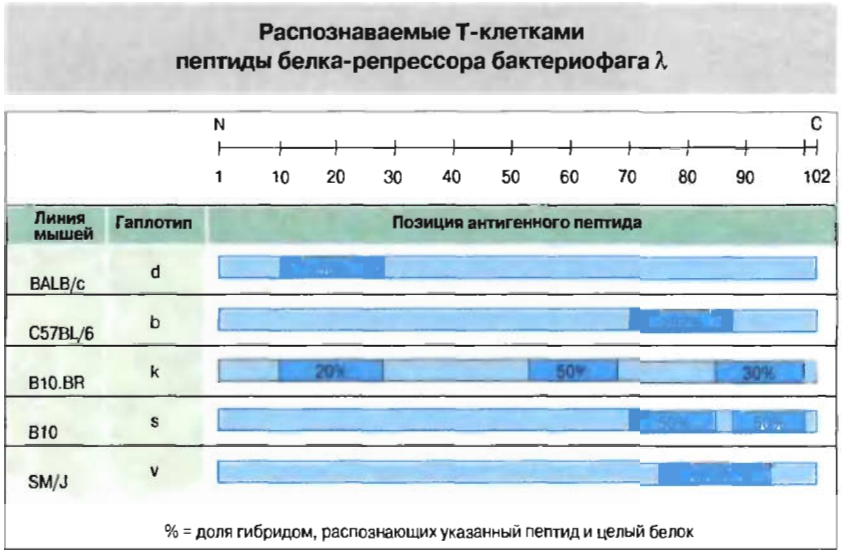


Рис. 9.19
Различия между пептидными фрагментами одного и того же белкового антигена, распознаваемыми Т-клетками мышей разных гаплотипов (т. е. носителями разных молекул MHC класса II). Животных иммунизировали белком-репрессором бактериофага λ, получали Т-клеточные гибридомы и определяли их способность распознавать набор перекрывающихся пептидных фрагментов этого белка. Позиции антигенных пептидов отмечены темно-голубым цветом. Один из пептидов всегда иммунодоминантен, хотя для некоторых линий мышей антигенными были несколько пептидов. (По Roy S. et al., 1989).

(*рис. 9.18*). Это происходит благодаря тому, что презентируются не интактные молекулы антигена, а их фрагменты (продукты расщепления, или процессинга – переработки) в ассоциации с продуктами MHC на клеточной поверхности. Клетки, процессирующие антиген для презентации – это либо специализированные антигенпрезентирующие клетки (АПК), способные стимулировать пролиферацию Т-клеток, либо инфицированные вирусами клетки организма, которые затем становятся мишенями для Тц.

Процессинг антигена заключается в его расщеплении на пептидные фрагменты. Подавляющее большинство эпитопов, распознаваемых Т-клетками, представляет собой фрагменты пептидной цепи, часто недоступные для иммунного распознавания в составе молекул интактного белка. Только малая часть пептидных фрагментов белкового антигена способна связаться с соответствующей молекулой MHC. Более того, разные молекулы MHC связывают различные наборы пептидов. Например, Тх-клетки мышей разных гаплотипов (т. е. носителей различных молекул MHC) распознают разные пептиды вирусного антигена (*рис. 9.19*). Эти различия распознавания обусловлены главным образом способностью данного пептида связываться с определенной молекулой MHC класса II.

Перед связыванием с молекулами MHC белковые антигены расщепляются на пептиды

Процессинг антигенов, в результате которого образуются пептиды, способные связаться с молекулами MHC, происходит во внутриклеточных органеллах антигенпрезентирующих клеток (*рис. 9.20*). Для целей исследования процесс расщепления антигена можно исключить, использовав в качестве антигенов синтетические пептиды. Применение именно таких легкосинтезируемых пептидов с известной аминокислотной последо-

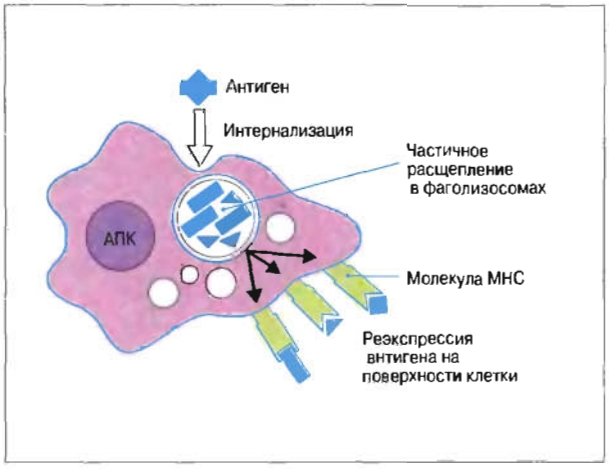


Рис. 9.20
Экзогенные антигены захватываются антигенпрезентирующими клетками, а затем расщепляются их протеолитическими фрагментами в специализированных внутриклеточных компартментах. Антигенные пептиды образуют комплекс с молекулами MHC класса II в везикулах, которые, направляясь к поверхности клетки, движутся навстречу эндоцитарным везикулам.

Пептиды, распознаваемые Т-клетками, в составе белков

Белок – источник пептидов	Участок аминокислотной последовательности
Миоглобин	69–78 102–118 132–145
Гемагглютинин вирусов гриппа	109–119 130–140 302–313
Поверхностный антиген вируса гепатита В	38–52 95–109 140–154
Продукт гена пре-S вируса гепатита В	120–132
Белок 1 (VP1) вируса ящура	141–160
Предшественник гликопротеина G вируса бешенства	32–44

Рис. 9.21
В таблице представлены распознаваемые Т-клетками пептиды ряда белков. Чтобы активировать Т-клетки, можно использовать синтетические пептиды, повторяющие полную аминокислотную последовательность соответствующего белка, но часто для активации достаточно воздействия лишь одного или нескольких отдельных фрагментов его цепи.

вательностью позволило идентифицировать эпитопы, распознаваемые Т-клетками разной специфичности (*рис. 9.21*). Аминокислотные замены в различных позициях дали возможность выяснить сравнительное значение того или иного аминокислотного остатка в составе определенных эпитопов. Кроме того, с помощью пептидов известной структуры была доказана способность молекул МНС классов I и II к прямому связыванию фрагментов антигена. Путем сравнения эффектов аминокислотных замен, т. е. их влияния на МНС-связывание и Т-клеточную реактивность, удалось установить, какие именно аминокислотные остатки контактируют с молекулой МНС и с Т-клеточным рецептором. Например, фрагмент, состоящий из остатков 52–61 полипептидной цепи лизоцима яичного белка, распознают H-2-IA^k-рестриктированные Т-клетки. Этот пептид связывается с молекулами IA^k, и, как установлено, в его взаимодействии с продуктами МНС класса II принимают участие три аминокислотных остатка, в то время как три других остатка осуществляют контакт с ТкР.

ОБРАЗОВАНИЕ И СТРОЕНИЕ КОМПЛЕКСА АНТИГЕННЫЙ ПЕПТИД–МОЛЕКУЛА МНС

Полость в молекуле МНС, где происходит связывание антигенных пептидов, имеет разнообразные карманы и щели, а также выступающие и утопленные участки поверхности. Их тонкая топология отчасти зависит от «выстилающих» эту полость аминокислотных остатков и поэтому различается у молекул МНС разных гаплотипов. Параметры связывания пептида с молекулой МНС зависят от природы его боковых цепей и от взаимной комплементарности контактирующих участков обоих партнеров ассоциации. Определенная часть боковых цепей пептида не участвует во взаимодействии с молекулой МНС и предназначена для контакта с ТкР (см. гл. 7).

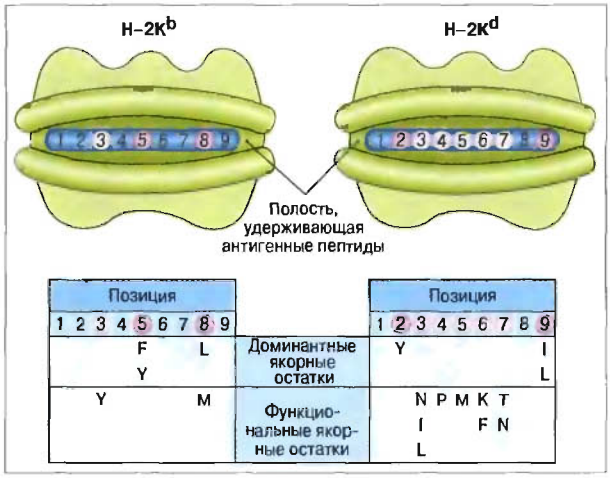
Образование комплексов из антигенных пептидов и молекул МНС происходит в специализированных внутриклеточных органеллах, при этом взаимодействие с молекулами класса I и класса II происходит в различных участках клетки.

Пептиды удерживаются в предназначенной для их связывания полости молекулы МНС особыми якорными аминокислотными остатками

Пептидные фрагменты, появившиеся в результате процессинга антигена и экспонируемые затем АПК в ассоциации с молекулами МНС, можно получить в виде очищенных препаратов и секвенировать. Среди них встречаются не только пептиды из поглощенного клеткой чужеродного антигена (например, вирусных частиц), но и собственные пептиды организма, отщепившиеся в АПК или эндоцитированные ею из внеклеточной жидкости. Анализ (путем очистки и секвенирования) этих собственных пептидов, элюированных из комплексов с молекулами МНС класса I, показал, что они состоят из девяти аминокислотных остатков; при этом удалось точно установить структуру ряда таких пептидов и идентифицировать характерные аминокислотные остатки – один на С-конце и другой ближе к N-концу. Этими характерными структурными мотивами различаются пептиды, связываемые молекулами класса I разных гаплотипов (*рис. 9.22*).

Значение этих консервативных остатков стало очевидным при анализе трехмерной структуры некоторых молекул МНС класса I, позволившем составить довольно ясную картину расположе-

Антигенные пептиды, элюированные из комплекса с молекулами MHC класса I



Позиция										Позиция								
1	2	3	4	5	6	7	8	9		1	2	3	4	5	6	7	8	9
		F Y				L			Доминантные якорные остатки	Y								I L
	Y					M			Функциональные якорные остатки					N I L	P	M	K F	T N

Рис. 9.22
Аллоспецифичные структурные мотивы в молекулах пептидов, элюированных из комплексов с молекулами MHC класса I гаплотипа H-2K^b или H-2K^d. Молекулы MHC выделяли методом иммунопреципитации. Связанные с ними пептиды были очищены и секвенированы. «Якорные» аминокислотные остатки, наиболее часто встречающиеся в определенных позициях, определены как доминантные, а встречающиеся лишь относительно часто – как функциональные. В позициях без указания определенной аминокислоты с равной вероятностью встречается несколько различных остатков. Для обозначения аминокислот использован однобуквенный код. Вверху изображены пептидсвязывающие полости (вид сверху) двух молекул MHC класса I разных гаплотипов. Позиции якорных остатков в составе пептида, связанного с молекулой MHC каждого гаплотипа, выделены цветом.

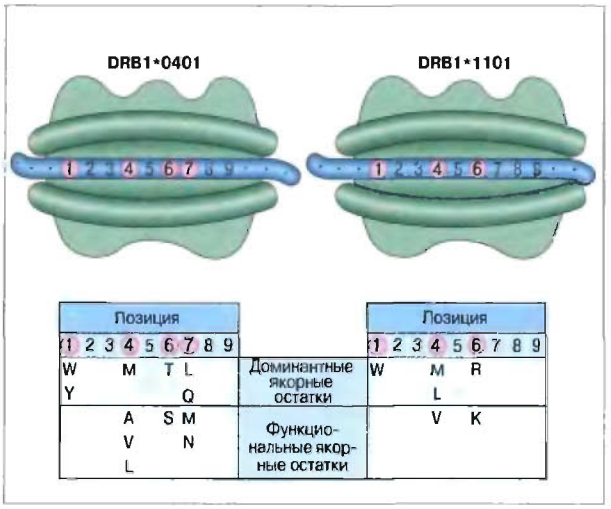
ния антигенного пептида в пептидсвязывающей полости. Установлено, что края этой полости смыкаются в ее торцах и пептид в виде развернутой (не образующей α-спирали) цепи из девяти аминокислотных остатков своими N-концом и С-концом упирается в тот и другой торец. Часть боковых групп антигенного пептида погружается в карманы, образованные вариабельной областью тяжелой цепи молекулы MHC класса I, и между аминокислотными остатками этой молекулы и пептида по всей его длине образуются многочисленные водородные связи. Например, остатки тирозина, часто встречающиеся на N-конце пептида, взаимодействуют подобным образом с консервативным остатком лизина молекулы MHC класса I, стабильно удерживая антигенный пептид в ее пептидсвязывающей полости. При этом центральная часть пептида выступает из полости, презентируя свои эпитопы Т-клеточным рецепторам. Эти данные согласуются с тем фактом, что характерные структурные мотивы, связываемые молекулами MHC класса I, найдены на концах антигенных пептидов.

При анализе трехмерной структуры молекул MHC класса II была обнаружена почти такая же, как у молекул класса I (но расположенная иногда иначе), пептидсвязывающая полость с рядом карманов. Главное ее отличие от пептидсвязывающей полости молекул класса I – это открытые торцевые концы. За счет такого несмыкания краев концы связанного пептида выступают из полости, и он содержит больше 15 аминокислотных остатков, т. е. превышает по длине пептиды, элюируемые из комплексов с молекулами MHC класса I. Удалось идентифицировать консервативные «якорные» аминокислотные остатки в составе пептидов, элюируемых из комплекса с молекулами MHC класса II. Это было труднее сделать, чем в случае пептидов, связываемых молекулами класса I, так как в молекулах класса II концы пептида выступают за пределы полости и распределение формирующих комплекс связей более равномерное (*рис. 9.23*). Функции торцевых частей пептидсвязывающей полости у молекул MHC класса I и класса II существенно различны: в первом случае связывание N- и С-концов пептида в торцах удерживает его в полости, а во втором открытые торцы позволяют пептидам выступать концами за ее пределы.

Молекулы MHC класса I образуют комплексы с эндогенно синтезированными пептидами

Неоднократно продемонстрировано, что Т-клетки, рестриктированные в отношении распознавания антигена молекулами MHC класса I (например, Тц), распознают синтезированные клеткой-мишенью эндогенные антигены, тогда как Т-клетки, рестриктированные молекулами MHC класса II (в частности, Тх), распознают экзогенные антигены. Произвольно меняя локализацию белка, можно вызвать иммунный ответ, рестриктированный молекулами MHC либо класса I, либо класса II. Например, гемагглютинин вируса гриппа (HA), представляющий собой гликопротеин, ассоциированный с мембранами клеток организма, вызывает лишь слабый Тц-ответ. Одна-

Аллоспецифические структурные мотивы в составе пептидов, элюированных из комплекса с молекулами MHC класса II



Позиция 1 2 3 4 5 6 7 8 9		Позиция 1 2 3 4 5 6 7 8 9
W M T L Y Q	Доминантные якорные остатки	W M R L
A S M V N L	Функциональные якорные остатки	V K

Рис. 9.23
Очищенные препараты HLA-DR двух гаплотипов (DRB1*0401 и DRB1*1101) были проинкубированы с библиотекой пептидов, клонированных в бактериофаге M13. После многочисленных этапов селекции были идентифицированы и секвенированы пептиды, эффективно связываемые молекулами MHC класса II. Аминокислотные остатки в составе этих пептидов, встречающиеся в одних и тех же позициях с частотой выше 20%, определены как якорные доминантные. Другие остатки, встречающиеся лишь относительно часто, названы якорными функциональными. (По Hammer et al., 1993). Обратите внимание, что в пептидсвязывающую полость молекул класса II помещается более длинный пептид по сравнению со связываемым в полости молекул MHC класса I.

ко, если из гена HA (кДНК) вырезать последовательность, кодирующую N-концевой сигнальный пептид, а затем ввести этот модифицированный ген в клетку в соответствующем векторе, будет синтезироваться цитоплазматическая форма HA, вызывающая весьма сильный Тц-ответ анти-HA. Подобным образом, введение овальбумина в цитоплазму клетки-мишени с применением метода осмотического шока вызывает появление Тц, тогда как обычная иммунизация этим экзогенным антигеном вызывает исключительно Тх-ответ.

Протеазомы – клеточные органеллы, разрушающие цитоплазматические белки

Образование комплексов антигенных пептидов с молекулами MHC класса I происходит в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), но сами эти (эндогенные) пептиды образуются из белков цитозоля. На первом этапе процесса действуют органеллы, названные протеазомами. Они представляют собой комплексы из 12–15 различных субъединиц, которые обеспечивают основную протеолитическую активность цитозоля. Протеазомы содержат, например, набор эндопептидаз, расщепляющих денатурированные или отмеченные убиквитином белки до пептидов, насчитывающих от 5 до 15 аминокислотных остатков. (Убиквитин – это полипептид, который присоединяется к белкам в качестве метки, предопределяющей их расщепление.) Две субъединицы протеазом кодируются входящими в MHC генами LMP2 и LMP7. γ-Интерферон индуцирует экспрессию этих генов, и их продукты вытесняют конститутивные (неиндуцибельные) компоненты протеазомы. Целый ряд доказательств, включая результаты направленной модификации генов и опытов с ингибиторами протеазом, свидетельствует об участии LMP2 и LMP7 в процессинге всех пептидов, образующих комплексы с молекулами MHC класса I.

В полость ЭР образующиеся в цитозоле под действием протеазом пептиды попадают с помощью гетеродимерных транспортных белков из суперсемейства «ABC», кодируемых двумя генами – TAP1 и TAP2. Эти гены картированы вблизи генов LMP2 и LMP7 (*рис. 9.24*). Установлено, что перенос антигенных пептидов в ЭР способны осуществлять выделенные из клеток микросомы, но микросомы из клеток, дефицитных по генам TAP1 и TAP2, такой способностью не обладают. Наиболее эффективный перенос происходит в том случае, если пептиды содержат 8–15 аминокислотных остатков. Пептиды именно такой длины предпочтительно связываются с молекулами MHC класса I, однако перед комплексированием они, возможно, подвергаются дополнительному процессингу.

Как установлено недавно, при процессинге эндогенных антигенов партнеры взаимодействия могут и физически, и функционально ассоциировать друг с другом. Например, новосинтезированные комплексы из молекул MHC класса I и β_2-микроглобулина ассоциируют с TAP в ЭР и диссоциируют после переноса из ЭР на *цис*-сторону комплекса Гольджи. Компартментация различных продуктов процессинга способствует, предположительно, наиболее эффективному на-

Гены МНС, продукты которых участвуют в процессинге и презентации антигенов

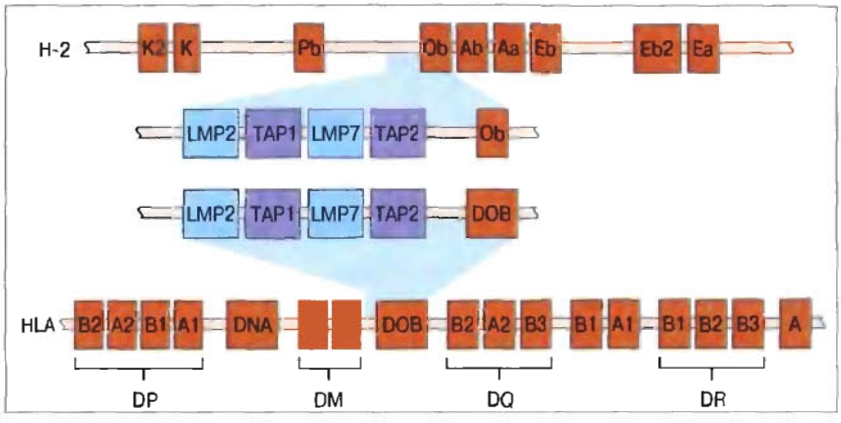


Рис. 9.24
Гены транспортных белков (TAP) и компонентов протеазом (LMP) расположены у мыши в комплексе H-2, у человека – в комплексе HLA.

коплению антигенных пептидов в антигенпрезентирующей клетке.

Антигенные пептиды, перенесенные в ЭР, образуют комплексы с молекулами МНС класса I (*рис. 9.25*). Образование таких комплексов – это сложный процесс, в котором принимают участие белки-«шапероны» (т. е. спутники, помощники), такие как кальнексин. Шапероны инициируют и организуют сборку стабильного, транспортируемого на поверхность клетки комплекса, состоящего из тяжелой цепи класса I, β_2-микроглобулина и антигенного пептида. В отсутствие антигенного пептида такие комплексы нестабильны, поэтому Т-клеткам могут быть представлены (презентированы) только комплексы, полностью функционально активные.

Образование комплексов антигенных пептидов эндогенного происхождения с молекулами МНС класса I

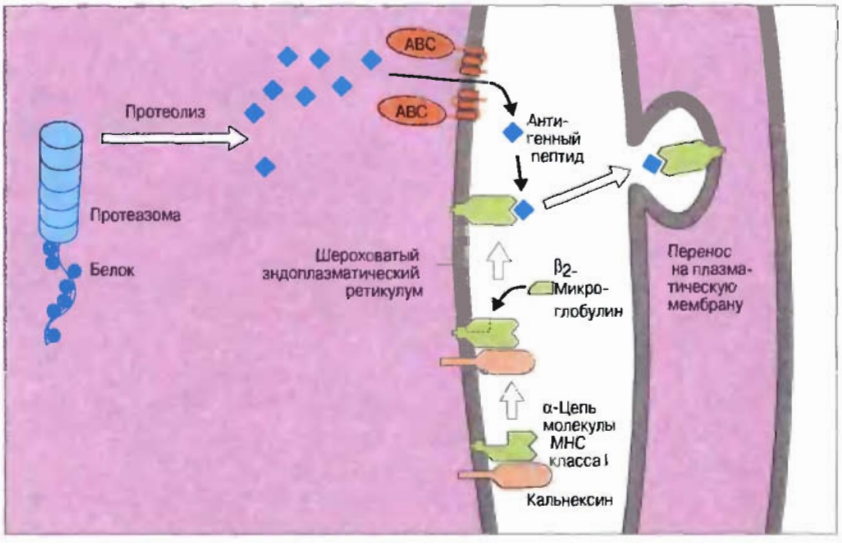


Рис. 9.25
Предполагаемая последовательность образования комплексов антигенный пептид – молекула МНС. Цитоплазматические антигены процессируются протеазомами, две субъединицы которых кодируются генами LMP2 и LMP7 из комплекса МНС. Перенос пептидов осуществляют два транспортных белка (из суперсемейства «ABC»), кодируемых генами TAP1 и TAP2, также относящимися к МНС. Антигенные пептиды образуют комплекс с тяжелыми цепями молекул МНС класса I и β_2-микроглобулином в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР). Молекулярные шапероны, такие как кальнексин, присоединяются к еще неполностью готовым комплексам антигенный пептид – молекула МНС класса I. После этого готовые комплексы транспортируются на поверхность клетки (*рис. 9.26*).

Молекулы MHC класса II образуют комплексы с антигенными пептидами экзогенного происхождения в эндосомах

α- и β-цепи молекул MHC класса II найдены в ЭР в виде комплексов с полипептидом, который был назван инвариантной цепью (Ii); этот белок кодируется геном, не относящимся к MHC. Комплекс αβ–Ii транспортируется через аппарат Гольджи в эндосому или лизосому, где в кислой среде происходит освобождение Ii. На основании экспериментальных данных можно предполагать, что диссоциация Ii из αβ-комплекса позволяет антигенному пептиду занять его место. Комплекс молекул MHC класса II с антигенным пептидом находится в эндосоме/лизосоме 1–3 ч, прежде чем поступает на клеточную поверхность.

Каким образом пептиды экзогенных антигенов встречаются с молекулами класса II в соответствующих клеточных органеллах? Для ответа на этот вопрос нужно рассмотреть пути внутриклеточных перемещений молекул MHC. После сборки комплексов в ЭР оба класса молекул MHC проходят через комплекс Гольджи – молекулы класса I в ассоциации с антигенными пептидами эндогенного происхождения и молекулы класса II, связанные с инвариантной цепью (Ii). Молекулы MHC одного класса отделяются от молекул другого на *транс*-стороне комплекса Гольджи. Затем молекулы класса II на пути к плазматической мембране попадают в особые эндосомы или лизосомы, которые отличаются от обычных тем, что, по-видимому, специально предназначены для накопления и транспорта этих молекул (*рис. 9.26*).

Главным достижением исследований последних лет стала идентификация клеточных органелл (везикул), в которых молекулы MHC класса II ассоциируют с антигенными пептидами. Эти везикулы, названные MIIC, имеют сложную мембранную структуру (при электронной микроскопии она выглядит наподобие луковой кожуры) и обладают одновременно свойствами эндосом и лизосом.

Ключевая роль в образовании комплексов с антигенными пептидами принадлежит, как выяснилось, молекуле HLA-DM, сходной с молекулами класса II. Эта молекула состоит из α-цепи и β-цепи, кодируемых генами DMA и DMB (область класса II комплекса HLA). У линий мутантных клеток, лишенных этих генов, молекулы класса II нестабильны, а сами эти клетки не способны процессировать и презентировать белковые антигены. Когда из таких мутантных клеток были выделены молекулы класса II, а затем проанализированы связанные с ними пептиды, оказалось, что в основном это инвариантный поли-

Предполагаемые пути внутриклеточных перемещений молекул MHC, связанных с презентацией антигена

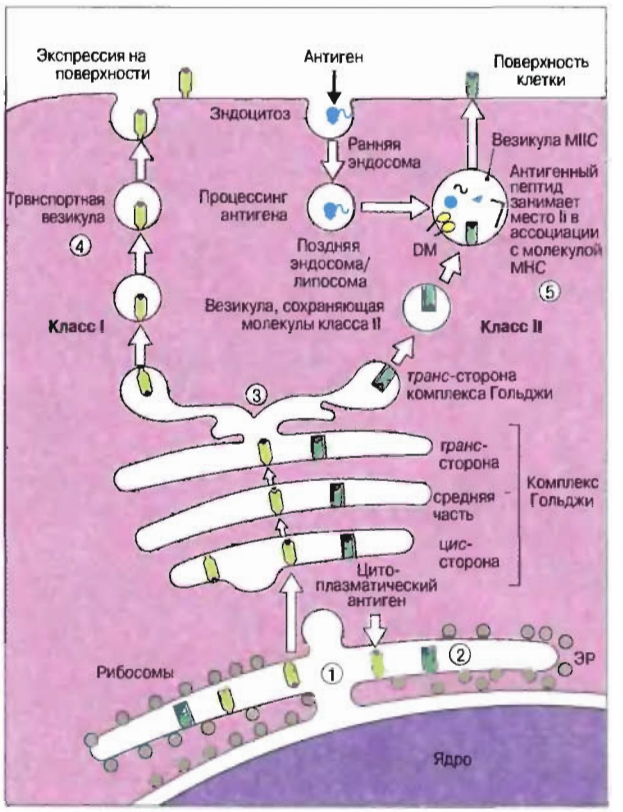


Рис. 9.26
Новосинтезированные молекулы класса I ассоциируют с антигенным пептидом (**1**). Молекулы класса II присоединяют цепи Ii в полости ЭР (**2**). Белок Ii препятствует ассоциации молекул класса II с антигенными пептидами и содержит последовательности, которые позволяют этим молекулам выйти из ЭР. Молекулы класса I и класса II разделяются после прохождения через комплекс Гольджи (**3**). Молекулы класса I направляются непосредственно к клеточной поверхности (**4**). Молекулы класса II поступают в кислотный компартмент – везикулы MIIC, где образуют комплекс с пептидами антигенов экзогенного происхождения, после того как инвариантный пептид CLIP покинет пептидсвязывающую полость (**5**).

пептид, CLIP (от англ. class II associated invariant peptide). Как установлено, HLA-DM катализирует диссоциацию CLIP из комплекса с молекулой класса II в кислой среде in vitro, открывая возможность связывания с ней пептидов экзогенного происхождения.

По всей вероятности, экзогенный антиген попадает в антигенпрезентирующие клетки путем опосредованного рецепторами или жидкофазного эндоцитоза. Ферментативное расщепление эндоцитированных белков происходит в эндосомах или лизосомах, и образовавшиеся пептиды связываются с молекулами класса II при участии HLA-DM в качестве катализатора. После этого новообразованный комплекс направляется к поверхности клеток.

Вопросы для размышления

- Что означает термин эпитоп? Каковы размеры эпитопа? Могут ли эпитопы перекрывать друг друга? В какой части молекулы белкового антигена вероятнее найти эпитопы? Какие типы аминокислотных остатков обычно входят в состав эпитопов?
- Если имеются моноклональные антитела к антигену известной структуры, как можно определить ту часть антигена, которую эти антитела распознают?
- Представляет ли собой специфичность антител точно измеряемую характеристику для данного образца или она зависит от физиологических и экспериментальных условий, в которых выявляется действие антител?
- Большей ли специфичностью к антигену обладают моноклональные антитела по сравнению с поликлональной антисывороткой?
- Презентируется ли антигенный пептид в комплексе с молекулами MHC класса I или класса II, зависит не от его структуры, а от типа внутриклеточных органелл, в которых он встречается с соответствующей молекулой MHC. Каковы преимущества такого механизма презентации антигена для функционирования иммунной системы?
- Каким образом знание механизмов презентации антигена может помочь при конструировании пептидных вакцин?
- Какое влияние на процесс презентации антигена могут оказывать мутации или модификации генов TAP или LMP?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Amigorena S., Drake J. R., Webster P. et al. 1994. Transient accumulation of new class II MHC molecules in a novel endocytic compartment in B lymphocytes. *Nature* **369**: 113–120.

Benaroch P., Yilla M., Raposo G. et al., 1995. How MHC class II molecules reach the endocytic pathway. *EMBO J.* **14**: 37–49.

Burton D. R. Structure and function of antibodies. *In:* Calabi F. Neuberger M.S., eds. *Molecular Genetics of Immunoglobulin*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers: 1987: 1–50.

DeFranco A. L. 1993. Structure and function of the B cell antigen receptor. *Annu. Rev. Cell. Biol.* **9**: 377–410.

Demotz S., Grey H. M., Appella E. et al. 1989. Characterization of naturally processed MHC class II-restricted T-cell determinant of hen egg lyzosym. *Nature* **9**: 377–410.

Denzin L. K., Creswell P. 1995. HLA-DM induces CLIP dissociation from MNC class II αβ dimers and facilitates peptide loading. *Cell* **82**: 155–165.

Falk K., Rotzschke O., Stevanovic S. et al. 1991. Allele-specific motifs revealed by sequencing of self-peptides eluted from MHC molecules. *Nature* **351**: 290–296.

Fling S. P., Arp B., Pious D. 1994. HLA-DMA and -DMB genes are both required for MHC class II/peptide complex formation in antigen-presenting cells. *Nature* **368**: 544–558.

Germain R. N. 1994. MHC-dependent antigen processing and peptide presentation providing ligands for T lympocyte activation. *Cell* **76**: 287–299.

Getzoff E. D., Tainer J. A., Lerner R. A. 1988. The chemistry and mechanism of antibody binding to protein antigens. *Adv. Immunol.* **43**: 1–98.

Hammer J., Valsasnini P. Tolba K. et al. 1993. Promiscuous and allele-specific anchors in HLA-DR-binding peptides. *Cell* **74**: 197–203.

Hemmels M. T., Ploegh H. 1995. Generation, translocation and presentation of MHC class I-restricted peptides. *Annu. Rev. Biochem.* **64**:

463–91.

Hunt D. G., Henderson R.A., Shabanowitz J. et al. 1995. Characterization of peptides bound to the class I MHC molecule HLA-A2. 1 by mass spectrometry. *Science* **255**: 1261–1263.

Jardetzky T. S., Lane W. S. Robinson R. A. et al. 1991. Identification of self peptides bound to purified HLA-B27. *Nature* **353**: 326–329.

Madden D. 1995. The three dimensional structure of peptide-MHC complexes. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 587–622.

Miyazaki T., Wolf P., Tourne S. et al. 1996. Mice lacking H2-M complexes: anigmatic elements of the MHC class II peptide-loading pathway. *Cell* **84**: 531–541.

Morris P., Shaman J. Attaya M. et al. 1994. An essential role for HLA-DM in antigen presentation by class II major histocompatibility molecules. *Nature* **368**: 551–554.

Neefjes J. J., Stollorz V., Peters P. J. et al. 1990. The biosynthetic pathway of MHC class II but not class I moleculws intersects the endocytic route. *Cell* **61**: 171–183.

Roy S., Scherer M. T., Briner T. J. et al. 1989. Murine MHC polymorphism and T cell specificities. *Science* **244**: 572–575.

Rudensky A., Preston H. P., Hong S. C. et al. 1991. Sequence analysis of peptides bound to MHC class II molecules. *Nature* **353**: 660–662.

Tulp A., Verwoerd D., Dobberstein B. et al. 1994. Isolation and characterization of the intracellular MHC class II compartment. *Nature* **369**: 120–126.

Willams D. B., Vassilakos A., Suh W. K. 1996. Peptide presentation by MHC class I molecules. *Trends Cell. Biol.* **6**: 267–273.

York I. A., Rock K. L., 1996. Antigen processing and presentation by the class I major histocompatibility complex. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 369–396.

10 Реакции клеточного иммунитета

- **Цитокинам принадлежит центральная роль в положительной и отрицательной регуляции иммунного ответа,** а также в его интеграции с физиологическими функциями других систем организма – эндокринной и гемопоэтической.
- **Распознавание микробных структур происходит в самом начале реакции организма** на инфекцию, до развития специфического иммунного ответа. Тип последующего ответа зависит в основном от выделяемых цитокинов.
- **Регуляцию иммунного ответа осуществляют хелперные Т-клетки (Тх).** Отвечая на антиген, они выделяют различные наборы цитокинов и тем самым инициируют разные эффекторные функции. Так, Тх1-клетки активируют макрофаги, а Тх2-клетки способствуют образованию антител. Если активирована неадекватная эффекторная функция, элиминации возбудителя не происходит и развивается хроническая иммунопатология.
- **Иммунный ответ Тх1-типа подавляет ответ Тх2-типа, и наоборот.**
- **Большинство цитотоксических Т-клеток распознает антиген, презентированный в ассоциации с молекулами MHC класса I,** тогда как НК-клетки реагируют на мишени, не экспрессирующие эти молекулы.
- **Цитотоксическая активность клеток-киллеров** – это комбинированное воздействие на клетки-мишени путем прямого контакта, выделения цитокинов и экзоцитоза белков из гранул, в частности перфорина и гранзимов.
- **Активированные макрофаги уничтожают поглощенные ими микроорганизмы** с помощью высокоактивных метаболитов кислорода и азота.
- Когда реакции клеточного иммунитета не обеспечивают устранения инфекции или персистирующего антигена и поэтому не могут завершиться, **в тканях возникает хронический деструктивный воспалительный процесс или образуются гранулемы.** При этом непосредственное разрушение жизненно важных клеток или вторичные микрососудистые нарушения, обусловленные избыточным выделением цитокинов, могут стать причиной иммунопатологии.

Термин клеточный иммунитет (иммунитет, опосредованный клетками) первоначально служил для обозначения местных реакций (обычно на внутриклеточно локализующиеся возбудители), осуществляемых лимфоцитами и фагоцитами без участия антител – эффекторов гуморального иммунитета. Теперь этот термин часто используют в более широком смысле, для описания такого противоинфекционного или противоопухолевого иммунного ответа, в котором антителам принадлежит не ведущая, а вспомогательная роль.

Однако полностью разделить клеточный иммунитет и гуморальный невозможно: в инициации образования антител участвуют клетки, а в некоторых реакциях клеточного иммунитета важную связующую функцию выполняют антитела. Более того, не существует, по-видимому, клеточного иммунитета без образования антител, которые способны различными путями модифицировать опосредованный клетками иммунный ответ. Так, комплексы антиген–антитело вызывают высвобождение хемотаксических фрагментов комплемента, усиленно привлекающих лейкоциты в очаг воспаления, и, кроме того, благодаря Fc-рецепторам антитела могут принимать участие в связывании антигенов с клетками и тем самым влиять на реакции клеточного иммунитета, в частности обеспечивать прикрепление фагоцитов и цитотоксических Т-клеток к клеткам-мишеням. Вообще, при скоординированном иммунном ответе происходит многосторонний обмен сигналами между различными типами вступающих в него лейкоцитов и тканевыми клетками.

Межклеточная сигнализация в иммунной системе осуществляется путем непосредственного контактного взаимодействия клеток, в котором участвуют их поверхностные молекулы, или с помощью цитокинов, называемых «белками связи». Эти белки действуют как растворимые медиаторы межклеточных взаимодействий. Вместе с гормонами и нейромедиаторами они составляют основу языка химической сигнализации, путем которой в многоклеточном организме регулируется

морфогенез, регенерация тканей и иммунный ответ. Наряду с сигналами, возникающими при взаимодействии клеток с антигеном или друг с другом, существует цитокиновая сигнальная сеть, регулирующая реакции врожденного и приобретенного иммунитета, в том числе воспаление, противовирусную защиту, клональную пролиферацию антигенспецифичных Т- и В-клеток и их функции.

ЦИТОКИНЫ И ИХ КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Цитокины – это небольшие белки (мол. масса от 8 до 80 кДа), действующие аутокринно (т. е. на клетку, которая их продуцирует) или паракринно (на клетки, расположенные вблизи). Образование и высвобождение этих высокоактивных молекул обычно происходят кратковременно и жестко регулируются. К настоящему времени у человека идентифицировано уже более ста различных цитокинов, и постоянно появляются сообщения об открытии новых. Цитокины воздействуют на клетку, связываясь со специфическими рецепторами на цитоплазматической мембране и вызывая этим каскадную реакцию, ведущую к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов.

Многие цитокины имеют по несколько названий. Это связано с тем, что они были независимо открыты в различных областях исследований – иммунологии, вирусологии, гематологии, клеточной биологии и онкологии. К цитокинам относятся интерлейкины (ИЛ), обозначаемые сейчас номерами от ИЛ-1 до ИЛ-18, интерфероны (ИФ), колониестимулирующие факторы (КСФ), факторы некроза опухолей (ФНО), факторы роста и хемокины (хемотаксические цитокины) (*рис. 10.1*). Причина многих недоразумений в номенклатуре цитокинов состоит в том, что они, по крайней мере in vitro, проявляют многообразные активности; примером может служить ИЛ-6, эффекты которого очень разнообразны (*рис. 10.2*). Кроме того, в ряде случев один и тот же цитокин был выделен независимо в нескольких лабораториях при использовании совершенно разных экспериментальных систем. Путаницу с названиями усугубляет еще и частичное совпадение активностей у ряда цитокинов, создающее впечатление некоторой избыточности их функций. Дополнительные трудности в изучении цитокинов возникают из-за того, что эти медиаторы редко образуются по отдельности и редко действуют

Некоторые наиболее известные цитокины

Название	Сокращенное название	Примеры
Интерлейкины	ИЛ	ИЛ-1, ИЛ-2 и т.д.
Интерфероны	ИФ	ИФα, ИФβ, ИФγ
Факторы некроза опухолей	ФНО	ФНОα, ФНОβ
Факторы роста	ФР	ФРН, ФРЭ
Колониестимулирующие факторы	КСФ	М-КСФ, Г-КСФ, ГМ-КСФ
Хемокины	–	RANTES, MCP-1, MIP-1α

Рис. 10.1
Номенклатура цитокинов отчасти отражает ту функциональную активность, по которой каждый из них был впервые обнаружен, а также очередность их обнаружения.

поодиночке. Одним словом, для цитокинов характерен сложный сетевой характер функционирования, при котором продукция одного из них влияет на образование или проявление активности ряда других. In vivo отдельная клетка организма редко становится мишенью какого-либо одного цитокина. Гораздо чаще отдельные цитокины служат как бы буквами некоего алфавита, образующими целое цитокиновое «слово», и реакция клетки возникает в результате воздействия на ее поверхность именно такого «слова».

Наиболее важные функции цитокинов и их рецепторов в иммунном ответе будут рассмотрены ниже; вначале необходимо остановиться на основных аспектах молекулярной биологии этих белков.

Цитокины и их рецепторы подразделяются на ряд семейств

Между индивидуальными цитокинами или их группами существует лишь небольшое сходство на уровне ДНК и аминокислотной последовательности, но все же они распределяются по гомологии на несколько больших семейств. Из них наиболее значительны три семейства: первое состоит из не менее чем 15 α-интерферонов (ИФα), второе из более чем 50 хемокинов (по данным анализа генома) и третье включает цитокины, которые связываются с рецепторами для ФНО. Гораздо легче, однако, сгруппировать цитокины не по функциям, а по характеру их трехмерной структуры, и такое подразделение четко отражает

Функциональная активность интерлейкина-6 (ИЛ-6)

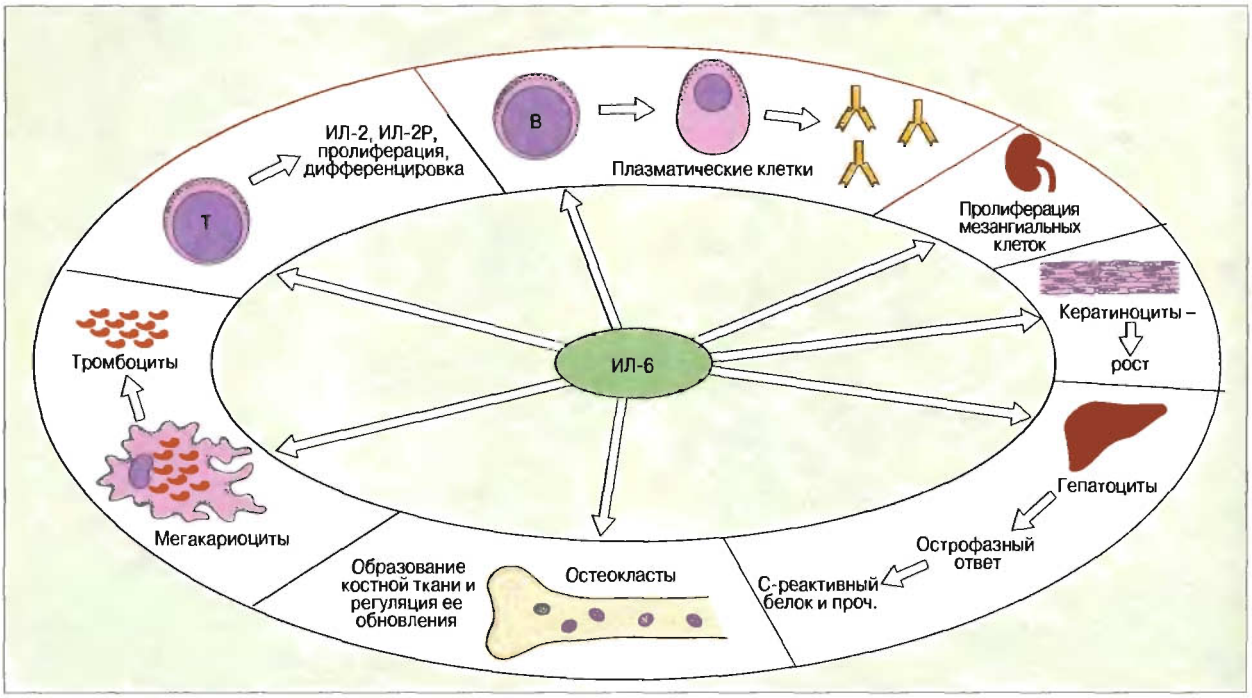


Рис. 10.2
Цитокин ИЛ-6 оказывает типичное для цитокинов разноплановое воздействие на многие системы органов. В частности, он стимулирует образование и активность остеокластов, особенно после падения концентрации эстрагенов.

внутригрупповое сходство (по конформации и аминокислотной последовательности) клеточных цитокиновых рецепторов. Наиболее крупное семейство – суперсемейство – цитокиновых рецепторов характеризуется наличием в составе молекул внеклеточных участков с гомологичной последовательностью длиной примерно 200 аминокислотных остатков. К этому суперсемейству относятся рецепторы к ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-12, гранулоцитарному колониестимулирующему фактору (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору (ГМ-КСФ). В него же входят рецепторы для гуморальных факторов, действующих преимущественно вне иммунной системы, – гормона роста и пролактина. Второе по величине семейство объединяет рецепторы к интерферонам всех типов, а также рецепторы к ИЛ-1α, ИЛ-1β и макрофагальному колониестимулирующему фактору (М-КСФ). Это семейство входит как составная часть в суперсемейство иммуноглобулин-подобных молекул.

Цитокиновые рецепторы третьего семейства связывают ФНОα и ФНОβ, лимфотоксин и ряд родственных цитокинов, в том числе фактор роста нервов (ФРН). К этому же рецепторному семейству относится молекула Fas (CD95), связывание которой с лигандом FasL служит сигналом клеточной гибели.

Большинство цитокиновых рецепторов – это мембранные гликопротеины I типа, состоящие из одного-единственного трансмембранного домена. Однако действительно функциональные рецепторы, как правило, состоят из двух или большего числа субъединиц, которые могут иметь одинаковую структуру даже у различных по специфичности рецепторных комплексов. Обычно рецептор содержит «частную» высокоспецифичную субъединицу, способную связывать определенный цитокин, и «общую» субъединицу, которая встречается в рецепторах для других цитокинов. Например, рецепторный комплекс для ИЛ-2 состоит из трех субъединиц (α, β и γ). Субъединица ИЛ-2Рβ встречается также в ре-

Схема строения рецепторов для ИЛ-2 и ИЛ-4

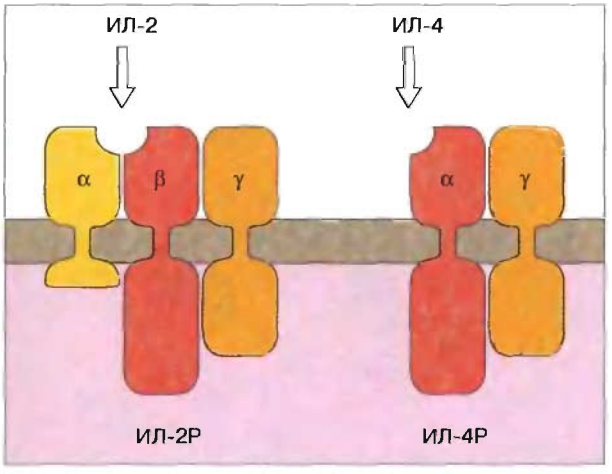


Рис. 10.3
Высокоаффинный рецептор для ИЛ-2 образован тремя полипептидными цепями; α-цепь и β-цепь обеспечивают связывание цитокина, γ-цепь передает возникающий при этом сигнал внутрь клетки. Рецептор для ИЛ-4 имеет уникальную α-цепь, специфически распознающую именно этот цитокин, и сигнальную γ-цепь, идентичную γ-цепи рецептора для ИЛ-2.

цепторе для ИЛ-15, а ИЛ-2Рγ – в рецепторах для ИЛ-4, ИЛ-7 и ИЛ-9 (*рис. 10.3*). Подобным же образом ИЛ-6Рβ (известный как gp130) содержится в качестве субъединицы в рецепторах для таких цитокинов, как LIF (от англ. leukaemia inhibitory factor – фактор подавления лейкемии), онкостатин М и ИЛ-11. Сходная функциональная активность некоторых цитокинов отчасти объясняется, возможно, наличием одинаковых субъединиц в их клеточных рецепторах. Поэтому, видимо, ИЛ-6, ИЛ-11 и онкостатин М одинаково действуют на гепатоциты, мегакариоциты и остеокласты, а дублирующий эффект ИЛ-2 и ИЛ-4 в качестве факторов роста Т-клеток обусловлен, по всей вероятности, присутствием в рецепторах для того и другого цитокина идентичной ИЛ-2Рγ-цепи. В то же время благодаря дифференциальной экспрессии частных рецепторных субъединиц каждый цитокин обладает и уникальной активностью в отношении клеток определенного типа. Например, LIF может задерживать дифференцировку эмбриональных стволовых клеток, тогда как ИЛ-6 такой активностью не обладает, поскольку эти клетки не экспрессируют соответствующего рецептора.

Все хемокины связываются рецепторами отдельного класса, объединенными на основе их уникальной структуры под общим названием семь трансмембранных гликопротеинов. Некоторые из них настолько специфичны, что связывают только один определенный хемокин, тогда как другие обладают сродством к ряду хемокинов. Существует также один рецептор (он известен как групповой эритроцитарный антиген Даффи), который «без разбора» связывает многие хемокины и, вероятно, принимает участие в ликвидации образующегося в очаге воспаления избытка этих медиаторов. Хемокины связываются также с β-адренорецепторами. Это еще одно свидетельство перекрывания системы цитокинов и других сетевых сигнальных систем, образуемых растворимыми медиаторами.

Связывание цитокиновых рецепторов активирует механизм внутриклеточной передачи сигналов

Современные представления о биологической роли цитокинов основаны на данных структурного анализа их молекул и изучении механизмов внутриклеточной передачи вызываемых ими сигналов. Благодаря таким исследованиям сейчас можно уже довольно детально проследить эту цепь последовательных событий белок-белкового распознавания, от момента связывания цитокина с клеточной поверхностью до мобилизации различных факторов транскрипции в ядре клетки. Как известно, первая стадия цитокиновой сигнализации – это вызванная присоединением цитокина агрегация субъединиц рецептора. Цитоплазматические «хвосты» этих субъединиц, взаимодействуя между собой, запускают нисходящий каскад сигнализации. В самом простом случае одинаковые субъединицы рецепторной молекулы, связавшись с цитокином, образуют гомодимер, в другом случае «частная» субъединица после присоединения цитокина вызывает гетеро- или гомодимеризацию «общих» субъединиц, передающих сигнал внутрь клетки (*рис. 10.4*).

Все цитокиновые рецепторы, относящиеся к первому семейству (суперсемейству), как и представители некоторых других рецепторных семейств, ассоциированы с молекулами, названными Янус-киназами (Jaks, от англ. Janus kinases). Активация цитокиновых рецепторов вызывает активацию Jaks, в частности киназ, фосфорилирующих тирозин (Tyk, от англ. tyrosine

Принципиальная схема взаимодействия цитокина с клеткой

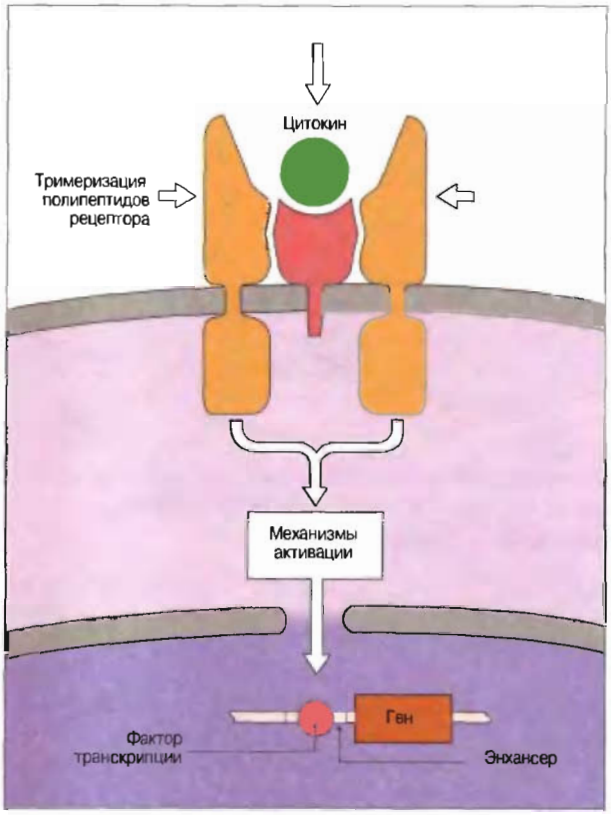


Рис. 10.4
Упрощенная схема активации клетки цитокином. (Представлено взаимодействие ИЛ-6 с его рецептором.) Связавшись с рецептором на поверхности клетки, цитокин вызывает димеризацию или полимеризацию его полипептидных цепей, в результате которой активируются механизмы внутриклеточной сигнализации (например, киназные каскады). Это приводит к образованию активных факторов транскрипции, которые мигрируют в ядро и связываются с энхансерами – нуклеотидными последовательностями, усиливающими транскрипцию генов, активируемых данным цитокином.

Пути внутриклеточной передачи сигнала

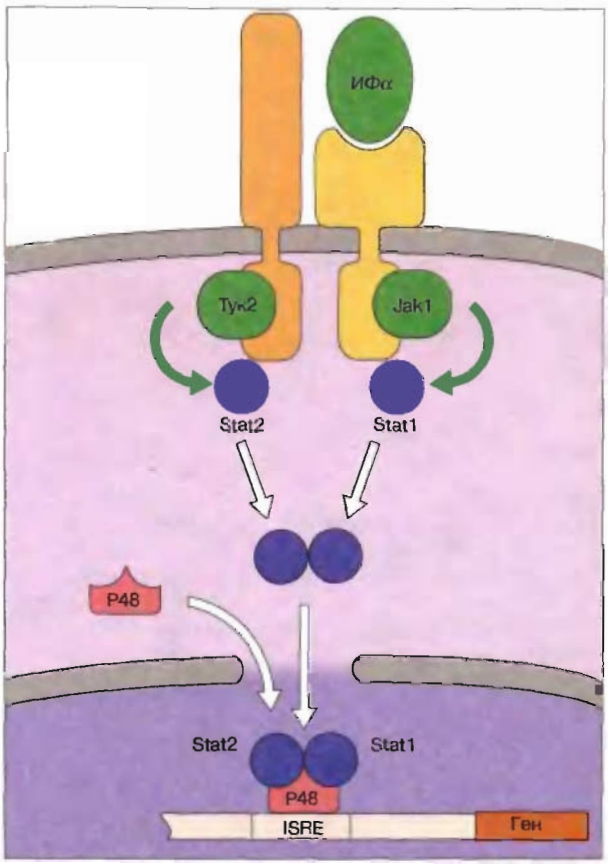


Рис. 10.5
Схема активируемых ИФα механизмов внутриклеточной передачи сигнала. Связывание с ИФα вызывает агрегацию двух субъединиц клеточного рецептора. В результате происходит активация и фосфорилирование Jak-киназ – Jak1 и Tyk2, которые затем фосфорилируют молекулы Stat1 и Stat2. Эти факторы транскрипции образуют комплекс с белком p48, который связывается с ДНК. Образовавшийся комплекс достигает ядра клетки и индуцирует транскрипцию генов, несущих регуляторный элемент ответа на интерферон (ISRE, от англ. interferon response element).

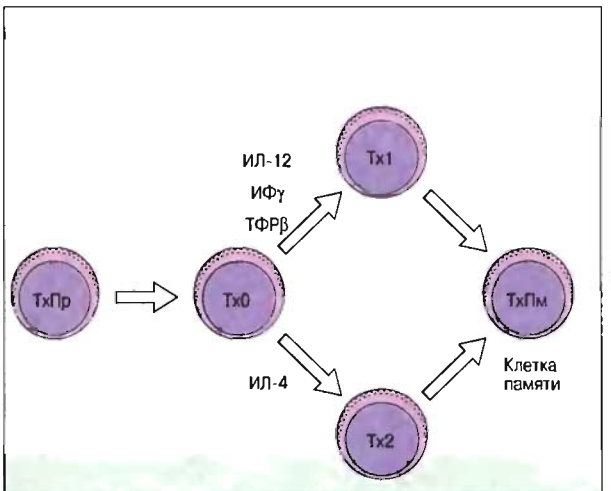
kinases). Большая часть (если не все) функции цитокиновых рецепторов осуществляются с обязательной активацией Jaks. Выполняя свою главную функцию, т. е. агрегируя субъединицы рецептора, цитокин одновременно вызывает агрегацию Jaks. Затем под действием этих Янус-киназ происходит сопряженное с присоединением цитокина фосфорилирование остатков тирозина в составе различных сигнальных белков, в том числе переносчиков сигнала и активаторов транскрипции (Stats, от англ. signal transducers and activators of transcription). Димеры белков Stats перемещаются к ядру клетки и связываются непосредственно с ДНК. Этот вид сигнализации изображен на *рис. 10.5* на примере связывания ИФα с его клеточным рецептором.

Каждый цитокин индуцирует различные механизмы внутриклеточной передачи сигнала в зависимости от того, какую из активностей он проявляет – общую с другими цитокинами или спе-

цифическую, индивидуальную. Например, в Т-клетках каждый из трех интерлейкинов – ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-9, взаимодействуя с субъединицей ИЛ-2Рγ, активирует Jak1 и Jak3; в то же время ИЛ-10 вызывает активацию Jak1 и Tyk2, а ИЛ-12 таким же образом действует на Jak2 и Tyk2. Дополнительная вариабельность ответа клеток на цитокины возникает на этапе фосфорилирования Stats, поскольку каждый цитокин активирует «свой» набор этих переносчиков сигнала и активаторов транскрипции. В ответе на цитокины, вероятно, и состоит главная функция Stats. Другие пути сигнализации, в первую очередь с активацией Ras/MAP-киназы, ведут к пролиферации клеток под действием соответствующих цитокинов, однако некоторые цитокины могут активировать механизм сигнализации, ведущий к апоптотической гибели клетки. Функциональная гибкость сигнальных систем возрастает еще больше благодаря тому, что активировать Stats могут не только Jaks, но и киназы иного происхождения. Например, в случае цитокинов ФНОα и ИЛ-1β действует механизм внутриклеточной сигнализации с участием не Jaks и Stats, а MAP-киназ; в результате с ДНК связываются такие активаторы транскрипции, как AP-1, NFκB и NFIL-6.

Как специфическое, так и плейотропное действие хемокинов в конечном итоге влияет на перемещение клетки, но это сложный эффект: вслед за присоединением хемокинов к рецепторам происходит передача сигнала на G-белки, затем мобилизация вторых, внутриклеточных посредников, реорганизация цитоскелета, образование ограниченных адгезивных контактов, прилипание и отлипание клеточной поверхности, вытяжение и сокращение псевдоподий – все эти этапы необходимы для направленной миграции. Хемокины, подобные RANTES и MIP-1α, могут также активировать Stats, образуя шунт между путями сигнализации с участием G-белков и Stats. Итак, постепенно область исследований цитокинов превращается из запутанного клубка множественных активностей во все более понятную систему белков-регуляторов со своими рецепторами и четкими путями сетевой внутриклеточной сигнализации.

Дифференцировка Тх-клеток CD4$^+$



ТхПр	Тх0	Тх1	Тх2	ТхПм
ИЛ-2	ИЛ-2	ИЛ-12		ИЛ-2
	ИФγ	ИФγ		
	ФНОβ	ТФРβ		
	ИЛ-3	ИЛ-3		
	ИЛ-4		ИЛ-4	
	ИЛ-5		ИЛ-5	
	ИЛ-6		ИЛ-6	
	ИЛ-9		ИЛ-9	
	ИЛ-10		ИЛ-10	
	ИЛ-13		ИЛ-13	
	ГМ-КСФ	ГМ-КСФ	ГМ-КСФ	
	ФНОα	ФНОα	ФНОα	

Рис. 10.6
Схема дифференцировки Т-хелперов мыши с образованием субпопуляций клеток с разными профилями выделяемых цитокинов. Цитокины ИЛ-12, ИФγ и ФНОβ способствуют появлению клеток Тх1, а ИЛ-4 стимулирует созревание Тх2. От профиля выделяемых Т-хелперами цитокинов зависит тип и, следовательно, функции активируемых эффекторных клеток.

Дифференцировка Т-хелперов на субпопуляции составляет важный этап в определении эффекторных механизмов иммунного ответа

Как теперь установлено, существуют две субпопуляции Тх-клеток CD4$^+$, различающихся по набору (профилю) синтезируемых ими цитокинов, и от этого профиля зависит, какой из двух основных типов иммунного ответа будет реализован (*рис. 10.6*). У человека Тх1-клетки, как правило, продуцируют ИФγ, ФНОβ и ИЛ-2 и участвуют в опосредованных клетками воспалительных реакциях. Некоторые из цитокинов, выделяемых Тх1,

обладают провоспалительной активностью, а также стимулируют цитотоксические клетки и Т-эффекторы гиперчувствительности замедленного типа. В противоположность Тх1-клеткам клетки Тх2 синтезируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-10 и ИЛ-13 и усиливают образование антител, особенно класса IgE. В результате они стимулируют гиперпродукцию антител и аллергические реакции. Помимо всего прочего, цитокины, выделяемые Тх1-клетками, подавляют активность Тх2-клеток, и наоборот. Таким образом, любой иммунный ответ развивается в направлении либо Тх1-, либо Тх2-типа (*рис. 10.7*).

Недавно выявлены различия между Тх1- и Тх2-клетками по маркерам поверхности. Для клеточной мембраны Тх1 характерно наличие LAG-3 – антигена, относящегося к суперсемейству иммуноглобулин-подобных молекул. Клетки Тх2 экспрессируют в гораздо большем количестве по сравнению с Тх1-клетками маркер CD30, относящийся к семейству рецепторов для ФНО.

Определение (выбор) типа ответа – Тх1 или Тх2 – имеет принципиальное значение для развития эффективного иммунитета и, по-видимому, зависит от многих взаимодействующих между собой факторов. Среди них на характер дифференцировки Тх-клеток $CD4^+$ и тем самым на профиль цитокинов, определяющих тип ответа, могут влиять следующие:

- профиль и количественное соотношение цитокинов, выделяемых под действием антигена. Например, ИЛ-12 служит мощным стимулом продукции Т- и НК-клетками γ-интерферона и, следовательно, дифференцировки Тх-клеток в Тх1. В то же время α-интерферон, синтезируемый в ранней фазе вирусной инфекции, способен не только индуцировать повышенную экспрессию ИЛ-12, но и переключать Тх-клетки с синтеза Тх2-набора цитокинов на Тх1. Напротив, ранняя продукция ИЛ-4 способствует появлению клеток Тх2;
- доза антигена;
- антигенпрезентирующие клетки и выделяемые ими цитокины;
- генотип организма-хозяина и
- активность костимулирующих молекул и гормонов в месте взаимодействия антигена с Тх-клетками.

Из перечисленных факторов дифференцировки Тх-клеток особый интерес представляет последний. Например, глюкокортикоидные гормоны, концентрация которых нарастает в условиях физического или психологического стресса (такие, как кортизол), могут направить развитие иммунного ответа по Тх2-типу. Этому эффекту противодействуют производные дегидроэпиандростерона (ДГЭА), способствующие иммунному ответу Тх1-типа. Концентрации обоих этих гормонов надпочечника регулируются на системном уровне, а также зависят от местного метаболизма в тех органах, где происходит встреча антигена с Тх-клетками. Поэтому соотношение концентраций кортизола и ДГЭА в лимфоидной ткани или в очаге патологии может служить фактором, определяющим тип иммунного ответа.

Иммунный ответ не всегда строго поляризован по Тх1- или Тх2-типу, так как, возможно, имеются и другие субпопуляции Т-хелперов. Тем не менее роли этих двух типов ответа как в формировании протективного иммунитета, так и в иммунопатологии принципиально различны. К настоящему времени установлено, что для многих заболеваний характерно функционирование определенной субпопуляции Т-хелперов. Так, органоспецифическая иммунопатология, острое

Избирательная индукция эффекторных механизмов Тх1- и Тх2-клетками

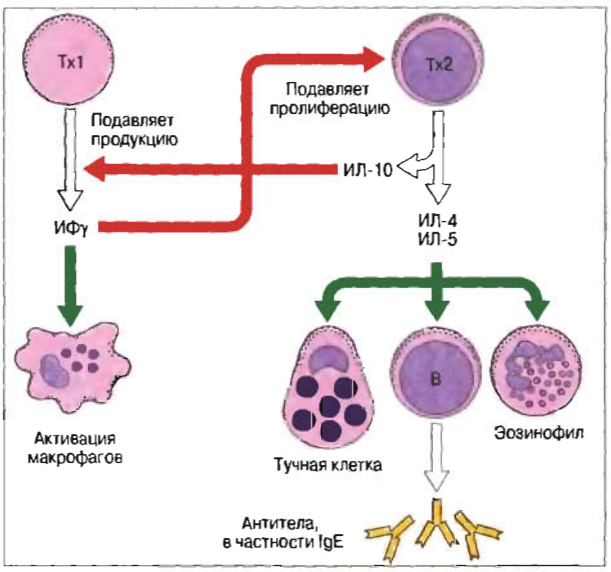


Рис. 10.7
Выделяя разные наборы цитокинов, Тх1- и Тх2-клетки не только стимулируют различные эффекторные механизмы иммунного ответа, но и взаимно подавляют иммунорегуляторную активность друг друга.

отторжение аллотрансплантата, рецидивирующие спонтанные аборты и рассеянный склероз связаны с иммунным ответом Тх1-типа. При этих заболеваниях из крови больных легко удается выделить и клонировать Тх1-клетки. Напротив, все клоны Т-клеток от больных атопической бронхиальной астмой, сенсибилизированных к пыльце растений, синтезируют, как и клоны больных системной красной волчанкой, цитокиныТх2-профиля .

Т-клетки $CD8^+$ также дифференцированы на субпопуляции с различными профилями выделяемых цитокинов

Многие цитотоксические Т-клетки $CD8^+$ выделяют тот же набор цитокинов, что и клетки Тх1. Существуют также Т-клетки $CD8^+$, выделяющие цитокины Тх2-типа. Эта субпопуляция выполняет регуляторные и супрессорные функции. На дифференцировку Т-клеток $CD8^+$ может влиять цитокиновый профиль Т-клеток $CD4^+$. Например ИФγ и ИЛ-12 способствуют дифференцировке Т-клеток $CD8^+$ в субпопуляцию Тц1-клеток, а ИЛ-4 – в субпопуляцию Тц2. Однако клетки обеих этих субпопуляций обладают цитотоксической активностью и поражают свои мишени главным образом путем высвобождения содержимого гранул (см. ниже).

ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, НЕЗАВИСИМЫЕ ОТ Т-КЛЕТОК

Фагоцитоз – важный компонент антимикробной защиты

Первоначальная защитная реакция на любую инфекцию в значительной степени зависит от распознавания общих для разных микробов компонентов особыми клеточными рецепторами, которые отличаются от антигенспецифичных рецепторов Т- и В-клеток.

Многочисленные компоненты микробных клеток способны вызывать хемотаксис фагоцитов в очаг инфекции (*рис. 10.8*). Некоторые из этих веществ, например бактериальный эндотоксин, привлекают фагоциты, индуцируя активацию комплемента по альтернативному пути с высвобождением С5а и С3а. Другие обладают собственной прямой хемотаксической активностью. Так, присущие всем бактериям формилпептиды вызывают хемотаксис и, кроме того, непосредственно стимулируют фагоциты, всегда имеющие к ним рецепторы.

Начальная стадия фагоцитоза – это связывание микроба на поверхности фагоцитарной клетки. Связыванию способствует активация комплемента и фиксация на поверхности микробной клетки С3b, с которым затем взаимодействуют рецепторы CR3 фагоцитов. Аналогичным образом, если предварительно с микробной клеткой связываются антитела, в ее поглощении участвуют затем Fc-рецепторы фагоцитов, тем самым способствуя фагоцитозу.

Микроорганизмы, для которых характерна внутриклеточная локализация в организме-хозяине, обладают особыми возможностями связывания с поверхностью фагоцитов: несмотря на то что поглощение происходит обычным путем, последующей активации бактерицидных механизмов не происходит. Эта ситуация, как и сами бактерицидные механизмы, подробнее рассмотрены в гл. 17.

Функции, независимые от Т-клеток: I – фагоцитоз

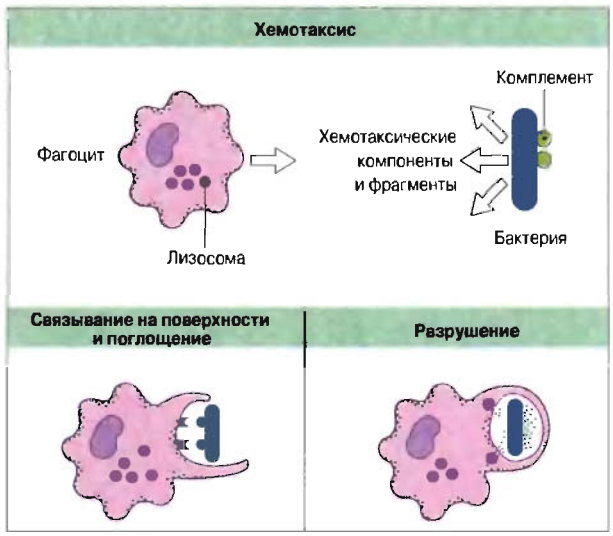


Рис. 10.8
Большинство микроорганизмов выделяет вещества, вызывающие хемотаксис фагоцитов, и поглощается этими клетками. Последующее уничтожение фагоцитированных микробов не требует дополнительной активации фагоцитов. Этим процессам способствует независимая от антител альтернативная активация комплемента.

Выделение цитокинов могут вызывать компоненты микробных клеток

Другой независимый от Т-клеток и антител механизм противомикробной защиты, весьма важный в начальной стадии инфекции, – это выделение цитокинов и хемокинов из макрофагов и прочих клеток. По-видимому, все инвазивные микробы содержат или выделяют молекулы, способные вызывать такой эффект (см. гл. 17). Среди микробных активаторов высвобождения цитокинов наиболее сильное действие оказывает эндотоксин, или липополисахарид (ЛПС). Сложным образом ЛПС взаимодействует с мембраносвязанными рецепторами на поверхности лейкоцитов и, вероятно, эндотелиальных клеток, в результате чего происходит активация соответствующих эффекторных функций этих клеток (см. *рис. 17.3*). Подобным образом может распознаваться и действовать и ряд других консервативных микробных структур.

Среди цитокинов, выделяемых макрофагами под действием микробных компонентов, особая роль принадлежит ФНОα и ИЛ-12. Высвобождаемые на ранней фазе иммунного ответа, эти и другие медиаторы выполняют три следующие фундаментальные функции (*рис. 10.9*):

- служат сигналами для эндотелиальных клеток, начинающих в результате их получения привлекать лейкоциты из кровотока;
- активируют фагоцитарные клетки в тканях, обеспечивая тем самым «врожденную резистентность» в тот период, когда еще только развивается Т-клеточный иммунитет;

Роль цитокинов на ранней стадии иммунного ответа

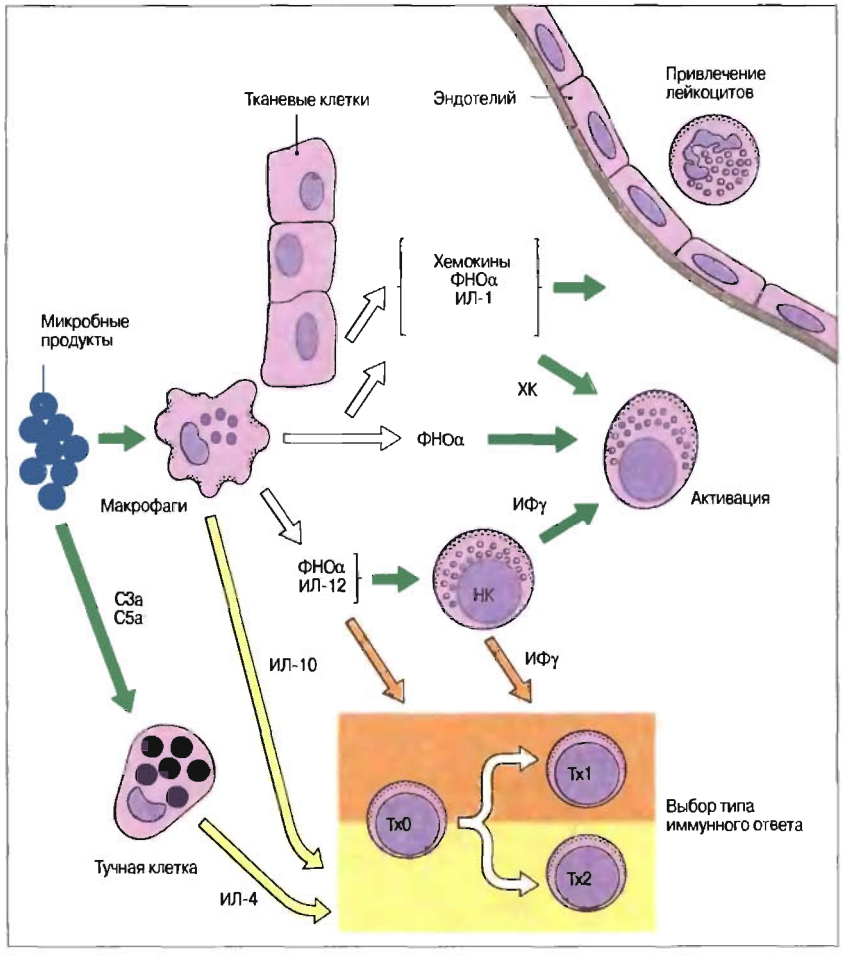


Рис. 10.9
Выделяемые макрофагами и тканевыми клетками ФНОα и ИЛ-1 имеют существенное значение в ранней фазе иммунного ответа. Они воздействуют на эндотелий кровеносных сосудов, который после этого начинает привлекать циркулирующие лейкоциты. Следующую за этим миграцию лейкоцитов в ткани, а также активацию прибывших туда клеток вызывают хемокины (ХК). Кроме того, ФНОα сам активирует макрофаги и нейтрофилы. Под действием ФНОα и ИЛ-12 НК-клетки выделяют ИФγ, который дополнительно усиливает бактерицидную активность фагоцитов. И, наконец, цитокины, выделяемые макрофагами и другими клетками, включая тучные, направляют развитие иммунного ответа по Tx1- или Tx2-типу. Все эти события могут происходить еще до включения в иммунный ответ Т-лимфоцитов.

- служат одним из сигналов, предопределяющих тип Т-клеточного иммунного ответа – Тх1 или Тх2.

Цитокины необходимы для привлечения лейкоцитов из кровотока

Последовательные стадии привлечения лейкоцитов из кровотока представлены на *рис. 10.10*. Вначале цитокины вызывают экспрессию на эндотелиальных клетках молекул адгезии, благодаря которой лейкоциты слегка прилипают к поверхности эндотелия и начинают катиться по нему в направлении кровотока. На следующей стадии происходит выделение тканевыми клетками хемокинов, которые связываются с эндотелиоцитами и активируют экспрессию ими интегринов, запуская тем самым механизм усиления лейкоцитарной адгезии. В результате лейкоциты прочно прилипают к эндотелию и прекращают движение. Последняя стадия привлечения лейкоцитов – это миграция их через эндотелий сосудов в ткань.

Существование перечисленных стадий привлечения лейкоцитов иллюстрируют два синдрома иммунодефицита человека. При недостаточности лейкоцитарной адгезии II типа лейкоциты лишены сиалированного антигена X группы крови Льюис, который служит лигандом для Е-селектина, и поэтому неспособны катиться по эндотелию. В отличие от этого при недостаточности лейкоцитарной адгезии I типа в составе молекул интегринов отсутствует β-цепь, поэтому нейтрофилы, катясь по эндотелию, не могут прочно прилипнуть к нему и мигрировать из просвета сосуда в ткань. Оба синдрома недостаточности лейкоцитарной адгезии сопровождаются рецидивирующими бактериальными инфекциями.

Т-ЗАВИСИМЫЙ КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Выделяемые на самых ранних стадиях инфекции цитокины могут служить критерием, по которому легко определить тип последующего иммунного ответа. Это важный аспект клинической иммунологии, и в настоящее время он интенсивно разрабатывается. Такие разработки требуют четкого представления о возможных типах опосредованного клетками иммунного ответа и механизмах избирательной активации каждого из них. Они и будут рассмотрены в дальнейшем изложении.

Роль цитокинов в привлечении лейкоцитов из кровотока

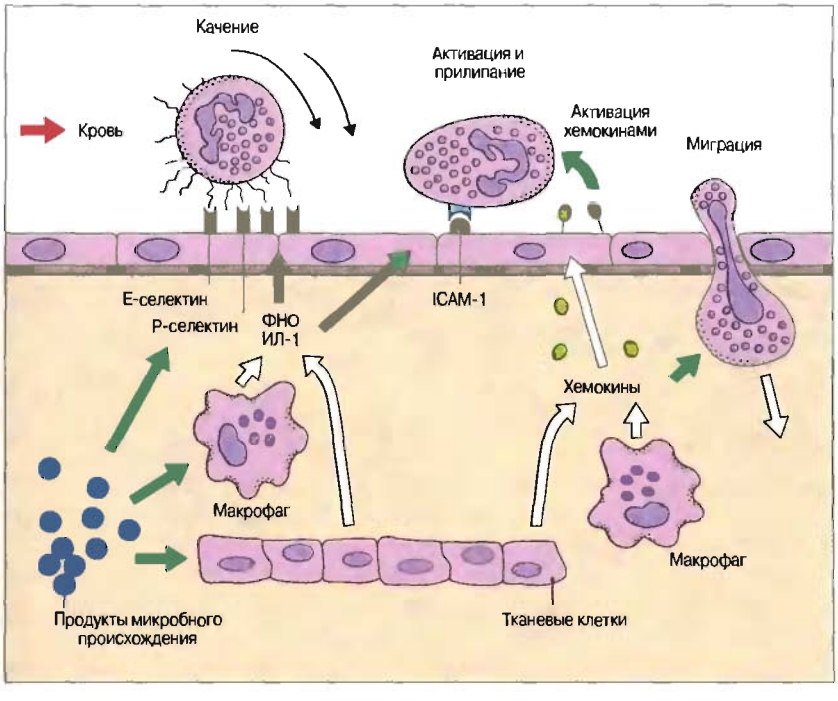


Рис. 10.10
Под действием ФНОα, ИЛ-1 и липополисахарида (ЛПС) клетки эндотелия экспрессируют Е-селектин и Р-селектин, которые связываются с олигосахаридными цепями на поверхности циркулирующих лейкоцитов. В результате лейкоциты замедляют свое продвижение с током крови и начинают катиться по поверхности эндотелия. Цитокины повышают также экспрессию ICAM-1. Хемокины, в том числе MCP-1, RANTES и MIP-1α, выделяемые соответственно макрофагами, тканевыми клетками и эндотелием, оседают на поверхности эндотелиоцитов и, активируя прикрепившиеся здесь же лейкоциты, усиливают функциональную аффинность лейкоцитарных интегринов. Интегрины взаимодействуют со своим лигандом (ICAM-1), дополнительно усиливая адгезию лейкоцитов к эндотелию. В итоге лейкоциты мигрируют сквозь эндотелий и перемещаются по градиентам хемотаксических медиаторов. Механизм привлечения лейкоцитов из кровотока, а также набор экспрессируемых ими адгезивных молекул у каждой субпопуляции лейкоцитов имеет свои особенности.

Центральная роль Тх-клеток в клеточном иммунитете

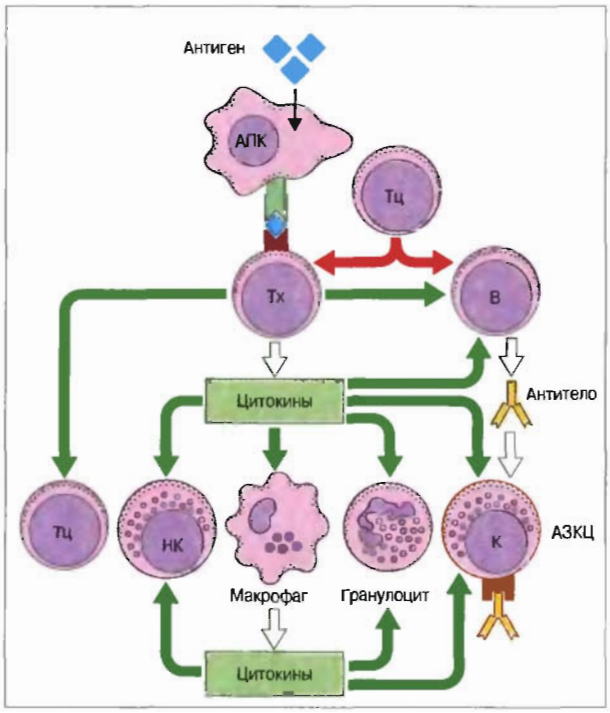


Рис. 10.11
Антигенпрезентирующие клетки (АПК) представляют процессированный антиген Т-хелперным (Тх) клеткам, которым принадлежит центральная роль в развитии иммунного ответа. Распознавая определенные эпитопы антигена, эти клетки тем самым выбирают его в качестве своей мишени. Затем Тх-клетки «выбирают» и активируют соответствующие эффекторные механизмы иммунного ответа; кроме того, они могут оказывать помощь В-клеткам в образовании антител и активировать или подавлять функции других эффекторных клеток (подробнее описанных ниже), к которым относятся цитотоксические Т-клетки (Тц), нормальные киллерные клетки (НК-клетки), макрофаги, гранулоциты и зависимые от антител цитотоксические (К) клетки. Эффекты Тх-клеток во многих случаях опосредованы их собственными цитокинами, но непрямое воздействие Тх-клеток через другие клетки, в частности макрофаги и их цитокины, также имеет значение. Как Т-, так и В-клетки, в свою очередь, находятся под контролем «супрессорных» (Тс), или регуляторных, клеток.

На *рис. 10.11* схематически представлены основные функциональные взаимодействия между клетками, осуществляющими реакции клеточного иммунитета, и центральная роль в этом Т-хелперов $CD4^+$. (Следует отметить, что отдельные клетки могут выполнять несколько разных функций.) Тх-клетки различных субпопуляций, выделяя тот или иной набор цитокинов, по-разному влияют на многообразные виды клеточной кооперации. Активация Т-клеток при повторной встрече со специфическим антигеном может быть причиной гиперчувствительности замедленного типа с образованием гранулем или иммунопатологического повреждения тканей (см. ниже в этой главе и гл. 26). Некоторые Т-клетки способны подавлять иммунный ответ и поэтому названы Т-супрессорами (Тс). Отдельные Тс выделяют регуляторный цитокин – трансформирующий фактор роста β (ТФРβ), и, вполне возможно, служат истинными «супрессорными» Т-клетками; остальные же могут быть просто регуляторными клетками, которые не подавляют, а переключают иммунный ответ с наблюдаемой в опыте формы на другую, не регистрируемую экспериментатором.

Выбор эффекторных механизмов клеточного иммунитета определяют Т-хелперные клетки

Какие из эпитопов антигена станут мишенью иммунного ответа, зависит прежде всего от Т-хелперов, поскольку именно они взаимодействуют с антигенпрезентирующими клетками, несущими антигенные пептиды в ассоциации с молекулами MHC класса II (см. гл. 9). Однако, противодействуя инфекции, иммунная система должна сделать также и второй, возможно еще более важный выбор – «решить», какой эффекторный механизм иммунного ответа необходимо использовать, чтобы он был адекватен характеру инфекции. Наиболее легко определяются три следующих эффекторных механизма:

- цитотоксическое действие Т-клеток $CD8^+$ или больших гранулярных лимфоцитов;
- активация макрофагов, регулируемая главным образом Тх1-клетками, и
- стимулируемый Тх2 синтез антител и их роль в эффектах тучных клеток или эозинофилов.

Адекватный выбор механизма очень важен, поскольку в случае его несоответствия вместо защиты может развиться повышенная чувствительность к возбудителю. Например, при экспериментальной гриппозной инфекции противовирусную защиту осуществляют цитотоксические Т-клетки, тогда как активация макрофагов повышает чувствительность. У мыши активация мак-

рофагов создает иммунитет против *Leishmania major*, тогда как все клеточные реакции, которые не ведут к активации макрофагов, могут иметь вредное действие, несмотря на образование антител. Первые два эффекторных механизма из перечисленных выше рассмотрены в настоящей главе, третий – образование антител – в следующей.

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ Т- И НК-КЛЕТОК

В защитных реакциях, направленных на устранение инфицированных вирусами клеток организма, действуют цитотоксические Т- и НК-клетки

Клеточная цитотоксичность – важный механизм защиты против внутриклеточно локализованных возбудителей, таких как вирусы, некоторые бактерии и простейшие. Цитотоксическую активность могут проявлять несколько типов клеток – цитотоксические Т-клетки (Тц), нормальные киллерные клетки (НК) и иногда клетки миелоидного ряда, причем механизмы распознавания мишеней у них различные (*рис. 10.12*).

- Цитотоксические Т-клетки распознают специфические антигены (например, вирусные пептиды на поверхности инфицированных клеток) в ассоциации с молекулами MHC. Большая часть Тц-клеток несет маркер $CD8^+$ и распознает антиген, презентируемый в ассоциации с молекулами MHC класса I, но примерно 10 % MHC-рестриктированных цитотоксических Т-клеток относятся к субпопуляции $CD4^+$ и распознают антиген в ассоциации с молекулами MHC класса II.
- Нормальные киллеры распознают клетки, у которых отсутствует экспрессия молекул MHC класса I. Кроме отрицательного, НК-клеткам свойственно и положительное распознавание своих мишеней с помощью рецепторов к различным лигандам. Например, благодаря Fc-рецепторам (CD16) они способны связывать антитела, образовавшие иммунные комплексы с антигенами на поверхности клеток-мишеней, – так называемая антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ), или киллерная (К) клеточная активность.

Распознавание клеток-мишеней Тц- и НК-клетками

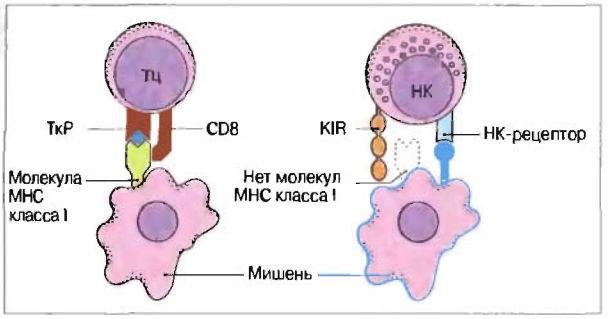


Рис. 10.12
Цитотоксические Т-клетки (Тц) своим рецептором (TkP) распознают процессированный антиген, который представлен в ассоциации с молекулами MHC на клетке-мишени. Большинство Тц-клеток относится к субпопуляции $CD8^+$ и распознает антиген, презентированный в ассоциации с молекулами MHC класса I, но меньшая их часть, относящаяся к субпопуляции $CD4^+$, способна распознавать антиген в ассоциации с молекулами MHC класса II. В отличие от Тц-, НК-клетки несут рецепторы подавления цитотоксичности (KIR, от англ. killer inhibitory receptor). Распознавая на клетке-мишени молекулы MHC класса I, эти рецепторы дают сигнал торможения цитотоксической активности. Положительное распознавание мишеней НК-клетками происходит с участием их собственных особых рецепторов (НК-рецепторы), в частности CD2 и CD69, или антител, с которыми они связываются через рецептор для Fc (CD16).

Главная функция Тц – это устранение клеток, зараженных вирусами (см. гл. 16). Почти все имеющие ядро клетки экспрессируют молекулы MHC класса I и в случае вирусной инфекции способны презентировать антиген возбудителя цитотоксическим Т-клеткам $CD8^+$. Подробнее механизмы такой презентации рассмотрены в гл. 9. Собственные молекулы клеток после частичного расщепления в протеазомах транспортируются к эндоплазматическому ретикулуму, где они образуют комплекс с молекулами MHC класса I, и затем на поверхность клетки. Таким путем каждая клетка представляет «образцы» своих молекул для «осмотра» и опознавания Тц-клеткам $CD8^+$. Тем же способом происходит презентация антигенов из микробов, которые локализуются внутри клеток.

Иногда для стабилизации связи между Тц-клеткой и ее мишенью требуются дополнительные взаимодействия (*рис. 10.13*); они могут способствовать и цитолизу. Например, цитолиз клеток-мишеней связавшимися с ними Тц-клетками in vitro можно вызвать антителами к CD3 или CD2, маркерам поверхности Тц. Вероятно, аналогичным образом цитолитическую активность Тц-клеток «включает» связывание с этими молекулами физиологических лигандов.

Взаимодействия между Тц-клетками и их мишенями

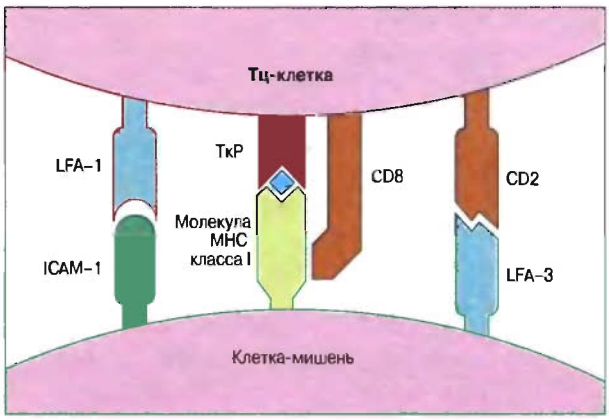


Рис. 10.13
Некоторые из лигандов, принимающих участие во взаимодействии между цитотоксическими Т-клетками и их мишенями.

Некоторые вирусы, в частности вирусы герпеса, пытаются избежать распознавания Тц-клетками, подавляя экспрессию молекул MHC класса I на поверхности инфицированных клеток; однако в этом случае вирус распознают НК-клетки. Следовательно, Тц- и НК-клетки можно рассматривать как два взаимодополняющих инструмента иммунитета против вирусной инфекции тканей.

Цитотоксическую активность НК-клеток подавляют молекулы MHC класса I

НК-клетки, происходящие в основном из больших гранулярных лимфоцитов (БГЛ), у человека составляют примерно 5 % лимфоцитов периферической крови. Чаще всего они имеют фенотип $CD3^{-}CD16^{+}CD56^{+}CD94^{+}$ (см. приложение 2) и гаметное (неперестроенное) расположение генов Т-клеточного рецептора. В первоначальных работах по определению специфичности цитотоксического действия НК было установлено, что резистентность к нему обусловлена определенными доминантными аллелями локуса *HLA-C*. Впоследствии оказалось, что НК-клетки действительно способны распознавать различные аллотипы молекул MHC, однако любые из этих молекул, в том числе аллотипы локусов *HLA-A* и *HLA-B*, могут подавлять цитолиз.

Недавно опубликовано новое, весьма многообещающее открытие: обнаружены молекулы HLA-G, экспрессируемые только на клетках трофобласта и представляющие собой эффективные ингибиторы НК-цитотоксичности, которые обеспечивают устойчивость ко всем типам НК-клеток. Клетки трофобласта (наружный слой бластоцисты у млекопитающих) контактируют, когда сформирована плацента, с циркулирующей кровью матери, в отношении которой они аллогенны, поскольку обладают отцовскими генами MHC. Однако в этих клетках экспрессия всех обычных антигенов MHC, за исключением HLA-G, регуляторно подавлена. Следовательно, молекулы HLA-G необходимы для защиты плаценты от действия материнских НК-клеток.

НК-клетки распознают антигены MHC класса I с помощью молекул двух видов (*рис. 10.14*). Молекулы одного из них относятся к лектинам С-типа и первоначально были идентифицированы у мыши (Ly49) и крысы, а затем у человека (предположительно, CD94). Молекулы второго вида – это представители суперсемейства иммуноглобулин-подобных молекул, CD158a и CD158b (они связываются с различными молекулами HLA-C и имеют каждая по два IgSF-домена (от англ. immunoglobulin supergene family), а также обладающий тремя IgSF-доменами белок p70. Рецепторные молекулы этого типа вначале были

Ингибиторные рецепторы НК-клеток

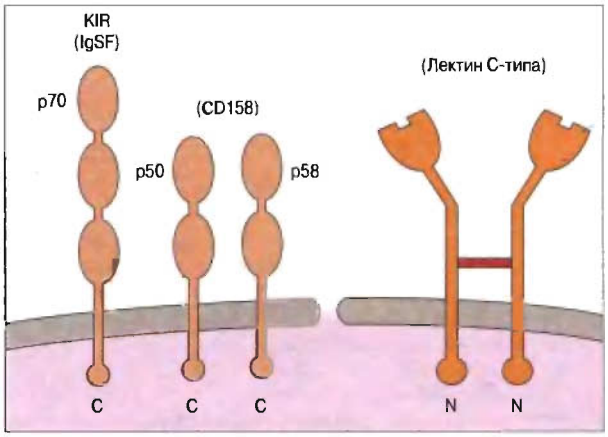


Рис. 10.14
Два типа рецепторов, опосредующих подавление молекулами MHC класса I цитотоксичности НК-клеток: иммуноглобулин-подобные молекулы (трехдоменный белок p70 и двухдоменные белки p50 и p58) и специфические лектины С-типа, в том числе Ly49 у мыши и CD94 у человека.

идентифицированы у человека, позже эквивалентные структуры удалось выявить на клетках грызунов.

На поверхности НК- и К-клеток имеется несколько разных рецепторов для идентификации мишеней

НК-клетки атакуют свои мишени при участии в качестве рецепторов молекул CD2, CD16 и CD69, а также лектин-подобных рецепторов, сходных с теми, которые подавляют цитотоксичность. Рецептором для Fc (CD16) НК-клетки связываются с молекулами антител, присоединившихся к поверхности клеток-мишеней и тем самым опосредующих АЗКЦ (*рис. 10.15*). Обычно это интерпретируется как проявление киллерной (К) клеточной активности, но помимо НК-клеток такую функцию могут выполнять и другие типы клеток с Fc-рецепторами, в частности Т-клетки. Экспрессирующие Fc-рецепторы клетки миелоидного ряда также проявляют К-клеточную активность, но, по всей вероятности, в отличие от НК- и Т-клеток, с использованием иных механизмов цитолиза (см. ниже).

Потенциальная мишень для К-клетки – это экспрессированные на клеточной поверхности вирусные антигены, молекулы МНС и отдельные эпитопы, свойственные опухолевым клеткам. Кроме того, моноциты и (судя по некоторым противоречивым сообщениям) полиморфноядерные гранулоциты могут проявлять киллерную активность в отношении нагруженных антителами клеток опухолей. Такие клетки миелоидного ряда, как моноциты и эозинофилы, выполняют, несомненно, важную эффекторную роль в уничтожении нагруженных антителами шистосомул (см. гл. 18).

Зависимая от антител клеточная цитотоксичность

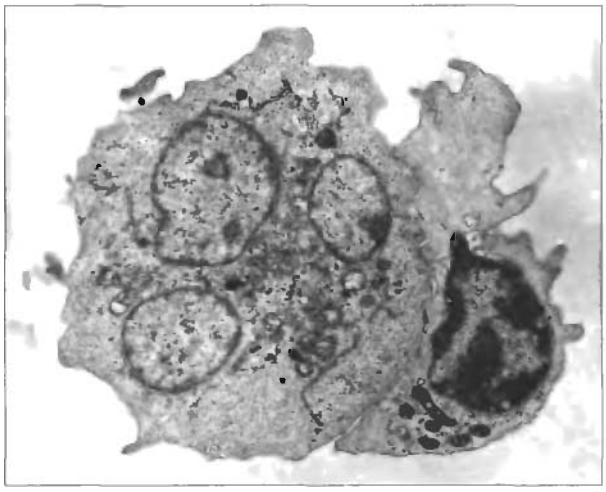


Рис. 10.15
К-клеточная активность. Электронно-микроскопическая фотография лимфоцита (расположен справа), атакующего нагруженную антителами клетку-мишень (расположена слева). × 2500. (Фото любезно предоставлено д-ром P. Penfold.)

Активированные цитокинами клетки-киллеры относятся, вероятно, к НК-клеткам

В иммунологии разрабатывается несколько направлений экспериментальной иммунотерапии рака. Одно из них – это активация интерлейкином-2 in vitro собственных лимфоцитов больного с последующим их обратным введением. Такие лимфоциты, выделенные из крови или селезенки, получили название активированные цитокинами (лимфокинами) клетки-киллеры (ЛАК). Они проявляют не рестриктированную по МНС повышенную цитотоксичность и, по-видимому, происходят преимущественно из предшественников, не отличающихся от НК-клеток. Скорее всего, ЛАК – это продукт активации, а не какая-то особая клеточная линия. Способ противоопухолевой иммунотерапии с использованием ЛАК пока проходит этап клинических испытаний.

Цитотоксический эффект клеток-киллеров реализуется либо при контактном взаимодействии с мишенями, либо путем выделения цитокинов и экзоцитоза гранул

Для поражения мишени Тц-, НК- и К-клетки обладают несколькими механизмами воздействия. Один из них – это передача сигналов при непосредственном клеточном контакте через поверхностные структуры, другой – непрямая сигнализация с помощью цитокинов. Кроме того, в цитоплазме многих цитотоксических Т-клеток $CD8^+$ и БГЛ (НК- и К-клетки) обнаружены гранулы с белками, высвобождение которых вблизи цитоплазматической мембраны клетки-мишени вызывает ее повреждение. Какое из сочетаний этих трех механизмов цитотоксического действия будет использовано в конкретных условиях, зависит от типа цитотоксических клеток, в частности от субпопуляции Тц-клеток.

В гранулах цитотоксических Т-клеток содержатся перфорин и гранзимы

Гранулы НК-клеток и цитотоксических Т-клеток содержат несколько белков, в том числе перфорин и гранзимы (ассоциированные с гранулами ферменты). Как только цитотоксическая Т-клетка связывается со своей мишенью, гранулы внутри Тц перемещаются к тому участку мембраны, где произошел контакт с мишенью. Затем осуществляется Ca^{2+}-зависимое высвобождение содержимого из этих гранул в щель между цитотоксической клеткой и ее мишенью.

Перфорин – это мономерный белок, вызывающий образование пор в цитоплазматической мембране. По структуре и функции он близок к С9 (девятому компоненту системы комплемента). Кроме перфорина, гранулы содержат сериновую эстеразу, которая может входить в состав литического комплекса. В присутствии Ca^{2+} мономеры перфорина связываются с мембраной клетки-мишени и полимеризуются, образуя трансмембранный канал. Несмотря на тесный контакт собственной плазматической мембраны с перфорином, сама цитотоксическая Т-клетка не повреждается им и продолжает поражать следующие клетки-мишени. Возможно, от самоповреждения Т-клетку защищает протеогликан хондроитинсульфат А, который также присутствует в гранулах. Этот белок может связываться с перфорином и вызывать в результате его инактивацию.

Гранзимы – это набор сериновых эстераз, которые высвобождаются при экзоцитозе гранул и затем активируются. Действие гранзимов не обязательно для проявления цитотоксичности – клетки, лишенные этих ферментов, еще способны поражать свои мишени. Некоторые из гранзимов могут вызывать в клетках-мишенях запуск программы апоптоза и фрагментации ДНК, воздействуя на пути внутриклеточной сигнализации. Механизмы участия перфорина и гранзимов в цитолизе клеток-мишеней иллюстрирует *рис. 10.16.*

Клетки-мишени могут также воспринимать цитотоксические сигналы через рецепторы для FasL и ФНО

Цитотоксические Т-клетки $CD4^+$, как выяснилось, не содержат перфорин и поражают свои мишени в отсутствие Ca^{2+}. Таким образом, они обладают иным механизмом цитотоксического действия, что было доказано в опытах на Тц-клетках «нокаутных» мышей (полученных с использованием метода генного «нокаута»; см ни-

Механизмы разрушения клеток-мишеней содержимым гранул цитотоксических клеток

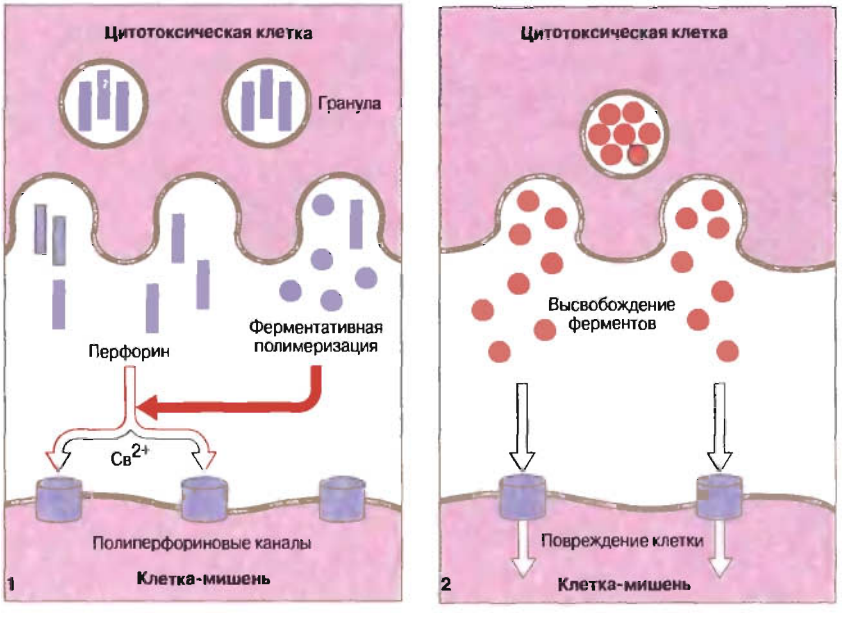


Рис. 10.16
При дегрануляции цитотоксических лимфоидных клеток перфорин и разнообразные ферменты (гранзимы) высвобождаются в непосредственной близости от цитоплазматической мембраны клетки-мишени. Затем происходит зависимая от Ca^{2+} ферментативная полимеризация перфорина с образованием полиперфориновых каналов в мембране мишени (**1**). Через эти каналы внутрь клетки проникают выделяемые цитотоксической клеткой гидролитические ферменты и прочие токсические вещества, вызывающие повреждения (**2**).

же). У таких мышей в результате направленной, сайт-специфической мутации не экспрессируется ген перфорина. В отсутствие перфорина цитотоксическая активность Т-клеток $CD4^+$ снижена, но не устранена полностью. Поиск дополнительного механизма цитотоксичности привел к идентификации на поверхности клеток-мишеней группы молекул, связывание с которыми служит сигналом к апоптозу. Среди них прежде всего представляют интерес Fas (CD95) и рецепторы для ФНО. В эту группу молекул входят также CD30 и CD40. Лиганд для Fas, т. е. FasL, экспрессируется на зрелых Т-клетках $CD4^+$ и $CD8^+$ после их активации. Связывание FasL с рецепторными молекулами Fas вызывает агрегацию последних и присоединение к их внутриклеточным сегментам белка MORT-1, что в итоге приводит к апоптозу клеток-мишеней. От Fas зависит также выживание и устранение определенных субпопуляций лимфоцитов в период их созревания. По своему строению молекулы Fas похожи на рецепторы для ФНО. Например, те и другие имеют внутриклеточные (цитоплазматические) «смертоносные» домены — структурные мотивы, обнаруженные у ряда особых белков, контролирующих выживание клеток.

Гранулы Тц-клеток могут содержать также ФНОα и лимфотоксин (ФНОβ). Однако сами по себе эти цитокины не могут обеспечить цитотоксичность: отдельная Тц-клетка способна вызвать гибель клетки-мишени за 3–4 ч, а действие ФНО проявляется гораздо позднее. Но сходство между ФНО-рецептором и Fas свидетельствует о потенциальном участии ФНОα и ФНОβ в поражении мишеней (*рис. 10.17*).

Итак, цитотоксическое действие Т-клеток $CD8^+$ основано на высвобождении содержимого гранул и экспрессии FasL, Т-клеток $CD4^+$ – в основном на экспрессии FasL, а НК-клеток, в первую очередь, на высвобождении содержимого гранул. В цитотоксическую активность всех этих клеток может вносить вклад ФНО.

Цитотоксическое действие клеток миелоидного ряда основано на целом ряде механизмов поражения мишеней

Уничтожение опухолевых клеток макрофагами часто обусловлено действием только ФНОα. Вместе с ИФγ, выделяемым Т- и НК-клетками, этот цитокин вызывает мощный синергичный эффект цитолиза чувствительных опухолей (*рис. 10.18*). Механизмы цитотоксического действия, обусловленные активностью цитокинов, пока недостаточно изучены. В ряде случаев цитокины вызывают повышение активности циклоок-

Сигналы разрушения клеток-мишеней, передаваемые их собственными рецепторами

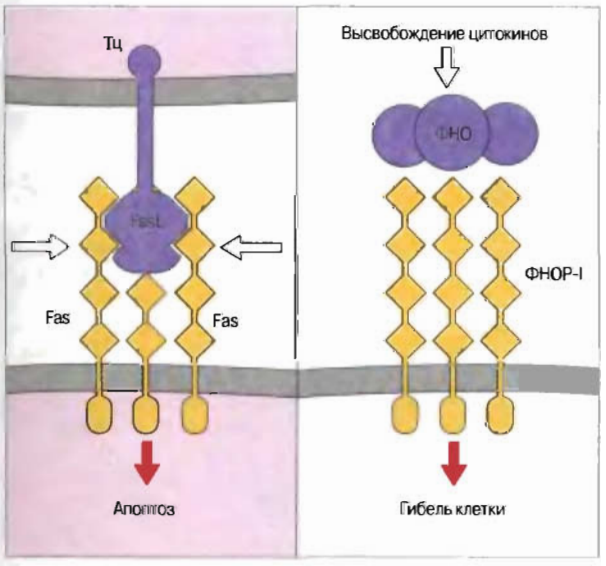


Рис. 10.17
Fas-лиганд (FasL) цитотоксических Т-клеток вызывает агрегацию молекул Fas-рецептора на поверхности клетки-мишени, вследствие чего происходит ассоциация внутриклеточных белков (например, MORT-1) – начальное звено в цепи событий, ведущих к апоптозу. Fas имеет четыре внеклеточных домена (как представитель суперсемейства молекул, подобных рецептору для фактора роста нервов) и один цитоплазматический «домен клеточной гибели». Сигналом может также служить связывание ФНО с его специфическим рецептором первого типа (ФНОР-I), относящимся к тому же суперсемейству, что и Fas.

сигеназы и липоксигеназы с последующим внутриклеточным образованием свободных радикалов. Кроме того, возможны такие цитокин-зависимые эффекты, как образование свободных радикалов в результате митохондриального транспорта электронов и нарушение белкового синтеза. Клетки миелоидного ряда способны также выделять те же токсические медиаторы, которые действуют при разрушении микробных клеток внутри фагоцитов, в частности высокоактивные нестабильные метаболиты кислорода и азота (см. гл. 17).

Возможные механизмы цитотоксичности клеток миелоидного ряда

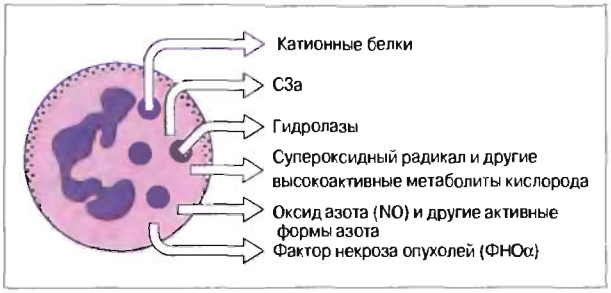


Рис. 10.18
Помимо цитокинов, повреждение клеток-мишеней могут вызывать выделяемые клетками миелоидного ряда высокоактивные метаболиты кислорода и азота, катионные белки, гидролитические ферменты и компоненты комплемента.

РОЛЬ МАКРОФАГОВ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ

Макрофаги принимают участие в иммунном ответе на всех его этапах (*рис. 10.19*). Во-первых, как уже было отмечено, они осуществляют немедленную защитную реакцию до тех пор, пока не произойдет усиление иммунного ответа, регулируемое антигенспецифичнми Т-клетками. Во-вторых, они вызывают активацию Т-клеток, осуществляя процессинг и презентацию им антигена (см. гл. 9). И наконец, активированные в свою очередь Т-клетками, они выполняют важные функции в эффекторных механизмах клеточного иммунитета, вызывая воспаление и уничтожая микроорганизмы, а также опухолевые клетки (*рис. 10.20*).

Цитокины усиливают некоторые функции макрофагов

Циркулирующие моноциты способны уничтожать некоторые микроорганизмы (см. гл. 17). При культивировании in vitro они в значительной степени теряют эту активность, но под действием добавленных цитокинов, в частности ИФγ, она восстанавливается и параллельно происходит активация дополнительных механизмов антимик-

Центральная роль макрофагов в иммунной системе

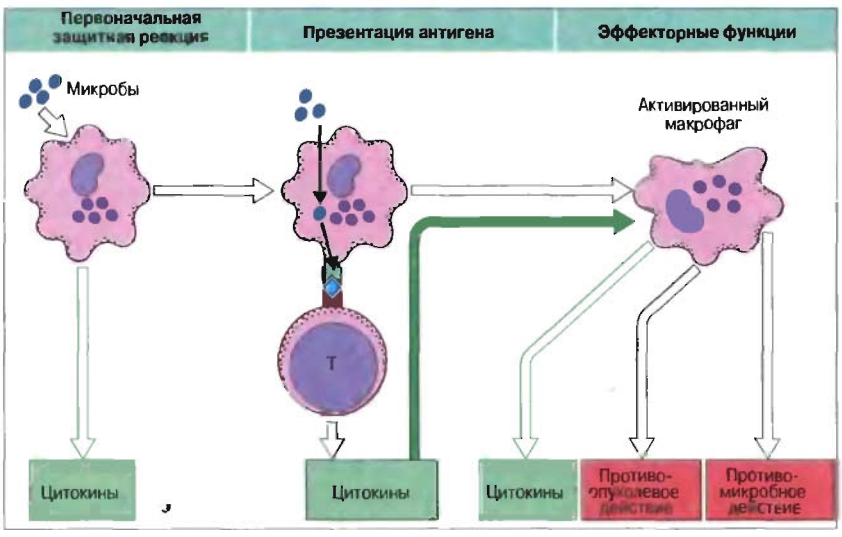


Рис. 10.19
Макрофаги осуществляют защитную реакцию организма в ранней стадии ответа на инфекцию, до вступления в действие специфических механизмов иммунитета, зависимых от Т- и В-клеток. Позже функция макрофагов сводится к переработке (процессингу) и представлению (презентации) антигена. Наконец, в эффекторной стадии иммунного ответа распознавшие антиген Т-клетки выделяют цитокины, активирующие макрофаги.

Центральная роль макрофагов в иммунитете и воспалении

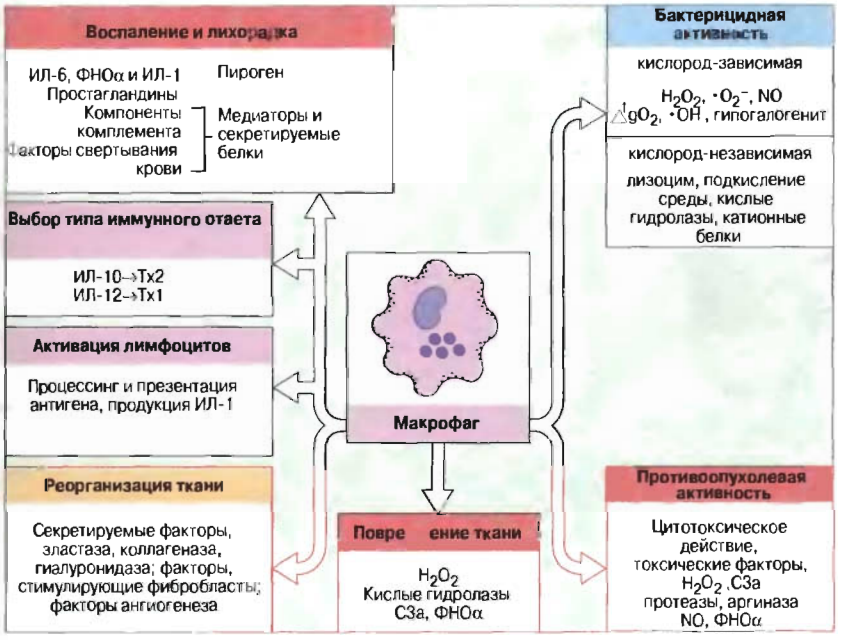


Рис. 10.20
Макрофаги и их продукты имеют существенное значение в индуктивной стадии воспаления, а также в реорганизации и поствоспалительной репарации ткани (левая часть схемы). Эффекторные функции макрофагов перечислены в правой части схемы. В результате их осуществления может произойти повреждение ткани, как например при реакциях гиперчувствительности замедленного типа.

робного действия, которые в норме не экспрессируются моноцитами.

Такая «активация» цитокинами необходима макрофагам in vitro для разрушения многих внутриклеточных паразитов и некоторых опухолевых клеток (*рис. 10.21*). Классический эксперимент, демонстрирующий этот феномен, был проведен на животных, иммунизированных БЦЖ (от BCG, сокращ. франц. bacillus Calmette–Guerin – «бацилла» Кальметта–Герена; препарат авирулентных микобактерий – возбудителей туберкулеза бычьего типа). Введение им очищенных белков туберкулина, т. е. смеси антигенов *Mycobacterium tuberculosis*, стимулирующих Т-клетки, вызывает, помимо стимуляции противотуберкулезного иммунитета, резистентность и к другому патогенному микроорганизму – *Listeria monocytogenes*. При анализе этого эффекта выяснилось, что стимуляция макрофагов происходит по антигенспецифическому механизму, но приводит к усилению их неспецифической бактерицидной активности. Как показали дальнейшие исследования, лимфоциты мышей, иммунизированных БЦЖ, при культивировании in vitro в присутствии соответствующего антигена (например, очищенного туберкулина), выделяют в среду цитокины, усиливающие способность макрофагов сдерживать размножение или уничтожать как микобактерии, так и другие микробы.

Макрофаги весьма разнообразны по свойствам

Активность макрофагов – это сложный феномен. Активированные фагоцитарные клетки приобретают повышенную способность уничтожать одни микроорганизмы, не затрагивая другие. Например, очищенный ИФγ стимулирует бактерицидную активность моноцитов человека в отношении *Legionella*, но при этом усиливает рост *Mycobacterium tuberculosis*. Такой неоднозначный характер эффекта обусловлен несколькими причинами:

- множественностью эффекторных функций, выполняемых активированными макрофагами (*рис. 10.20*) (подробнее антимикробная активность рассмотрена в гл. 17);
- большим разнообразием моноцитов и макрофагов по их свойствам; в зависимости от ткани и органа они различаются по экспрессии молекул MHC класса II и Fc-рецепторов, профилю выделяемых цитокинов и продукции перо-

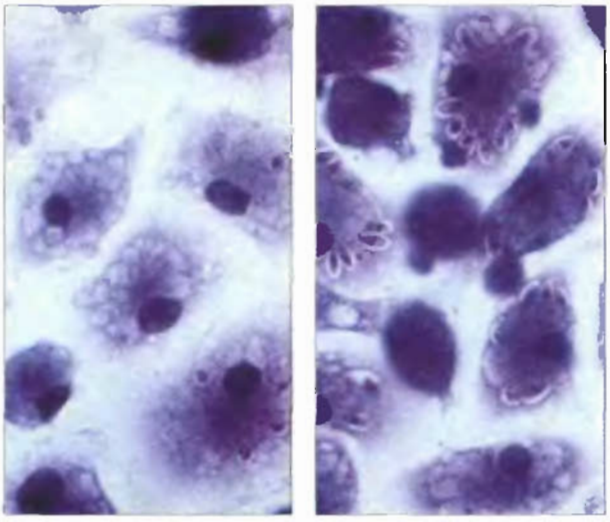


Рис. 10.21
Уничтожение лейшманий активированными макрофагами. Цитокины способны усиливать разрушение клеток *Leishmania enriettii* в макрофагах мышей линии C57. Добавление содержащей цитокины культуральной жидкости из культуры лимфоцитов в культуру макрофагов вызывает полное разрушение фагоцитированных ими паразитов в течение 48 ч (*слева*). В контрольных культурах макрофагов, не содержащих цитокинов, наблюдается неограниченное размножение лейшманий (*справа*). Окраска по Гимза. × 800. (Фото любезно предоставлены д-ром J. Manuel.)

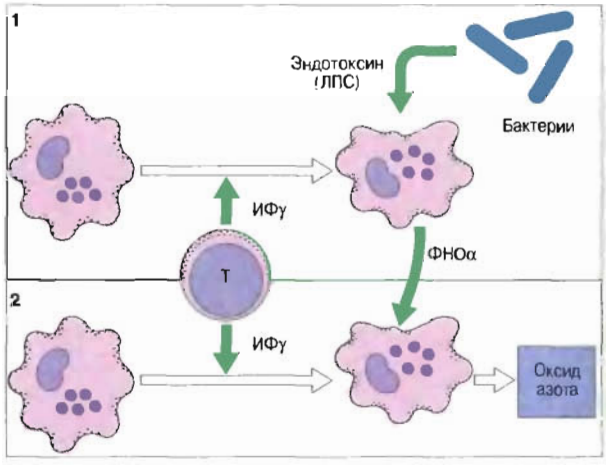


Рис. 10.22
Активация макрофагов иногда требует совместного действия нескольких цитокинов, а также микробных факторов. **1.** Для оптимального выделения ФНОα макрофаги должны быть активированы ИФγ и затем микробными продуктами (например, эндотоксином), вызывающими выброс цитокинов. Совместный эффект ИФγ и эндотоксина обеспечивает выделение того количества ФНОα, которого достаточно для запуска активации макрофагов по механизму 2. **2.** Для активации процесса образования оксида азота требуется ИФγ, но сам запуск образования происходит под действием ФНОα.

ксидазы. Тем не менее большинство исследователей считает, что все макрофаги принадлежат к одной клеточной линии, а наблюдаемые различия обусловлены последовательными стадиями их созревания и влиянием тканевого микроокружения;

- кроме того, активация тех или иных функций может зависеть не только от природы макрофагов, но и от конкретного «спектра» цитокинов и других провоспалительных стимулов.

Предположительно активация макрофагов происходит в несколько этапов, под влиянием следующих один за другим стимулов, которыми могут служить цитокины, эндотоксин, различные медиаторы и регуляторные факторы воспаления. На каждом этапе активации макрофаги способны к осуществлению различных эффекторных функций и обладают характерными особенностями морфологии и физиологии (*рис. 10.22*).

В некоторых случаях для стимуляции определенной функциональной активности макрофагов требуется несколько сигналов. Например, чтобы вызвать наибольшую продукцию оксида азота NO, токсичного для бактерий и опухолевых клеток, макрофаги мыши необходимо стимулировать сначала ИФγ, а затем ФНОα (*рис. 10.22*). На макрофагах человека данный эффект получить гораздо труднее. В большинстве случаев для этого требуется серия стимулов, например воздействие несколькими цитокинами с одновременной перекрестной сшивкой FcεRII (CD23). Макрофаги человека, выделенные из воспалительного очага, иногда экспрессируют индуцибельную синтазу оксида азота, но необходимый для его синтеза кофактор тетрагидробиоптерин они содержат в низкой концентрации. Поскольку оксид азота выполняет многочисленные сигнальные функции, не связанные с его токсическим действием, можно предполагать, что токсикантом служит не само это соединение азота, а преимущественно пероксинитриты, образующиеся в результате взаимодействия NO с продуктами восстано-

вления кислорода. Обычно такое взаимодействие происходит только в очагах воспаления и при стимуляции фагоцитарной активности макрофагов.

У человека в активации макрофагов и регуляции баланса Тх1/Тх2 принимает участие кальцитриол

Под действием ИФγ макрофаги человека экспрессируют 1-α-гидроксилазу, которая может превращать неактивный циркулирующий 25-гидроксихолекальциферол в активный 1,25-дигидроксихолекальциферол (называемый также витамином D_3, или кальцитриолом). На поверхности макрофагов имеются рецепторы для кальцитриола, и он дополнительно стимулирует эти клетки (*рис. 10.23*). Кроме того, по механизму обратной отрицательной регуляции кальцитриол оказывает мощный подавляющий эффект на

Активация макрофагов человека кальцитриолом (1,25-дигидроксихолекальциферолом)

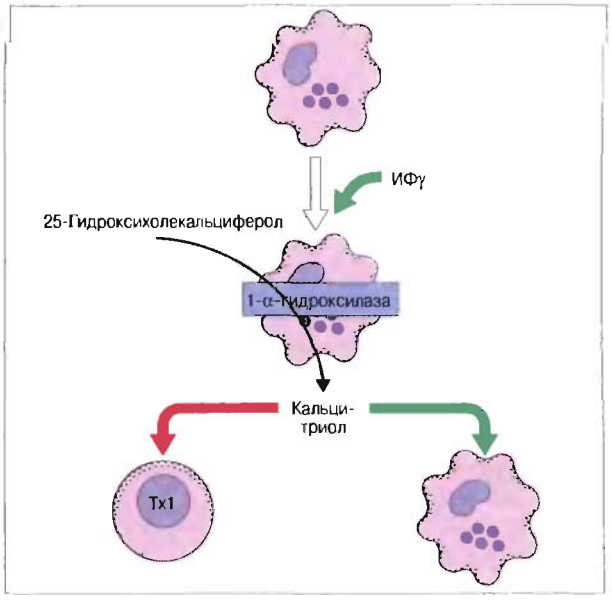


Рис. 10.23
У человека под действием ИФγ в макрофагах повышается экспрессия 1-α-гидроксилазы, с помощью которой они способны превращать неактивный циркулирующий с кровью 25-гидроксихолекальциферол в кальцитриол. Это пример аутокринного механизма обратной связи, благодаря которому происходит дополнительная активация макрофагов с одновременным уменьшением активности Тх1-клеток.

Отрицательная регуляция функции макрофагов

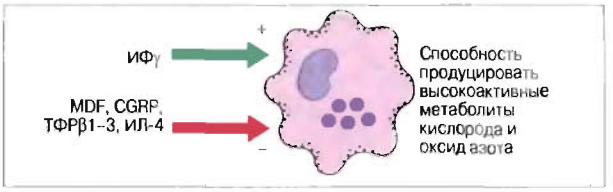


Рис. 10.24
Под действием ИФγ повышается способность макрофагов производить высокоактивные метаболиты кислорода и оксид азота. Ряд других гуморальных факторов препятствует этому.

Тх1-лимфоциты. Этот эффект, по всей вероятности, служит одним из путей переключения иммунного ответа с Тх1- на Тх2-тип в тех случаях, когда возбудитель не может быть устранен из тканей и воспаление как реакция клеточного иммунитета становится хроническим. Данный механизм имеет особое значение у человека, поскольку при саркоидозе и туберкулезе образование кальцитриола может быть настолько значительным, что из участка активации макрофагов он проникает в кровоток, вызывая повышение содержания кальция в крови.

Помимо положительной существует и отрицательная регуляция эффекторных функций макрофагов

Как установлено, макрофаги могут быть не только активированы, но и дезактивированы. Подавление их функций способны вызывать простагландин Е и отчасти (не по всем эффекторным механизмам) глюкокортикоиды. Недавно из среды, в которой культивировались опухолевые клетки, был выделен и получен в очищенном виде фактор, дезактивирующий макрофаги (MDF, от англ. macrophage deactivating factor), который способен отменить вызванное ИФγ увеличение образования высокоактивных метаболитов кислорода и в некоторой степени NO (*рис. 10.24*). Таким же эффектом обладают ИЛ-4 и пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP, от англ. calcitonin-gene-related peptide), а также семейство ТФРβ-подобных цитокинов.

ОБРАЗОВАНИЕ ГРАНУЛЕМ

Иногда клеточный иммунитет не обеспечивает устранения проникших в ткани микробов либо

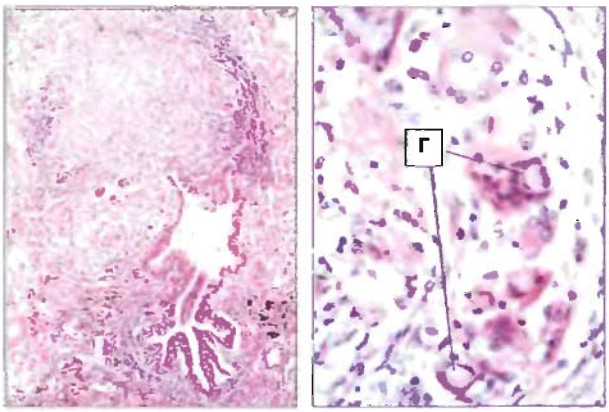


Рис. 10.25
Образование гранулем в легочной ткани при туберкулезе. В центре гранулемы находится характерная для туберкулезного процесса область творожистого некроза, содержащая в основном клеточный детрит (см. гл. 26). Некротические очаги окружает характерная грануляционная «туберкулоидная» ткань – продукт хронического Т-зависимого воспаления. Вокруг детрита кольцами располагаются эпителиоидные и мононуклеарные клетки, а также присутствуют гигантские многоядерные клетки, возникающие, как предполагается, в результате слияния эпителиоидных клеток (*слева*, × 170). Гигантские клетки (Г) (*справа*) показаны при большом увеличении (× 700). Окрашивание гематоксилином/эозином. (Фото любезно предоставлены д-ром G. Boyd.)

антигенный материал не элиминируется из-за того, что устойчив к ферментативному расщеплению или просто относится к собственным компонентам организма. Если при этом Т-клетки продолжают накапливаться и выделять цитокины, образуется гранулема. Появление в тканях гранулем характерно для инфекций, возбудители которых локализуются, хотя бы отчасти, внутриклеточно (например, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Leishmania* spp. и *Listeria monocytogenes*), либо по размерам крупнее макрофагов, либо проявляют тенденцию персистировать в тканях (например, яйца шистосом).

Как правило, гранулемы содержат клетки — производные макрофагов, в том числе эпителиоидные и гигантские многоядерные клетки (*рис. 10.25*); функции этих клеток еще неполностью известны. По морфологии эти компоненты гранулем скорее относятся к секреторным, а не к фагоцитарным клеткам, и появляются, по-видимому, в результате хронической стимуляции макрофагов цитокинами.

Входящие в состав гранулем Тх-клетки $CD4^+$ располагаются в центре этих образований, а Т-клетки $CD8^+$ на их периферии. Это позволяет предполагать, что Т-клетки $CD4^+$ выполняют решающую роль в привлечении и активации других лимфоцитов и макрофагов. При культивировании гранулематозной ткани in vitro обнаружено выделение ею в среду различных цитокинов. Для максимального развития гранулем, по-видимому, требуются выделяемые Тх1-клетками цитокины и ФНОα; в случае мышиного шистосомоза для этого необходимы также цитокины, выделяемые Тх2-клетками.

ИММУНОПАТОЛОГИЯ

Повреждения тканей, наблюдаемые при инфекционных заболеваниях, иногда частично или полностью обусловлены действием самих механизмов клеточного иммунитета. К повреждению тканей может привести также иммунный ответ на аутоантигены (аутоиммунитет) (*рис. 10.26*). Ниже перечислены известные механизмы иммунопатологии; подробно они рассмотрены в гл. 26 и 28.

Цитотоксичность Цитотоксические клетки могут поражать инфицированные вирусами клетки-мишени собственного организма, весьма важные для его жизнедеятельности, например клетки центральной нервной системы. Если это происходит при иммунном ответе на вирусную инфекцию, которая сама по себе не вызывает гибели или функциональных нарушений зараженных клеток, повреждение тканей относят к иммунопатологии.

Хроническое воспаление Реакции клеточного иммунитета могут быть направлены против аутоантигенов (либо скрытых инфекций, либо микробов-комменсалов) и в этом случае вызывают хроническое воспаление, разрушающее ткани (как при ревматоидном артрите, болезни Крона, саркоидозе, псориазе и рассеянном склерозе). Часто роль в этом предполагаемых инфекционных агентов и постинфекционных аутоиммунных реакций остается неясной, как, например, в случае разрушения островков Лангерганса поджелудочной железы и возникновения в результате инсулин-зависимого диабета.

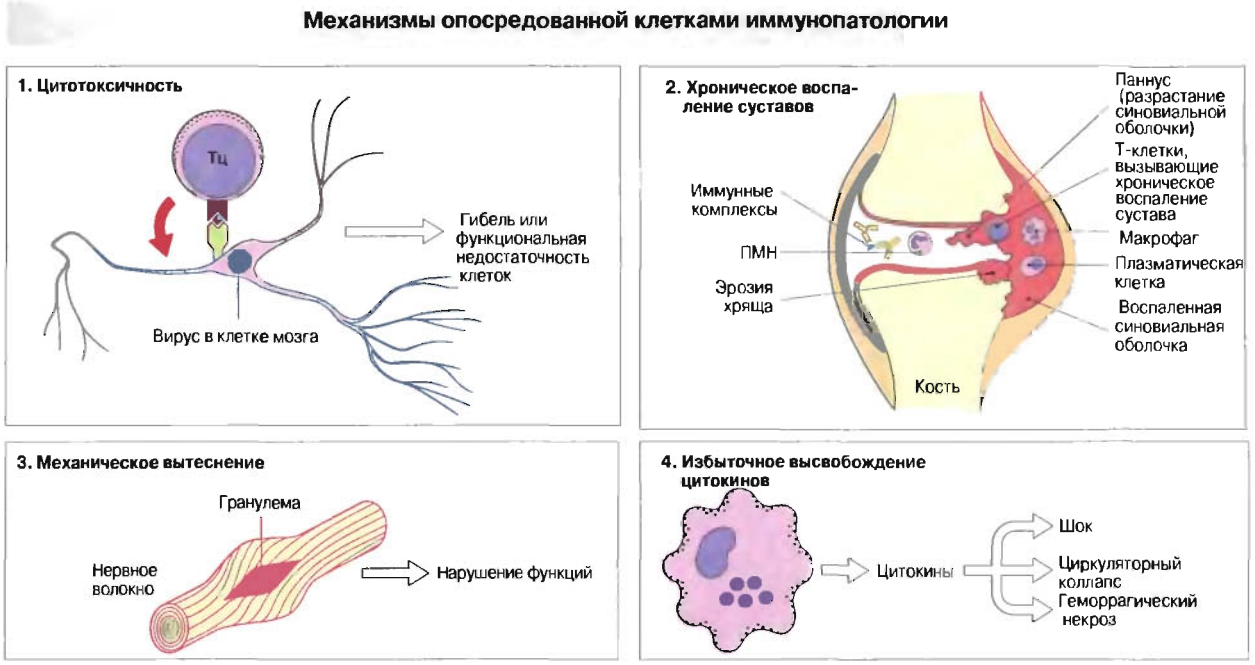


Рис. 10.26
Механизмы опосредованной клетками иммунопатологии.
1. Цитотоксические клетки могут повреждать жизненно важные клетки собственного организма, инфицированные вирусами (например, нервные клетки в мозге).
2. Иммунный ответ может быть направлен на собственные антигены организма (или, вероятно, на антигены неидентифицированных возбудителей скрытых инфекций, либо микробов-комменсалов) и вызывать хроническое воспаление, как это наблюдается при ревматоидном артрите.
3. Занимая значительный объем в пространстве, гранулема может механически нарушать функцию чувствительной ткани, например сетчатки, мозговой ткани или нервного ствола.
4. Избыточное выделение цитокинов способно привести к тяжелым синдромам тканевого повреждения, в частности к синдрому токсического шока, вызванного избытком ФНОα.

Вытеснение гранулемами функциональной ткани Занимая в пространстве определенный объем, гранулема может нарушать функцию той или иной ткани организма. Например, образование гранулемы, вызванное присутствием микобактерий – возбудителей проказы, может приводить к повреждению нервов, по ходу которых эти гранулемы возникают. Аналогичным образом функциональные нарушения могут вызывать гранулемы, образовавшиеся в сетчатке глаза или в тканях мозга.

Избыточное выделение цитокинов Ряд патологических синдромов, таких как токсический шок, геморрагический некроз и реакция Шварцмана, а также локальный некроз при реакциях гиперчувствительности замедленного типа (феномен Коха), обусловлен, по-видимому, избыточным выделением цитокинов (в особенности ФНОα). Механизмы этих синдромов рассмотрены в гл. 17.

СЕТЕВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЦИТОКИНОВ

Цитокины вступают в сложные сетевые взаимодействия

Как можно разобраться в сложной сети взаимодействий одних цитокинов с другими и понять роль каждого из них в организме? Наиболее эффективным инструментом для этого служит применяемый на мышах молекулярно-генетический метод «генного нокаута» – разрушения гена того или иного цитокина либо его рецептора. В таблице на *рис. 10.27* перечислены важнейшие факты, полученные благодаря использованию этого метода, в частности для анализа механизмов иммунитета и воспаления. Так, он позволил выяс-

Фенотипические проявления утраты генов, кодирующих цитокины и цитокиновые рецепторы, у мыши

Утраченные гены	Фенотипические проявления «генного нокаута»
ФНОα	Нарушение в первую очередь функций В-клеток. Уменьшение лимфоидных фолликулов и их краевых зон в селезенке.
	Повышение восприимчивости к возбудителям внутриклеточных инфекций. Устойчивость к эндотоксическому шоку
ФНОР-1 (p55)	Повышение восприимчивости к инфекции Устойчивость к эндотоксическому шоку
ФНОβ (лимфотоксин)	Отсутствие лимфоузлов и пейеровых бляшек. Нарушение распределения В- и Т-клеток в селезенке
ИЛ-2	Повышение содержания IgG в сыворотке крови. Повышение содержания активированных В- и Т-клеток. Гибель 50 % особей в возрасте 4–9 нед. Воспалительные заболевания кишечника у 100 % особей
ИЛ-2Pγ	Тяжелая комбинированная иммунологическая недостаточность (иммунодефицит)
ИЛ-4	Низкое содержание IgE и IgG1 в сыворотке крови. Недостаточное образование цитокинов Тх2-профиля
ИЛ-7/ИЛ-7Р	Выраженное падение численности клеток в тимусе и периферической лимфоидной ткани. Отсутствие γδ-Т-клеток
ИЛ-10	Задержка роста, анемия. Хронический энтероколит
ИФγ/ИФγР	Повышение восприимчивости к внутриклеточно локализующимся возбудителям. Нарушение функций макрофагов. Снижение активности селезеночных НК-клеток и экспрессии продуктов МНС
ТФРβ	Множественные очаги воспаления. Массивные мононуклеарные инфильтраты в тканях сердца, легких, поджелудочной железы и печени
ИЛ-12	Нарушение продукции ИФγ и способности к иммунному ответу по Тх1-типу. Ослабленные реакции ГЗТ при нормальном образовании ЦТЛ и ИЛ-2.

Рис. 10.27
Результаты экспериментов на мышах, избирательно лишенных соответствующих генов (генный нокаут). ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты; ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа, представляющая собой преимущественно Тх1-регулируемую воспалительную реакцию на антиген, введенный внутрикожно.

нить, что определенные цитокины, например ИЛ-7, ФНОα и ФНОβ (называемый также лимфотоксином), существенно важны для формирования иммунной системы в период внутриутробного развития. Последствия устранения других цитокинов, в частности ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-12 и ИФγ, проявляются ярче всего, когда животное испытывает вызванный инфекцией «стресс». На мышах, лишенных гена ИЛ-12, было установлено значение этого цитокина для продукции ИФγ и развития реакций гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Разрушение некоторых цитокиновых генов вызывает у мышей поражения, напоминающие воспалительные заболевания слизистой оболочки кишечника у человека, еще раз подтверждая тот факт, что она представляет собой ту ткань организма, которая с наибольшим постоянством испытывает антигенные воздействия. Доказательством противовоспалительной роли ТФРβ служит то, что у лишенных его мышей образуется множество очагов воспаления. Выраженная иммунологическая недостаточность у мышей, не экспрессирующих γ-цепь рецептора к ИЛ-2, свидетельствует, что эта цепь служит общей сигнальной субъединицей в составе ряда цитокиновых рецепторов.

Все эти факты следует интерпретировать с известной осторожностью. Так, нельзя правильно оценить роль конкретного цитокина в организме зрелой особи, если его отсутствие в период развития иммунной системы привело к иммунологической недостаточности. Однако представляется вполне вероятным, что каждый цитокин при всем многообразии своих функций имеет среди них одну или несколько специфических, в связи с которой он сохранился в процессе эволюции.

На мышах, лишенных соответствующих генов, можно также выяснить функциональное значение ферментов Jak и Stat (см. выше). Например, дефицитные по Stat-1 мыши чрезвычайно восприимчивы к вирусным инфекциям; у них нарушено образование ИФα и ИФγ, а также оксида азота NO в макрофагах, и противоинфекционной иммунный ответ развивается по Тх2-типу. Мыши, гомозиготные по делеции гена Jak-1, в отличие от Stat-дефицитных, погибают сразу после рождения. Они не способны питаться, у них нарушен ответ клеток на ИЛ-7 и не образуются лимфоциты всех популяций. Фенотипически это состояние напоминает тяжелый комбинированный иммунодефицит у мыши и человека.

Регуляция сетевых цитокиновых взаимодействий

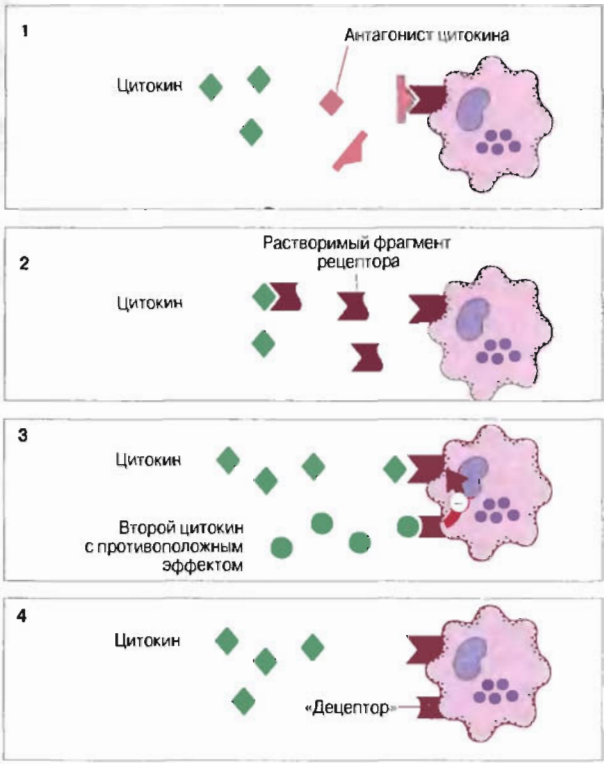


Рис. 10.28
Регуляция взаимодействий в цитокиновой сети.
1. Молекулы, гомологичные данному цитокину и способные связываться со специфическим клеточным рецептором, не вызывая передачи сигнала внутрь клетки, действуют как его конкурентные ингибиторы. Уже клонирован ген такого ингибитора – антагониста ИЛ-1. Ингибиторами могут быть и гликозилированные варианты некоторых цитокинов.
2. Внеклеточные домены рецепторов для ФНО и ИЛ-1 могут отщепляться и связываться с соответствующими цитокинами вне клеток, предотвращая тем самым их связывание с рецепторами на клеточных мембранах.
3. Одни цитокины, взаимодействуя со своими рецепторами, могут оказывать на клетку действие, противоположное эффектам других цитокинов, также взаимодействующих со своими специфическими рецепторами (см. *рис. 10.7*).
4. Некоторые клетки экспрессируют молекулы-децепторы, которые связывают цитокины, но без эффекта клеточной активации.

Регуляция сетевых цитокиновых взаимодействий in vivo имеет ряд особенностей (*рис. 10.28*).

- Образование индивидуальных цитокинов происходит кратковременно и находится под жестким контролем.
- Разные цитокины действуют как синергисты или антагонисты.
- Каждый из цитокинов может индуцировать или ингибировать продукцию других цитокинов.
- Каждый из цитокинов способен регулировать экспрессию клеточных рецепторов для самого себя и для других цитокинов.
- Антагонисты цитокинов связываются со специфическими клеточными рецепторами, но не вызывают передачу внутриклеточного сигнала.
- «Децепторы» специфически связывают лиганд, но не передают сигнал внутрь клетки.
- Благодаря ферментативному отщеплению внеклеточные домены цитокиновых рецепторов могут покидать поверхность клетки и связываться со свободными молекулами многих цитокинов (*рис. 10.29*); их можно обнаружить в сыворотке и моче.

Интенсивность синтеза цитокинов до и после его стимуляции может быть также запрограммирована на генетическом уровне. Например, носители

Растворимые рецепторы для цитокинов

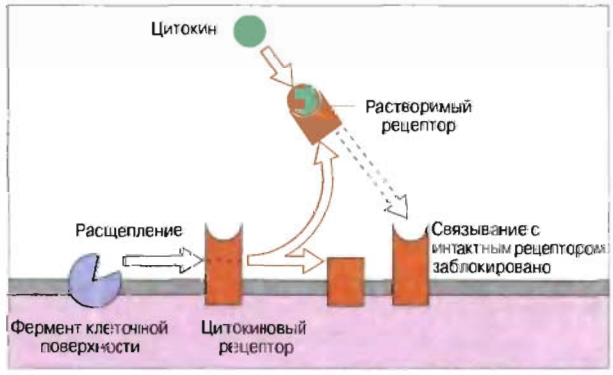


Рис. 10.29
Растворимый рецептор, связывающийся с цитокином, – это отщепленный ферментом внеклеточный домен мембранного рецептора, например для ФНО (ФНОР-1 [p55]), ИФγ, ИЛ-6 или ИЛ-2. Растворимые рецепторы для ФНО (и, возможно, для других цитокинов) сохраняют высокую аффинность в отношении своих лигандов и благодаря этому способны нейтрализовывать ФНО, препятствуя его доступу к интактным мембранным рецепторам. Если же ФНО свяжется с одним из неспецифических растворимых рецепторов (например, с фрагментом ИЛ-6Р), возникший комплекс может затем связаться с каким-то другим мембранным рецептором и все же вызвать сигнальный эффект.

определенных аллелей генов ФНОα и ИЛ-1β часто страдают некоторыми хроническими воспалительными заболеваниями, что, возможно, обусловлено наследственными особенностями продукции цитокинов.

Сетевыми взаимодействиями цитокинов обусловлено множество физиологических эффектов

В путях эволюции и функционировании иммунной и нервной систем можно найти много общего. Например, обе эти системы за счет межклеточной коммуникации обладают способностью к обучению и хранению памяти; кроме того, среди их компонентов много общих медиаторов, рецепторов и антигенов. Для функционирования обеих систем требуется внутренняя коммуникационная сеть, а также сеть, которая обеспечивает регуляцию и взаимодействие с другими органами. Посылая сигналы на периферию, центральная нервная система непосредственно «телеграфирует» по нервным стволам и волокнам почти во все органы и ткани, а также использует ось гипоталамус–гипофиз–надпочечники. В противоположность этому иммунная система, состоящая главным образом из подвижных, свободных клеток, осуществляет внутрисистемные связи на основе взаимодействия этих клеток между собой. В то же время с другими органами и тканями она связана прежде всего посредством цитокинов, но следует подчеркнуть, что эти ее регуляторные воздействия всегда локальны, а не системны. Интеграция иммунной системы с нервной и эндокринной увеличивает ее влияние на организм (см. гл. 13). Например, такие цитокины, как ИЛ-1, ФНОα и ИЛ-6, непосредственно воздействуют на гипоталамус или гипофиз. Наряду с этим различные клетки иммунной системы экспрессируют рецепторы для нейромедиаторов, опиатов и нейропептидов.

Функциональные свойства биохимически охарактеризованных цитокинов приведены в приложении 3. Не следует, однако, забывать, что в тех случаях, когда функциональная активность цитокинов выявлена только в экспериментах in vitro, она необязательно осуществляется в физиологических условиях in vivo.

Вопросы для размышления

- Каким образом от первичного распознавания возбудителя зависит тип эффекторного механизма в реализуемом позже иммунном ответе ?
- Как эпитопы, презентированные молекулами MHC класса I, которые экспрессированы на поверхности почти всех содержащих ядро клеток, распознаются большинством цитотоксических Т-клеток ?
- Каким образом цитотоксические Т-клетки $CD8^+$ и НК-клетки функционально дополняют друг друга?
- Может ли дисбаланс соотношения Тх1/Тх2 вызывать в тканях опосредованное клетками хроническое повреждение иммунопатологического характера ?
- Применяемый на мышах метод генного нокаута – избирательного разрушения генов определенных цитокинов – полезен для расшифровки цитокиновой сети и выявления молекул, участвующих во внутриклеточной сигнализации. Каковы его недостатки ?
- Индукция цитокинами каскадной внутриклеточной передачи сигнала возможна, по-видимому, в результате как их специфического, так и плейотропного действия. Может ли при этом каждый из цитокинов проявить свою собственную уникальную функцию или для этого дополнительно требуется экспрессия специфичного к нему клеточного рецептора ?
- Цитокины относятся по меньшей мере к трем крупным молекулярным семействам: представители первого специфически связываются с молекулами суперсемейства ФНО-рецепторов, второе семейство – это альфа-интерфероны, третье – хемокины. Возможно ли, что существование столь крупных семейств цитокинов – это просто результат эволюции без отбора, или их многочисленность имеет функциональное значение?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Akira S., Taga T., Kishimoto T. 1993. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv. Immunol.* **54**: 1–78.

Barinaga M. Life-death balance within the cell. 1996. *Science* **274**: 724.

Bazan J.F. 1990. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 6934–6938.

Bretscher P.A., Wei G., Menon J.N. et al. 1992. Establishment of stable, cell-mediated immunity that makes «susceptible» mice resistant to Leishmania major. *Science* **257**: 539–542.

Carter L.L., Dutton R.W. 1996. Type 1 and type 2 a fundamental dichotomy for all T cell subsets. *Curr. Opin. Immunol.* **8**: 336–342.

Cerami A., Beutler B. 1988. The role of cachectin/TNF in endotoxin shock and cachexia. *Immunol. Today* **9**: 28–31.

Cohen M.C., Cohen S. 1996. Cytokine function. A study in biologic diversity. *Am. J. Clin. Pathol.* **105**: 589–598.

Cooper A.M., Dalton D.K., Stewart T.A. et al. 1993. Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene-disrupted mice. *J. Exp. Med.* **178**: 2243–2247.

Grzych J.M., Pearce E., Cheever A. et al. 1991. Egg deposition is the stimulus for production of Th2 cytokines in murine schistosomiasis mansoni. *J. Immunol.* **146**: 1322–1340.

Horuk R. 1994. The interleukin-8-receptor family: from chemokines to malaria. *Immunol. Today* **15**: 169–174.

Ihle J.N. 1995. Cytokine receptor signalling. *Nature* **377**: 591–594.

Kagi D., Ledermann B., Burki K. et al. 1994. Cytotoxicity mediated by T cells and natural killer cells is greatly impaired in perforin-deficient mice. *Nature* **369**: 31–37.

Kaufmann S.H. 1993. Immunity to intercellular bacteria. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 129–163.

Kishimoto T., Taga T., Akira S. 1994. Cytokine signal trancduction. *Cell* **76**: 253–262.

Lanier L.L., Phillips J.H. 1996. Inhibitory MHC class I receptors on NK cells and T cells. *Immunol. Today* **17**: 86–91.

Lukacs N.W., Boros D.L. 1993. Cytokine regulation of granuloma formation in murine schistosomiasis mansoni. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **68**: 57–63.

Male D.K. 1996. Cytotoxic cells. *In:* Male D.K., Cooke A., Owen M. et al. (eds). *Advanced Immunology*, 3rd edn, Ch 15: London: Mosby. **15**: 1–13.

Minami Y., Kono T., Miyazaki T. et al. 1993. The IL-2 receptor complex: its structure, function, and target genes. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 245–268.

Mosmann T.R., Coffman R.L. 1989. Different patterns of cytokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* **7**: 145–173.

Mosmann T.R., Sad S. 1996. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol. Today* **17**: 137–146.

Nathan C.F., Murray H.W., Wiebe M.E. et al. 1983. Identification of interferon-γ as the cytokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J. Exp. Med.* **158**: 670–689.

Romagani S. 1995. Biology of human Th1 and Th2 cells. *J. Clin. Immunol.* **15**: 121–129.

Rook G.A.W., Hernandez-Pando R., Lightman S. 1994. Hormones, peripherally activated prohormones, and regulation of the Th1/Th2 balance. *Immunol. Today* **15**: 301–303.

Seder R.A., Paul W.E. 1994. Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+T cells. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 635–673.

Smith H.R., Karlhofer F.M., Yokoyama W.M. 1994. Ly-49 multigene family expressed by IL-2-activated NK cells. *J. Immunol.* **153**: 1068–1079.

Trinchieri G. 1993. Interleukin-12 and its role in the generation of Th1 cells. *Immunol. Today* **14**: 335–338.

Vassalli P. 1992. The pathophysiology of tumour necrosis factor. *Annu. Rev. Immunol.* **10**: 411–452.

Wells J.A., de Vos A.M. 1996. Hematopoietic receptor complexes. *Annu. Rev. Biochem.* **65**: 609–634.

11 Взаимодействие клеток при гуморальном иммунном ответе

- **Иммуноактивация, необходимая для синтеза антител,** включает взаимодействие между Т-клетками и АПК и затем между этими примированными Т-клетками и В-клетками.
- **Активация клеток осуществляется путем антигенспецифичного взаимодействия** с участием молекул клеточной адгезии и цитокинов. Наиболее сильным костимулирующим сигналом служит молекула B7 (CD80 или CD86). В отсутствие соответствующей костимуляции распознавание антигена может привести к развитию клональной анергии.
- **Пролиферация лимфоцитов происходит опосредованно,** т. е. зависит от индукции рецепторов для факторов роста лимфоцитов, которую вызывает активация. Факторы роста лимфоцитов (например ИЛ-2) синтезируются главным образом Т-клетками.
- **Существуют два типа антигенов, вызывающих гуморальный иммунный ответ** – Т-зависимые и Т-независимые. Т-зависимые антигены индуцируют вторичный иммунный ответ, характеризующийся образованием IgG и повышением аффинности антител.
- **Для первичного иммунного ответа на Т-зависимые антигены** характерно образование низкоаффинных IgM-антител. При вторичном иммунном ответе продуцируется большее количество антител и происходит переключение изотипов с образованием IgG, IgA и IgE. Одновременно с этим возрастает аффинность антител.
- **Переключение изотипа и повышение (созревание)** аффинности антител происходят в центрах размножения внутри вторичных лимфоидных тканей.

Гуморальный иммунный ответ (образование антител) представляет собой кульминацию ряда клеточных и молекулярных взаимодействий, происходящих в определенной последовательности:

- Т-клетки распознают антиген, представленный им антигенпрезентирующими клетками (АПК), и в результате переходят в активированное состояние;
- Тх-клетки взаимодействуют с В-клетками, которые презентируют им антигенные фрагменты;
- активированные В-лимфоциты пролиферируют и дифференцируются в антителообразующие клетки;
- начинается синтез антител и от их класса зависит характер последующего иммунного ответа.

В настоящей главе рассмотрены процессы презентации антигенов и взаимодействия Т- и В-клеток, некоторые наиболее важные из участвующих в этом молекул, а также вызванные этими взаимодействиями события, в том числе переключение класса иммуноглобулинов, повышение (созревание) аффинности антител и развитие иммунологической памяти.

ПРЕЗЕНТАЦИЯ АНТИГЕНА Т-КЛЕТКАМ

Процессинг антигена

В пионерских исследованиях Эйде и Носсела было установлено, что лишь очень небольшая доля молекул (<1%) введенного антигена принимает участие в индукции иммунного ответа, а основное его количество быстро разрушается и выводится из организма. Эти данные позволяют предполагать, что презентация антигена является этапом, лимитирующим скорость иммунной реакции.

Проникшие в организм антигены подвергаются внутриклеточному процессингу – расщеплению на пептидные фрагменты, которые затем связываются с молекулами МНС класса I или II (см. гл. 9). Эти фрагменты определяют антигенспецифичную активацию Т-клеток: рецепторы Т-клеток распознают аминокислотные последовательности этих фрагментов, связываемых в полости молекул МНС (в отличие от этого антитела распознают конформационные детерминанты).

Взаимодействие с антигенпрезентирующими клетками крайне важно для активации Т-лимфоцитов

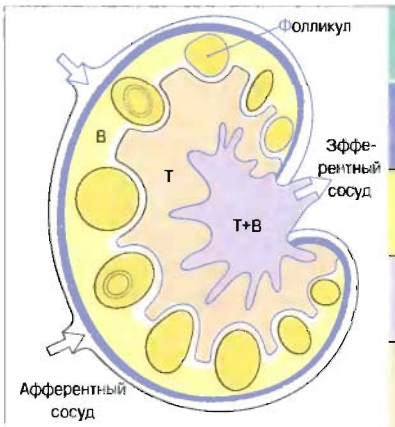
Взаимодействие между Т-лимфоцитами и клетками, составляющими гетерогенную группу так называемых «антигенпрезентирующих клеток», – это наиболее детально изученный пример клеточной кооперации в иммунной системе. Взаимодействие Т-клеток и АПК после введения антигена открывает всю последовательность дальнейших событий и в основном определяет их конечный результат: если активируется достаточное число хелперных Т-клеток (Тх) $CD4^+$, то почти всегда происходит активация В-клеток или развитие реакций клеточного иммунитета; если же стимуляция Тх-клеток отсутствует, может возникнуть та или иная форма иммунологической толерантности (см. гл. 14), при которой дальнейшие иммунные реакции не развиваются.

Существуют различные типы АПК

Презентировать антигены могут самые разнообразные клетки, в зависимости от того, как и где происходит первичное взаимодействие антигена с иммунной системой (*рис. 11.1*). Наиболее эффективно начальную активацию покоящихся Т-клеток $CD4^+$ обеспечивают интердигитатные дендритные клетки (ИДК), присутствующие в изобилии в Т-клеточных зонах лимфатических узлов и селезенки. Для ИДК характерен высокий уровень экспрессии МНС-антигенов класса II, которые взаимодействуют с Т-клеточным рецептором (ТкР) и молекулой CD4 на поверхности Тх $CD4^+$. Однако макрофаги и В-клетки также могут экспрессировать МНС-антигены класса II, поэтому объяснить бóльшую эффективность ИДК в презентации антигенов только этим свойством невозможно.

Как предполагается, интердигитатные клетки – это главный тип антигенпрезентирующих кле-

Локализация связанных АПК антигенов в лимфатических узлах



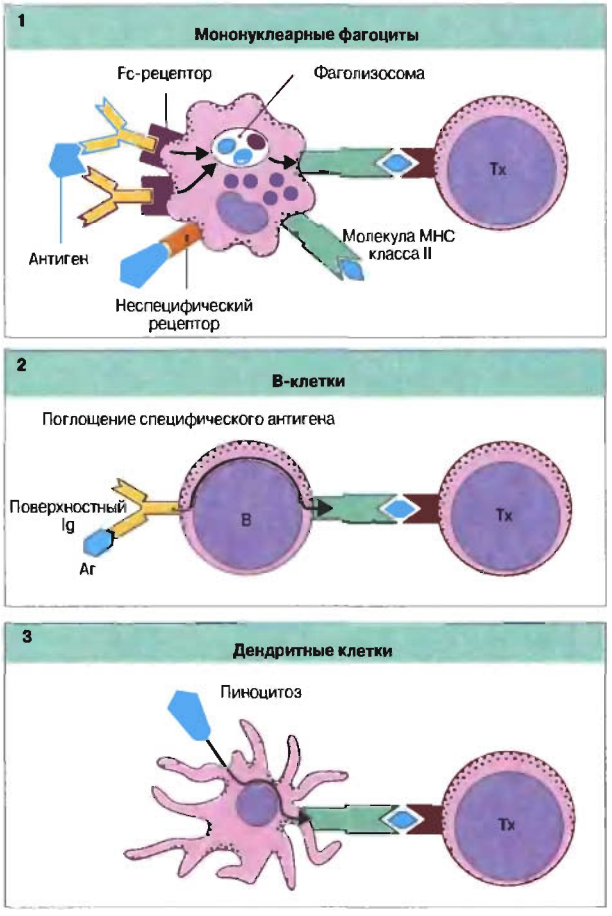
Область	Антигенпрезентирующие клетки	Антиген	Персистенция антигена
Подкапсульный (краевой) синус	Макрофаги краевой зоны	Полисахариды, например фиколл (Т-независимый антиген)	++++
Фолликулы и В-клеточные области	Фолликулярные дендритные клетки	Иммунные комплексы, фиксирующие комплемент	+++
Мозговая область	Классичвские макрофаги	Большинство антигенов	+
Т-клеточные области	Интердигитатные дендритные клетки	Большинство антигенов	++

Рис. 11.1
Схема строения лимфатического узла. Показаны афферентный (приносящий) и эфферентный (выносящий) лимфатические сосуды, наружная кортикальная В-клеточная область и паракортикальная Т-клеточная область. В этих областях преобладают различные антигенпрезентирующие клетки (хотя граница не является абсолютной), избирательно захватывающие антигены разных типов, которые персистируют на клеточной поверхности в течение того или иного периода. Так, многие полисахаридные антигены захватываются преимущественно макрофагами краевой зоны; эти антигены могут присутствовать на макрофагах месяцы и годы. В отличие от этого антигены на рециркулирующих макрофагах мозгового слоя сохраняются лишь несколько дней или недель. Следует отметить, что рециркулирующие клетки Лангерганса, первичным источником которых служит кожа, в лимфатических узлах изменяют свою морфологию, становясь интердигитатными дендритными клетками. Как и фолликулярные дендритные клетки, они имеют длинные отростки, тесно контактирующие с лимфоцитами.

ток, действующих при первичном иммунном ответе, поскольку они индуцируют пролиферацию Т-клеток эффективнее АПК всех других типов. Именно клеточная пролиферация служит ключевым этапом в развитии иммунного ответа, обеспечивая увеличение числа антигенспецифичных Т-клеток, однако это лишь одна сторона эффективной активации Т-лимфоцитов. Способностью индуцировать и пролиферацию, и хелперную функцию Т-клеток обладают также моноциты крови (наиболее изученные АПК у человека).

В качестве АПК могут действовать и В-клетки – они способны связывать, интернализовать и расщеплять специфический антиген на пептиды, которые образуют комплекс с молекулами MHC класса II. При очень низкой концентрации антигена В-клетки с высокоаффинными антигенными рецепторами (IgM или IgD) служат наиболее эффективными АПК, поскольку другие типы АПК просто не могут захватить достаточное для презентации количество антигенного материала. При вторичном иммунном ответе (протекающем с участием большого числа антигенспецифичных В-клеток) В-клетки могут стать главным типом АПК. Свойства и функции АПК представлены на *рис. 11.2* и *11.3*.

Презентация (представление) антигена



Презентацию антигена Т-клеткам обеспечивает взаимодействие множества молекул клеточной поверхности

Т-клеточный рецептор (ТкР) – димер, состоящий из α-цепи и β-цепи, – распознает специфический пептид, находящийся в пептидсвязывающей полости молекулы MHC. Это связывание является определяющим для иммунологической специфичности, так как пептид, ассоциированный с MHC-молекулой определенного гаплотипа, образует уникальную структуру, распознаваемую ТкР. Однако в презентации участвуют и другие молекулы. Доказательство этого получено в экспериментах с трансфекцией комплементарной ДНК (кДНК), кодирующей молекулы MHC человека, в мышиные фибробласты. Клетки мыши, экспрессируя молекулы MHC человека, приобретали способность функционировать как АПК человека, но менее эффективно по сравнению с клетками, которые экспрессировали также и другие связанные с презентацией молекулы. Одной из таких молекул служит молекула 1 межклеточной адгезии (ICAM-1, от англ. intercellular adhesion molecule-1), взаимодействующая с функциональным антигеном 1 лимфоцитов (LFA-1, от англ. lymphocyte functional antigen-1), имеющимся у всех клеток иммунной системы.

Рис. 11.2
Мононуклеарные фагоциты (**1**), В-клетки (**2**) и дендритные клетки (**3**) могут презентировать антиген хелперным Т-клеткам (Тх), рестриктированным по антигенам MHC класса II. Макрофаги поглощают антиген с помощью неспецифических рецепторов или в виде иммунных комплексов и процессируют его, после чего образующиеся антигенные фрагменты возвращаются на поверхность клетки в ассоциации с молекулами класса II. Активированные В-клетки могут захватывать антиген посредством своих поверхностных иммуноглобулинов, затем поглощать его и презентировать в комплексе с молекулами класса II. Дендритные клетки конститутивно экспрессируют молекулы класса II и поглощают антиген путем пиноцитоза.

Антигенпрезентирующие клетки

	Фагоцитоз	Тип клеток	Локализация	Экспрессия молекул MHC класса II
Фагоциты (моноциты/макрофаги)	+	Моноциты	Кровь	(-) → + + + Индуцибельная
		Макрофаги	Ткань	
		Макрофаги краевой зоны	Селезенка и лимфатические узлы	
		Клетки Купфера	Печень	
		Клетки микроглии	Головной мозг	
Нефагоцитарные конститутивные АПК	–	Клетки Лангерганса	Кожа	+ + Конститутивная
		Интердигитатные дендритные клетки (ИДК)	Лимфоидная ткань	
		Фолликулярные дендритные клетки	Лимфоидная ткань	–
Лимфоциты	–	В-клетки и Т-клетки	Лимфоидные ткани и участки иммунной реакции	– → + + Индуцибельная
Факультативные АПК	+	Астроциты	Головной мозг	Индуцибельная
	–	Фолликулярные клетки	Щитовидная железа	Индуцибельная
		Эндотелий	Сосуды и лимфоидная ткань	– → + + Индуцибельная
		Фибробласты	Соединительная ткань	
		Другие типы АПК в соответствующих тканях		

Рис. 11.3
Многие АПК не способны фагоцитировать антиген, однако могут поглощать его другими способами, например путем пиноцитоза. Эндотелиальные клетки, которые обычно не рассматриваются как АПК, под действием ИФγ экспрессируют молекулы класса II и могут презентировать антигены, как и некоторые эпителиальные клетки. Другим подобным примером служат фолликулярные клетки щитовидной железы, функционирующие как АПК в аутоиммунном процессе при болезни Грейвса.

Если в мышиные клетки трансфицировать гены как MHC, так и ICAM-1 человека, способность этих клеток действовать в качестве АПК человека возрастает. Обнаружены и другие эффективные костимулирующие молекулы, взаимодействующие с лигандами на поверхности Т-клеток (*рис. 11.4*).

Наиболее эффективные костимулирующие молекулы из числа известных – это B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86). Они конститутивно экспрессируются ИДК, но возможна также стимуляция их экспрессии на моноцитах, В-клетках и, вероятно, других АПК. Обе молекулы служат лигандами для антигена CD28 и его гомолога CTLA-4, экспрессию которого вызывает Т-клеточная активация. Стимулирующий эффект CD28 состоит в продлении и усилении продукции ИЛ-2 и других цитокинов; эта стимуляция, по-видимому, имеет также существенное значение для предотвращения индукции толерантности. Несмотря на то что взаимодействие CD28–B7 крайне важно, нокаутные (см. гл. 10) мыши, лишенные гена CD28, все же реагируют на антиген, хотя для этого требуется большее его количество. Следовательно, стимуляция CD28 не обязательна для активации даже непримированных Т-клеток. Возможно, у лишенных CD28 мышей роль CD28/B7 в качестве костимулирующего сигнала выполняют другие сигнальные молекулы.

Альтернативным лигандом для B7 служит CTLA-4 – ингибирующий рецептор, который ограничивает Т-клеточную активацию. Таким образом, вначале молекула CD28, экспрессируемая конститутивно, взаимодействует с B7, что ведет к активации Т-клеток, однако вызванная активацией экспрессия молекулы CTLA-4, обладающей более высокой аффинностью, лимитирует степень активации, так как имеющийся антиген B7 взаимодействует теперь с CTLA-4 (*рис. 11.5*). О значении этой молекулы свидетельствует тот

Молекулы, наиболее важные для презентации антигена

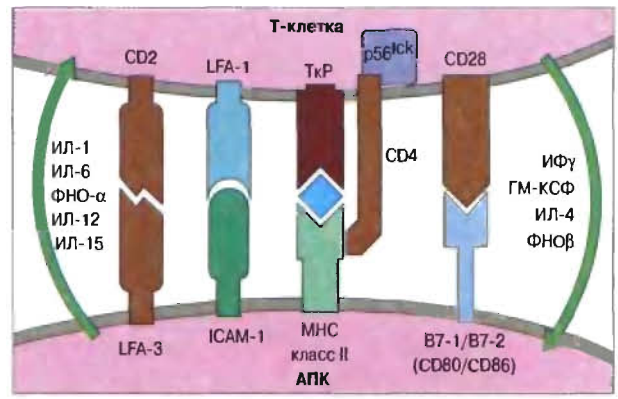


Рис. 11.4
Молекулы, принимающие участие во взаимодействии между Т-клетками и АПК. Показаны также различные цитокины и направленность их действия.

Роль CTLA-4 в регуляции Т-клеточной активации

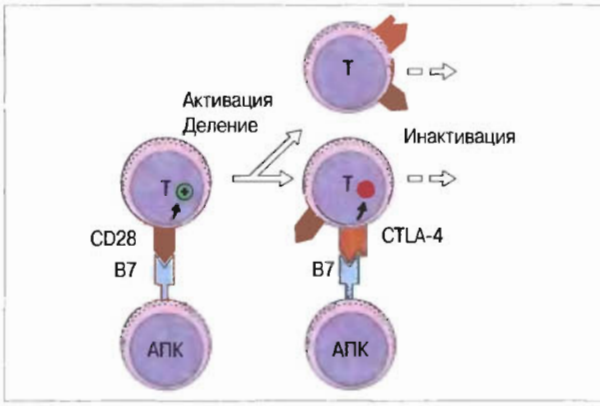


Рис. 11.5
Неактивированные Т-клетки экспрессируют молекулу CD28, которая связывается с B7-1 и B7-2 на антигенпрезентирующих клетках (например, В-лимфоцитах). После активации Т-клетки начинают экспрессировать альтернативный высокоаффинный лиганд для B7 – CTLA-4. Этот лиганд связывает B7, после чего Т-клетки уже не принимают сигнал активации.

факт, что у лишенных CTLA-4 мышей развивается агрессивное лимфопролиферативное расстройство, обусловленное отсутствием эффективной инактивации делящихся Т-клеток.

В активации Т-клеток наряду с ТкР участвует молекула CD2 Т-клеточной поверхности – рецептор функционального антигена 3 лимфоцитов (LFA-3), который несут многие клетки и все АПК. Присутствием LFA-3 на эритроцитах барана обусловлена реакция розеткообразования (Е-розетки), которую широко использовали для получения очищенной фракции Т-клеток до того, как в практику исследований были введены моноклональные антитела.

Сигнал, индуцируемый молекулами, подобными B7, которые усиливают сигнал от ТкР и индуцируют положительную активацию Т-клеток, получил наименование «второй сигнал». Без такого сигнала покоящиеся Т-клетки не могут реагировать оптимально и, если распознают специфический антиген в отсутствие второго сигнала, инактивируются: возникает состояние иммунологической толерантности. Эта толерантность специфична, поскольку выпадает функция только тех Тх-клеток, которые реагируют на данный антиген. Толерантность, не связанная с гибелью, известна как «клональная анергия».

Помимо молекул, экспрессированных на поверхности клеток, в Т-клеточной активации участвуют действующие локально цитокины. Особый интерес представляют ИЛ-1 и ИЛ-6 – цитокины, продуцируемые АПК, в том числе макрофагами. Стимуляция Т-клеток этими агентами не всегда бывает необходимой, как например в том случае, если Т-клетки уже делятся. Действуя на покоящиеся Т-лимфоциты, ИЛ-1 и ИЛ-6 индуцируют экспрессию рецепторов для фактора роста Т-клеток, ИЛ-2. Большое значение для Т-клеточной активации имеет также ИЛ-12, который способствует повышению продукции ИФγ, направляя тем самым развитие «необученных» Т-клеток по пути превращения их в Тх1-лимфоциты. Антигенпрезентирующие клетки продуцируют ИЛ-15, также способный индуцировать Т-клеточную пролиферацию и весьма важный в тот период, когда еще не начался синтез ИЛ-2.

Взаимодействие между Т-клетками $CD4^+$ и АПК изучено довольно подробно, тогда как сведений об аналогичном процессе с участием Т-лимфоцитов $CD8^+$ и АПК еще мало. Известно, что клетки $CD4^+$ функционируют как хелперные при активации Т-клеток $CD8^+$. Поскольку одна интердигитатная дендритная клетка может связываться со многими Т-лимфоцитами, было высказано предположение, что активация происходит в кластерах, образуемых клетками $CD4^+$ и $CD8^+$ на поверхности ИДК.

Презентация антигена влияет на последующее развитие иммунного ответа

Антигенпрезентирующие клетки могут быстро активироваться в самом начале иммунного ответа, например микробными продуктами или некоторыми вирусами, которые иммуногенны сами по себе, либо под влиянием адъювантного компонента вакцины. Осуществляемая ими презентация антигена не является однонаправленным процессом. Как только Т-клетки активируются, они выделяют цитокины, в частности ИФγ и ГМ-КСФ, которые наряду с сигнальными молекулами клеточной поверхности, такими как лиганд CD40, усиливают антигенпрезентирующую функцию. У активированных АПК повышается экспрессия молекул MHC классов I и II, Fc-рецепторов и костимулирующих молекул адгезии, включая B7-1, B7-2, CD11a/b/c, ICAM-1 и ICAM-3. Они продуцируют также многочислен-

ные цитокины (например ИЛ-1, ИЛ-6, ФНОα), ферменты и другие медиаторы.

Активация лимфоцитов ведет к возникновению двух частично конкурирующих процессов: клеточной пролиферации и дифференцировки в клетки-эффекторы. На конечной стадии дифференцировки клетки (например, плазматические) становятся настолько специализированными, что утрачивают поверхностные молекулы, например MHC класса II, и способность отвечать на регуляторные сигналы или пролиферировать.

Судьба лимфоцитов, реагирующих на антиген, может быть разной. Некоторые из них персистируют в течение длительного времени как клетки иммунологической памяти. Возможная продолжительность их жизни у человека превышает 40 лет, что было установлено по хромосомным аномалиям клеток крови (например, по наличию перекрестных сшивок ДНК, препятствующих митозу) у людей, переживших атомную бомбардировку Хиросимы. Срок жизни других лимфоцитов невелик, и этим объясняется тот факт, что умеренная антигенная стимуляция не приводит к гипертрофии лимфоидной ткани. Тем не менее такой срок жизни реагирующих на антиген лимфоцитов достаточен для развития эффективных клеточных и гуморальных иммунных ответов. Накапливается все больше данных о том, что элиминация клеток, уже не нужных после завершения иммунного ответа, происходит путем апоптоза.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В- и Т-КЛЕТОК

Т- и В-лимфоциты распознают разные участки молекулы антигена

Большой вклад в изучение различных функций Т- и В-клеток внесли исследования, проведенные в конце 1960 – начале 1970 гг. Митчисоном и другими исследователями с использованием химически модифицированных белков. Ими было установлено, что для индукции оптимального вторичного ответа с образованием антител против небольшой молекулы, или гаптена (он обладает иммуногенностью только в том случае, когда связан с белком-носителем), животное необходимо иммунизировать не гаптеном в свободной форме, а конъюгатом гаптен–носитель, и затем повторно ввести тот же конъюгат. Этот феномен был назван эффектом носителя. Исследуя различные клеточные популяции, авторы этих работ обнаружили, что за распознавание носителя ответственны Т-клетки, тогда как гаптен распознают В-лимфоциты (*рис. 11.6*). Дальнейшие эксперименты были направлены на подробное изучение того, каким образом В-клеточные антитела-

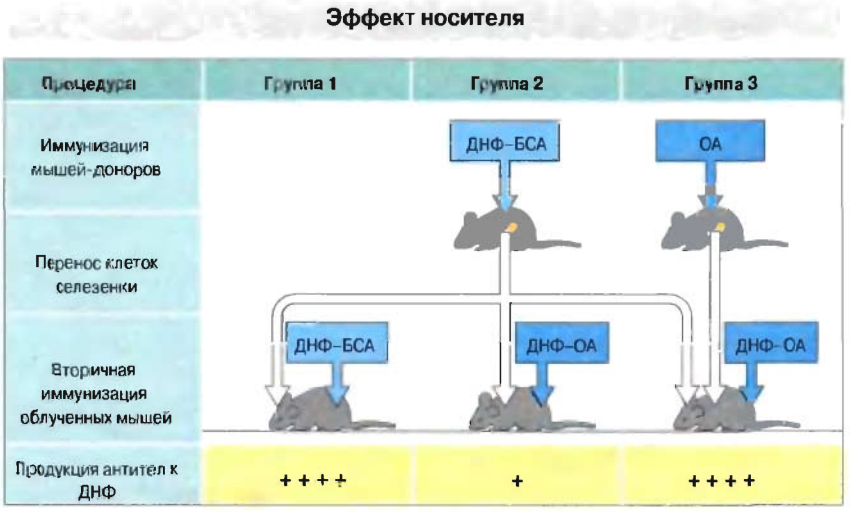


Рис. 11.6
Облученным рентгеновскими лучами мышам трех групп были введены примированные антигеном клетки селезенки и после этого различные антигены. **1.** В группе 1 (спленоциты, примированные ДНФ–БСА, + конъюгат ДНФ–БСА) мыши продуцировали большое количество антител к ДНФ. **2.** В группе 2 (спленоциты, примированные ДНФ–БСА, + ДНФ–ОА) образование антител к ДНФ было слабым (эффект носителя отсутствовал). **3.** В группе 3 (спленоциты, примированные ДНФ–БСА, + спленоциты, примированные ОА, + ДНФ–ОА) наблюдалась сильная реакция образования антител к ДНФ. Этот опыт показывает, что для продукции антител к гаптену нет необходимости в примировании носителем: достаточно использовать примированные носителем клетки селезенки. (ДНФ – динитрофенол; БСА – бычий сывороточный альбумин; ОА – овальбумин.)

рецепторы распознают эпитопы, а Т-клетки – фрагменты процессированного антигена.

Одним из принципиально важных выводов в этих исследованиях был следующий: индивидуальная В-клетка может получать «помощь» от Т-клеток, специфичных к различным антигенным пептидам, при условии что она способна презентировать их детерминанты каждой Т-клетке. В ходе иммунного ответа in vivo взаимодействие с В-лимфоцитами (вызывающее их пролиферацию и дифференцировку) осуществляют, как считается, Т-клетки, уже стимулированные в результате предшествующего контакта с антигеном, презентированным другими АПК (например, дендритными клетками). На этих данных основаны представления о клеточных взаимодействиях при антителообразовании (*рис. 11.7*). Согласно им, антиген, попавший в организм, процессируется клетками, которые презентируют его в высокоиммуногенной форме Тх-клеткам и В-клеткам. Детерминанты антигена, распознаваемые Т-лимфоцитами, отличаются от детерминант, распознаваемых В-клетками, которые делятся и дифференцируются в антителообразующие. Таким образом, для активации В-клетки необходимы два следующих процесса:

- взаимодействие «нативного» антигена с Ig-рецепторами В-клетки;
- стимуляция сигналом (или сигналами) от Тх-лимфоцитов, отвечающих на связанный с молекулами MHC процессированный антиген.

Взаимодействие В- и Т-клеток происходит с участием костимулирующих молекул

Путем выращивания и клонирования Т-клеток в присутствии антигена, АПК и ИЛ-2 можно получить популяцию антигенспецифичных Т-лимфоцитов. Это позволяет выявить in vitro непосредственно взаимодействующие молекулярные кластеры на поверхности Т- и В-клеток. В такой экспериментальной системе было установлено, что при взаимодействии происходит поляризация Т-клеток с концентрированием ТкР на стороне, обращенной к В-клеткам. В свою очередь В-клетки также поляризуются и экспрессируют бóльшую часть своих антигенов MHC класса II и ICAM-1 в непосредственной близости к Т-клеткам. Взаимодействие между этими кластерами, очевидно, предполагает интенсивный обмен информацией, следствием которого становятся два важных события в жизненном цикле В-клеток: индукция

Кооперация клеток при образовании антител

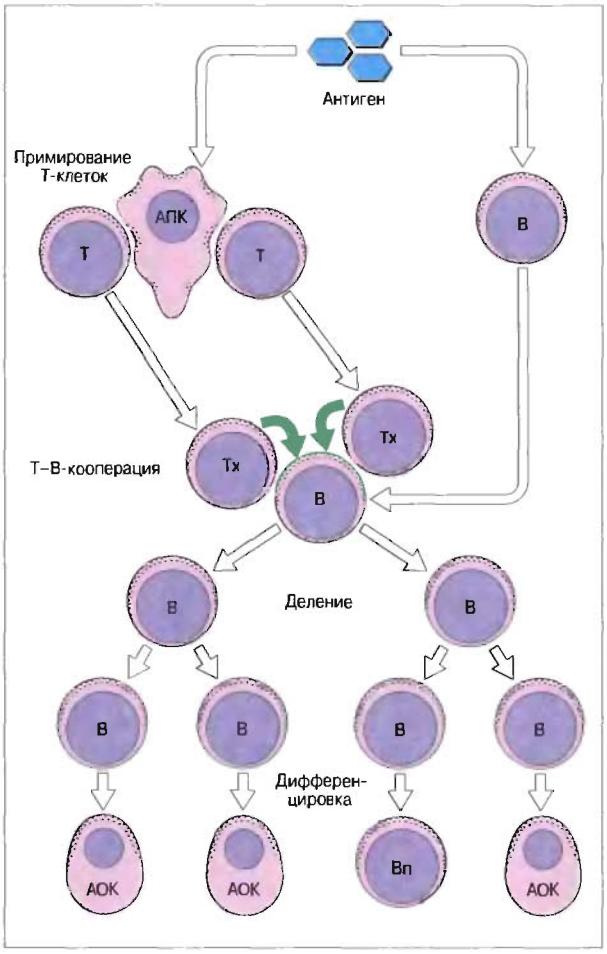


Рис. 11.7
АПК, например дендритные клетки, презентируют антиген непримированным Т-клеткам. В-лимфоциты также связывают антиген и презентируют его Т-клеткам, получая от них сигнал к делению и дифференцировке в антителообразующие клетки (АОК) и В-клетки иммунологической памяти (Вп).

пролиферации и дифференцировка в антителообразующие клетки.

Взаимодействие между Т- и В-клетками представляет собой двунаправленный процесс: В-клетки презентируют антиген Т-клеткам и в свою очередь получают от них сигналы к делению и дифференцировке. Центральное, специфическое взаимодействие происходит при этом между комплексом молекула MHC класса II–антиген и Т-клеточным рецептором; оно усиливается за счет связывания LFA-3 с CD2, а также

ICAM-1 или ICAM-3 с LFA-1 (*рис. 11.8*). В процессе участвуют и другие молекулы клеточной поверхности: B7-1 и B7-2 на В-клетках взаимодействуют с CD28, что ведет к стабилизации мРНК для ИЛ-2 и других цитокинов в Т-клетках и в результате к продлению периода, в течение которого Т-клетка генерирует сигналы активации.

Молекулы клеточной поверхности, участвующие во взаимодействии В- и Тх-клеток

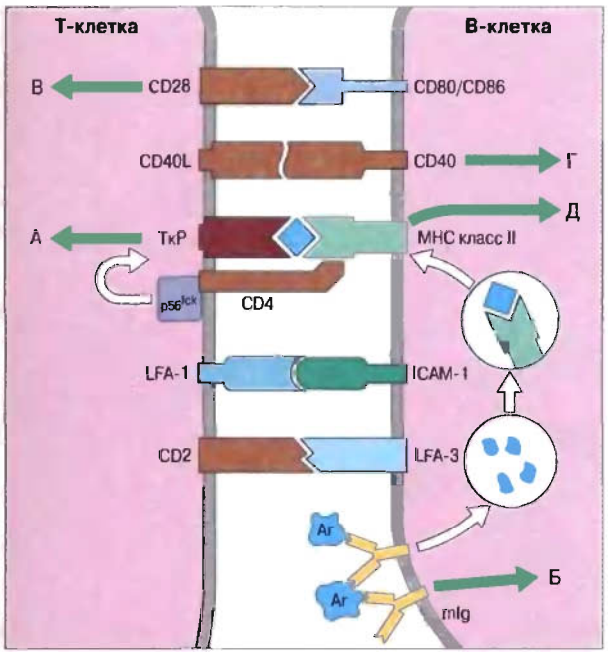


Рис. 11.8
Мембраносвязанный иммуноглобулин (mIg) взаимодействует с антигеном (Аг) и переводит его во внутриклеточный компартмент, где антиген подвергается деградации и образующиеся пептиды могут образовать комплекс с молекулами MHC класса II. Другие стрелки показывают установленные отдельные пути передачи сигнала. А и Б – передача сигналов, возникающих при взаимодействии антигена с рецепторами; она включает фосфорилирование тирозина и расщепление фосфоинозитида. Антигенные рецепторы регулируют также аффинность LFA-1 к ICAM-1, возможно посредством передачи сигнала. Т-клеточная молекула CD28 передает Т-клетке особый сигнал (В). Наиболее сильный активирующий сигнал для В-клеток возникает при стимуляции CD40 (Г). Кроме того, молекулы MHC класса II, по-видимому, индуцируют отдельные сигнальные процессы (Д). На рисунке не показан межклеточный обмен растворимыми цитокинами и их связывание соответствующими рецепторами клеток. (С разрешения по A. DeFranco, 1991. *Nature* **351**: 603–5.)

К настоящему времени установлено, что наиболее мощный сигнал для активации В-клеток обеспечивает молекула CD40; этот сигнал даже более эффективен, чем опосредуемые поверхностными иммуноглобулинами. В процессе этой активации Т-клетки временно экспрессируют взаимодействующий с CD40 лиганд – CD40L. Белок CD40 принадлежит к семейству рецепторов ФНО, а CD40L является отдаленно родственным представителем этого семейства. Их взаимодействие способствует вступлению В-лимфоцитов в клеточный цикл. Данный сигнал (связывание CD40 с CD40L) имеет важное значение для формирования центров размножения и развития гуморального иммунного ответа на Т-зависимые антигены. Подтверждением этого служит развитие иммунодефицитного заболевания – синдрома гиперпродукции IgM – в результате мутации гена CD40L. Данное расстройство характеризуется тем, что Т-клетки не оказывают «помощи» В-лимфоцитам и в результате образуются только низкоаффинные антитела IgM и отсутствует переключение синтеза иммуноглобулинов на продукцию высокоаффинных IgG или IgA.

При взаимодействии Т- и В-клеток высвобождение Т-клеточных цитокинов (например, ИЛ-4) поляризовано в направлении В-клеток. Синтезируемые некоторыми В-лимфоцитами ИЛ-1 и ИЛ-6 повышают экспрессию ИЛ-2 Т-клетками. Поскольку, однако, лишь некоторые В-клетки секретируют эти цитокины, большинство В-клеток способно, по-видимому, активировать только ранее примированные Т-лимфоциты или Т-клетки памяти.

Не так давно было установлено, что Т-клетки $CD4^+$ у мыши и человека можно разделить на две субпопуляции в зависимости от профиля продуцируемых ими цитокинов (см. гл. 10).

- Т-лимфоциты $CD4^+$, образующие ИЛ-2 и ИФγ, но не ИЛ-4 (они обозначены Тх1), ответственны главным образом за реакции гиперчувствительности замедленного типа, однако у мыши они могут также «помогать» В-клеткам продуцировать IgG2α и в значительно меньшей степени IgG1 или IgE.
- Т-клетки $CD4^+$, образующие ИЛ-4 и ИЛ-5, но не ИЛ-2 или ИФγ, отнесены к другой субпопуляции, Тх2. У мыши эти клетки служат весьма эффективными хелперами в продукции антител, в основном IgG1 и IgE.
- Многие Т-клетки, главным образом у человека, занимают промежуточное положение по

типу образуемых ими цитокинов и названы «Тх0»-клетками. Однако доказано и присутствие у человека классических Тх1- и Тх2-клеток, наиболее характерное для патологически измененных тканей.

Секреция и действие Т-клеточных цитокинов важны для активации В-клеток

При взаимодействии Т- и В-клеток Т-лимфоциты могут секретировать ряд цитокинов, оказывающих сильное действие на В-клетки. Такими цитокинами служат ИЛ-2 (индуктор пролиферации Т- и В-клеток), ИЛ-4 (действует на ранней стадии активации и пролиферации В-клеток), ИЛ-5 (мощный активатор В-клеток у мыши, но не у человека) и ИЛ-6 (эффективный стимулятор В-клеточной дифференцировки) (*рис. 11.9*). Кроме того, Т-клетки синтезируют ФНОα и β. Имеются сообщения о том, что эти молекулы важны для роста В-клеток. Активацию В-лимфоцитов вызывают и другие цитокины, в частности ИЛ-11 и ИЛ-13, по характеру действия сходный с ИЛ-4. Более подробно роль цитокинов в активации Т- и В-клеток рассмотрена ниже.

Результатом взаимодействия Т- и В-лимфоцитов может быть либо активация, либо инактивация (анергия)

Приведенные выше данные о взаимодействии Т- и В-клеток указывают на то, что единственно возможный его результат – активация В-лимфоцитов. Однако в действительности это не так. Как было отмечено выше, кооперация АПК с Т-клетками способна давать диаметрально противоположные результаты, а именно вызывать либо активацию, либо инактивацию (клональную анергию) клеток. То же самое имеет место и в случае В-лимфоцитов, которые часто переходят в состояние анергии. Этот процесс очень важен в связи с тем, что созревание аффинности антител в ходе иммунного ответа – результат гипермутирования генов, кодирующих вариабельные области антител, – может легко приводить к образованию высокоаффинных аутоантител. Клональная анергия и другие формы периферической толерантности необходимы для того, чтобы такие потенциально опасные клоны «молчали». Однако на молекулярном уровне этот процесс еще мало изучен. Кроме того, остается неизвестным значение IgM и IgD, двух поверхностных антигенспецифичных рецепторов В-клеток, в процессах активации и инактивации. По-видимому, в обоих случаях IgM- и IgD-рецепторы способны передавать соответствующие сигналы.

Стадии активации и развития В-клеток

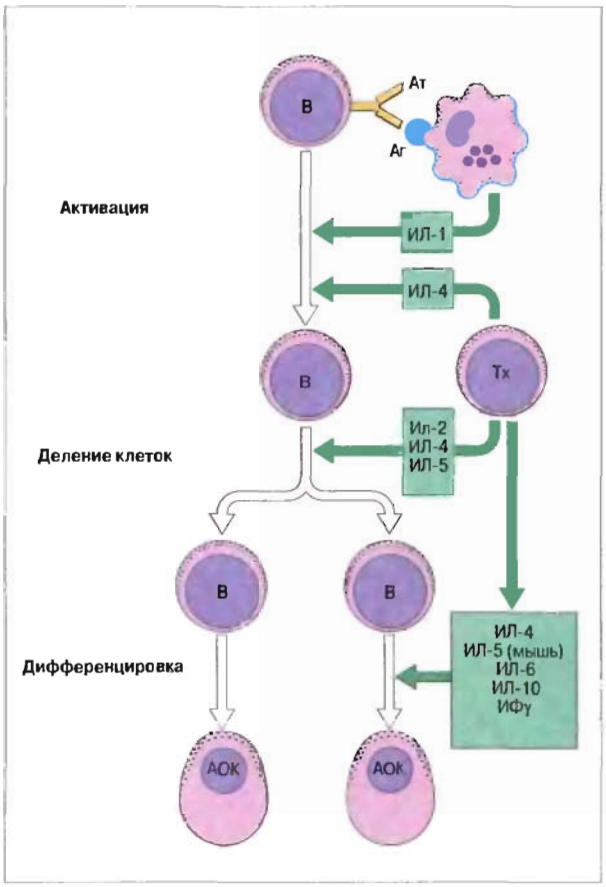


Рис. 11.9
В-клетки активируются антигеном (Аг), представленным на антигенпрезентирующих клетках (АПК), например макрофагах, в присутствии ИЛ-4 и ИЛ-1. Это индуцирует экспрессию рецепторов для ИЛ-2 и других цитокинов. ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-5 (у мыши) вызывают деление клеток. На рисунке показан только один цикл клеточного деления, хотя обычно клетки делятся многократно. На дифференцировку лимфоцитов в антителообразующие клетки (АОК) влияют ИЛ-4, ИЛ-5 (у мыши), ИЛ-6, ИЛ-10 и ИФγ. (Ат – антитело.)

Для стимуляции В-клеток Т-независимыми антигенами не требуется помощи Т-клеток

В иммунном ответе на большинство антигенов участвуют и Т-, и В-клетки, распознающие антиген сопряженно. Такие антигены называют Т-зависимыми. Однако некоторые антигены способны активировать В-клетки без помощи Т-клеток – это Т-независимые антигены. Для этих антигенов характерен ряд общих свойств (*рис. 11.10*). Так, все они представляют собой крупные полимерные молекулы с повторяющимися антигенными детерминантами. Многие из Т-независимых антигенов в высоких концентрациях обладают способностью активировать клоны В-клеток, специфичных к другим антигенам (феномен поликлональной В-клеточной активации). Однако в низких дозах они активируют только В-клетки соответствующей специфичности. Нередко Т-независимые антигены обнаруживают повышенную устойчивость к деградации. Это относится в основном к микробным антигенам, например бактериальным углеводам, таким как декстран и леван, а также к белкам бактерий, например флагеллину и эндотоксину.

Первичный гуморальный ответ на Т-независимые антигены обычно немного слабее, чем на Т-зависимые, и достигает пика несколько раньше. В обоих случаях продуцируются главным образом антитела IgM. Однако вторичные иммунные ответы на антигены этих двух типов резко различаются. При повторном введении Т-независимого антигена ответ напоминает первичный, тогда как вторичная реакция на Т-зависимые антигены гораздо сильнее первичной и большую часть образующихся антител составляет IgG (*рис. 11.11*). Таким образом, Т-независимые антигены, по-видимому, не индуцируют, как правило, изменений, которые могли бы привести к созреванию ответа, характерному для случая Т-зависимых антигенов, которые вызывают переключение изотипа на продукцию IgG и повышение аффинности антител. Причиной этих различий между типами антигенов может быть отсутствие активации с участием CD40 в случае Т-независимых антигенов. Формирование иммунологической памяти при их воздействии также относительно слабое.

Механизм активации В-клеток Т-независимыми антигенами без участия Тх-клеток еще не раскрыт полностью. Возможно, полимерная структура этих антигенов позволяет им перекрестно связывать В-клеточные рецепторы, чему способствует устойчивость молекул антигена к деградации. Такой иммунный ответ, не требующий сложных клеточных взаимодействий, обеспечивает преимущество для выживания, поскольку позволяет организму быстрее реагиро-

Т-независимые антигены

Антиген	Полимерность	Поликлональная активация	Устойчивость к деградации
Липополисахарид (ЛПС)	+	+ + +	+
Фиколл	+ + +	–	+ + +
Декстран	+ +	+	+ +
Леван	+ +	+	+ +
Поли-D-аминокислоты	+ + +	–	+ + +
Полимерный бактериальный флагеллин	+ +	+ +	+

Рис. 11.10
Основные свойства некоторых из наиболее распространенных Т-независимых антигенов. Эти антигены индуцируют образование цитокинов ИЛ-1, ФНО и ИЛ-6 макрофагами. (Следует указать, что поли-L-аминокислоты и мономерный бактериальный флагеллин являются Т-зависимыми антигенами, что свидетельствует о значении структуры антигена для его свойств (Т-зависимость или Т-независимость).

Вторичный иммунный ответ на Т-зависимые (T_3) и Т-независимые (T_H) антигены in vitro

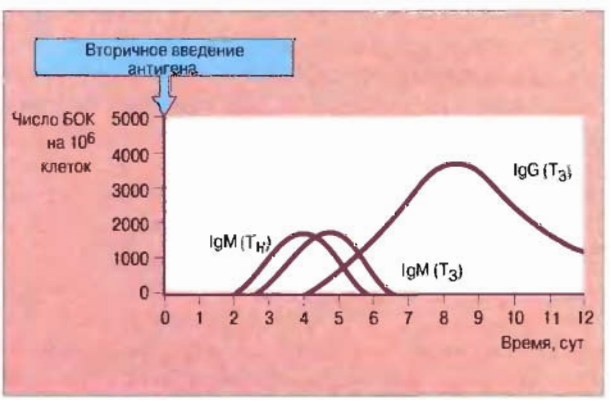


Рис. 11.11
Вторичный иммунный ответ на Т-зависимые антигены сильнее, чем первичный, что можно определить по накоплению бóльшего числа продуцирующих IgG-антитела бляшкообразующих клеток (БОК) (см. гл. 29).

вать на микробные антигены. Многие бактериальные антигены действуют независимо от Т-клеточной помощи, поскольку являются чрезвычайно сильными индукторами синтеза цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНОα макрофагами. Непродолжительность иммунной реакции на Т-независимые антигены и то, что она не включает образование IgG, может быть результатом отсутствия костимуляции, опосредованной CD40L, и отсутствия продукции ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-5, которые Т-клетки секретируют в реакции на Т-зависимые антигены. Часто под влиянием Т-независимых антигенов активируются главным образом В-клетки субпопуляции В1, экспрессирующие маркер CD5. Эти клетки обнаруживаются преимущественно в брюшной полости.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ СИГНАЛЫ ПРИ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ

Комплекс TкР способен передавать сигналы внутрь клетки. В передаче сигналов участвуют комплекс CD3 (γ-, δ-, ε-, ζ- и η-цепи) и фермент $p56^{lck}$, который связан с внутриклеточными участками молекул CD4 или CD8 ($p56^{lck}$ – сокращенное название специфичной для лимфоцитов тирозинкиназы с мол. массой 56 кДа). В-клетки также экспрессируют семейство молекул, участвующих в передаче сигналов; оно включает Igα, Igβ и мембраносвязанные IgM и IgD (см. гл. 6).

Активацию лимфоцитов инициируют тирозинкиназы

Распознавание Т-клеточным рецептором комплекса антиген–MHC-молекула и связывание костимулирующих молекул вызывают передачу сигнала внутрь Т-клеток. Самый первый внутриклеточный этап сигнализации состоит в фосфорилировании тирозина, осуществляемом с участием тирозинкиназ семейства src, в частности lck, ассоциированной с CD4, и fyn; обе они фосфорилируют последовательности-мишени, обнаруженные в ζ-цепи CD3 и присутствующие также в молекулах Igα, Igβ и FcγR. Эти последовательности получили название иммунорецепторные тирозин-активируемые мотивы, ITAM (от англ. immunoreceptor tyrosine-based activation motifs). Тирозинкиназа ZAP-70 связывается с ITAM и активируется, в свою очередь активируя фосфолипазу С и тем самым открывая классический путь сигнализации. Сигналы от TкР и CD28 интегрируются (*рис. 11.12*), активируя находящиеся в латентном состоянии цитоплазматические факторы транскрипции, такие как NF-AT или NF-κB,

Внутриклеточная сигнализация при активации Т-клеток

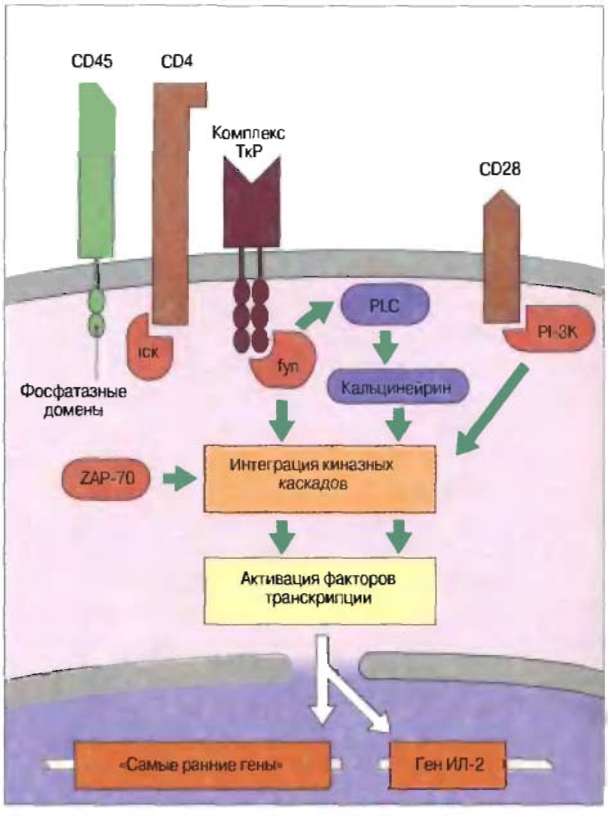


Рис. 11.12
При активации Т-клеток происходит передача сигналов от Т-клеточного рецептора и от молекулы CD28. Корецептор CD4, связанный с комплексом TкР, взаимодействует с киназой lck. Подобные киназы активируются в результате дефосфорилирования, возможно осуществляемого фосфатазными доменами общего лейкоцитарного антигена CD45. Активированная киназа lck фосфорилирует домены ITAM ζ-цепей CD3, что позволяет им ассоциировать с другими киназами, включая fyn и ZAP-70. Киназа fyn активирует фосфолипазу С (PLC), которая косвенным образом вызывает высвобождение внутриклеточного кальция. Кальций связывается с кальцинейрином и активирует факторы транскрипции. Одновременно с этим киназы ZAP-70, fyn и PI-3 (PI-3K, ассоциированная с CD28) передают интегрированные сигналы через киназные каскады в цитоплазме; эти сигналы также активируют факторы транскрипции. Поступая в ядро, эти факторы активируют гены, в том числе «самые ранние» гены клеточного деления, и ген ИЛ-2.

которые после этого мигрируют в ядро. Здесь они действуют на гены, необходимые для Т-клеточной активации, включая гены ИЛ-2 и рецептора ИЛ-2. Продуцируемый в результате этой активации ИЛ-2, связываясь со своим рецептором, вызывает деление клеток.

Процессы активации В- и Т-клеток протекают сходным образом

Функцию Т-клеточной молекулы CD3 у В-клеток выполняют молекулы Igα и Igβ, которые также содержат ITAM в своей цитоплазматической части. Перекрестное связывание поверхностных Ig ведет к активации киназ семейства src, которые в В-клетках представлены не только fyn, но также lyn и blk. Киназа Syk, аналогичная киназе ZAP-70 Т-клеток, связывается с фосфорилированными Igα и Igβ. Это приводит к активации каскада киназ и переносу ядерных факторов транскрипции (аналогично происходящему в Т-клетках) (*рис. 11.13*).

В-клеточную активацию заметно усиливает «корецепторный комплекс», состоящий из 3 белков – рецептора 2 комплемента (CR2, CD21), CD19 и молекулы-мишени для антипролиферативных антител (TAPA-1; CD81) (*рис. 11.14*). Известно, что фолликулярные дендритные клетки длительное время удерживают на своей поверхности антиген в виде иммунных комплексов (иккосом). Антиген в составе такого комплекса может связываться и с поверхностным Ig В-клеток, и (посредством соединенного с ним компонента C3d комплемента) с CR2. Это связывание ведет к фосфорилированию цитоплазматической части молекулы CD19, которая связывается также с киназами. Возможно, киназы, находясь близко к В-клеточному рецептору, способствуют активации В-клетки, особенно в тех случаях, когда концентрация антигена невелика.

Сигнал активации – это суммарный сигнал от антигенного рецептора и костимулирующих молекул

До сих пор не известно точно, что представляет собой эффективный антигенный сигнал. В случае Т-клетки взаимодействия антигена с одиночным ТкР недостаточно для активации; необходимое для стимуляции число таких взаимодействий может зависеть от наличия других стимулирующих сигналов, типа Т-клеток и степени их активации. Установлено, что легко активируются клетки мышиных Т-клеточных гибридом (полученных путем слияния нормальных Т-лимфоцитов и клеток Т-клеточной опухоли). Чтобы стимулировать гибридную клетку, эффективно функционирующая АПК (например, макрофаг) должна нести не менее 60 комплексов, образованных молекулой МНС класса II и антигенным фрагментом. Функционально менее активные АПК, такие как фибробласты с трансфицированным МНС-геном класса II, должны иметь для этого 5000 таких комплексов.

Проведенные недавно исследования показали, что активация требует взаимодействия примерно 8000 молекул ТкР с комплексами МНС–пептид; именно такое число ТкР исчезает

Внутриклеточные сигналы при активации В-клеток

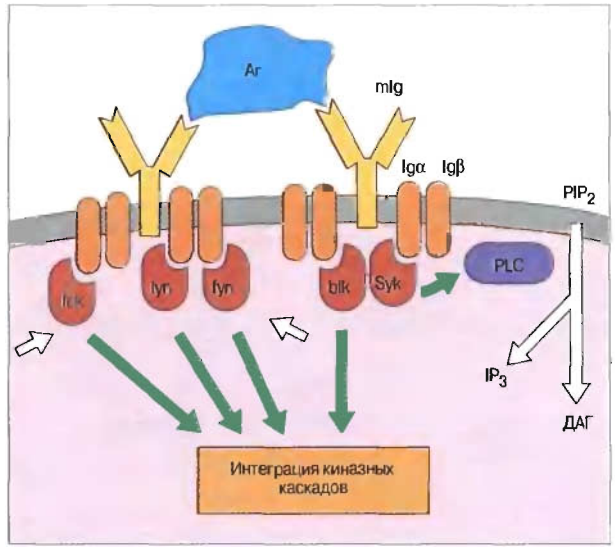


Рис. 11.13
Активация В- и Т-клеток происходит сходным образом. При перекрестном связывании мембраносвязанных Ig (mIg), например Т-независимым антигеном (Ar), активируются тирозинкиназы, в том числе lck, lyn, fyn и blk. Они фосфорилируют домены ITAM в Igα- и Igβ-цепях рецепторного комплекса, которые приобретают способность связывать другую киназу, Syk, в свою очередь активирующую фосфолипазу С. Последняя действует на мембранный PIP2, в результате чего образуются IP3 и диацилглицерол (ДАГ), который активирует протеинкиназу С. Сигналы, передаваемые другими киназами, активируют ядерные факторы транскрипции. (mIg – мембранный Ig.)

В-клеточный корецепторный комплекс

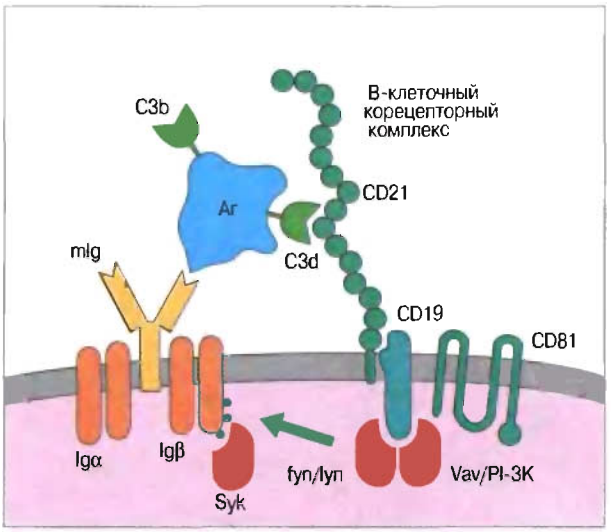


Рис. 11.14
В-клеточный корецепторный комплекс состоит из CD21 (рецептор комплемента 2 типа), CD19 и CD81 – молекулы с 4 трансмембранными сегментами. Антиген (Ar) с ковалентно присоединенным C3b или C3d может перекрестно связывать мембранный Ig (mIg) с CD21 корецепторного комплекса. Это значительно снижает потребность клетки в антигене для ее активации. Молекула CD19 может взаимодействовать с киназами, включая lyn, fyn, Vav и киназу PI-3 (PI-3K, ср. с CD28 Т-клеток). Перекрестное связывание рецепторов вызывает фосфорилирование Igα- и Igβ-цепей комплекса антиген–рецептор, а также мобилизацию и активацию Syk.

с поверхности клетки при активации Т-клеточных клонов. Поскольку взаимодействие ТкР–МНС характеризуется низкой аффинностью, единичный комплекс МНС–пептид способен, возможно, активировать большое число ТкР. Не исключено, что для трансформированных Т-клеток, какими являются гибридомы, необходима менее сильная ТкР-активация. При наличии костимулирующего сигнала (например, связывания CD28/B7) для активации Т-клеточных клонов достаточно 1500 активированных и интернализованных ТкР.

Сведения подобного типа о действии Т-зависимых антигенов на В-клетки отсутствуют. Связывание Т-независимого антигена с одиночным рецептором не ведет к активации В-клетки, однако пока еще нет данных, которые позволили бы сопоставить эффекты стимуляции В-лимфоцитов с описанными выше процессами в Т-клетках.

Взаимодействие антигена с ТкР или мембранным иммуноглобулином само по себе не может служить положительным сигналом активации для Т- или В-клеток. Возможно, его достаточно для генерации «отрицательного», или толерогенного, сигнала, однако и это сомнительно. В настоящее время считается, что для активации лимфоидных клеток необходим целый ряд взаимодействий, каждое из которых потенциально несет сигнальную функцию. Костимулирующие молекулы, например CD2 и CD11a/CD18, ответственны не только за связывание; их цитоплазматические домены участвуют в передаче сигналов. Так, эксперименты с удалением цитоплазматического домена CD2 показали, что в результате такого вмешательства процесс активации нарушается, однако адгезивная функция молекулы остается неизменной.

Митогены и суперантигены также могут активировать лимфоциты

Для изучения Т- и В-клеточной активации наряду с антигенами используются также митогены – вещества, которые в отличие от антигенов могут активировать Т- и В-клетки неспецифически. Для большинства Т-клеток стимуляторами служат фитогемагглютинин (ФГА), выделенный из красной фасоли, и конканавалин А (КонА), экстрагированный из плодов клещевины. Механизм действия этих агентов детально изучен; они связываются с поверхностными молекулами Т-клеток, ответственными за активацию, в частности с ТкР и CD2.

Способностью неспецифически активировать Т-клетки обладают и молекулы другой группы, так называемые «суперантигены», большинство которых имеет бактериальное происхождение. К ним относятся стафилококковые энтеротоксины (вызывающие острые пищевые отравления некоторых типов), токсин, вызывающий развитие синдрома токсического шока при сепсисе, токсин эксфолиативного дерматита и некоторые вирусные белки. Суперантигены связываются с молекулами МНС класса II на АПК и распознаются ТкР, однако не посредством того же механизма, какой действует при распознавании Т-клеточным рецептором комплекса МНС–антигенный пептид. Суперантиген связывается только с Vβ-

Различия между антигеном и суперантигеном

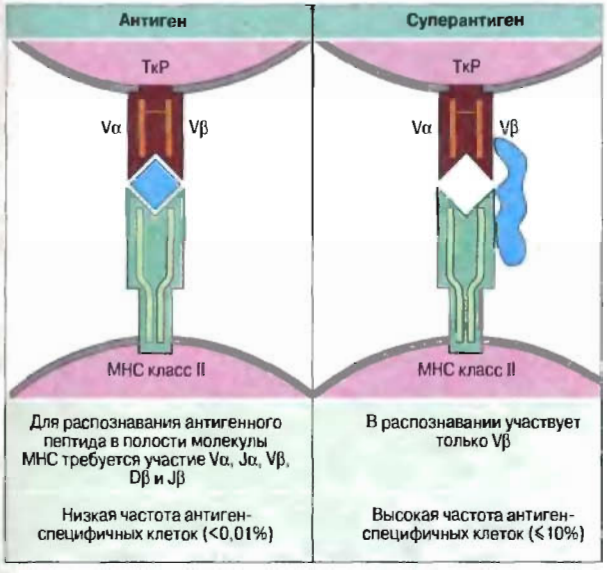


Рис. 11.15
Для активации ТкР антигенные пептиды, как правило, должны быть процессированы. Однако суперантигены, такие как стафилококковые энтеротоксины, не подвергаются процессингу, а непосредственно связываются с молекулой MHC класса II и Vβ-цепью ТкР. Каждый суперантиген активирует отдельную популяцию Т-клеток, экспрессирующих Vβ, в зависимости от того, каким сегментом Vβ-гена Т-клетки кодируется ее рецептор.

цепью ТкР, однако этого достаточно для активации Т-клетки (*рис. 11.15*). Эффект стимуляции при этом такой же, как и при использовании антигенов: в зависимости от условий эксперимента может возникнуть либо иммунный ответ, либо клональная анергия.

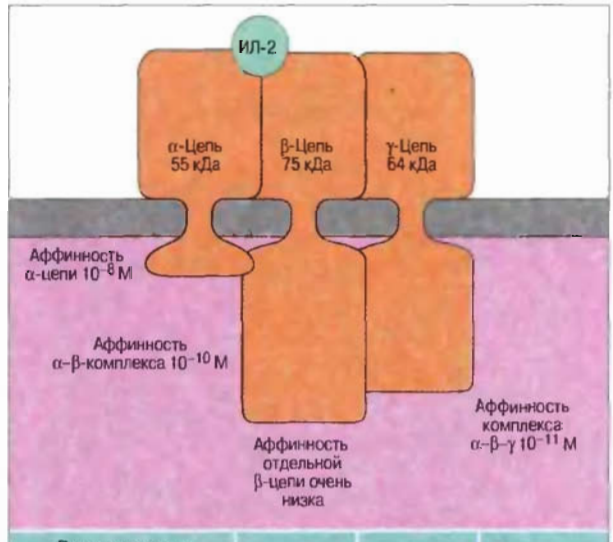
ДЕЙСТВИЕ ЦИТОКИНОВ НА В- И Т-КЛЕТКИ

Главная роль в активации Т-клеток принадлежит ИЛ-2

Пролиферация лимфоцитов – это сложный, опосредуемый многими факторами процесс. Так, стимуляция Т-клеток АПК еще не означает, что лимфоциты сразу же будут пролиферировать. Эффективное взаимодействие с участием ТкР ведет к продукции α-цепи (p55) рецептора для фактора роста Т-клеток, ИЛ-2. α-Цепь и уже имеющиеся β (p75)- и γ-цепи ассоциируют с образованием высокоаффинного рецептора для ИЛ-2 (*рис. 11.16*). Активация ТкР у всех Т-клеток вызывает продукцию цитокинов. Большинство Т-клеток $CD4^+$ и некоторые Т-клетки $CD8^+$ секретируют ИЛ-2 непродолжительное время, 1–2 сут. В течение этого срока взаимодействие ИЛ-2 с высокоаффинным рецептором для ИЛ-2 приводит к росту и активации Т-клеток. После стимуляции ТкР клетки экспрессируют высокоаффинный рецептор только в течение примерно одной недели; благодаря такому ограничению Т-клетки не размножаются беспредельно, так как отсутствие положительных сигналов способствует индукции апоптотической гибели лишних клеток. Схема всего процесса активации Т-клеток представлена на *рис. 11.17*.

ИЛ-2 синтезируют главным образом Т-клетки $CD4^+$, однако его продуцентами служат также $CD8^+$-клетки и большие гранулярные лимфоци-

Строение высокоаффинного рецептора для ИЛ-2



Примерное число на клетку	α-Цепь	β-Цепь	γ-Цепь
В покоящемся состоянии	0	500	5000
При максимальной активации	50 000	5000	~5000

Рис. 11.16
Высокоаффинный рецептор для ИЛ-2 состоит из 3 цепей, каждая из которых в отдельности лишь слабо связывает ИЛ-2. Покоящиеся Т-клетки не экспрессируют α-цепь, но после активации они могут экспрессировать до 50 000 α-цепей на клетку (максимальное число). Некоторые из этих цепей соединяются с β-цепью, образуя высокоаффинный рецептор для ИЛ-2.

Пролиферация Т-клеток

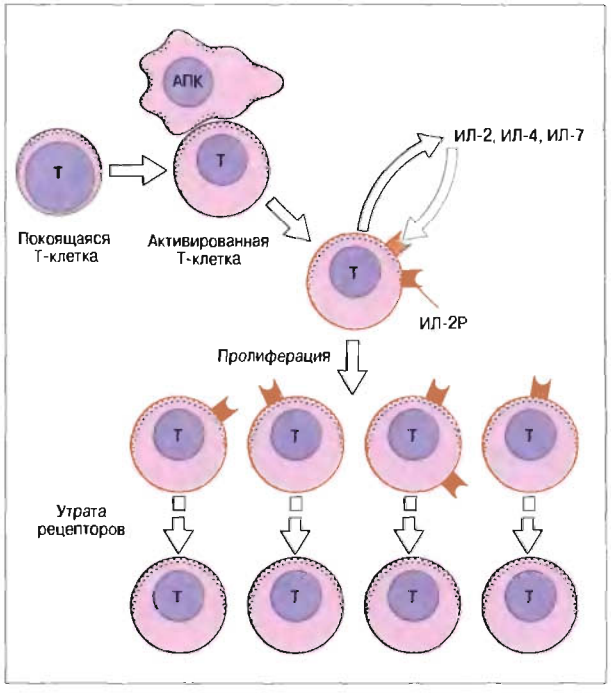


Рис. 11.17
Покоящиеся клетки не продуцируют цитокинов – факторов роста Т-клеток (ИЛ-2, ИЛ-4 или ИЛ-7) и экспрессируют лишь небольшое число рецепторов для ИЛ-4 и ИЛ-7, но не для ИЛ-2. На их поверхности присутствует только цепь p75 рецептора ИЛ-2, обладающая низкой аффинностью. Активация ведет к появлению цепи p55, которая вместе с p75 образует высокоаффинный рецептор ИЛ-2.
Активация индуцирует синтез мРНК и белков ИЛ-2 и ИЛ-4. Секреция этих цитокинов и их взаимодействие с рецепторами вызывают пролиферацию. Цитокины действуют двумя способами: «аутокринным» (влияя на те клетки, которые их продуцируют) и «паракринным» (стимулируя соседние клетки). В отсутствие антигенной стимуляции число рецепторов для ИЛ-2 уменьшается и пролиферативная фаза иммунного ответа заканчивается.

Эффекты ИЛ-2

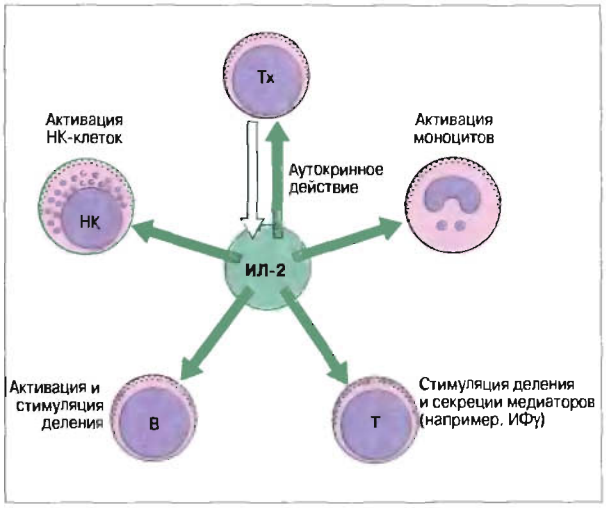


Рис. 11.18
ИЛ-2 образуют Тх-клетки. Функции этого цитокина включают стимуляцию деления Т-клеток, высвобождения медиаторов, таких как ИФγ, индукцию роста В-клеток, а также активацию моноцитов и НК-клеток для усиления иммунного ответа. Аутологичные предшественники НК-клеток больных почечно-клеточным раком могут быть активированы in vitro высокими дозами ИЛ-2 (1000 ИЕ/мл) для получения линий так называемых лимфокин-активированных клеток-киллеров (ЛАК-клетки), которые используются для экспериментальной терапии рака.

ты (БГЛ). Действие ИЛ-2 ограничено определенными видами клеток, в основном Т-клетками всех типов, для которых данный цитокин служит наиболее сильным фактором роста и активатором (*рис. 11.18*). Он влияет также на БГЛ и В-клетки, индуцируя их рост и дифференцировку, активирует макрофаги и, возможно, олигодендроциты. В виде препарата ИЛ-2 используют для экспериментальной терапии опухолей, в частности почечно-клеточного рака. Лечебное действие этого цитокина может быть связано с активацией различных клеток, обладающих противоопухолевым цитотоксическим действием, например лимфокин-активированных клеток-киллеров (ЛАК-клеток).

Менее сильным фактором роста Т-клеток служит ИЛ-4, который также относится к числу индуцибельных цитокинов. Экспрессия поверхностного рецептора для ИЛ-4 повышается в результате активации ТкР. На Т-клетки действует также ИЛ-7, хотя первоначально он был описан как фактор роста пре-В-клеток, образуемый стромой костного мозга. Продуцируемый элементами стромы тимуса ИЛ-7 действует на тимоциты, представляя собой фактор роста и активации Т-клеток в дополнение к свойству активировать макрофаги. Возможно, описанные три фактора роста, а также менее изученные цитокины, в частности ИЛ-9, ИЛ-12 и ИЛ-15, осуществляют тонкую регуляцию роста и активации Т-клеток в ходе иммунного ответа.

Действие ИЛ-1 на клетки иммунной системы

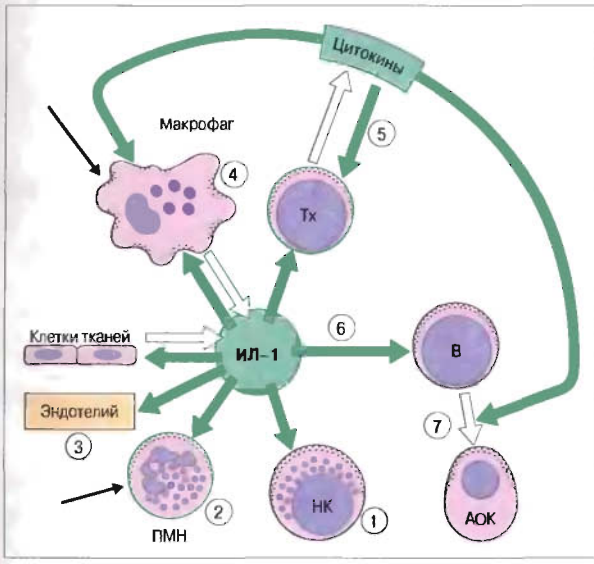


Рис. 11.19
ИЛ-1 продуцируют клетки многих типов в ответ на повреждение, инфекцию или антиген. Он влияет на разнообразные клетки и процессы, вызывая **1)** возрастание цитотоксической активности НК-клеток; **2)** повышение метаболической активности полиморфноядерных нуклеоцитов (ПМН), которые мигрируют в район продукции ИЛ-1 (за счет хемотаксиса) (черная стрелка); **3)** индукцию синтеза молекул адгезии и прокоагулянтов в эндотелиальных клетках и увеличение проницаемости эндотелия; **4)** повышение продукции простагландинов и цитокинов макрофагами и их цитоцидной и хемотаксической (черная стрелка) активности; **5)** усиление пролиферации Тх-клеток, экспрессии рецепторов ИЛ-2 и продукции цитокинов и **6)** пролиферацию В-клеток и их дифференцировку в АОК (оба эти процесса регулируются другими цитокинами (**7**)).

Цитокины ИЛ-1 и ИЛ-6 служат костимулирующими сигнальными молекулами при активации Т-клеток некоторыми АПК (*рис. 11.19*). Удивительно, что еще никому не удалось обнаружить продукцию этих цитокинов теми АПК, которые считаются наиболее эффективными презентирующими клетками при первичной Т-клеточной активации, – интердигитатными дендритными клетками. Не исключено действие в качестве костимулирующих и других цитокинов, включая ИЛ-12 (образуемый дендритными клетками) и ИЛ-15.

Цитокин ИЛ-3 стимулирует рост клеток-предшественников всех гемопоэтических линий (эритроцитов, гранулоцитов, макрофагов и, возможно, лимфоцитов). На этот цитокин реагирует также минорная популяция Т-клеток (Т-клетки $CD4^-CD8^-$, несущие αβ-ТкР).

Активацию и деление В-клеток индуцируют цитокины, образуемые Тх2-лимфоцитами

К специфическим цитокинам, продуцируемым Тх2-клетками, относятся ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-13. Цитокин ИЛ-4 (первоначально известный как фактор 1 В-клеточной активации или дифференцировки) действует на В-клетки, индуцируя их активацию и дифференцировку с преимущественной продукцией антител IgG1 и IgE. Он влияет также на Т-клетки как фактор роста, способствуя дифференцировке Тх2-лимфоцитов и усиливая тем самым антителообразование. Одновременно он ингибирует секрецию макрофагами провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 и ФНОα. Избыток ИЛ-4, вызывающего синтез IgE, играет патогенетическую роль при аллергических заболеваниях.

ИЛ-5 функционирует в организме человека в основном как фактор роста и активации эозинофилов. У мыши он действует также на В-клетки, индуцируя их рост и дифференцировку. Этот цитокин обусловливает эозинофилию при паразитарных инвазиях.

Цитокин ИЛ-6, известный ранее как фактор В-клеточной дифференцировки или фактор стимуляции гепатоцитов, образуют многие клетки – Т-лимфоциты, макрофаги, В-клетки, фибробласты и эндотелиальные клетки. Он действует на самые разнообразные клетки, но особенно важна его функция как индуктора дифференцировки В-лимфоцитов в антителообразующие клетки (АОК). В печени ИЛ-6 стимулирует синтез белков острой фазы. Считается, что ИЛ-6 служит важным фактором роста множественной миеломы – злокачественного новообразования, возникшего из плазматических клеток.

Цитокины – регуляторы иммунных реакций

От цитокинов может также зависеть тип развивающегося иммунного ответа. Особенно важна при этом регуляторная функция ИЛ-10 и ИЛ-12. Цитокин ИЛ-10 (известный также как фактор, ингибирующий синтез цитокинов) подавляет син-

тез ИФγ. Кроме того, он ингибирует презентацию антигенов и синтез ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНОα макрофагами, что благоприятствует развитию иммунного ответа по Тх2-типу и В-клеточной активации. Действие ИЛ-12 комплементарно эффектам ИЛ-10: он способствует развитию Тх1-ответа, сопровождающегося активацией макрофагов и нормальных киллерных клеток (НК-клеток).

Источником образования ИФγ служат активированные Т-лимфоциты и НК-клетки. Иммунная активация ведет к образованию ИФγ и повышению антигенпрезентирующей функции клеток многих типов, в том числе макрофагов, астроцитов, клеток микроглии и эндотелия, а также тимоцитов. Частично этот эффект опосредован усилением экспрессии генов МНС классов I и II и ТАР, которое влечет за собой дальнейшую активацию Т-клеток. Повышается также экспрессия костимулирующих молекул B7-1, B7-2 и ICAM-1. Таким образом, при многих иммунных реакциях ИФγ выполняет функцию положительного сигнала регуляции по механизму обратной связи. Однако вместе с тем он ингибирует пролиферацию Тх2-клеток, как правило активирует макрофаги и, как это ни парадоксально, препятствует индукции синтеза МНС-молекул класса II В-клетками, вызываемой ИЛ-4. Отсюда следует, что ИФγ способствует развитию иммунного ответа Тх1-типа. Свойства ИФγ иллюстрирует *рис. 11.20.*

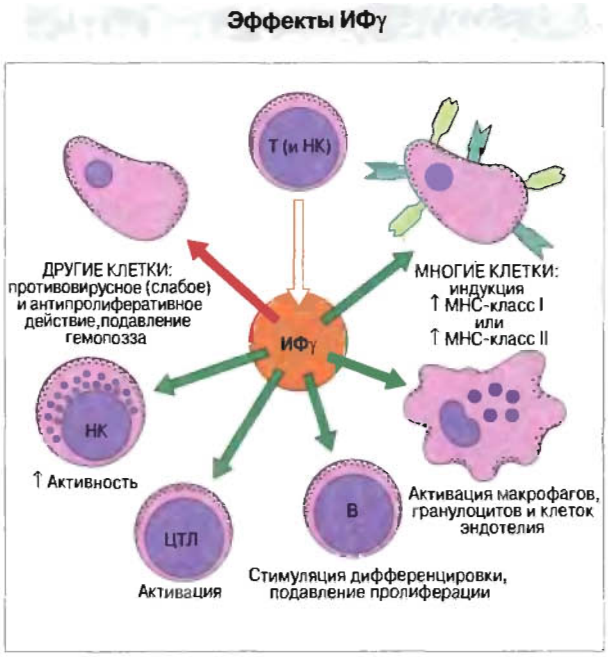


Рис. 11.20
Интерферон γ (ИФγ) оказывает многочисленные иммунорегуляторные эффекты. Его противовирусное и антипролиферативное действие менее выражено, чем у ИФα и ИФβ. Кроме того, он не столь эффективно стимулирует НК-клетки, как ИФα. Однако при этом ИФγ служит наиболее сильным активатором макрофагов и индуктором экспрессии молекул МНС класса II клетками тканей. Осуществляя эти и другие функции, ИФγ действует синергично с ФНОα и ФНОβ.

ИФα и ИФβ, подобно ИФγ, могут подавлять пролиферацию клеток иммунной системы. Они ингибируют, кроме того, эффект ИФγ, индуцирующий экспрессию МНС-антигенов класса II. Цитокин ИЛ-6, стимулируя дифференцировку клеток, в том числе некоторых лейкозных линий, тормозит их пролиферацию. Цитокины ИЛ-6 и ИЛ-11 способны ингибировать синтез макрофагами провоспалительных цитокинов, однако их действие слабее, чем у ИЛ-4 или ИЛ-10. Цитокин ИЛ-13 по своим свойствам подавлять функции макрофагов во многом сходен с ИЛ-4.

Трансформирующий фактор роста β (ТФРβ) представлен семейством из трех близкородственных молекул, которые стимулируют рост соединительной ткани и образование коллагена, но ингибируют практически все иммунные и гемопоэтические функции, особенно если присутствуют до активации клеток.

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ IN VIVO

В ранний период изучение гуморального иммунного ответа сводилось в основном к определению специфических антител в крови животных после иммунизации Т-зависимыми или Т-независимыми антигенами. По мере накопления данных о развитии и созревании В-лимфоцитов стали проясняться клеточные механизмы иммунных реакций in vivo. Характеристики гуморального ответа, связанные с описанными выше клеточными функциями, включают:

- усиление продукции антител при вторичном ответе,
- переключение изотипа Ig,
- созревание аффинности антител и
- формирование иммунологической памяти.

Некоторые из этих процессов становятся понятными только при рассмотрении гетерогенной В-клеточной популяции как целостной системы, а не просто набора индивидуальных В-клеток. Элементы гуморального ответа in vivo подробно описаны ниже.

Четыре фазы первичного гуморального ответа

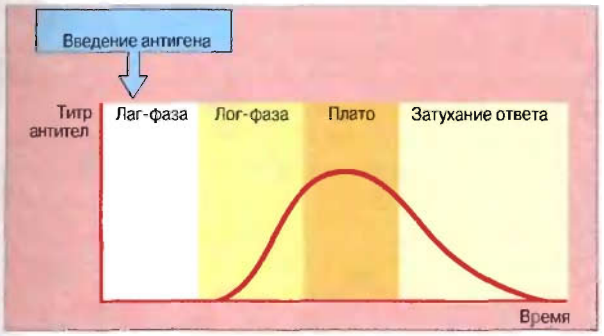


Рис. 11.21
Гуморальный иммунный ответ, вызванный антигенной стимуляцией, протекает в 4 фазы.
1. Лаг-фаза, в течение которой антитела в сыворотке крови не обнаруживаются.
2. Лог-фаза, в течение которой титр антител нарастает логарифмически.
3. Фаза плато – стабилизация титра антител.
4. Фаза затухания ответа, во время которой происходит выведение или катаболизирование иммуноглобулинов.

Временные соотношения между фазами и уровень продуцируемых антител зависят от природы антигенного стимула и особенностей организма.

После первичной антигенной стимуляции наступает начальный период иммунного ответа – лаг-фаза, в течение которой антитела в крови не обнаруживаются. Затем следуют период логарифмического роста титра антител, фаза плато и фаза затухания ответа. Снижение уровня антител происходит либо за счет их катаболизирования, либо в результате связывания их с антигеном и выведения из циркуляции (*рис. 11.21*).

Изучение ответа на первичную и вторичную стимуляцию антигеном выявило 4 основных существующих между ними различия.

Фактор времени Вторичный иммунный ответ характеризуется укороченной лаг-фазой и более продолжительными фазами плато и затухания.

Титр антител Уровень антител во время фазы плато значительно выше при вторичном ответе и обычно в 10 и более раз превышает содержание антител после первичного введения антигена.

Класс антител При первичном иммунном ответе образуются в основном антитела IgM, тогда как при вторичном преобладают IgG, а IgM присутствуют лишь в очень небольшом количестве.

Аффинность антител Как правило, при вторичном иммунном ответе антитела отличаются значительно более высокой аффинностью. Эта его особенность известна как «созревание» аффинности.

Характеристики первичного и вторичного иммунных ответов представлены на *рис. 11.22*.

Присутствие АОК в селезенке животных после иммунизации можно выявить путем анализа бляшкообразования (см. гл. 29). Как установлено, АОК в этом органе появляются примерно за сутки до того, как антитела в доступных для определения титрах обнаруживаются в сыворотке крови.

Переключение изотипа Ig зависит от Т-клеток

При Т-зависимом иммунном ответе происходит постепенное изменение класса преобладающих специфических антител, обычно в сторону доминирования IgG. При иммунизации Т-независимыми антигенами такого переключения изотипа иммуноглобулинов не происходит, и основным классом образующихся антител остается, как правило, IgM.

Первичный и вторичный гуморальные ответы

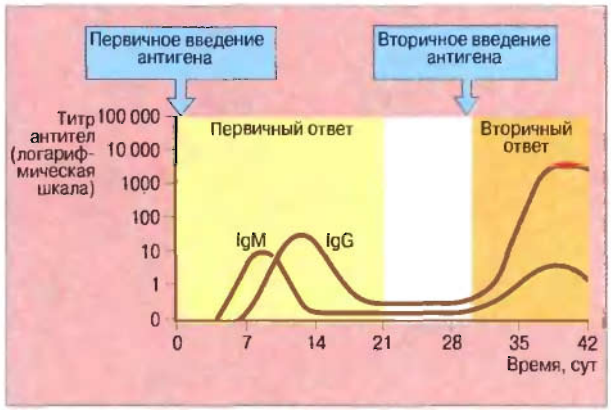


Рис. 11.22
По сравнению с гуморальным ответом на первичную антигенную стимуляцию тот же уровень концентрации антител после вторичной стимуляции достигается быстрее и сохраняется дольше, титр антител при этом выше и в их составе преобладает IgG. (При первичном ответе появлению IgG предшествует синтез IgM.)

Переключение изотипа с IgM на IgG не носит характер случайного события. Подклассы IgG, продуцируемых плазматическими клетками, варьируют в зависимости от характера стимула. Так, у мыши применение полного адъюванта Фрейнда ведет к продукции преимущественно IgG2-антител, тогда как при использовании для иммунизации белковых антигенов, осажденных квасцами, возникает преимущественно IgG1-ответ. Может также происходить переключение на синтез IgA или IgE; клетки, образующие иммуноглобулины этих изотипов, сосредоточены главным образом в лимфоидных тканях слизистых оболочек.

Молекулярная основа переключения изотипа изучена довольно подробно. Перестройки в ДНК зависят от сигналов, генерируемых Т-клетками $CD4^+$, от цитокинов и CD40L, который играет особо важную роль. Т-клеточные цитокины, присутствующие в непосредственной близости к В-клеткам, определяют новый изотип продуцируемых иммуноглобулинов. Цитокин ИЛ-4 способствует переключению на синтез IgG1 и IgE, тогда как ТФРβ (который синтезируют не только Т-клетки) вызывает переключение на продукцию IgA и IgG2b, а ИФγ стимулирует образование IgG2a. Цитокины могут также подавлять экспрессию некоторых изотипов; например, ИЛ-4 ингибирует синтез IgG2a.

В процессе переключения изотипа происходит цитокин-зависимая транскрипция ДНК в новой константной области, измененной за счет так называемой рекомбинации переключения. Она состоит в том, что специфические «участки переключения», расположенные у 5′-конца каждого из генов, кодирующих домены константных областей тяжелых цепей разных изотипов, рекомбинируют друг с другом, а промежуточный участок ДНК удаляется (*рис. 11.23*).

Созревание аффинности зависит от селекции клеток

При вторичном иммунном ответе на Т-зависимые антигены антитела обладают в среднем более высокой аффинностью, чем при первичном. Это связано с переключением синтеза антител с IgM на IgG (при IgM-ответе не отмечается повышения аффинности).

Степень повышения аффинности обратно пропорциональна дозе введенного антигена: при введении высоких доз сродство возрастает слабее, чем после иммунизации низкими дозами антигена (*рис. 11.24*). Высказано предположение,

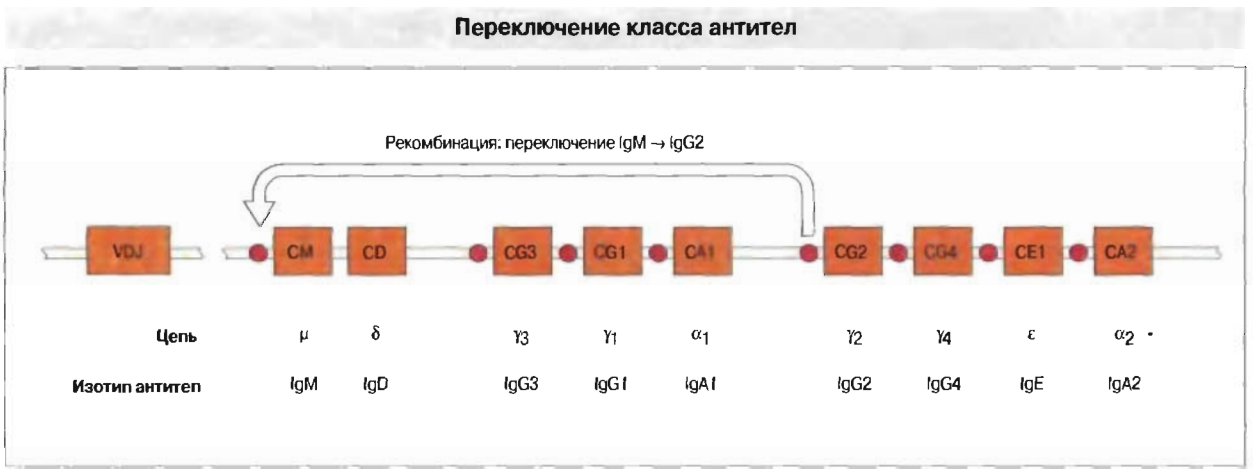


Рис. 11.23
Расположение генов тяжелых цепей иммуноглобулинов (IGH) человека. Вначале в В-клетках транскрибируются гены VDJ и тяжелой μ-цепи; в результате сплайсинга образуется мРНК для IgM. Под влиянием Т-клеток и цитокинов может произойти переключение класса Ig, в данном случае с синтеза IgM на продукцию IgG2. Перед каждым геном тяжелых цепей, кроме CD (он кодирует IgD), находится «участок переключения». При переключении эти участки рекомбинируют друг с другом, а промежуточные С-гены, в данном случае CM, CD, CG3, CG1 и CA1, утрачиваются. (Псевдогены на этой схеме не изображены.)

Созревание аффинности антител

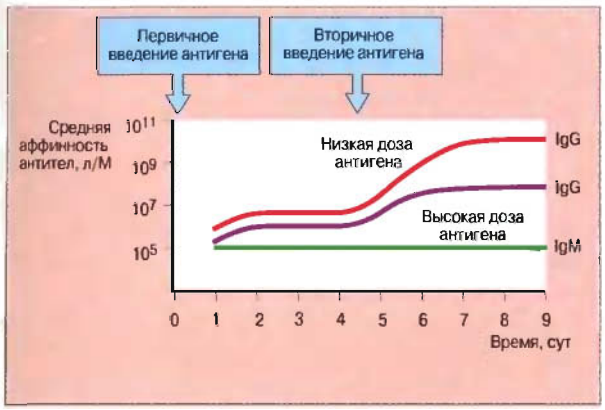


Рис. 11.24
Средняя аффинность IgM- и IgG-антител, образующихся после первичного и вторичного введения Т-зависимого антигена. Аффинность IgM на протяжении всего ответа остается постоянной. Созревание аффинности при IgG-ответе зависит от дозы повторно введенного антигена. При использовании низких доз антигена продуцируются более аффинные антитела, чем при введении высоких доз, поскольку высокоаффинные клоны более успешно конкурируют за антиген при его ограниченном количестве.

что при низкой концентрации антигена его связывают в достаточном количестве лишь те В-клетки, которые обладают высокоаффинными рецепторами; связывание индуцирует пролиферацию и дифференцировку этих В-клеток. При значительной же концентрации антигена его связывают и активируются как высоко-, так и низкоаффинные В-клетки.

Хотя индивидуальные В-клетки обычно не меняют своей основной специфичности, аффинность антител, образуемых клоном, может претерпевать изменения в результате соматического гипермутирования рекомбинированных генов антител (см. гл. 8). По-видимому, в созревание аффинности вносят вклад два процесса:

- образование более высокоаффинных клонов В-клеток за счет небольших изменений в структуре антител, образуемых дочерними клетками; такие изменения появляются на поздней стадии первичного иммунного ответа на Т-зависимый антиген;
- селективная экспансия высокоаффинных клонов под влиянием антигена.

Соматическое гипермутирование имеет место в антителообразующих клетках при Т-зависимом

Развитие В-клеток в центрах размножения

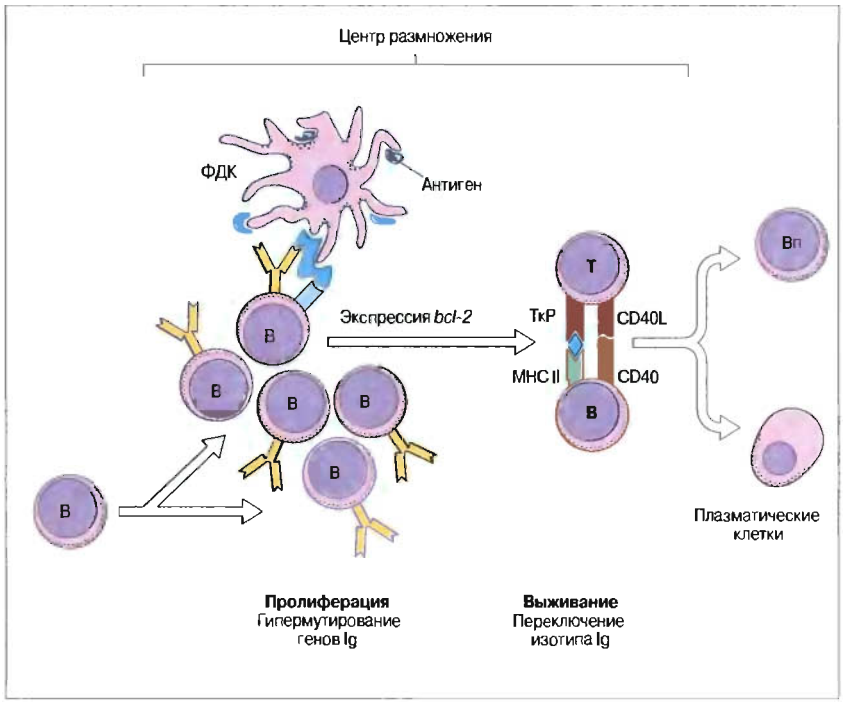


Рис. 11.25
В-клетки поступают в центр размножения и быстро пролиферируют. Пролиферация сопровождается гипермутированием генов иммуноглобулинов. Антиген, презентируемый фолликулярными дендритными клетками (ФДК), связывают лишь те В-лимфоциты, которые обладают высокоаффинными антигенспецифичными рецепторами. Эти В-клетки экспрессируют ген *bcl-2* и не подвергаются апоптозу благодаря взаимодействию с Т-клетками, в котором В-клетки выполняют роль антигенпрезентирующих для Т-лимфоцитов. Это взаимодействие инициирует Т-зависимое переключение класса иммуноглобулинов, которое частично определяется Т-клетками, присутствующими во вторичной лимфоидной ткани, а также типом иммунного ответа (Тх или Тх2). В-лимфоциты покидают центры размножения и превращаются либо в плазматические клетки, либо в В-клетки памяти (Вп).

иммунном ответе и играет важную роль в продукции высокоаффинных антител. В этом отношении оно представляет собой нормальный и выгодный процесс. Однако иногда этот же процесс приводит к образованию высокоаффинных IgG-аутоантител, например антител анти-ДНК, способных вызывать тяжелые расстройства. Подобное мутирование было обнаружено экспериментально в долгоживущей культуре ткани, однако его роль в возникновении распространенных аутоиммунных заболеваний неизвестна.

Активация В-клеток происходит в центрах размножения

Процесс созревания В-клеточной аффинности протекает в центрах размножения (*рис. 11.25*). Они образуются в селезенке или лимфатических узлах спустя несколько суток после антигенной стимуляции. В-лимфоциты, активированные Т-клетками посредством связывания CD40 с его лигандом, мигрируют в первичные фолликулы, где имеется густая сеть фолликулярных дендритных клеток. В этом окружении происходит быстрое деление В-клеток, сопровождающееся соматическим мутированием Ig-генов. В-клетки с высокоаффинными рецепторами проходят отбор по выживаемости, основанный на взаимодействии их мембраносвязанных поверхностных антител и комплекса В-клетка–корецептор с антигеном и комплементом на поверхности фолликулярных дендритных клеток. При прохождении через центр размножения В-лимфоциты экспрессируют ген «клеточной выживаемости», *bcl-2*. Клетки с высокоаффинными IgG за счет связывания продукта *bcl-2* избегают апоптоза; клетки же с низкоаффинными рецепторами таким свойством не обладают и погибают в результате апоптоза.

Иммунологическая память

Способность организма развивать вторичный иммунный ответ основана на свойстве «иммунологической памяти». Тем же свойством обусловлен эффект вакцинации.

Клетки, выполняющие функцию иммунологической памяти, накапливаются в результате экспансии популяций антигенспецифичных лимфоцитов во время первичного иммунного ответа, т. е. возрастания числа покоящихся В- и Т-клеток, способных реагировать на последующее воздействие того же антигена. В-клетки иммунологической памяти качественно отличаются от непримированных В-лимфоцитов тем, что начинают продуцировать IgG-антитела раньше и обычно обладают более высокоаффинными антигенными рецепторами благодаря селекции в ходе первичного иммунного ответа.

Т-клетки памяти вряд ли обладают рецепторами повышенной аффинности по сравнению с непримированными Т-клетками, так как Т-лимфоцитам не свойственно гипермутирование. Однако Т-клетки иммунологической памяти способны реагировать на более низкие дозы антигена, и это позволяет предполагать, что их рецепторный комплекс в целом (включая молекулы адгезии) функционирует более эффективно. В настоящее время можно считать установленным, что иммунологическая память определяется не только накоплением популяций одинаковых по свойствам клеток; меняются также свойства индивидуальных клеток, о чем свидетельствуют изменения в экспрессии молекул клеточной поверхности и цитокинов. Т-клетки $CD4^+$, осуществляющие функцию иммунологической памяти, продуцируют цитокины быстрее и интенсивнее.

Вопросы для размышления

- Чем различаются взаимодействия Т-клеток с макрофагами, дендритными клетками и В-лимфоцитами?
- Каким образом созревание аффинности и регуляция класса Ig определяют тип и эффективность иммунного ответа? В чем состоит участие Т-клеток в регуляции этих процессов?
- Что индуцирует пролиферацию лимфоцитов и как она регулируется?
- Могут ли цитокины вызывать вредные эффекты?
- Мутация gld затрагивает молекулу CD90L, необходимую для апоптоза лимфоцитов в периферических лимфоидных органах. Какое влияние может оказать эта мутация на развитие В-клеток в лимфатических узлах?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Brodsky F.M., Guagliardi L. 1991. The cell biology of antigen processing and presentation. *Annu. Rev. Immunol.* **9**: 707–44.

Cantrell D. 1996. T cell antigen receptor signal transduction pathways. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 259–74.

Clark E.A., Ledbetter J.A. 1994. How B and T cells talk to each other. *Nature* **367**: 425–26.

Fearon D.T., Carter R.H. 1995. The CD19, CR2/TAPA-1 complex of B lymphocytes: linking natural to acquired immunity. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 127–49.

Feldmann M., Brennan F.M., Maini R.N. 1996. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 397–40.

Foy T.M., Aruffo A., Bajorath J. et al. 1996. Immune regulation by CD40 and its ligand CD39. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 591–617.

Lane P. 1996. Development of B cell memory and effector function. *Curr. Opin. Immunol.* **8**: 331–36.

Lenschow D.J., Walunas T.L. Bluestone J.A. 1996. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 233–58.

Parker D.C. 1993. T cell-dependent B cell activation. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 331–60.

Romagnani S. 1994. Cytokine production by human T cells in disease states. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 227–57.

12 Развитие иммунной системы в онтогенезе

- **Большинство клеток иммунной системы** образуется из гемопоэтических стволовых клеток.
- **Развитие клеток разных типов (рядов, или линий, дифференцировки)** зависит от межклеточных взаимодействий и цитокинов.
- **Лимфоидные стволовые клетки** развиваются и созревают в первичных лимфоидных органах. Этот процесс называется лимфопоэзом.
- **Т-лимфоциты** при развитии в тимусе подвергаются положительной и отрицательной селекции.
- **В-клетки млекопитающих** развиваются главным образом в печени плода, а после рождения – в костном мозге. Этот процесс продолжается в течение всей жизни организма. В-клетки в местах своего развития также подвергаются отбору.
- **Репертуар антител,** существующий у взрослых особей, формируется в процессе лимфопоэза путем рекомбинации генных сегментов, кодирующих TkP и Ig.
- **В центрах размножения** происходит олигоклональная пролиферация В-клеток, переключение изотипа антител, повышение аффинности и формирование иммунологической памяти.

Эффективное функционирование иммунной системы зависит от взаимодействия многочисленных клеточных и гуморальных компонентов, которые в пре- и постнатальный периоды созревают с различной скоростью. Многие клетки, участвующие в иммунном ответе, происходят от недифференцированных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Под влиянием факторов микроокружения – взаимодействия с соседними клетками и присутствия растворимых или мембраносвязанных цитокинов – дифференцировка ГСК происходит в разных направлениях (*рис. 12.1*).

У млекопитающих в период внутриутробного развития ГСК присутствуют в желточном мешке, печени, селезенке и костном мозге. После рождения и в зрелом организме они обычно сохраняются лишь в костном мозге. Эти «самообновляющиеся» путем деления ГСК под влиянием разнообразных местных (в участках гемопоэза) факторов роста и дифференцировки дают начало большинству или даже всем клеткам иммунной системы.

Из ГСК образуются клетки четырех главных рядов (линий) дифференцировки:

- эритроидного (эритроциты),
- мегакариоцитарного (тромбоциты),
- миелоидного (гранулоциты и моноядерные фагоциты) и
- лимфоидного (лимфоциты).

Антигенпрезентирующие клетки в основном, но не исключительно, развиваются из миелоидных клеток-предшественников. Клетки миелоидного и лимфоидного рядов наиболее важны для функционирования иммунной системы.

МИЕЛОИДНЫЕ КЛЕТКИ

У человека миелопоэз начинается в печени, примерно на 6 неделе внутриутробного развития. Изучение роста колоний из индивидуальных стволовых клеток in vitro показало, что первая образующаяся из ГСК клетка-предшественник представляет собой колониеобразующую единицу (КОЕ), которая может дать начало образованию гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов и мегакариоцитов (КОЕ-ГЭММ). Созревание этих клеток происходит под влиянием колониестимулирующих факторов (КСФ) и ряда интерлейкинов, в том числе ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-6 (*рис. 12.2*). Все они играют важную роль в положительной регуляции (стимуляции) гемопоэза и продуцируются главным образом стромальными клетками костного мозга, но также и зрелыми формами дифференцированных миелоидных и лимфоидных клеток. Другие цитокины (например, ТФРβ) могут осуществлять понижающую регуляцию (подавление) гемопоэза.

Нейтрофилы и моноциты развиваются из общих клеток-предшественников

Образование нейтрофилов

Клеткой – предшественником нейтрофилов (вид гранулоцитов) и мононуклеарных фагоцитов (макрофагов) служит КОЕ-ГМ. При дифференцировке в нейтрофилы клетки проходят несколько морфологических стадий. Из миелобластов образуются промиелоциты и затем миелоци-

Происхождение клеток иммунной системы

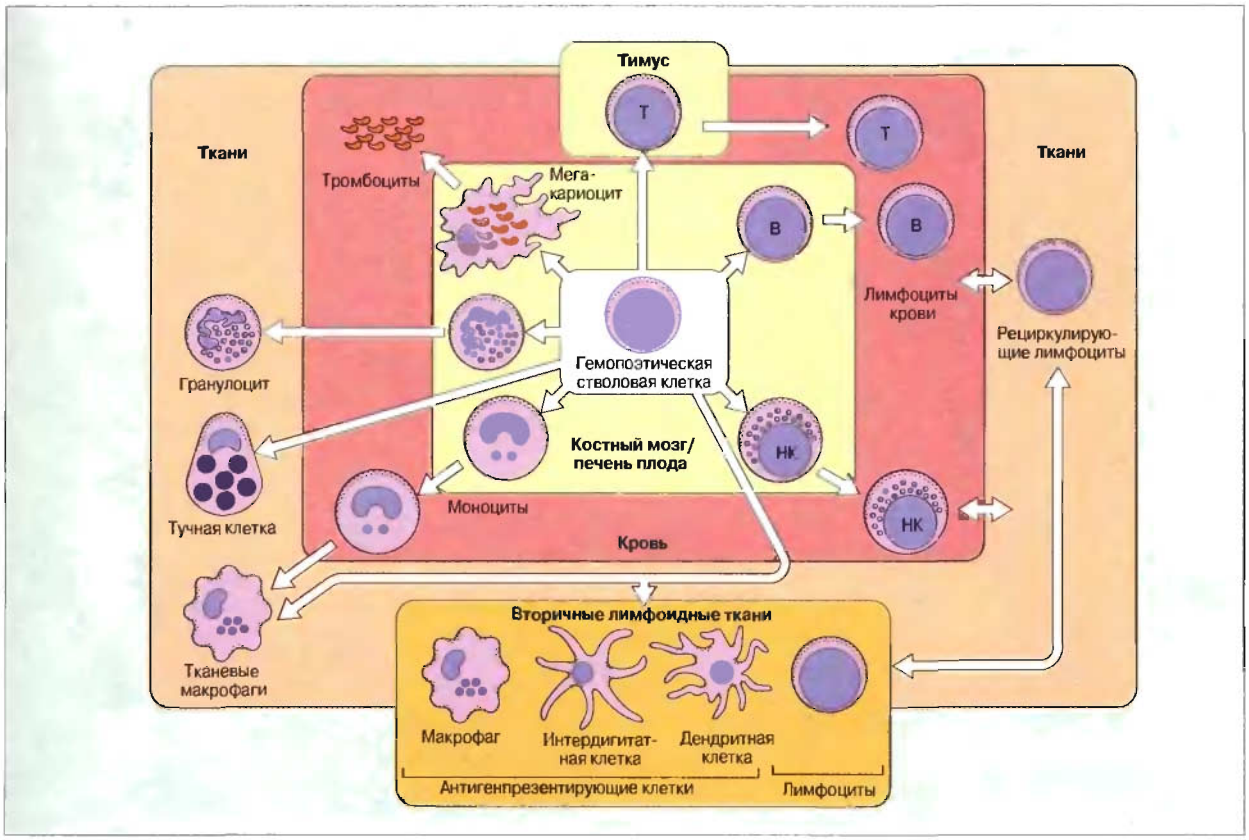


Рис. 12.1
Все изображенные на рисунке клетки происходят от гемопоэтической стволовой клетки. Тромбоциты, продуцируемые мегакариоцитами, поступают в кровоток. Гранулоциты и моноциты мигрируют из кровотока в ткани. Тучные клетки присутствуют во всех тканях. В-клетки у млекопитающих созревают в печени плода и костном мозге, а Т-клетки – в тимусе. Местом образования больших гранулярных лимфоцитов, обладающих активностью нормальных киллеров (НК), служит, вероятно, костный мозг. Лимфоциты мигрируют из кровотока, проходят через вторичные лимфоидные ткани и вновь поступают в кровоток. Роль антигенпрезентирующих клеток во вторичных лимфоидных тканях выполняют интердигитатные и дендритные клетки.

ты, которые созревают и поступают в кровоток в виде нейтрофилов. Однонаправленная дифференцировка клеток КОЕ-ГМ в зрелые нейтрофилы обусловлена появлением у них на разных стадиях развития рецепторов для специфических факторов роста и дифференцировки.

По мере созревания гранулоцитов на их поверхности исчезают или появляются поверхностные дифференцировочные маркеры (*рис. 12.3*). Например, клетки КОЕ-ГМ экспрессируют молекулы MHC класса II и маркер CD38, отсутствующие на зрелых нейтрофилах. К другим молекулам поверхности, экспрессируемым в процессе дифференцировки, относятся CD13, CD14 (представлен в небольшой концентрации), CD15 (X-детерминанта группы крови Льюис), CD29 (β_1-интегрин), VLA-4 (CD49d, α-цепь), лейкоцитарные интегрины CD11a, b, c и αD в ассоциации с β_2-цепями CD18, рецепторы комплемента и Fcγ-рецепторы (CD16) (см. *рис. 2.42*).

Функциональную активность гранулоцитов, находящихся на различных стадиях созревания, оценить трудно, но, по-видимому, полным функциональным потенциалом обладают только зрелые клетки. Ряд данных свидетельствует о том, что активность нейтрофилов, определяемая по фагоцитозу или хемотаксису, у плода ниже, чем в зрелом организме. Однако это может быть отчас-

Дифференцировка гранулоцитов и моноцитов

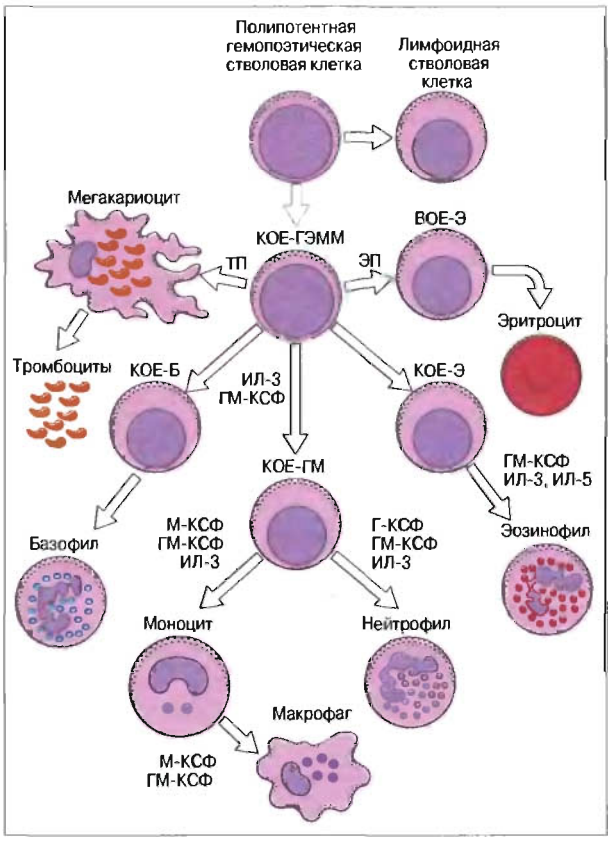


Рис. 12.2
Полипотентные гепомоэтические стволовые клетки превращаются в колониеобразующие единицы (КОЕ). КОЕ-ГЭММ может давать начало всем клеткам крови, за исключением лимфоцитов. Образование из стволовой клетки любого из пяти типов клеток [мегакариоцитов, эритроцитов – через этап предшественника, называемого взрывообразующей единицей эритроидного ряда (БОЕ-Э), базофилов, нейтрофилов или эозинофилов] индуцирует ИЛ-3 и фактор, стимулирующий образование колоний гранулоцитов и макрофагов (ГМ-КСФ); эти же факторы необходимы для дальнейшей дифференцировки гранулоцитов и моноцитов. Образование эозинофилов (Э) и КОЕ-Э стимулируется ИЛ-5. Нейтрофилы и моноциты образуются из КОЕ-ГМ под действием соответственно Г-КСФ и М-КСФ. Оба эти фактора, как и другие цитокины (включая ИЛ-1, ИЛ-4 и ИЛ-6), стимулируют дифференцировку моноцитов в макрофаги. Образование мегакариоцитов стимулируется тромбопоэтином (ТП). (Б – базофил; ЭП – эритропоэтин; Г – гранулоцит; М – моноцит.)

Морфология и поверхностные маркеры развивающихся гранулоцитов и моноцитов

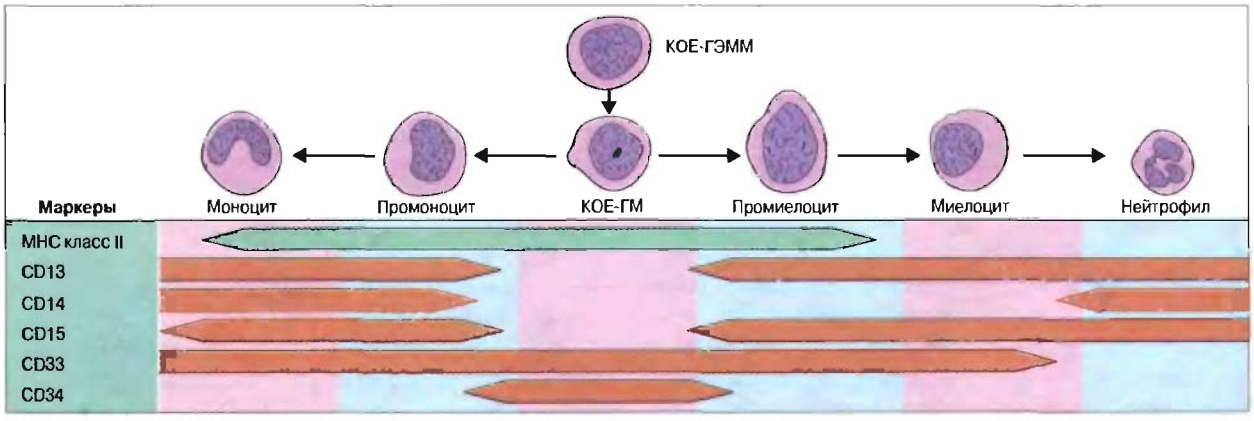


Рис. 12.3
Клетки моноцитарного и нейтрофильного линий дифференцировки образуются из общей клетки-предшественника, КОЕ-ГМ. Дифференцировка по каждому из этих путей сопровождается утратой маркера CD34. На моноцитах сохраняется CD33, тогда как на зрелых нейтрофилах эти молекулы, равно как и молекулы MHC класса II, отсутствуют. Маркер CD14 экспрессируется на моноцитах, но лишь в слабой степени на некоторых гранулоцитах, возможно при активации.

ти связано с меньшим содержанием опсонинов в сыворотке плода, а не с особенностями самих клеток. Для приобретения активности нейтрофилам необходимо непосредственное взаимодействие с микроорганизмами или с цитокинами, образующимися при иммунном ответе на антиген, (или с теми и другими вместе) в присутствии опсонинов. Это может лимитировать активность нейтрофилов на раннем этапе развития организма. Активация нейтрофилов цитокинами и хемокинами является также необходимым условием их миграции из крови в ткани.

Образование моноцитов

При дифференцировке по моноцитарному пути из КОЕ-ГМ вначале образуются пролиферирующие монобласты. Они дифференцируются в промоноциты и, наконец, в зрелые моноциты крови. Считается, что циркулирующие моноциты служат возобновляемым пулом для образования тканевых макрофагов, например макрофагов легких. Различные формы макрофагов составляют систему мононуклеарных фагоцитов (см. гл. 2).

Зрелые нейтрофилы и моноциты/макрофаги лишены CD34 и других маркеров ранних стадий дифференцировки. Однако моноциты, в отличие от нейтрофилов, продолжают экспрессировать большое количество молекул MHC класса II (*рис. 12.3*), необходимых для презентации антигена Т-клеткам. Моноциты синтезируют также многие из тех поверхностных молекул, которые характерны для зрелых нейтрофилов (см. *рис. 2.28*).

На стадиях дифференцировки определить функциональные возможности моноцитов, как и гранулоцитов, весьма трудно. Однако изучение in vitro некоторых миелоидных опухолей, клетки которых предположительно представляют собой моноциты на разных стадиях дифференцировки, свидетельствует о том, что как фагоцитарная активность, так и цитотоксичность, опосредуемая Fc-рецептором, достигают оптимального уровня только на стадии зрелых макрофагов. У новорожденного и взрослого человека моноциты вырабатывают цитокин ИЛ-1 с равной эффективностью, но у новорожденного эта функция слабее повышается под действием ИФγ, чем у взрослого.

Дендритные клетки развиваются из стволовых клеток костного мозга

Большинство классических антигенпрезентирующих клеток (АПК), включая макрофаги, клетки Лангерганса, интердигитатные и дендритные клетки, присутствует в организме уже при рождении. По всей вероятности, основная их масса образуется из стволовых клеток костного мозга. Возможно, они происходят из одной и той же клетки-предшественника $CD34^+$ (КОЕ-ГЭММ). Морфологические, цитохимические и функциональные особенности разных АПК должны тогда определяться последующим влиянием факторов микроокружения, например цитокинов. Другая возможность состоит в том, что АПК образуются из разных стволовых клеток и по разным направлениям дифференцировки. Важное исключение составляют фолликулярные дендритные клетки (ФДК), локализованные в центрах размножения внутри вторичных лимфоидных фолликулов и происходящие, возможно, от мезенхимных клеток. В первичных фолликулах периферических лимфоидных тканей ФДК присутствуют уже при рождении. В отличие от других АПК они лишены подвижности.

Уже на очень ранних стадиях развития организма АПК присутствуют в тимусе, причем их участие в MHC-рестрикции и селекции Т-клеток показывает, что по крайней мере некоторые из них к этому времени достигают полной зрелости. Однако активность АПК на ранних стадиях развития организма явно неоптимальна. У новорожденных крысят, например, образование антител к эритроцитам барана происходит только при одновременном введении АПК взрослых крыс (*рис. 12.4*).

СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

На ранних стадиях развития организма содержание компонентов комплемента в крови низкое

Составной частью системы врожденного иммунитета служит система комплемента, играющая большую роль в защите организма от микробов. Идентифицировано примерно 30 различных белков плазмы, входящих в систему комплемента (см. гл. 4). Они появляются на стадии внутриутробного развития и обнаруживаются в крови раньше, чем IgM (*рис. 12.5*). В сыворотке новорожденного их уровень составляет 50–60 % уровня, характерного для взрослого организма.

Более раннее появление компонентов системы комплемента в сыворотке по сравнению с IgM отражает тот факт, что до возникновения антител в ходе эволюции именно комплемент, на-

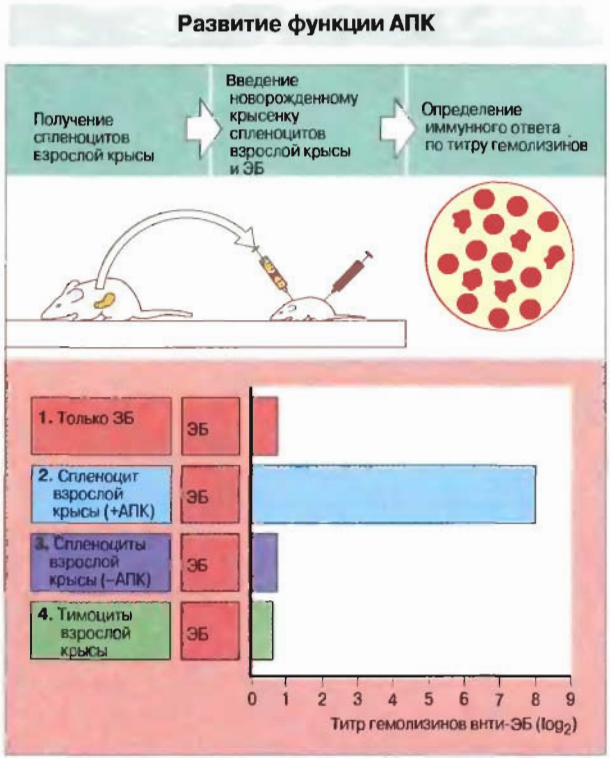


Рис. 12.4
Развитие функции антигенпрезентирующей клетки – процессинга и презентации антигена. В этом опыте новорожденным крысятам вводили: **1)** только эритроциты барана (ЭБ), **2)** ЭБ + клетки селезенки (содержащей АПК) взрослых крыс, **3)** ЭБ + клетки селезенки, лишенной АПК, или **4)** ЭБ + зрелые тимоциты. Во всех случаях взрослые крысы принадлежали к той же линии, что и новорожденные. У крысят каждой группы регистрировали гуморальный иммунный ответ – появление антител. У новорожденных крысят, которым вводили только ЭБ, антитела к ЭБ-антигенам не образовывались. Однако при одновременном введении спленоцитов взрослых крыс (вариант 2) иммунный ответ развивался. Ни зрелые спленоциты в отсутствие АПК, ни тимоциты сами по себе не вызывали продукции антител. Следовательно, АПК новорожденных особей неспособны эффективно осуществлять процессинг и презентацию ЭБ-антигенов.

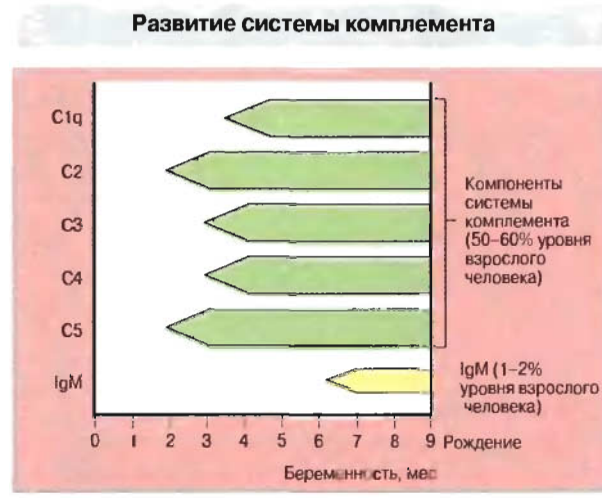


Рис. 12.5
На диаграмме указаны самые ранние сроки первого появления компонентов системы комплемента в тканях плода человека. К моменту рождения уровень большинства этих компонентов превышает 50% их уровня у взрослого человека. По сравнению с ними иммуноглобулины начинают вырабатываться у плода гораздо позднее.

ряду с фагоцитами, выполнял у животных основную функцию иммунной защиты. Таким образом, онтогенез в определенной степени повторяет филогенез.

ЛИМФОИДНЫЕ КЛЕТКИ

Недавно проведенные эксперименты на мышах показали, что общий предшественник лимфоидных клеток впервые появляется в каудальной части спланхноплевры. Клетки-предшественники, вероятно, мигрируют с кровотоком в желточный мешок, а затем в первичные лимфоидные органы – тимус и печень плода, где они развиваются соответственно в Т- и В-клетки. Зрелые лимфоциты перемещаются затем во вторичные лимфоидные ткани, где приобретают способность реагировать на антиген.

Т-клетки развиваются в тимусе

Образование Т-клеток начинается с миграции стволовых клеток

Тимус развивается из третьего (а у некоторых видов и из четвертого) глоточного кармана в виде эпителиального зачатка эндо- и эктодермального происхождения, который заселяется стволовыми клетками из крови. Для формирования огромного разнообразия зрелых Т-клеток с различной специфичностью антигенных рецепторов требуется, по-видимому, относительно немного стволовых клеток. В образовании закладки тимуса, по крайней мере у мыши, участвуют два слоя эмбриональной ткани: эктодерма третьей жаберной щели, из которой формируется эпителий корковой зоны тимуса, и эндодерма третьего глоточно-

Расположение и строение тимуса

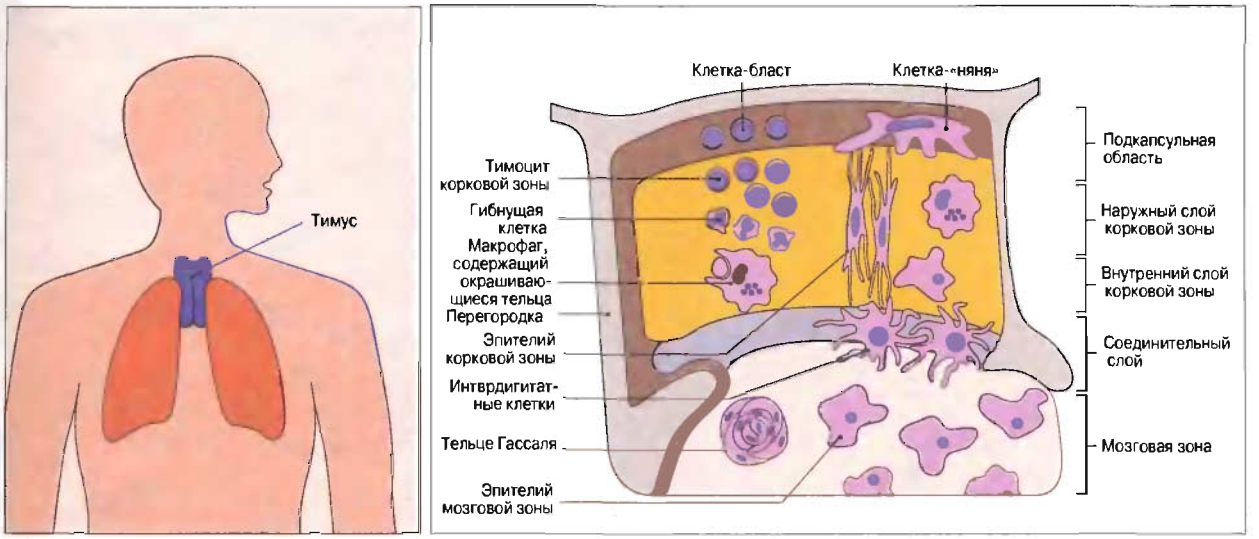


Рис. 12.6
Состоящий из двух долей тимус представляет собой орган, окруженный капсулой и разделенный перегородками на отдельные дольки. Корковая зона содержит плотно упакованные делящиеся корковые тимоциты в сети эпителиальных клеток, которые присутствуют и в мозговой зоне. Последняя содержит меньше лимфоцитов, но больше антигенпрезентирующих клеток костномозгового происхождения – интердигитатных клеток и макрофагов. Развивающиеся тимоциты тесно контактируют с эпителиальными и интердигитатными клетками, которых особенно много на границе корковой и мозговой зон. Функция извитых эпителиальных структур, называемых тельцами Гассаля, неизвестна.

го кармана, дифференцирующаяся в эпителий мозговой зоны тимуса.

Как показывают экспериментальные исследования, миграция стволовых клеток в тимус происходит не случайно, а в ответ на хемотаксические сигналы, периодически исходящие из зачатка тимуса. Одним из хемоаттрактантов может служить β_2-микроглобулин, компонент молекул MHC класса I. У птиц колонизация тимуса стволовыми клетками происходит двумя или тремя волнами, но у млекопитающих такой волнообразный процесс не доказан. Попав в тимус, стволовые клетки под влиянием эпителиального микроокружения начинают дифференцироваться в тимические лимфоциты (называемые тимоцитами). Неясно, являются ли стволовые клетки «пре-Т-клетками», т. е. начинается ли их дифференцировка в Т-клетки еще до проникновения в тимус. Хотя стволовые клетки экспрессируют CD7, многие данные указывают на их полипотентность. Из гемопоэтических клеток-предшественников, выделенных из тимуса, in vitro развиваются гранулоциты, АПК, НК, В-клетки и клетки миелоидного ряда. Это означает, что проникающие в зачаток тимуса костномозговые клетки сохраняют исходную полипотентность.

Созревание Т-клеток происходит по мере перемещения тимоцитов из корковой зоны в мозговую

Тимус состоит из долек, в каждой из которых различают корковую и мозговую зоны (см. гл. 3). В этих зонах присутствуют эпителиальные клетки, макрофаги и имеющие костномозговое происхождение интердигитатные клетки с высоким уровнем экспрессии антигенов MHC класса II. Для дифференцировки Т-лимфоцитов необходимы клетки всех этих трех типов (*рис. 12.6*). Например, специализированные эпителиальные клетки из периферических областей корковой зоны тимуса (клетки-«няни») содержат тимоциты в своих цитоплазматических «карманах» и могут участвовать в процессе их «обучения» (см. ниже). Поступающие из костного мозга стволовые клетки в первую очередь колонизируют подкапсульный слой тимуса. Они развиваются в крупные, активно пролиферирующие лимфобласты,

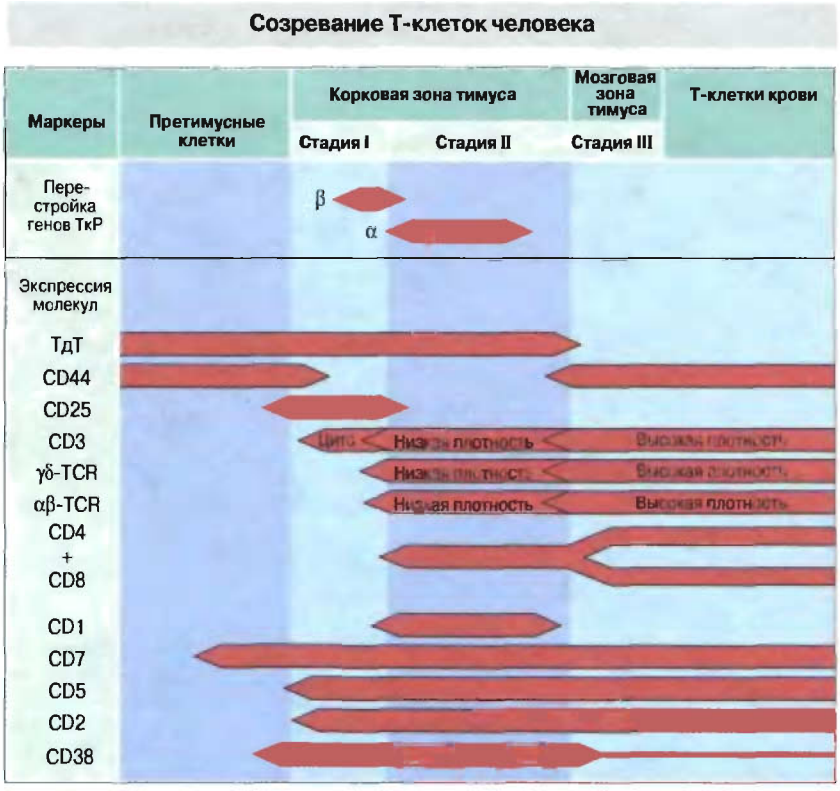


Рис. 12.7
Экспрессия Т-клеточных маркеров в процессе созревания Т-клеток у человека. В стволовых клетках тимуса присутствует фермент терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза (ТдТ); на стадии II ее активность уменьшается, а в клетках мозговой зоны полностью исчезает. В процессе дифференцировки появляется несколько поверхностных гликопротеинов. На мембране корковых тимоцитов, находящихся на II стадии развития, присутствует молекула CD1, которой уже нет на клетках мозгового слоя. Маркеры CD2 и CD7 (общий маркер Т-клеток) появляются на очень ранних стадиях дифференцировки и сохраняются до стадии зрелой Т-клетки. Зрелые Т-клетки сохраняют и молекулу CD5, которая также появляется на ранней стадии. Молекула CD3 вначале, на стадии I, экспрессируется в цитоплазме (цито), а затем и на клеточной поверхности, одновременно с ТкР. У большинства клеток на стадии II поверхностные молекулы CD3 и αβ-ТкР присутствуют в небольшой концентрации, но она значительно возрастает на стадии III. На стадии II одновременно экспрессируются молекулы CD4 и CD8, т. е. клетки дважды положительные. Одна из этих молекул при переходе клеток в III стадию (зрелые Т-клетки) теряется (моноположительные клетки).

которые и дают начало популяции тимоцитов.

В корковой зоне тимуса присутствует гораздо больше развивающихся лимфоцитов (85–90 %), чем в мозговой зоне. Изучение функции клеток и их поверхностных маркеров показывает, что тимоциты корковой зоны являются менее зрелыми, чем тимоциты мозговой зоны. Судя по этому, тимоциты мигрируют из коркового слоя в мозговой, где происходит их созревание. Полностью созревшие Т-клетки покидают тимус через посткапиллярные венулы, расположенные в зоне соединения коркового и мозгового слоев. Однако могут существовать и другие пути выхода клеток из тимуса, в том числе через лимфатические сосуды.

В процессе созревания Т-клетки меняют свой фенотип

Процесс превращения стволовых клеток в зрелые Т-клетки, как и созревание гранулоцитов и моноцитов, сопровождается появлением или исчезновением на их поверхности «дифференцировочных» маркеров, имеющих функциональное значение. Анализ генов, кодирующих αβ- и γδ-рецепторы Т-клеток, а также изучение смены поверхностных антигенов показывают, что дифференцировка Т-клеток в тимусе происходит по меньшей мере в двух направлениях. Неясно, различаются ли эти пути с самого начала; вероятнее всего, они представляют собой ответвления от одного общего исходного пути. Лишь очень небольшая доля зрелых лимфоцитов тимуса (менее 1 %) экспрессирует γδ-ТкР. Большинство же тимоцитов дифференцируется в клетки с αβ-ТкР; на их долю приходится более 99 % Т-лимфоцитов, присутствующих во вторичных лимфоидных тканях и крови (см. гл. 2 и 3).

Фенотипический анализ обнаруживает последовательные изменения в антигенном составе клеточной мембраны при созревании Т-клеток (*рис. 12.7*). Изменения фенотипа упрощенно можно представить в виде трехстадийной модели.

Тимоциты I стадии (ранние) Стадия I включает две фазы. В первой фазе клетки экспрессируют CD44 и CD25, но при этом они дважды отрицательные – $CD4^-$, $CD8^-$; гены ТкР сохраняют гаметную конфигурацию. Клетки, находящиеся в этой фазе, способны дифференцироваться и в других направлениях (см. выше). Во второй фазе они теряют CD44, но все еще остаются отрицательными и по CD4, и по CD8; перестраивается ген β-цепи ТкР. В этот период тимоциты экспрессируют цитоплазматическую (но не мембраносвязанную) форму молекулы CD3, образующей комплекс с ТкР, и таким образом коммитированы к дифференцировке в Т-клетки. Экспрессия CD7, наряду с CD2 и CD5, продолжается. На этой стадии экспрессируются и маркеры пролиферации, такие как рецептор трасферрина (CD71) и CD38 (общий маркер всех ранних предшественников гемопоэтических клеток). Следует обратить внимание на то, что ни один из маркеров пролиферации не специфичен для Т-клеточного пути дифференцировки. Однако для ранних тимоцитов этот путь предопределяется перестройкой гена β-цепи ТкР и экспрессией в цитоплазме (но не на мембране) комплекса CD3.

Тимоциты II стадии (промежуточные, или часто встречающиеся) На долю этих клеток всегда приходится примерно 85 % всех лимфоидных клеток тимуса. Для них характерен фенотип $CD1^+$,$CD44^-$,$CD25^-$, но при этом они дважды положительные – $CD4^+$,$CD8^+$. В промежуточных тимоцитах происходит перестройка генов, кодирующих α-цепь ТкР; на клеточной поверхности с низкой плотностью экспрессируются обе цепи αβ-рецептора в ассоциации с комплексом CD3.

Тимоциты III стадии (зрелые) На этой стадии происходят резкие изменения фенотипа клеток, а именно потеря CD1, экспрессия на мембране с высокой плотностью комплекса αβ-ТкР – CD3 и разделение клеток на два подтипа, экспрессирующих один CD4, другой CD8 (т. е. клетки становятся моноположительными). Большинство тимоцитов на этой стадии лишены CD38 и рецептора трансферрина и их практически невозможно отличить от зрелых Т-клеток крови. Все эти клетки, обнаруживаемые в мозговой зоне тимуса, экспрессируют рецептор CD44, предположительно участвующий в миграции и хоминге лимфоцитов в периферических лимфоидных тканях. На этой стадии экспрессируется также L-селектин.

Разнообразие Т-клеточных рецепторов формируется в тимусе

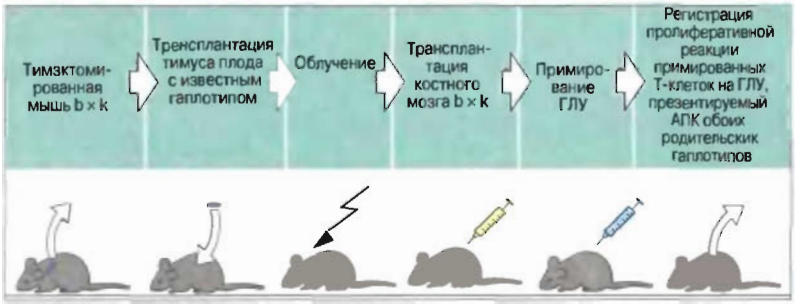
Т-клетки способны распознавать огромное количество разнообразных антигенов. В процессе созревания этих клеток в тимусе гены αβ- и γδ-ТкР претерпевают соматическую рекомбинацию, образуя функциональные гены для различных Т-клеточных рецепторов (см. гл. 8). Цепи β и δ кодируются сегментами V, D и J, тогда как для синтеза α- и γ-цепей служат только сегменты V и J. Первыми в процессе созревания Т-клеток перестраиваются гены ТкР, кодирующие γ-цепи, а затем уже гены β- и α-цепей. В результате случайных сочетаний разных генных сегментов возникает множество продуктивных перестроек. Это обеспечивает экспрессию разнообразных пептидных последовательностей вариабельных участков обеих цепей ТкР. Тимоциты, в которых перестройка генов оказывается непродуктивной, погибают. Как и при создании разнообразия В-клеточных рецепторов (антител), важнейшую роль в процессе перестройки, обусловливающей разнообразие Т-клеточных рецепторов для антигенов, играют два активирующих рекомбинацию гена – RAG-1 и RAG-2 (см. гл. 7).

Вначале ТкР экспрессируются на клеточной поверхности с низкой плотностью. Это характерно для Т-клеток подкапсульного и наружного слоев корковой зоны тимуса, в которых клетки активно пролиферируют.

«Альтернативные» формы ТкР в процессе созревания

Исследования на трансгенных мышах показали, что в ранней стадии онтогенеза Т-клетки могут экспрессировать альтернативные формы ТкР, которые, возможно, участвуют в передаче дифференцировочных сигналов. Это димеры β-ТкР, ассоциированные с CD3 в отсутствие α-ТкР; мембраносвязанные цепи β-ТкР, ассоциированные с фосфатидилинозитолом, а не CD3; β-цепи ТкР, ассоциированные на поверхности клетки с неполным комплексом CD3 (CD3 лишь из γ-, β-, и ε- но без ζ- и η-цепей) и без α-цепи ТкР. Наконец, возможна экспрессия «суррогатной» α-цепи (пре-Т α-цепь), роль которой, по-видимому, выполняет недавно идентифицированный гликопротеин 33 кДа. Не исключено, что такие рецепторы, как и «суррогатные» пре-В-клеточные рецепторы (см. ниже), принимают участие в процессах пролиферации, созревания и селекции на ранних стадиях дифференцировки лимфоцитов.

МНС-рестрикция Т-клеток в тимусе



Гаплотип мыши	Тип имплантированного тимуса плода	Пролиферативная реакция на АПК каждой родительской линии	
		H-2^b	H-2^k
b × k	b × k	++	++
b × k	b	++	–
b × k	b (обработка дГ)	++	–
b × k	k	–	++
b × k	k (обработка дГ)	–	++

Рис. 12.8
Тимэктомированным мышам [F1 (H-2^b × H-2^k] имплантировали тимусы 12-суточных эмбрионов раэличных генотипов. Затем мышей облучали для элиминации собственных Т-клеток и пересаживали им костный мозг от особей F1, обеспечивающий организм стволовыми клетками . После сенсибилизации антигеном (гемоцианин лимфы улитки, ГЛУ) регистрировали пролиферативные реакции Т-клеток лимфоузлов на ГЛУ, презентируемый АПК особей каждой родительской линии. В некоторых опытах доли тимуса перед имплантацией инкубировали с дезоксигуанозином (дГ), который разрушает внутритимусные макрофаги и дендритные клетки. Результаты показали: 1) для того, чтобы Т-клетки «научились» распознавать молекулы МНС, необходимо соответствующее тимусное окружение и 2) макрофаги и дендритные клетки костномозгового происхождения (удаляемые при обработке дГ) для этого не нужны. (По Lo D., Sprent Y. 1986. *Nature* **319:** 672.)

В тимусе происходит положительная и отрицательная селекция развивающихся Т-клеток

Положительная селекция Т-клетки распознают антигенные пептиды только представленными в «контексте» собственных молекул МНС на поверхности АПК (см. гл. 7 и 9). В действительности Т-клетки осуществляют двойное распознавание – и антигенных пептидов, и полиморфной части молекул МНС. (Маркер CD4, присутствующий на поверхности Т-клеток одной из субпопуляций, распознает неполиморфную часть молекул класса II.) Положительная селекция (называемая также «обучением в тимусе») заключается в том, что дальнейшей дифференцировке подвергаются только те клетки, ТкР которых обладают невысокой аффинностью к собственным молекулам МНС. По имеющимся данным, положительную селекцию осуществляют эпителиальные клетки тимуса, выступающие в роли АПК (*рис. 12.8*). Т-клетки, рецепторы которых обладают очень высокой или очень низкой аффинностью к собственным молекулам МНС, подвергаются в корковой зоне тимуса апоптозу и погибают. Апоптоз – это запрограммированное «самоубийство» клетки, осуществляемое активированными эндогенными нуклеазами путем расщепления ДНК на фрагменты (*рис. 12.9*).

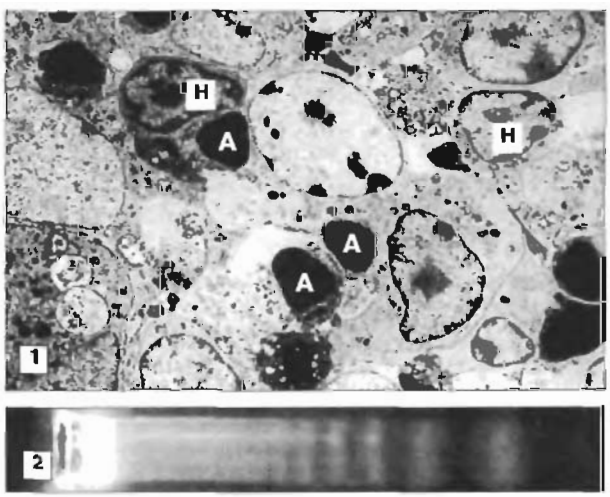


Рис. 12.9
Апоптоз клеток в тимусе. 1. К долькам тимуса плода в тканевой культуре добавляли антитела анти-CD3, в результате чего при участии ТкР происходила активация клеток и включался механизм их запрограммированной гибели (апоптоз). На электронной микрофотографии видно, что в отличие от ядер нормальных клеток (Н), в которых хроматин диспергирован, в ядрах апоптотических клеток (А) наблюдается выраженная конденсация хроматина. (Фото любезно предоставлено д-ром С. Smith.) **2.** Анализ ДНК апоптотических клеток методом электрофореза в агарозном геле; видна характерная «лесенка» из фрагментов расщепленной ДНК.

Дифференцировка и положительная/отрицательная селекция Т-клеток в тимусе

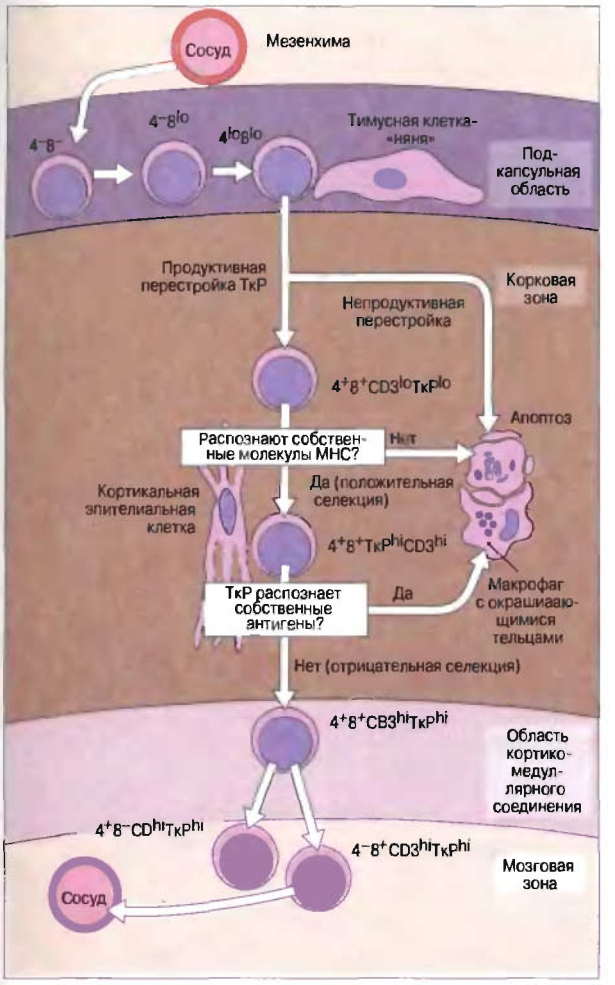


Рис. 12.10
Согласно этой гипотетической схеме, «претимические» Т-клетки направляются в закладку тимуса и проникают в нее. В подкапсульном слое они пролиферируют, образуя крупные лимфобласты, которые, размножаясь, дают начало популяции клеток, вступающих на путь дифференцировки. Многие из этих клеток находятся в тесном контакте с эпителиальными клетками-«нянями» тимуса (значение такого взаимодействия остается спорным вопросом). В этом слое клетки впервые начинают экспрессировать CD8, а затем и CD4, оба с низкой плотностью. В них происходит также перестройка генов ТкР и может начаться экспрессия в небольшом количестве продуктов этих генов на поверхности клеток. Созревающие клетки перемещаются в более глубокие слои корковой зоны и контактируют здесь с эпителиальными клетками. Последние удлиняются и ветвятся, создавая тем самым большую поверхность для контакта с тимоцитами. Этот контакт обеспечивает «обзор» ТкР тимоцитов молекулами МНС, экспрессированными на поверхности эпителиальных клеток. В результате происходит положительная селекция. Отбракованные клетки подвергаются апоптозу и поглощаются макрофагами. Во время миграции тимоцитов из подкапсульного слоя глубже в корковую зону в них усиливается экспрессия CD3, ТкР, CD4 и CD8. В зоне кортико-медуллярного соединения аутореактивные тимоциты, т. е. распознающие аутоантигены, презентируемые интердигитатными клетками и макрофагами, подвергаются делеции. Этот процесс носит название отрицательной селекции, и в нем могут принимать участие также эпителиальные клетки мозговой зоны тимуса. После этой стадии формируются клетки, экспрессирующие либо CD4, либо CD8. Они покидают тимус через специальные сосуды соединительного слоя. (Процесс отрицательной селекции может происходить и в корковой зоне тимуса, приводя к элиминации тех клеток, ТкР которых обладают высокой аффинностью к собственным молекулам МНС.)

Т-клетки с рецепторами, обладающими невысокой аффинностью, избегают апоптоза, выживают и продолжают путь созревания.

Отрицательная селекция Некоторые Т-клетки, прошедшие положительную селекцию, могут обладать рецепторами, распознающими не молекулы МНС, а другие компоненты собственных тканей. Такие клетки выбраковываются путем «отрицательной селекции», происходящей в более глубоких слоях корковой зоны тимуса, в месте соединения корковой и мозговой зон и в мозговой зоне. Тимоциты взаимодействуют с собственными антигенами, которые презентируются интердигитатными клетками. Дальнейшее созревание «разрешается» только тем тимоцитам, которые лишены способности распознавать собственные антигены; остальные подвергаются апоптозу и разрушаются. Эти отмирающие тимоциты, как и любые другие апоптотические клетки тимуса, в глубоких слоях корковой зоны фагоцитируются макрофагами, содержащими окрашивающиеся тельца. Существование отрицательной селекции (называемой также центральной толерантностью) недавно было убедительно доказано в исследованиях на мышах, у которых экспрессированные в тимусе эндогенные суперантигены вызывают элиминацию Т-клеток, несущих ТкР с той или иной Vβ-цепью (см. гл. 13).

Т-клетки на этой стадии созревания ($CD4^+$, $CD8^+$, $TкP^{lo}$) продолжают экспрессировать ТкР с высокой плотностью, но теряют либо CD4, либо CD8, становясь моноположительными зрелыми тимоцитами. Эти разные субпопуляции $CD4^+$- и $CD8^+$-клеток, обладая специальными рецепторами хоминга (например, CD44), мигрируют в периферические лимфоидные ткани, где функционируют как зрелые хелперные и цитотоксические Т-клетки соответственно. Тимус покидает менее 5 % тимоцитов; остальные погибают в процессе селекции (*рис. 12.10*) или вследствие неспособности экспрессировать антигенные рецепторы.

Роль молекул адгезии и цитокинов в созревании тимоцитов

Важнейший момент в дифференцировке Т-клеток – это адгезия (прилипание) созревающих тимоцитов к эпителиальным и вспомогательным клеткам тимуса. Она происходит за счет взаимодействия комплементарных молекул адгезии, например CD2 с LFA-3 (CD58) и LFA-1 (CD11a, CD18) с ICAM-1 (CD54).

В результате этого взаимодействия индуцируется синтез цитокинов ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6 и ГМ-КСФ, необходимых для созревания Т-клеток. На ранних стадиях созревания тимоциты экспрессируют также рецептор для ИЛ-2. Этот цитокин вместе с другими молекулами способствует пролиферации клеток, которая происходит главным образом в подкапсульном слое и наружных слоях корковой зоны тимуса.

Некоторые Т-клетки созревают вне тимуса

Отрицательная селекция может осуществляться в периферических лимфоидных тканях

При созревании в тимусе элиминируются не все аутореактивные Т-клетки. Это, по-видимому, связано с тем, что не все аутоантигены способны проходить через тимус. Эпителиальный барьер тимуса может ограничивать также доступность некоторых антигенов из крови. Поскольку часть аутореактивных Т-клеток выживает, для предотвращения их реакции на собственные ткани организма необходим дополнительный механизм. Недавно проведенные эксперименты на трансгенных мышах позволяют предполагать, что для периферической инактивации аутореактивных Т-клеток (периферическая толерантность) может существовать два механизма:

- подавление (понижающая регуляция) экспрессии ТкР и CD8 (на цитотоксических клетках), вследствие которой такие клетки теряют способность взаимодействовать с аутоантигенами-мишенями, и
- анергия, развивающаяся при отсутствии необходимых вторых сигналов активации, источником которых служат клетки-мишени (например, при участии CD28).

Периферическая толерантность подробнее рассмотрена в гл. 14.

Созревание Т-клеток вне тимуса

Хотя для дифференцировки подавляющего большинства Т-клеток необходим функционирующий тимус, небольшое количество клеток (часто олигоклональной природы), обладающих Т-клеточными маркерами, обнаруживается и у бестимусных (nude) мышей. Не исключено присутствие у таких мышей закладки тимуса, однако все больше данных указывает на то, что костномозговые предшественники могут заселять эпителий слизистых оболочек, созревая там без участия тимуса в функциональные Т-клетки, экспрессирующие γδ-ТкР и, возможно, также αβ-ТкР. Значение внетимусного созревания Т-клеток у эутимических животных (т. е. имеющих нормальный тимус) пока остается неясным.

Т-клетки новорожденных неполностью зрелые

Большинство Т-клеток, присутствующих в крови новорожденных, несут маркер CD45RA; это свидетельствует, что они еще не встречались с антигеном. Кроме того, при взаимодействии с различными антигенами Т-клетки новорожденных вырабатывают меньше интерферона-γ (и, вероятно, других цитокинов), чем зрелые Т-клетки.

В-клетки млекопитающих созревают в костном мозге и печени плода

У млекопитающих специальный орган для лимфопоэза В-клеток отсутствует. Эти клетки развиваются непосредственно из лимфоидных стволовых клеток в гемопоэтической ткани в печени плода (*рис. 12.11*), у человека на 8–9 неделе, у мыши примерно на 14 сутки внутриутробного развития. Позднее образование В-клеток происходит уже не в печени, а в костном мозге, где и продолжается в течение всей жизни организма.

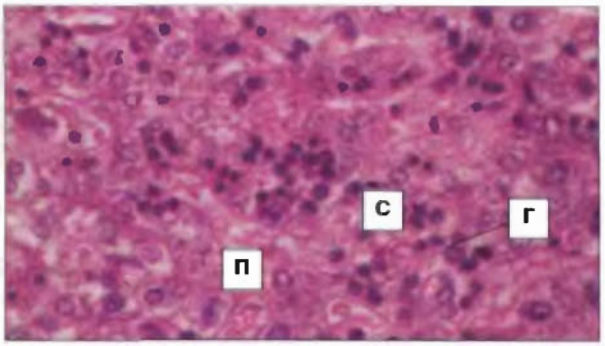


Рис. 12.11
Срез печени плода человека. Видны островки гемопоэза (Г); гемопоэтические стволовые клетки обнаруживаются в синусоидальных пространствах (С) между пластами печеночных клеток (П). (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.)

То же относится и к другим направлениям дифференцировки гемопоэтических клеток – эритроцитарному, гранулоцитарному, моноцитарному и тромбоцитарному. Недавно показано, что у мыши и человека во время внутриутробного развития предшественники В-клеток присутствуют также в ткани сальника. Появляются ли они здесь раньше, чем в закладке печеночной ткани плода, неизвестно.

Образование В-клеток в костном мозге происходит не в отдельных участках

В-клетки-предшественники в костном мозге примыкают к эндосту костной пластинки. Каждая В-клетка-предшественник на стадии перестройки генов иммуноглобулинов может давать до 64 клеток-потомков, и эти клетки мигрируют



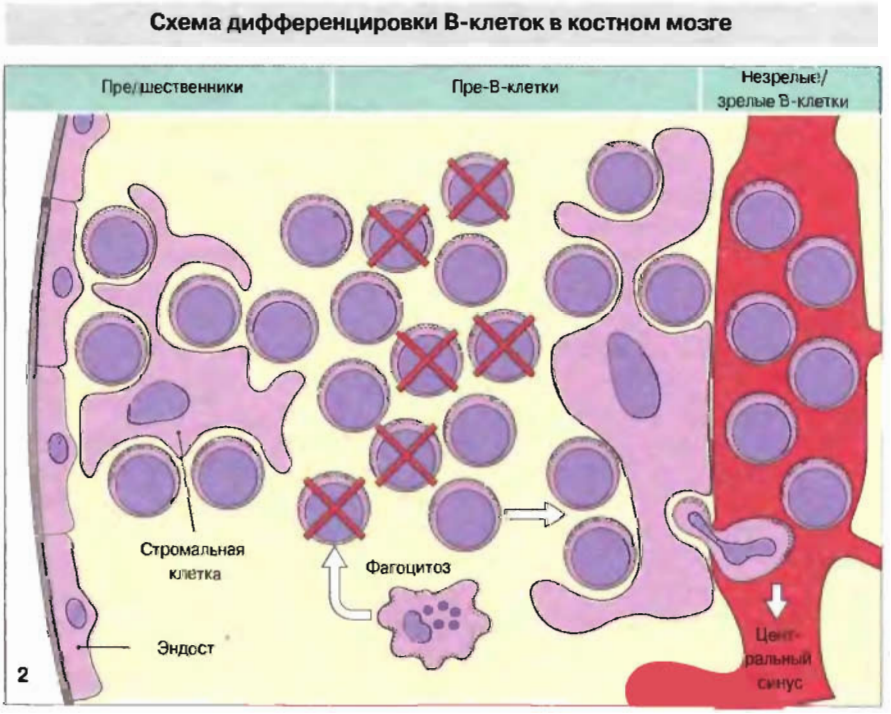


Рис. 12.12
1. Микрофотография, полученная методом сканирующей электронной микроскопии низкого напряжения; видны строение кости и ее связь с костным мозгом. Выделенная квадратом полость схематически изображена справа. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Stevens и проф. J. Lowe.) **2.** Созревание В-клеток в полостях губчатой кости происходит по мере их перемещения в радиальном направлении к центру (от эндоста к центральному венозному синусу). Незрелые клетки-предшественники, примыкающие к слою клеток эндоста, дифференцируются в пре-В-клетки, многие из которых погибают и поглощаются костномозговыми макрофагами, содержащими окрашивающиеся тельца. Выжившие клетки продолжают созревать и достигают центрального венозного синуса. На всех стадиях созревания В-клеток важную роль играют связь с клетками стромы и присутствие цитокинов, таких как ИЛ-7. (По Osmond D., Gallagher R. 1991. *Immunol. Today* **12**: 1–3.)

к центру каждой полости губчатой кости, достигая просвета венозного синусоида. Созревание В-клеток в костном мозге происходит при их тесном контакте с клетками стромы, расположенными как вблизи эндоста, так и в окружении центрального синуса, где они называются адвентициальными клетками (*рис. 12.12*). Ретикулярные клетки имеют смешанные фенотипические признаки, будучи сходны по некоторым из них с фибробластами, эндотелиальными клетками и миофибробластами. Они продуцируют коллаген IV типа, ламинин и гладкомышечную форму актина. Эксперименты in vitro показывают, что стромальные клетки поддерживают дифференцировку В-клеток, возможно за счет продукции ИЛ-7. Адвентициальные клетки могут играть важную роль в процессе высвобождения зрелых В-клеток в центральный синус.

В-клетки подвергаются процессам селекции

Большинство созревающих в костном мозге В-клеток (более 75%) не попадает в кровоток, а подобно тимоцитам погибает в результате апоптоза и поглощения костномозговыми макрофагами. Предполагается, что при взаимодействии В-клеток с клетками стромы происходит своего рода положительная селекция, которая «спасает» от запрограммированной гибели небольшую часть В-клеток с продуктивной перестройкой генов иммуноглобулинов. Отрицательная селекция аутореактивных В-клеток может происходить в костном мозге или селезенке – органе, в который мигрирует большинство новообразованных В-клеток в период внутриутробного развития.

Кинетические исследования позволяют рассчитать, что у мыши ежесуточно образуется примерно $5 \cdot 10^7$ В-клеток. Поскольку селезенка мыши содержит приблизительно $7{,}5 \cdot 10^7$ В-клеток, огромная часть их должна погибать, что происходит, вероятно, на стадии пре-В-клеток из-за непродуктивной перестройки рецепторных генов или из-за экспрессии этими клетками аутореактивных иммуноглобулиновых рецепторов.

Маркерами зрелых В-клеток служат иммуноглобулины

Лимфоидные стволовые клетки, экспрессирующие терминальную дезоксинуклеотидилтрансферазу (ТдТ), пролиферируют, дифференцируются и претерпевают перестройку генов иммуноглобулинов (см. гл. 8), что приводит к образованию

Схема строения рецептора пре-В-клетки

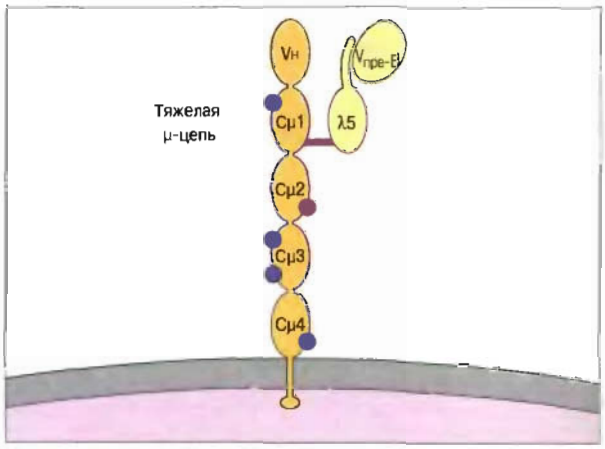


Рис. 12.13
Суррогатный В-клеточный рецептор состоит из тяжелой μ-цепи и белков $V_{пре\text{-}B}$ и λ5 (суррогатные легкие цепи), нековалентно связанных друг с другом. Белок λ5 ковалентно связан с доменом Cμ1. Функция рецептора пре-В-клетки неизвестна; возможно, он (подобно гипотетическому рецептору пре-Т-клетки) принимает участие в процессах ранней дифференцировки, селекции и пролиферации. Синие кружки – участки гликозилирования.

пре-В-клеток, в цитоплазме которых появляются тяжелые μ-цепи. Некоторые из этих пре-В-клеток и на своей поверхности несут небольшое количество μ-цепей, ассоциированных с «суррогатными» легкими цепями, $V_{пре\text{-}B}$ и λ5 (см. ниже; схема строения пре-В-клеточного рецептора приведена на *рис. 12.13*). К этому времени уже происходит аллельное исключение либо материнских, либо отцовских генов иммуноглобулинов. Из пролиферирующих крупных пре-В-клеток образуются пре-В-клетки меньших размеров. Как только В-клетка начинает синтезировать легкие цепи, которые могут быть κ- или λ-типа, ее антигенный рецептор sIgM приобретает антигенсвязывающую специфичность. Таким образом, одна В-клетка способна производить антитела лишь одной специфичности – основное положение теории клональной селекции относительно продукции антител. В стадии про-В-клеток на клеточной поверхности появляются ассоциированные с иммуноглобулинами молекулы Igα и Igβ (CD79a и b). Схема дифференцировки В-клеток, сопровождающейся экспрессией иммуноглобулинов и некоторых других важных молекул, приведена на *рис. 12.14*.

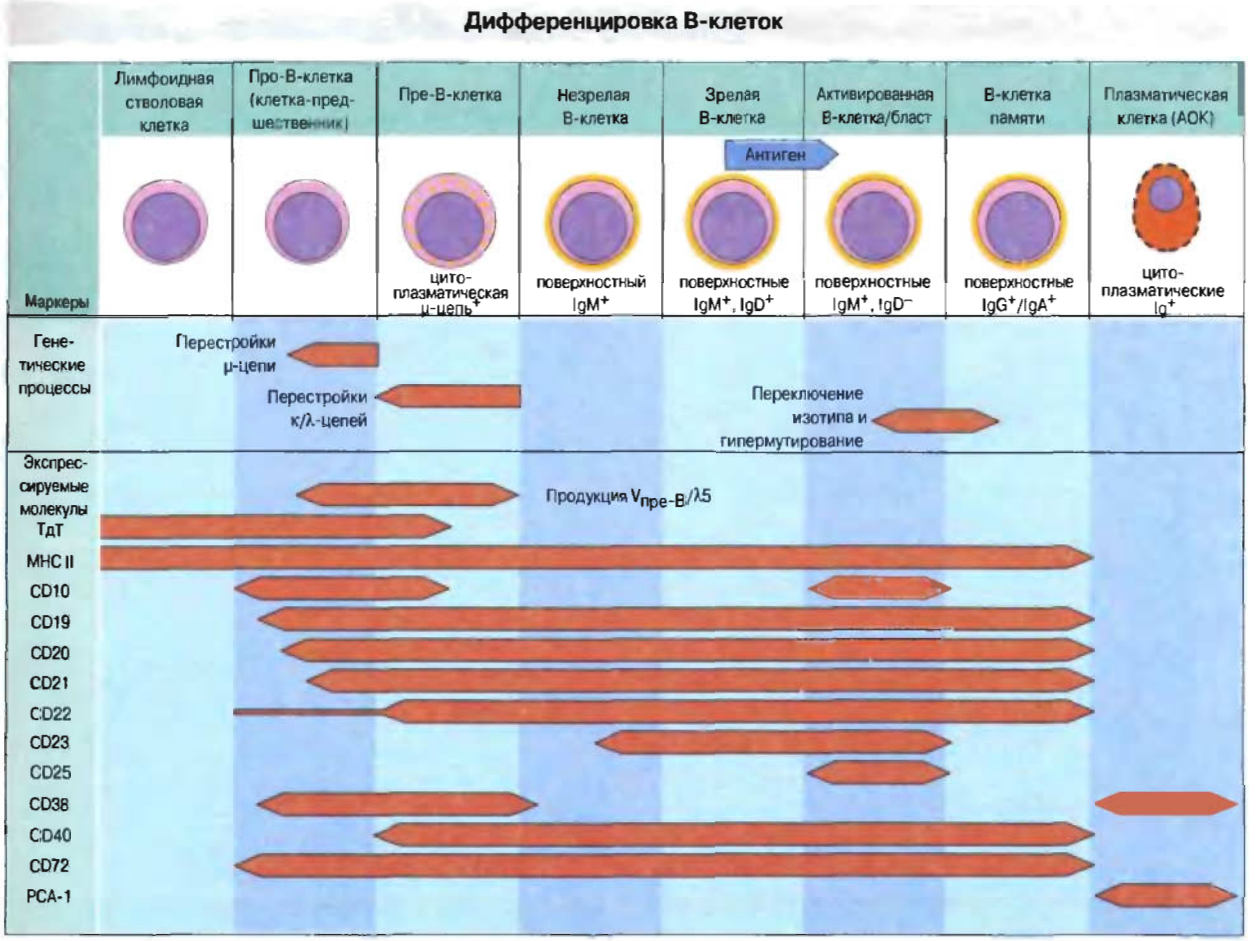


Рис. 12.14
Из лимфоидных стволовых клеток образуются девственные (нестимулированные) В-клетки, которые под действием антигена могут превращаться в клетки иммунологической памяти или в плазматические клетки. Желтым цветом показана локализация иммуноглобулинов в клетке. В процессе созревания клеток-предшественников происходит перестройка генов, кодирующих антитела. Пре-В-клетки экспрессируют только цитоплазматическую μ-цепь. Некоторые из них могут экспрессировать свои μ-цепи в ассоциации с суррогатными легкими цепями (*рис. 12.13*). Незрелые В-клетки несут на поверхности IgM, а зрелые – иммуноглобулины других изотипов. При антигенной стимуляции В-клетки пролиферируют и после фазы пролиферации, активации и бласттрансформации превращаются либо в плазматические клетки, либо в клетки иммунологической памяти. Клетки памяти и плазматические клетки присутствуют в различных лимфоидных тканях. Терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза (ТдТ) экспрессируется на очень ранних стадиях онтогенеза. На схеме показана также последовательность появления других важных поверхностных маркеров В-клеток. Плазмоцитарный антиген-1 (PCA-1) обнаруживается только на плазматических клетках. Обратите внимание, что CD38 – это одна из молекул, которые присутствуют на поверхности ранних клеток-предшественников, затем исчезают и вновь появляются на мембране уже полностью дифференцированных плазматических клеток.

На развивающихся В-клетках появляются характерные молекулы поверхности

В процессе развития В-клеток происходят перестройка генов иммуноглобулинов и фенотипические изменения, сходные с описанными выше для Т-клеток. Самым ранним указанием на начало В-клеточной линии дифференцировки служит перестройка генов тяжелых цепей Ig в В-клетках-предшественниках. На последующих стадиях развития пре-В-клеток перестраиваются гены

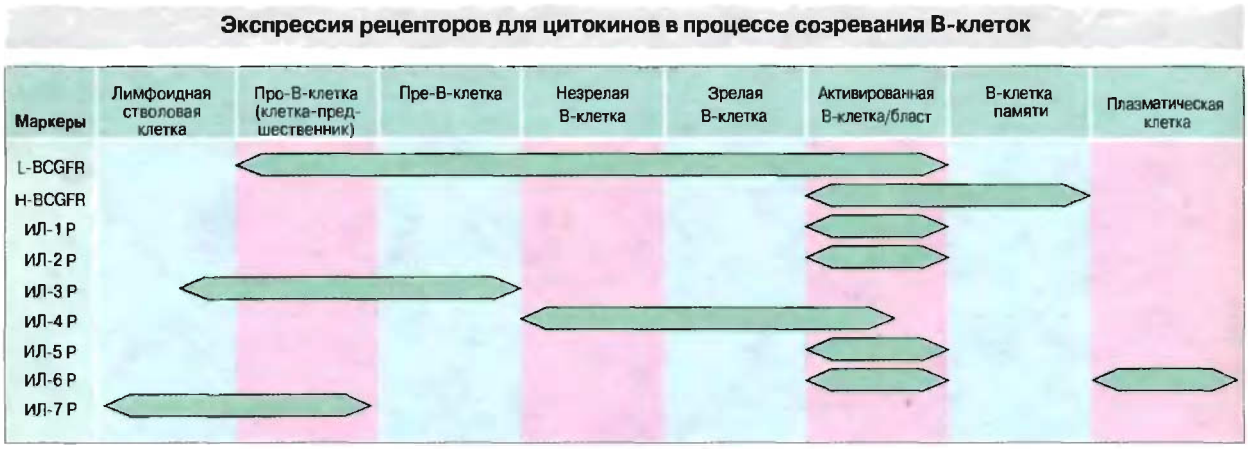


Рис. 12.15
Весь жизненный цикл В-клеток от стволовой до зрелой плазматической клетки регулируется присутствующими в их микроокружении цитокинами. (Важную роль в начале дифференцировки играет ИЛ-7.) Рецепторы для этих цитокинов избирательно экспрессируются В-клетками на различных стадиях дифференцировки. Некоторые из таких рецепторов теперь имеют обозначение как CD-маркеры (см. приложение).

легких цепей. Раньше начала синтеза иммуноглобулинов экспрессируются некоторые поверхностные маркеры В-клеток, а именно молекулы MHC класса II, CD19, CD20, CD21, CD40 и антиген CD10 (CALLA). Последний из этих маркеров представляет собой высококонсервативную нейтральную эндопептидазу, временно экспрессируемую на ранних прешественниках В-клеток еще до появления в цитоплазме тяжелых μ-цепей. Позднее, уже после активации антигеном, В-клетки вновь начинают экспрессировать антиген CALLA (*рис. 12.14*). Другие маркеры, например CD23 и CD25 (α-рецептор для ИЛ-2), обнаруживаются главным образом на активированных В-клетках.

Ранние этапы развития В-клеток зависят от ряда факторов роста и дифференцировки. На разных стадиях дифференцировки В-клетки экспрессируют рецепторы для этих факторов. Процесс дифференцировки инициируют ИЛ-7, ИЛ-3 и низкомолекулярный фактор роста В-клеток (L-BCGF), тогда как на последующих стадиях действуют иные факторы (*рис. 12.15*).

В-клетки мигрируют во вторичные лимфоидные ткани, где осуществляют свои функции

Ранние В-клетки-«иммигранты» (у человека на 17 неделе внутриутробного развития) в селезенке и лимфоузлах плода являются $sIgM^+$-клетками, на поверхности которых присутствует CD5 (предполагаемый маркер Т-клеток). В-клетки-предшественники $CD5^+$ обнаруживаются также в сальнике плода и в зоне мантии вокруг вторичных фолликулов зрелых лимфоузлов.

После антигенной стимуляции зрелые В-клетки могут превращаться в клетки иммунологической памяти или в антителообразующие клетки (АОК). Плазматические клетки (окончательно дифференцированная форма АОК) обычно теряют поверхностные иммуноглобулины (sIg), поскольку функция этих Ig в качестве рецепторов им больше не нужна. Подобно всем другим окончательно дифференцированным гемопоэтическим клеткам плазматическая клетка имеет ограниченную продолжительность жизни и в конце концов подвергается апоптозу (см. *рис. 2.23*).

Незрелые и зрелые В-клетки отвечают на антиген по-разному. При обработке антителами анти-IgM или антигеном и те и другие теряют sIgM, молекулы которого удаляются путем кэппинга и эндоцитоза. Однако ресинтез sIgM наблюдается в культуре только у зрелых В-клеток (*рис. 12.16*). Такая индуцированная потеря антигенного рецептора может служить одним из механизмов приобретения аутореактивными В-клетками толерантности в процессе их созревания.

У птиц В-клетки созревают в фабрициевой сумке

Лимфопоэз В-клеток у птиц начинается в специальном лимфоэпителиальном органе – фабрици-

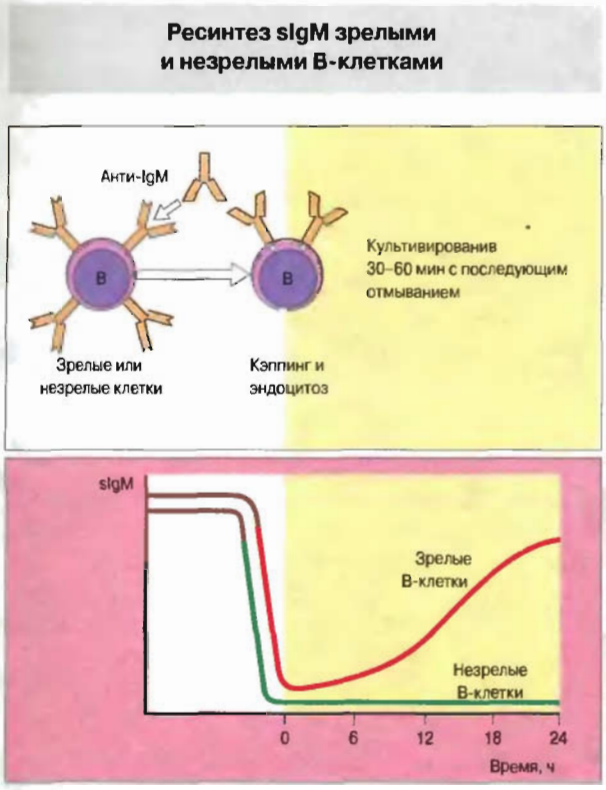


Рис. 12.16
Зрелые (от взрослых) и незрелые (от новорожденных) В-клетки инкубировали при 37 °С с антителами к sIgM (анти-IgM) в течение 30–60 мин; это приводило к кэппингу молекул sIgM и их интернализации путем эндоцитоза. Затем клетки отмывали от добавленных антител. Как видно на рисунке, только зрелые В-клетки за последующие 24 ч восстанавливали синтез sIgM.

евой сумке. Закладка ее развивается из выпячивания эндодермы задней кишки и заселяется стволовыми клетками из крови. Исследования на химерах курица/куропатка показывают, что стволовые клетки проникают в сумку только в период между 10 и 14 сутками эмбрионального развития (см. гл. 15). Пиронинофильные клетки (предположительно стволовые) находятся в тесном контакте с эпителиальными клетками. Пролиферирующие клетки сумки образуют корковый и мозговой слои каждого фолликула, который может заселяться одной или несколькими стволовыми клетками.

РАЗНООБРАЗИЕ СПЕЦИФИЧНОСТЕЙ АНТИТЕЛ

Разнообразие (репертуар) антител создается путем перестройки генов

В любой соматической клетке вариабельные участки генов, включающие сегменты V, D и J, находятся в гаметной конфигурации (см. гл. 8). На ранних стадиях развития В-клеток происходит делеция промежуточных последовательностей между сегментами D и J и эти сегменты сближаются. На стадии В-клеток-предшественников происходит дальнейшая перестройка V-, D- и J-сегментов вариабельного участка генов тяжелых цепей (VH) (*рис. 12.14*). Рекомбинированный ген крупной пре-В-клетки экспрессируется с образованием μ-цепи, локализованной в цитоплазме. Эти активно пролиферирующие В-клетки-предшественники затем перестраивают свои Vκ-гены, а если такая перестройка оказывается непродуктивной, то и Vλ-гены. При продуктивной перестройке генов легких цепей незрелая В-клетка экспрессирует на своей поверхности μ-цепи в сочетании с имеющейся легкой цепью (κ или λ). Клетки, в которых происходит непродуктивная перестройка генов, погибают в результате апоптоза. Этим объясняется гибель столь значительного количества пре-В-клеток в ходе их созревания (см. выше). В случае появления в незрелых В-клетках после перестройки генов таких легких цепей рецепторов, которые специфичны по отношению к собственным антигенам, легкие цепи могут подвергаться дальнейшей перестройке (так называемое «редактирование» рецепторов). Экспрессия μ-цепей с суррогатными легкими цепями до появления κ- и λ-цепей (на стадии пре-В-клеток), возможно, важна для селекции В-клеток на ранних стадиях развития (см. выше).

Разнообразие антител формируется не совсем случайным образом

Как только начинают продуцироваться κ- или λ-цепи, поверхностный IgM на незрелых В-клетках приобретает свойства функционального антигенного рецептора. Считается, что V-, D- и J-сегменты для тяжелых цепей, как и V- и J-сегменты для легких цепей в В-клетках перестраиваются случайным образом. Однако данные, полученные на мышах, крысах и цыплятах, указывают на то, что формирование специфичностей антител происходит в запрограммированной последовательности (*рис. 12.17*). Продукция антител в отличие от распознавания антигенов В-клетками

Формирование иммунореактивности

Возраст, сут	*Brucella*	ЭБ	ЭО	ГЛУ	SSS_{III}
0	4,7	0	0	0	0
1	5,3	0	0	0	0
2		0	0		
3	7,3	2,9	0	0	0
4		5,4	0		
7			0,6	0	0
10–11			3,0	7,7	0
14–15			4,3	10,4	16%
20–22					70%
28					88%

Рис. 12.17
Крыс различного возраста иммунизировали одним из 5 разных антигенных препаратов – *Brucella abortus*, эритроциты барана (ЭБ), эритроциты осла (ЭО), ГЛУ и пневмококковый полисахарид III типа (SSS_{III}), после чего определяли продукцию антител. Реакции на первые четыре препарата представлены как $\log_2$ титров антител, а на SSS_{III} – как процент реагирующих особей. Пустые клетки означают отсутствие данных. Обратите внимание, что способность реагировать на разные антигены появляется в разное время. Это говорит о запрограммированной последовательности появления антител разной специфичности.

зависит как от Т-клеток, так и от АПК. Механизм запрограммированного формирования специфичностей в В-клетках на молекулярном уровне остается неясным; возможно, он состоит либо в избирательном использовании сегментов V-гена, ближайших к D- и J-сегментам, с перемещением соответствующих рекомбиназ в направлении 3′-конца, либо в отрицательной селекции отдельных клонов (возможно, аутореактивных), либо включает оба эти пути.

В-лимфоциты $CD5^+$ – отдельная субпопуляция

Многие В-клетки, появляющиеся на ранних стадиях онтогенеза, экспрессируют CD5. Иммуноглобулины таких клеток кодируются немутировавшими или лишь минимально мутировавшими гаметными генами. Хотя В-клетки $CD5^+$ продуцируют главным образом IgM, в них синтезируется и некоторое количество IgG и IgA. Эти так называемые естественные антитела обладают низкой авидностью, но иногда бывают полиреактивными и в сыворотке зрелых особей присутствуют в высокой концентрации. Клетки $CD5^+$ активно реагируют на Т-независимые антигены, возможно принимают участие в процессинге и презентации антигенов В-клетками, а также, вероятно, играют определенную роль в толерантности и в развитии гуморального иммунного ответа (образовании антител). Предполагается, что естественные антитела формируют первую линию защиты от микробов, очищают организм от поврежденных собственных компонентов и участвуют в формировании идиотипических сетей иммунной системы.

РАЗНООБРАЗИЕ КЛАССОВ АНТИТЕЛ

В-клетки вырабатывают антитела пяти основных классов: IgM, IgD, IgG, IgA и IgE. Существуют также четыре подкласса IgG и два подкласса IgA (см. гл. 6). Каждая окончательно дифференцированная плазматическая клетка происходит из специфической В-клетки и продуцирует антитела лишь одного класса или подкласса.

В-клетки переключаются на синтез иммуноглобулинов другого класса за счет рекомбинации генов тяжелых цепей

Первые появляющиеся в процессе развития В-клетки несут в качестве антигенного рецептора IgM (см. выше). Затем начинается экспрессия и других классов иммуноглобулинов. То, что клетки, несущие на поверхности не IgM, а иммуноглобулины других классов, являются потомками IgM-несущих клеток, доказано в опытах на цыплятах и мышах: после введения антител анти-μ животные теряли способность вырабатывать антитела, принадлежащие к любому классу иммуноглобулинов. За образование классов и подклассов антител ответственны гены константной области, кодирующие различные тяжелые цепи (Сн). Эти гены группируются на 3′-конце локуса тяжелых цепей иммуноглобулинов (Igh) и у человека расположены в определенной последовательности в 14 хромосоме. Переключение В-клеток с продукции IgM на синтез иммуноглобулинов других классов или подклассов происходит в результате рекомбинации повторяющихся 3′-участков переключения (такой участок имеется перед каждым Сн-геном) и делеции промежуточных Сн-генов. Этот процесс, называемый переключением класса (изотипа), подробно описан

в гл. 8. Некоторые В-клетки экспрессируют на поверхности изотипы IgM и IgD; это обеспечивается дифференциальным сплайсингом длинных ядерных РНК-транскриптов Сн-генов.

Переключение изотипа происходит в процессе созревания и пролиферации В-клеток

Переключение изотипа происходит главным образом в процессе пролиферации В-клеток, однако может иметь место и во время ранней клональной экспансии и созревания В-клеток, еще до их встречи с экзогенным антигеном (*рис. 12.18*). Об этом свидетельствует тот факт, что некоторые потомки незрелых В-клеток синтезируют антитела, принадлежащие к другим классам иммуноглобулинов, в том числе IgG и IgA. Дальнейшая дифференцировка В-клеток приводит к синтезу поверхностных IgD – класса антител, присутствующего почти исключительно на мембране В-клеток. Разные классы sIg на одной и той же В-клетке обладают одинаковой антигенной специфичностью, т. е. представляют одну и ту же V-область генов, хотя позднее, уже после переключения, в результате соматических мутаций может формироваться и дополнительное разнообразие sIg в пределах одного и того же клона. Данные о том, что переключение класса иммуноглобулинов возможно и без воздействия антигена, были получены в опытах на позвоночных, развивающихся в гнотобиотической (практически стерильной) среде, т. е. в условиях, резко ограничивающих возможность попадания в организм экзогенных антигенов.

На экспрессию изотипов может влиять тип антигена

Некоторые антигены индуцируют выработку антител преимущественно определенного изотипа. Например, углеводы бактериальной клеточной стенки вызывают у мыши независимый от Т-клеток иммунный ответ – продукцию антител главным образом IgG3-изотипа, тогда как в ответ на вирусную инфекцию чаще образуются антитела IgG2a-изотипа. У человека среди антиполисахаридных антител преобладают антитела IgG2-изотипа. В основе такой избирательности образования изотипов могут лежать два механизма:

- спонтанное переключение класса иммуноглобулинов до селекции клонов В-клеток (*рис. 12.18*) и
- переключение, индуцированное de novo в результате взаимодействия с цитокинами – продуктами вспомогательных клеток – и с Т-клетками.

В настоящее время участие Т-клеток и их цитокинов в переключении изотипа de novo не вызывает сомнений. У мыши Т-клетки стимулируют

Дифференцировка В-клеток: разнообразие классов иммуноглобулинов

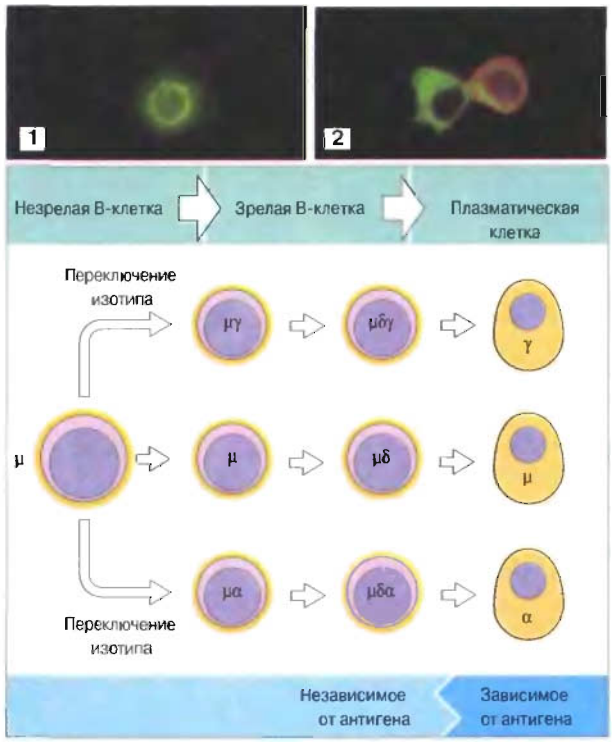


Рис. 12.18
Незрелые В-клетки продуцируют только IgM, тогда как зрелые способны экспрессировать несколько поверхностных антител, поскольку мРНК и поверхностные иммуноглобулины сохраняются и после переключения класса. IgD экспрессируется также в процессе созревания клона. Созревание может происходить в отсутствие антигена, но дифференцировка в плазматические клетки (которые на своей поверхности экспрессируют незначительное количество иммуноглобулинов, но содержат большое их количество в цитоплазме) требует присутствия антигена и (как правило) помощи со стороны Т-клеток. На фотографиях: В-клетки, окрашенные на поверхностный IgM флуоресцентно меченными антителами анти-μ (зеленый цвет, **1**), и плазматические клетки, окрашенные на цитоплазматические IgM (флуоресцентно меченными антителами анти-μ) и IgG (антителами анти-γ, связанными с родамином) (зеленый и красный цвет соответственно, **2**).

Регуляция изотипов цитокинами мышиных Т-клеток

Тх	Цитокины	Изотипы иммуноглобулинов					
		IgG1	IgE	IgA	IgG3	IgG2b	IgG2a
Тх2	ИЛ-4	↑	↑	↓	↓	↓	↓
	ИЛ-5	=	=	↑	=	=	=
Тх1	ИФγ	↓	↓	↓	↓	↓	↑

Рис. 12.19
Эффекты цитокинов ИФγ (продукт клеток Тх1) и ИЛ-4/ИЛ-5 (продукты клеток Тх2), вызывающие возрастание (↑) или уменьшение (↓) либо не влияющие (=) на долю В-клеток, продуцирующих специфические изотипы, после стимуляции in vitro поликлональным активатором антителогенеза – липополисахаридом. Цитокин ИФγ индуцирует продукцию IgG2a, ИЛ-4 – продукцию IgG1 и IgE, а ИЛ-5 увеличивает число В-клеток, секретирующих IgA.

Иммуноглобулины в сыворотке плода и новорожденного

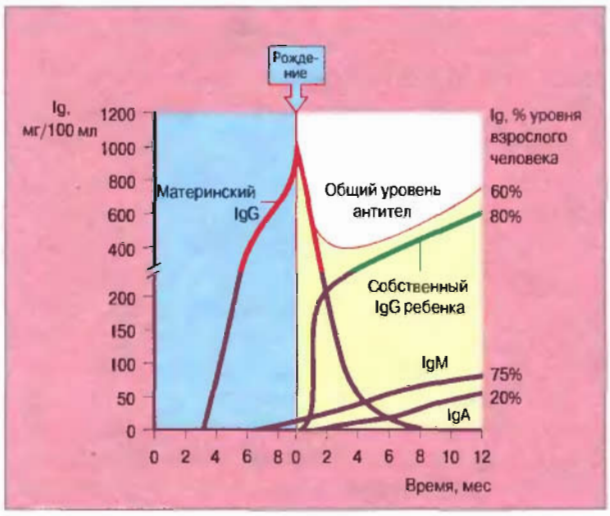


Рис. 12.20
У плода и новорожденного IgG имеет исключительно материнское происхождение. К 9-месячному возрасту материнский IgG исчезает и у младенца начинает синтезироваться собственный IgG. В организме новорожденного вырабатываются также собственные IgM и IgA; иммуноглобулины этих классов не проникают через плаценту. У годовалого ребенка продукция IgG составляет 80%, IgM – 75% и IgA – 20% их уровня у взрослого человека.

продукцию IgA в слизистых оболочках. Цитокин ИЛ-4 переключает поликлонально активированные (липополисахаридом, ЛПС) В-клетки на преимущественный синтез изотипа IgG1, одновременно подавляя экспрессию других изотипов (*рис. 12.19*). В аналогичной системе ИЛ-5 индуцирует 5–10-кратное возрастание продукции IgA, не влияя на выработку других изотипов, а ИФγ усиливает выработку IgG2a, но подавляет продукцию всех других изотипов Ig. Примечательно, что цитокины ИЛ-4 и ИФγ, реципрокно регулирующие экспрессию изотипов антител, продуцируются разными субпопуляциями Т-хелперов. У мыши Тх1-клетки выделяют ИФγ, а Тх2-клетки – ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-10 (см. гл. 10). Недавно аналогичные субпопуляции были обнаружены и у человека, причем, как установлено, у лиц, страдающих атопией, продуцируемый Т-клетками ИЛ-4 стимулирует гиперпродукцию IgE (см. гл. 23).

Последовательность появления иммуноглобулинов разных классов в ходе созревания В-клеток у человека можно проследить по характеру антител в сыворотке плода и новорожденного. До рождения синтезируется IgM, а в перинатальный период появляются IgG и IgA (*рис. 12.20*). Концентрация IgG в сыворотке достигает «взрослого» уровня лишь к 1–2-летнему возрасту, а концентрация IgA еще позднее.

ОБРАЗОВАНИЕ В-КЛЕТОК ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ

При активации антигеном (с помощью Т-клеток) В-клетки либо созревают в АОК, а затем, достигая окончательной стадии дифференцировки, в плазматические клетки, либо превращаются в клетки памяти. Получены убедительные доказательства того, что важную роль в качестве места формирования В-клеток памяти играют центры размножения в различных периферических лимфоидных тканях (см. гл. 3 и 11). Здесь в В-клетках происходит активное гипермутирование генов вариабельной области антител, в результате которого одни клетки погибают (апоптоз), а другие выживают. Презентация антигена фолликулярными дендритными клетками внутри центров размножения обеспечивает выживание клеток, обладающих высокоаффинными рецепторами к чужеродному антигену.

Строение центра размножения

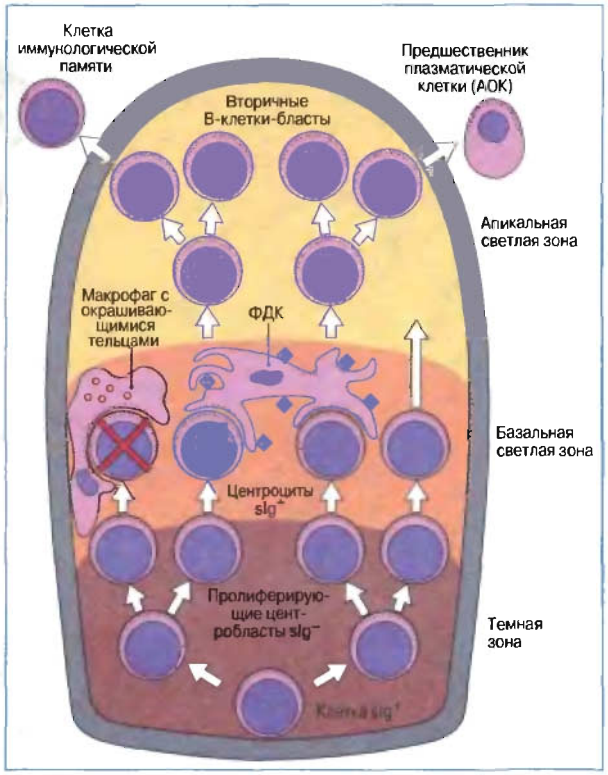


Рис. 12.21
В центрах размножения происходит клональная пролиферация, переключение класса Ig, соматическое гипермутирование генов Ig-рецепторов и селекция антигеном. Как видно на схеме, центр размножения состоит из трех основных зон: темной, базальной светлой и апикальной светлой. Они заполнены преимущественно центробластами, центроцитами и вторичными бластами соответственно. Первичные В-клетки-бласты, экспрессирующие на своей поверхности иммуноглобулиновые рецепторы (sIg^+) поступают в фолликул и покидают его либо в виде В-клеток памяти, либо в виде АОК. Антигенпрезентирующие фолликулярные дендритные клетки (ФДК) присутствуют главным образом в двух более глубоких зонах. Апоптотическая гибель клеток происходит в основном в базальной светлой зоне, где локализованы также макрофаги, содержащие окрашивающееся тельца. Голубыми квадратиками изображены иккосомы на ФДК. (По Roitt I.M. *Essential Immunology*, 7th edn. Oxford: Blackwell Scientific Press; 1991.)

Этот процесс заслуживает более подробного описания. Антигенспецифические В-клетки, колонизирующие первичные лимфоидные фолликулы, примируются антигеном и превращаются в бласты. Одна или очень немногие В-клетки-бласты проникают в первичные лимфоидные фолликулы и образуют центр размножения (*рис. 12.21*). Бласты пролиферируют с высокой скоростью и в течение 3–4 суток их количество достигает примерно 10^4. На 4 сутки они трансформируются в центробласты, лишенные поверхностных иммуноглобулинов, и мигрируют во внутреннюю область вторичного фолликула, где формируют темную зону центра размножения. Из центробластов образуются центроциты, которые вновь начинают экспрессировать на своей поверхности иммуноглобулины и занимают базальную светлую зону центра размножения. В это время происходит переключение класса иммуноглобулинов. Считается, что гипермутирование генов вариабельной области антител происходит после стимуляции антигеном, презентированным фолликулярными дендритными клетками (ФДК). Центроциты находятся в тесном контакте с ФДК; взаимодействие между ними происходит при участии молекул лимфоцитарной поверхности LFA-1 (CD11a/CD18) и VLA-4 ($\alpha_4\beta_1$-интегрин, CD49d/CD29) и экспрессируемых на поверхности ФДК молекул ICAM-1 (CD54) и VCAM-1 (CD106). Эффективное взаимодействие центроцитов, несущих высокоаффинные рецепторы для антигена, презентируемого ФДК, приводит к образованию активированных клеток, которые покидают вторичные фолликулы либо в виде клеток иммунологической памяти, либо в виде предшественников плазматических клеток. Без взаимодействия с ФДК центроциты погибают в результате апоптоза.

Вопросы для размышления

- Какие факторы необходимы для развития гранулоцитов из гемопоэтических стволовых клеток?
- Чем отличается развитие миелоидных клеток от развития лимфоидных клеток? Почему оно должно быть различным?
- На какие основные стадии можно разделить процесс созревания Т-клеток в тимусе?
- В чем сходство и различие процессов созревания Т- и В-клеток?
- Почему апоптоз клеток играет столь значительную роль при дифференцировке лимфоцитов?
- В чем состоят основные функции центров размножения?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Anderson G., Moore N.C., Owen J.T.T. et al. 1996. Cellular interactions in thymocyte development. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 73–99.

Karasuyama H., Rolink A., Melchers F. 1996. Surrogate light chain in B cell development. *Adv. Immunol.* **63**: 1–41.

Kisielow P., von Boehmer H. 1995. Development and selection of T cells; facts and puzzles. *Adv. Immunol.* **58**: 87–209.

Robey E., Fowlkes B.J. 1996. Selective events in T cell development. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 675–705.

Wagner S.D., Neuberger M.S. 1996. Somatic hypermutation of immunoglobulin genes. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 441–57.

Регуляция иммунного ответа

13

- **Иммунный ответ регулируется разнообразными механизмами,** которые обеспечивают восстановление исходного состояния иммунной системы, после того как реакция на данный антиген перестает быть необходимой.
- **Конечный результат любого иммунного ответа зависит от многих факторов,** в том числе от свойств антигена, его дозы и пути поступления, а также от генетических особенностей организма.
- **Иммуноглобулины могут играть в иммунном ответе положительную роль,** действуя как антиидиотипические антитела или образуя иммунные комплексы. Возможна и отрицательная роль Ig в иммунном ответе, когда они ослабляют антигенный стимул, маскируя детерминанты антигена в результате связывания или способствуя выведению антигена из организма.
- **Иммунный ответ может зависеть от способности антигенпрезентирующих клеток обеспечивать костимуляцию Т-лимфоцитов.**
- **Регуляцию иммунного ответа способны осуществлять Т-клетки.** Опыты с переносом иммунокомпетентных клеток показали, что Т-лимфоциты $CD4^+$ могут подавлять последующие иммунные ответы. Регуляторный эффект оказывают и Т-клетки $CD8^+$. Продукция цитокинов Т-лимфоцитами влияет на тип иммунного ответа, вызываемого антигеном.
- **Генетически иммунный ответ зависит как от генов МНС, так и от не относящихся к МНС генов.** Кроме того, поскольку на него влияет нейроэндокринная система, он зависит и от генетических факторов, определяющих функции этой системы.

Иммунный ответ, как и все биологические функции, находится под контролем разнообразных регуляторных механизмов. Эти механизмы обеспечивают восстановление исходного, «неактивного» состояния иммунной системы, когда иммунный ответ на данный антиген более не требуется. Эффективный иммунный ответ – результат взаимодействия между антигеном и целой сетью иммунокомпетентных клеток. Характер иммунного ответа, как в количественном, так и в качественном отношении, зависит от многих факторов, в том числе от типа антигена, его дозы и пути поступления, от свойств антигенпрезентирующих клеток (АПК) и генетических особенностей организма, а также от предшествующего контакта иммунной системы с данным или перекрестнореагирующим антигеном. На иммунный ответ способны влиять специфические антитела. Некоторые из перечисленных регуляторных факторов подробно рассмотрены в других главах (см. гл. 10 и 11) и в настоящей главе обсуждаются лишь кратко.

АНТИГЕН КАК ФАКТОР ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ

Активация Т- и В-клеток происходит в результате эффективного связывания антигенного материала их антигенспецифичными рецепторами. Рецепторы Т-клеток взаимодействуют не с нативным антигеном, а с образовавшимися в результате его процессинга пептидными фрагментами, ассоциированными с молекулами МНС класса I или II (см. гл. 9). На результат иммунного ответа существенно влияет природа антигена, его доза и способ введения.

Тип иммунного ответа зависит от природы антигена

Различные антигены индуцируют иммунные ответы разных типов. Полисахаридные капсульные антигены бактерий обычно вызывают только гуморальный ответ (образование IgM), тогда как их белковые антигены – и клеточный, и гуморальный ответы. Микроорганизмы, локализующиеся внутри клеток организма-хозяина, в частности некоторые бактерии, паразиты и вирусы, индуцируют клеточный иммунный ответ, а растворимые белковые антигены – гуморальный. Клеточный иммунный ответ вызывают и такие антигены, как кремнийсодержащие соединения.

Эффективный иммунный ответ обеспечивает элиминацию антигена из организма. После этого лимфоциты возвращаются в состояние покоя (для поддержания пролиферации Т- и В-клеток

необходим постоянный контакт с антигеном). Однако некоторые антигены (например, компоненты внутриклеточно локализующихся микроорганизмов) могут не столь эффективно удаляться из организма, что приводит к продолжению иммунного ответа в течение длительного времени с патологическими последствиями для организма (см. гл. 26).

В больших дозах антиген может индуцировать толерантность

Введение очень высокой дозы антигена нередко вызывает развитие специфической Т-клеточной, а иногда и В-клеточной толерантности. Подобный феномен часто наблюдается в случае инъекции антигена новорожденным мышам. Долгое время причиной этого считали незрелость иммунной системы. Однако теперь установлено, что у новорожденных мышей могут развиваться и полноценные иммунные реакции (*рис. 13.1*); отсутствие же иммунного ответа в ряде случаев связано не с незрелостью Т-клеток, а с так называемым иммунным отклонением, при котором доминирует образование непротективных цитокинов II типа вместо протективных цитокинов I типа. Как установлено, Т-независимые полисахаридные антигены при введении в больших дозах индуцируют толерантность В-клеток. Феномен иммунологической толерантности и ее механизмы рассмотрены в гл. 14.

Влияние дозы антигена на эффективность иммунного ответа против вируса мышиного лейкоза

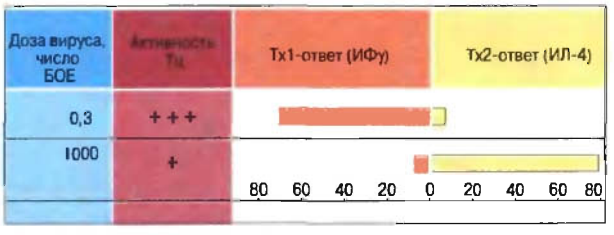


Рис. 13.1
Новорожденных мышей инфицировали вирусом в дозах 0,3 или 1000 бляшкообразующих единиц (БОЕ) и изучали действие цитотоксических Т-лимфоцитов (Тц) на инфицированные вирусом клетки-мишени. Одновременно определяли продукцию ИФγ (Тх1-цитокин) и ИЛ-4 (Тх2-цитокин) в ответ на заражение вирусом. У мышей, инфицированных низкой дозой вируса, возникали Тх1-ответ и защита от инфекции. Результаты представлены в относительных единицах.

В зависимости от пути поступления антигена иммунный ответ может возникнуть или отсутствовать

Как установлено, немаловажное значение для возникновения иммунного ответа имеет способ введения антигена. Антигены, введенные подкожно или внутрикожно, вызывают иммунный ответ, тогда как при внутривенной инъекции, приеме внутрь или применении в виде аэрозоля они могут индуцировать толерантность либо иммунное отклонение. (В последнем случае вместо ответа, опосредуемого Т-клетками $CD4^+$ одного типа, возникает реакция, опосредуемая Т-лимфоцитами $CD4^+$ другого типа.) Например, грызуны в случае приема овальбумина (ОА) или основного белка миелина (ОБМ) с кормом не реагируют на последующую стимуляцию соответствующим антигеном. Более того, применение ОБМ защищает животных от развития аутоиммунного заболевания — экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ). Этот феномен может быть использован с терапевтической целью при аллергических расстройствах; недавно проведенные исследования показали, что пероральное введение Т-клеточного эпитопа аллергена Der p1 клеща домашней пыли может обеспечить толерантность к нативному антигену. Механизмом(ами) толерантности при этом может быть как анергия, так и иммунное отклонение.

Подобные наблюдения были сделаны и при использовании антигенов в форме аэрозолей. Эксперименты, проведенные на мышах, показали, что введение энцефалитогенного пептида интраназально в виде аэрозоля снижает интенсивность развития ЭАЭ, который возникает при последующем обычном (подкожном) способе введения пептида (*рис. 13.2*). Этот факт также может иметь значение для разработки методов лечебного воздействия, поскольку ингибировать ответ способен не только данный антиген, применяемый в виде аэрозоля, но и другие антигены, вызывающие ЭАЭ.

Наглядный пример того, как может влиять на иммунный ответ способ введения антигена, дало изучение инфекции, вызываемой у мыши вирусом лимфоцитарного хориоменингита (ВЛХМ). У мышей, примированных пептидом в неполном адъюванте Фрейнда путем его подкожного введения, развивается иммунитет к ВЛХМ. Однако, если тот же пептид введен внутрибрюшинно, животные становятся толерантными и теряют способность элиминировать вирус (*рис. 13.3*).

Введение антигена в виде аэрозоля влияет на иммунный ответ

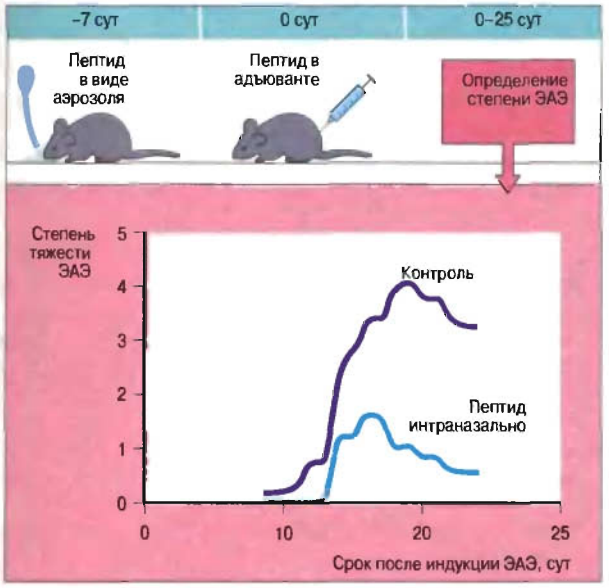


Рис. 13.2
Мышам вводили интраназально в виде аэрозоля однократную дозу 100 мкг пептида (остатки 1–11 основного белка миелина) либо носителя и через 7 сут тот же пептид, на этот раз в адъюванте, подкожно. У мышей, предварительно обработанных пептидом, тяжесть заболевания ЭАЭ была существенно меньше.

Инактивация ВЛХМ-специфичных Т-клеток, индуцированная пептидом

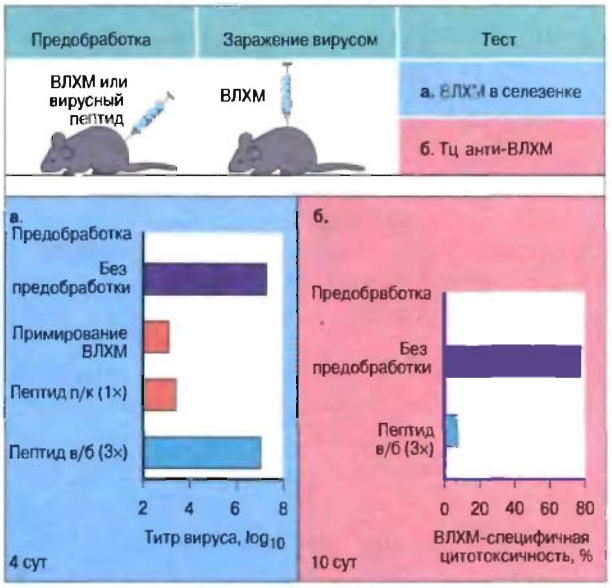


Рис. 13.3
Мышей примировали ВЛХМ или вводили им 100 мкг пептида ВЛХМ. Пептид инъецировали в неполном адъюванте Фрейнда либо подкожно (п/к), либо трижды внутрибрюшинно (в/б). После этого мышей инфицировали ВЛХМ (0 сут). На 4 сут определяли титр вируса в селезенке животных. У мышей, которым предварительно вводили пептид или ВЛХМ подкожно, происходил синтез нейтрализующих антител и развивалась защитная иммунная реакция против вируса; у животных, получивших пептид внутрибрюшинно, иммунитета не возникало. На 10 сут определяли цитотоксическую активность Т-клеток. Активность Тц, специфичная к пептиду ВЛХМ, была обнаружена в контрольном варианте (отсутствие предварительной обработки); в варианте с внутрибрюшинным предварительным введением пептида эта активность практически отсутствовала.

АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

Природа АПК, осуществляющих первоначальное представление антигена, может определять тип вызываемой им реакции – полноценный иммунный ответ или толерантность. Для эффективной активации Т-клеток необходимо присутствие на поверхности АПК костимулирующих молекул (см. гл. 11). Поэтому презентация антигена дендритными клетками или активированными макрофагами, которые экспрессируют в большом количестве антигены MHC класса II и наряду с ними костимулирующие молекулы, ведет к высокоэффективной активации Т-клеток (см. *рис. 11.4*). Кроме того, взаимодействие молекул CD40L, экспрессируемых на поверхности активированных Т-лимфоцитов, и CD40 на поверхности дендритных клеток обеспечивает интенсивную продукцию этими последними ИЛ-12, необходимого для эффективного Тх1-ответа. Если же антиген презентируют Т-клеткам «непрофессиональные» АПК, которые неспособны обеспечить костимуляцию, возникает ареактивность или иммунное отклонение. Так, представление антигена нестимулированным Т-клеткам покоящимися В-лимфоцитами вызывает не активацию, а толерантность Т-клеток. Адъюванты могут способствовать развитию иммунного ответа тем, что они индуцируют экспрессию антигенов MHC и костимулирующих молекул с большой плотностью на поверхности АПК. Иллюстрацией этого служат результаты недавно проведенных экспериментов по изучению механизмов

толерантности у новорожденных животных как более чувствительных к индукции толерантности, чем взрослые. Эти исследования показали, что резистентность к ЭАЭ, вызываемая введением ОБМ в неполном адъюванте Фрейнда, связана с развитием доминантного Тх2-ответа. В возникновении ЭАЭ участвуют Тх1-клетки, а предшествующий Тх2-ответ на ОБМ предотвращает патологический Тх1-ответ.

Значение дендритных клеток в индукции ответа, опосредуемого цитотоксическими Т-лимфоцитами (Тц), установлено в экспериментах с переносом новорожденным мышам-самкам клеток от мышей-самцов. Самки, получившие спленоциты, не продуцировали Тц-ответ на последующее введение H-Y-антигена мышей-самцов. В то же время перенос дендритных клеток обеспечивал развитие полноценного, H-Y-специфичного Тц-ответа.

РЕГУЛЯТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ АНТИТЕЛ

Как установлено, антитела осуществляют регуляцию иммунного ответа по механизму обратной связи. Пассивно введенные вместе с антигеном IgM-антитела специфически усиливают иммунный ответ на данный антиген, тогда как IgG-антитела его подавляют. Первоначально это было выявлено на модели пассивной иммунизации поликлональными антителами, а затем получило подтверждение в экспериментах с использованием моноклональных антител (*рис. 13.4*).

Способность пассивно введенных антител усиливать или подавлять иммунный ответ учитывают при вакцинации и используют в клинической практике.

- Иммунизацию некоторыми вакцинами (например против кори и эпидемического паротита) проводят обычно детям старше одного года, поскольку в течение по крайней мере 6 мес после рождения в крови ребенка имеется большое количество IgG-антител, полученных от матери, а присутствие таких пассивно приобретенных антител во время вакцинации может существенно снизить ее эффективность.
- В случаях резус(Rh)-несовместимости введение резус-отрицательной матери антител анти-RhD предотвращает первичную сенсибилизацию Rh^+-эритроцитами плода, возможно в результате элиминации чужеродного антигена (эритроциты плода) из крови матери (см. гл. 24).

Механизмы модуляции иммунного ответа под влиянием антител еще недостаточно полно выяснены. Предполагается, что повышение продукции бляшкообразующих клеток при действии IgM-антител может быть обусловлено двумя факторами.

- Содержащие IgM иммунные комплексы поглощаются с участием Fc-рецепторов или C3-рецепторов на поверхности АПК и процессируются более эффективно, чем свободный антиген.
- Содержащие IgM иммунные комплексы стимулируют образование антиидиотипических антител против IgM, которые усиливают иммунный ответ. (Роль антиидиотипических антител в иммунорегуляции рассмотрена ниже.)

IgG-антитела могут подавлять синтез специфических IgG

Опосредованная IgG супрессия может осуществляться разными путями.

Блокирующее действие антител Пассивно введенные антитела связывают антиген, конкурируя с В-клетками (*рис. 13.5*). В этом случае эффект IgG-антител существенно зависит от их концент-

Антитела осуществляют регуляцию иммунного ответа по механизму обратной связи

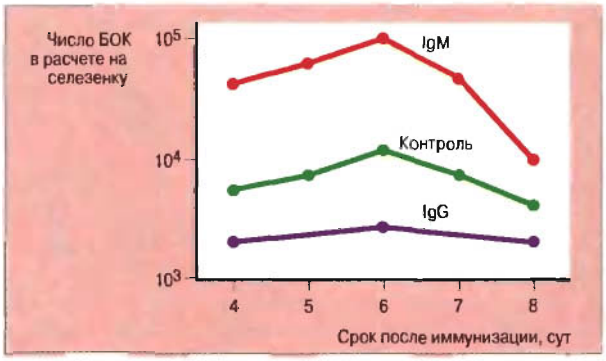


Рис. 13.4
Мышам вводили моноклональные IgM-антитела против эритроцитов барана или аналогичные IgG-антитела, либо только культуральную жидкость (контроль). Через 2 ч животных всех 3 групп иммунизировали ЭБ и на протяжении 8 последующих суток определяли продукцию антител по числу бляшкообразующих клеток (БОК). IgM-антитела усиливали иммунный ответ, тогда как IgG его подавляли.

Антителозависимая В-клеточная супрессия

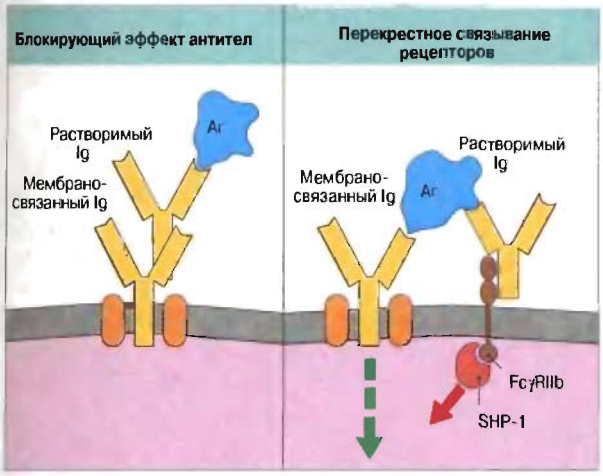


Рис. 13.5
Блокирующий эффект антител: присутствуя в высоких дозах, растворимый Ig блокирует взаимодействие между антигенной детерминантой (эпитопом) и мембраносвязанным иммуноглобулином на поверхности В-клеток. В результате В-клетки теряют способность распознавать антиген (Аг). Блокада рецепторов препятствует также примированию В-клеток. Такой эффект оказывают только антитела, связывающиеся с тем же самым эпитопом, с которым взаимодействует В-клеточный рецептор. Перекрестное связывание рецепторов: присутствуя в низких дозах, растворимые антитела не препятствуют связыванию антигена и с Fc-рецепторами В-клеток, и с их антигенными рецепторами. Рецептор FcγRIIb взаимодействует с тирозинфосфатазой (SHP-1), которая ингибирует клеточную активацию, вызываемую связанными с антигенным рецептором тирозинкиназами. В результате примирование В-клеток происходит, но синтез антител подавлен. Таким образом могут действовать антитела к различным эпитопам антигена.

Влияние антител по механизму обратной связи на созревание аффинности

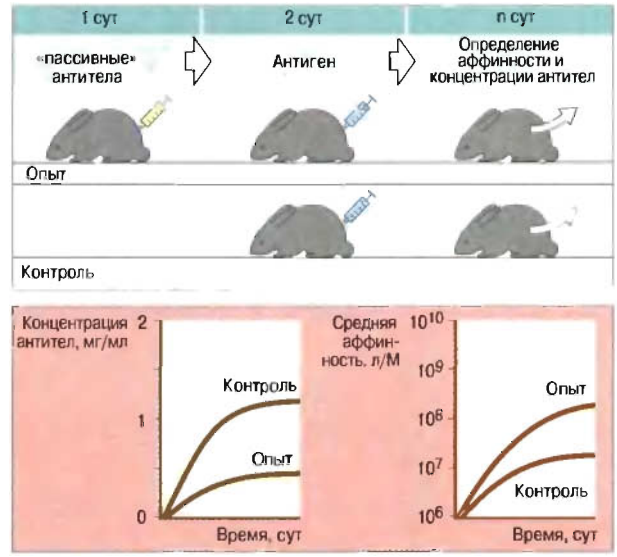


Рис. 13.6
Влияние пассивно введенных антител на аффинность и концентрацию секретируемых антител. Одному из двух кроликов в первые сутки были введены антитела («пассивные» антитела). На вторые сутки обоих животных иммунизировали антигеном и затем в течение нескольких суток определяли концентрацию и аффинность образующихся антител к введенному антигену. «Пассивные» антитела снижали концентрацию, но повышали аффинность продуцируемых антител.

рации, а также от соотношения их аффинности к антигену с аффинностью В-клеточных рецепторов. Успешно конкурируют с антителами за антиген только те В-клетки, которые обладают высокоаффинными рецепторами, причем механизм конкуренции не зависит от Fc-фрагмента антител.

Перекрестное связывание рецепторов Антитела IgG также оказывают регуляторное действие; оно обусловлено Fc-фрагментом их молекулы. Экспериментально установлено, что иммуноглобулин способен ингибировать дифференцировку В-клеток путем перекрестного связывания антигенного рецептора с Fc-рецептором (FcγRII) на поверхности той же клетки (*рис. 13.5*). В этом случае антитела могут распознавать различные эпитопы.

В дозах, недостаточных для полного подавления продукции антител, IgG повышает их среднюю аффинность в результате того, что успешно конкурировать с пассивно введенными антителами за антиген способны лишь В-клетки, обладающие высокоаффинными рецепторами. Как предполагается, регуляция по механизму обратной связи, осуществляемая антителами, играет важную роль в процессе повышения аффинности антител (*рис. 13.6*).

Иммунные комплексы могут усиливать или подавлять иммунные реакции

Один из механизмов модулирующего влияния антител (IgM или IgG) на иммунный ответ является Fc-зависимым и связан с образованием им-

Регуляторные эффекты иммунных комплексов

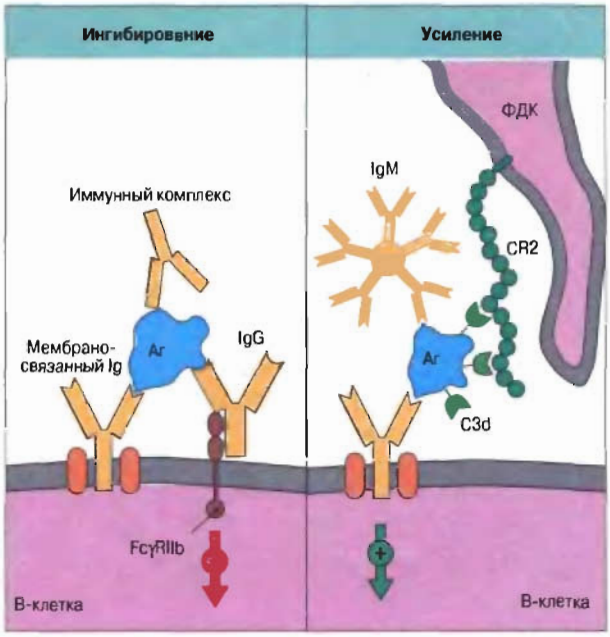


Рис. 13.7
Иммунные комплексы могут либо подавлять, либо усиливать иммунный ответ. Подавление: когда иммунный комплекс перекрестно связывает Fc-рецептор В-клетки с ее антигенным рецептором, В-клетка получает сигнал, ингибирующий начальную фазу продукции антител. Таким действием могут обладать пассивно введенные IgG-антитела.
Усиление: антитела способствуют презентации антигена В-клеткам, будучи локализованными на антиген-презентирующих клетках (АПК) за счет связывания через Fc-рецепторы или, как показано на рисунке, через рецепторы комплемента (CR2) на фолликулярных дендритных клетках (ФДК).

мунных комплексов антиген–антитело. Иммунные комплексы могут ингибировать или усиливать иммунный ответ (*рис. 13.7*). Активируя комплемент, иммунные комплексы могут локализоваться путем взаимодействия с CR2 на фолликулярных дендритных клетках. Это способствует иммунному ответу, поскольку обеспечивает постоянный источник антигена. Рецептор CR2 экспрессируется также на В-клетках, и при этом известно, что косвязывание CR2 с мембранным IgM (mIgM) активирует В-клетки; таким образом, взаимодействие иммунных комплексов с CR2, входящим в состав В-клеточного корецепторного комплекса, и mIg может приводить к усилению специфического иммунного ответа.

У больных со злокачественными опухолями иммунореактивность часто бывает подавлена; предполагается, что это связано с присутствием в крови иммунных комплексов, состоящих из антител и антигенов опухолевых клеток.

РОЛЬ ЛИМФОЦИТОВ В ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ

Т-лимфоциты оказывают очевидное положительное влияние на иммунный ответ, выполняя хелперную функцию. Кроме того, в зависимости от типа хелперных Т-клеток (Тх1 или Тх2) иммунный ответ может носить характер гуморального или клеточного. Имеется также убедительное доказательство того, что Т-клетки способны подавлять иммунный ответ (*рис. 13.8*).

Т-клетки $CD4^+$ могут предотвращать возникновение аутоиммунитета

При многих экспериментальных аутоиммунных заболеваниях Т-клетки $CD4^+$, образующиеся после введения высоких доз аутоантигенов (часто в растворимой или дезагрегированной форме), предотвращают последующую индукцию аутоиммунного процесса. Так, Т-клетки $CD4^+$ предотвращают образование аутоантител к тиреоглобулину (*рис. 13.9*).

Установлено также, что одновременное введение мышам антител анти-CD4 (блокирующих презентацию антигена, опосредованную MHC-молекулами класса II) и иммуногенной дозы тиреоглобулина не только предотвращает развитие аутоиммунитета, но приводит к образованию популяции Т-клеток $CD4^+$, способных передать специфическую толерантность непримированным мышам-реципиентам (*рис. 13.10*). Механизм, посредством которого Т-клетки осуществляют такого рода отрицательное влияние, не вполне ясен. Однако проведенные недавно эксперименты указывают на то, что частично или полностью подавлять иммунный ответ могут продуцируемые Тх-клетками цитокины ТФРβ, ИЛ-4 и ИЛ-10.

В регуляции антителообразования участвуют различные субпопуляции Тх-клеток

Некоторые наблюдения, касающиеся регуляции синтеза IgE-антител, можно объяснить тем, что Тх-клетки $CD4^+$ разных субпопуляций продуцируют разные цитокины. Между отдельными суб-

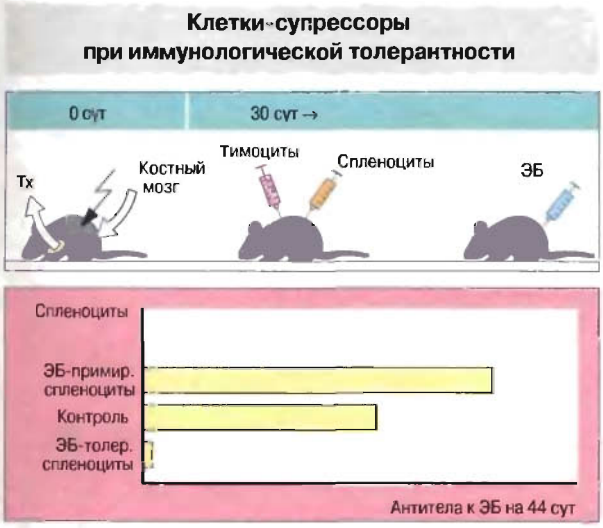


Рис. 13.8
Тимэктомированным и облученным мышам вводили клетки костного мозга, после чего через 30 сут – тимоциты и спленоциты с одновременной иммунизацией эритроцитами барана (ЭБ). На 44 сутки у реципиентов, получивших спленоциты животных, примированных иммуногенной дозой ЭБ (ЭБ-примированные спленоциты), зарегистрирован эффективный иммунный ответ (антителообразование). У животных, которым спленоциты не вводили (контроль), реакция была умеренной. В варианте с введением клеток толерантных животных (ЭБ-толерантные спленоциты; толерантность индуцировали высокой дозой ЭБ) антителообразование отсутствовало. Это показывает, что клетки толерантных животных активно подавляли иммунный ответ у реципиентов.

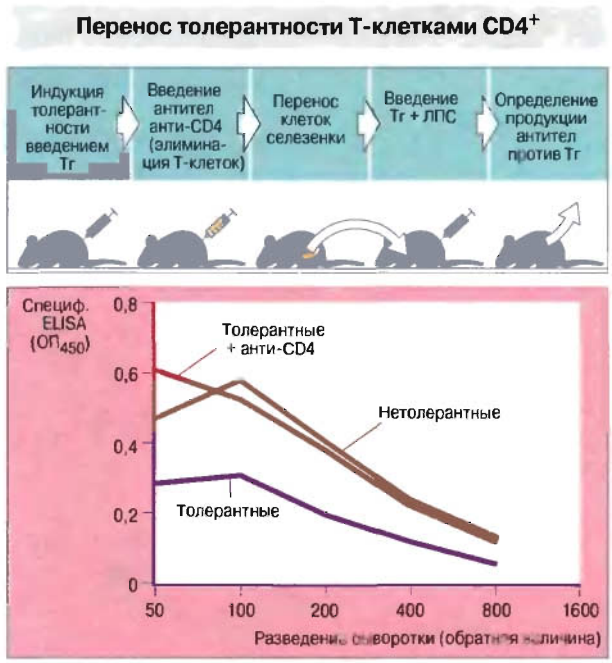


Рис. 13.9
Мышам вводили 20 мкг мышиного тиреоглобулина (Тг) для индукции толерантности (контроль – без индукции толерантности). Половине толерантных животных затем инъецировали in vivo элиминирующие антитела анти-CD4 для истощения пула Т-клеток $CD4^+$. Клетки селезенки каждой мыши из этих трех групп (нетолерантные мыши; толерантные мыши; толерантные мыши, получившие анти-CD4) переносили облученному сингенному реципиенту. Затем реципиентам вводили мышиный Тг и ЛПС, после чего определяли продукцию антител против Тг при помощи иммуноферментного анализа (ELISA, см. гл. 29). Обработка антителами анти-CD4 устраняла перенос толерантности.

популяциями Тх-клеток существует взаимосвязь в виде перекрестной регуляции их активности: секретируемый Тх1-клетками ИФγ способен ингибировать реактивность Тх2-лимфоцитов; ИЛ-10, образуемый Тх2-клетками, понижает экспрессию молекул B7 и ИЛ-12 антигенпрезентирующими клетками, что в свою очередь ингибирует активацию Тх1-лимфоцитов. Кроме того, на экспрессию высокоаффинного рецептора ИЛ-12 (ИЛ-12Р), необходимого для развития Тх1-клеток, влияет баланс цитокинов. Высокоаффинный ИЛ-12Р содержит в своей структуре две цепи, β1 и β2, причем обе они вместе экспрессируются только клетками Тх1. Цепь β1 имеют и Тх1-, и Тх2-лимфоциты, а экспрессию β2-цепи индуцирует ИФγ и ингибирует ИЛ-4. На развитие субпопуляций Т-клеток оказывает также влияние ИФα, который благоприятствует формированию субпопуляций Тх1-лимфоцитов даже в присутствии ИЛ-4 и в условиях нейтрализации ИЛ-12. Таким образом, преимущественная активация Тх1- или Тх2-клеток может приводить к иммунному отклонению – избирательному развитию эффекторного ответа определенного типа. Такой избирательный сдвиг ответа может быть использован в терапии аутоиммунных и аллергических заболеваний.

Адоптивным переносом Т-клеток $CD8^+$ можно вызвать резистентность и толерантность

Установлено, что Т-клетки $CD8^+$ также регулируют иммунный ответ. В селезенке животных, у которых индуцировали толерантность к ОБМ пу-

Подавление экспериментального аллергического тиреоидита, индуцированное антителами анти-CD4

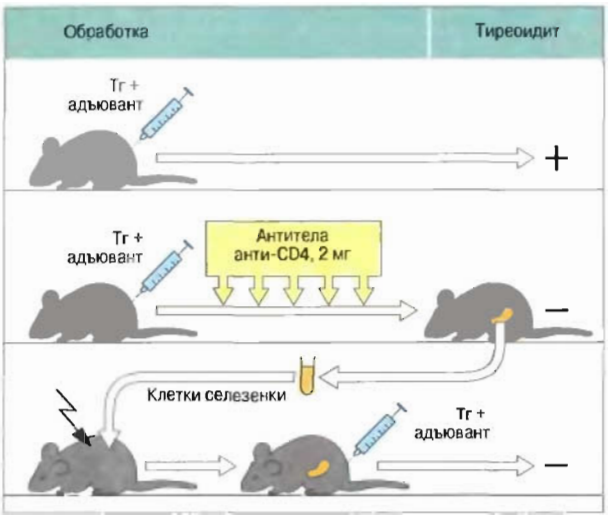


Рис. 13.10
У мышей, иммунизированных 50 мкг мышиного тиреоглобулина (Тг), возникал тиреоидит и появлялись антитела анти-Тг. Если на протяжении 11 сут после иммунизации мышам вводили неэлиминирующие моноклональные антитела анти-CD4 для блокирования взаимодействия CD4 с молекулами MHC класса II, тиреоидит не развивался. Перенос клеток селезенки от этих мышей облученным животным предотвращал возникновение у них тиреоидита после иммунизации Тг. (У иммунизированных мышей, получивших контрольные Т-клетки, заболевание возникало.)

Цитокины предотвращают возникновение колита у мышей с ТКИД

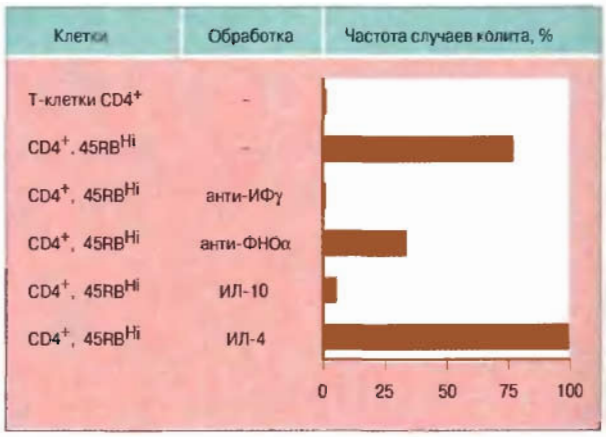


Рис. 13.11
Рисунок иллюстрирует частоту возникновения колита у мышей после переноса различных клеточных популяций. Введение нефракционированных Т-клеток $CD4^+$ предотвращало развитие колита, тогда как фракция CD4-клеток, экспрессирующих высокий уровень CD5RB ($CD45RB^{hi}$), вызывала колит. При одновременном введении антител анти-ИФγ или анти-ФНОα частота случаев заболевания снижалась. Цитокин ИЛ-10 (но не ИЛ-4) также влияет на возникновение колита у мышей. Представленные данные показывают, что в патогенезе колита у мышей играют роль цитокины ИФα и ФНОα и что ИЛ-10 может инактивировать эффекторные клетки. (ТКИД – тяжелый комбинированный иммунодефицит.)

тем перорального введения антигена (см. выше), были обнаружены Т-лимфоциты $CD8^+$, способные при адоптивном переносе создавать у реципиентов резистентность к ЭАЭ. Эти Т-клетки не только супрессируют Т-клеточный ответ на ОБМ in vitro, но могут также вызывать эффект «подавления свидетеля» в отношении других, неродственных антигенов. Предположительно данный эффект опосредован ТФРβ.

Регуляция иммунного ответа Tx2-клетками $CD4^+$ представляет собой нормальный физиологический процесс

Роль регуляторных эффектов, опосредованных Т-клетками $CD4^+$ или $CD8^+$, в обычных физиологических условиях остается под вопросом. Однако обнаружение в норме у животных Т-лимфоцитов $CD4^+$, способных предупреждать развитие аутоиммунитета, свидетельствует об их значении в поддержании нормального гомеостаза. Кроме того, для крысы и мыши установлено, что после удаления Tx2-клеток $CD4^+$, продуцирующих в обычных условиях ИЛ-4 и ИЛ-10, нарушается регуляция иммунного ответа. Этот факт убедительно доказывает, что регуляция иммунного ответа, осуществляемая Tx2-лимфоцитами $CD4^+$ (но не Tx1-клетками $CD4^+$), представляет собой нормальный физиологический процесс, а не артефакт (*рис. 13.11*). По имеющимся данным, при возникновении колита у мышей (*рис. 13.11*) регулирующую роль в развитии патологического процесса может играть ТФРβ. Это согласуется с результатами опытов по изучению колита у мышей, лишенных гена ТФРβ методом генного нокаута.

ИДИОТИПИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

Толерантность к собственным антигенам развивается в онтогенезе (см. гл. 12). Однако в неонатальный период уникальные связывающие участки антигенспецифичных рецепторов на В- и Т-клетках слишком малочисленны, чтобы индуцировать толерантность. То же самое относится к антителам: хотя они присутствуют в сыворотке крови, толерантность развивается только к их Fc-фрагментам, поскольку лишь они имеются в достаточной концентрации; толерантности к детерминантам легких и тяжелых цепей, ответственным за связывание специфических антигенов, не возникает. Таким образом, индивидуальные Т-клеточные рецепторы и иммуноглобулины являются иммуногенными за счет этих уникальных последовательностей, называемых идиотипами. Антитела, образующиеся против антигенсвязывающих центров (они получили название антиидиотипических), способны влиять на результат иммунного ответа.

Идиотипические детерминанты могут кодироваться гаметными генами V-областей или возникать в результате рекомбинаций и мутаций, обусловливающих образование функционально активных генов V-областей иммуноглобулинов (см. гл. 8). Иммуногенные эпитопы в самом связывающем центре или расположенные вокруг него называют идиотопами (*рис. 13.12*). Известным иммунологом Йерне выдвинута гипотеза о существовании в организме иммунной сети, внутри которой взаимодействия осуществляются путем распознавания идиотипов. Согласно этим представлениям, образующиеся к антигену антитела в свою очередь вызывают направленный против них антиидиотипический ответ. Эта гипотеза концептуально привлекательна, однако роль такого рода идиотипической сети в регуляции нормального иммунного ответа остается предметом горячих споров.

Идиотипические взаимодействия могут усиливать или подавлять гуморальный иммунный ответ

Получены убедительные доказательства в пользу того, что антиидиотипические антитела могут влиять на воспроизведение распознаваемых идиотипов при иммунном ответе. Так, если мышам линии C57BL/6 ввести гаптен нитрофенол (НФ),

Идиотопы связывающего центра антител

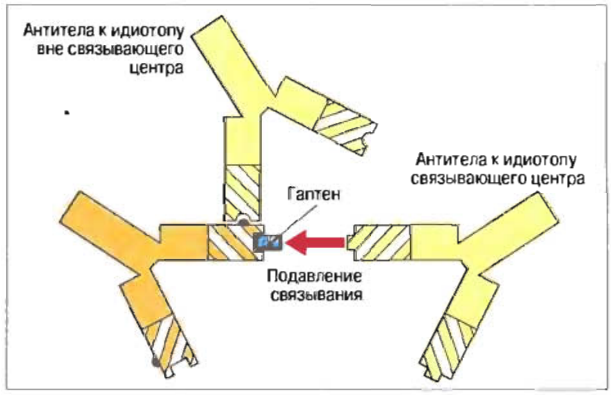


Рис. 13.12
Антиидиотипическая сыворотка может содержать антитела к различным участкам молекулы иммуноглобулина. Связывание антител, направленных к связывающему центру иммуноглобулина (идиотопу), может ингибироваться гаптеном. Связывание же антител к идиотопам, локализованным вне связывающего центра, гаптен не ингибирует.

они продуцируют в основном антитела немногих определенных идиотипов, например идиотипа 146. Антиидиотипические антитела против этих антител (идиотипа 146) могут усиливать или подавлять образование идиотипа 146 в ответ на последующую инъекцию НФ вместе с белком-носителем. Наблюдаемый эффект зависит от количества вводимых антиидиотипических антител (*рис. 13.13*) и является идиотипспецифичным, поскольку общий уровень антител против НФ изменяется мало. Наиболее важно отметить, что применявшиеся концентрации антиидиотипов не выходят за пределы нормальных физиологических значений для антител, несущих данный идиотип, и это позволяет предполагать, что идиотипическая регуляция может осуществляться in vivo. Подобные наблюдения сделаны и при исследовании других идиотипических систем.

Драматические последствия имеет введение антиидиотипических антител новорожденным животным, когда возникающий эффект может сохраняться пожизненно. Так, способность мышей отвечать на фосфорилхолин резко снижается, если в неонатальный период животные получали антиидиотипические антитела к T15 (главному идиотипу в реакции на фосфорилхолин). Состояние сниженной реактивности сохраняется в течение многих месяцев. У таких мышей при

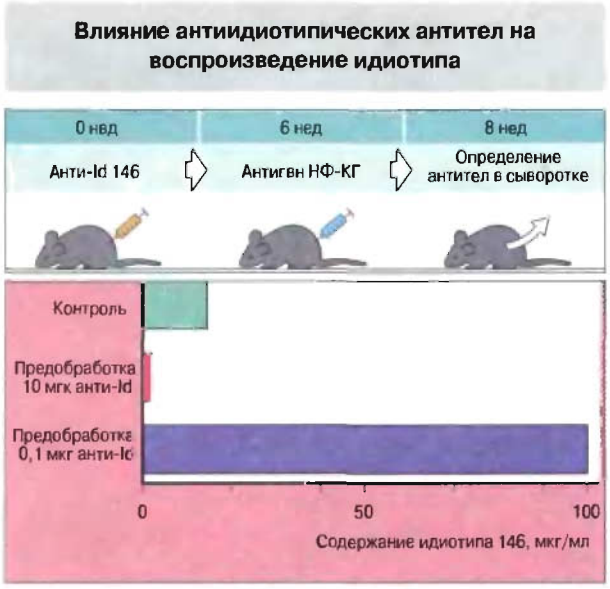


Рис. 13.13
Мышам вводили 10 или 0,1 мкг антиидиотипических антител (анти-Id) против нитрофенил (НФ)-связывающих антител (идиотипа 146). Спустя 6 нед животным инъецировали НФ, конъюгированный с носителем (куриный глобулин, КГ). Через 2 нед после иммунизации в сыворотке животных определяли количество антител идиотипа 146 (горизонтальные столбики) и общее содержание антител анти-НФ (на рисунке не показано). У мышей, которым предварительно вводили 10 мкг анти-Id, обнаружена супрессия идиотипа 146, тогда как у мышей, получивших 0,1 мкг анти-Id, продукция идиотипа 146 была повышенной, хотя общий уровень антител анти-НФ оказался сходным у животных обеих групп.

последующем введении специфического антигена доминирует продукция иммуноглобулинов, не имеющих идиотипа Т15 (*рис. 13.14*).

НЕЙРОЭНДОКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

Уже давно известно, что стрессовые ситуации могут служить причиной подавления иммунных функций организма, например снижения его способности преодолевать инфекции. Имеются многочисленные данные, указывающие на взаимодействие между нервной, эндокринной и иммунной системами. В общем виде два основных пути, посредством которых процессы, происходящие в центральной нервной системе, могут отражаться на иммунной функции, состоят в следующем (*рис. 13.15*).

- Бóльшая часть лимфоидных тканей имеет прямую симпатическую иннервацию – как кровеносных сосудов, проходящих через лимфоидную ткань, так и непосредственно самих лимфоцитов.
- Нервная система прямо или опосредованно контролирует секрецию различных гормонов, в частности кортикостероидов, гормона роста, тироксина и адреналина.

Лимфоциты экспрессируют рецепторы для многих гормонов, медиаторов и нейропептидов, включая рецепторы для стероидов, катехоламинов (адреналина и норадреналина), энкефалинов, эндорфинов, вещества Р и вазоактивного интестинального пептида (ВИП). Степень экспрессии рецепторов и клеточная реактивность

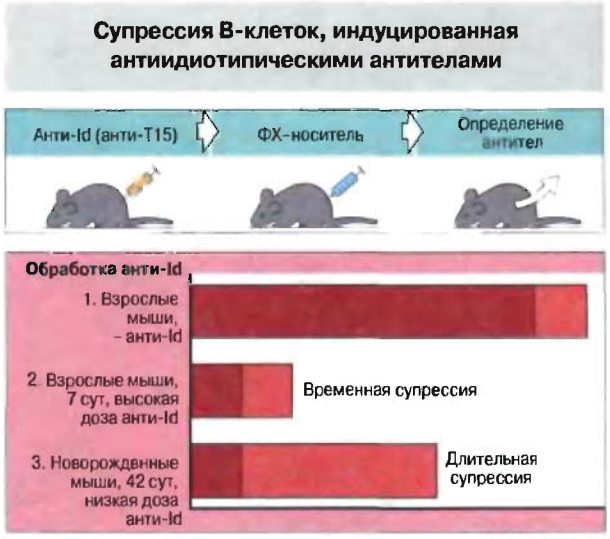


Рис. 13.14
Новорожденным и взрослым мышам вводили антиидиотипические антитела (анти-Id) к Т15. Затем животных иммунизировали гаптеном фосфорилхолином (ФХ), связанным с носителем, и определяли общее количество антител к ФХ, включая компонент Т15 (более темноокрашенная часть горизонтальных столбиков). У контрольных взрослых мышей наблюдался эффективный ответ на ФХ, и бóльшую часть антител составляли Т15 (**1**). У взрослых мышей, предварительно получивших анти-Id, отмечено временное подавление синтеза антител с потерей Т15 и снижение в связи с этим общего ответа на ФХ (**2**). В случае введения анти-Id новорожденным мышам наблюдалось длительное угнетение продукции В-клеток $Т15^+$, но при этом имело место компенсаторное увеличение ФХ-специфичных В-клеток $Т15^-$ (**3**).

Взаимодействие между нейроэндокринной и иммунной системами

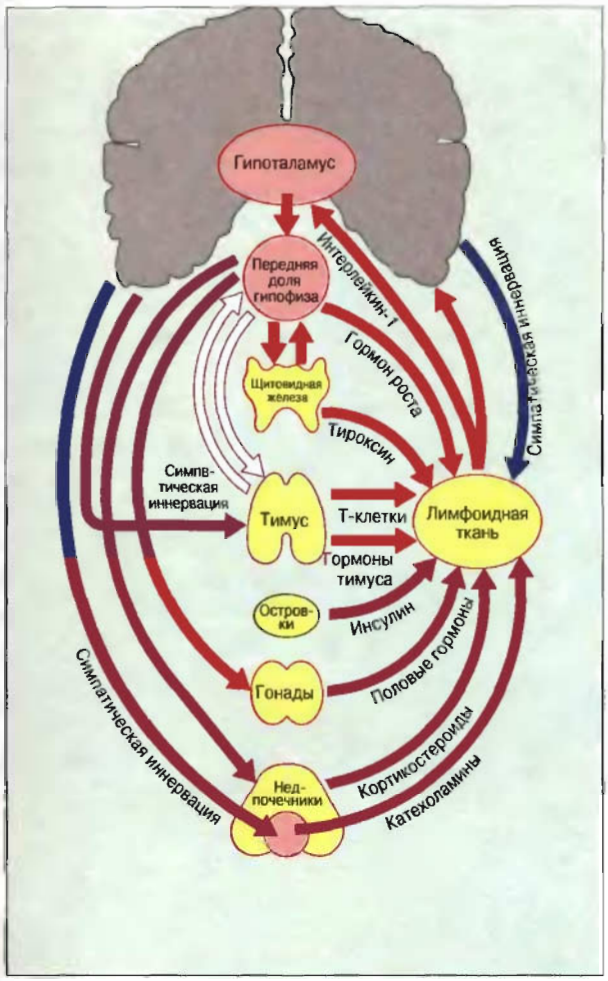


Рис. 13.15
Некоторые из возможных связей между эндокринной, нервной и иммунной системами. Синими стрелками показана симпатическая иннервация, красными – воздействие гормонов, белыми – предполагаемые связи, эффекторные молекулы для которых не установлены.

варьируют у различных популяций лимфоцитов и моноцитов, в связи с чем эффект разных медиаторов также варьирует в зависимости от условий. Однако применительно к иммунной системе особое значение имеет регуляция, опосредованная кортикостероидами, эндорфинами и энкефалинами – агентами, которые высвобождаются при стрессе и обладают иммуносупрессивным действием in vivo. Эффекты эндорфинов in vitro существенно различаются в зависимости от экспериментальной системы и дозы; в одних дозах они оказывают супрессивное влияние, в других – усиливают иммунный ответ. Однако одним из важных факторов, регулирующих иммунный ответ по механизму обратной связи, служат, несомненно, кортикостероиды. Установлено, что сами лимфоциты способны реагировать на кортикотропин-рилизинг-гормон, синтезируя собственный АКТГ, который в свою очередь индуцирует секрецию кортикостероидов.

По имеющимся данным, кортикостероиды ингибируют продукцию цитокинов Тх1-клетками, не влияя на Тх2-ответ. Кроме того, они индуцируют образование ТФРβ, который может подавлять иммунный ответ. Предполагается, что низким уровнем кортикостероидов в плазме у крыс линии Lewis обусловлена повышенная предрасположенность этих животных к возникновению различных аутоиммунных процессов: после индукции ЭАЭ спонтанное выздоровление крыс связано с повышением содержания в крови кортикостероидов; у адреналэктомированных животных выздоровления не происходит. Значение стероидов в предрасположенности к заболеванию продемонстрировано также на крысах линии PVG: в норме животные этой линии резистентны к ЭАЭ, однако становятся чувствительными к нему после адреналэктомии.

Взаимодействие между нейроэндокринной и иммунной системами не является однонаправленным. Установлено, что цитокины, в частности ИЛ-1 и ИЛ-6, действуют в обоих направлениях, играя роль модуляторов взаимодействия этих двух систем. Данные цитокины служат мощными стимуляторами продукции кортикостероидов надпочечниками благодаря своему влиянию на кортикотропин-рилизинг-гормон. Помимо того, что ИЛ-1 продуцируют макрофаги, а ИЛ-6 – Т-клетки, способностью к синтезу обоих этих цитокинов обладают нейроны и клетки глии, а также клетки, локализованные в гипофизе и надпочечниках. Это еще раз подчеркивает важную роль данных цитокинов как медиаторов двунаправленного действия при реакции организма на стресс.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

Хорошо известно, что разные индивиды неодинаково реагируют на один и тот же антиген. Результаты семейного анализа чувствительности к

Corynebacterium diphtheriae позволили предположить, что резистентность или чувствительность к инфекции может быть наследуемым признаком. В пользу этого свидетельствуют и данные, полученные на морских свинках разных линий, неодинаково резистентных к дифтерии; различия были определены как генетически детерминированные. В 1943 г. Фьёрд-Шайбель в исследованиях по селекции линий морских свинок с высокой и низкой иммунореактивностью продемонстрировал, что продукцию дифтерийного антитоксина контролирует один ген и она наследуется как доминантный менделевский признак. В этом исследовании впервые был установлен также доминантный тип наследования высокой иммунореактивности. В потомстве первого поколения, полученном от скрещивания животных с высокой иммунореактивностью, 90% особей продуцировали антитоксин, тогда как при скрещивании низкореагирующих свинок лишь в пятом поколении удалось получить 90% животных с низкой иммунореактивностью.

Способность отвечать на антиген зависит от гаплотипа MHC

Получение инбредных, или чистых, линий мышей позволило более глубоко исследовать влияние генетических факторов и окончательно доказать их роль в иммунологической реактивности. Мыши с различными гаплотипами MHC различаются по способности к гуморальному ответу на специфические антигены (*рис. 13.16*). Эта функция зависит от MHC-молекул класса II и специфична для каждого антигена: линия с высоким уровнем ответа на один антиген может на другие отвечать слабо. Гены MHC, как было установлено, выполняют наиболее важную роль в регуляции ответа на инфекционные агенты (см. гл. 7 и 9).

Не сцепленные с MHC гены также влияют на иммунный ответ

Достигнутые в последние годы в иммунологии значительные успехи – выяснение структуры молекул MHC классов I и II, изучение полиморфизма аминокислотных последовательностей молекул MHC и его значения для связывания пептидов, разработка молекулярных методов контроля за формированием репертуара Т-клеточных рецепторов и технологии получения трансгенных мышей – внесли вклад в выяснение того, каким образом генетические факторы влияют на иммунный ответ. К числу этих факторов относятся не только гены, сцепленные с MHC. Например, тяжелый комбинированный иммунодефицит обусловлен отсутствием гена рекомбиназы, а недостаточность адгезии лейкоцитов возникает вследствие мутаций гена, кодирующего субъединицу β_2-интегрина, и вызванного ими нарушения экспрессии LFA-1, CR3 и CR4.

Сцепленные с MHC гены иммунного ответа регулируют все иммунные реакции, в основе которых лежит распознавание антигена Т-клетками

Как описано в предудыщих главах, иммунный ответ зависит от активации клонов лимфоцитов. Т-клетки распознают антиген только в том случае, если он презентирован им в виде комплекса

Межлинейные различия в гуморальном иммунном ответе у мышей

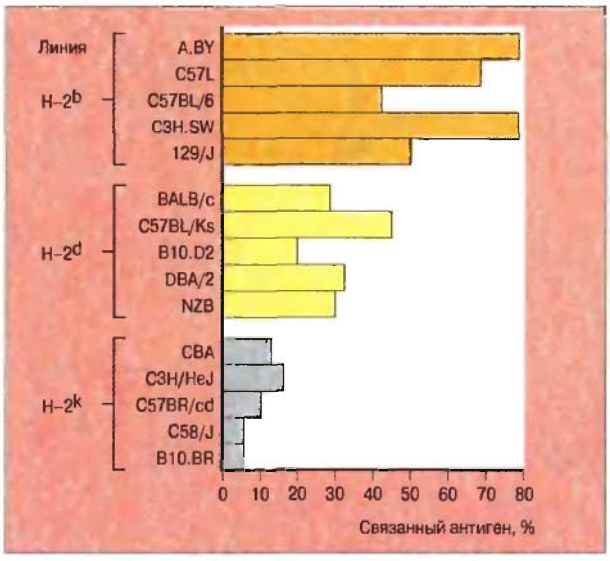


Рис. 13.16
Мышам 15 линий вводили стандартную дозу синтетического антигена (TG)-A-L. Содержание антител в сыворотке определяли по ее антигенсвязывающей активности. Животные с гаплотипом H-2^b – высокореагирующие, H-2^d – с промежуточным типом ответа, H-2^k – низкореагирующие. Однако у некоторых линий разных гаплотипов уровни ответа сходные, что указывает на регуляцию образования антител и со стороны генов, не сцепленных с комплексом H-2.

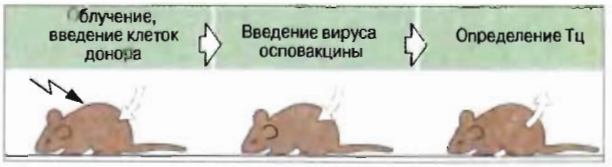
Генетическая рестрикция активности цитотоксических Т-клеток



Вирус	Линия мышей	Область H-2 (K I S D)	Процент лизированных клеток-мишеней данного гаплотипа H-2^s	H-2^k	H-2^d
ВЛХМ	A.TL		25	1	64
Сендай	A.TL		63	4	24
ВЛХМ	CBA		2	34	1
ВЛХМ	A/J		0	30	64

Рис. 13.17
Изучена способность цитотоксических (Тц) клеток взрослых мышей (линий A.TL, CBA и A/J), зараженных вирусом лимфоцитарного хориоменингита (ВЛХМ), лизировать инфицированные вирусом клетки-мишени гаплотипов H-2^k, H-2^s и H-2^d. Мыши линии A.TL имеют гаплотип H-$2K^s$, H-$2I^k$, H-$2D^d$ и их Тц-клетки лизируют лишь те инфицированные ВЛХМ клетки-мишени, которые имеют общий с эффекторами гаплотип H-$2K^s$ или H-$2D^d$. Это показывает, что противовирусные Тц-клетки рестриктированы по антигенам МНС класса I, причем цитотоксичность в отношении ВЛХМ детерминирована в основном локусом H-2D. В отличие от этого у мышей линии A.TL, инфицированных вирусом Сендай, цитотоксичность определяется главным образом локусом H-2^k. О значении генетической рестрикции при этих ответах говорят также результаты экспериментов на мышах линии CBA, инфицированных ВЛХМ. То, что наиболее выраженная цитотоксичность в отношении ВЛХМ определяется совместимостью клеток-эффекторов и клеток-мишеней по локусу H-2^d, подтверждают данные исследований на мышах линии A/J. Различные вирусы могут связываться преимущественно с определенными H-2^k- или H-2^d-молекулами клеток-мишеней, что создает оптимальные условия для их презентации цитотоксическим клеткам.

Специфичность цитотоксических Т-клеток



Группа мышей	Источник клеток донора (А × Б)	Реципиент	Цитотоксичность: клетки-мишени А	Цитотоксичность: клетки-мишени Б
1	Костный мозг	А	+	–
2	Костный мозг	Б	–	+
3	Селезенка	А	+	+
4	Селезенка	Б	+	+

Рис. 13.18
Облученным мышам-реципиентам двух типов (А и Б) вводили для восстановления кроветворения лимфоциты доноров А × Б (клетки костного мозга или селезенки). Таким способом получали мышей-химер, у которых лимфоциты имели тип донора (А × Б), а все другие ткани – тип реципиента. После этого животных иммунизировали вирусом осповакцины, получали от них Т-клетки селезенки и определяли их цитотоксическую активность по отношению к В-клеткам типа А или Б, инфицированным вирусом. Клетки мышей, получивших после облучения клетки костного мозга, могли лизировать только клетки-мишени, относящиеся к тому же типу, что и реципиент (**1** и **2**). В отличие от этого зрелые лимфоциты животных, получивших клетки селезенки (А × Б), были способны лизировать клетки-мишени обоих типов – А и Б, независимо от типа реципиента (**3** и **4**). Полученные данные можно объяснить следующим образом. Незрелые стволовые клетки костного мозга после введения облученным мышам проходили «обучение» в тимусе реципиента и после этого могли распознавать антиген лишь в ассоциации с молекулами МНС гаплотипа реципиента. Однако зрелые клетки селезенки донора уже были «обученными». В большинстве случаев для успешного «обучения» клеток донора в тимусе реципиента необходимо, чтобы донор и реципиент имели по крайней мере один общий МНС-гаплотип с идентичными генами класса II.

антигенного пептида с антигенами МНС классов I или II. Поэтому, например, мышиные Тц-клетки $CD8^+$, специфичные к гликопротеину ВЛХМ, способны лизировать лишь такие инфицированные вирусом клетки-мишени, которые получены от мышей, совместимых по МНС-антигенам класса I с донорами клеток-эффекторов (*рис. 13.17*). Способность к такому распознаванию развивается в онтогенезе (*рис. 13.18*).

Формирование репертуара периферических Т-лимфоцитов зависит как от разнообразных аутоантигенов, так и от способности Т-клеток связываться с собственными антигенами МНС. Способность пептида к образованию комплекса с молекулой МНС определяется последовательностью аминокислотных остатков ее пептидсвязывающего участка. Теперь мы знаем, что бóльшая часть полиморфных аминокислотных остатков

молекулы MHC локализована в ее пептидсвязывающей полости. Поэтому высокий полиморфизм аминокислотных последовательностей MHC-антигенов очень важен для связывания пептидов и вследствие этого для активации Т-клеток. Как установлено, при развитии в тимусе Т-клетки подвергаются селекции двух типов.

- Положительная селекция основана на взаимодействии ТкР с молекулами MHC на поверхности эпителиальных клеток корковой зоны тимуса.
- Отрицательная селекция происходит в результате высокоаффинного взаимодействия между ТкР и комплексом MHC–пептид, презентированным на клетках костномозгового происхождения в мозговой зоне тимуса.

Положительная селекция в тимусе означает отбор Т-клеток по способности распознавать антигены, презентированные в комплексе с собственными молекулами MHC

Первые исследования в этой области проводились по сложной схеме, включавшей тимэктомию, облучение, введение костного мозга и пересадку тимуса (см. гл. 12). Их результаты показали, что цитотоксические лимфоциты лизируют только клетки-мишени с такими же MHC-антигенами, какие экспрессируют клетки тимуса, в котором происходило развитие Т-клеток. Эти и другие данные позволяют предполагать, что созревающие Т-клетки «учатся» распознавать антигены только в контексте молекул MHC, с которыми они первоначально контактировали в тимусе.

Этот процесс прояснили эксперименты на трансгенных мышах, когда стало возможным получать таких трансгенных животных, у которых основная часть Т-клеток несет всего один антигенспецифичный рецептор. Соответствующий антиген также может экспрессироваться как продукт трансгена. Это значительно упрощает анализ, поскольку исследуемые Т-клетки составляют бóльшую часть Т-клеточной популяции и их можно определить при помощи клонотипических, или Vβ-специфичных, антител (Vβ является вариабельным доменом ТкР-комплекса). Так, можно получить трансгенных мышей, у которых Т-клетки в основном экспрессируют ТкР клона Тц $CD8^+$, распознающий гликопротеин ВЛХМ в комплексе с молекулой $H\text{-}2D^b$ класса I, и использовать этих животных для демонстрации положительной селекции. Данный ТкР идентифицируют при помощи антител, специфичных к Vβ8.

Различные молекулы MHC по-разному влияют на образование зрелых Т-клеток $CD8^+$, экспрессирующих трансгенный ТкР (*рис. 13.19*). Положительная селекция Т-клеток $CD8^+$ с трансгенным ТкР, содержащим Vβ8-цепь, была зарегистрирована лишь у тех мышей, которые экспрессировали молекулу $H\text{-}2D^b$. Таким образом, положительная селекция данного рецептора происходит только при экспрессии соответствующе-

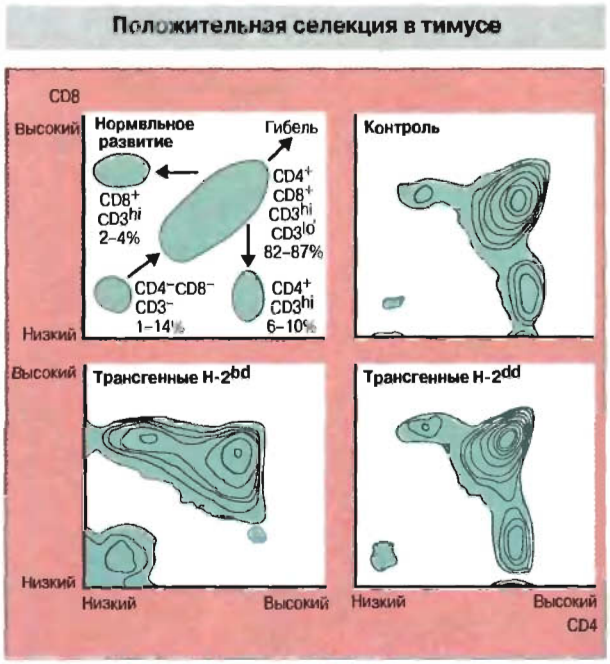


Рис. 13.19
Тимоциты получали от трансгенных мышей, Т-клетки $CD8^+$ которых несли ТкР, распознающий ВЛХМ в ассоциации с молекулой $H\text{-}2^b$. При помощи флуоресцентного клеточного сортера изучали экспрессию молекул CD4 и CD8 тимоцитами. При нормальном развитии клетки $CD4^-CD8^-$ становились $CD4^+CD8^+$, а затем превращались в зрелые $CD4^+CD8^-$ или $CD4^-CD8^+$ либо погибали. В контроле (нетрансгенные мыши) основную популяцию тимоцитов составляли клетки $CD4^+CD8^+$ и меньшие популяции – $CD4^+CD8^-$ и $CD4^-CD8^+$. У трансгенных мышей, экспрессирующих аллель $H\text{-}2^b$, происходила положительная селекция Т-клеток в тимусе, в результате чего формировалась гораздо более многочисленная популяция $CD4^-CD8^+$. Такая селекция не происходила в отсутствие аллеля $H\text{-}2^b$. (Обозначения «высокий», «низкий», ^{hi} и ^{lo} относятся к уровню экспрессии маркеров CD.)

го МНС-гаплотипа. Подобный отбор протекает на поверхности эпителиальных клеток корковой зоны тимуса. Предполагается, что пептидами, опосредующими положительную селекцию, служат в норме присутствующие в тимусе аутопептиды.

Т-клетки, распознающие аутоантигены, подвергаются отрицательной селекции

Отрицательная селекция путем клональной делеции продемонстрирована с использованием моноклональных антител, специфичных к Vβ-цепям мышиных ТкР. Таким способом были идентифицированы и подсчитаны Т-клетки, несущие ТкР с данной Vβ-цепью, и этот анализ показал, что у мышей, экспрессирующих I–E, Т-клетки $V\beta17a^+$ делетируются в тимусе. Присутствие Т-клеток $V\beta17a^+CD4^+CD8^+$, но не зрелых Т-клеток $V\beta17a^+CD4^+$ или $V\beta17a^+CD8.1^+$, позволило предположить, что делеция происходит на стадии дважды положительных ($CD4^+CD8^+$) Т-клеток в процессе их созревания. При этом было установлено, что для делеции необходима экспрессия наряду с I–E и эндогенного лиганда, а не только одного I–E.

Суперантигены могут вызывать полную делецию отдельных серий Т-клеточных рецепторов

У мышей ряда линий в тимусе происходит делеция целых популяций Т-клеток, несущих определенные ТкР. Так, у мышей, экспрессирующих минорный, стимулирующий лимфоциты антиген Mls-1^a и некоторые МНС-молекулы класса II, делетируются Т-клетки $V\beta6^+$ и $V\beta8.1^+$ (*рис. 13.20*). Способностью целых семейств Т-лимфоцитов распознавать антигены Mls объясняется интенсивный пролиферативный ответ, наблюдаемый при совместном культивировании несовместимых по Mls клеток. В ответе на некоторые антигены участвуют все Т-клетки, экспрессирующие определенные Vβ-цепи (*рис. 13.21*).

Вызывающие такой сильный ответ антигены, как экзогенные, так и эндогенные, названы суперантигенами. Они связываются не в пептид-связывающей полости антигенов МНС, а непосредственно (без процессинга) с молекулами МНС класса I и II и β-цепями ТкР (см. гл. 11). Примером экзогенного суперантигена может служить стафилококковый энтеротоксин В. Реа-

Делеция Т-клеток, вызываемая суперантигенами

V-область	Распознаваемый антиген	Т-клеточная популяция, экспрессирующая V-область, %	После индукции толерантности путем клональной делеции, %
Vβ17a	I-E, В-клеточный пептид	5,6%	0,9%
Vβ6	Mls-1^a	12,4%	0,3%
Vβ8.1	Mls-1^a	7,5%	0,3%
Vβ3	Mls-2	4,1%	0,1%
Vβ3	SEB	5,7%	1,2%
Vβ8	SEB	18,9%	0,0%
Vβ11	I-E, пептид	5,0%	0,5%

Рис. 13.20
Суперантигены могут вызывать клональную делецию Т-клеток, экспрессирующих определенные Vβ-цепи. Абсолютное число Т-клеток, ТкР которых содержит ту или иную Vβ-цепь, неодинаково у мышей разных линий, однако феномен Т-клеточной делеции под влиянием суперантигенов проявляется во всех случаях. В таблице приведена количественная характеристика клональной делеции у мышей некоторых линий. (SEB – стафилококковый энтеротоксин В.)

Распознавание Т-клетками антигена Mls-1^a



Рис. 13.21
Значительная часть Т-клеток, экспрессирующих цепь Vβ8.1, распознает антиген Mls-1^a. Путем слияния Т-лимфобластов (экспрессирующих Vβ8.1 или Vβ8.2), выделенных из лимфатических узлов мышей линии B10.BR (Mla-1^b), с вариантом Т-клеточной тимомы BW5147 (не экспрессирующей ни Vα, ни Vβ) были получены Т-клеточные гибридомы. Клетки-гибриды отделяли при помощи скрининга с использованием антител, распознающих Vβ8.1 и (для сравнения) Vβ8.2, затем исследовали реактивность гибридом в отношении антигенов Mls-1^a на поверхности клеток-стимуляторов H-2^k. Подавляющее большинство гибридом, реагирующих на антиген Mls-1^a, экспрессировало Vβ8.1 и незначительное – Vβ8.2. Эти результаты показывают, что в распознавании антигена Mls-1^a главную роль играет цепь Vβ8.1.

гирующие на этот антиген Т-клетки мышей имеют ТкР, содержащий Vβ3- или Vβ8-цепи. Mls-антигены относятся к классу эндогенных суперантигенов (см. гл. 11). Однако к настоящему времени установлено, что наличие Mls-антигенов в действительности определяется присутствием эндогенных вирусов опухоли молочной железы мыши (MMTV), кодируемых длинным 3′-терминальным повтором в геноме мышей данной линии. Существует множество различных MMTV, и мыши каждой линии имеют в геноме лишь некоторые из них. Эти эндогенные суперантигены, экспрессированные в тимусе, вызывают делецию (отрицательную селекцию) Т-клеток, несущих ТкР с цепью Vβ3, Vβ6 или Vβ8.1. Для изучения того, каким образом селекция в тимусе на ранних стадиях развития организма может повлиять на способность взрослого животного формировать ответ, были использованы также трансгенные мыши, описанные в предыдущем разделе (с трансгенами, кодирующими α- и β-цепи ТкР, специфичных к гликопротеину ВЛХМ в контексте H-2D^b). При инфицировании ВЛХМ в неонатальный период у мышей развивалась толерантность и они становились носителями вируса. Анализ созревающих Т-клеточных популяций у этих неонатально инфицированных мышей показал значительное снижение числа Т-клеток CD4$^+$CD8$^+$ – возможное последствие клональной делеции Т-клеток на ранней стадии онтогенеза (*рис. 13.22*). Таким образом, формирование репертуара периферических Т-лимфоцитов происходит в результате как положительной, так и отрицательной селекции (*рис. 13.23*), и соответственно оба эти типа отбора влияют на иммунореактивность.

Сцепленные с МНС гены регулируют ответ на инфекционные агенты

Определенную роль в развитии ответа на инфекционные агенты, а также на аутоантигены выполняют, как установлено, гены, сцепленные с МНС. В некоторых случаях эту функцию несут гены, входящие в МНС.

Чувствительность мышей к инвазии *Trichinella spiralis* определяется локусом I–E

Первое наблюдение, свидетельствующее о том, что гены, сцепленные с МНС (*Ts-1* и *Ts-2*), могут влиять на иммунный ответ против паразитарной инвазии, было сделано на модели трихинеллеза, вызываемого *Trichinella spiralis*. (Следует отметить, что это организм со сложным антигенным составом, причем на разных стадиях жизненного цикла он экспрессирует различные антигены, презентация которых требует участия разных АПК.) При заражении *Trichinella spiralis* мышей ряда рекомбинантных линий обнаружено, что резистентность или восприимчивость животных зависит от локуса I–E: мыши, экспрессирующие I–E, восприимчивы к инвазии (*рис. 13.24*). На ответ влияет также один сцепленный с МНС ген. Он не входит в состав МНС, а находится в неравновесии по сцеплению с МНС. Этот ген, названный *Ts-2*, картирован вблизи гена ФНО.

Толерантность к ВЛХМ у трансгенных мышей

Трансгенные мыши с ТкР Vβ8.1 анти-ВЛХМ	Заражение новорожденных мышей ВЛХМ	Первичный ответ анти-ВЛХМ	Число тимоцитов	
			CD4$^+$CD8$^+$	CD8$^+$
Mls-1^b	–	+++	Нормальное	Нормальное
Mls-1^a	–	+	Нормальное	Низкое
Mls-1^b	+	–	Низкое	Низкое

Рис. 13.22
Индукция толерантности у трансгенных мышей варьирует в зависимости от антигена. В приведенном опыте исследовали способность клеток трансгенных мышей, экспрессирующих ТкР, специфичный к ВЛХМ в контексте молекул H-2D^b, давать пролиферативный и цитотоксический ответ при взаимодействии с инфицированными ВЛХМ клетками. Данный ТкР экспрессирует также Vβ8.1, что позволяет определить влияние Mls-1^a на способность к подобного рода первичному ответу на ВЛХМ. Инфицирование мышей ВЛХМ при рождении дает возможность установить эффект неонатального контакта с антигеном, распознаваемым трансгенным ТкР. У животных, экспрессирующих Mls-1^a, наблюдалось частичное снижение пролиферативного и цитотоксического ответа, а в случае контакта со специфическим антигеном при рождении ответ полностью отсутствовал. Анализ Т-клеточных популяций этих животных показал, что толерантные к ВЛХМ мыши имели пониженное число тимоцитов CD4$^+$CD8$^+$ и зрелых Т-клеток CD8$^+$. Однако воздействие только собственного суперантигена (Mls-1^a) приводило к делеции лишь зрелых Т-клеток CD8$^+$. Представленные данные свидетельствуют о том, что различные антигены могут индуцировать толерантность Т-клеток в разные периоды их развития.

Положительная и отрицательная селекция в тимусе

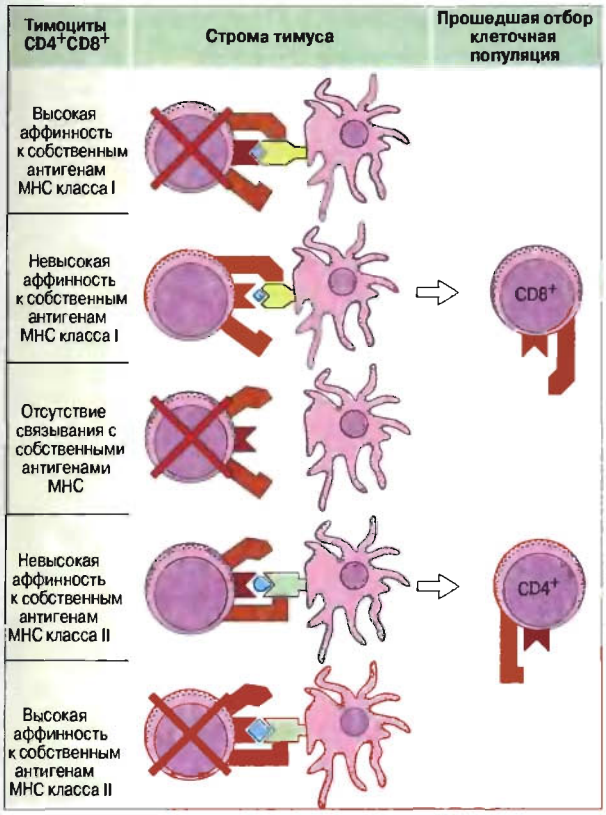


Рис. 13.23
Тимоциты $CD4^+CD8^+$ взаимодействуют со стромальными клетками тимуса, экспрессирующими МНС-молекулы классов I и II в виде комплексов с собственными пептидами. Клетки, обладающие высокой аффинностью к собственным антигенам МНС классов I или II, делетируются, так же как и тимоциты, которые не распознают эти антигены. Клетки с невысокой аффинностью к собственным МНС-антигенам класса I проходят отбор (положительная селекция), утрачивают маркер CD4 и становятся Т-клетками $CD8^+$. В отличие от этого тимоциты с невысокой аффинностью к собственным МНС-антигенам класса II образуют популяцию зрелых Т-лимфоцитов $CD4^+$.

Локус I–E влияет также на чувствительность к *Leishmania donovani*

Субрайон I–E влияет также на чувствительность мышей к *Leishmania donovani*. В исследованиях на мышах, конгенных по комплексу H-2, установлено, что экспрессирующие I–E мыши не обладают резистентностью к висцеральной форме лейшманиоза. Прямое участие продукта I–E в определении чувствительности к данной инвазии обнаружено по действию антител анти-I–E (но не анти-I–A), которые усиливали элиминацию паразитов из организма. Кроме того, перенос трансгена I–E мышам, лишенным этого локуса, делал животных неспособными уничтожать лейшманий, локализующихся в печени и селезенке, как это происходит у мышей исходной линии.

Восприимчивость к заражению *Trichinella spiralis*

Линия мышей	Гаплотип H-2	Экспрессия I-E	Индекс резистентности	Фенотип резистентности
B10.BR	k	+	0	чувст.
B10.P	p	+	~22	чувст.
B10.RIII	r	+	33	чувст.
B10	b	–	63	резист./±
B10.S	s	–	100	резист.
B10.M	f	–	104	резист.
B10.Q	q	–	105	резист.

Рис. 13.24
Ассоциация H-2-гаплотипа и экспрессии молекул I-E на клеточной поверхности с восприимчивостью к заражению *Trichinella spiralis*. Индекс резистентности рассчитывали как отношение числа паразитов, присутствующих после заражения стандартной дозой, к соответствующему показателю у мышей линии B10.BR [чувствительные (чувст.) = 0% резистентность] и B10.S [резистентные (резист.) = 100% резистентность]. Мыши линии B10 имеют промежуточную резистентность.

Некоторые HLA-гаплотипы обеспечивают защиту против *Plasmodium falciparum*

Изучение ассоциации HLA-гаплотипов с тяжелой формой анемии у больных малярией, показало, что распространенный среди населения Западной Африки и редко встречающийся в других расовых группах гаплотип DRB1*1302–DQB1*0501 обеспечивает защиту от летального исхода при малярии, вызываемой *Plasmodium falciparum*. Установлено, что молекулы DRB1*1302 и DRB1*1301, различающиеся одним аминокислотным остатком в β-цепи, связывают разные пептиды и это различие, очевидно, влияет на иммунный ответ против этого возбудителя малярии.

Сцепленные с МНС гены существенно влияют на чувствительность к аутоиммунным заболеваниям

Ассоциации с МНС-генами

Инсулин-зависимый сахарный диабет (ИЗСД) – аутоиммунное заболевание, при котором β-клетки поджелудочной железы разрушаются клетка-

ми иммунной системы, – ассоциирован с антигенами HLA-DR3 и HLA-DR4. Наибольший риск развития заболевания существует в случае гетерозиготности HLA-DR3/DR4. В действительности ИЗСД ассоциирован с генами DQ, хотя вследствие неравновесия по сцеплению первоначально была описана ассоциация с DR. С помощью молекулярно-генетических методов эту ассоциацию удалось изучить более детально, и оказалось, что у европеоидов заболевание первично ассоциировано с геном DQB1*0302. Ревматоидный артрит в разных этнических группах ассоциирован главным образом с HLA-DR4 или HLA-DR1 и лишь в небольшом числе случаев с HLA-DQ. Механизмы, лежащие в основе повышенной чувствительности к указанным заболеваниям, пока неясны. Одной из возможных причин ее связи с гаплотипом может быть различие в репертуарах генов класса II, возникающее как результат положительной и отрицательной селекции. Не исключено также, что вызывающие иммунный ответ эпитопы на поверхности бактерий или вирусов связываются преимущественно с теми или иными молекулами MHC. Подтверждением этой гипотезы могут служить данные, полученные при анализе аминокислотных последовательностей, образующих пептидсвязывающие полости молекул HLA-DR4 и HLA-DR1: ассоциированные с чувствительностью или резистентностью субтипы HLA-DR содержат различно заряженные аминокислотные остатки.

Ассоциации с MHC-областью

Другим примером неравновесия по сцеплению служит ассоциация аутоиммунного процесса у мышей (NZB × NZW)F1 с гаплотипом H-2^z родительской линии NZW. Четко установлено, что заболевание ассоциировано не с самими MHC-генами, а с геном ФНОα, тесно сцепленным с MHC. Аллель ФНОα у мышей линии NZW детерминирует низкий уровень продукции ФНОα. Если концентрация цитокина возрастает, животные приобретают устойчивость к волчаночному нефриту (*рис. 13.25*).

Ассоциации с генами, регулирующими процессинг антигенов

Недавно были идентифицированы и другие сцепленные с MHC гены, способные влиять на иммунный ответ. Эти гены имеют отношение к протеолитическому расщеплению антигенов с образованием антигенных фрагментов и к их транспорту. Данные гены отличаются полиморфизмом, имеющим функциональное значение. Так, например, у крысы различные аллельные формы локуса *cim* (кодирующего белок TAP2) определяют эффективность образования комплексов молекул MHC класса I с пептидами, а она в свою очередь влияет на возможность распознавания MHC-молекул этого класса как аллоантигенов. Таким образом, возможно, что установленные ассоциации некоторых заболеваний с MHC обусловлены генами подобного типа, регулирующими протеолиз антигенов и транспорт антигенных пептидов к молекулам MHC, которые презентируют их клеткам иммунной системы.

ФНОα и волчаночный нефрит

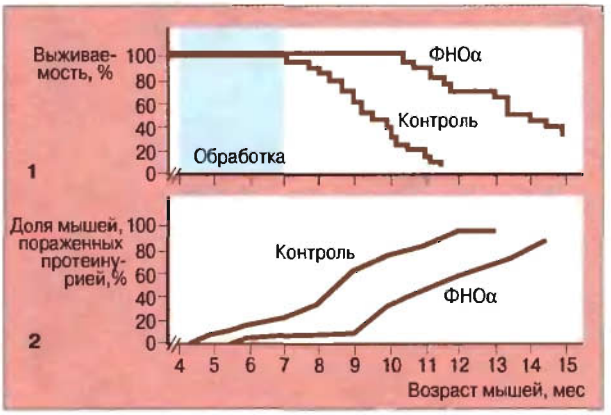


Рис. 13.25

1. Мышей-самок (NZW × NZB) F1 опытной группы (n = 20) обрабатывали рекомбинантным мышиным ФНОα. Контрольную группу составляли мыши F1 того же возраста и пола. Сравнивали выживаемость мышей в опыте и контроле.

2. Кумулятивная частота возникновения тяжелой протеинурии (≥300 мг/100 мл) у мышей (NZW × NZB) F1, обработанных ФНОα, и у контрольных животных.

Многие не-MHC-гены также модулируют иммунные ответы

Иммунный ответ регулируют также некоторые гены, расположенные вне области MHC. Однако в целом эти гены отличаются меньшим полиморфизмом по сравнению с MHC, в связи с чем их вклад в определение чувствительности к заболеваниям не столь велик, как генов MHC. Тем не менее не-MHC-гены могут играть определенную роль при аутоиммунных болезнях, аллергии и

Роль не-МНС-генов в резистентности к инфекции

Микроорганизм	Резистентные мыши		Чувствительные мыши	
	линия	гаплотип	линия	гаплотип
Mycobacterium lepraemurium	DBA/2J C3H/HeJ	d k	BALB/c J C3H/A	d k
Salmonella typhimurium	DBA/2J	d	B10.D2, BALB/c	d d
M. tuberculosis	CBA, C3H	k	B10.BR	k
Listeria monocytogenes	B10.A B10.D2 B10.BR	a d k	A/J DBA/2, BALB/c CBA, C3H	a d k
Rickettsia tsutsugamushi	AKR SWR BALB/c	k q d	C3H, CBA DBA/1 DBA/2	k q d

Рис 13.26
Разные линии мышей различаются по устойчивости к указанным микроорганизмам. Линии, имеющие один и тот же МНС-гаплотип, могут быть чувствительными или резистентными. Это показывает что МНС-гаплотип не играет решающей роли в устойчивости к инфекции.

инфекциях (*рис. 13.26*). Об этом свидетельствуют следующие факты.

- Лица, имеющие дефекты компонента комплемента С3, обнаруживают повышенную чувствительность к бактериальным инфекциям и предрасположенность к болезни иммунных комплексов.
- В некоторых семьях с предрасположенностью к аллергии обнаружен высокий уровень продукции IgE, ассоциированный с «геном атопии», который локализован в хромосоме 11q.

Гены, не сцепленные с МНС, влияют на чувствительность к инфекциям

Макрофаги играют ключевую роль в иммунной системе. Поэтому гены, регулирующие их активность, могут определять результат многих иммунных реакций. Примером генетической регуляции функций макрофагов могут служить эффекты гена *Lsh/Ity/Bcg*. Этот ген регулирует ранний ответ на инфицирование *Leishmania donovani*, *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium bovis*, *M. lepraemurium* и *M. intracellulare*. Он влияет на раннюю фазу примирования и активации макрофагов, и с ним связан целый ряд эффектов, включая следующие:

- усиление клеточного дыхания,
- повышение противоопухолевой активности,
- усиление антимикробной активности и
- повышение экспрессии МНС-антигенов класса II.

Недавно проведенные исследования позволили идентифицировать ген *Nramp*, потенциально способный функционировать в качестве гена *Bcg* у мыши. Поскольку *Nramp* кодирует мембранный белок, гомологичный известным транспортным белкам, было высказано предположение, что его экспрессия может влиять на транспорт NO_2^- в фаголизосомы и тем самым на уничтожение внутриклеточных микроорганизмов. Однако пока экспериментально не доказано (с помощью трансфекции или трансгенеза), что этот ген кодирует продукт *Bcg*, данное предположение остается чисто гипотетическим.

Путем направленного отбора получены две линии мышей Biozzi (названы по имени получившего их исследователя), различающиеся уровнем реактивности после иммунизации чужеродными эритроцитами (высоко- и низкоотвечающие животные). Одним из факторов, определяющих неодинаковую способность мышей этих линий отвечать на эритроцитарные антигены, служат генетически детерминированные различия в активности макрофагов. Иммунные реакции на паразитарные инвазии у мышей высоко- и низкоотвечающих линий также существенно различаются, и эти различия не обязательно коррелируют с количеством продуцируемых антител к эритроцитам барана (*рис. 13.27*).

Эозинофилы играют важную роль в реакции организма на паразитарные инвазии. Установлено, что степень эозинофилии, развивающейся при инвазии, генетически детерминирована, и у мы-

Реакция мышей линий Biozzi на паразитарные инвазии

Паразит	Высокореагирующие мыши	Низкореагирующие мыши
T. cruzi	Резистентны	Чувствительны
P. berghei	Резистентны	Чувствительны
P. yoelii	Резистентны	Чувствительны
L. major	Чувствительны	Резистентны
S. mansoni	Чувствительны	Резистентны

Рис. 13.27
Чувствительность мышей линий Biozzi к паразитарным инвазиям неодинакова и не коррелирует с их принадлежностью к высоко- или низкореагирующей линии.

шей разных линий этот показатель значительно варьирует. Подобное же явление наблюдается у морской свинки и овцы: найдена выраженная корреляция между резистентностью к инвазии, вызываемой нематодами, и интенсивностью эозинофилии.

Не сцепленные с MHC гены влияют на развитие аутоиммунных заболеваний

Крупным успехом в изучении генетических основ аутоиммунной патологии стало проведенное недавно картирование локусов, регулирующих предрасположенность к инсулин-зависимому сахарному диабету (ИЗСД). Работа была проведена в основном на мышах линии NOD, у которых спонтанно развивается аутоиммунное заболевание, сходное с ИЗСД человека. У этих мышей картированы по меньшей мере 15 генетических локусов (*Idd-1–15*), и только один из них (*Idd-1*) оказался сцепленным с MHC в хромосоме 17. Предполагается, что этот ген непосредственно кодирует молекулы MHC класса II. Другие гены картированы в разных хромосомах, однако их природа и роль в резистентности или предрасположенности к заболеванию пока неизвестны.

У мышей, несущих встроенный ген *lpr*, возникает лимфопролиферативное заболевание с характерными клиническими признаками. Животные продуцируют антитела против ДНК и ревматоидный фактор; у них образуются циркулирующие иммунные комплексы и развивается гломерулонефрит. Наблюдается также лимфаденопатия с экспансией Т-клеток $CD4^{-}CD8^{-}$ на периферии. Эти Т-клетки не являются моноклональными, но имеют различную структуру ТкР. Первоначально для объяснения причин этого синдрома было высказано предположение о дефекте отрицательной селекции, однако трудно было представить, каким образом ген, подобный *lpr*, может опосредовать такой эффект. Позднее выяснилось, что у мышей, несуших ген *lpr*, имеется дефект молекулы CD95, или Fas, ген которой расположен в хромосоме 19. Fas представляет собой трансмембранную молекулу, принадлежащую к суперсемейству рецепторов ФНО; взаимодействуя со своим лигандом CD95L, или FasL, она индуцирует запрограммированную клеточную гибель – апоптоз. Молекула CD95L входит в семейство факторов некроза опухолей и роста нервов. Дефект Fas-антигена, возникающий вследствие мутации *lpr*, приводит к отсутствию апоптоза. Однако этот дефект, по-видимому, не затрагивает процесс отрицательной селекции и формирование нормального репертуара зрелых моноположительных Т-клеток в тимусе. Очевидно, Fas служит лишь одним из лигандов, опосредующих апоптоз. В настоящее время предполагается, что этот дефект ведет к экспансии дважды отрицательных Т-клеток на периферии и ускорению аутоиммунного синдрома. Нарушение апоптоза происходит также у В-клеток, приводя к накоплению периферических аутореактивных В-лимфоцитов.

В других исследованиях было установлено, что ген *gld*, присутствие которого обусловливает возникновение аутоиммунного заболевания, сходного с наблюдаемым у мышей *lpr/lpr*, кодирует дефектный FasL. Таким образом, у мышей *gld/gld*, т. е. не экспрессирующих функциональный лиганд, также наблюдается недостаточность апоптоза периферических В- и Т-клеток и развитие аутоиммунитета. Ген *gld* локализован у мыши в хромосоме 1 и, таким образом, служит примером гена, влияющего на иммунную функцию, но не сцепленного с MHC. Синдромы, сходные с описанными выше, встречаются у человека; они также связаны с дефектами активности и функции Fas.

Вопросы для размышления

- Эндогенные ретровирусные последовательности модифицируют экспрессированный Т-клеточный репертуар у мыши. Каково биологическое значение такой модификации?
- Зачем в иммунной системе сохраняется столь большое число разнообразных механизмов регуляции иммунного ответа?
- Примеры регуляции, описанные в этой главе, получены в исследованиях на искусственно созданных модельных системах. Возможно ли установить, какова вероятность их действия у здоровых людей?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Aichele P., Kyburz D., Ohashi P.S. et al. 1994. Peptide-induced T-cell tolerance to prevent autoimmune diabetes in a transgenic mouse model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 444–48.

Blalock J.E. Bost K.L., (ed). 1994. Shared ligands and receptors as a molecular mechanism for communication between immune and neuroendrocrine systems. *Ann. NY Acad. Sci.* **741**: 292–98.

Eisenberg R.A., Sobel E.S., Reap E.A. et al. 1994. The role of B cell abnormalities in the systemic autoimmune syndromes of Ipr and gld mice. *Semin. Immunol.* **6**: 49–54.

Gaulton G.N., Greene M.I. 1986. Idiotypic mimicry of biological receptors. *Annu. Rev. Immunol.* **4**: 253–80.

Goodnow C.C., Adelstein S., Basten A. 1990. The need for central and peripheral tolerance in the B cell repertoire. *Science* **248**: 1373–79.

Herman A., Kappler J.W., Marrack P. et al. 1991. Superantigens: mechanisms of T cell stimulation and role in immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* **9**: 745–72.

Holt P.G. 1994. Immunoprophylaxis of atopy: light at the end of the funnel? *Immunol. Today* **15**: 484–89.

Jerne N.J. 1974. Towards a network theory of the immune system. *Ann. Immunol. (Paris)* **125c**: 373–89.

Mason D., MacPhee I., Antoni F. 1990. The role of the neuroendocrine system in determining genetic susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis in the rat. *Immunology* **70**: 1–5.

Metzler B., Wraith D.C. 1993. Inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis by inhalation but not oral administration of the encephalitogenic peptide: influence of MHC binding affinity. *Int. Immunol.* **5**: 1159–65.

Nagata S., Suda T. 1995. Fas and Fas ligand: lpr and gld mutations. *Immunol Today* **16**: 39–43.

Nossal G.J.V. 1994. Negative selection of lymphocytes. *Cell* **76**: 229–39.

Powell D., Mason D. 1993. Evidence that the T cell repertoire of normal rats contains cells with the potential to cause diabetes. Characterization of the $CD4^+$ T cell subset that inhibits this autoimmune potential. *J. Exp. Med.* **177**: 627–36.

Powrie F., Leach M.W., Mauze S. et al. 1994. Inhibition of Th1 responses prevents inflammatory bowel disease in scid mice reconstituted with CD45Rbhi $CD4^+$ T cells. *Immunity* **1**: 553–62.

Reiner S.L., Locksley R.M. 1995. The regulation of immunity to *Leishmania major*. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 151–77.

Ridge J.P., Fuchs E.J., Matzinger P. 1996. Neonatal tolerance revisited: turning on newborn T cells with dendritic cells. *Science* **271**: 1723–26.

Rozzo S.J., Eisenberg R.A., Cohen P.L. et al. 1994. Development of the T cell receptor repertoire in Ipr mice. *Semin. Immunol.* **6**: 19–26.

Sarzotti M. Robbins D.S., Hoffman P.M. 1996. Induction of protective CTL responses in newborn mice by a murine retrovirus. *Science* **271**: 1726–28.

Schwartz R.H. 1990. A cell culture method for T cell clonal anergy. *Science* **248**: 1349–56.

Stein K.E. Soderstrom T. 1984. Neonatal administration of idiotype or antiidiotype primes for protection against *Escherichia coli* K13 infection in mice. *J. Exp. Med.* **160**: 1001–1011.

Vidal S.M., Malo D.M., Vogan K. et al. 1993. Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for *Bcg*. *Cell*. **73**: 469–85.

Von Boehmer H. 1994. Positive selection of lymphocytes. *Cell* **76**: 219–28.

Wicker L.S., Todd J.A., Peterson L.B. 1995. Genetic control of autoimmune diabetes in the NOD mouse. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 179–200.

Wilder R.L. 1995. Neuroendocrine–immune system interactions and autoimmunity. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 307–38.

Zinkermagel R.M., Pircher H.P., Ohashi P. et al. 1991. T and B cell tolerance and responses to viral antigens in transgenic mice: implications for the pathogenesis of autoimmune versus immunopathological disease. *Immunol. Rev.* **122**: 133–71.

14 Иммунологическая толерантность

- **Механизмы толерантности** необходимы, поскольку иммунная система продуцирует огромное число разнообразных антигенспецифичных рецепторов и некоторые из них оказываются специфичными к собственным антигенам организма; толерантность предотвращает нежелательные реакции против собственных органов и тканей.
- **Центральная (тимическая) толерантность** к «своим» антигенам (аутоантигенам) обеспечивается делецией тех дифференцирующихся Т-клеток, антигенспецифичные рецепторы которых обладают высоким сродством к собственным антигенам, локализованным в тимусе. Низкоаффинные аутореактивные Т-клетки, а также Т-клетки с рецепторами к тем антигенам, которые не представлены в тимусе, созревают и пополняют пул периферических Т-лимфоцитов.
- **Посттимическую толерантность к собственным антигенам** обеспечивают три механизма: циркулирующие в крови аутореактивные Т-клетки могут просто «не замечать» собственные антигены, например если антигены локализованы в не связанных с циркуляцией тканях; при определенных условиях аутореактивные клетки делетируются или становятся анергичными, неспособными взаимодействовать с антигеном. Очевидное состояние толерантности к собственным антигенам может также поддерживаться механизмом иммунного отклонения.
- **Делеция В-клеток** происходит в костном мозге; делетируются на ранней стадии дифференцировки те В-клетки, которые экспрессируют на своей поверхности иммуноглобулиновые рецепторы с высокой аффинностью к собственным мембраносвязанным антигенам.
- **Аутореактивные В- и Т-клетки могут избежать делеции** на периферии за счет снижения экспрессии антигенных рецепторов.
- **Толерантность можно индуцировать искусственно** различными способами, и некоторые из них применимы в медицине для предотвращения отторжения чужеродных трансплантатов и лечения аутоиммунных и аллергических заболеваний.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунологическая толерантность – это состояние ареактивности в отношении того или иного антигена; ее индуцирует предшествующий контакт с этим антигеном. Активно функционирующие механизмы толератности необходимы для предупреждения воспалительных реакций в ответ на многие безвредные антигены, попадающие в организм с воздухом и пищей и действующие на слизистую оболочку дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Однако наиболее важна толерантность к собственным антигенам организма; она предотвращает иммунный ответ против собственных тканей. Между тем возможность такого ответа существует, поскольку иммунная система продуцирует самые разнообразные антигенспецифичные рецепторы (см. гл. 8), в том числе способные реагировать с аутоантигенами. Поэтому клетки, имеющие подобные рецепторы, должны быть функционально или физически элиминированы.

Способность организма предотвращать развитие иммунных реакций, направленных против собственных антигенов, не является генетически запрограммированной, а развивается в онтогенезе. Так, гомозиготные животные гистосовместимых линий А и Б взаимно отторгают кожные трансплантаты другой линии, тогда как их гибриды F1 (экспрессирующие антигены обоих родителей, А и Б) воспринимают трансплантаты как А, так и Б. Отторжение трансплантатов обоих типов вновь проявляется у гомозигот поколения F2. Таким образом, свойство различать «свое/несвое» приобретается в онтогенезе: все эпитопы (антигенные детерминанты), закодированные в ДНК организма, должны быть иммунологически определены как «свои», все другие – как «несвои».

Однако способность отличать собственные антигены от чужеродных определяется не только структурой их молекул как таковых. Наряду со структурными особенностями эпитопов важное значение имеют и другие факторы:

- стадия дифференцировки лимфоцита при его первом контакте со специфическим эпитопом;

- участок организма, где происходит этот контакт;
- природа клеток, презентирующих эпитопы и
- число лимфоцитов, реагирующих на данные эпитопы.

История открытия

Вскоре после того как была обнаружена специфичность антител, стало ясно, что должны существовать какие-то механизмы, предотвращающие образование аутоантител. Еще в начале XX столетия Эрлих предложил термин «страх самоотравления», предполагая необходимость существования регулирующего механизма, препятствующего продукции аутоантител. В 1938 г. Трауб индуцировал специфическую толерантность, введя эмбрионам мышей вирус лимфоцитарного хориоменингита, вызывающий пожизненную инфекцию. В отличие от нормальных мышей взрослые особи, зараженные in utero, не продуцировали нейтрализующих антител при повторном введении вируса. В 1945 г. Оуэн сообщил об эксперименте, поставленном самой природой, — неидентичных телятах-близнецах, в крови каждого из которых были обнаружены клетки, несущие и «свои», и «не-свои» антигены. Эти телята в эмбриональный период имели общий плацентарный кровоток, в результате чего был возможен обмен гемопоэтическими (стволовыми) клетками. У животных возникла пожизненная толерантность (эритроцитарный мозаицизм): во взрослом состоянии они не давали гуморального ответа на введение эритроцитов партнера по эмбриональному парабиозу. (При отсутствии общего плацентарного кровообращения у дизиготных телят-двоен перекрестное введение эритроцитов взрослым животным вызывает антителообразование.) Основываясь на этом наблюдении, Бернет и Феннер постулировали, что решающим фактором в формировании иммунореактивности и приобретении способности распознавать чужеродные антигены служит возраст животных в момент первого контакта с антигеном. Такая гипотеза казалась логичной, поскольку с большинством собственных антигенов иммунная система сталкивается обычно до рождения и только позднее начинает взаимодействовать с чужеродными антигенами.

Экспериментальное подтверждение эта гипотеза получила в 1953 г., когда Медавар и его коллеги индуцировали у мышей толерантность к аллогенному (т. е. не идентичному, но от животного того же вида) кожному трансплантату путем введения аллогенных клеток новорожденным особям (*рис. 14.1*). Подобная толерантность легко объяснима с позиций клонально-селекционной теории Бернета (1957), согласно которой данный иммуноцит (в частности, В- или Т-клетка) при участии антигена проходит отбор, после чего делится, давая клон дочерних клеток той же специфичности. Один из постулатов этой теории гласит, что при контакте с теми или иными антигенами после рождения специфичные к ним клоны лимфоцитов активируются, тогда как при контакте до рождения происходит делеция специфичных к данным антигенам клонов (они были названы Бернетом «запрещенными клонами»). Из теории следует, что весь репертуар специфичностей должен быть создан до рождения, однако в действительности дифференцировка лимфоцитов продолжается еще долгое время после рождения. Таким образом, ключевым фактором, определяющим иммунореактивность, является не стадия развития организма, а степень зрелости лимфоцита в тот момент, когда он встречается с антигеном. Такое предположение было высказано в 1959 г. Ледербергом в его модифицированной трактовке клонально-селекционной теории: незрелые лимфоциты, контактирующие с антигеном, подвергаются клональной делеции, а зре-

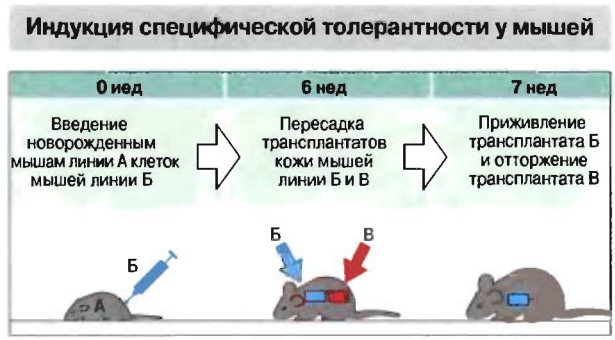


Рис. 14.1
Индукция специфической толерантности к трансплантату кожи у новорожденных мышей, которым вводили клетки селезенки от мышей-доноров разных линий. Мыши линии А в обычных условиях отторгают трансплантат кожи Б. Однако, если они при рождении получили инъекцию клеток мышей линии Б, то в возрасте 6 нед у них обнаруживается толерантность к коже мышей линии Б, а трансплантированная кожа мышей линии В отторгается. Этот феномен обусловлен иммунным отклонением (см. текст).

лые активируются. В настоящее время иммунокомпетентность новорожденного организма – твердо установленный факт. Индуцировать толерантность к определенным антигенам до рождения удается просто по той причине, что иммунные реакции у новорожденных и взрослых могут быть функционально различными. В связи с этим индукцию толерантности у новорожденных можно рассматривать как один из первых примеров «иммунного отклонения» такого типа (см. ниже).

Основополагающими открытиями 1960-х гг. стали иммунологическая компетентность лимфоцитов, ведущая роль тимуса в развитии иммунной системы и существование двух взаимодействующих субпопуляций лимфоцитов – Т- и В-клеток. Именно эти открытия послужили основой для обширных исследований по выяснению клеточных механизмов «толерогенеза».

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ

Получение трансгенных животных открыло возможность изучения толерантности к аутентичным, собственным антигенам

До последнего времени единственной экспериментальной моделью толерантности служила искусственно индуцированная толерантность: животным вводили антигены или чужеродные клетки, а затем прослеживали судьбу реагирующих Т- или В-клеток, всевозможным образом варьируя условия. Оставалось, однако, неясным, в какой степени эта модель воспроизводит состояние естественной толерантности к собственным антигенам.

Теперь, благодаря разработке методов получения трансгенных животных стало возможным изучать толерантность к «своему» прямым путем. Эти методы позволяют вводить мышам с известной генетической основой специфический ген и анализировать влияние данного гена на развитие иммунной системы. Кроме того, если вводимый ген соединить с тканеспецифическим промотором, экспрессию гена можно ограничить специфичными для данного промотора клетками. Иммунная система реагирует на белковый продукт «трансгена», по существу, как на истинный собственный антиген (аутоантиген), и все происходящие при этом процессы можно изучать in vivo, исключив травмирующие вмешательства и воспалительные реакции, сопутствующие пересадке чужеродных клеток или тканей. Кроме того, животные родительской и трансгенной линий идеально подходят для постановки контрольных экспериментов и переноса лимфоцитов, ибо они являются конгенными, т. е. различаются только по одному локусу. Удается даже вывести таких трансгенных мышей, у которых все Т- или В-клетки экспрессируют лишь единственный антигенный рецептор. Благодаря такому повышению частоты антигенспецифичных клеток-предшественников анализ механизмов толерантности существенно облегчается. И наконец, использование методов направленного мутагенеза позволяет иммунологам удалять специфические гены, чтобы исследовать роль их продуктов в индукции иммунологической толерантности.

Существуют три возможных пути, посредством которых предотвращается реакция аутореактивных лимфоцитов на собственные антигены.

- **Клональная делеция:** физическое удаление клеток из репертуара на той или иной стадии их жизненного цикла.
- **Клональная анергия:** подавление самого механизма иммунного ответа.
- **Супрессия:** подавление клеточной активности в результате взаимодействия с другими клетками, в частности продуцирующими цитокины-ингибиторы, или с идиотипспецифичными лимфоцитами, распознающими антигенспецифичный рецептор аутореактивных клеток.

Какой из указанных механизмов будет действовать в том или ином случае, зависит от ряда факторов: 1) стадии дифференцировки аутореактивных лимфоцитов, 2) аффинности их рецепторов к аутоантигену, 3) природы антигена, 4) его концентрации, 5) распределения его в тканях и 6) характера его экспрессии, а также 7) от наличия костимулирующих сигналов. Существует общее правило: если костимуляция отсутствует, иммунная система скорее всего «не заметит» данный антиген.

ЦЕНТРАЛЬНАЯ ТИМИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ К АУТОАНТИГЕНАМ

В тимусе происходит формирование Т-клеток из клеток-предшественников с еще неперестроенными генами Т-клеточных рецепторов (ТкР). В процессе развития лимфоцитов в тимусе эти гены подвергаются перестройке, после чего Т-клетки начинают экспрессировать ТкР, способные распознавать продукты деградации антигенов или пептиды в связывающей их полости мо-

лекул MHC – антигенов, кодируемых генами главного комплекса гистосовместимости (MHC, от англ. major histocompatibility complex) организма (см. гл. 7 и 9).

В тимусе происходит отбор Т-клеток с рецепторами, способными связывать антигены в комплексе с молекулами MHC, и делеция клеток, высокоавидных к собственным антигенам

Высокая скорость пролиферации тимоцитов сочетается с их массовой гибелью: подавляющее большинство так называемых дважды положительных ($CD4^+CD8^+$) тимоцитов погибает в тимусе. К причинам этого относятся аберрантная перестройка генов ТкР (возникновение «неиспользуемых» рецепторов), отрицательная селекция и неспособность клеток пройти положительный отбор. Условием положительной селекции является умеренная степень авидности Т-клеток к полиморфным областям молекул MHC, ассоциированных с пептидами; такие клетки выживают (*рис. 14.2*). Они связываются с молекулами MHC на поверхности эпителиальных клеток корковой зоны, и это связывание предположительно защищает Т-клетки от запрограммированной гибели (апоптоза). Положительная селекция обеспечивает формирование зрелых Т-клеток, способных распознавать лишь те пептиды, которые удерживаются в специальной полости собственных молекул MHC. Этот феномен ограниченности распознавания называют рестрикцией по MHC. Однако положительная селекция не предотвращает дифференцировку Т-клеток, несущих рецепторы с высокой аффинностью и к собственным пептидам, и к молекулам MHC. Поэтому, чтобы заставить «молчать» такие высокоаутореактивные клетки, должен существовать тот или иной путь отрицательной селекции.

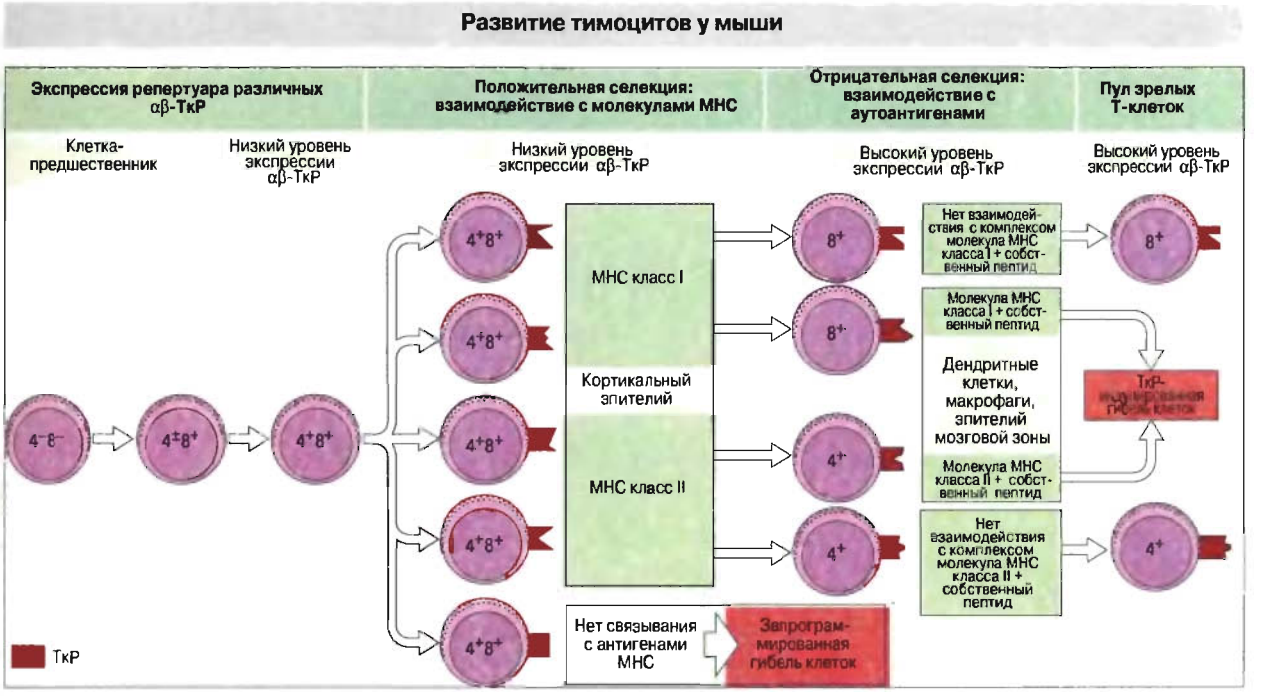


Рис. 14.2
Предшественники тимоцитов в корковой зоне тимуса превращаются в «дважды положительные» клетки, экспрессирующие незначительное количество αβ-ТкР. Эти клетки проходят положительную селекцию, взаимодействуя со «своими» молекулами MHC класса I или II на кортикальном эпителии. Неотобранные клетки (их большинство) погибают в результате запрограммированного саморазрушения (апоптоза). Положительно отобранные клетки теряют одну из своих корецепторных молекул (CD4 или CD8). И наконец, аутореактивные клетки элиминируются за счет их взаимодействия с собственными пептидами, презентированными на клетках в области кортико-медуллярного соединения и мозговой зоне тимуса.

Механизмы положительной и отрицательной селекции

Поскольку и положительная, и отрицательная селекция связаны с распознаванием собственных пептидов в ассоциации с собственными молекулами MHC, возникает вопрос, каким образом сигналы, передаваемые одним и тем же TкР, обусловливают либо тот, либо другой процесс. Для объяснения этого предложены две теории.

- Согласно так называемой количественной теории, в случае незначительного числа комплексов пептид–молекула MHC индуцируется положительная селекция, тогда как при высоком их числе – отрицательная.
- Основное положение «качественной» теории состоит в том, что, воздействуя на один и тот же Т-клеточный рецептор, различные комплексы пептид–молекула MHC индуцируют сигналы разного типа, вызывая либо положительную, либо отрицательную селекцию.

В пользу количественной теории говорят результаты опытов на трансгенных мышах, экспрессирующих TкР к основному белку миелина – аутоантигену миелиновой оболочки, окружающей аксоны. У мышей одной из линий естественный пептидный эпитоп, распознаваемый специфичными к этому белку Т-клетками, связывается соответствующей молекулой MHC класса II, но с очень низкой аффинностью. Вследствие этого специфичные к данному эпитопу Т-клетки избегают отрицательной селекции в тимусе. Однако, если трансгенным мышам, имеющим тот же самый TкР, ввести высокоаффинный аналог этого пептида, происходит отрицательная селекция незрелых тимоцитов – апоптотическая гибель (*рис. 14.3*). Очевидно, судьбу клеток – гибель или выживание – определяет число комплексов пептид–молекула MHC, презентированных развивающимся Т-клеткам. Собственные эпитопы, формирующие более стабильные комплексы с белками MHC, с большей вероятностью индуцируют отрицательную селекцию.

Качественная теория была предложена для объяснения результатов, полученных в опытах с органными культурами тимуса. Как показали эти эксперименты, пептидные эпитопы, измененные по аминокислотным остаткам, которые обеспечивают взаимодействие с Т-клеточным рецептором, – TкР-антагонисты – вызывают более выраженную положительную селекцию, чем исходный эпитоп (агонист). Однако эти две теории не

Отрицательнвя селекция тимоцитов непосредственно связана с аффинностью пептидов к молекулам MHC

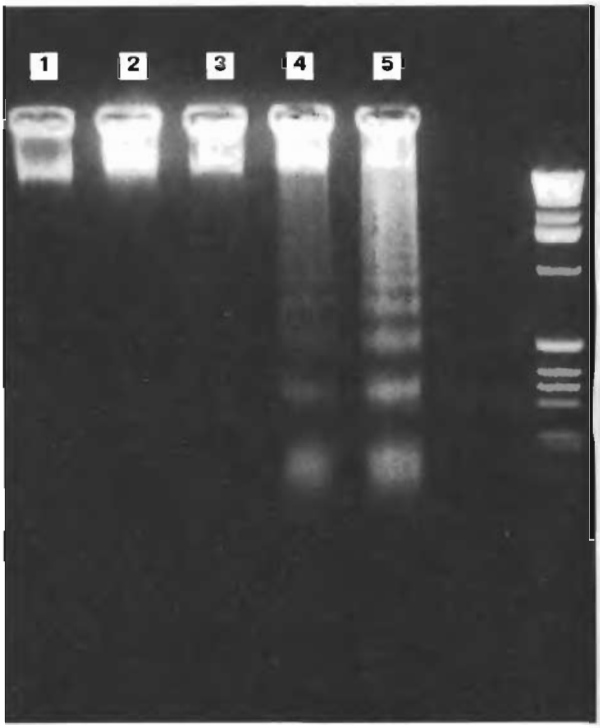


Рис. 14.3
Этот агарозный гель, окрашенный на ДНК, демонстрирует различную степень апоптоза (фрагментвции ДНК) тимоцитов трансгенных мышей (экспрессирующих TкР, специфичные к пептидам Ac1–9 основного белка миелина) в присутствии пептидов с возрастающей аффинностью к молекулам MHC класса II.

1. Посторонний пептид.
2. Аутентичный низкоаффинный пептид (Ac1–9).
3. Аналог с промежуточной аффинностью к молекуле MHC (Ac1–9 [4A])
4. Аналог с высокой аффинностью к молекуле MHC (Ac1–9 [4V])
5. Другой аналог с высокой аффинностью к молекуле MHC (Ac1–9 [4Y]).

являются взаимоисключающими. Разработанные к настоящему времени методы позволяют измерять аффинность связывания очищенных молекул TкР с очищенными молекулами MHC, нагруженными пептидными агонистами или антагонистами. При помощи этих методов установлено, что с теми комплексами пептид-антагонист–молекула MHC, которые индуцируют положительную селекцию в органных культурах ти-

Аффинность ТкР к комплексу молекула МНС–пептид влияет на положительную селекцию

Пептид	Период полужизни	Селекция тимоцитов	Ответ зрелых Т-клеток
Агонист	++	Отрицательная	++
Антагонист	±	Положительная	±
Посторонний пептид	–	Нет эффекта	–

Рис. 14.4
Аффинность растворимого ТкР к комплексам из различных пептидов и соответствующих элементов рестрикции (антигены МНС) можно определить биофизическими методами, например методом поверхностного плазмонного резонанса. Существует прямая корреляция между временем полужизни ТкР-связи с комплексом молекула МНС–пептид и реакцией зрелых Т-клеток, экспрессирующих тот же рецептор (т. е. агонист > антагонист > посторонний пептид). Однако в органной культуре тимуса добавление пептида-агониста вызывает делецию развивающихся клеток (отрицательная селекция), тогда как пептид-антагонист стимулирует положительную селекцию. Это показывает, что низкоавидное взаимодействие стимулирует положительную селекцию, а высокоавидное – отрицательную.

муса, ТкР образует нестабильное соединение (*рис. 14.4*). Тот же самый ТкР относительно стабильно связывается с комплексом агонист–молекула МНС, и в тех же экспериментальных условиях это ведет к отрицательной селекции. Полученные результаты сближают количественную и качественную теории и соответствуют кинетической модели, согласно которой индукция процессов положительной или отрицательной селекции определяется скоростью диссоциации ТкР от комплекса пептид–молекула МНС. На общую авидность взаимодействия Т-клеток с антиген-презентирующими клетками (АПК) в тимусе (*рис. 14.5*) влияют следующие факторы:

- число комплексов пептид–МНС; оно зависит от аффинности эпитопа к соответствующей молекуле МНС;
- число молекул ТкР и соответствующих корецепторных молекул, экспрессируемых Т-клеткой, и
- аффинность специфичного ТкР к лиганду.

Положительная селекция и коммитирование Т-клеток происходят на определенной стадии их развития

В связи с чем тимоциты в процессе своего развития утрачивают одну из корецепторных молекул и становятся либо $CD4^+$-, либо $CD8^+$-клетками? Положительной селекции подвергаются лишь те незрелые тимоциты, которые имеют ТкР соответствующей специфичности и пока еще экспрессируют оба корецептора. Положительно отобранные тимоциты дифференцируются в так называемые моноположительные клетки, $CD4^+$ или $CD8^+$. При коммитировании в тот или иной тип клеток избирательно прекращается синтез другой корецепторной молекулы. У мыши такое избирательное прекращение синтеза происходит, когда клетки, несущие оба корецептора, получают сигналы, необходимые для положительной селекции (*рис. 14.2*).

Корреляция между авидностью и селекцией тимоцитов

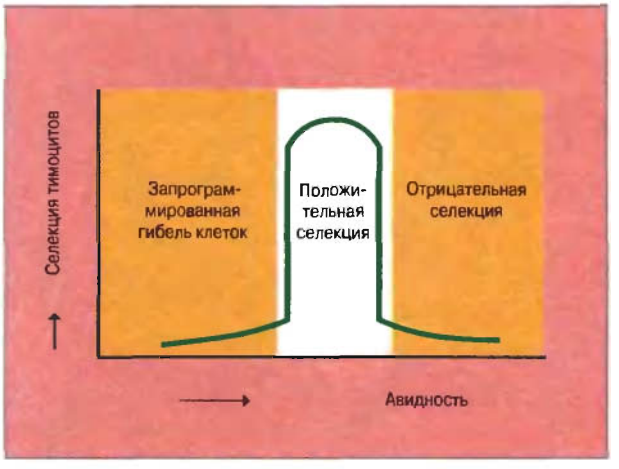


Рис. 14.5
Авидность взаимодействия Т-клетки с антигенным пептидом, презентированным на АПК, зависит от уровня экспрессии (концентрации) комплекса МНС-молекула–пептид [МНС-молекула + пептид] на АПК, а также от аффинности и экспрессии (концентрации) на поверхности Т-клеток ТкР и корецепторных молекул [ТкР + корецепторные молекулы]. [МНС-молекула + пептид] зависит от аффинности пептида к молекуле МНС и стабильности сформировавшегося комплекса. [ТкР + корецепторные молекулы] определяется аффинностью индивидуального ТкР к комплексу пептид–МНС-молекула, уровнем экспрессии ТкР на клеточной поверхности и соответствующим уровнем экспрессии корецепторных молекул.

Время и место отрицательной селекции зависят от разнообразных факторов

В число таких факторов входят: доступность собственных антигенов для развивающихся Т-клеток, сочетанная авидность ТкР и вспомогательных молекул (CD8 или CD4) к комплексу собственный антиген MHC–собственный пептид и природа клеток, ответственных за делецию. Отрицательная селекция не требует участия специализированных АПК; в обычных условиях это функция дендритных клеток тимуса или макрофагов, которые локализованы преимущественно в области перехода корковой зоны в мозговую; они несут на своей поверхности большое число молекул MHC классов I и II, обеспечивая тем самым связывание Т-клеток, имеющих высокую авидность к собственным пептидам (*рис. 14.6*). В отрицательной селекции могут также участвовать некоторые эпителиальные клетки мозговой и корковой зон. Делецию способны вызывать и сами тимоциты (*рис. 14.6*).

Клетки тимуса, участвующие в отрицательной селекции

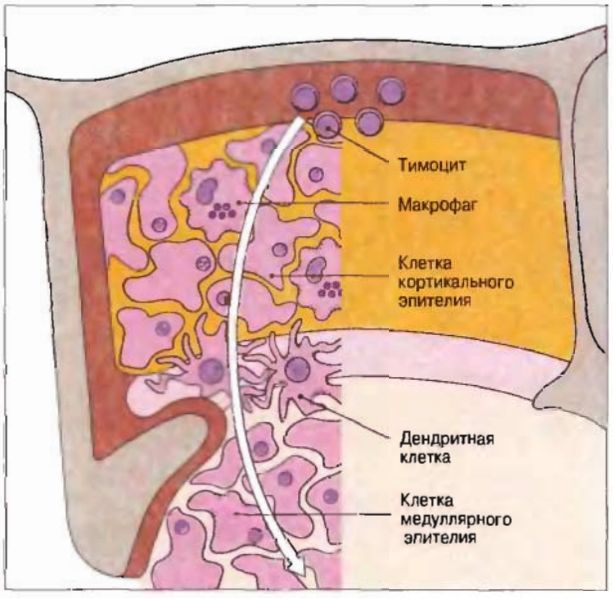


Рис. 14.6
Делетирующая популяция включает макрофаги костномозгового происхождения или дендритные клетки, расположенные преимущественно в области перехода корковой зоны в мозговую. В делеции могут участвовать и другие клетки, в частности сами тимоциты, обладающие «вето»-функцией, а также тимусные эпителиальные клетки некоторых типов, локализованные, возможно, в мозговой зоне.

В отрицательной селекции участвует специальный сигнал гибели

Существует ряд механизмов апоптотической гибели зрелых лимфоцитов. Сигналы, индуцирующие апоптоз, могут передаваться через Fas, CTLA-4 или рецепторы ФНО (см. ниже). Процесс отрицательной селекции дважды положительных тимоцитов ($CD4^+CD8^+$) уникален тем, что не зависит ни от одного из этих процессов.

ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ, ИЛИ ПОСТТИМИЧЕСКАЯ, ТОЛЕРАНТНОСТЬ К СОБСТВЕННЫМ АНТИГЕНАМ

Как правило, некоторые потенциально аутореактивные Т-лимфоциты не погибают в тимусе и поступают в пул периферических лимфоцитов. Таким образом, в крови здоровых индивидов могут появиться аутореактивные Т-клетки, способные реагировать с пептидами собственных тканеспецифических антигенов, в частности основного белка миелина. Избежать делеции в тимусе Т-лимфоциты могут по ряду причин:

- в тимусе могут экспрессироваться не все антигены организма;
- не все эпитопы собственных антигенов обладают достаточной аффинностью для формирования стабильных комплексов пептид–молекула MHC, которое составляет условие Т-клеточной делеции;
- не все ТкР связывают свои лиганды с достаточной для делеции Т-клеток аффинностью.

Для предотвращения аутоагрессивного действия избежавших делеции Т-лимфоцитов существует четыре механизма:

- «игнорирование» Т-клетками антигенов собственных тканей организма;
- анергия Т-клеток;
- гибель Т-клеток;
- иммунное отклонение или иммуносупрессия.

Потенциально аутореактивные клетки могут «игнорировать» собственные антигены

Этот феномен представляет собой пассивную форму толерантности к аутоантигенам и наблюдается в следующих случаях:

- если аутореактивные Т-лимфоциты не могут проникнуть через эндотелиальный барьер, отделяющий клетки с соответствующими аутоантигенами;
- если активация аутореактивных Т-клеток, проникших через этот барьер, не может произойти по одной из следующих причин:
  а) недостаточное для распознавания количество аутоантигена;
  б) недостаточность или отсутствие экспрессии молекул МНС на тканевых клетках, несущих данный аутоантиген;
  в) недостаточное для эффективной иммунной реакции число Т-клеток;
  г) отсутствие костимуляции при презентации антигена.

Костимуляция Т-лимфоцитов состоит в том, что клетка в дополнение к сигналу, индуцированному через ТкР, получает второй сигнал. Этот дополнительный сигнал усиливает пролиферацию и стимулирует эффекторные функции Т-клеток, например продукцию цитокинов и литическую активность. Костимуляцию могут опосредовать различные поверхностные молекулы Т-клеток, однако основная роль в этом процессе принадлежит взаимодействию B7–CD28/CTLA-4. Молекула CD28 экспрессирована на клеточной поверхности, тогда как CTLA-4 исходно локализована внутри клетки, и ее ограниченная экспрессия на поверхности клетки зависит от соединения ТкР с лигандом. Экспрессия B7 на поверхности АПК необходима для презентации многих антигенов. В отсутствие костимуляции презентация антигенов, например клетками поджелудочной железы, может привести либо к «игнорированию» аутоантигенов, либо к развитию анергии, в зависимости от природы антигена и авидности взаимодействия.

Анергия как механизм периферической толерантности

Клетки могут стать неотвечающими, получив опосредованный ТкР сигнал. Подавление их функции может происходить за счет снижения экспрессии ТкР и корецепторных молекул. Это снижение возникает вследствие активирования Т-клеток и в условиях постоянной стимуляции ведет к анергии. Анергией называют такое состояние клеток, при котором они сохраняют жизнеспособность, но не могут осуществлять некоторые функции в ответ на оптимальную стимуляцию, опосредованную как антигенспецифичным рецептором, так и другими необходимыми для активации рецепторами. Анергию Т-лимфоцитов можно легко индуцировать in vitro, стимулируя клетки через их ТкР (сигнал 1) в отсутствие костимуляции (сигнал 2). Тот же результат дает применение пептидов-антагонистов в присутствии сигнала 2. Анергия, возникающая из-за отсутствия костимулирующего сигнала, обратима; ее удается устранить, стимулируя Т-клетки посредством ИЛ-2. По-видимому, подобное состояние можно воспроизвести in vivo введением мощных суперантигенов. Однако значение анергии как механизма периферической толерантности к собственным антигенам нельзя считать бесспорным. Такая форма регуляции слишком ненадежна, чтобы обеспечить стойкую толерантность к собственным антигенам, так как всегда существует опасность ее отмены под влиянием цитокинов, в частности ИЛ-2. При подобной регуляции было бы неизбежным возникновение аутоиммунных реакций в результате случайного воспаления или в ходе иммунного ответа на инфекцию. Не исключено, что во многих случаях проявления толерантности in vivo, приписываемые развитию анергии, в действительности отражают состояние паралича лимфоцитов, предшествующее их запрограммированной гибели. Активацию Т-клеток, ведущую к снижению экспрессии рецепторов, анергии и, возможно, гибели, следует рассматривать как непрерывный процесс, исход которого зависит от силы и продолжительности антигенного стимула.

Периферический механизм клеточной гибели

Для поддержания толерантности к собственным антигенам и гомеостаза иммунной системы важное значение имеет делеция Т-клеток вне тимуса, когда после активации антигеном большинство Т-клеток погибает в результате апоптоза. Этот механизм служит для контроля аутоиммунных реакций и поддержания оптимального пула лимфоидных клеток.

Периферическую делецию Т-клеток инициирует взаимодействие либо антигена Fas с его лигандом (FasL), либо ФНО с рецептором ФНО. Последующая цепь передачи сигналов активирует ИЛ-1β-конвертирующие ферментоподобные протеазы (ICE, от англ. IL-1β converting enzyme-like proteases), которые опосредуют запрограмми-

Роль Fas-системы в гибели Т-клеток

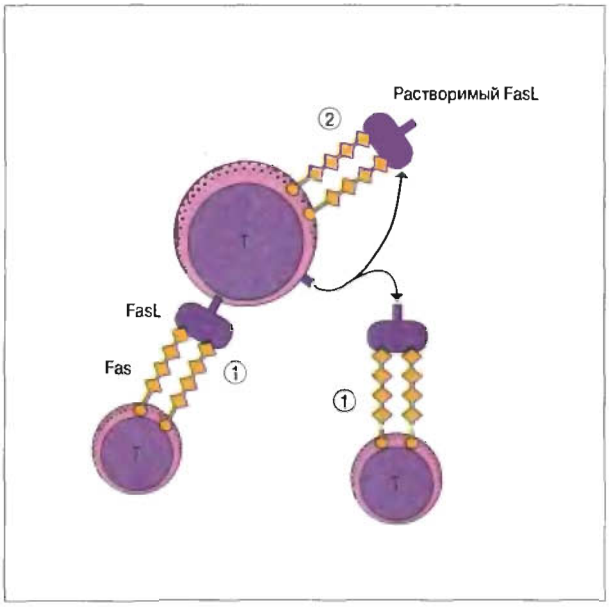


Рис. 14.7
Активированные Т-клетки экспрессируют и молекулу Fas (CD95), и лиганд Fas (FasL). В результате либо прямого клеточного контакта, либо взаимодействия с Fas растворимой формы FasL, отделившегося от мембраны за счет расщепления, может осуществляться «братоубийство» (**1**). В результате взаимодействия Fas с растворимым FasL может также произойти «самоубийство» клетки по аутокринному механизму (**2**).

рованную клеточную гибель (апоптоз). У человека и мыши встречается генетически обусловленная недостаточность Fas или лиганда Fas, и в обоих случаях возникает лимфопролиферативное заболевание. После активации Т-лимфоцитов антигеном повышается экспрессия FasL на клеточной поверхности. Связывание лиганда в мембраносвязанной или растворимой (протеолитически отщепленной от мембраны) форме с Fas может служить «сигналом гибели» близлежащим Т-клеткам, вызывая процесс, названный «братоубийством» (*рис. 14.7*). В некоторых тканях система Fas служит для защиты от нежелательных иммунных реакций. Так, ткани яичка и сетчатки конститутивно экспрессируют лиганд Fas, который предохраняет их от действия активированных Т-лимфоцитов.

Молекула CTLA-4 также играет важную роль как отрицательный регулятор. У лишенных CTLA-4 (методом генного нокаута) мышей развивается лимфопролиферативное расстройство, напоминающее нарушение у мышей с недостаточностью Fas, и возникает распространенный аутоиммунный процесс. После активации Т-лимфоцитов антигеном повышается экспрессия CTLA-4 на их поверхности (см. *рис. 11.5*). Связывание этой молекулы с лигандом блокирует CD28-зависимую продукцию ИЛ-2, экспрессию рецептора ИЛ-2 и продолжение цикла деления активированных Т-лимфоцитов. Одновременное связывание ТкР и CTLA-4 вызывает гибель клеток, которую можно предотвратить добавлением ИЛ-2. Таким образом, костимуляция посредством B7 может иметь двоякий исход (*рис. 14.8*):

- связывание с CD28 ведет к синтезу ИЛ-2, экспрессии рецептора ИЛ-2 и продолжению деления активированных Т-клеток;
- связывание с CTLA-4 блокирует CD28-зависимые реакции, останавливает клеточный цикл деления и вызывает гибель клеток, подавляя синтез ИЛ-2.

Следовательно, эффект костимуляции, опосредуемой молекулами B7 на поверхности АПК, определяется тонко сбалансированным соотношением экспрессии мембраносвязанных молекул CD28 и CTLA-4 на поверхности Т-клеток. Исследования на лишенных CTLA-4 мышах показыва-

Синтез ИЛ-2 контролируется костимулирующими сигналами

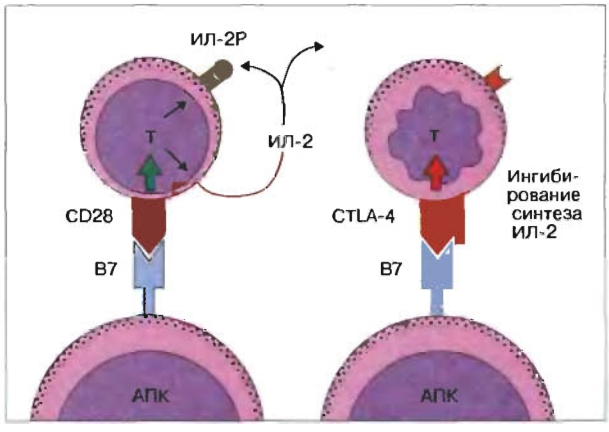


Рис. 14.8
Связывание B7 с CD28 генерирует внутриклеточные сигналы, вызывающие продукцию ИЛ-2, экспрессию рецептора ИЛ-2 и деление активированных Т-клеток. Связывание B7 с CTLA-4 на поверхности клетки блокирует эти CD28-зависимые реакции и подавляет синтез ИЛ-2, что неизбежно ведет к гибели клеток.

ют, что отрицательная сигнализация посредством CTLA-4 – это активно действующий механизм контроля в отношении аутореактивных Т-лимфоцитов.

Иммунное отклонение

Периферическая толерантность к антигенам может быть «заразительной», когда экспериментально индуцированная толерантность к одному антигену поддерживет толерантность или подавляет иммунный ответ на другой антиген, пока оба антигена структурно или физически связаны (например, локализованы в одной и той же ткани). Это указывает на механизм толерантности, отличный от «игнорирования» антигена и клеточной гибели. Одно из предложенных для данной формы толерантности объяснений предполагает существование двух популяций Т-лимфоцитов, продуцируюших разные цитокины. Известно, что многие воспалительные аутоиммунные заболевания вызываются Тх1-клетками, которые образуют цитокины ИФγ и ФНОα. Цитокины, продуцируемые Тх2-лимфоцитами, – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6 и ИЛ-10 – поддерживают антителообразование. Однако наряду с этим синтезируемые Тх2-клетками цитокины, в частности ИЛ-10, оказывают важный дополнительный эффект подавления эффекторных функций макрофагов, включая презентацию антигена Тх1-лимфоцитам и нестимулированным Т-клеткам (см. *рис. 10.7*). Таким образом, Тх2-клетки способны подавлять воспалительные реакции (в том числе гиперчувствительность замедленного типа, ГЗТ). В свою очередь секретируемый Тх1-лимфоцитами ИФγ может предотвращать дифференцировку Тх0-клеток в Тх2-лимфоциты. Такой механизм иммунного отклонения предложен более 30 лет назад для объяснения того, как животное может отвечать на один и тот же антиген реакциями двух совершенно разных типов. Если морских свинок примировать антигеном, используя в качестве адъюванта квасцы, у них продуцируется большое количество антител IgG1, однако ГЗТ не возникает. При введении того же антигена, но в полном адъюванте Фрейнда, развивается сильная реакция ГЗТ. Впоследствии было высказано предположение о том, что способность антигена вызывать либо «гуморальный», либо «клеточный» иммунный ответ отражает активацию им одного из двух, функционально антагонистичных один другому, механизмов иммунной системы. В описанных выше экспериментах наблюдалась, несомненно, форма иммунного отклонения, обусловленная избирательной индукцией Тх2-, но не Тх1-клеток. Феномен иммунного отклонения распространяется и на собственные антигены, поскольку развитие таких заболеваний, как диабет и воспалительный процесс в кишечнике, вызываемых Тх1-клетками, может быть предотвращено стимулированными антигеном Тх2-лимфоцитами.

Т-клеточная толерантность зависит от генотипа организма

Для изучения генетической природы толерантности экспериментально полученных трансгенных мышей, у которых островковые клетки поджелудочной железы экспрессировали вирусный антиген, гемагглютинин (ГА) вируса гриппа, а Т-клетки – ТкР, специфичный к этому антигену, (дважды трансгенные мыши), скрещивали с мышами, отличающимися по генам не-МНС, т. е. по генетической основе. У мышей одной линии (генетическая основа BALB/c) Т-клетки, реактивные по отношению к ГА, продуцировали большие количества ИЛ-4 и ИФγ; признаков воспалительного процесса в поджелудочной железе у этих мышей не было. ГА-реактивные Т-лимфоциты мышей другой линии (генетическая основа B10.D2) продуцировали лишь цитокины, свойственные Тх1-клеткам, и были способны инфильтрировать островки поджелудочной железы, вызывая диабет. Очевидно, что иммунное отклонение здесь контролировали гены, составляющие генетическую основу; многие из этих генов совместно регулируют чувствительность к аутоиммунному заболеванию.

ТОЛЕРАНТНОСТЬ В-КЛЕТОК К СОБСТВЕННЫМ АНТИГЕНАМ

Продукция высокоаффинных IgG зависит от Т-клеток (см. гл. 11). Поэтому, а также имея в виду, что порог чувствительности Т-клеток к индукции толерантности ниже, чем у В-клеток, проще всего предположить, что ареактивность В-лимфоцитов по отношению к собственным антигенам определяется отсутствием Т-клеточной помощи (*рис. 14.9*).

В-клеточный ответ на собственные или чужеродные антигены

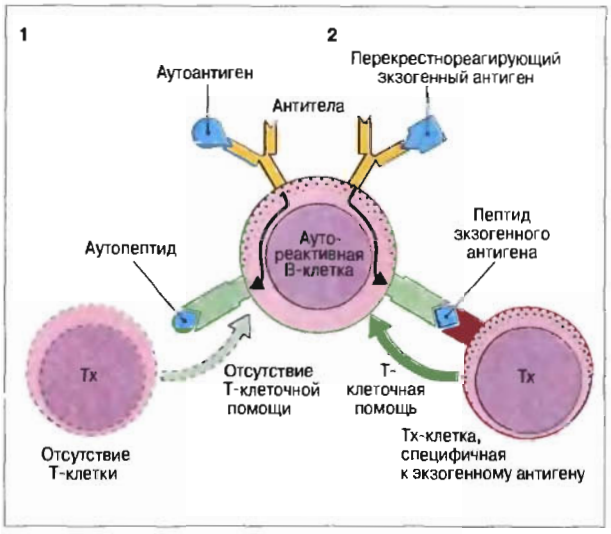


Рис. 14.9
1. Если отсутствуют Тх-клетки (либо потому, что их вообще нет в Т-клеточном репертуаре, либо по причине делеции при индукции толерантности к собственным антигенам в тимусе), соответствующие аутореактивные В-клетки будут неспособны продуцировать аутоантитела.
2. Продукция аутоантител может происходить в том случае, если аутореактивные В-клетки взаимодействуют с Тх-клетками, специфичными к другим, перекрестнореагирующим антигенам, которые содержат как «свои», так и «чужие» детерминанты.

В некоторых условиях толерантность В-клеток должна быть индуцирована прямым воздействием антигена

Клетки некоторых микробов содержат перекрестнореагирующие антигены, в составе которых имеются как чужеродные эпитопы, стимулирующие Т-клетки, так и другие эпитопы, сходные с собственными эпитопами организма и способные стимулировать В-клетки. Такие антигены могут вызывать сильный гуморальный ответ против аутоантигенов (*рис. 14.9*). Кроме того, в отличие от ТкР иммуноглобулиновые рецепторы зрелых, стимулированных антигеном В-клеток могут изменяться в результате гипермутирования и в итоге приобретать реактивность в отношении собственных антигенов. Таким образом, толерантность В-клеток может возникать как во время их развития, так и после антигенной стимуляции во вторичных лимфоидных тканях.

Аутореактивные В-клетки могут делетироваться или становиться анергичными в зависимости от аффинности В-клеточного рецептора и природы антигена

Индукция толерантности к собственным антигенам может приводить либо к делеции клеток, либо к их анергии. Это зависит от аффинности антигенных рецепторов В-клеток и природы соответствующего антигена, в частности от того, является ли он интегральным белком клеточной мембраны или представляет собой растворимый, циркулирующий, в основном мономерный белок. Судьба аутореактивных В-клеток прослежена в экспериментах на трансгенных животных (*рис. 14.10* и *14.11*).

В-клетки, реагирующие на мембраносвязанные аутоантигены, в конечном счете делетируются

Контакт аутореактивных В-клеток с мембраносвязанными аутоантигенами, способными с высокой аффинностью связывать В-клеточные Ig-рецепторы, дает следующий результат. В костном мозге число незрелых аутореактивных В-лимфоцитов не уменьшается, несмотря на подавление экспрессии IgM-рецепторов после связывания с мембраносвязанными собственными антигенами. Таким образом, незрелые В-клетки менее чувствительны к делетирующему действию аутоантигенов, чем Т-клетки на ранних стадиях дифференцировки. Тем не менее эти В-клетки имеют короткую продолжительность жизни и, можно сказать, обречены на гибель (вероятно, вследствие апоптоза) обычно еще до поступления в периферические лимфоидные ткани.

В-клетки, связывающие растворимые аутоантигены, становятся анергичными

В периферических лимфоидных тканях, где аутореактивные В-лимфоциты могут присутствовать в большом количестве, они не делетируются, подвергаясь воздействию растворимых (в основном мономерных) антигенов, а переходят в состояние анергии. Такой эффект возникает только при условии, что концентрация антигена превышает некий критический уровень. Анергия связана со снижением экспрессии IgM-, но не IgD-рецепторов. Эффект анергии сопровождается прекращением созревания В-клеток в мантии фол-

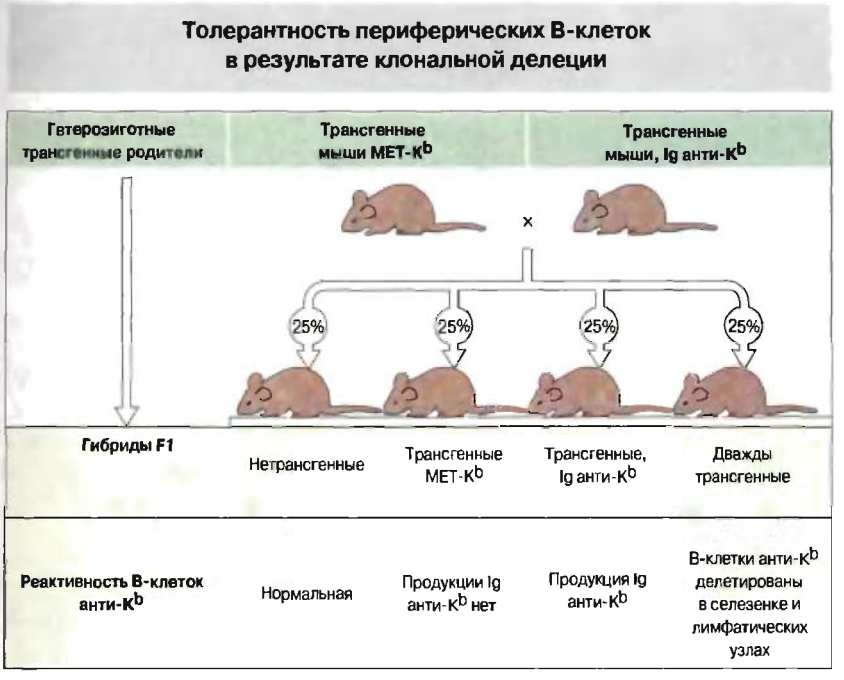


Рис. 14.10
Мышам гаплотипа не-H-2^b переносили чужеродный для них ген H-2^b, кодирующий мембранный белок MHC класса I. Ген содержал промотор металлотионеина, специфичный для печени. Таким способом были получены трансгенные мыши MET-K^b. Другим мышам, также гаплотипа не-H-2^b, переносили ген, кодирующий антитела против продукта H-$2K^b$ (трансгенные мыши с Ig анти-K^b). Тех и других мышей скрещивали, получая в потомстве дважды трансгенных мышей F1, в печени которых экспрессировался H-$2K^b$, а В-клетки, покидающие костный мозг, были специфичны к H-$2K^b$. Однако такие аутореактивные В-клетки частично делетировались в селезенке и были полностью делетированы в лимфатических узлах, в результате чего образования аутоантител никогда не происходило. Идиотип, идентичный Ig анти-K^b, у мышей трансгенных родительских линий не обнаруживался.

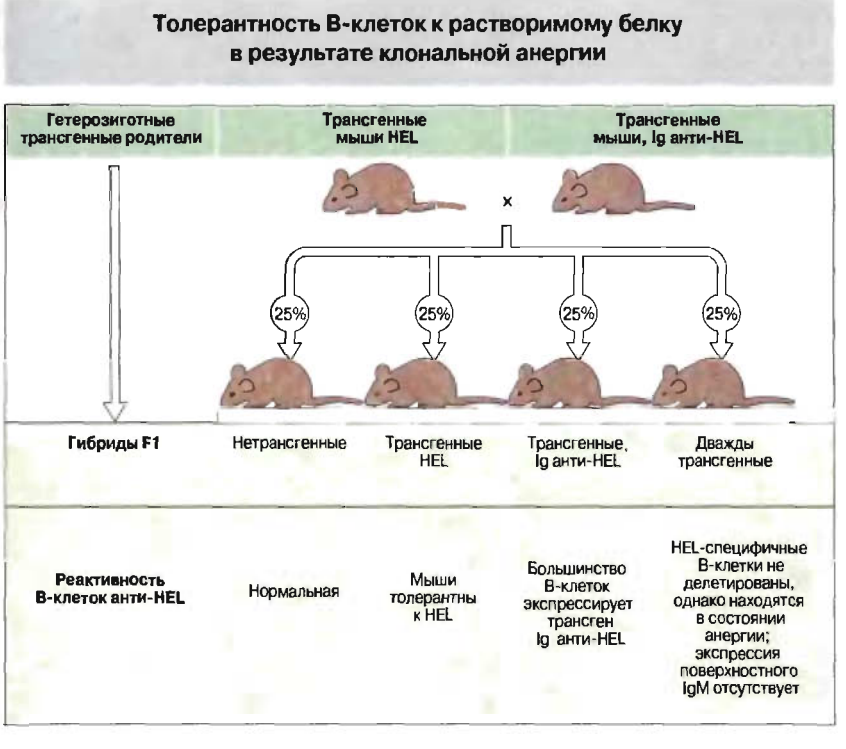


Рис. 14.11
Мышам одной из двух линий переносили ген лизоцима куриного яйца (HEL, от англ. hen egg lysozyme), соединенный с тканеспецифическим промотором. Продукт HEL (в основном его растворимая форма) вызывал толерантность Т- и В-клеток. Трансгенные мыши второй линии (продуцирующие Ig анти-HEL) имели перестроенные гены тяжелых и легких цепей высокоаффинных антител анти-HEL, которые несли аллотипический маркер IgH^a, отличающий их от эндогенно продуцируемых иммуноглобулинов (IgH^b). Большинство В-клеток этих трансгенных мышей имели IgM и IgD аллотипа «а». Дважды трансгенные гибриды F1 были высокотолерантны к HEL и не продуцировали ни антител, ни бляшкообразующих клеток. HEL-связывающие (аутореактивные) В-клетки не делетировались; однако они не экспрессировали на поверхности IgM-рецепторы при сохранении экспрессии рецепторов IgD и обнаруживали состояние анергии.

ликулов селезенки и резким снижением числа В-клеток, имеющих высокий уровень экспрессии поверхностного IgM, в краевой зоне. Таким образом, в отличие от В-клеток, подвергающихся клональной делеции, анергичные В-лимфоциты мигрируют в периферические лимфоидные органы, но не способны взаимодействовать в них с соответствующими Тх-клетками, что косвенно обусловлено отсутствием экспрессии IgM. Кроме того, время полужизни анергичных В-клеток составляет лишь несколько суток, тогда как у нормальных периферических В-лимфоцитов оно равно нескольким неделям. Развитие анергии, вероятно, не обусловлено активностью Т-клеток-супрессоров или антиидиотипических В-клеток, поскольку в исследованиях на трансгенных животных влияния подобных факторов не обнаружено.

Анергия В-клеток – обратимое состояние. Так, анергичные В-клетки могут реагировать на антиген-независимые, опосредуемые CD40 сигналы, поступающие от Тх-клеток; при этом на поверхности анергичных В-лимфоцитов за счет IgD-рецепторов может создаваться физиологическая концентрация антигена для презентации Тх-лимфоцитам (см. гл. 11). Вместе с тем при анергии нарушена способность к повышению экспрессии молекул B7 на клеточной поверхности после связывания антигенного рецептора. Недостаточная костимулирующая активность этих клеток может восстанавливаться под влиянием цитокинов (например, ИЛ-4) или различных поликлональных активаторов (в частности, липополисахарида). Кроме того, хроническая активация Т-клеток, вызванная инфекционными агентами, может приводить к активации соседних В-клеток, опосредуемой молекулами CD40 и цитокинами.

Вторичная перестройка генов иммуноглобулинов

У большинства В-клеток по завершении продуктивной перестройки генов иммуноглобулинов дальнейшей их перестройки не происходит. Однако у мышей, несущих искусственно перестроенные трансгены, потенциально аутореактивные В-клетки избегают делеции или состояния анергии благодаря тому, что подвергаются вторичной перестройке генов иммуноглобулинов. Такое изменение специфичности рецепторов (называемое также редактированием рецепторов) может служить одним из механизмов выживания В-клеток при постоянном соматическом мутировании.

ТОЛЕРАНТНОСТЬ, ИСКУССТВЕННО ВЫЗВАННАЯ IN VITRO

Толерантность В- и Т-клеток можно легко индуцировать in vitro

Антигены, способные перекрестно связывать иммуноглобулиновые рецепторы В-клеток, но не обладающие митогенными свойствами, могут вызывать толерантность В-клеток. Чтобы сделать толерантными зрелые В-лимфоциты, необходимо использовать высокие концентрации антигена, однако на незрелые В-клетки антиген оказывает толерогенное действие и при низкой концентрации. Перекрестное связывание иммуноглобулиновых В-клеточных рецепторов можно получить при помощи моноклональных антител анти-IgM. Применение таких антител в высоких концентрациях вызывает клональную делецию пре-В-клеток, предотвращая их дальнейшую дифференцировку в В-клетки, несущие мембраносвязанные IgM ($mIgM^+$). Если же использовать невысокие концентрации антител, пре-В-клетки дифференцируются в морфологически нормальные В-лимфоциты с нормальным числом иммуноглобулиновых рецепторов, однако переходят при этом в состояние глубокой анергии (*рис. 14.12*). Таким образом, и функцию В-клеток, и их число можно модулировать, воздействуя на иммуноглобулиновые рецепторы в критический период, когда они начинают появляться на поверхности клеток (превращение пре-В-клеток в В-клетки).

Т-клетки человека экспрессируют белки МНС класса II и могут взаимно презентировать друг другу антигенные пептиды. В результате либо развиваются толерантность, обусловленная снижением экспрессии рецепторов, и анергия, либо происходит активация, в зависимости от природы Т-клеток и антигена. Исследования, проведенные на клонах Т-клеток мыши, показали, что активация в отсутствие костимулирующих сигналов неизбежно приводит к развитию анергии. Презентация пептидных антигенов АПК на химически фиксированных АПК или на искусственных мембранах, содержащих белки МНС класса II, вызывает анергию, как это происходит в случае активации Т-клеток антителами против ТкР, иммобилизованными на пластико-

Чувствительность В-клеток к антителам анти-IgM



Рис. 14.12
Экспрессия на поверхности мембраносвязанного IgM (mIgM) и функциональная активность (реактивность к липополисахариду, ЛПС) представлены в процентах относительно нормального уровня. Можно видеть, что для уменьшения экспрессии mIgM требуется примерно в 10 000 раз больше антител анти-IgM, чем это необходимо для подавления в той же степени функциональной активности. Даже в концентрации 10^{-3} мкг/мл антитела анти-IgM существенно снижают реактивность к ЛПС, не оказывая влияния на экспрессию mIgM.

вой поверхности. По-видимому, одно лишь связывание ТкР без сопутствующей костимуляции ведет к анергии.

Эффект антигена – клональное абортирование В-клеток, делеция зрелых В-клеток или анергия – зависит от его валентности и перекрестного связывания

Результат взаимодействия В-клетки с антигеном зависит от ряда факторов: валентности антигена (т. е. числа эпитопов в его молекуле), концентрации антигена, аффинности рецепторов к соответствующим эпитопам и состояния зрелости клетки. На одном конце спектра возможных эффектов находится клональная делеция менее зрелых клеток, наиболее вероятная для клеток, несущих высокоаффинные рецепторы, а также встречающих высоковалентные антигены либо антигены, присутствующие в высокой концентрации (*рис. 14.13*). Противоположный конец спектра – это отсутствие эффекта при малой концентрации антигена и низкой аффинности. Клональная анергия занимает среди возможных эффектов промежуточное положение.

- **Клональное абортирование:** поливалентный антиген в соответствующей концентрации может вызывать делецию незрелых В-клеток, препятствуя их дальнейшей дифференцировке: пре-В-клеткам свойственна высокая степень «толерабельности».
- **Клональная делеция:** очень сильные отрицательные сигналы могут вызвать устранение зрелых В-клеток.
- **Клональная анергия:** при промежуточных концентрациях поливалентного антигена В-клетки дифференцируются в морфологически нормальные клетки с нормальным числом иммуноглобулиновых рецепторов, однако при этом переходят в состояние глубокой анергии.
- **Клональное «игнорирование»:** антиген не будет оказывать какого-либо влияния на В-клетки, если его концентрация слишком мала или же аффинность антигенного рецептора чересчур низка; это пассивная форма иммунологической толерантности.
- **Блокада антителообразующих клеток (АОК):** избыток Т-независимого антигена блокирует секрецию антител АОК; последние обладают низкой толерабельностью.

Чувствительность В-клеток к индукции толерантности

Стадия развития В-клеток	Отрицательный сигнал			
	очень сильный	сильный	средний	слабый
Пре-В → В-клетка	Абортирование	Абортирование	Анергия	Нет эффекта
В-клетка	Делеция	Анергия	Нет эффекта	Нет эффекта
АОК	Блокада	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта
В-клетка памяти → вторичная В-клетка	Абортирование	Абортирование	Анергия	Нет эффекта

Рис. 14.13
По мере того как незрелые В-клетки дифференцируются в антителообразующие клетки (АОК), их резистентность к индукции толерантности все более возрастает. Тип возникающей толерантности зависит от степени зрелости клетки и интенсивности антигенного сигнала. Последняя в свою очередь определяется аффинностью антигенного рецептора к соответствующим эпитопам, а также концентрацией и валентностью антигена, контактирующего с клеткой.

Второй период повышенной чувствительности клеток к индукции толерантности временно существует при формировании В-клеточной иммунологической памяти

Вторичные В-клетки (происходящие от В-клеток памяти, образовавшихся в результате Т-зависимой стимуляции; см. гл. 11) высокочувствительны к толерогенному действию эпитопов поливалентных антигенов в отсутствие Т-клеточной помощи (*рис. 14.13*). Существование такой стадии повышенной чувствительности к индукции толерантности, вероятно, обеспечивает элиминацию тех вновь возникающих В-клеток памяти, которые приобрели аутореактивность (в результате накопления соматических мутаций).

ТОЛЕРАНТНОСТЬ, ИСКУССТВЕННО ВЫЗВАННАЯ IN VIVO

Толерантность in vivo можно индуцировать различными способами

Химеризм, ассоциированный с толерантностью

У реципиентов, не обладающих иммунокомпетентностью, например у новорожденных животных или у взрослых особей, подвергнутых иммуносупрессивной обработке (путем общего облучения, введения лекарственных препаратов, в частности циклоспорина, или антилимфоцитарных антител – антилимфоцитарного глобулина, антител анти-CD4 и т. д.), толерантность можно вызвать введением аллогенных клеток. Для сохранения такой толерантности необходимо поддерживать определенный уровень химеризма (т. е. сосуществования генетически различающихся клеток донора и реципиента). Наилучшим способом достижения этой цели служит пересадка трансплантата из клеток, способных к самообновлению (например, клеток костного мозга).

Если в аллогенном инокуляте имеются зрелые Т-клетки, они могут реагировать против антигенов гистосовместимости реципиента, индуцируя тяжелое и часто смертельное расстройство, известное как реакция трансплантат против хозяина.

Антитела против В-клеточных корецепторов индуцируют толерантность к трансплантату

Толерантность к трансплантированным тканям можно индуцировать при помощи моноклональных антител, направленных против Т-клеточных молекул CD4 и CD8 (антитела могут быть двух типов – элиминирующие или не элиминирующие Т-клетки). В этом случае толерантность к аллогенному кожному трансплантату может быть получена в отсутствие клеточного химеризма.

Индукцию толерантности вызывают растворимые антигены

Толерантность можно индуцировать и у новорожденных и у взрослых животных, если применить растворимый белковый антиген в дезагрегированной форме. Существуют различия в чувствительности Т- и В-клеток к толерогенному действию таких антигенов. Так, толерантность Т-клеток селезенки и тимуса возникает уже через несколько часов после введения очень низких доз антигена. Толерантность В-клеток селезенки вызывают значительно более высокие дозы антигена и развивается она существенно медленнее (*рис. 14.14*). Концентрация антигена, необходи-

Относительная чувствительность Т- и В-клеток к индукции толерантности

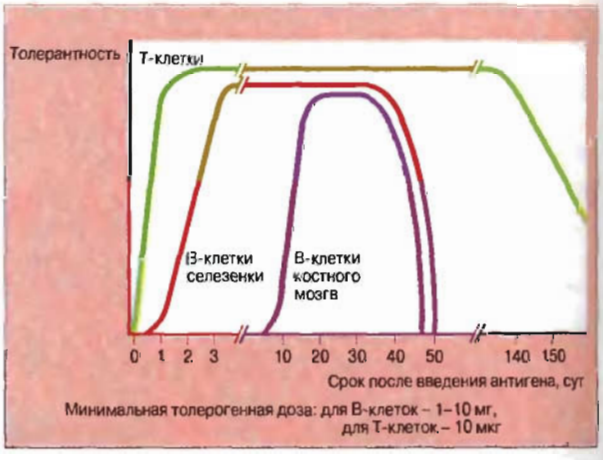


Рис. 14.14
Мышам вводили Т-зависимый антиген (глобулин человека) в толерогенных (вызывающих толерантность) дозах и определяли продолжительность толерантности. Т-клеточная толерантность развивалась быстрее и сохранялась дольше, чем В-клеточная. Состояние толерантности у В-клеток костного мозга возникало позднее, чем у В-лимфоцитов селезенки. Как правило, толерогенные дозы антигена для Т-клеток были значительно ниже, чем те же дозы для В-клеток – 10 мкг и 1–10 мг соответственно, что составляет 1000-кратное различие.

мая для индукции В-клеточной толерантности у новорожденных, примерно в сто раз ниже его концентрации, требуемой для получения толерантности у взрослых особей.

Иммунологическую толерантность индуцирует пероральное введение антигенов

Механизм возникновения толерантности при таком способе введения антигенов может быть различным. Высокие дозы антигенов могут вызывать анергию или делецию; здесь термин анергия означает состояние паралича клеток, предшествующее их гибели (см. выше). При более низкой дозе введенный таким способом антиген может примировать Т-клетки кишечника. Поскольку для эффективного антителообразования в кишечнике должно произойти переключение синтеза иммуноглобулинов на продукцию IgA, неудивительно, что пероральное введение антигена индуцирует появление Т-клеток, поддерживающих образование IgA-антител. Эти Тх2-подобные клетки секретируют цитокины, включая ИЛ-10 и ТФРβ (трансформирующий фактор роста β), и угнетают воспалительные реакции, опосредуемые Тх1-лимфоцитами. ТФРβ ингибирует пролиферацию и функции В-клеток, цитотоксических Т-клеток и НК-клеток, подавляет продукцию цитокинов лимфоцитами и противодействует эффектам ФНО. Хотя индукция Тх2-клеток в слизистой оболочке представляет собой антигенспецифичный процесс, супрессивное действие цитокинов, например ТФРβ, неспецифично. Поэтому индукция так называемой оральной толерантности к одному антигену может подавлять иммунный ответ на второй, ассоциированный с первым, антиген. Этот эффект «подавления свидетеля», оказываемый Тх2-лимфоцитами слизистой оболочки, позволяет осуществлять лечебное воздействие при комплексных органоспецифических аутоиммунных заболеваниях путем перорального введения какого-либо антигена из пораженной ткани.

Слизистые оболочки других органов, как установлено, столь же эффективно обеспечивают антигенспецифическую толерантность. Интраназальное применение пептидов, рестриктированных по антигенам МНС класса II, было использовано для модуляции и гуморального, и клеточного иммунных ответов. Кроме того, для подавления аллергических реакций на чужеродные антигены или аутоиммунного ответа на собственные антигены могут быть использованы соответствующие антигены, вдыхаемые в легкие в форме аэрозоля. Поскольку таким способом удается подавлять и аутоиммунные, и аллергические реакции, обусловленные соответственно Тх1- и Тх2-клетками, механизм толерантности в этом случае, по-видимому, не относится к феномену иммунного отклонения. Возможно, за супрессию иммунного ответа после введения белковых антигенов в виде аэрозоля ответственны клетки других типов, включая $CD8^+$.

Направленное действие антигена на нестимулированные В-клетки индуцирует иммунное отклонение

Иммунное отклонение можно вызвать путем воздействия на непримированные В-клетки антигеном, соединенным с моноклональными антителами к IgD (иммуноглобулину, присутствующему на поверхности В-клеток). При таком способе пептидный антиген презентируется В-клетками и возникает иммунное отклонение ответа в сторону Тх2-типа. Этот подход может быть использован для модуляции воспалительной реакции на пептидные антигены при экспериментально индуцированных аутоиммунных процессах, каким является, например, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЭАЭ).

Интенсивная клональная пролиферация может привести к истощению клона и развитию толерантности

Толерантность Т-лимфоцитов (и в меньшей степени В-клеток) может быть обусловлена так называемым клональным истощением, которое наступает в конечной стадии сильного иммунного ответа. Повторное введение антигена способно стимулировать дифференцировку всех антигенреактивных клеток в короткоживущие клетки-эффекторы, в результате чего в организме уже не остается клеток, которые могли бы обеспечить ответ на последующее введение антигена.

С толерантностью может быть связан антиидиотипический ответ

Связывающий участок антител может действовать как антиген и вызывать образование «антиидиотипических антител» (см. гл. 13). Перекрестно связывая иммуноглобулины на поверхности В-клеток, эти антитела способны блокировать их реактивность. У некоторых животных бóльшая часть антител, продуцируемых против некоторых

антигенов, имеет соответствующий идиотип и поэтому супрессия этого идиотипа антиидиотипическими антителами может существенным образом изменить ответ. Однако такая толерантность будет частичной, так как она затрагивает только те В-клетки, которые несут данный идиотип.

У Т-клеток идиотип представлен полиморфными областями α- и β-цепей ТкР. Специфичные к ТкР регуляторные клетки, возникающие после вакцинации аутореактивными Т-лимфоцитами, пептидами, полученными из ТкР, или даже ДНК, кодирующей ТкР, как установлено, предотвращают развитие аутоиммунного процесса.

Поддержание толерантности in vivo

Для поддержания толерантности in vivo важна персистенция антигена: когда концентрация антигена в организме падает ниже определенного порога, реактивность восстанавливается. Если толерантность возникла в результате клональной делеции, восстановление способности к иммунному ответу зависит по времени от образования новых лимфоцитов из клеток-предшественников. В этом случае состояние толерантности удается сохранить путем применения тимэктомии. Если же механизмом толерантности служит супрессия, как это имеет место, например, при иммунном отклонении, толерантность может сохраняться относительно долгое время.

ИНДУКЦИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ КАК ВОЗМОЖНОЕ СРЕДСТВО ТЕРАПИИ

Дальнейшее изучение механизмов толерантности необходимо для развития целого ряда направлений прикладных исследований. Оно поможет в поиске способов усиления толерантности к чужеродным трансплантатам и восстановления нарушенных иммунных функций при состояниях гиперчувствительности и аутоиммунитета. С целью возможного применения в медицине были опробованы различные пути создания искусственной толерантности у животных. Определенный успех достигнут в трансплантации, связанной с химеризмом, при использовании иммуносупрессивных агентов. Успешным оказалось и применение в опытах по пересадке чужеродных органов и тканей моноклональных антител анти-CD4 и анти-CD8, не вызывающих элиминации клеток. Предстоят клинические испытания разработанного на животных способа создания толерантности путем аппликации антигена направленного действия на слизистую оболочку или применения пептидов-антагонистов.

Важно также найти способ активации Т-клеток, «не замечающих» некоторые антигены, чтобы стимулировать активный иммунный ответ против этих антигенов. Это позволило бы ограничивать рост опухолей, которые могут экспрессировать свои собственные, уникальные, опухолеспецифические антигены.

Вопросы для размышления

- Каким образом аутореактивные лимфоциты избегают контроля со стороны иммунной системы?
- Почему циркулирующие в крови аутореактивные лимфоциты обычно не вызывают аутоиммунного заболевания?
- Каковы механизмы аутоагрессии и каким образом можно ее предотвратить или свести к минимуму?
- Почему иммунная система «не замечает» антигены, экспрессируемые опухолевыми клетками?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Goodnow C. 1992. Transgenic mice and analysis of B cell tolerance. *Annu. Rev. Immunol.* **10**: 489–518.

Kruisbeek A.M., Amsen D. 1996. Mechanisms underlying T-cell tolerance. *Curr. Opin. Immunol.* **8**: 233–44.

Miller J.E.A.P., Basten A. 1996. Mechanisms of tolerance to self. *Curr. Opin. Immunol.* **8**: 815–21.

Nossal G.J.V. 1994. Negative selection of lymphocytes. *Cell* **76**: 229–39.

Rocken M., Shevach E.M. 1996. Immune deviation–the third dimension of nondeletional T cell tolerance. *Immunol. Rev.* **149**: 175–94.

Schwartz R.H. 1996. Models of T cell anergy: is there a common molecular mechanism? *J. Exp. Med.* **184**: 1–8.

Эволюция иммунной системы

15

- У беспозвоночных важную роль в ликвидации чужеродного материала выполняют **фагоцитоз и инкапсулирование;** у многих видов эти процессы осуществляются белыми клетками крови.
- Установлена возможность **распознавания чужеродных трансплантатов** у животных, появившихся уже на ранних этапах эволюции, но специфичность реакции и клональная экспансия клеток у беспозвоночных недостаточно доказаны.
- В процессах распознавания «свое/не-свое» участвуют **лектины и профенолоксидаза.**
- У многих беспозвоночных в иммунорегуляции участвуют **цитокин-подобные молекулы.**
- **Иммуноглобулинами** беспозвоночные не обладают, хотя у многих из них обнаружены IgG-подобные молекулы. У некоторых вторичнополостных наблюдаются индуцируемые гуморальные иммунные реакции широкого спектра.
- У всех челюстноротых позвоночных имеются **В-клетки и IgM.** У пойкилотермных животных, несмотря на присутствие дополнительных тяжелых цепей, не относящихся к μ-цепям, аффинность антител остается низкой. Метод рекомбинантной ДНК позволяет обнаружить у позвоночных разных уровней филогенеза несколько типов организации генов Ig.
- У хрящевых рыб идентифицирован **главный комплекс гистосовместимости (МНС).** Начиная с костных рыб, появляются Т-клетки; рецепторные молекулы этих клеток в настоящее время изучаются.
- К элементам системы врожденного иммунитета у позвоночных относятся **нормальные клетки-киллеры (НК), фагоциты, белки комплемента и иммунорегуляторные цитокины.**

Изучение разнообразных видов позвоночных позволяет составить представление об эволюционном развитии иммунной системы вплоть до формирования ее сложноорганизованных механизмов у млекопитающих. Однако филогенез системы приобретенного иммунитета позвоночных, особенно его молекулярных основ, остается неясным, несмотря на многочисленные исследования иммунитета у беспозвоночных. В то же время изучение беспозвоночных проливает свет на происхождение врожденного иммунитета (например, фагоцитоза), полностью сформированного уже у позвоночных. Поскольку беспозвоночные чрезвычайно многочисленны и разнообразны – одиночные и колониальные формы, полостные и бесполостные, обладающие и не обладающие кровеносной системой, всего более 95 % всех видов животных на Земле – среди них можно найти много удобных объектов для экспериментальных исследований.

На *рис. 15.1* упрощенно представлено эволюционное древо царства животных с разделением от вторичнополостных на две основные ветви, принципиально различающиеся стадиями эмбриогенеза. Одна ветвь, ведущая к первичноротым – моллюскам, кольчатым червям и членистоногим, – дивергировала на этом раннем этапе эволюции от пути, ведущего к появлению вторичноротых – иглокожих, оболочников и позвоночных. Исследования в области иммунитета у беспозвоночных проводятся в основном на членистоногих и моллюсках, в связи с тем что многие из них являются переносчиками возбудителей болезней или вредителями сельскохозяйственных культур. Поэтому филогенетически более близкие к позвоночным таксоны (например, оболочники и иглокожие) привлекают гораздо меньше внимания. Кроме того, поскольку все предки позвоночных – вымершие виды, выводы о происхождении иммунитета у позвоночных, сделанные на основании изучения беспозвоночных (например, оболочников) (*рис. 15.2*), могут быть лишь гипотетическими, основанными на предположении о близком родстве некоторых современных животных с предковыми позвоночными. На *рис. 15.1* перечислены также обнаруженные у беспозвоночных реакции клеточного и гуморального иммунитета.

На *рис. 15.3* представлены вероятные этапы эволюции клеток крови и иммунной системы у позвоночных. Хотя иммуноциты имеются и у беспозвоночных, только позвоночные обладают лимфоцитами с высокой специфичностью и среди них клетками иммунологической памяти. Ка-

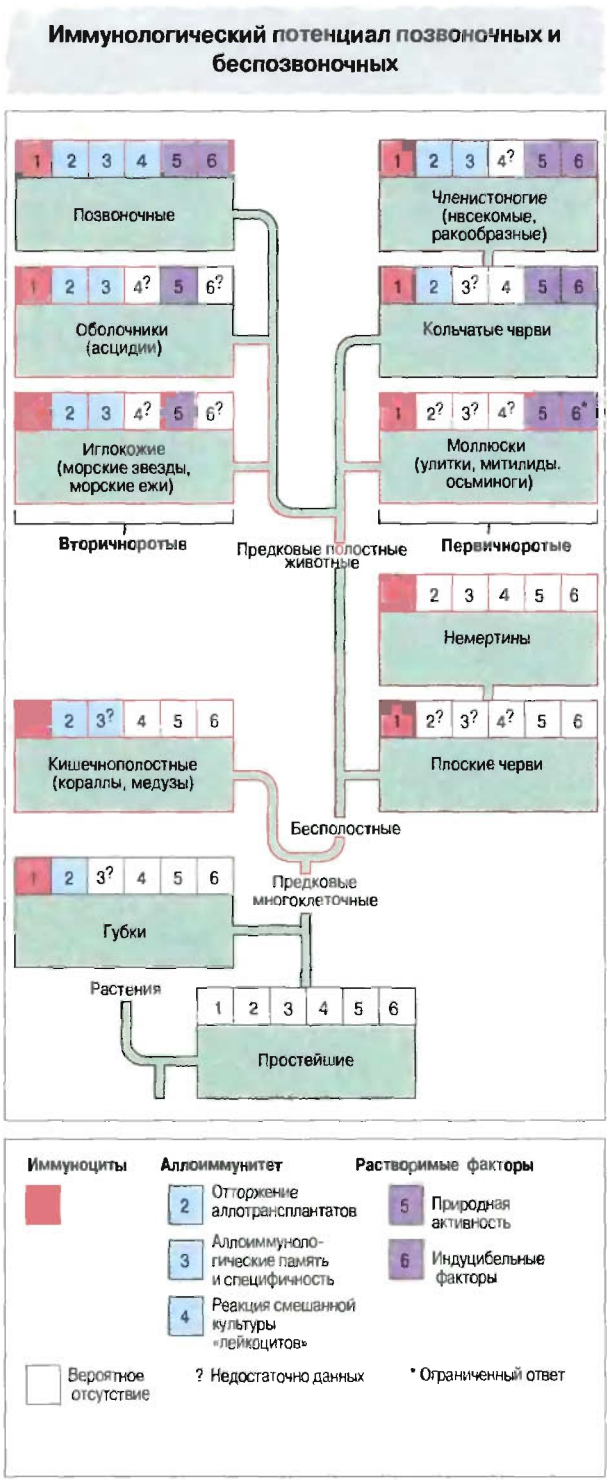


Рис. 15.1
Некоторые сведения о клеточных и гуморальных иммунных реакциях у различных беспозвоночных и позвоночных.

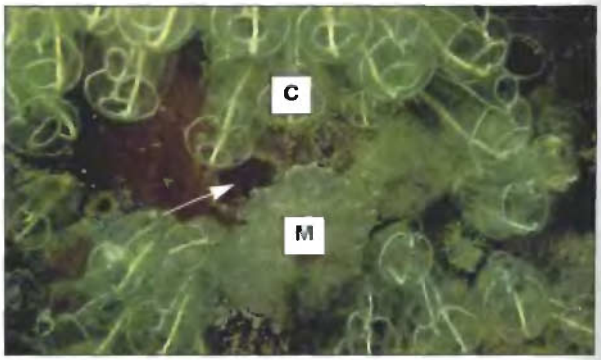


Рис. 15.2
Две конкурирующие за пространство колонии асцидий (оболочники) *Clavelina lepadiformis* (С) и *Morchellium argus* (М). В центре (указано стрелкой) виден сифон нижележащей асцидии. Диаметр отдельной особи *Clavelina* приблизительно 4 мм. (Фото любезно предоставлено д-ром P. Dyrynda.)

кие же факторы внешней среды могли обусловить усложнение иммунной системы у позвоночных? Возможно, на уровне столь высокоорганизованных долгоживущих животных возросла угроза рака и вирусных инфекций и влияние этих факторов способствовало формированию высокочувствительной иммунной системы на основе эффекторных клеток крови, способных распознавать чужеродные пептиды в ассоциации с гликопротеинами главного комплекса гистосовместимости (MHC) на поверхности инфицированных или мутантных клеток.

ИММУНИТЕТ У БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Классификация клеток крови у беспозвоночных

У большинства беспозвоночных имеются белые кровяные клетки (лейкоциты), но красные клетки (эритроциты), как правило, отсутствуют. Лейкоциты могут либо быть зафиксированными (неподвижными), либо свободно мигрировать по кровеносным сосудам, либо заселять заполненные жидкостью полости тела, называемые целомом (целомоциты) или гемоцеломом (гемоциты).

Первые клетки крови образовались, вероятно, из свободноживущих предковых клеток, сходных с простейшими. У примитивных многоклеточных, например у губок, кишечнополостных и плоских червей, блуждающие фагоцитарные амебоциты не только выполняют функцию защиты, но и участвуют в процессах питания и экскреции.

Эволюция иммунной системы

Этап эволюции или фактор отбора	Элементы иммунной системы
Одноклеточные организмы	Распознавание и различение
Многоклеточные (включая колониальные)	Система гистосовместимости, аллогенное распознавание и кратковременная иммунологическая память
Мезодерма и кровеносная система, разделение функций питания и защиты	Свободноциркулирующие и более разнообразные виды клеток крови, клеточный иммунитет и эритроциты
Рак и вирусные инфекции, сопряженные с усложнением организмов и возрастанием продолжительности жизни	Иммунологический надзор со стороны собственных клеток для выявления инфицированных и раковых клеток
Предковые позвоночные	Совершенствование распознавания и различения
Низшие позвоночные: увеличение размеров и продолжительности жизни, меньшая, чем у беспозвоночных, способность к размножению	Настоящие лимфоциты, лимфоидная ткань и продукция антител (IgM), долговременная иммунологическая память
Выход на сушу, воздействие радиации и развитие сосудистой системы с высоким давлением крови	Костный мозг, дополнительные классы антител, Т- и В-лимфоциты, усложнение лимфоидных органов, ЛТК
Амниоты (рептилии, птицы, млекопитающие), утрата свободноживущих личиночных форм	Разветвление дифференцировки иммунокомпетентных клеток для большего разнообразия реакций и эффективности иммунной системы
Гомойотермия, создающая благоприятные условия для роста патогенных микроорганизмов	Повышение эффективности иммунной системы, интеграция клеточных и гуморальных реакций, центры размножения во вторичных лимфоидных органах, лимфоузлы
Живорождение; взаимосвязь организма матери и плода	Дополнительная тонкая регуляция иммунной системы для предотвращения отторжения плода

Рис. 15.3
Этапы эволюции, возможно важные в филогенезе клеток крови и иммунной системы. (С разрешения по Rowley A.F., Ratcliffe N.A., eds. *Vertebrate Blood Cells*. Cambridge: Cambridge University Press, 1988.)
ЛТК – лимфоидная ткань в слизистой кишечника.

Клетки и ткани, относящиеся к иммунной системе, у беспозвоночных

Клетки/ткани	Роль в иммунитете/физиологии
Слизь, кутикула, скорлупа, панцирь и/или кишечный барьер	Физико-химические барьеры для инвазии
Пять групп свободноциркулирующих и фиксированных белых кровяных клеток	Осуществляют клеточные и опосредуют многие гуморальные защитные реакции
I Клетки-предшественники	Могут служить стволовыми клетками для образования клеток других типов
II Фагоцитарные клетки	Фагоцитоз, инкапсулирование, свертывание, заживление ран и уничтожение чужеродного материала
III Гемоцитические клетки	Ковгуляция плазмы и образование тромба; распознавание «не-своего»; синтез лизоцима и агглютинина
IV Питающие клетки	Инкапсулирование и заживление ран? Роль в питании?
V Пигментированные клетки	Защитная роль (если существует) неизвестна; дыхательная функция
Фиксированные клетки, например клетки перикарда, нефроциты или клетки пор и т. п.	Пиноцитоз коллоидных и мелких твердых частиц; синтез лизоцима (клетки перикарда) и других антимикробных факторов?
Гемопоэтические органы, хорошо развитые у некоторых беспозвоночных	Гемопоэз и фвгоцитоз; у отдельных видов – синтез антимикробных факторов
Жировое тело (насекомые); клетки, населяющие среднюю кишку и синус (моллюски, ракообразные)	Синтез иммунных белков и агглютининов (жировое тело), фагоцитоз (клетки средней кишки), устранение чужеродных частиц (клетки, выстилающие синус)

Рис. 15.4
Иммунная система у беспозвоночных. (С разрешения по Ratcliffe N.A. 1985. *Immunol. Lett.* **10**, 253–270; Elsevier Science Publications.)

На уровне вторичнополостных (первично- и вторичноротых), тела которых крупнее и более сложно устроены, возникла необходимость в циркуляторной системе для переноса питательных веществ и отходов внутри организма. Амебоподобные клетки, больше не нужные для собирания пищи, вероятно, мигрировали из соединительной ткани в эту циркуляторную систему. Здесь из них образовалось множество типов клеток, часть которых приобрела специфическую роль в иммунореактивности (*рис. 15.4*).

Из-за огромного разнообразия беспозвоночных их свободные лейкоциты невозможно классифицировать, в отличие от лейкоцитов у позвоночных, только по окрашиваемости и морфологии. Однако по функциональным критериям удается выделить пять основных групп таких клеток (см. *рис. 15.4*).

- **Клетки-предшественники,** которые наряду с имеющейся в том или ином количестве гемопоэтической тканью могут выполнять роль стволовых клеток. По строению они напоминают лимфоциты позвоночных (*рис. 15.5*), но данных о действительной гомологии очень мало.
- **Фагоцитарные клетки** (*рис. 15.6*), вероятно, представляют собой единственный тип кле-

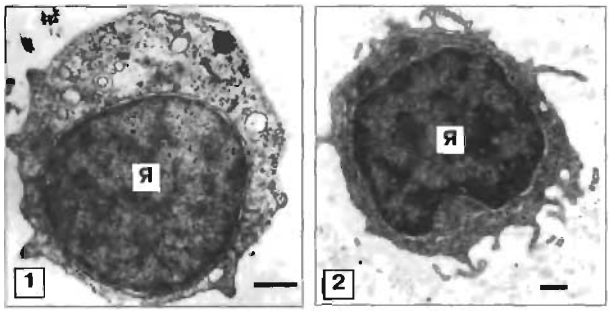


Рис. 15.5
Электронные микрофотографии лимфоцит-подобной клетки асцидии *Ciona intestinalis* (1) и лимфоцита рыбы *Blennius pholis* (морская собачка) (2). Обратите внимание на сходство строения этих клеток: обе содержат крупное ядро (Я) и тонкий слой недифференцированной цитоплазмы. Шкала 0,5 мкм. (Фото любезно предоставлены д-ром A.F. Rowley; с разрешения из Endeavour (New Series) **13**, 72–77, © Maxwell Pergamon Macmillan plc, 1989.)

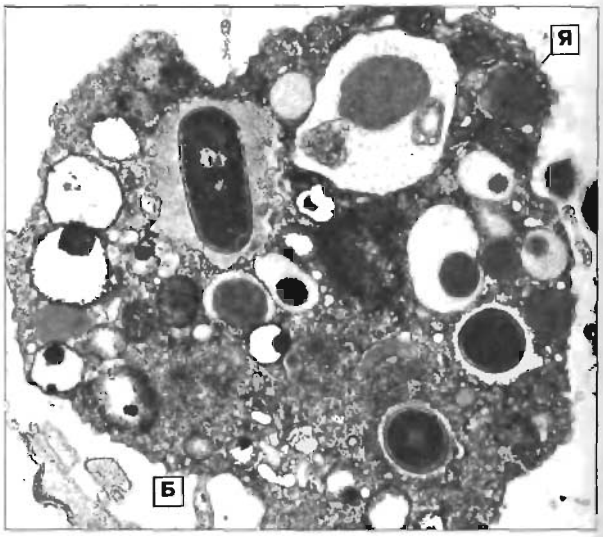


Рис. 15.6
Электронная микрофотография фагоцитарной клетки оболочника *Ciona intestinalis*. Внутри клетки видны поглощенные бактерии (Б). (Я – ядро.) Шкала 0,5 мкм. (Фото любезно предоставлено д-ром A.F. Rowley.)

ток, присутствующий у всех представителей царства животных. Они соответствуют гранулоцитам или макрофагам млекопитающих, но несут иные поверхностные маркеры.

- **Гемостатические (гранулярные) клетки** принимают участие в коагуляции и заживлении ран и важны как эффекторные для распознавания «не-своего».
- **Питающие клетки** присутствуют лишь у некоторых видов.
- **Пигментные клетки** имеются у многих видов, но только у некоторых они содержат дыхательный пигмент, напоминая тем самым эритроциты позвоночных.

Беспозвоночные лишены лимфоцитов и антител, но тем не менее обладают эффективными механизмами защиты

Иммунные системы беспозвоночных, очевидно, не включают в качестве компонентов ни иммуноглобулинов, ни взаимодействующих субпопуляций лимфоцитов, ни лимфоидных органов. Тем не менее само существование огромного числа и разнообразия беспозвоночных свидетельствует о наличии у них эффективных систем защиты собственного организма.

Как и у позвоночных, первой линией обороны у них служат эффективные физико-химические барьеры (*рис. 15.4*). Слизь, покрывающая тело у многих кишечнополостных, кольчатых червей, моллюсков и некоторых оболочников, задерживает и уничтожает потенциально патогенные микроорганизмы (*рис. 15.7*). Твердый наружный скелет, такой как панцирь или скорлупа, у некоторых кишечнополостных и моллюсков, иглокожих и насекомых также препятствует инвазии в организм чужеродного материала.

При нарушении целостности этих барьеров против проникшего в организм чужеродного тела действует целый ряд взаимосвязанных клеточных и гуморальных защитных механизмов, к которым относятся следующие.

- Свертывание/коагуляция крови и заживление ран.
- Фагоцитоз.
- Инкапсулирование.
- Действие врожденных и индуцибельных антимикробных факторов.

Эти механизмы предполагают распознавание «не-своего» и присутствие рецепторных молекул в крови и на поверхности клеток крови.





Рис. 15.7
Слизистый слой, окружающий тело желудевого червя *Saccoglossus ruber*, обволакивает и удаляет чужеродные частицы. Червя помещали на 2–3 мин в суспензию угля в морской воде, а затем переносили в чистую морскую воду. Через 12 мин в слизистом слое, окутывающем его тело, все еще присутствует большое количество угля (**1**). Через 15 мин уголь полностью удален и лежит в отдельном шарике слизи (**2**). С попавшими в слизь микроорганизмами дело, по-видимому, обстоит точно так же. Желудевые черви принадлежат к группе «высших беспозвоночных», родственных оболочникам. Шкала 5 мм. (Фото любезно предоставлены д-ром D.A. Millar.)

Раны быстро закрываются благодаря коагуляции жидкостей организма, вызываемой гемостатическими клетками и компонентами плазмы

Раны, образующиеся у беспозвоночных при травме или инвазии паразитов, быстро заживают, что предотвращает смертельную потерю жидкостей организма. Раны закрываются вследствие выпячивания жирового тела или кишки, сокращения мышц, коагуляции плазмы, миграции клеток крови к месту поражения и их агрегации с образованием тромба и/или за счет отложения меланина. Миграцию лейкоцитов к ране стимулируют, вероятно, цитокин-подобные факторы (см. ниже).

Тромбирование раны с коагуляцией плазмы наблюдается главным образом у членистоногих, хотя получены данные об аналогичном процессе у кольчатых червей и иглокожих. В коагуляции участвуют гемостатические клетки, которые агрегируют в месте повреждения и выделяют свое содержимое, вызывающее свертывание плазмы и образование прочной гемоцитарной «пробки». У многих видов в этом процессе участвуют и компоненты плазмы. Как и у млекопитающих, сама поврежденная ткань, микробные компоненты, а также изменения концентрации Ca^{2+} или pH индуцируют сложный каскад ферментативных реакций в месте повреждения. Это напоминает альтернативный путь активации комплемента. Система настолько чувствительна, что у мечехвостов, например, она активируется эндотоксином *Escherichia coli* в дозе всего 4 нг/мл. Процесс коагуляции чрезвычайно важен, поскольку обеспечивает высокочувствительное распознавание «чужого» благодаря дегрануляции гемостатических клеток. В коагуляции может принимать уча-

Активация профенолоксидазы с превращением в фенолоксидазу у членистоногих

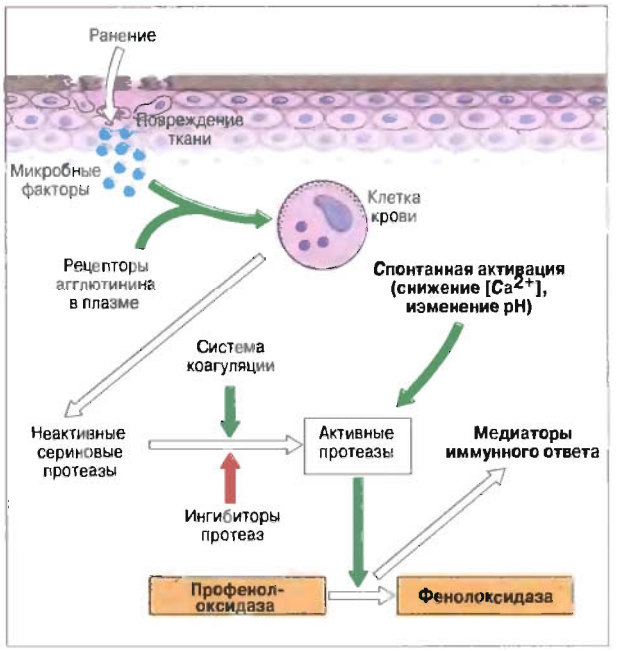


Рис. 15.8
Вероятная схема активации профенолоксидазы (ПФО) с образованием фенолоксидазы (ФО) у членистоногих. Процесс стимулируется местным повреждением ткани, микроорганизмами и изменениями концентрации Ca^{2+} и pH и может привести к коагуляции плазмы и появлению факторов, опосредующих более поздние иммунные реакции. (В основном по результатам исследований, проведенных д-рами K. Söderhäll, M. Ashida и N. Radcliffe.)

стие фермент профенолоксидаза (ПФО): превращаясь под действием каскада сериновых протеаз в фенолоксидазу (ФО), она способствует образованию медиаторов более поздних стадий иммунного ответа (*рис. 15.8*). Недавно установлено, что каскад ПФО существует и у других беспозвоночных, таких как круглые черви и оболочники.

Внедрившихся микробов поглощают фагоцитарные клетки, более крупные агенты окружаются многоклеточными капсулами

Фагоцитарные клетки присутствуют у всех беспозвоночных и вместе с врожденными гуморальными факторами (см. ниже) образуют первую линию защиты от микроорганизмов (см. *рис. 15.6*). Как и у позвоночных, здесь наблюдаются все фазы их действия: хемотаксис, прикрепление, поглощение и уничтожение. Однако распознавание мишени опосредуют не Fc-рецепторы, и лишь у одного вида на поверхности фагоцитов обнаружены C3b-подобные рецепторы. Фагоцитоз, как и у позвоночных, может происходить без участия опсонизирующих факторов. Однако у моллюсков, членистоногих и оболочников в присутствии лектинов плазмы и компонентов профенолоксидазного каскада он усиливается.

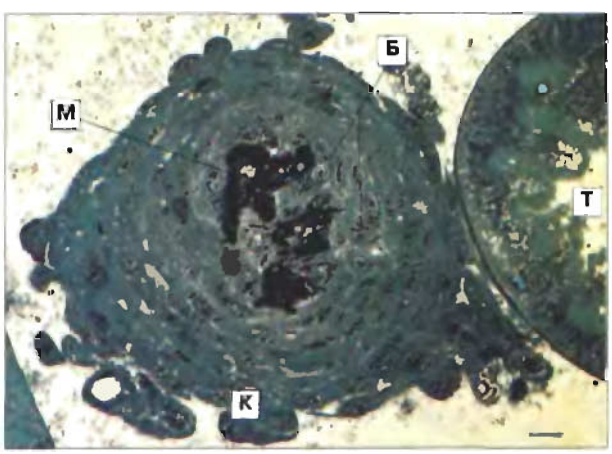


Рис. 15.9
Инкапсулирование бактерий кровяными клетками гусеницы. На последней стадии развития личинки бабочки *Pieris brassicae* в нее вводили бактерии (убитые нагреванием клетки *Bacillus cereus*). Через 24 ч образовавшуюся вокруг бактерий капсулу удаляли и делали ее срезы. Обратите внимание на темную пигментированную центральную область, состоящую из меланина (М), многослойный покров из клеток крови (К), палочковидные бактерии (Б) и прикрепление капсулы к мальпигиевой трубочке (Т). Шкала 10 мкм.

Если внедрившиеся патогенные микробы слишком крупны или многочисленны, вокруг них образуются многоклеточные агрегаты, называемые узелками или капсулами и напоминающие гранулемы у млекопитающих (*рис. 15.9*). Секвестрированные таким образом микроорганизмы предположительно погибают под действием лизосомных ферментов и лизоцима, содержащихся в лейкоцитах, а также под действием пероксидазы и активных форм кислорода (обнаруженных у некоторых круглых червей, моллюсков и членистоногих).

И фагоцитоз, и инкапсулирование зависят от кооперации гемостатических и фагоцитарных клеток (см. ниже).

Жидкости организма содержат у беспозвоночных ряд врожденных и индуцибельных гуморальных защитных факторов

Врожденные защитные факторы У беспозвоночных не обнаружено иммуноглобулинов, но жидкости организма содержат ряд защитных гуморальных факторов – агглютинины, лизоцим и другие лизины, иные антимикробные соединения, лизосомные ферменты и обездвиживающие факторы. Имеются также данные, указывающие на присутствие компонентов комплемент-подобной системы. Например, у морских ежей на фагоцитах могут присутствовать C3b-подобные рецепторы и обнаружена гуморальная литическая система, сходная с системой комплемента. Кроме того, установлено, что кровь гусениц реагирует с одним из факторов яда кобры (C3b кобры) и при этом появляется C3-конвертазная активность. Обладающий ею фермент расщепляет молекулы C3 быка с образованием молекул, подобных C3b. Профенолоксидазный каскад у членистоногих сравним с альтернативным путем активации системы комплемента, поскольку оба они стимулируются непосредственно компонентами микробных клеток и включают ряд последовательно активируемых протеаз (*рис. 15.8*). Для того чтобы подтвердить наличие у беспозвоночных альтернативных путей активации комплемента, необходимы детальные исследования на молекулярном уровне.

Индуцибельные гуморальные защитные факторы Известно, что у беспозвоночных содержание агглютининов и гемолизинов иногда возрастает, однако подробно индуцибельные антимикробные факторы исследованы только у насекомых.

Индуцибельные белки иммунного ответа у *Hyalophora cecropia*

Белок иммунного ответа	Молекулярная масса	Функция и свойства
P4 (гемолин)	48 000	Основной иммунный белок, распознавание «не-своего»
P5 (аттацины A–F)	21–23 000	Узкий спектр антибактериальной активности (против некоторых грамотрицательных бактерий)
P7 (лизоцим)	15 000	Лизирует некоторые грамположительные бактерии
Цекропины A–F (6 белков)	~4 000	Некоторые обладают антибактериальной активностью широкого спектра (против грамположительных и грамотрицательных бактерий)

Рис. 15.10
Индуцибельные иммунные белки у моли *Hyalophora cecropia*, выделенные из гемолимфы через 10 ч после иммунизации бактериями (*Enterobacter cloacae*). (По H. Boman, D. Hultmark и др.)

Предполагается присутствие этих факторов и у некоторых других беспозвоночных, но для выявления их у большего числа организмов и для описания свойств необходимо подбирать подходящие иммуногены и/или проводить эксперименты по иммунизации. У таких насекомых, как мухи, бабочки и пчелы, через несколько часов после введения антигена может появляться до 15 антибактериальных белков (*рис. 15.10*). Многие из этих пептидов очищены и секвенированы; они обладают активностью широкого спектра, но сохраняют ее лишь в течение нескольких суток, чем резко отличаются от иммуноглобулинов позвоночных. Недавно аналогичные антибактериальные белки были обнаружены и у некоторых позвоночных (см. стр. 293). По-видимому, они представляют собой древние, но все еще важные факторы иммунитета. Один из таких факторов, цекропин, называемый также P4 или гемолином (*рис. 15.10*), гомологичен (38 %) некоторым доменам иммуноглобулинов. Возможно, гемолин — это примитивная форма иммуноглобулина, но не исключено и его независимое развитие у беспозвоночных. У таракана американского обнаружен другой вид индуцибельного белка, гораздо более сходный с иммуноглобулинами позвоночных. Он обладает молекулярной массой 700 кДа, высокоспецифичен и сохраняет активность в течение недель, а не суток. Для сопоставления его с иммуноглобулинами позвоночных требуются исследования на молекулярном уровне.

В распознавании «не-своего» и в межклеточной кооперации участвуют разнообразные факторы

Беспозвоночные обладают способностью распознавания, часто с весьма высокой специфичностью, разнообразного чужеродного материала. Это распознавание осуществляют присутствующие в жидких средах организма молекулы, к которым относятся агглютинины, компоненты профенолоксидазного каскада, а также цекропин насекомых (гемолин).

Агглютинины Эти белки, выделенные из гемолимфы моллюсков и насекомых и из крови оболочников, усиливают распознавание тест-частиц in vitro и их выведение из циркуляции in vivo. Агглютинины присутствуют также на поверхности клеток крови и служат молекулами-мостиками, соединяющими лейкоциты с чужеродными частицами, как и в иммунной системе млекопитающих.

Система профенолоксидазы (ПФО) У членистоногих и эта система служит, вероятно, источником распознающих факторов. При превращении ПФО в фенолоксидазу (ФО) (см. *рис. 15.8*) из гемостатических клеток высвобождаются факторы распознавания, которые усиливают фагоцитоз и инкапсулирование чужеродных агентов. Недавно было установлено, что очищенный агглютинин из крови таракана, обозначенный BDL1, активирует каскад ПФО; этот факт позволяет объединить представления о функции двух систем распознавания. Белок BDL1 обладает также высоким структурным и функциональным сходством с маннозосвязывающими лектинами (МСЛ) позвоночных. (МСЛ представляют собой необходимые компоненты неспецифического иммунитета позвоночных, поскольку они способны связываться с поверхностью проникших в организм микробов и активировать системы комплемента.) Подобно МСЛ, белок BDL1 активирует комплемент и содержит коллаген- и углевод-распознающие домены.

Гемолин Кроме агглютининов и ПФО, в гемолимфе насекомых присутствует и иммунный белок, называемый гемолином. В нем различают четыре иммуноглобулин-подобных домена, которые связываются с поверхностью бактерий и могут участвовать в распознавании чужеродных молекул.

Процесс распознавания «не-своего» с последующим фагоцитозом предполагает кооперацию

Две гипотетические модели межклеточной кооперации при иммунном ответе у членистоногих

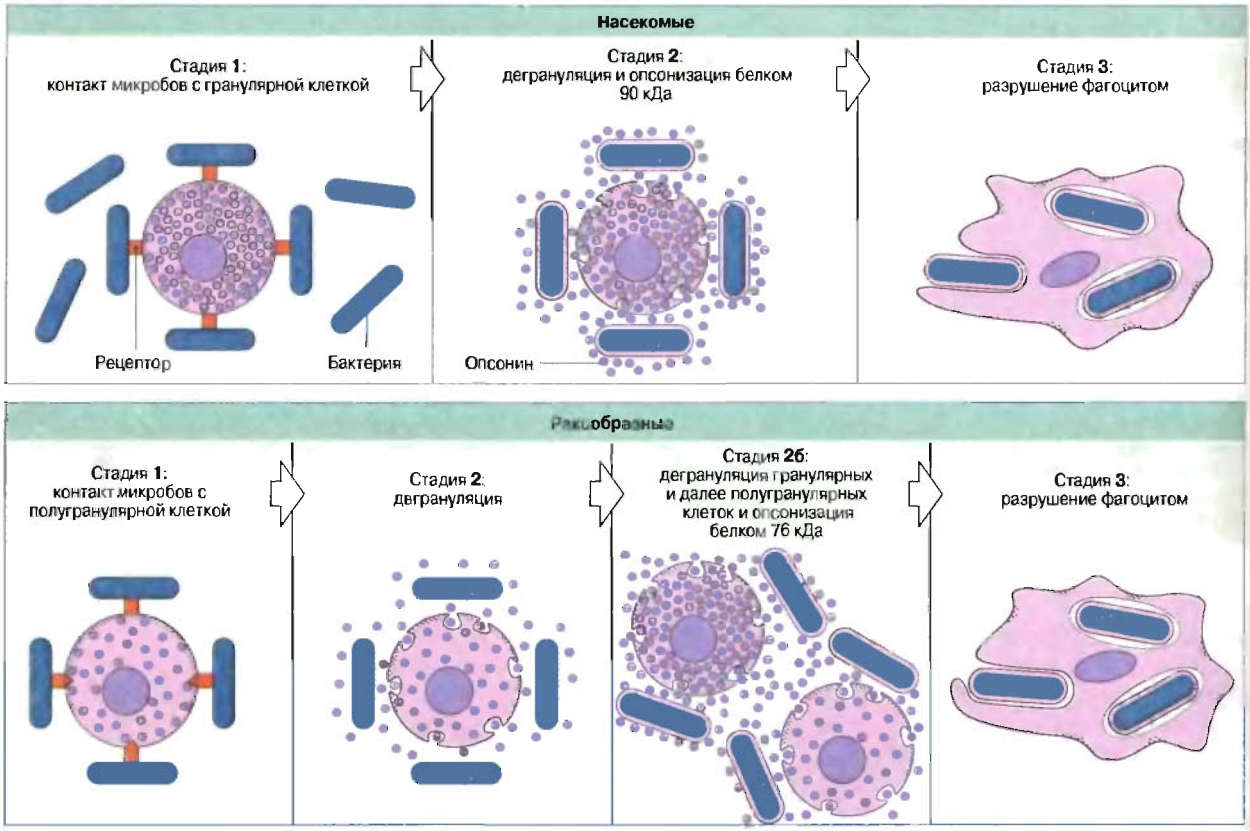


Рис. 15.11
Схемы, основанные на результатах изучения реакций очищенных популяций клеток крови на тест-частицы. У насекомых распознавание «не-своего» (стадии **1** и **2**) осуществляются гранулярными (гемостатическими) клетками, а уничтожение (стадия **3**) – фагоцитами. Согласно модели, у ракообразных на стадии **2б** происходит резкое усиление реакции за счет взаимодействия полугранулярных и гранулярных клеток. Белки 90 и 76 кДа, обнаруженные у насекомых и ракообразных соответственно, представляют собой опсонизирующие (распознающие) молекулы, образующиеся при активации профенолоксидазного каскада. (По Radcliffe N. *In:* Warr G.W., Cohen N., eds. *Phylogenesis of Immune Functions*. Oxford: CRC Press, 1991: 62. Данные по ракообразным – из работы проф. K. Söderhäll и др.)

между гемостатическими и фагоцитарными клетками (*рис. 15.11*). Таким образом, хотя беспозвоночные лишены взаимодействующих субпопуляций антигенпрезентирующих клеток и лимфоцитов, клеточный иммунитет и у них осуществляется путем кооперации разнообразных иммуноцитов.

У видов – переносчиков возбудителей болезней клеточные и гуморальные защитные механизмы определяют устойчивость к паразитарным инвазиям

Все больше данных указывает на то, что способность некоторых беспозвоночных (например, комаров, мух цеце, мошек, москитов, клещей и легочной улитки) передавать болезни (малярию, сонную болезнь, кожный лейшманиоз, онхоцеркоз, болезнь Чагаса и шистосомоз) существенно зависит от их иммунореактивности. Так, установлено, что иммунный ответ в форме инкапсулирования у москитов и легочной улитки обусловливает эффективную изоляцию и, возможно, гибель инкапсулированных паразитов. Кроме того, в недавно проведенных исследованиях у москитов, мух цеце, мошек и клещей обнаружены кишечные агглютинины – возможно, главные факторы, влияющие на размножение и выживание в этих насекомых простейших-паразитов, погло-

щаемых с кровью. У некоторых мух цеце (*Glossina*), в частности, ингибирование агглютинина средней кишки D-глюкозамином значительно ускоряет их инфицирование *Trypanosoma brucei* и *T.rhodesiense*. Важную роль может играть и профенолоксидаза; в слюнных железах самок мухи цеце *Glossina morsitans morsitans*, уровень ПФО у которых гораздо выше, чем у самцов, присутствует намного меньше зрелых форм *T. b. rhodesiense*. Установлено также, что индуцибельные антибактериальные пептиды, присутствующие в крови мошек *Simulium*, убивают личинок паразитических нематод. Многое еще предстоит изучить в этой новой и увлекательной области исследований, в том числе способы преодоления паразитами защитных иммунных реакций в организме переносчиков.

Защитные реакции у беспозвоночных регулирует набор цитокинов, частью сходных с интерлейкинами позвоночных

Обнаруженные у беспозвоночных цитокин-подобные молекулы, возможно, взаимосвязанно регулируют зашитные реакции, подобно тому как это происходит у позвоночных. Присутствие родственных цитокинам молекул уже у простейших указывает на то, что они имеются у всех представителей животного царства. Например, феромон простейших, Er-1, структурно и функционально сходен с интерлейкином 2 (ИЛ-2). Кроме того, у кольчатых червей, иглокожих и оболочников недавно были выделены соединения, обладающие ИЛ-1α-, ИЛ-1β- и ФНО (фактор некроза опухолей)-подобной активностью. Первые две активности определяли с помощью тест-системы для позвоночных (по пролиферации мышиных тимоцитов), причем эти активности ингибировала поликлональная антисыворотка к ИЛ-1 позвоночных. Цитокин ИЛ-1 беспозвоночных стимулирует агрегацию, фагоцитарную активность и пролиферацию клеток «крови» этих животных. ФНО-подобную активность у беспозвоночных выявляли по цитотоксическому действию на линию клеток L929; этот метод также обычно используется для определения ФНО позвоночных.

У беспозвоночных найдены и другие соединения, обладающие цитокин-подобной активностью. Это, например, фактор, снижающий число плазмоцитов (лейкоцитарного типа), активатор лейкоцитов (гемокинин) и различные стимуляторы инкапсулирования и фагоцитоза у насекомых. Фактор, продуцируемый лейкоцитами иглокожих (фактор морской звезды), оказывает митогенное действие на лимфоциты млекопитающих и индуцирует скопление белых кровяных клеток у морских звезд. Кроме того, у оболочников обнаружен провоспалительный цитокин, влияющий на продукцию антител, фагоцитоз и клеточно-опосредованную цитотоксичность у позвоночных, а также на фагоцитарную активность лейкоцитов у креветок. Предстоит дальнейшее изучение этих молекул. Наконец, следует упомянуть и о том, что в иммунореактивности клеток крови беспозвоночных, как установлено, участвуют эйкозаноиды и опиатные пептиды.

Многие беспозвоночные обладают способностью к отторжению алло- и ксеногенных трансплантатов

Для иммунитета позвоночных характерна усиленная и высокоспецифическая реакция (память) на повторное воздействие антигена. Ее осуществление зависит от лимфоцитов и главного комплекса гистосовместимости (MHC). Степень специфичности и запоминание антигена у беспозвоночных были изучены в опытах по трансплантации и имплантации с определением цитотоксичности. Из-за жесткости наружного скелета или мягкости наружных покровов беспозвоночным трудно производить пересадку тканей. Нелегко и решить, произошло ли отторжение. Несмотря на эти трудности, удалось установить, что у большинства беспозвоночных происходит разрушение ксенотрансплантатов, а губки, кишечнополостные, аннелиды, насекомые, иглокожие и оболочники обладают и способностью распознавания аллогенного материала (*рис. 15.1*, *15.12* и *15.13*). Кажушееся отсутствие отторжения аллогенной ткани у моллюсков связано, вероятно, с техническими трудностями пересадки. Однако не у всех групп беспозвоночных, способных отторгать аллотрансплантаты, эти реакции характеризуются специфичностью и памятью; обычно специфичность их крайне невысока, а память недолговременна (см. *рис. 15.1*). Значительные расхождения результатов трансплантации могут быть связаны с тем, что некоторые исследователи не учитывали зависимость процесса отторжения от температуры.

Наличие аллогенного распознавания у колониальных беспозвоночных, таких как губки, ки-

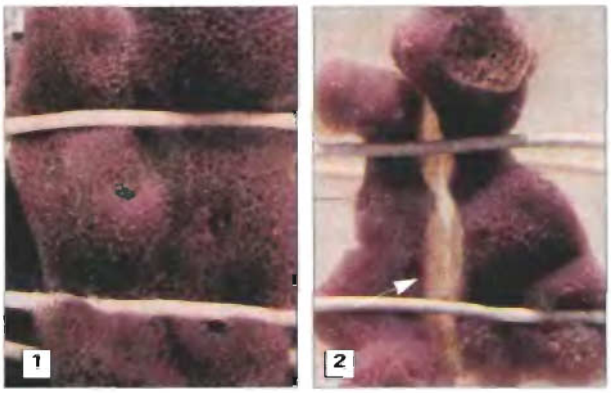


Рис. 15.12
Клеточный иммунитет у губок: аллогенная несовместимость и изогенная совместимость. У двух интактных тел губок (*Callyspongia* spp.) одной и той же колонии и двух от разных колоний создавали общую систему циркуляции, скрепляя их друг с другом виниловыми проводками. **1.** Сосуществование изогенных парабионтов (из одной колонии) сохранялось неопределенно долго. × 0,5. **2.** Несовместимость аллогенных парабионтов (из разных колоний) через 7–9 сут (24–27 °С) проявлялась цитотоксическими реакциями и некрозом (указан стрелкой). × 0,25. (Фото любезно предоставлены д-ром W. Hildemann.)

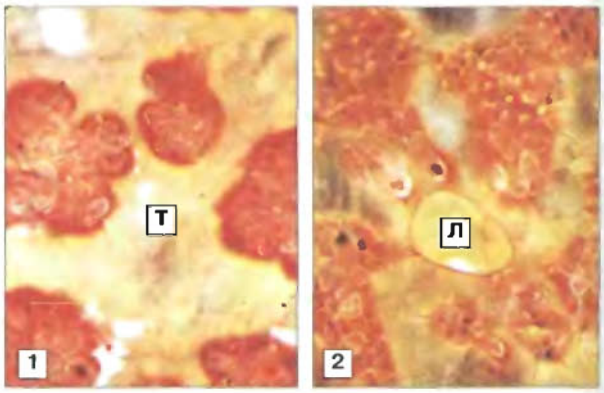


Рис. 15.13
Трансплантационный иммунитет у иглокожих (*Dermasterias*). 1. Несмотря на технические трудности, этот аутотрансплантат (Т) сохранился в прекрасном состоянии через 300 сут после подсадки. **2.** Аллотрансплантат (Л), отторгшийся на 286 сут (14–15 °С), выглядит бледным и сморщенным. В отторжении принимают участие лимфоцит-подобные клетки и более крупные фагоцитарные клетки. × 4. (Фото любезно предоставлены д-ром W. Hildemann.)

шечнополостные и оболочники, неудивительно, так как целостности колоний постоянно угрожает разрастание соседних колоний (рис. 15.2). Эксперименты с личинками колониальных оболочников показали, что аллогенное распознавание и оплодотворение контролирует один генный локус с множественными аллелями. Таким образом, имеется определенное сходство между системой, существующей у оболочников, и генами гистосовместимости у млекопитающих.

Следует еще раз подчеркнуть, что, несмотря на лишь ограниченные специфичность и память, характерные для распознавания алло- и ксеногенных трансплантатов у беспозвоночных, их иммунная система функционирует эффективно и успешно. Так или иначе, внедрение патогенных микроорганизмов и паразитов вызывает у беспозвоночных быстрый иммунный ответ, что и обеспечивает громадное разнообразие и изобилие этих животных.

У беспозвоночных имеются молекулы – предшественники МНС и молекулы с иммуноглобулин-подобными доменами

Аллогенное распознавание, обнаруженное у многих беспозвоночных, указывает на возможное присутствие у них молекул — предшественников главного комплекса гистосовместимости (МНС). Поскольку иммуноглобулинами эти животные не обладают, можно предполагать, что система МНС сформировалась раньше и независимо от системы иммуноглобулинов у позвоночных. Иными словами, у примитивных позвоночных при сохранении системы МНС отдельно и независимо развивалась система иммуноглобулинов, обеспечивающая более тонкое распознавание посредством циркулирующих антител и специфичных рецепторов клеточной поверхности. В ходе дальнейшей эволюции позвоночных происходила, по-видимому, возрастающая интеграция МНС и системы иммуноглобулинов, что обеспечило высокий уровень регуляции, необходимый для взаимодействия антигенпрезентирующих клеток (АПК) и лимфоцитов. Это представление, однако, остается гипотетическим; нет ни структурных, ни функциональных доказательств экспрессии клетками беспозвоночных гликопротеинов МНС или димерных рецепторов для аллоантигенов. Кроме того, у беспозвоночных может отсутствовать реакция смешанной культуры лейкоцитов (см. *рис. 15.1*), которая у позвоночных служит функциональным маркером МНС. Поэ-

тому возникло другое предположение: некоторые исследователи считают, что молекулы MHC позвоночных произошли от белков теплового шока (см. ниже).

В то же время обнаружены β_2-микроглобулин-подобные молекулы у земляных червей, ракообразных и насекомых, что подтверждает возможность существования антигенов – предшественников MHC у беспозвоночных. β_2-Микроглобулин позвоночных кодируется геном, не сцепленным с MHC, но ассоциирован с молекулами MHC класса I и принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов. Таким образом, молекулы MHC могут быть потомками одной и той же, содержащей один домен и сходной с β_2-иммуноглобулином молекулы, многочисленные разновидности-производные которой возникли в результате перестроек и дупликаций генов и давления отбора.

Наконец, существует целая группа обнаруженных у беспозвоночных молекул, таких как Thy-1 (присутствует в мозге кальмара), амальгам, фасциклин II, нейроглиан и гемолин (все у насекомых), также принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов; предполагается, что эти молекулы появились в процессе эволюции для опосредования межклеточных взаимодействий и потенциально могут обеспечивать распознавание иммунной системой «не-своего». Этот уровень эволюции, по-видимому, достигнут у насекомых, обладающих гемолином (см. выше).

ИММУНИТЕТ У ПОЗВОНОЧНЫХ

По сравнению с огромным разнообразием форм беспозвоночных организация позвоночных по общему плану довольно единообразна и все они принадлежат к одному типу хордовых. Хотя эволюционное древо позвоночных имеет многочисленные уровни и ветви, в том числе бесчелюстных, хрящевых рыб, костных рыб, амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих, основные клеточные и молекулярные компоненты врожденного иммунитета у всех современных челюстноротых удивительно консервативны. Однако усложнению строения тела соответствует возрастание специализации лимфоидной ткани и функций лимфоцитов, а также увеличение разнообразия классов иммуноглобулинов. Самой сложной по структуре и функциям иммунной системой обладают млекопитающие.

Т-клетки и эволюция MHC

Цитотоксические и хелперные Т-лимфоциты (Тц и Тх соответственно) млекопитающих, несущие αβ-Т-клеточные рецепторы (ТкР), распознают большинство чужеродных антигенов только в том случае, если они презентированы в нужной форме собственными полиморфными молекулами MHC. Поэтому филогенез некоторых Т-клеточных популяций [например, Тц и лимфоцитов, участвующих в реакции смешанной культуры лейкоцитов (СКЛ)] и эволюцию MHC следует рассмотреть вместе (*рис. 15.14*).

Эволюция MHC и Т-клеток

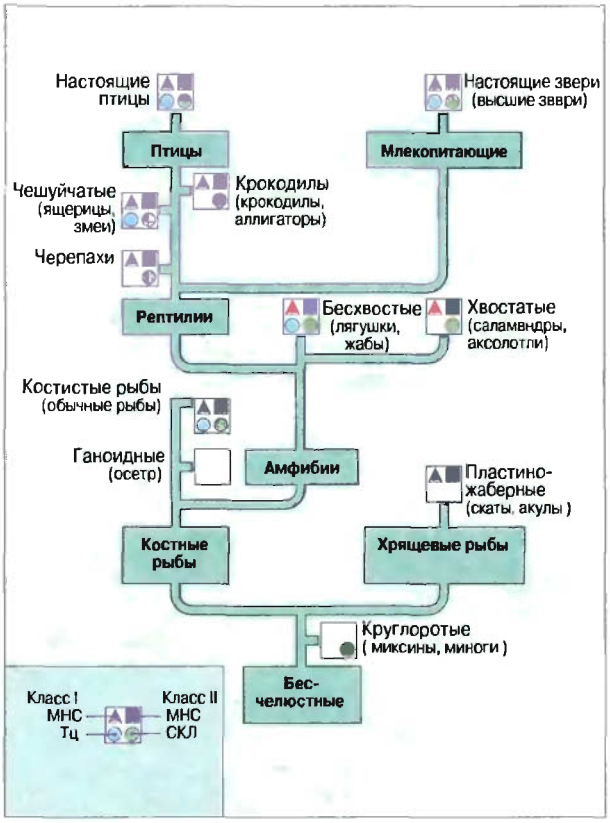


Рис. 15.14
Это филогенетическое древо позвоночных иллюстрирует некоторые стороны эволюции MHC и Т-клеток. Показаны два функциональных критерия существования MHC (наличие цитотоксических Т-лимфоцитов (Тц) и реакции смешанной культуры лейкоцитов (СКЛ), а также биохимические и молекулярно-биологические данные, свидетельствующие об экспрессии белков и генов MHC классов I и II. Пустой квадрат означает недостаточность имеющихся данных.

Функциональные критерии и/или молекулярные и генетические данные доказывают присутствие MHC у всех челюстноротых позвоночных, от хрящевых рыб и выше. [Функциональные критерии состоят в том, что СКЛ и быстрое отторжение аллотрансплантата регулируются одной полиморфной генной областью, и что такие феномены, как кооперация Т- и В-клеток, возникновение антигенспецифичных цитотоксических реакций (например, на аллогенные клетки), и «обучение» Т-клеток в тимусе, находятся под контролем MHC.]

***MHC подробно изучен у пойкилотермных позвоночных* Xenopus**

Недавно проведенные исследования позволили обнаружить гены MHC у хрящевых рыб, чьи предки дивергировали от линии развития других позвоночных более 400 млн. лет назад. Однако наиболее полно гены и белки MHC изучены среди пойкилотермных у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*. На *рис. 15.15* показано строение ее MHC (XLA) в сравнении с MHC птиц (B-локус) и мыши (локус H-2).

***Классические антигены MHC (Ia) у* Xenopus** Белки класса Ia у *Xenopus* полиморфны и кодируются примерно 20 аллелями. Они присутствуют на поверхности всех зрелых клеток, но в наибольшей степени – на гемопоэтических клетках. α-Цепи этих белков имеют молекулярную массу 40–44 кДа; они образуют 3 домена и нековалентно связаны с β_2-микроглобулином. Белки MHC класса I у *Xenopus* необычны в том отношении, что кодируются одним генным локусом (в отличие от трех у человека и двух у мыши).

***Неклассические антигены MHC (Ib) у* Xenopus** Среди генов класса I у *Xenopus* первым было идентифицировано большое семейство мономорфных неклассических (класс I) MHC-подобных молекул. Гены, кодирующие эти молекулы, и классические MHC-гены (Ia) расположены в разных хромосомах. Ген класса Ib, по-видимому, кодирует молекулу, гомологичную белок-связывающим участкам белков теплового шока 70 (БТШ 70). Недавно предложена гипотеза, согласно которой пептид-связывающая область молекул MHC класса I сформировалась в процессе эволюции из предсуществовавших БТШ. (БТШ – это обнаруживаемые у всех организмов эволюционно консервативные молекулы, которые действуют как «шапероны» – компаньоны-помощники, участвуя в пространственной укладке и внутриклеточном транспорте белков.) Неклассические MHC-подобные белки, ассоциированные с эпителием, обнаружены у всех изученных позвоночных; предполагается, что они могут обладать различными функциями, например распознавать БТШ патогенных организмов или инфицирован-

MHC у разных видов животных

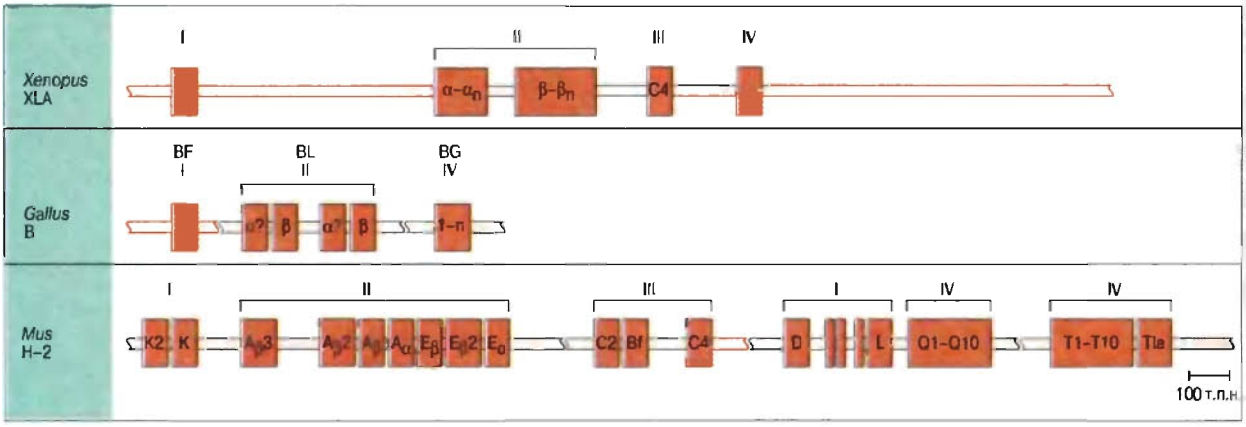


Рис. 15.15
MHC можно обнаружить у всех челюстноротых позвоночных. Показана предположительная организация локусов MHC у шпорцевой лягушки (*Xenopus*) и курицы (*Gallus*). Структура мышиного комплекса H-2 (*Mus*) полностью установлена. Расстояния между генами у *Xenopus* и *Gallus* показаны произвольно. (Схема любезно предоставлена д-ром L. Du Pasquier.)

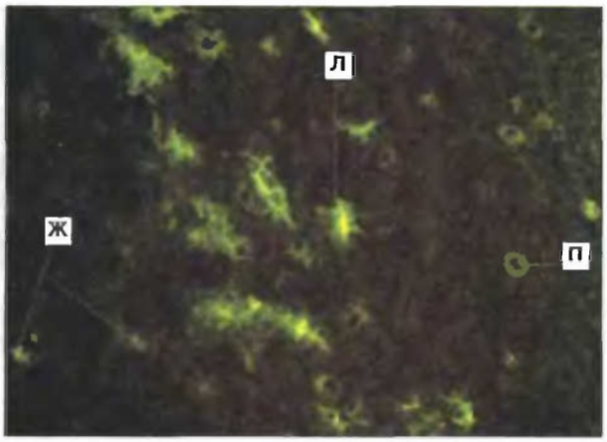


Рис. 15.16
Иммунофлуоресценция дендритных клеток *Xenopus*, несущих на поверхности молекулы MHC класса II. АПК, сходные с клетками Лангерганса (Л), часто встречаются в базальном эпидермальном слое кожи. Видны также положительные по классу II клетки протоков кожных желез, проходящих через эпидермис (П), и кожные железы, расположенные под эпидермисом (Ж). × 100.

ных/угнетенных собственных клеток и затем презентировать эти консервативные пептиды Т-клеткам с рестриктированными ТкР.

***Антигены MHC класса II у* Xenopus** Молекулы MHC класса II у *Xenopus* полиморфны (кодируются примерно 30 аллелями) и конститутивно экспрессированы лишь на некоторых зрелых клетках, в том числе на тимоцитах, В- и Т-лимфоцитах и различных АПК, таких как клетки, сходные с клетками Лангерганса кожного эпидермиса (*рис. 15.16*). Белки класса II состоят из кодируемых генами MHC α- и β-цепей; обе цепи представляют собой трансмембранные гликопротеины с молекулярной массой 30–35 кДа. Гены β-цепей молекул MHC класса II у *Xenopus* кодируют полипептиды, имеющие почти 50 % гомологию с β-цепями MHC класса II млекопитающих. При синтезе белки MHC класса II временно связаны с инвариантной цепью. У *Xenopus* (как и у человека) имеются три локуса β-генов MHC класса II.

Экспрессия MHC у* Xenopus *на каждой стадии жизненного цикла различна
Интересная особенность экспрессии MHC в онтогенезе у *Xenopus* заключается в том, что до стадии метаморфоза классические молекулы MHC класса I не экспрессируются на поверхности каких-либо клеток. Напротив, молекулы класса II появляются уже на ранней стадии развития головастиков на В-клетках и некоторых эпителиальных клетках, непосредственно контактирующих с внешней средой. Это свидетельствует о том, что экспрессия классических молекул класса I не является необходимой для ранних стадий развития или для функционирования иммунной системы на стадии головастиков. Не исключено, однако, что важную роль в иммунитете головастиков играют неклассические белки класса I. На этой стадии онтогенеза основное значение, возможно, имеет клеточный иммунитет, рестриктированный по молекулам MHC класса II. Более широкое представительство молекул MHC класса II у головастиков по сравнению со зрелыми лягушками указывает на то, что на низших ступенях эволюции, в более примитивной иммунной системе, именно эти молекулы, возможно, несли функцию презентации антигенов.

MHC у других позвоночных
Белки MHC классов I и II и полиморфные гены класса II недавно обнаружены у хрящевых рыб. Среди костистых рыб генами MHC класса I и β_2-микроглобулина обладает, как установлено, радужная форель и генами MHC класса II – карп.

Аксолотли, для которых характерны относительно слабые Т-клеточные реакции на аллоантигены, обладают α- и β-цепями молекул MHC класса II с ограниченным полиморфизмом. Эти земноводные экспрессируют также кодируемые MHC эритроцитарные антигены, сходные с α-цепями (44 кДа) класса I и с полиморфными молекулами класса IV, присутствующими на ядерных эритроцитах курицы. Они могут присутствовать также у *Xenopus*. α-Цепи класса I и гетеродимерные молекулы класса II найдены и у различных пресмыкающихся.

У различных позвоночных фенотипически и функционально идентифицированы Т-клетки
У птиц найдены αβ- и γδ-ТкР в комплексе с корецепторными молекулами CD3, CD4 и CD8. В настоящее время появляются данные о наличии некоторых из этих рецепторов или составляющих их цепей у рыб и амфибий. Например, гены из тимоцитов и спленоцитов мексиканского аксолотля обнаруживают значительную гомологию с генами β-цепей ТкР птиц и млекопитающих. На поверхности тимоцитов и лимфоидных клеток опухоли тимуса у *Xenopus* присутствует белок

55 кДа, сходный по аминокислотной последовательности с δ-цепью TкР. С помощью полученных в настоящее время моноклональных антител анти-*Xenopus* обнаруживаются маркеры, возможно соответствующие CD5 (71–88 кДа, экспрессия на всех Т-клетках) и CD8 (35 кДа, экспрессия на цитотоксических Т-клетках). У радужной форели недавно выявлены генные сегменты, кодирующие β-цепи TкР, однако получить моноклональные антитела, специфичные по отношению к Т-клеткам рыб, пока не удалось. У хрящевых рыб найдены четыре различных типа генов Т-клеточных рецепторов. Клеточная и молекулярная основа реакции СКЛ, наблюдающейся у миксин, пока не расшифрована.

Важнейшее значение для иммунных реакций у пойкилотермных животных имеет температура. У сома низкая температура тормозит пролиферацию Т- (но не В-) клеток. Эти эффекты обусловлены низким содержанием некоторых ненасыщенных жирных кислот (например, олеиновой) в Т-клетках рыб и связанной с этим текучестью мембран. Поэтому корм с высоким содержанием соответствующих жирных кислот может способствовать лучшей адаптации рыб к низкой температуре. Олеиновая кислота снимает также наблюдаемую при низких температурах супрессию реакций Т-клеток млекопитающих in vitro (природа термочувствительных процессов точно не установлена).

Эволюция В-клеток и иммуноглобулинов

Тяжелые и легкие цепи иммуноглобулинов имеются у различных позвоночных

Обнаруженные у миксин белки, ранее считавшиеся антителами, в настоящее время идентифицированы как белки комплемента С3–С5. Пока у круглоротых (миксин и миног) не удалось выявить молекул, принадлежаших к суперсемейству иммуноглобулинов.

Все челюстноротые позвоночные вырабатывают антитела к широкому кругу антигенов. Однако антитела, вырабатываемые пойкилотермными позвоночными, характеризуются низкой аффинностью и слабой иммунологической памятью по сравнению с антителами у гомойотермных позвоночных. Структура антител эволюционно консервативна; у всех животных эти белки состоят из мультидоменных тяжелых и легких полипептидных иммуноглобулиновых цепей (см. гл. 6), которые могут экспрессироваться на поверхности В-клеток, играя роль рецепторов, или секретироваться активированными В-клетками в кровь.

У всех челюстноротых позвоночных присутствует полимерный IgM (*рис. 15.17*), а у рыб антитела принадлежат в основном к этому классу. Каждая тяжелая μ-цепь состоит из четырех константных и одного вариабельного доменов; тяжелые и легкие цепи связаны дисульфидными мостиками. Семейство μ-цепей обнаруживает в филогенезе значительное разнообразие; например, между μ-цепями сома и мыши имеется лишь 24 % гомология по аминокислотной последовательности.

У некоторых хрящевых рыб, таких как скаты и акулы, обнаружены низкомолекулярные антитела без μ-цепей (см. *рис. 15.17*), но эволюционная связь IgR с другими изотипами Н-цепей остается неясной. У амфибий, рептилий и птиц имеется состоящий из четырех константных доменов изотип тяжелых цепей, получивший обозначение IgY. Предположительно он является предшественником IgG и IgE млекопитающих, с которыми имеет структурное и функциональное сходство. У аксолотля IgY может быть и секреторным иммуноглобулином, так как в кишечнике он свя-

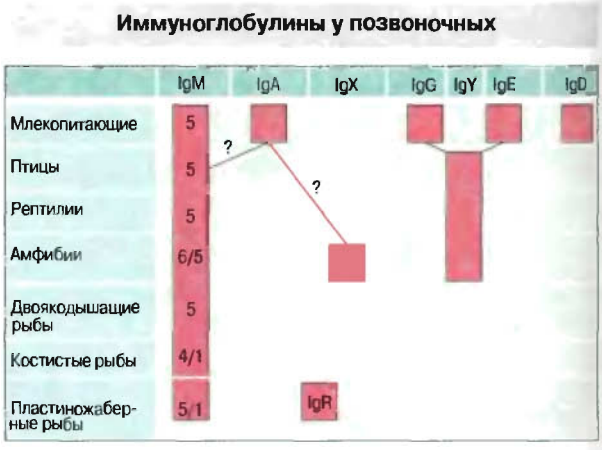


Рис. 15.17
Распределение и возможное родство иммуноглобулинов у позвоночных. Полимерный IgM найден у всех челюстноротых позвоночных, но, как показано на рисунке, с разным числом основных единиц (состоящих из 2 тяжелых + 2 легких цепей). Мономерный IgM присутствует также в крови хрящевых (пластиножаберных) и костистых рыб. У представителей разных групп обнаружены тяжелые цепи, не относящиеся к μ-изотипу, но роль иммуноглобулинов этих изотипов часто остается неизвестной. (Таблица любезно предоставлена д-ром G. Warr.)

зан с молекулами, сходными с секреторными. Интересно, что несмотря на отсутствие у рыб IgE, костистые рыбы демонстрируют реакции гиперчувствительности I типа; возможно, у них имеются связанные с тканями гомоцитотропные антитела. У *Xenopus* изотип IgX, продукция которого в отличие от IgY является тимус-независимой, может быть эквивалентом секреторного IgA млекопитающих, поскольку этот изотип присутствует в основном в кишечнике. Изотип IgA, возможно, впервые появляется у птиц.

Для многих пойкилотермных характерно и разнообразие легких цепей. Два антигенно различных типа легких цепей, один из которых сходен с κ-цепью, обнаружены у *Xenopus* и два – у сома, черепахи и аллигатора. У акул имеются как κ-, так и λ-цепи; это свидетельствует, что дивергенция предковых легких цепей произошла до этапа хрящевых рыб.

Усатая акула-нянька, как недавно установлено, обладает ранее неизвестной молекулой иммуноглобулинового суперсемейства, которая, возможно, эволюционно предшествовала появлению иммуноглобулинов и ТкР. Эта молекула (получившая название нового антигенного рецептора, НАР, англ. – NAR) состоит из одного вариабельного и пяти константных доменов и присутствует в сыворотке в виде димера. Кодирует НАР генный локус, который подвергается перестройке и соматическому мутированию. В настоящее время у хрящевых рыб выявлен новый класс химерных антител; это позволяет усомниться в том, что первичным изотипом Ig является IgM.

У низших позвоночных обнаружены четыре типа организации генов иммуноглобулинов

Активные исследования локуса иммуноглобулиновых генов у пойкилотермных позвоночных с помощью технологии рекомбинантной ДНК позволили в последние годы обнаружить четыре типа его организации.

Амфибии и костистые рыбы У этих животных локус IgH организован по тому же типу, что и у млекопитающих («транслокон»). У *Xenopus*, например, имеется 80–100 сегментов Vн, 15 – Dн и 9 – Jн (*рис. 15.18*). Обнаружены как структурные области, так и области, определяющие комплементарность. Константные области каждой цепи (IgM, IgX, IgY) у *Xenopus* кодируются четырьмя экзонами Cн. Легкие цепи кодируются двумя разными хромосомами, каждая с сегментами Vʟ, Jʟ и Cʟ. У костистых рыб гены легких цепей иммуноглобулинов обнаруживают «мультикластерную» организацию, типичным примером которой служит их организация у акул (см. ниже).

В процессе созревания В-клеток у *Xenopus*, как и у млекопитающих, происходят множественные перестройки иммуноглобулиновых генов; существует и аллельное исключение, приводящее к появлению моноспецифичных В-лимфоцитов. У *Xenopus* найдены активированные рекомбиназой гены (участвующие в перестройке иммуноглобулиновых генов), но разнообразие антител (V-области) при этом весьма незначительно; у взрослых особей имеется всего примерно $5 \cdot 10^5$ различных молекул антител. Ограниченное созревание аффинности после активации В-клеток у *Xenopus* (и других пойкилотермных), по-видимому, не связано с отсутствием соматического мутирования иммуноглобулиновых генов. Скорее это можно связать с неэффективной селекцией мутантов из-за отсутствия в лимфоидных органах холоднокровных соответствующих центров размножения. Лимфоузлы с центрами размножения найдены лишь у птиц и млекопитающих. Хотя у головастиков *Xenopus* имеются те же три изотипа Ig, какие присутствуют у зрелых особей, репертуар антител у тех и других разли-

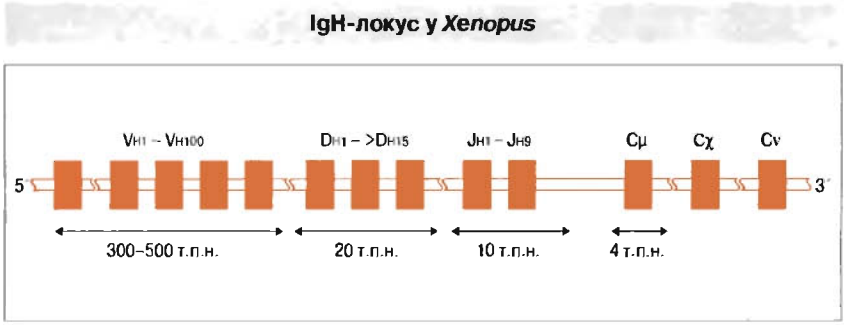


Рис. 15.18
Строение локуса IgH у *Xenopus* сходно с его строением у костистых рыб и отчасти млекопитающих. Ко всем генным сегментам примыкают рекомбинационные сигнальные последовательности. Вначале D-сегменты соединяются с Jн, затем к D–J присоединяются гены Vн. Наконец, перестроенные гены V–D–J соединяются с геном константной области, образуя гены IgM, IgX или IgY. (По данным д-ра L. Du Pasquier.)

чен. На репертуар Ig у зрелых особей влияют генные перестройки, происходящие при новой волне созревания В-клеток после метаморфоза. Третья гипервариабельная область у зрелых особей приобретает дополнительное разнообразие вследствие случайного добавления N-концевых остатков, тогда как у головастиков этого не происходит.

Возникновение разнообразия антител у птиц В данном случае оно связано с иным типом организации иммуноглобулиновых генов и происходит в характерном только для птиц месте – в расположенной у клоаки фабрициевой сумке (*рис. 15.19*). В локусе легких цепей у курицы имеется один V-ген, который вначале перестраивается и соединяется с одним комплексом J–C (*рис. 15.20*). Локус IgH содержит также область множественных D-генов. Перестройка происходит в течение лишь ограниченного периода раннего развития, когда стволовые клетки колонизируют фабрициеву сумку; в отличие от этого у мыши и человека перестройка иммуноглобулиновых генов в пре-В-клетках происходит в течение всей жизни организма. Затем сегменты (длиной 10–120 п.н.) перестроенных иммуноглобулиновых генов замещаются у курицы нуклеотидными последовательностями из псевдогенов, примыкающих к единственному V-гену. Генные конверсии происходят с высокой частотой (как и у кролика) в течение всего срока пролиферации В-клеток в сумке.

Третий тип организации генных локусов Ig обнаружен у хрящевых рыб В этом случае тяжелая (μ) и легкие (λ- и κ-подобные) цепи иммуноглобулинов



Рис. 15.19
Два основных органа иммунной системы у птиц – это тимус (**2**) и фабрициева сумка (**1**). Лимфоциты, развивающиеся в тимусе, называются Т-клетками, а те, которые развиваются в фабрициевой сумке, В-клетками. В сумке отмечены лимфоидные фолликулы (Л) и просвет протока (П), а в тимусе – корковая (К) и мозговая (М) зоны. Окраска гематоксилином–эозином. × 20.

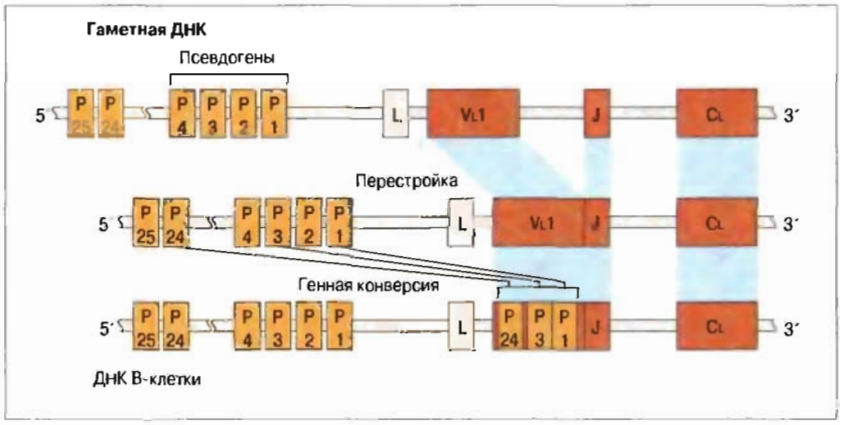


Рис. 15.20
Гаметный локус легких цепей иммуноглобулинов у курицы имеет длину менее 30 т.п.н. ДНК. Единственный функциональный V-ген (Vʟ) расположен на 2 т.п.н. выше от единственного элемента J–C; к нему примыкает кластер из 25 псевдогенов (P) длиной 19 т.п.н. Перестройка происходит в течение короткого срока на ранней стадии развития В-клеток. Разнообразие антител обеспечивается генной конверсией между P и перестроенной последовательностью. Показанная перестройка (P1, P2 и P24) лишь иллюстрирует процесс; в преобразованном V-генном сегменте псевдогены необязательно располагаются именно в таком порядке.

Иммуноглобулиновые Vн-локусы у акул

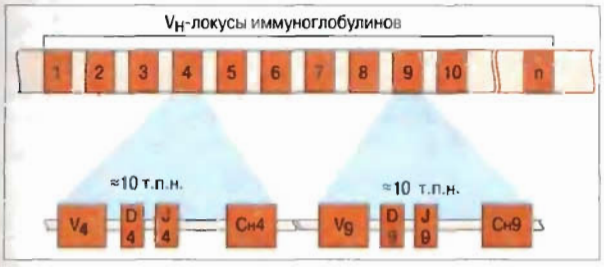


Рис. 15.21
У акул имеется примерно 200 кластеров генов тяжелых цепей, каждый из которых содержит по одному генному сегменту V, D, J и C. Четвертый и девятый кластеры показаны в развернутом виде. Сегменты Vн, Dн и Jн тесно связаны и занимают участок длиной примерно 1,3 т.п.н. Вместе с сегментом Сн они занимают участок всего около 10–15 т.п.н. Расположение генов в кластере соответствует, по-видимому, гаметному и не зависит от механизмов соматической перестройки, чем может объясняться отсутствие у этого вида различий в иммунных реакциях между особями. (По данным д-ров J. Marchalonis и G. Litman.)

кодируются многочисленными мелкими отдельными кластерами (кассетами) (*рис. 15.21*), включающими все V- (D-), J- и C-гены. Каждый кластер иммуноглобулиновых генов по последовательности ДНК отличается от других. Эти последовательности имеют гаметную конфигурацию (гены зародышевой линии). Антитела акул обладают, по-видимому, чрезвычайно разнообразным (многомиллионным) репертуаром связывающих специфичностей, но, поскольку разнообразие закодировано в гаметной ДНК, а не обусловлено соматическими механизмами, между особями различия в иммуноглобулинах отсутствуют. Таким образом, формирование разнообразия иммуноглобулинов за счет перестройки соматических генов (какое имеет место у костистых рыб, амфибий, птиц и млекопитающих) характерно не для всех позвоночных. У хрящевых рыб присутствует большое количество врожденных антител против разнообразных антигенов; эти антитела аналогичны полиспецифичным (часто аутореактивным) IgM-антителам млекопитающих, которые в онтогенезе секретируются В-клетками $CD5^+$. Неизвестно, может ли имеющаяся у акул кластерная организация субъединиц иммуноглобулиновых генов обусловливать клональную рестрикцию В-клеток. Однако уровень специфических антител у них может возрастать и без общего повышения содержания Ig в сыворотке, что указывает на существование клональной селекции.

Предварительные данные говорят о том, что у целокантов — эволюционных «реликтов», найденных в живом состоянии в Индийском океане, может присутствовать новый локус IgH (кластеры V–D-генов, распределенные по длине хромосомы).

Клетки системы врожденного иммунитета

У большинства позвоночных присутствуют нормальные клетки-киллеры (НК)

У млекопитающих НК представлены популяцией больших гранулярных лимфоцитов, отличающихся от Т- и В-клеток. В отличие от Тц они способны спонтанно лизировать трансформированные клетки, не экспрессирующие антигены МНС. НК-подобные лимфоидные клетки обнаружены и у некоторых низших позвоночных, включая птиц, рептилий, амфибий и костистых рыб. Более того, неспецифические цитотоксические клетки недавно выявлены даже у протохордовых; они оказались способными уничтожать опухолевые клетки млекопитающих. Установлено, что макрофаги как хрящевых, так и костных рыб обладают спонтанной цитотоксичностью, и доказано существование у акул антителозависимых клеточных цитотоксических (АЗКЦ) реакций.

Моноклональные антитела против НК-подобных клеток сома модулируют цитотоксическое действие НК рыб и человека в отношении линий трансформированных клеток человека. Это свидетельствует об эволюционной консервативности соответствующих рецепторов к антигенам. У курицы обнаружены клетки, цитотоксический эффект которых не рестриктирован по МНС; возможно, они представляют собой НК. Эти клетки сходны с НК млекопитающих тем, что содержат в цитоплазме CD3, не имеют на поверхности комплекса ТкР–CD3 и часто экспрессируют CD8. Такие особенности указывают на близкое родство НК- и Т-клеток. Однако и у млекопитающих и у птиц НК имеют внетимусное происхождение.

Фагоцитарная активность у рыб

Проблема устойчивости рыб к болезням имеет особое значение для рыбного хозяйства. В связи с этим подробно изучаются факторы, способные

усиливать фагоцитарную активность у рыб. Для их поиска важна разработка методов длительного культивирования лейкоцитов рыб, например сома и карпа, in vitro. Повышения активности фагоцитов рыб по отношению к бактериальным антигенам (возможно, вследствие высвобождения факторов, активирующих макрофаги) можно легко добиться путем введения убитых клеток патогенных микробов и их продуктов. Для повышения связанного с фагоцитами иммунитета у рыб применяются и β-глюканы (полисахариды клеточной оболочки дрожжей и других грибов); они оказались хорошими адъювантами для вакцин, хотя механизм их действия еще не выяснен. Цитокины, например продуцируемый Т-клетками рыб «гамма-интерферон» и ФНОα человека, синергично усиливают дыхательную активность макрофагов радужной форели, приводя к продукции токсичных для бактерий метаболитов кислорода (супероксид-аниона и пероксида водорода). Активацию макрофагов рыб может блокировать ТФРβ млекопитающих. У рыб обнаружены хемокин-подобные факторы, способные влиять на подвижность макрофагов. Поскольку при искусственном разведении рыб может возникать проблема иммуносупрессии, вызванной стрессом, представляет интерес недавно описанная способность иммуноактивного пептида FK-565 блокировать такую супрессию.

В различных воспалительных процессах у млекопитающих, как правило, принимают участие лейкотриены и другие липидные медиаторы (носящие общее название эйкозаноидов). К настоящему времени установлено, что эйкозаноиды синтезируются и у рыб (а также у амфибий) и выполняют у них важную функцию в воспалительных реакциях. Например, лейкотриен B_4 усиливает миграцию лейкоцитов радужной форели; эйкозаноиды влияют и на пролиферацию Т-клеток этих рыб. На синтез эйкозаноидов у рыб может влиять содержание липидов в корме, и важно оптимально подбирать его при разработке методик вакцинации; этот вопрос активно изучается в настоящее время.

Не специфичные к антигенам молекулы

У позвоночных хорошо развиты классический и альтернативный пути активации комплемента

Бесчелюстные обладают антителонезависимыми комплемент-подобными белками. У миксин они гомологичны компонентам С3, С4 и С5 комплемента млекопитающих и действуют как опсонины; на фагоцитарных лейкоцитах обнаружен специфичный к ним рецептор (105 кДа). У представителей всех других классов позвоночных имеются как классический, так и альтернативный механизмы активации комплемента (у хрящевых рыб существование альтернативного пути не доказано).

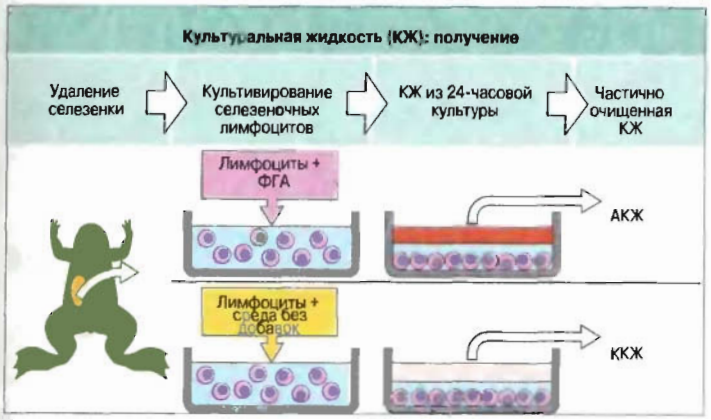
У карпа обнаружены компоненты комплемента С1–С9, а также факторы В и D. Установлена значительная гомология генов С3 у *Xenopus* и млекопитающих. У бесхвостых амфибий охарактеризованы также компоненты комплемента С1q, С4, С5, лизирующий мембрану комплекс и фактор В. Компоненты комплемента рыб и амфибий обладают теми же основными свойствами (термолабильность и необходимость ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} для активации), что и соответствующие белки млекопитающих. Разумеется, температурный диапазон для активности комплемента у пойкилотермных животных значительно шире; она сохраняется и при 4 °С. В то же время и тепловая инактивация может происходить при более низкой температуре. У *Xenopus*, например, активность комплемента полностью исчезает через 40 мин инкубации при 45 °С. Для определения антител зрелых амфибий по гемолизу in vitro можно использовать комплемент морской свинки. Для большинства же рыб, а также головастиков подходит комплемент только от тех же или от близких видов.

У низших позвоночных имеются цитокины, функционально сходные с цитокинами млекопитающих

Изучение цитокинов и особенно их рецепторов у низших позвоночных существенно отстает от успешных молекулярных исследований в области эволюции иммуноглобулинов, ТкР и МНС. Однако биологическими методами установлено, что определенные группы цитокинов присутствуют у многих классов позвоночных. К таким цитокинам относятся интерлейкины, интерфероны, фактор некроза опухолей, колониестимулирующие факторы и хемокины.

Например, из супернатантов культур стимулированных Т-лимфоцитов костных рыб, хвостатых и бесхвостых амфибий, змей и курицы выделены факторы роста Т-клеток (ФРТк), стимулирующие пролиферацию Т-лимфобластов in vitro (*рис. 15.22*). Очищенный ФРТк *Xenopus* представляет собой белок с молекулярной массой 16 кДа, обладающий биохимическим и

Фактор роста Т-клеток у *Xenopus*



Культуральная жидкость: исследование		
Индукция включения ^{3}H-тимидина в:		Поддержание роста Т-клеточных линий
покоящиеся спленоциты	Т-лимфобласты	
+	+++	+++
–	–	–

Рис. 15.22
Обладающую активностью культуральную жидкость (АКЖ) из культуры стимулированных ФГА спленоцитов *Xenopus* сравнивали с культуральной жидкостью контрольных культур (ККЖ) (Оба препарата предварительно подвергали частичной очистке.) АКЖ, очевидно, содержит цитокины, поскольку явно стимулирует пролиферацию Т-лимфобластов (но оказывает меньшее стимулирующее влияние на покоящиеся спленоциты) и способствует росту аллореактивных Т-клеточных линий; ККЖ таких эффектов не оказывает. Аналогичной, хотя и меньшей активностью обладает культуральная жидкость из смешанной культуры лейкоцитов. Активностью фактора роста Т-клеток у *Xenopus* обладает белок 16 кДа, который, судя по биохимическим и функциональным свойствам, вполне может представлять собой ИЛ-2 амфибий. (Рисунок любезно предоставлен д-ром N. Cohen.)

функциональным сходством с ИЛ-2 млекопитающих. Ген этого «ИЛ-2» и его рецепторы пока неизвестны.

«ИЛ-2-подобная» активность обнаружена в макрофагах костных рыб, амфибий и птиц. У пойкилотермных позвоночных (например, у искусственно разводимых рыб, популяции которых могут быть полностью уничтожены вирусом) найдены и «интерферон-подобные» факторы, активирующие макрофаги и обладающие антивирусной активностью. Недавно был секвенирован интерферон камбалы, который, однако, мало напоминает какие-либо другие интерфероны. Отсутствие гомологии и может быть причиной того, что с помощью олигонуклеотидных зондов (консервативных последовательностей генов, кодирующих цитокины млекопитающих) не всегда удается идентифицировать гены цитокинов у пойкилотермных животных. Это, однако, удалось в отношении фактора роста фибробластов амфибий, TGFβ (TGFβ5 *Xenopus*, у которых он может ингибировать пролиферацию Т-клеток, и TGFβ4 курицы) и ИЛ-2 камбалы. Имеющиеся данные о том, что активацию макрофагов радужной форели под действием ФНОβ человека блокирует их преинкубация с антителами к рецептору ФНО (p55) человека, указывают на эволюционный консерватизм рецепторов к ФНО.

Антимикробные пептиды

Важную функцию в иммунной системе позвоночных выполняют антимикробные пептиды, структурно сходные с описанными выше антимикробными пептидами беспозвоночных. Так, в кишечнике свиней обнаружены цекропины, а в фагоцитах и некоторых клетках кишечника млекопитающих – дефензины, влияющие на рост микробов. Гранулярные железы кожи и кишечника *Xenopus* секретируют пептиды другого семейства, получившие название магайнинов. Они обладают биоцидной активностью широкого спектра – против грамотрицательных и грамположительных бактерий, грибов и простейших. Кроме того, они оказывают цитотоксическое действие и на клетки различных злокачественных опухолей человека. В настоящее время уже получены искусственно синтезированные магайнины и рассматривается возможность их использования в качестве лекарственных средств. Еще одним кандидатом на применение в качестве ле-

чебного средства является скваламин — стероид из акул, обладающий общей антибиотической активностью.

ЛИМФОМИЕЛОИДНЫЕ ТКАНИ У НИЗШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Анатомической основой для взаимодействия иммуноцитов с антигеном служит лимфомиелоидная система, где происходит образование и где хранятся лимфоциты, гранулоциты и другие клетки крови.

Лимфомиелоидные ткани рыб

Миксины лишены как тимуса, так и селезенки. Лимфоциты у этих представителей круглоротых развиваются в лимфоидной ткани в области жаберных щелей или в кишечнике. У других круглоротых, миног, имеется примитивная селезенка и ткань, подобная костному мозгу.

У челюстноротых рыб отсутствуют лимфоидный ряд дифференцировки клеток костного мозга, лимфоузлы и лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником ЛТК (*рис. 15.23*). Однако у них хорошо развит тимус и селезенка, диффузная ЛТК и лимфомиелоидная ткань в почках и печени (рис. *15.24*). Важная особенность лимфомиелоидной ткани рыб заключается в том, что в печени «примитивных» форм (а у костистых рыб еще и в селезенке и почках) присутствует множество мелано-макрофагальных центров (*рис. 15.25*). В этих центрах аккумулируются пигменты, такие как гемосидерин, цероид, меланин и в особо большом количестве липофусцин. Накопление пигментов в «макрофагальных агрегатах» рыб отчасти может быть связано с высоким содержанием у рыб ненасыщенных жирных кислот, благодаря которому сохраняется текучесть мембран при низкой температуре; такие липиды особенно подвержены процессам перекисного окисления и образования липофусцина.

Эволюция лимфомиелоидной ткани у позвоночных

Группа позвоночных	Лимфомиелоидная ткань					
	тимус	селезенка	костный мозг	лимфоузлы	ЛТК	почки/печень
Млекопитающие	■	■	■	■	■	■
Птицы	■	■	■	■	■	■
Рептилии	■	■	■	◪	■	■
Лягушки/жабы	■	■	■	◪	■	■
Саламандры/тритоны	■	■	□	□	◪	■
Двоякодышащие рыбы	■	■	□	□	◪	■
Костистые рыбы	■	■	□	□	◪	■
Акулы/скаты	■	■	□	□	◪	■
Бесчелюстные	□	◪	□	□	◪	■

■ Присутствие/гомология ◪ Частичное доказательство □ Вероятное отсутствие

Рис. 15.23
У рыб и амфибий лимфоидная и миелоидная ткани не разделены.

Лимфомиелоидные ткани у различных групп рыб

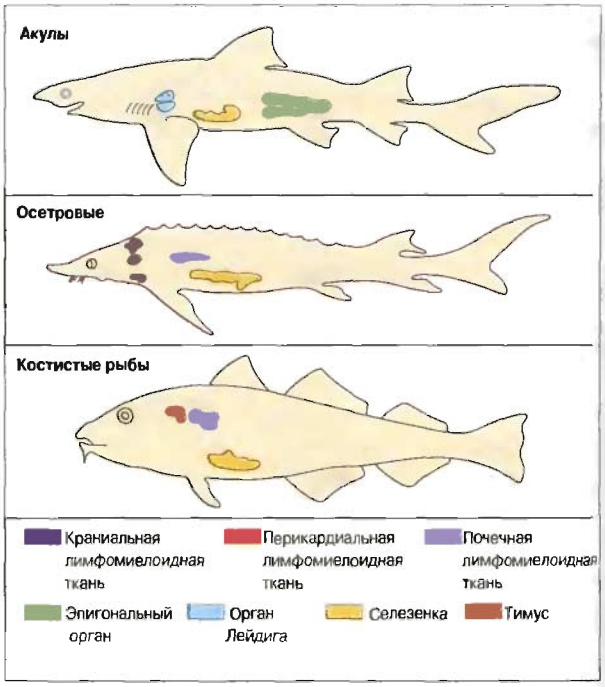


Рис. 15.24
Обратите внимание, что кишечник у акул и осетров также богат лимфомиелоидной тканью. (Рисунок любезно предоставлен д-ром R. Fange.)

Лимфомиелоидные ткани амфибий

Тимус

У взрослых особей *Xenopus* тимус расположен сзади среднего уха, непосредственно под кожей. Как и у большинства других позвоночных, за ис-

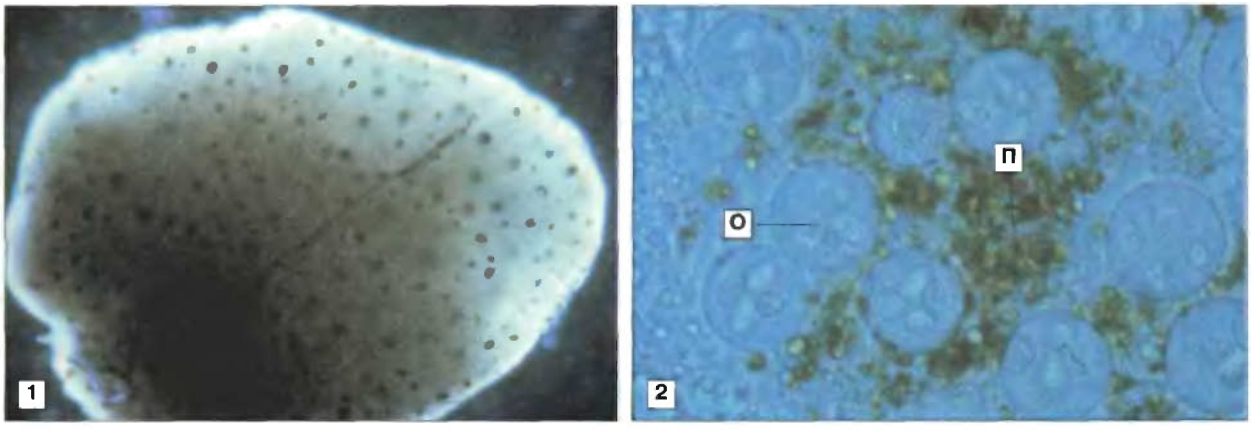


Рис. 15.25
Мелано-макрофагальные центры (ММЦ) в печени рыб. Макро- и микрофотографии печени рыбы (*Rivulus marmoratus*), зараженной в эксперименте паразитом *Calyptospora funduli*. Через 60 сут после заражения отчетливо видны ММЦ (**1**, × 60). В препарате под покровным стеклом (**2**, × 100) видно, что ММЦ состоят из дегенерирующих ооцитов (О) паразита и прилегающих к ним пигментных частиц (П) хозяина. Основную роль в образовании ММЦ играют моноядерные фагоциты. (Фото любезно предоставлены д-ром W. Vogelbein.)

ключением костистых рыб, он отделяется от глоточного эпителия уже на очень ранних стадиях развития. Тимус дифференцируется на наружную, корковую и внутреннюю (бледнее окрашивающуюся), мозговую зону. Быстро пролиферирующие лимфоциты корковой зоны особенно чувствительны к радиационному воздействию (*рис. 15.26*). Обработка тимуса *Xenopus* in vitro глюкокортикоидами ускоряет апоптоз его клеток. У *Rana* повышение уровня кортикостероидов in vivo может вызывать атрофию тимуса.

Убедительно доказано, что у пойкилотермных животных, как и у гомойотермных, тимус продуцирует лимфоциты, обладающие функциями Т-клеток. На *рис. 15.27* показана ультраструктура лимфоцитов и соседних эпителиальных клеток тимуса. В тимусе амфибий присутствуют также стромальные клетки других типов, включая крупные дендритные (интердигитатные) клетки, макрофаги, пузырчатые, дегенерирующие клетки и гранулярные клетки. В тимусе рептилий и млекопитающих обнаружены и миоидные клетки (см. *рис. 15.27*), которые могут способствовать циркуляции тканевой жидкости, а также служить источником факторов, стимулирующих макрофаги. Эпителиальные клетки тимуса, на ранних стадиях развития экспрессирующие антигены MHC класса II, по-видимому, участвуют в «обучении» Т-клеток (см. ниже). В тимусе лягушек присутствуют комплексы из стромальных клеток и заключенных в них тимоцитов, напоминающие клетки-«няни». Эти комплексы могут представлять собой места «обучения» Т-клеток. В тимусе позвоночных различных видов, в том числе амфибий, найдены и В-клетки, хотя этот орган не служит местом их образования. В тимусе лягушек *Rana* обнаружены венулы с высоким эндотелием, которые могут способствовать иммиграции клеток.

Селезенка

У всех челюстноротых позвоночных селезенка служит главным периферическим лимфоидным органом. Вместе с «лимфоузлами» и почками она захватывает антиген, удерживает пролиферирующие после стимуляции антигеном лимфоциты, а также высвобождает эти клетки и их продукты в кровь. В селезенке *Xenopus* имеются тимус-зависимые и независимые лимфоидные зоны (*рис. 15.28*). Фолликулы белой пульпы содержат множество В-клеток (*рис. 15.29*), что обнаруживается при окрашивании этой области моноклональными антителами к иммуноглобулинам. Селезеночные Т-клетки, присутствующие главным образом в краевой зоне, лишены поверхностных иммуноглобулинов, но связывают анти-Т-клеточные моноклональные антитела (см. *рис. 15.29*).

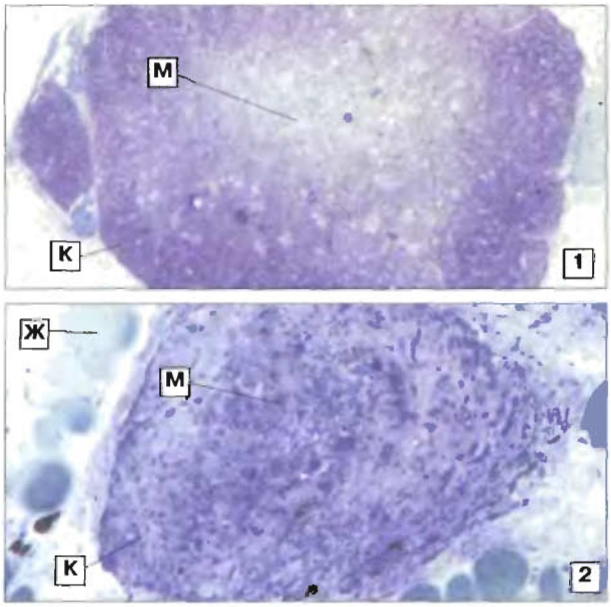


Рис. 15.26
Тимус взрослой особи *Xenopus*: эффект облучения. В нормальном (**1**, × 35) тимусе корковая зона (К) содержит множество лимфоидных элементов; бледнее окрашивающаяся мозговая зона (М) заселена лимфоцитами в меньшей степени. Показан результат гамма-облучения тимуса (9 сут после облучения в дозе 300 рад) (**2**, × 90). Обратите внимание на резкое уменьшение количества лимфоцитов в корковой зоне (К) при сохранении некоторых клеток в мозговой зоне (М). Облученный тимус уменьшается в размерах. Тимус окружен жировой тканью (Ж). Окраска толуидиновым синим.

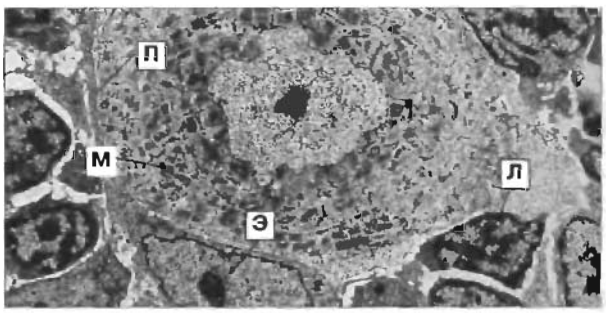


Рис. 15.27
Электронная микрофотография мозговой зоны тимуса головастика *Xenopus*. Ядро миоидной клетки окружено концентрическими кольцами исчерченных миофибрилл (М) (сходство со скелетными мышцами). Ядерный хроматин мелких лимфоцитов (Л) образует отдельные электроноплотные зоны; цитоплазма бедна органеллами. В ядре эпителиальной клетки (Э) хроматин распределен равномерно и видны ядрышки; цитоплазма обильная и её выросты подобно пальцам (П) проникают между лимфоцитами и клетками других типов, формируя поддерживающую сеть. × 700. (Фото любезно предоставлено д-ром J. Rimmer.)

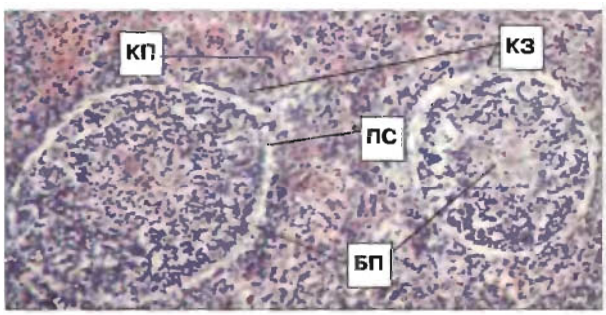
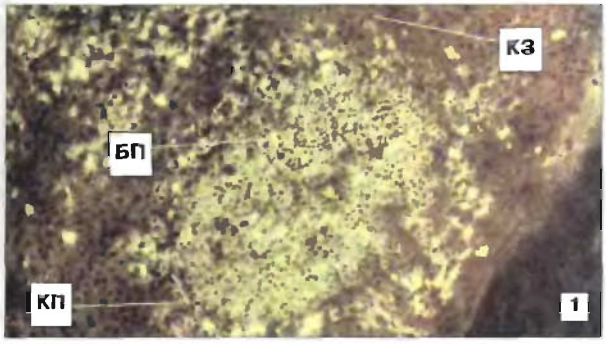


Рис. 15.28
Срез селезенки взрослой особи *Xenopus*. Видны тимус-зависимые [перифолликулярная красная пульпа, или краевая зона (КЗ)] и тимус-независимые (белая пульпа) области. У *Xenopus* (в отличие от многих других пойкилотермных животных) белая пульпа (БП) четко отделяется от окружающей красной пульпы (КП) почти не окрашивающимся пограничным слоем клеток (ПС). В красной пульпе также видны скопления лимфоцитов. Окраска гематоксилином–эозином. × 80.

Кровь поступает в селезенку через центральную артериолу белой пульпы, тесно контактирующую с норадренергическими волокнами симпатической нервной системы. Эти волокна иннервируют селезенку и оказывают иммуномодулирующие эффекты. Капилляры центральной артериолы проникают в краевую зону, окружающую красную пульпу. Их стенки вносят вклад в формирование пограничного слоя. Эксперименты с применением окраски тушью и флуоресцентных антигенов показали, что материал из крови вначале попадает именно в красную пульпу. Позднее циркулирующие антигены захватываются фолликулами белой пульпы и, таким образом, вступают в тесный контакт с потенциальными антителопродуцирующими клетками (*рис. 15.30*). Антигены удерживаются на поверхности крупных дендритных клеток, отростки которых тянутся в виде псевдоподий через пограничный слой в богатую Т-клетками краевую зону. По общему строению селезенка амфибий подобна селезенке млекопитающих, однако не содержит центров размножения. Селезенка выполняет у амфибий важную роль в созревании В-клеток, как на стадии головастиков (наряду с печенью), так и на стадии зрелых особей, у которых она служит основным местом дифференцировки В-клеток. Удивительно, что В-лимфоциты *Xenopus* конститутивно не экспрессируют CD5 – маркер,



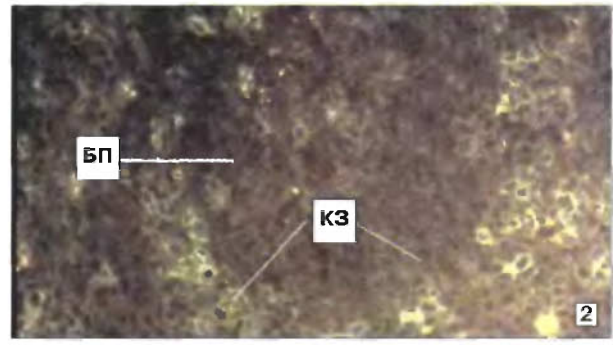


Рис. 15.29
Селезенка взрослой особи *Xenopus*; видны зоны, богатые В- и Т-клетками. 1. Фолликул белой пульпы (БП), содержащий множество В-клеток; эти клетки присутствуют также в краевой зоне (КЗ) и красной пульпе (КП), в основном в виде сильно прокрашивающихся плазматических клеток. Окраска анти-В-клеточными (анти-IgM) мАт. × 100.

2. В краевой зоне, граничащей с фолликулом белой пульпы (БП) видны скопления Т-клеток. Их особенно много в перифолликулярной (краевой) зоне (КЗ) и они лишены поверхностных иммуноглобулинов. Окраска антителами анти-Т. × 200.



Рис. 15.30
Иммунофлуоресценция селезенки взрослой особи *Xenopus*, демонстрирующая захват антигена. Лягушке вводили IgG человека. Через 3 нед готовили замороженные срезы селезенки и инкубировали их с меченными флуоресцеином антителами к IgG человека. Яркое зеленое свечение показывает присутствие антигена в фолликулах белой пульпы (БП). Антиген захватывают дендритные клетки, сходные с аналогичными клетками у млекопитающих и птиц, и он появляется на поверхности ретикулярных клеток. × 35.

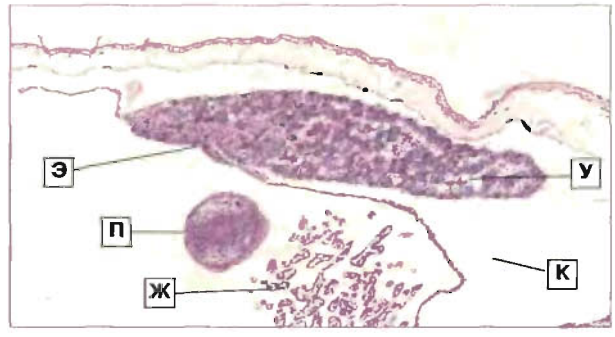


Рис. 15.31
Срез лимфатической железы головастика *Rana*. Удлиненный (парный) лимфомиелоидный узел (У) с вентральной стороны прикреплен к эпителию (Э) жаберной камеры и выступает в просвет крупного лимфатического канала (К). В середине видны жабры (Ж) и палец (П) передней конечности, лежащий в жаберной камере; сверху – кожа головастика. Лимфатическая железа состоит из лимфоидной паренхимы с фагоцитами и пронизывающими ее синусоидами (бледноокрашенные участки). Она является в основном кровофильтрующим органом. Окраска гематоксилином–эозином. × 25.

который присутствует на «примитивных», продуцирующих так называемые нормальные антитела В-1-клетках у млекопитающих.

Лимфомиелоидные узлы

Лимфомиелоидные узлы, предположительно сходные по функциям с лимфатическими узлами гомойотермных животных, в эволюции позвоночных впервые появляются у «высокоорганизованных» амфибий, таких как лягушки *Rana* и жабы *Bufo*, но отсутствуют у хвостатых амфибий и *Xenopus*. Лимфомиелоидные узлы бесхвостых амфибий отличаются от своих аналогов у млекопитающих тем, что служат в основном фильтрующими кровь органами, хотя могут захватывать материал и из окружающей лимфы. Будучи основным местом локализации антителопродуцирующих клеток, лимфомиелоидные узлы бесхвостых амфибий не имеют четкой структуры, свойственной лимфатическим узлам млекопитающих, и в них отсутствуют центры размножения. У взрослой лягушки «лимфоузлы» расположены на

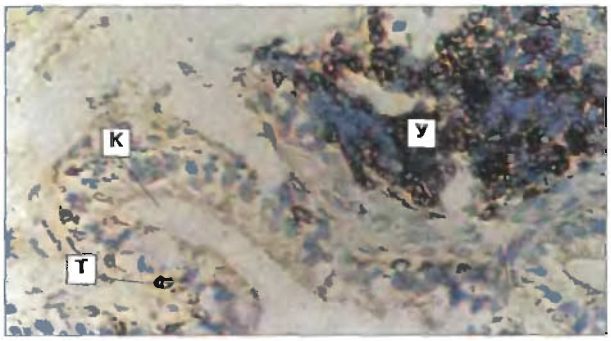


Рис. 15.32
Криостатный срез тонкой кишки *Xenopus*, окрашенный с использованием моноклональных антител анти-CD5 (общий маркер всех Т-клеток) (иммунопероксидазный метод). Видны внутриэпителиальные Т-клетки (Т) и узловое скопление Т-клеток (У) в собственной пластинке слизистой, а также просвет кишки (К). У особей, тимэктомированных на ранней стадии развития, Т-клетки в обоих этих местах отсутствуют. × 300.

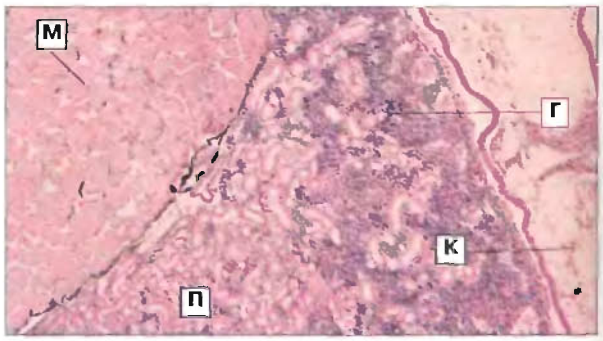


Рис. 15.33
Срез почки головастика *Rana* с участком гемопоэтической ткани. Гемопоэтическая ткань (Г) заполняет межканальцевые пространства и содержит лимфоциты, гранулоциты и другие созревающие клетки крови. С мезонефросом соседствуют миотомальная мышца (М) и петля кишечника (К). Окраска гематоксилином–эозином. × 25. (П – почечный каналец.)

шее и в подмышечной области; лимфатические железы головастиков имеют аналогичное строение (*рис. 15.31*).

Лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником

По всей длине тонкой кишки у амфибий выявляются узлы ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани, аналогичной этой системе у млекопитающих. У *Xenopus* ЛТК содержит плазматические клетки, секретирующие IgM и IgX. Иммуногистохимический анализ с окраской анти-Т-клеточными моноклональными антителами обнаруживает как узловые скопления Т-клеток (собственная пластинка слизистой), так и внутриэпителиальные Т-клетки в кишечнике *Xenopus* (*рис. 15.32*).

Почки и печень

У амфибий, как и у рыб, основным лимфомиелоидным органом служат почки (*рис. 15.33*), но у рептилий, птиц и млекопитающих они теряют эту функцию. У бесхвостых амфибий созревание В-клеток в онтогенезе начинается в почках и/или печени. Эти органы непосредственно участвуют в процессах ранней дифференцировки эритроидных, лимфоидных и миелоидных клеток у разных позвоночных.

Костный мозг

У амфибий имеется костный мозг, но его иммунологическая роль остается неясной. У взрослой

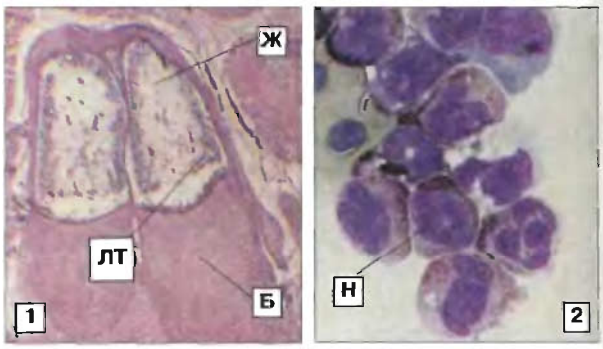


Рис. 15.34
Костный мозг. 1. Лимфомиелоидная ткань (ЛТ), важный источник антителопродуцирующих клеток, в костном мозге *Rana*. Видны также бедренная кость (Б) и жировая ткань (Ж). Окраска гематоксилином–эозином, × 20. **2.** Препарат костного мозга *Xenopus* после центрифугирования; видны содержащие пероксидазу нейтрофильные гранулоциты (Н). × 700. (Препарат любезно предоставлен д-ром I. Hadji-Azimi.)

особи леопардовой лягушки *Rana pipiens* легко обнаруживается костномозговая лимфомиелоидная ткань (*рис. 15.34*), которая служит важным источником антитело-продуцирующих клеток. Вместе с тем у *Xenopus* костный мозг, по-видимому, более рудиментарен и главным образом служит местом дифференцировки нейтрофильных гранулоцитов (*рис. 15.34*).

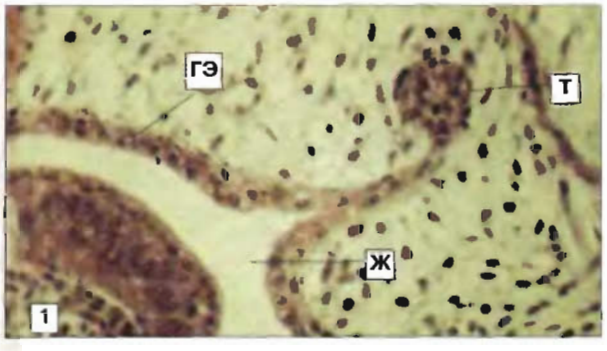
АМФИБИИ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ОНТОГЕНЕЗА ИММУНИТЕТА

В последние годы для иммунологических исследований было получено несколько изогенных и инбредных клонов *Xenopus*. Различные клоны *Xenopus*, либо совместимые по MHC, либо обладающие одним или двумя различиями по гаплотипу, оказались чрезвычайно ценными для изучения онтогенеза иммунной системы.

Развитие тимуса

Развитие тимуса и эксперименты по тимэктомии

Шпорцевая лягушка *X. laevis* идеально подходит для изучения роли тимуса в развитии иммунной системы, так как у свободноживущих головастиков можно производить тимэктомию на очень ранних стадиях развития, когда тимус еще не созрел (*рис. 15.35* и *15.36*). Парный тимус развивается у *Xenopus* из дорсального эпителия второго



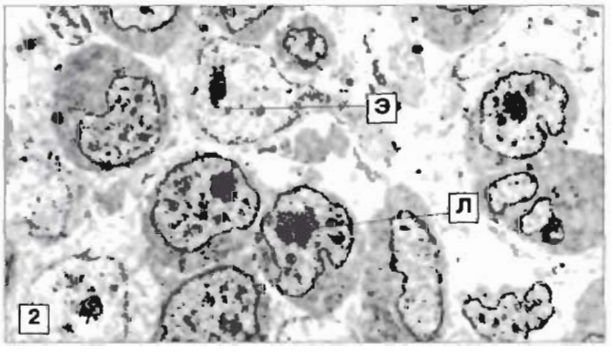


Рис. 15.35
Тимус *Xenopus* 3- и 7-суточного возраста. 1. На 3 сут развивающийся тимус (Т) все еще прикреплен к глоточному эпителию (ГЭ) и состоит в основном из эпителиальных клеток. Виден также жаберный карман (Ж). Окраска гематоксилином–эозином. × 100. **2.** На 7 сут тимус содержит менее тысячи клеток двух основных типов: эпителиальные клетки (Э) с четко видимым ядрышком, дисперсным хроматином и бледноокрашивающейся цитоплазмой, а также лимфоидные клетки (Л) с большим количеством хорошо прокрашивающейся цитоплазмы и множеством свободных рибосом и митохондрий. К 7 суткам развития на лимфоидных клетках тимуса появляется маркер XT-1, а эпителиальные клетки начинают экспрессировать белки MHC класса II. Электронная микрофотография. × 500.

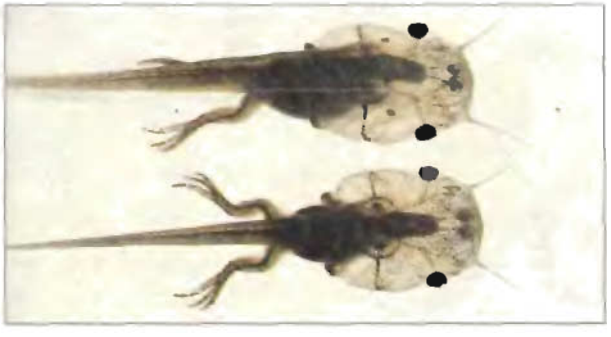


Рис. 15.36
Тимус *Xenopus* на 38 сут развития особи. Пигментированный парный тимус расположен позади глаз (*вверху*); у тимэктомированного на 7 сутки сибса отчетливо заметно его отсутствие (*внизу*).

Эффект тимэктомии у *Xenopus*

	Гуморальный ответ на		Отторжение аллотрансплантата	Митогенный ответ	
	ЛПС ($T_н$)	ЭР ($T_з$)		ЛПС (В-клетки)	ФГА (Т-клетки)
Норма	+	+	Быстрое	+	+
Тимэктомия	+	–	Медленное	+	–

Рис. 15.37
У особей *Xenopus*, тимэктомированных на 4–6 сутки развития, исследовали гуморальный иммунный ответ, клеточный ответ на кожный аллотрансплантат и митогенный ответ in vitro. (ЛПС – липополисахарид; ЭР – эритроциты барана; ФГА – фитогемагглютинин; $T_н$ – Т-независимый; $T_з$ – Т-зависимый.)

глоточного кармана. Эксперименты показывают, что предшественники лимфоидных клеток впервые проникают в эпителиальную закладку тимуса на 3–4 сутки развития. К седьмым суткам на лимфоидных клетках тимуса начинает появляться дифференцировочный антиген Т-клеток – маркер XNLA-1 (120 кДа), распознаваемый антитимусными мышиными моноклональными антителами XT-1. Большинство тимоцитов экспрессирует Т-клеточные поверхностные антигены на 10 сутки развития, когда клетки-предшественники Т-лимфоцитов впервые удается идентифицировать на периферии. В ходе метаморфоза происходит новая волна колонизации стволовыми клетками, а затем инволюция тимуса. После метаморфоза количество тимоцитов вновь возрастает, достигая максимума к 15–16 месяцу развития. Эксперименты с проведением ранней тимэктомии *Xenopus* (на 4–5 сутки развития) отчетливо демонстрируют существование Т-зависимого ($T_з$) и Т-независимого ($T_н$) компонентов иммунитета (*рис. 15.37*). После такой ранней тимэктомии Т-клетки XT-1$^+$ (а также Т-клетки CD4$^+$ и CD8$^+$) уже не обнаруживаются в лимфоидных органах головастиков и взрослых особей, тогда как В-клетки с поверхностными IgM присутствуют в них в изобилии (*рис. 15.38*). Поэтому у животных данного уровня эволюции тимус, по-видимому, абсолютно необходим для созревания Т-клеток. Следует отметить, однако, что у тимэктомированных на ранней стадии развития *Xenopus* иногда происходит хроническое отторжение МНС-несовместимых кожных трансплантатов. После отторжения спленоциты этих особей при испытании в смешанной культуре лимфоцитов реагируют даже на клетки-стимуляторы, молекулы МНС которых отличаются от антигенов МНС исходного донора, но не отвечают на

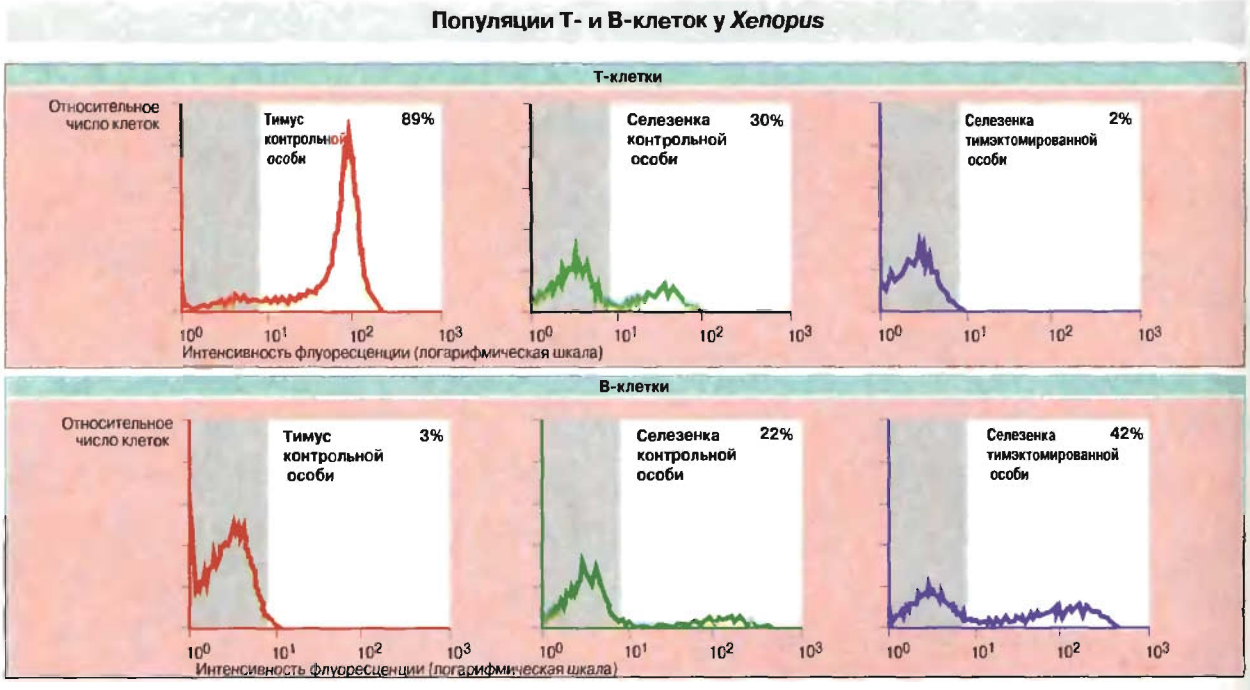


Рис. 15.38

Клетки тимуса и селезенки контрольной особи *Xenopus* (4-месячного возраста) и селезенки сибса, тимэктомированного в 7-суточном возрасте, сначала окрашивали либо мышиными анти-Т-клеточными (XT-1) моноклональными антителами (мАт), либо мышиными анти-В-клеточными (анти-IgM) мАт. Вторыми антителами служили меченные флуоресцеин-изотиоцианатом антитела к мышиному иммуноглобулину. Затем Т- и В-клетки выявляли при помощи флуоресцентного клеточного сортера. У головастика, тимэктомированнного на ранней стадии развития, исчезла Т-клеточная популяция XT-1$^+$; ее заменило соответствующее количество В-клеток. Число, %, на каждом графике означает долю положительных клеток, т. е. представленных справа от свечения маркера (серая полоса) (исключение 98% фоновой флуоресценции).

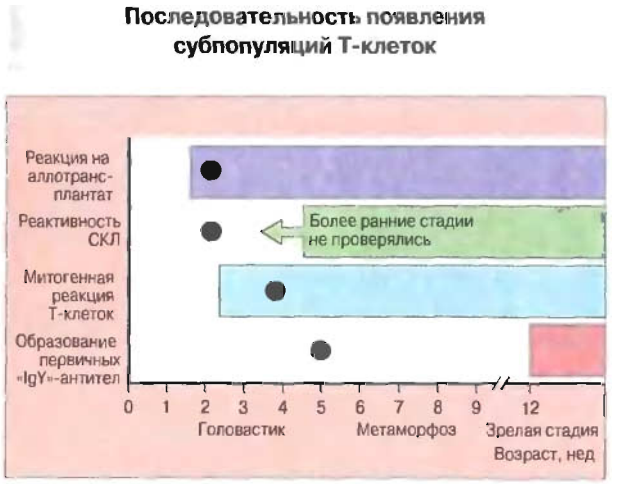


Рис. 15.39
Онтогенез иммунореактивности у *Xenopus* и эффект тимэктомии на разных стадиях развития. Реакция на аллотрансплантат, реакция в смешанной культуре лимфоцитов и митогенные реакции Т-клеток наблюдаются уже на ранних стадиях развития. Значительно позже появляются Тх-клетки, в частности обеспечивающие первичный «IgY»-ответ. (Кружками указан возраст, после которого тимэктомия уже не нарушает данную функцию.)

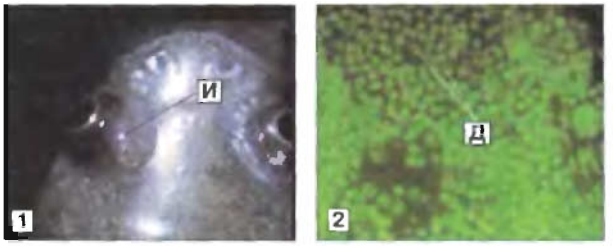


Рис. 15.40
Имплантация тимуса тимэктимированной особи *Xenopus*. **1.** Шпорцевую лягушку (*X. laevis*) тимэктомировали на 7 сутки развития и подкожно имплантировали ей тимус от головастика донора (*X. borealis*), находящегося на поздней стадии развития. После метаморфоза обнаруживался прекрасный рост имплантата (И), лежащего рядом с левым глазом. **2.** Срез имплантированного тимуса под флуоресцентным микроскопом. Клетки донора (Д) можно отличить от клеток реципиента, поскольку ядра *X. borealis* светятся яркими точками, тогда как клетки *X. laevis* – однородно зеленым цветом. Тимус заселен лимфоцитами реципиента, в то время как многие клетки стромы остаются «пятнистыми» (т. е. имеют донорское происхождение). Окраска хинакрином. × 300.



Рис. 5.41
Химерные лягушки. Химеры *Xenopus* были получены путем взаимной замены передних и задних частей двух эмбрионов через 24 ч после оплодотворения. На этой стадии закладка тимуса (т. е. его эпителий) находится в передней, а все предшественники лимфоцитов – в задней части эмбриона. Один эмбрион был от альбинотического варианта (с белой кожей и красными глазами), а другой от нормальной особи *Xenopus*. Эти химеры использовались для исследования «обучения» клеток в тимусе. (Фото любезно предоставлено д-ром M. Flajnik и д-ром L. DuPasquier.)

стимуляцию Т-клеточным митогеном ФГА. Природа таких аллореактивных клеток остается неизвестной.

Опыты с тимэктомией головастиков свидетельствуют о том, что для появления на периферии Т-клеток с разными функциями необходимо присутствие тимуса в разные сроки развития (*рис. 15.39*). Исследования на интактных особях показали, что реакция на аллогенные ткани (in vivo и in vitro) вместе со способностью спленоцитов реагировать на Т-клеточные митогены появляются на ранней стадии развития головастика, тогда как отчетливый IgY-ответ возможен только у взрослой особи, с появлением хелперной функции Т-клеток.

«Обучение» в тимусе включает у Xenopus *положительную и ограниченную отрицательную селекцию*

Чужеродный тимус, пересаженный лягушке после тимэктомии на ранней стадии развития, обеспечивает возможность дифференцировки клеток-предшественников реципиента по Т-клеточной линии (*рис. 15.40*). Соединяя переднюю часть 24-часового эмбриона, содержащую эпителиальную закладку тимуса, с задней частью МНС-несовместимого эмбриона, в которой образуются гемопоэтические стволовые клетки, в том числе лимфоциты, легко получить in vivo тимусы с эпителиальными и лимфоидными компонентами, экспрессирующими разные МНС-маркеры (*рис. 15.41*).

Обе эти экспериментальные модели были использованы для изучения роли стромальных клеток тимуса в процессе «обучения», включающего отрицательную селекцию (формирование толерантности Т-клеток к аутоантигенам) и положительную селекцию (рестрикция по специфическим антигенам MHC, с которыми преимущественно взаимодействуют хелперные и эффекторные популяции Т-клеток). Результаты таких экспериментов, проведенные на *Xenopus*, свидетельствуют об участии эпителия чужеродного тимуса в положительной селекции и индукции толерантности к кожным трансплантатам с MHC-специфичностью тимуса, хотя, что удивительно, эта толерантность не препятствует возникновению реакции смешанной культуры лимфоцитов на клетки донора тимуса. Аналогичные данные получены на зародышах птиц и млекопитающих.

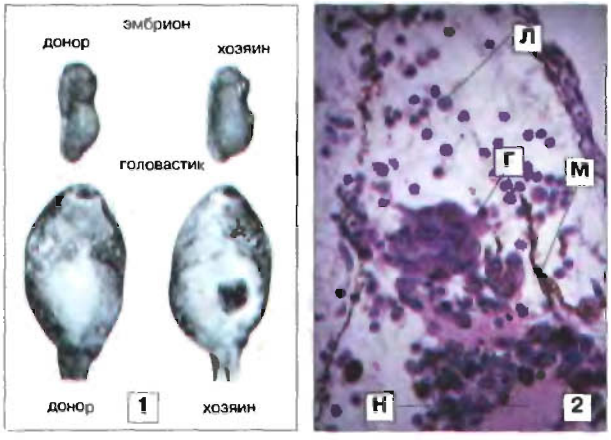


Рис. 15.42
Трансплантация эмбриональной ткани у *Rana* – онтогенез «аллоиммунитета». 1. Кусочек нервной складки, удаленный у эмбриона на стадии появления хвостового выпячивания, подсаживали в середину вентральной поверхности другого эмбриона (хозяина). С нервными складками тесно связаны элементы нервного гребешка, являющиеся предшественниками клеток различного типа, в том числе пигментных. Заметные пигментные клетки дают прекрасную возможность следить за судьбой эмбрионального трансплантата. У головастика-хозяина пигментные клетки из трансплантата образуют четко видимую массу. **2.** На срезе (через 15 сут после трансплантации) видны дифференцированные элементы трансплантата, крупные ганглионарные клетки (Г) с отчетливыми ядрышками, другая нервная ткань (Н) и меланин (М). Несмотря на небольшой срок, лимфоциты и гранулоциты уже проникают в трансплантат (Л – лейкоцит). Окраска гематоксилином–эозином. × 100. (Фото любезно предоставлены д-ром E. Volpe.)

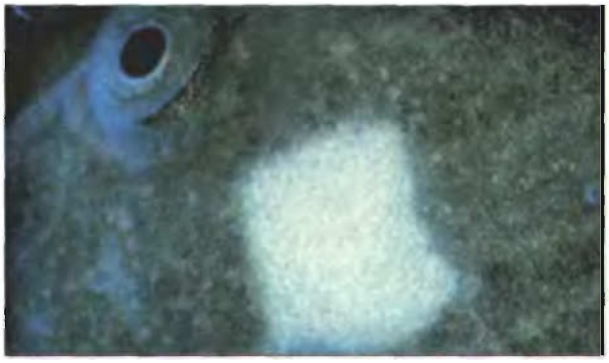


Рис. 15.43
Толерантность к кожному трансплантату у *Xenopus*. Реципиент на стадии головастика или метаморфоза может быть толерантным к аллогенным кожным трансплантатам, даже от MHC-отличающегося донора. Последующие кожные трансплантаты (здесь кусочек белой кожи брюшка) от того же донора точно так же приживаются у взрослой лягушки. Однако кожа другого донора через 3 нед (при 25 °С) отторгается.

Однако считается, что у млекопитающих основную роль в отрицательной селекции (делеции Т-клеток, обладающих высоким сродством к собственным молекулам MHC) играют не эпителиальные клетки тимуса, а интердигитатные (дендритные) клетки его стромы, которые попадают в тимус извне.

Онтогенез аллоиммунореактивности/толерантности и продукции антител

Иммунные реакции на аллоантигены (MHC) и образование специфических антител «включаются» у головастиков одновременно с тем, как на периферии появляются необходимые популяции Т- и В-клеток (*рис. 15.42*); это может происходить, когда лимфоидная система содержит еще менее миллиона лимфоцитов. Иммунологическая память сохраняется в процессе метаморфоза, но связано ли это с переносом клеток памяти или с персистенцией антигена, неизвестно. Тем не менее иммунокомпетентных головастиков (но не взрослых особей) можно легко сделать толерантными к аллогенной коже; такая «аллотолерантность» особенно легко индуцируется в процессе метаморфоза (*рис. 15.43*). Решающее значение имеют при этом размеры трансплантата и степень гистонесовместимости. У *Xenopus* головастики и особи на стадии метаморфоза всегда толеранты к трансплантатам, молекулы MHC которых лишь незначительно отличаются от мо-

лекул МНС хозяина. Толерантность, индуцируемая у головастиков пересадкой чужеродной кожи или лимфоидной ткани, редко бывает «полной», поскольку и до, и после метаморфоза некоторые «антидонорские» реакции (например, реакция СКЛ) сохраняются. В основе толерантности лежит, по-видимому, супрессия или анергия.

Модельные системы для изучения источников происхождения лимфоидных клеток

Эксперименты с пересадкой цитогенетически отличающихся жаберных зачатков на эмбрионах *Rana pipiens*, *Xenopus laevis* и тритона *Pleurodeles waltlii* подтвердили, что лимфоциты тимуса развиваются у них, как и у гомойотермных животных, из клеток-предшественников, колонизирующих тимус извне. У *Xenopus* лимфоидные клетки-предшественники, которым предстоит попасть в тимус, происходят как из вентролатеральной (вентральные островки кроветворения), так и из дорсолатеральной мезодермальной пластинки эмбриона. У молодых особей *Xenopus* стволовые клетки заселяют тимус двумя волнами: одна наблюдается на ранней стадии развития головастика, вторая – на стадии метаморфоза, что, по-видимому, обеспечивает «обучение» зрелых Т-клеток в среде, где экспрессируются специфичные для взрослых особей антигены.

Установлено, что у *Xenopus* клетки некоторых гемопоэтических линий дифференцировки экспрессируют общий лейкоцитарный антиген CD45, обладающий тирозинфосфатазной активностью.

Метаморфоз предъявляет новые требования к иммунной системе

Чрезвычайно интересно выяснить, каким образом амфибии избегают гибели от аутоиммунных болезней при метаморфозе, поскольку в это время впервые появляются маркеры, специфические для зрелых клеток. Предстоит выяснить и роль впервые экспрессируемых при метаморфозе молекул МНС класса I, весьма вероятно выполняющих супрессивные функции. Вместе с тем во время метаморфоза наблюдается высокий уровень кортикостероидов в плазме и повышенная экспрессия кортикостероидных рецепторов на лимфоцитах. Такие гормональные сдвиги могут приводить к непосредственному подавлению клеточного иммунитета, возможно путем ингибирования продукции ИЛ-2. Метаморфоз у амфибий – очень удобный период для изучения взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем, и не только в филогенетическом аспекте.

Вопросы для размышления

- Какие клеточные и гуморальные иммунные механизмы обнаружены у беспозвоночных?
- Рассмотрите основные различия между иммунными системами беспозвоночных и позвоночных. Какие факторы эволюции могли привести к развитию иммунной системы, имеющейся у позвоночных?
- Каким способом у различных позвоночных создается разнообразие антител?
- Что известно об эволюции главного комплекса гистосовместимости и о связанном с ней филогенезе Т-клеток?
- В чем состоят преимущества амфибии *Xenopus* laevis как объекта для изучения онтогенеза иммунной системы?
- Какие основные пробелы существуют в наших знаниях об эволюции иммунитета? Какие подходы можно было бы предложить для выяснения этих вопросов?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Beck G., Cooper E.L., Habicht G.S., Marchalonis J.J. (ed.). 1994. Primordial immunity: Foundations for the Vertebrate Immune System. *Ann. NY Acad. Sci.* **712**:1–376.

Clem L.W., Warr G. (ed.). 1994. *Developmental and Comparative Immunology*. Oxford: Pergamon Press. Vol. 18, suppl. 1: 1–164. Proceedings of the 6th Congress of Developmental & Comparative Immunology.

Cohen N, Sigel M.M. (ed.). 1982. The Reticuloendothelial System. *Ontogeny and Phylogeny*. New York: Plenum.

Cooper E.L. (ed.) 1996. Invertebrate immune responses: cells and molecular products. *Adv. Comp. Environ. Physiol.* **23**.

Du Pasquier L. 1989. Evolution of the immune system. In: Paul W.E. (ed.). *Fundamental Immunology*. 2nd edn. New York: Raven Press. 139–65.

Du Pasquier L., Schwager J., Flajnik M.F. 1989. The immune system of *Xenopus*. *Annu. Rev. Immunol.* **7**: 251–75.

Du Pasquier L. 1993. Phylogeny of B cell development. *Curr. Opin. Immunol.* **5**:185–93.

Flajnik M.F. 1994. Primitive vertebrate immunity: what is the evolutionary derivation of molecules that define the adaptive immune system? *In: Antimicrobial Peptides*. Chichester: Wiley. CIBA Foundation Symposium **186**:224–32.

Flajnik M.F., Hsu E., Kaufman J.F. et al. 1987. Changes in the immune system during metamorphosis of *Xenopus*. *Immunol. Today* **8**:58–64.

Greenberg A.S., Avila D., Hughes M. et al. 1995. A novel antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks. *Nature* **374**:168–73.

Greenberg A.S., Hughes A.L., Guo J. et al. 1996. A novel chimeric antibody class in cartilagenous fish: IgM may not be the Primordial Immunoglobulin. *Eur. J. Immunol.* **26**: 1123–29.

Horton J.D. Amphibians. 1994. In: Turner R.J. (ed.) *Immunology: A Comparative Approach*. Chichester: Wiley; 101–36.

Horton T.L., Ritchie P., Watson M.D., et al. 1996. NK-like activity against allogeneic tumour cells demonstrated in the spleen of control and thymectomized *Xenopus*. *Immunol. Cell. Bio.* **74**: 365–73.

Humphreys T., Reinherz E.L. 1994. Invertebrate immune recognition, natural immunity and the evolution of positive selection. *Immunol. Today* **15**: 316–20.

Lackie A.M. (ed.) *Immune Mechanisms in Invertebrate Vectors*. Zoological Society of London Symposia, **56**. Oxford: Oxford University Press, 1986.

Marchalonis J., Schluter S.F. 1994. Development of an immune system. In: *Primordial Immunity: Foundations for the Vertebrate Immune System. Ann NY Acad. Sci.* **712**:1–12.

Marsh J., Goode J.A. (eds.) 1995. *Antimicrobial Peptides*. Ciba Foundation Symposium. Chichester: Wiley; 186.

Miller N.W., McKinney E.C. In vitro culture of fish leukocytes. *In: Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, Bol. 3. Elsevier; 1994. 341–53.

Raison R.L., Coverley J., Hook J.W., et al. 1994. A cell surface opsonic receptor on leukocytes from the phylogenetically primitive vertebrate, *Eptatretus stouti*. *Immunol. Cell. Biol.* **72**:326–32.

Ratcliffe N.A., Rowley A.F. (ed.). 1981. *Invertebrate Blood Cells*. Vol. 1 & 2. London: Academic Press.

Ratcliffe N.A., Rowley A.F. (ed.), Fitzgerald S.W. et al. 1985. Invertebrate immunity: basic concepts and recent advances. *Int. Rev. Cytol.* **97** :183–350.

Robert J., Guiet C., Du Pasquier L. 1994. Lymphoid tumors of *Xenopus laevis* with different capacities for growth in larvae and adults. *Devel. Immunol.* **3**:297–307.

Rowley A.F., Ratcliffe N.A. (ed.). 1988. Vertebrate Blood Cells. Cambridge: Cambridge University Press.

Secombes C.J. The phylogeny of cytokines. *In:* Thomson A.W. (ed.). *The Cytokine Handbook*. London: Academic Press; 1991. 387–412.

Secombes C.J. 1994. Enhancement of fish phagocyte activity. *Fish Shellfish Immunol.* **4**: 421–36.

Smith L.C., Davidson E.H. 1992. The echinoid immune system and the phylogenetic occurrence of immune mechanisms in deuterostomes. *Immunol. Today* **13**: 356–62.

Soderhall K., Iwanga S., Vasta GR.. (ed.). 1996. *New Directions in Invertebrate Immunology*. Fair Haven: SOS Publications 1–494.

Stewart J. 1992. Immunoglobulins did not arise in evolution to fight infection. *Immunol. Today* **13**: 396–9.

Stolen J.S., Fletcher T.C., Bayne C.J. (eds.). *Modulators of Immune Responses, The Evolutionary Trail*. Fair Haven: SOS Publications; 1996. 1–600.

Turner R.J. (ed.). *Immunology: A Comparative Approach*. Chichester: Wiley, 1994.

Warr G. 1995. The immunoglobulin genes of fish. *Devel. Comp. Immunol.* **19**: 1–12.

Warr G., Cohen N. (ed.). *Phylogenesis of Immune Functions*. Oxford: CRC Press, 1991.

Противовирусный иммунитет 16

- **Вирусы – это облигатные внутриклеточные паразиты,** чрезвычайно разнообразные по строению и способам размножения. Одни из них вызывают острые вирусные инфекции и в конечном итоге уничтожаются организмом-хозяином, другие неопределенно долго персистируют в нем, вызывая «медленные вирусные инфекции».
- **Факторы врожденного иммунитета,** в частности интерфероны и НК-клетки, препятствуют инфекции на ее ранних стадиях и задерживают распространение вируса по организму.
- **Антитела нейтрализуют инфекционность вирусов,** препятствуя их проникновению в новые клетки и ткани, и служат важным механизмом защиты от повторной инфекции.
- **Цитотоксические Т-лимфоциты** способны распознавать инфицированные вирусами клетки организма и разрушать их в период ранней стадии репродукции вируса, прежде чем появится новое поколение вирусных частиц.
- **Вирусы способны избегать распознавания иммунной системой** организма, так как обладают свойствами латентной персистенции, антигенной изменчивости и синтеза «белков-ловушек», препятствующих действию защитных механизмов хозяина.
- **Вирусы могут непосредственно нарушать функции иммунной системы,** вызывая иммуносупрессию, иммунологическую недостаточность и аутоиммунные заболевания.

ТИПЫ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Вирусы – это облигатные внутриклеточные паразиты, использующие для синтеза своих белков биохимический аппарат клетки-хозяина. Они чрезвычайно разнообразны по строению и организации генома – некоторые имеют РНК-геном, состоящий всего из нескольких генов, другие обладают ДНК-геномами с числом генов до двух сотен. Структурно вирус представляет собой просто белковый «футляр» (капсид), в который упакована нуклеиновая кислота. Обнаружены и еще более простые формы живых организмов:

- **вироиды** – возбудители болезней растений, состоящие только из нуклеиновой кислоты без белковой оболочки, и
- **прионы** – «инфекционные белки», ассоциированные с дегенеративными неврологическими болезнями животных и человека, включая скрейпи (почесуху овец), спонгиозные (губчатые) энцефалопатии крупного рогатого скота и болезнь Крейцфельдта–Якоба.

Этапы развития типичной вирусной инфекции на уровне клетки показаны на *рис. 16.1.* Вирусы прикрепляются к клеткам хозяина, связываясь со специфическими клеточными рецепторами. Этой специфичностью обусловлен тропизм данного вируса к определенному виду-хозяину или типу клеток. Примеры клеточных рецепторов, которыми пользуются вирусы, приведены на *рис. 16.2.* После проникновения вируса в клетку происходит его раздевание – дезагрегация белкового капсида с высвобождением нуклеиновой кислоты. Затем начинается транскрипция и синтез вирусных белков, репликация вирусного генома и, наконец, сборка и созревание нового «поколения» вирусных частиц. Выйдя в межклеточное пространство, они инфицируют близлежащие клетки и ткани. В зависимости от вида вируса и особенностей метаболизма клетки-хозяина этот процесс может различаться в деталях. Так, пикорнавирусам (мелкие РНК-вирусы) для образования новых вирусных частиц требуется около 8 ч, а ДНК-содержащему цитомегаловирусу человека – до 48 ч.

Механизмы заражения хозяина, персистенции в тканях и патогенеза инфекции широко вирьируют среди различных вирусов. Как правило, вирусы проникают во внутреннюю среду организма через слизистые оболочки. Другой, очень эффективный путь их прямого проникновения в кровоток – через поврежденную кожу, например при укусе насекомого или уколе инъекционной иглой. Размножение вирусов обычно происходит в эпителиальных покровах; вслед за этим в некоторых случаях вирусы проникают в кровь (виремия), что приводит к их распространению и инфицированию других тканей. Выздоровление может означать полное устранение вируса из организма-хозяина. Однако некоторые

Проникновение в клетку и репродукция вируса

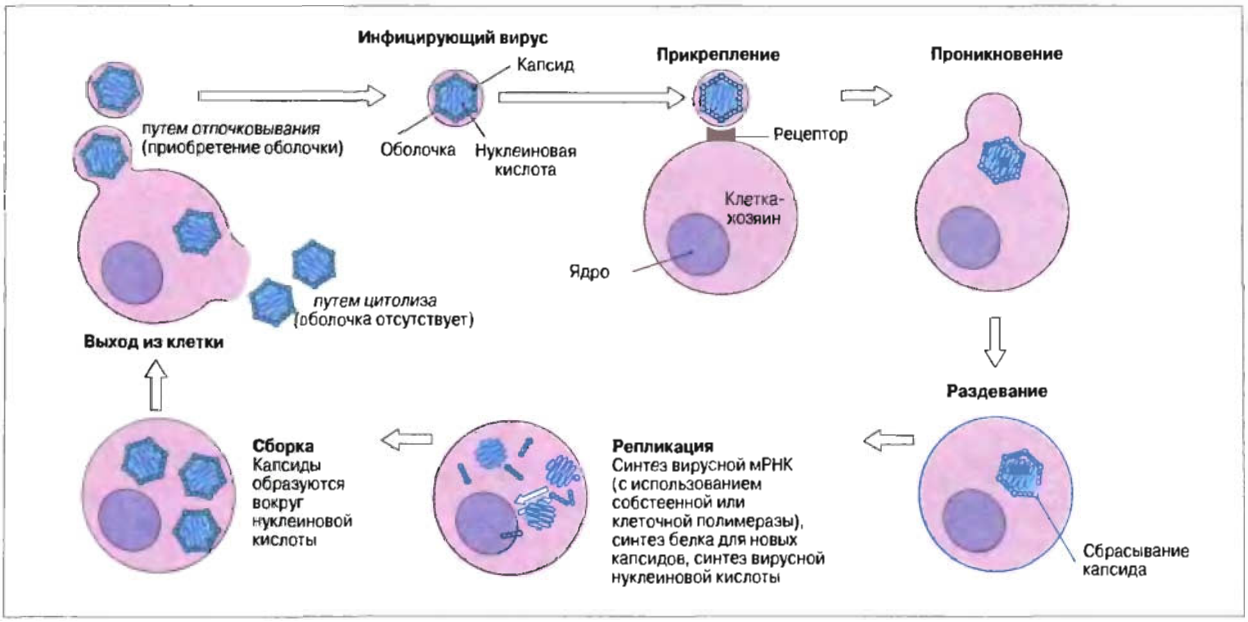


Рис. 16.1
Для размножения вирусу необходимо проникнуть в клетку организма-хозяина.

Вирус-специфичные рецепторы клеток хозяина

Вирус	Рецептор	Тип инфицируемых клеток
Вирус иммунодефицита человека	CD4	Тх-клетки
Вирус Эпштейна–Барр	CR2 (рецепторы для комплемента, тип 2)	В-клетки
Вирус гриппа А-типа	Гликофорин А	Многие типы клеток
Вирус трансмиссивного гастроэнтерита	Аминопептидаза N CD13	Энтероциты
Риновирус	ICAM-1	Многие типы клеток
Вирус полиомиелита	Рецептор для вируса полиомиелита (суперсемейство иммуноглобулинов)	Нейроны

Рис. 16.2
Вирусы прикрепляются к клеткам, пользуясь специфическими клеточными рецепторами. Специфичностью рецепторов отчасти предопределено, какие типы клеток будут инфицированы.

вирусы (в частности, вирус герпеса) способны оставаться (персистировать) в организме в скрытой (латентной, неинфекционной) форме после затухания острой инфекции и в какой-то момент реактивироваться с образованием новых инфекционных вирусных частиц. Другие вирусы (например, вирус гепатита В или вирус лимфоцитарного хориоменингита) персистируют в инфекционной форме, несмотря на иммунный ответ хозяина. При таких заболеваниях, как скрейпи и болезнь Крейцфельдта–Якоба, вовсе не бывает острой стадии; их возбудители персистируют в организме, что сопровождается медленной инфекцией, и вызывают проявления болезни спустя многие годы после заражения. В отличие от истинных вирусных, прионовые инфекции не стимулируют ни иммунного ответа, ни продукции интерферонов. Классификация вирусных инфекций по клиническому течению представлена на *рис. 16.3.*

ВРОЖДЕННЫЙ АНТИВИРУСНЫЙ ИММУНИТЕТ

Ранняя стадия инфекции, как правило, состоит в противоборстве вируса с защитными системами организма-хозяина. Самый первый защитный барьер – это препятствующие внедрению вирусов кожные покровы и слизистые оболочки организма. В случае нарушения их целостности в действие вступают механизмы экстренной неспеци-

Различные типы вирусной инфекции

Начальный период	Исход	Примеры
Острая	Выздоровление и элиминация вируса	Вирус гриппа, ротавирус
Острая	Латентность (неинфекционный вирус); при обострении вирусы выделяются вновь	Вирус ветряной оспы/опоясывающего лишая, вирус простого герпеса
Острая	Персистенция с постоянным или периодическим выделением вирусов	Вирус гепатита В, вирус Эпштейна-Барр
Субклиническая	Персистентная медленная инфекция	Болезнь Крейцфельдта-Якоба, скрейпи

Рис. 16.3
Вирусные инфекции могут протекать остро или хронически и иметь различный исход.

фической защиты (т. е. врожденного иммунитета) — интерфероны, НК-клетки (нормальные киллеры) и макрофаги.

Интерфероны подавляют репродукцию вирусов

Известно три типа интерферонов (ИФ):

- ИФα — лейкоцитарный интерферон, кодируемый у человека семейством генов (примерно 20), расположенных в хромосоме 9;
- ИФβ — фибробластный интерферон, кодируемый единственным геном, расположенным в хромосоме 9, и
- ИФγ — иммунный интерферон, кодируемый единственным геном, расположенным в хромосоме 12.

Инфицирование клетки вирусом вызывает синтез ИФα/β. Под действием интерферонов активируются защитные механизмы соседних клеток, обеспечивая их устойчивость к вирусной инфекции (*рис. 16.4*). Активация затрагивает гены ряда белков, в том числе двух, обладающих прямой антивирусной активностью. Это протеинкиназа (мол. масса 67 кДа), которая фосфорилирует α-субъединицу инициирующего трансляцию фактора eIF-2 и тем самым инактивирует его, блокируя в результате синтез вирусных белков, и другой фермент — 2′,5′-олигоаденилатсинтетаза, активирующая латентную в обычных условиях эндонуклеазу, способную разрушать вирусные РНК.

Существуют также другие, более специфичные механизмы антивирусного действия интерферонов. Например, белок Mx (продукт активированного α- и/или β-интерферонами гена *Mx*) угнетает первичную транскрипцию генов вируса гриппа, но почти или вовсе не действует на прочие вирусы. ИФγ, как и другие типы интерферонов, ингибирует размножение вируса в клетках, но, кроме того, усиливает специфический иммунный ответ, стимулируя повышенную экспрессию молекул MHC класса I и II, а также сильно активируя макрофаги и НК-клетки (см. ниже). О важном значении интерферонов в поддержании противовирусной резистентности организма в целом свидетельствует повышенная восприимчивость к вирусным инфекциям у мышей после введения им антител против интерферонов.

Молекулярный механизм действия интерферонов

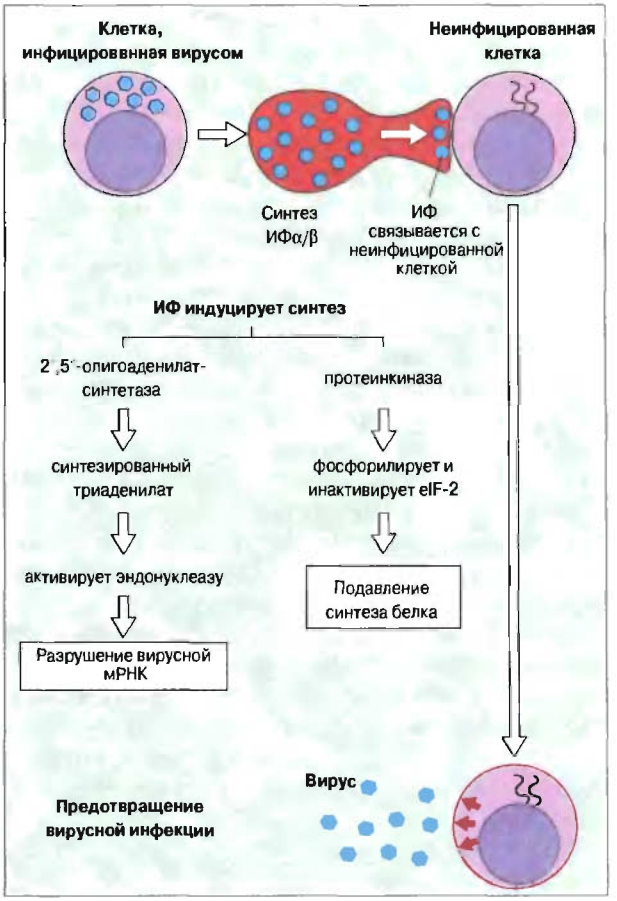


Рис. 16.4
В результате воздействия интерферонов (в течение нескольких часов) клетка приобретает устойчивость к вирусу на 1–2 сут.

Нормальные киллеры лизируют клетки организма, инфицированные вирусами

Активные НК-клетки (нормальные киллеры) появляются уже через двое суток после заражения организма-хозяина вирусом. Они служат главным эффекторным механизмом сопротивления герпесвирусной, в частности цитомегаловирусной (CMV, от англ. cytomegalovirus), инфекции. При отсутствии или уменьшении их активности, например у больных с синдромом Чедиака–Хигаши или у мышей с мутацией beige (бежевые), наблюдается повышенная восприимчивость к вирусу цитомегалии. Пока не ясно, какие молекулы на поверхности инфицированных вирусом клеток организма распознаются НК-клетками. Однако известно, что интенсивность поражения клеток-мишеней находится в обратной зависимости от уровня экспрессии ими молекул MHC класса I. (Это примечательный факт, поскольку ряд вирусов, как теперь выяснилось, выключает экспрессию таких молекул клетками организма, по-видимому, для того, чтобы избежать распознавания Т-клетками.) γ-Интерферон повышает функциональную активность НК-клеток. Благодаря этому они собираются в очагах инфекции уже в активированном состоянии. Главным образом, НК-клетки осуществляют реакцию антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ).

Противовирусное действие антител

Мишень	Агент	Механизм
Свободный вирус	Антитела без комплемента	Препятствуют связыванию с клеткой, проникновению в клетку и раздеванию вируса
	Антитела + комплемент	Повреждают оболочку вирусов, блокируют клеточные рецепторы для вирусов
Клетки, зараженные вирусом	Антитела + комплемент	Лизис инфицированных клеток, опсонизация вирусных частиц или инфицированных клеток для фагоцитоза
	Антитела, связанные с зараженными клетками	Зависимая от антител реакция цитотоксичности, опосредованная НК-клетками, макрофагами и нейтрофилами

Рис. 16.5
Антитела нейтрализуют свободные вирусные частицы или участвуют в разрушении инфицированных вирусами клеток.

ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ С УЧАСТИЕМ Т- И В-КЛЕТОК

При отсутствии Т-клеток организм-хозяин весьма восприимчив к атакам вирусов. Так, у бестимусных мышей (мыши nude – голые, или бесшерстные) с врожденным отсутствием зрелых Т-клеток вирус простого герпеса (HSV, от herpes simplex virus), введенный в кожу, вызывает распространяющееся поражение и в конце концов, проникая в центральную нервную систему, гибель животных. Чтобы защитить этих мышей, достаточно вскоре после заражения перенести им HSV-специфичные Т-клетки. Важное значение Т- и В-клеток, противодействующих вирусным инфекциям, будет рассмотрено ниже.

Антитела и комплемент способны ограничить распространение вируса и предотвратить повторную инфекцию

Антитела могут нейтрализовать инфекционность вирусов

Если вирусу удается преодолеть барьеры врожденного иммунитета, он вызывает развитие адаптивного (специфического) иммунного ответа с появлением цитотоксических Т-клеток, хелперных Т-клеток и противовирусных антител. Антитела служат главным препятствием для распространения вируса в другие клетки и ткани, особенно для проникновения его в кровоток. В лимфоидной ткани слизистых оболочек образуются преимущественно антитела класса IgA, предотвращающие повторную инфекцию.

Антитела могут быть направлены против любого вирусного антигена, синтезируемого в инфицированной клетке, однако сдерживание инфекции обеспечивают только те из антител, которые специфичны к гликопротеинам, экспрессированным на оболочке вирусов или на мембране инфицированных клеток. Механизмы гуморального противовирусного иммунитета могут быть различными. Так, способ устранения инфекционности вирусных частиц зависит от их локализации – внеклеточной или внутриклеточной (*рис. 16.5*). О действии in vivo защитных механизмов, перечисленных на *рис. 16.5*, свидетельствует то, что инъекция моноклональных вирус-нейтрализующих антител весьма эффективно угнетает репродукцию вирусов. Присутствие в кровотоке нейтрализующих вирус антител – это и важный фактор предотвращения повторной инфекции.

Комплемент участвует в нейтрализации внеклеточных вирусов некоторых видов

Комплемент также способен повреждать оболочку вируса – осуществлять виролиз. Некоторые вирусы непосредственно вызывают активацию комплемента по классическому или альтернативному пути. Тем не менее комплемент не рассматривают как главный фактор защиты против вирусов, поскольку при недостаточности компонентов системы комплемента не отмечено предрасположенности к тяжелым вирусным инфекциям у человека.

Антитела мобилизуют комплемент и/или эффекторные клетки для разрушения инфицированных вирусами клеток организма

Действие антител, помимо нейтрализации внеклеточных вирусов, состоит в том, что они вызывают разрушение инфицированных вирусами клеток, активируя систему комплемента. В результате его активации происходит сборка лизирующего мембрану комплекса и лизис зараженных клеток (см. гл. 4). Комплемент-зависимый цитолиз возможен лишь при высокой плотности экспрессии вирусных антигенов на клеточной мембране (примерно 5×10^6 на клетку). В противоположность этому, для лизиса по механизму АЗКЦ необходимо присутствие на поверхности клетки-мишени лишь 10^3 молекул IgG – такое количество обеспечивает связывание с ней НК-клеток. Эти клетки связываются с нагруженной антителами мишенью через FcγRIII (CD16) и быстро разрушают ее посредством перфоринов (см. гл. 10). Насколько важен in vivo каждый из этих механизмов, пока трудно понять. Лучшее доказательство в пользу АЗКЦ получено на мышах при изучении защитного эффекта противовирусных моноклональных антител; не проявляя нейтрализующей активности in vitro, они оказались способны защитить С5-дефицитных животных при введении им высокой дозы вируса. (Эта линия мышей была использована для того, чтобы исключить антивирусный эффект терминальных компонентов системы комплемента.)

Т-клетки участвуют в формировании и действии противовирусного иммунитета несколькими путями

В иммунитете к вирусным инфекциям Т-клетки выполняют разнообразные функции. Образование антител в ответ на большинство антигенов зависит от тимуса, поскольку для переключения изотипа и созревания аффинности необходимо участие Т-клеток $CD4^+$. Кроме того, эти клетки помогают в индукции цитотоксических Т-клеток $CD8^+$, а также в привлечении макрофагов в очаг вирусной инфекции и в их активации.

Цитотоксические Т-клетки $CD8^+$

Это главная Т-клеточная система для осуществления в организме противовирусного иммунологического надзора, и действует она весьма эффективно и избирательно. Цитотоксические Т-клетки $CD8^+$, рестриктированные по антигенам МНС класса I, скапливаются в очагах размножения вирусов и разрушают инфицированные ими клетки. Данный механизм иммунологического надзора, по-видимому, весьма важен, так как фактически все клетки тела экспрессируют молекулы МНС класса I.

Процессинг и презентация вирусных белков

Вероятно, любой вирусный белок может быть процессирован в цитоплазме АПК с образованием пептидов, которые затем транспортируются к эндоплазматическому ретикулуму и ассоциируют с молекулами МНС класса I. Для организма-хозяина это создает определенные преимущества, так как белки вируса, экспрессируемые клеткой в начале цикла его размножения, становятся доступными для Т-клеточного распознавания задолго до появления нового поколения вирусных частиц. Например, Т-клеточный иммунитет к цитомегаловирусной инфекции у мыши специфичен в отношении наиболее раннего вирусного белка pp89. Его протективный эпитоп определен как пептид L^b, состоящий из девяти аминокислотных остатков и презентируемый молекулой МНС класса I. Иммунизация мышей рекомбинантным вирусом коровьей оспы, несущим ген pp89, полностью защищает их от инфекции CMV. Делеция участка ДНК, кодирующего нанопептид L^d, лишает белок pp89, экспрессируемый вирусом коровьей оспы, протективной активности.

Важность Т-клеточных механизмов в противовирусном иммунитете in vivo установлена различными способами:

- путем адоптивного переноса антигенспецифичных субпопуляций или клонов Т-клеток зараженным животным для проверки на способность устранения вируса;

- на животных, лишенных Т-клеток $CD4^+$ или $CD8^+$ путем введения специфических моноклональных антител, и
- на мышах, избирательно лишенных эмбриональных генов CD4, CD8 и β_2-микроглобулина методом генного нокаута.

Как установлено, мыши, лишенные методом генного нокаута определенных субпопуляций лимфоцитов, сохраняют способность к иммунному ответу на вирусную инфекцию. Можно рассматривать это как хорошую иллюстрацию многократного функционального дублирования, вероятно свойственного иммунной системе. Например, Т-клетки $CD4^+$ в отсутствие Т-клеток $CD8^+$ могут компенсировать иммунологическую недостаточность и устранять инфекцию.

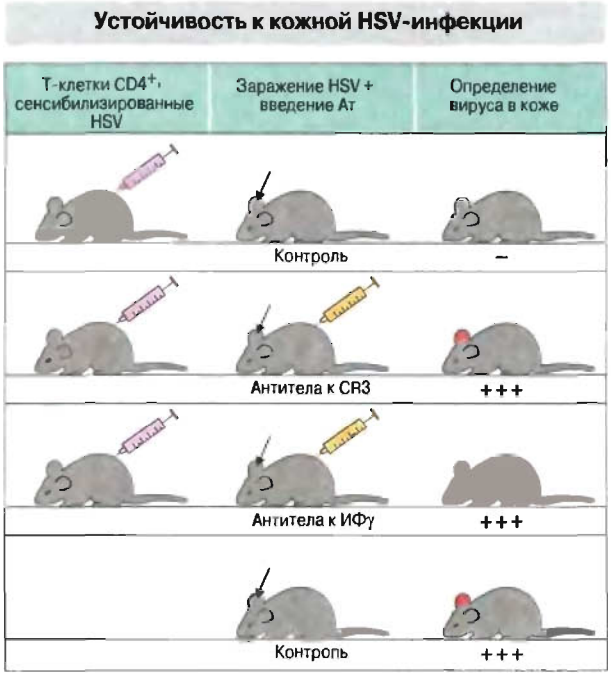


Рис. 16.6
При кожной герпесвирусной (HSV) инфекции в качестве защитных факторов действуют Т-клетки $CD4^+$, макрофаги и ИФγ. Т-клетки $CD4^+$ получали от мышей, зараженных HSV за 8 сут до опыта, и переносили сингенным мышам, вскоре после этого зараженным HSV внутрикожно. Одной группе этих мышей вводили антитела к CR3 (чтобы блокировать миграцию макрофагов в место заражения), другой – антитела к ИФγ (чтобы блокировать активацию макрофагов), остальные животные служили контролем. Мышей дополнительной контрольной группы заражали, но не переносили им Т-клетки $CD4^+$. Через 5 сут после заражения определяли количество оставшегося инфекционного вируса. Результаты показывают, что протективный эффект Т-клеток $CD4^+$ реализуется при участии макрофагов и ИФγ.

Т-клетки $CD4^+$ способны выполнять важные эффекторные функции в иммунном ответе на вирусную инфекцию

В иммунном ответе на инфекцию эпителиальных покровов, вызванную вирусом простого герпеса 1 типа (HSV-1), главной эффекторной клеточной популяцией служат Т-клетки $CD4^+$. Они, как и в реакциях гиперчувствительности замедленного типа (см. гл. 26), мобилизуют и привлекают макрофаги, и это ускоряет ликвидацию вируса. Макрофаги служат важными участниками этого процесса (*рис. 16.6*). В качестве ключевых цитокинов в ответе на герпесвирусную инфекцию действует ИФγ, необходимый для активации моноцитов, и фактор некроза опухолей (ФНО), оказывающий ряд противовирусных эффектов, сходных с эффектами ИФγ, но осуществляемых иными путями.

Цитотоксические Т-клетки $CD4^+$

При заражении вирусом кори в организме образуются цитотоксические Т-клетки $CD4^+$, которые распознают и лизируют инфицированные вирусом клетки-мишени, экспрессирующие молекулы MHC класса II. Это указывает, что процессинг и презентация антигенов вируса кори происходят обычным способом – путем фагоцитоза и расщепления (см. гл. 9). Однако существует, предположительно, и другой, еще неизвестный механизм, посредством которого белки или пептиды вируса кори перемещаются из цитозоля в везикулы класса II.

Защитные противовирусные механизмы обобщенно представлены на *рис. 16.7*, а динамика их индукции — на *рис. 16.8*.

СТРАТЕГИИ ОБХОДА ВИРУСАМИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ

Вирусы со своей стороны обладают разнообразными свойствами защиты от распознавания антителами. Наиболее эффективно этому служит смена антигенов: в вирусных белках, которые обычно становятся мишенями для антител, происходит изменение иммунодоминантных областей. Антигенная изменчивость наблюдается у ви-

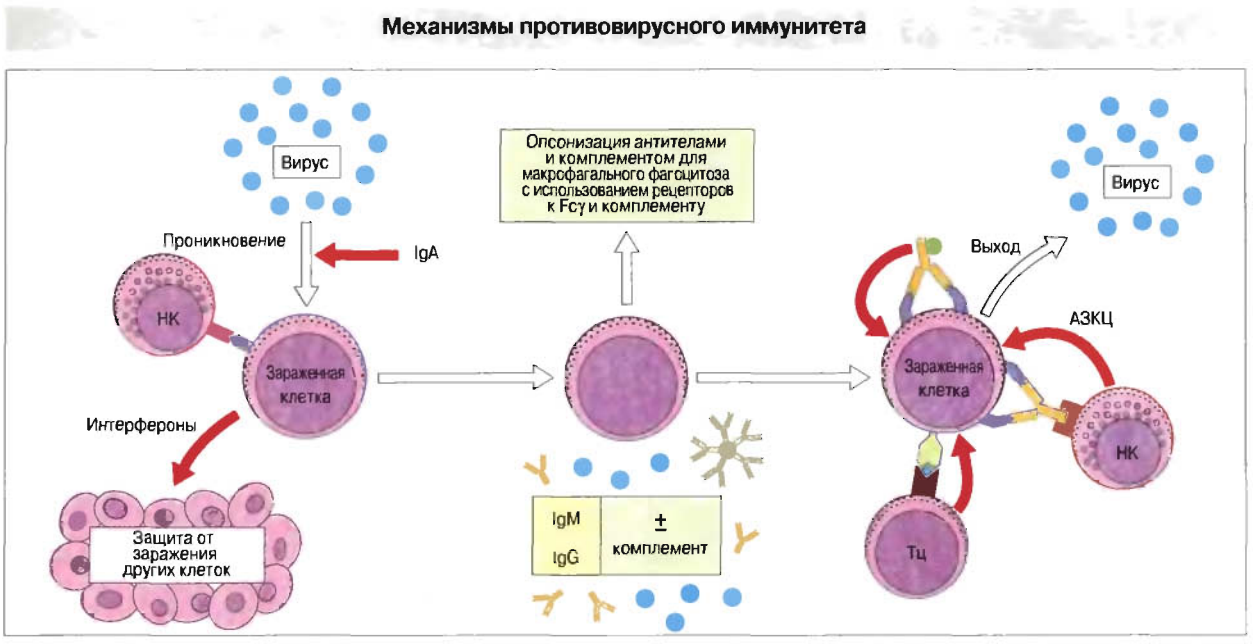


Рис. 16.7
Проникновению вирусов в клетки слизистой оболочки препятствуют антитела IgA. После первоначального инфицирования вирус может поражать и другие ткани, распространяясь с кровью. Интерфероны, образующиеся как факторы врожденного (ИФα и ИФβ) и приобретенного (ИФγ) иммунитета, делают близлежащие клетки устойчивыми к инфицированию распространяющимся вирусом. Антитела нужны для устранения свободных вирусных частиц, а Т- и НК-клетки — для разрушения инфицированных вирусом клеток-мишеней. (АЗКЦ – антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность.)

русов иммунодефицита человека и ящура, а также у вируса гриппа; в последнем случае она названа антигенным дрейфом (постепенные изменения) и шифтом (резкие изменения) (*рис. 16.9*). Гуморальный иммунитет к этим вирусным инфекциям сохраняется лишь до появления нового серовариантa возбудителя, что не позволяет рассчитывать на долговременный эффект вакцинации.

Антитела могут удалять вирусные антигены с плазматической мембраны клетки путем кэппинга. Именно этот механизм, возможно, ограничивает развитие некоторых вирусов персистенцией внутри клеток. Герпесвирусы (HSV и CMV человека) кодируют гликопротеины, связывающие IgG через Fc-фрагмент, т. е. обладают FcγR-активностью, которая нарушает активацию комплемента и блокирует действие противовирусных антител.

Некоторые вирусы (например, вирус Эпштейна–Барр и аденовирусы) способны противодействовать эффекту интерферонов: они продуцируют короткие отрезки РНК, которые конкурируют за протеинкиназу и каким-то образом подавляют активацию этого фермента. Ряд вирусов (в том числе аденовирусы и CMV) кодирует белки, ингибирующие перенос молекул MHC класса I на плазматическую мембрану клетки. Это дает вирусу преимущество, помогая избежать распознавания цитотоксическими Т-клетками.

Отдельные вирусы обладают генами белков, гомологичных цитокиновым рецепторам или даже самим цитокинам. Синтез и выделение из инфицированных клеток этих белков, в частности растворимых форм рецепторов к ИЛ-1β, ФНО и ИФγ, нарушают локальное действие опосредованных цитокинами защитных механизмов. Вирус Эпштейна–Барр, например, кодирует белок, гомологичный ИЛ-10 млекопитающих и имитирующий его активность in vitro. Полностью значение подобных продуктов вирусного генома in vivo еще предстоит выяснить.

Данные о вирусных продуктах, гомологичных факторам противовирусного иммунитета, пред-

Иммунный ответ на типичную острую вирусную инфекцию

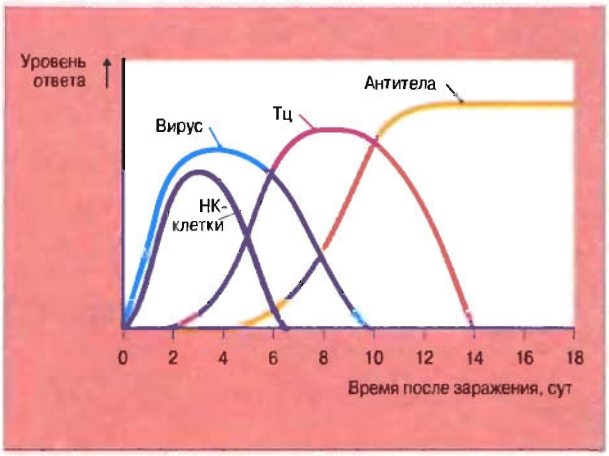


Рис. 16.8
Динамика обнаружения факторов иммунитета при ответе на типичную вирусную инфекцию. После заражения вирусом (например, гриппа или герпеса) в крови и в инфицированных тканях раньше всего выявляются НК-клетки и интерферон. Затем в регионарных лимфоузлах или селезенке обнаруживаются активированные цитотоксические Т-клетки (Тц). После этого в сыворотке начинают определяться нейтрализующие вирус антитела. Активированные цитотоксические Т-клетки исчезают уже на второй или третьей неделе, но им на смену появляются Т-клетки иммунологической памяти, способные сохраняться многие годы.

Антигенные шифт и дрейф у вирусв гриппа

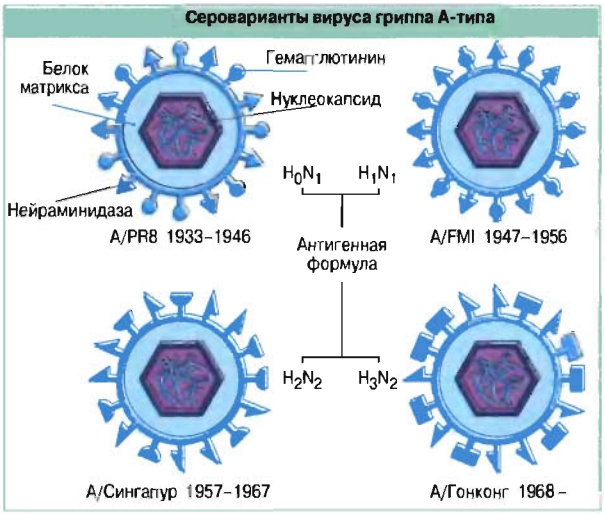


Рис. 16.9
Главные поверхностные антигены вируса гриппа – это гемагглютинин и нейраминидаза. Гемагглютинин (ГА) участвует в прикреплении вируса к инфицируемой клетке. Антитела к нему обладают защитным действием. Антитела к нейраминидазе (НА) гораздо менее эффективны. Поверхностные антигены вируса гриппа могут изменяться либо постепенно (антигенный дрейф), либо резко (антигенный шифт). В результате изменения структуры антигенных детерминант ГА синтезированные к его прошлому варианту антитела становятся бесполезными, и вследствие этого возникают новые эпидемии гриппа. На рисунке схематично изображены сероварианты вируса гриппа, появляющиеся в результате антигенного шифта начиная с 1933 г. В основе международной номенклатуры антигенов вируса гриппа лежат обозначения типов гемагглютининов (H_0, H_1 и т. д.) и нейраминидазы (N_1, N_2 и т. д.), которые экспрессируются на поверхности вирусных частиц. Примечательно, что в новых, вытесняющих старые, сероварианты вируса сохраняются неизменными антигены, расположенные внутри вириона.

ставлены на *рис. 16.10*.

ИММУНОПАТОЛОГИЯ

Иммунный ответ на вирусные антигены может вызывать повреждения тканей

Нарушения, связанные с иммунными комплексами

Иммунные комплексы могут появляться в различных жидкостях организма или на поверхности клеток, чаще всего при хронических, а также при персистентных инфекциях, вызванных, например, вирусами лимфоцитарного хориоменингита (LCMV, от англ. lymphocytic choriomeningitis virus) либо гепатита В. При избытке вирусного антигена антитела теряют способность нейтрализовывать вирусы; вместо этого они образуют иммунные комплексы, которые оседают в почках или в кровеносных сосудах других органов и вызывают там воспалительные реакции, чреватые повреждением тканей, например такие, как гломерулонефрит (см. гл. 25).

Связывание вирусов антителами, лишенными нейтрализующей активности, иногда имеет еще одно необычное патологическое следствие: эти иммунные комплексы в результате взаимодействия с Fc-рецептором поглощаются макрофагами, в которых инфекционность вируса усиливается. Это можно наблюдать при инфекции, вызванной вирусом денге. С Fc-рецепторными взаимодействиями иммунных комплексов, вызывающими

Вирусные продукты, ослабляющие иммунитет

Защитный фактор	Вирус	Вирусный продукт	Механизм влияния
Интерферон	EBV	EBERS (короткие РНК)	Подавление активации протеинкиназы
	Вирус коровьей оспы	Гомолог α-субъединицы eIF-2	Отмена фосфорилирования eIF-2α протеинкиназой
Комплемент	Вирус коровьей оспы	Гомологи регуляторных белков комплемента	Блокада активации комплемента
	HSV-1	Гликопротеины gC, gE/gI	Связывание комплемента и Fcγ, вызывающее блокаду их функций
Цитокины	Вирус миксомы	Гомолог рецептора для ИФγ	Конкуренция за ИФγ, блокада функции
	Вирус фибромы Шоупа	Гомолог рецептора для ФНО	Конкуренция за ФНО, блокада функции
	EBV	Гомолог ИЛ-10	Ослабление функции ИФγ
Молекулы МНС класса I	Вирус цитомегалии мыши	Ранние белки	Блокада транспорта вирусных пептидов, ассоциированных с молекулами МНС
	Аденовирус	Белок E3	Блокада транспорта молекул МНС на поверхность клетки

Рис. 16.10
Вирусы способны разнообразными путями избегать действия защитных систем организма-хозяина.

гиперактивацию системы комплемента, связан также патогенез геморрагической лихорадки и шокового синдрома денге.

Повреждение тканей хозяина цитотоксическими Т-клетками

При любой вирусной инфекции некоторая часть тканевых повреждений вызвана Т-клеточной активностью. Иногда в эксперименте они настолько существенны, что могут вызвать гибель животного. Яркий пример этого — поражение клеток центральной нервной системы мыши цитотоксическими Т-клетками при иммунном ответе на заражение LCMV (*рис. 16.11*). Удаление Т-клеток спасает животных от гибели; таким образом, именно Т-клетки, а не вирусы, повреждают ткани мозга. Подобный механизм предположительно действует в патогенезе хронического активного гепатита у человека.

Вирусы способны инфицировать клетки иммунной системы

Некоторые вирусы (например, HIV — от human immunodeficiency virus, или ВИЧ, вирус иммунодефицита человека) непосредственно инфицируют лимфоциты и макрофаги, вызывая патогенный эффект. Кроме того, иммунокомпетентные клетки служат для вирусов благоприятным местом персистенции. Вирусы в неинфекционной форме локализуются в покоящихся лейкоцитах, активация которых может вызвать и реактивацию вирусов с репликацией инфекционных вирионов. Примеры вирусов, заселяющих В-клетки, Т-клетки и макрофаги, приведены на *рис. 16.12*.

Вирус иммунодефицита человека инфицирует Т-клетки CD4$^+$

В предыдущих разделах часто упоминался в качестве примера ВИЧ — ретровирус, вызывающий синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Для этой инфекции характерны продолжительный бессимптомный период, неэффективность иммунитета, непрерывная антигенная изменчивость вируса, его стремление заселить лимфоциты и клетки миелоидного происхождения, а также невропатологическая симптоматика в развернутый период болезни (см. гл. 21).

Т-клетки и макрофаги поглощают ВИЧ вследствие того, что вирусный гликопротеин gp120

Инфекция, вызванная вирусом лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), у мыши

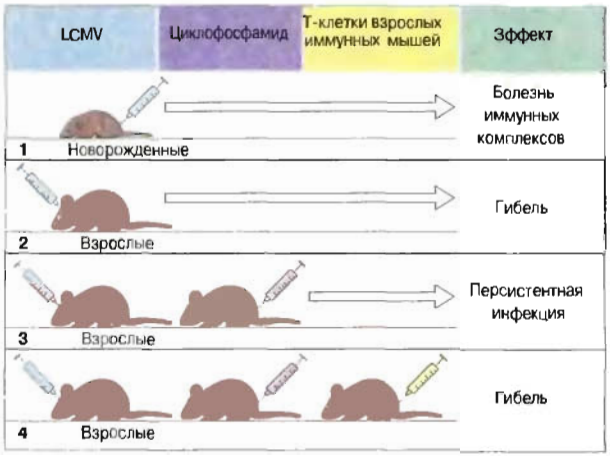


Рис. 16.11
При заражении мышей вирусом лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) исход инфекции зависит от иммунного статуса животного. У новорожденных мышат (**1**) заражение приводит к хроническому выделению вирионов и болезни иммунных комплексов, которая проявляется как гломерулонефрит и васкулит. У взрослых животных (**2**) внутримозговое заражение вызывает гибель в результате активности собственных Т-клеток; на эту причину указывает то, что в случае подавления иммунитета циклофосфамидом (**3**) мыши выживают, хотя инфекция становится персистирующей. «Протективный» эффект циклофосфамида можно отменить переносом Т-клеток от иммунных животных (**4**).

Инфицирование вирусами иммунокомпетентных клеток

В-лимфоциты	Вирус Эпштейна–Барр (EBV) Мышиный γ-герпесвирус Вирус инфекционной болезни бурсы
Т-лимфоциты	Т-лимфотропный вирус человека (HTLV), серотипы 1 и 2 Вирус иммунодефицита человека (HIV, или ВИЧ) Вирус кори Герпесвирус саймири Герпесвирус 6 человека
Макрофаги	Вирус висны HIV Лактатдегидрогеназный вирус Цитомегаловирус

Рис. 16.12
Некоторые вирусы неопределенно долго персистируют в иммунокомпетентных клетках. Периодически такая инфекция может приводить к патологическим последствиям, например к гибели клеток (ВИЧ) или их злокачественной трансформации (EBV, HTLV-1).

связывается с маркером CD4 и с определенными рецепторами для хемокинов, CCR3 и CCR5. Подобным же образом ВИЧ проникает в любую другую антигенпрезентирующую клетку. Противовирусные антитела могут способствовать этому процессу, если клетка обладает Fc-рецептором. По сути это альтернативный способ внедрения вируса в фагоцитарные клетки или механизм, усиливающий проникновение, в том случае когда CD4 присутствует в малом количестве.

Период отсутствия клинических симптомов при ВИЧ-инфекции варьирует у разных больных и может быть весьма длительным; примерно у половины инфицированных ВИЧ-инфекция не прогрессирует в СПИД в течение 10 лет. В этот латентный период инфекции возбудитель присутствует в организме в форме провируса, встроенного в геномную ДНК хозяина, и транскрипции вирусной ДНК не происходит. Активацию вируса и начало транскрипции могут вызвать многие факторы. Например, in vitro воздействие ФНО и ИЛ-6 на латентно инфицированные культуры Т-клеток приводит к повышенной продукции инфекционных вирионов. Этот феномен, вероятно, имеет место и in vivo, так как моноциты ВИЧ-инфицированных больных часто выделяют указанные цитокины в патологически высоком количестве. Возможно, существует цикл высвобождения ФНО и ИЛ-6, в определенной фазе которого происходит усиление транскрипции вирусных генов (*рис. 16.13*). Репликация вируса ведет к инфицированию все большего числа клеток и выделению все большего количества цитокинов, причем in vitro ее стимулируют не только указанные, но и другие цитокины и лимфокины, а также митогены и форболовые эфиры. Элиминации вируса не происходит по различным причинам, в том числе из-за его латентной персистенции, мутирования (вызывающего быстрый антигенный дрейф) и прогрессирующей иммунологической недостаточности.

Вирусная инфекция может провоцировать аутоиммунные заболевания

Вирусный патогенез аутоиммунных болезней имеет несколько механизмов.

Индуцированное вирусами повреждение тканей Некоторые вирусные инфекции вызывают повреждение тканей и последующую воспалительную реакцию, в результате которой начинают экспонироваться ранее «скрытые» собственные антигены; они могут пройти процессинг и быть презентированы клеткам иммунной системы. Это наблюдается, например, при инфекциях нервной системы, вызванных вирусом Тейлера (пикорнавирус мыши) и вирусом гепатита мыши, когда мишенями для антител и Т-клеток становятся компоненты миелиновой оболочки аксонов.

Молекулярная мимикрия Иммунная система распознает как «чужое» аминокислотную последовательность вирусного белка, который гомологичен одному из белков организма-хозяина. В результате происходит срыв иммунологической толерантности к собственным скрытым антигенам и последующая атака иммунной системы против тканей хозяина (см. гл. 28). Модель такого патогенетического механизма аутоиммунопатологии может быть создана экспериментально, но доказательств его действия при естественной вирус-

Инфицирование ВИЧ лимфоцитов и макрофагов

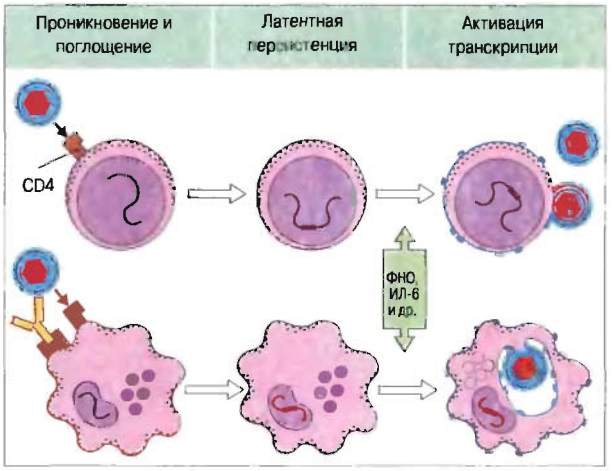


Рис. 16.13
Гликопротеин gp120, расположенный на поверхности ВИЧ, связывается с молекулой CD4 на плазматической мембране лимфоцита, активируя тем самым поглощение им вирусной частицы. Таким же образом ВИЧ может проникать в макрофаги, экспрессирующие гораздо меньше молекул CD4. При этом поглощению его макрофагами способствуют противовирусные антитела, связывающиеся с фагоцитарными клетками через рецепторы для Fc. Вирус встраивается в геномную ДНК клеток хозяина и остается латентным до тех пор, пока определенные стимулы (например, цитокины) не активируют транскрипцию вирусных генов. Новообразованные вирусные частицы после сборки выходят из Т-клеток путем отпочковывания от цитоплазматической мембраны либо тем же способом отпочковывания проникают во внутриклеточные вакуоли макрофагов. Таким образом в макрофагах может накапливаться большое количество потенциально инфекционных вирусных частиц.

Вопросы для размышления

- За счет каких свойств вирусы способны ускользать от действия защитных механизмов организма-хозяина?
- В клинику поступил маленький мальчик, страдающий диссеминированной герпесвирусной инфекцией. Какую иммунотерапию вы ему назначите и почему?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Borden E.G., Rosenzweig I.B., Byrne G.I. 1987. Interferons: from virus inhibitor to modulator of amino acid and lipid metabolism. *Interferon Res.* **7**: 591.

Chisari F.V., Ferrari C. 1995. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 29–60.

Clements J.E., Gidovin S.L., Montelaro R.C. et al. 1988. Antigenic variation in lentiviral disease. *Annu. Rev. Immunol.* **6**: 139–159.

Doherty P.C., Allan W., Eichelberg M. et al. 1992. Roles of α/β and γ/δ T cell subsets in viral immunity. *Annu. Rev.* **10**: 123–151.

Doherty P.C. 1993. Cell-mediated cytotoxicy. *Cell.* **75**: 607.

Gooding L.R. 1992. Virus proteins that counteract host immune defences. *Cell* **71**: 5–7.

Levy J.A. 1993. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol. Rev.* **57**: 183–289.

Mims C.A. 1986. Interactions of viruses with the immune system. *Clin. Exp. Immunol.* **66**: 1–16.

Nash A.A., Cambouropoulos P. 1993. The immune response to herpes simplex virus. *Semin. Virol.* **4**: 181–186.

Oldstone M.B.A. 1987. Molecular mimicry and autoimmune disease. Cell **50**: 819–820.

Ramsay A.J. 1993. A case for cytokines as effector molecules in the resolution on virus infection. *Immunol. Today* **14**: 155.

Sissons J.G., Oldstone M.B.A. 1980. Antibody-mediated destruction of virus-infected cells. *Adv. Immunol.* **31**: 1.

Smith G.A. 1994. Virus strategies for evasion of the host response to infection. *Trends. Microbiol.* **2**: 81–88.

17 Иммунитет к бактериальным и грибковым инфекциям

- **О механизмах защиты** против той или иной бактериальной инфекции можно судить по строению клеток возбудителя, особенно клеточной стенки, и типу патогенности.
- **Нейтрализующие антитела** могут полностью обеспечивать защиту, если патогенность возбудителя связана только с токсином или адгезином.
- **Неспецифические, филогенетически древние** механизмы иммунитета – фагоцитоз, альтернативная активация комплемента и выделение цитокинов – действуют вследствие распознавания консервативных бактериальных структур.
- **Комплемент** может уничтожать некоторые бактерии, в первую очередь — грамотрицательные, т. е. имеющие наружный липидный бислой, или наружную мембрану, в составе клеточной стенки.
- **Фагоциты способны уничтожать клетки большинства бактерий,** осуществляя последовательно хемотаксис, связывание, поглощение и лизис.
- **Патогенные микроорганизмы** обладают разнообразными свойствами для обхода защитного действия комплемента и фагоцитов или для направления Т-зависимой активации фагоцитоза по ложному пути.
- **Избыточное выделение цитокинов,** вызываемое микробами, может быть причиной иммунопатологических синдромов, таких как эндотоксический шок и реакция Шварцмана.
- **Хроническую иммунопатологию с повреждением тканей** (как, например, при туберкулезе) вызывает, вероятно, дисбаланс в выделении цитокинов, приводящий к неадекватным эффектам.
- **Иммунитет к грибам,** вероятно, опосредован клетками и сходен с антибактериальным.

ИММУНИТЕТ К БАКТЕРИЯМ

Защитные механизмы, действующие при той или иной бактериальной инфекции, соответствуют структуре клеток возбудителя (направлены на их уязвимые участки) и факторам его патогенности.

Механизм иммунитета зависит от типа поверхности бактериальных клеток

Существуют четыре основных типа строения бактериальной клеточной стенки (*рис. 17.1*), и по этому признаку бактерии распадаются на следующие группы:

- грамположительные бактерии;
- грамотрицательные бактерии;
- микобактерии;
- спирохеты.

Наружная мембрана в составе клеточной стенки грамотрицательных бактерий чувствительна к литическому действию комплемента и некоторых цитотоксических клеток. Бактерии с другим строением клеточной стенки могут быть уничтожены только путем фагоцитоза.

Некоторые бактерии несут на поверхности фимбрии или жгутики, многие покрыты защитной капсулой. Эти поверхностные структуры могут препятствовать фагоцитозу или действию комплемента, но они же являются мишенью для антител, роль которых рассмотрена ниже (см. стр. 321).

Механизмы иммунитета соответствуют факторам патогенности бактерий

Двумя крайними формами патогенности бактерий можно считать:

- токсигенность без инвазивности и
- инвазивность без токсигенности (*рис. 17.2*).

Однако в реальности большинство бактерий занимает по характеру патогенности промежуточное положение между этими полюсами, например проявляя в некоторой степени инвазивность, обусловленную, как правило, локальным действием своих токсинов и разрушением тканей ферментами (факторы распространения).

Примером бактерий, которые считаются токсигенными, но не инвазивными, могут служить

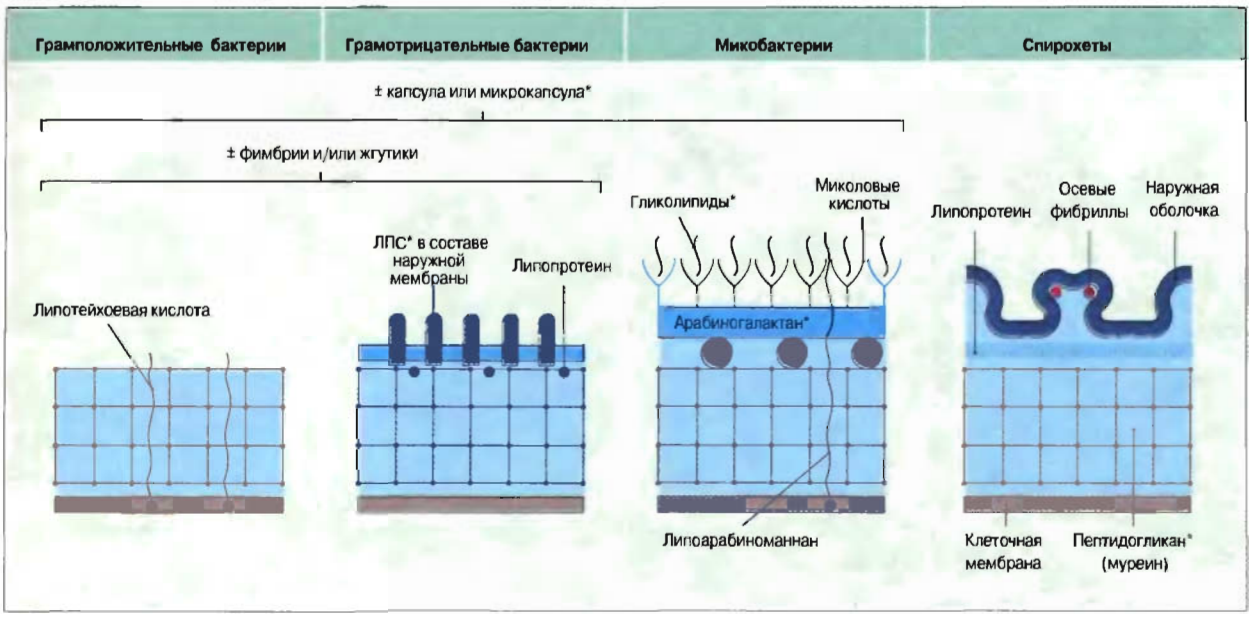


Рис. 17.1
Существуют различные иммунологические механизмы для разрушения клеточных стенок различных микроорганизмов. Микробы всех типов обладают цитоплазматической мембраной и пептидогликановой клеточной стенкой. Грамотрицательные бактерии, кроме того, имеют наружную мембрану, внешний слой которой содержит липополисахарид (ЛПС). Лизосомные ферменты и лизоцим разрушают структуру пептидогликана, а катионные белки и комплемент – наружную мембрану грамотрицательных бактерий. Клеточная стенка микобактерий чрезвычайно устойчива к различным воздействиям; по-видимому, ее разрушение возможно только при участии действующих изнутри ферментов самой бактериальной клетки. Некоторые бактерии имеют фимбрии и жгутики, компоненты которых могут служить мишенями для антител. Часть бактерий обладает наружной капсулой, повышающей устойчивость к фагоцитозу или к комплемент-зависимому лизису. Компоненты клеточных стенок, обозначенные на рисунке звездочкой, обладают иммуноадъювантными свойствами, т. е. воспринимаются иммунной системой как неспецифический сигнал, усиливающий иммунный ответ.

Corynebacterium diphtheriae и *Vibrio cholerae*[1]. Поскольку патогенность этих возбудителей почти полностью обусловлена образованием токсина, для защиты от них, вероятно, вполне достаточно действия антител, нейтрализующих токсин, хотя при этом могут быть важны и антитела, которые связываются с бактериями и предотвращают таким образом их прикрепление к эпителию.

Патогенность высокоинвазивных бактерий, напротив, не обусловлена, как правило, каким-либо одним токсином, поэтому механизмы иммунитета против них направлены на уничтожение самих клеток возбудителя.

Первая линия обороны от бактерий не связана с распознаванием антигенов

Самую первую линию защиты от патогенных бактерий создает барьер, образуемый наружными покровами тела; он препятствует проникновению микроорганизмов или развитию инфекции. Так, кожа и находящиеся в контакте с внешней средой слои эпителия снабжены неспецифиче-

[1] Известны нетоксигенные, но инвазивные штаммы *C. diphtheriae*, вызывающие тяжелую патологию. В некоторых случаях *C. diphtheriae* и *V. cholerae* проникают из очага первичной колонизации через кровоток в другие внутренние органы; обнаружены присущие этим бактериям факторы инвазивности. Все это едва ли позволяет называть возбудителей дифтерии и холеры неинвазивными в строгом смысле слова. – *Прим. перев.*

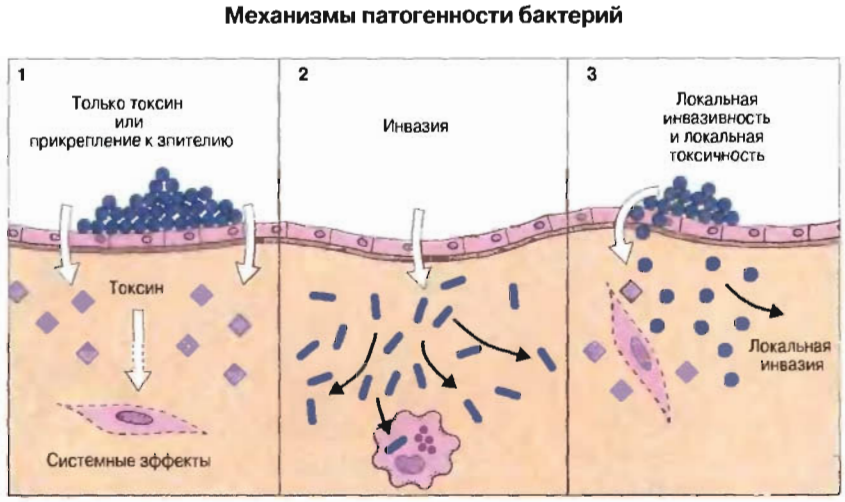


Рис. 17.2
1. Некоторые бактерии способны вызывать болезнь, не проникая из очага инфекции в ткани организма. Патогенность их обусловлена выделением одного токсина, как например у *Corynebacterium diphtheriae* и *Clostridium tetani*, либо способностью прикрепляться к клеткам эпителия и выделять целый ряд токсинов и ферментов, как у стрептококков группы А, вызывающих, в частности, ангину. Для иммунитета в этих случаях может быть достаточно антител, нейтрализующих основной фактор патогенности. **2.** Другие бактерии, напротив, не обладают токсигенностью, но вызывают заболевание в результате проникновения в ткани, а иногда и в клетки организма, повреждая их главным образом в результате интенсивного размножения или вследствие иммунопатологических реакций (например, при лепроматозной проказе). Для уничтожения бактерий, проникших в клетки, действуют механизмы клеточного иммунитета. **3.** Большинство бактерий занимает промежуточное положение между этими крайними типами патогенности, обладая одновременно локальной инвазивностью, локальной токсигенностью и ферментами, разрушающими внеклеточный матрикс (примеры – *Staphilococcus aureus* и *Clostridium perfringens*). В защите против них принимают участие как антитела, так и механизмы клеточного иммунитета.

скими, или врожденными, механизмами защиты от внедрения микробов (см. *рис. 1.1*). Неповрежденная кожа просто непроницаема для большинства бактерий. Кроме того, для многих из них токсичны выделяемые кожей жирные кислоты. Патогенность некоторых штаммов бактерий коррелирует с их способностью выживать на коже. Эпителиальные покровы очищаются от бактерий благодаря, например, движению ресничек в трахее и току мочи в мочевыводящих путях. Во влагалище и желудке многие бактерии погибают вследствие кислой реакции среды. Влагалишный эпителий секретирует гликоген, который ряд бактерий-комменсалов метаболизирует с образованием молочной кислоты. Вообще комменсалы способны препятствовать инвазии патогенных бактерий, продуцируя антибактериальные белки, названные колицинами. Поэтому нарушение нормальной микрофлоры антибиотиками может привести к инфекциям, вызываемым *Candida* или *Clostridium difficile*.

В действительности лишь ничтожной части окружающих нас потенциально патогенных микробов в редких случаях удается проникать в ткани организма.

Действие второй линии обороны связано с распознаванием общих для разных бактерий клеточных компонентов

Проникшие в ткань клетки бактерий вначале могут быть атакованы действующими во внутренней среде организма механизмами врожденного иммунитета. Множество компонентов бактериальных клеток иммунная система распознает без участия антигенспецифичных рецепторов В- или Т-клеток — благодаря действию филогенетически древних механизмов грубого распознавания, появившихся в эволюции раньше антигенспецифичных Т-клеток и иммуноглобулинов. В результате такого распознавания вызывают иммунный ответ общие для разных бактерий клеточные компоненты. Многие бактерии, например непатогенные кокки, по-видимому, устраняются из тканей организма в результате действия именно таких механизмов, без формирования специфического (адаптивного) иммунного ответа. Пути грубого распознавания и его мишени – общие микробные компоненты – перечислены на *рис. 17.4*. Примечательно, что используемый для определения примеси бактериального липополисахарида (ЛПС) в лекарственных препаратах «ли-

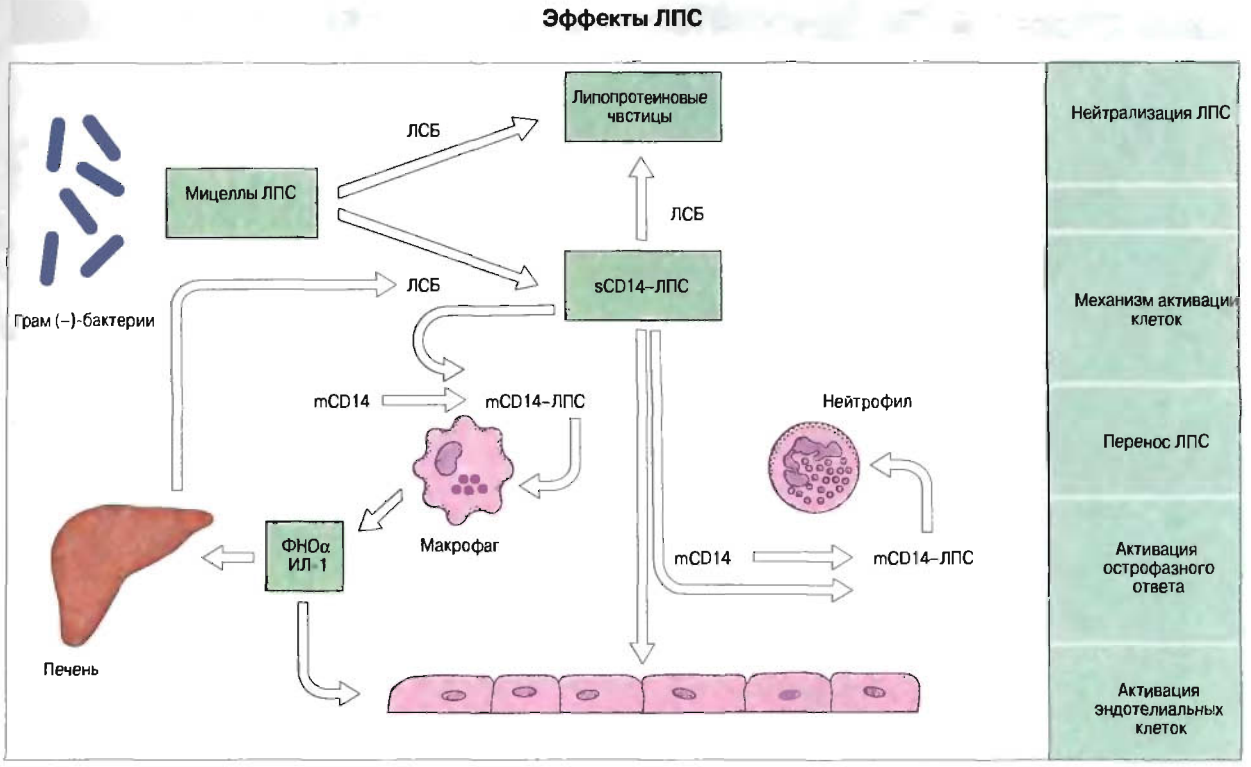


Рис. 17.3
Липополисахарид (ЛПС) – компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий – связывается в плазме крови с растворимым маркером CD14 (sCD14) и липопротеиновыми частицами. Катализатором этого взаимодействия служит липид-переносящий белок, названный ЛПС-связывающим (ЛСБ). Связывание липопротеиновой частицей приводит к нейтрализации ЛПС, связывание же sCD14 вызывает клеточную активацию, поскольку CD14 присутствует в организме также и в форме GPI-связанного мембранного белка (mCD14) нейтрофилов и макрофагов, и ЛПС из комплекса с растворимым CD14 переходит в комплекс с его мембраносвязанной формой. Комплекс mCD14–ЛПС, ассоциируя с другими мебраносвязанными факторами, передает внутрь клетки сигналы, повышающие экспрессию интегринов (молекул межклеточной адгезии) и выделение ФНОα и ИЛ-1. В свою очередь эти цитокины активируют эндотелиальные клетки и вызывают острофазный ответ в печени. Один из продуктов острофазного ответа – зто ЛСБ.

мулюс-тест» основан на одном из таких механизмов распознавания, обнаруженном у беспозвоночных: в гемолимфе мечехвоста *Limulus polyphemus* следовые количества ЛПС вызывают образование фибрина, волокна которого обездвиживают ЛПС-содержащий инфекционный агент.

Механизм реакции на ЛПС Он включает нейтрализацию ЛПС (путем связывания липопротеиновыми частицами) и, кроме того, перенос этого бактериального продукта на клеточную мембрану лейкоцитов, а также, вероятно, эндотелиальных клеток. Взаимодействуя с молекулами их поверхности, ЛПС может активировать соответствующие эффекторные функции этих клеток (*рис. 17.3*). Подобным образом могут распознаваться и вызывать ответ и другие филогенетически древние (консервативные) компоненты бактериальных клеток.

Независимое от лимфоцитов распознавание бактерий вызывает ряд событий

Активация комплемента по альтернативному пути (см. гл. 4) Этот механизм обеспечивает уничтожение некоторых бактерий, в первую очередь грамотрицательных, поскольку они обладают чувствительной к мембранолитическому комплексу (C5b–9) наружной мембраной. Такая активация приводит также к образованию фрагментов комплемента C3a и C5a, вызывающих сокращение

Независимые от антигенспецифичных В- или Т-клеток механизмы антимикробной защиты

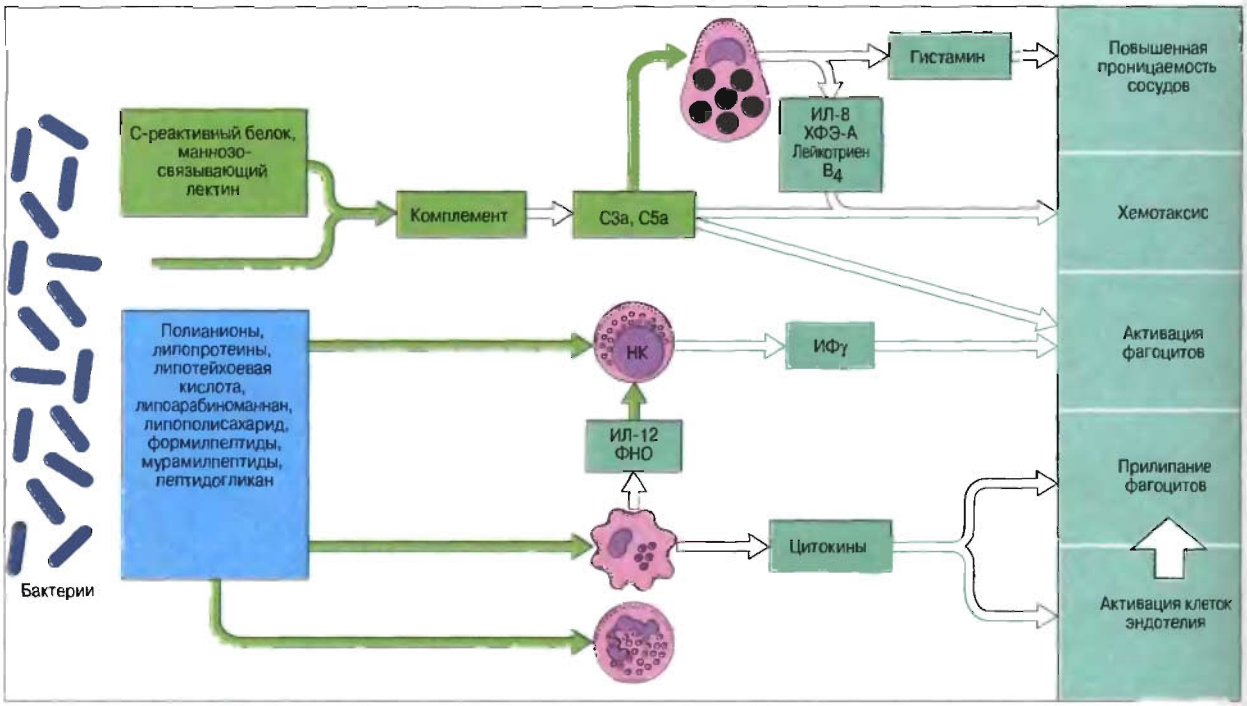


Рис. 17.4
Некоторые общие для разных бактерий структурные компоненты распознаются определенными молекулами плазмы крови и клеточными рецепторами. Это распознавание вызывает следующие эффекты: 1) альтернативную активацию комплемента (при участии C3, B, D, P) с высвобождением C3a и C5a, 2) активацию нейтрофилов, макрофагов и НК-клеток с выделением цитокинов, 3) дегрануляцию тучных клеток, обеспечивающую усиление местного капиллярного кровотока, и 4) стимуляцию адгезии циркулирующих клеток крови и фибрина к эндотелию. Действие этих механизмов и повреждение тканей бактериями вызывают локальное свертывание крови, и образовавшийся фибрин создает преграду для распространения бактерий. (ХФЭ-А – хемотаксический фактор А эозинофилов.)

гладкомышечных волокон и дегрануляцию тучных клеток (кроме того, C5a связывается с нейтрофилами и активирует их). Последующее высвобождение из клеток гистамина и лейкотриена (LTB_4) еще сильнее повышает сосудистую проницаемость (*рис. 17.4*). Опсонизация бактерий продуктами расщепления C3 важна для последующего поглощения их фагоцитами.

Хемотаксис За счет хемотаксиса в очаг инфекции поступает больше фагоцитов. Бактериальные продукты могут вызывать хемотаксис непосредственно и через активацию комплемента.

Выделение цитокинов макрофагами Фактор некроза опухолей (ФНО) и интерлейкин-1 (ИЛ-1) вызывают системную активацию фагоцитарных клеток и усиление их прилипания к эндотелию, что способствует миграции в воспаленную ткань. Фагоцитарные клетки выделяют также низкомолекулярные хемотаксические пептиды, называемые «хемокинами», которые усиливают ненаправленную подвижность клеток (см. гл. 5).

Выделение цитокинов нормальными киллерами (НК-клетками) НК-клетки мыши, стимулированные ИЛ-12 или ФНО, могут выделять γ-интерферон (ИФγ), который в свою очередь способен активировать макрофаги. Благодаря действию этого Т-независимого механизма мыши с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (нарушение созревания лимфоцитов) неожиданно про-

являют устойчивость, например к *Listeria monocytogenes.*

Адъювантные эффекты Термин «адъювант» происходит от латинского adiuvare — помогать. В эксперименте иммунизация растворимыми антигенами вызывает более сильный Т- и В-клеточный ответ в случае их введения вместе с бактериальными продуктами, действующими как адъюванты. На *рис. 17.1*, эти компоненты клеток бактерий отмечены звездочкой. Наиболее известен полный адъювант Фрейнда, применяемый только для иммунизации лабораторных животных; он представляет собой масляную суспензию убитых клеток *Mycobacterium tuberculosis*; перед введением животному этот препарат эмульгируют в водном растворе антигена. Адъювантный эффект , по-видимому, обусловлен именно тем, что антигенспецифический иммунный ответ развивается в лимфоидной ткани, уже содержащей упомянутые фармакологически активные бактериальные продукты. Ответ на введенный без них, чистый бактериальный антиген можно рассматривать как искусственную ситуацию, которая не встречается в природе.

«Выбор» необходимого лимфоцитарного ответа Решающая роль в этом «выборе» принадлежит «адъювантным» компонентам бактерий и механизму раннего выделения цитокинов. Разные виды бактерий оказывают оптимальный адъювантный эффект в отношении различных компонентов иммунной системы. Это может отражать необходимость примерного «таксономического определения» микроба для активации соответствующих эффекторных механизмов иммунного ответа. Вызываемое бактериями выделение цитокинов также вносит свой вклад в выбор адекватной формы иммунного ответа на этом этапе (подробнее он описан в гл. 11).

Выбор неадекватных форм иммунного ответа Некоторые микробы за счет своих адъювантных свойств способны направлять иммунный ответ по пути неэффективных в данном случае механизмов. Как правило, адъювантные свойства возбудителей полезны для организма-хозяина, но в отдельных случаях они вызывают нарушения иммунорегуляции, в частности активируя неподходящую субпопуляцию Т-хелперов (Тх-клеток). Наиболее наглядный пример этого можно наблюдать при экспериментальном заражении мышей патогенным простейшим *Leishmania major.* При активации Тх2-клеток развивается болезнь со смертельным исходом, тогда как активированные Тх1-клетки обеспечивают полную защиту (см. гл. 18).

Шоковые синдромы Если происходит слишком быстрое и обильное высвобождение цитокинов, возможно развитие различных, потенциально смертельных синдромов острого повреждения тканей.

Антитела обеспечивают антигенспецифическую защиту

Защитный эффект взаимодействия антител с бактериями зависит от механизма патогенности данного возбудителя. Когда она обусловлена действием бактериального токсина, антителам принадлежит решающая роль в иммунном ответе. Они, например, нейтрализуют дифтерийный токсин, блокируя прикрепление к клеткам-мишеням связывающего участка его молекул. Подобным же образом антитела могут инактивировать локально действующие токсины и ферменты (бактериальные факторы распространения), которые разрушают межклеточное вещество соединительной ткани, а также обездвиживать бактерии, связываясь с их жгутиками.

В защите слизистых оболочек от многих инфекций существенная роль принадлежит секреторному IgA (sIgA; см. гл. 3). Этот иммуноглобулин блокирует прикрепление бактерий к эпителиальным клеткам. Например, эффекторным механизмом иммунитета при стрептококковой ангине является образование антител к М-белкам стрептококков группы А. Возможно также, что антитела к определенным антигенам бактериальной поверхности способны ингибировать, например, такие важные для роста микробов процессы, как связывание хелатов железа или поглощение других питательных веществ (*рис. 17.5*).

В то же время в случае инфекции, вызванной нетоксигенными микробами, основная функция антител состоит в том, чтобы наиболее эффективно превращать возбудителя инфекции в мишень для комплемента. При участии антител комплемент повреждает бактерии, даже устойчивые к альтернативному (т. е. врожденному) механизму его бактериолитического действия (см. ниже). Кроме того, антитела усиливают связывание и поглощение нагруженных C3b и iC3b бак-

Функции антител в антимикробной защите



Рис. 17.5
Стадии бактериальной инвазии (синий цвет) и защитные эффекты антител (желтый цвет). Антитела к антигенам фимбрий, некоторым капсульным антигенам и липотейхоевым кислотам блокируют прикрепление бактерий к плазматической мембране клеток хозяина. Активированный антителами комплемент разрушает наружную мембрану грамотрицательных бактерий. Антитела непосредственно блокируют белки бактериальной поверхности, ответственные за поглощение питательных веществ из внешней среды. Антитела к М-белкам и капсульным антигенам бактерий опсонизируют бактериальные клетки для фагоцитоза, осуществляемого при участии Fc- и С3-рецепторов фагоцитов. Кроме того, антитела нейтрализуют иммунорепелленты (бактериальные факторы, нарушающие нормальный хемотаксис или фагоцитоз), токсины бактерий, а также выделяемые ими факторы распространения, которые способствуют инвазии, например путем разрушения межклеточного вещества соединительной ткани или фибрина.

терий фагоцитами (*рис. 17.6* и *17.7*). Самой высокой комплемент-связывающей активностью у человека обладают антитела изотипов IgG1, IgG3 и IgM. Помимо этого, IgG1 и IgG3 имеют наибольшую аффинность к клеточным Fc-рецепторам.

Патогенные бактерии способны избегать разрушающего действия комплемента

Капсулы некоторых видов бактерий почти не вызывают альтернативной активации комплемента

Влияние антител и комплемента на скорость удаления вирулентных бактерий из кровотока

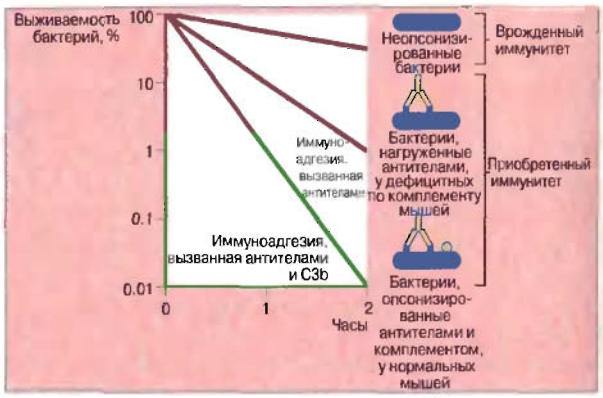


Рис. 17.6
Микробные клетки, не покрытые антителами и продуктами альтернативной активации комплемента, поглощаются фагоцитами очень медленно, тогда как нагруженные антителами и комплементом — во много раз интенсивнее. У животных, временно лишенных комплемента, это связывание происходит менее интенсивно, чем в норме.

Взаимодействие между бактериями и фагоцитарными клетками

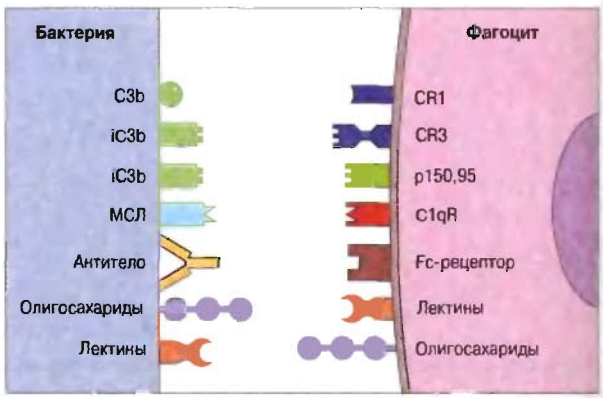


Рис. 17.7
Связыванию бактерий с мембраной фагоцита способствует ряд молекул. Произойдет ли поглощение микробной клетки фагоцитом и ее последующий лизис, зависит от характера этого взаимодействия. За исключением компонентов комплемента, антител и маннозосвязывающего лектина (МСЛ), которые присоединяются к бактериальной поверхности, все остальные молекулы на поверхности бактерий, участвующие в связывании, относятся к конститутивно экспрессируемым бактериальным компонентам.

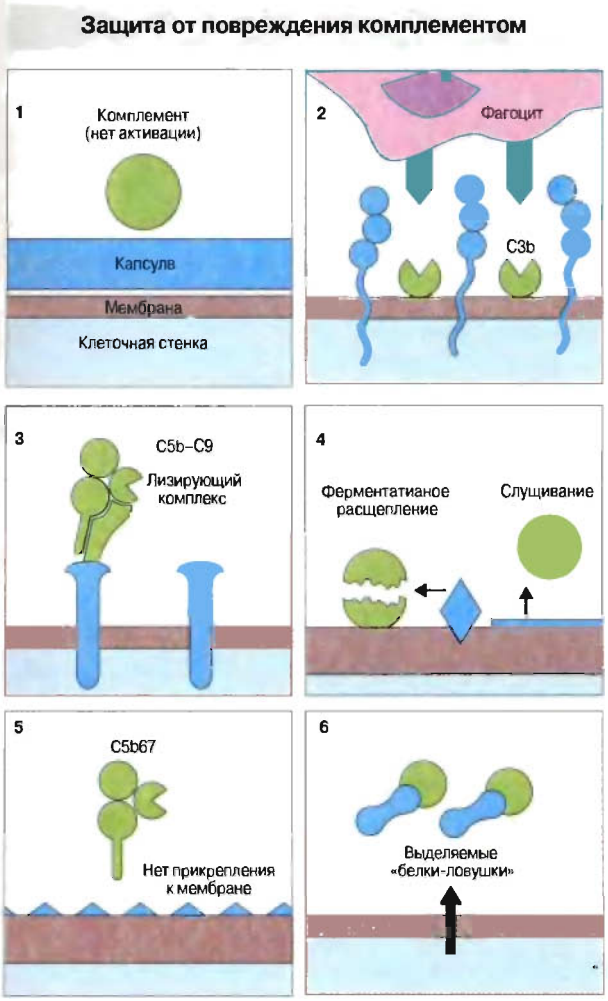


Рис. 17.8
Пути «ускользания» бактерий от комплемент-зависимого лизиса. **1.** Капсула или наружный покров предотвращает активацию комплемента. **2.** Конфигурация наружной поверхности микробной клетки может препятствовать доступу фагоцитов к фиксированному на ней C3b. **3.** Особые поверхностные структуры отвлекают на себя лизирующий мембрану комплекс, предохраняя от его действия наружную мембрану микробной клетки. **4.** Бактериальные мембраносвязанные ферменты разрушают фиксированный комплемент или вызывают его слущивание. **5.** Наружная мембрана микробной клетки может быть устойчивой к внедрению литического комплекса. **6.** Возможно выделение бактериями «белков-ловушек», связывающих комплемент.

(*рис. 17.8*). В то же время длинные боковые полисахаридные цепи (О-антиген) бактериального липополисахарида могут связывать C3b, но на некотором удалении от чувствительного к действию комплемента липидного бислоя мембраны, так что лизиса не происходит. Подобным этому механизмом обладают клетки гладких вариантов грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Salmonella* и *Pseudomonas*) – они способны связывать, но затем быстро отщеплять лизирующий мембрану комплекс C5b–C9.

Другие бактерии используют физиологические механизмы организма-хозяина, защищающие собственные клетки от комплемента. Как известно, связывание C3b с клеточной поверхностью может приводить либо к дальнейшему образованию этого фрагмента в результате взаимодействия с фактором B, либо к его инактивации факторами H и I. Бактериальные капсулы с высоким содержанием сиаловой кислоты (сходные этим с клеточными мембранами хозяина), по-видимому, стимулируют взаимодействие C3b с факторами H и I. Именно благодаря этому механизму *Neisseria meningitidis*, *E. coli* K1 и стрептококки группы A совершенно неуязвимы для комплемента. Более того, M-белок стрептококков группы A действует как акцептор фактора H, усиливая тем самым диссоциацию комплекса C3bB. Эти бактерии обладают также геном C5a-протеазы.

Большинство бактерий уничтожают фагоциты

Как описано выше, некоторые бактерии, главным образом грамотрицательные, непосредственно лизируются комплементом. Опубликованы также данные о способности НК-клеток и даже цитотоксических Т-клеток (Тц) при простом контакте лизировать ряд бактерий некоторых видов, в большинстве грамотрицательных.

Однако бóльшую часть бактерий уничтожают фагоциты. Процесс фагоцитоза состоит из нескольких стадий (см. *рис. 1.15*).

Хемотаксис Компоненты бактериальных клеток, например f-Met-Leu-Phe (формил-метионин-лейцин-фенилаланин — хемоаттрактант для лейкоцитов), продукты активации комплемента, например C5a, и локально выделяемые цитокины и хемокины привлекают фагоцитарные клетки в очаг инфекции и воспаления (см. гл. 5).

Связывание фагоцитов с микробными клетками От этой важной стадии фагоцитоза зависит последующее поглощение микробов фагоцитами и сопряженная с поглощением активация механиз-

мов лизиса. В связывании может участвовать ряд молекул.

- **Лектины микробных клеток,** например специфичный к маннозе лектин, присутствующий на поверхности фимбрий у *E. coli*.
- **Лектины фагоцитарных клеток.** Особенно важны в качестве лектинов при фагоцитозе рецепторы комплемента CR3 и CR4 (p150,95), а также структурно близкий к ним лейкоцитарный функциональный антиген-1 (LFA-1), относящийся к интегринам. Все эти молекулы поверхности обладают большим числом активных центров, специфичных к различным углеводным компонентам клеточных полимеров, и могут, в частности, связываться с β-глюканами и ЛПС грамотрицательных бактерий.
- **Компоненты комплемента,** связавшиеся с микробной поверхностью благодаря классической или альтернативной активации. Недавно было установлено, что комплемент может связываться со специфичным к маннозе сывороточным лектином, фиксированным на бактериальной клетке и аффинным, кроме того, к рецепторам для C1q фагоцитов.
- **Fc-рецепторы** фагоцитарных клеток способны взаимодействовать с антителами, связавшимися с бактериальными клетками (см. *рис. 17.7*).

Запуск поглощения Связывание микробной клетки с рецептором на плазматической мембране макрофага не обязательно приводит к поглощению. Например, частицы, образованные зимозаном (дрожжевой полисахарид), при связывании с глюканспецифичным центром рецептора CR3 поглощаются макрофагом, тогда как эритроциты, нагруженные iC3b, не поглощаются, хотя эти компоненты комплемента также взаимодействуют с CR3.

Запуск бактерицидных механизмов Подобно тому как связывание мембранных рецепторов фагоцита с бактерией не гарантирует ее поглощения, само поглощение также необязательно ведет к запуску бактерицидных механизмов. В частности, клетки *Yersinia pseudotuberculosis* сами индуцируют свое поглощение фагоцитами, но при этом дерепрессируют синтез фактора, модулирующего сигнал эндоцитоза, так чтобы внутриклеточного разрушения микробных клеток не происходило.

Фагоцитарные клетки обладают разнообразными механизмами уничтожения микробов

Поглощенная фагоцитом микробная клетка подвергается действию нескольких бактерицидных механизмов.

Кислород-зависимые бактерицидные механизмы

Реакционноспособные метаболиты кислорода (РМК) Их образование связано с активностью фермента, локализованного в клеточной мембране фагоцита. Этот фермент восстанавливает O_2 с образованием супероксидного анион-радикала ($\cdot O_2^-$) — токсичного РМК. В свою очередь супероксидные радикалы превращаются в другие РМК (*рис. 17.9*). У больных хроническим гранулематозом фагоцитарные клетки не образуют РМК и не способны поэтому уничтожать некоторые виды микроорганизмов (см. *рис. 21.14*). Это заболевание характеризуется очагами хронического воспаления, которое вызывают возбудители гнойных инфекций, например стафилококки. В фагоцитарных клетках, содержащих пероксидазу, образуются гипохлорит и подобные ему токсичные оксиданты (*рис. 17.9*). При наследственном дефиците миелопероксидазы возможно нарушение бактерицидной активности фагоцитов. Тканевые макрофаги не содержат пероксидазу и поэтому дают отрицательный результат в цитохимических тестах, основанных на пероксидазной активности.

Реакционноспособные метаболиты азота (РМА) Другой бактерицидный механизм основан на образовании токсичного для бактерий и опухолевых клеток оксида азота NO (*рис. 17.10*). Для оптимального действия этого механизма в макрофагах мыши требуются активация их ИФγ и запуск механизма фактором некроза опухолей. Предположительно под действием NO в этих клетках погибают микобактерии. Гораздо труднее получить образование значительного количества NO в макрофагах человека. Как правило, для этого необходима целая серия стимулов, например воздействие нескольких цитокинов с одновременной перекрестной сшивкой молекул CD23 (рецептор IgE). По данным иммуногистохимического анализа, у человека макрофаги воспалительного очага иногда экспрессируют в значительном количестве индуцибельную синтазу оксида азота (иСОА), но не содержат достаточное количество



Рис. 17.9
1. Фермент, присутствующий в мембране фагосомы, восстанавливает молекулярный кислород с образованием супероксидного анион-радикала ($\cdot O_2^-$), из которого образуются потенциально токсичные гидроксильные радикалы ($\cdot OH$), синглетный молекулярный кислород ($\Delta g'O_2$) и пероксид водорода (H_2O_2). Этот этап бактерицидного действия еще не требует слияния лизосом с фагосомой, начинаясь спонтанно после образования фагосомы. **2.** Под действием миелопероксидазы (проникающей в фагосому при ее слиянии с лизосомами), а в некоторых случаях и каталазы, содержащейся в пероксисомах, из пероксидов в присутствии галоидных соединений (прежде всего иодидов) образуются дополнительные токсичные оксиданты, например гипоиодит и гипохлорит (производные HIO и HClO).

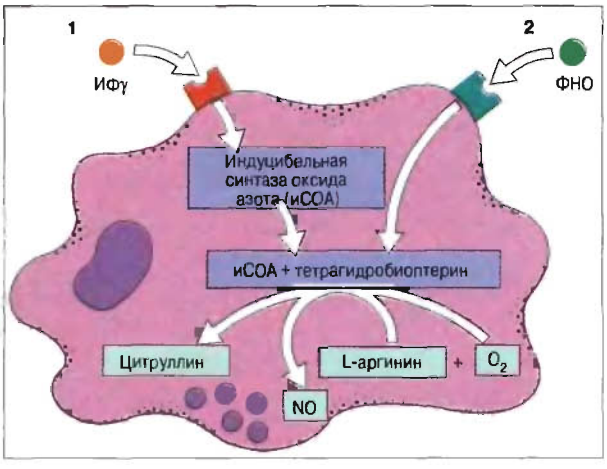


Рис. 17.10
Индуцибельная синтаза (лиаза, синтетаза) оксида азота (иСОА) катализирует присоединение кислорода к атомам азота гуанидиновой группы в составе L-аргинина с образованием токсичного для бактерий и опухолевых клеток оксида азота NO. В результате его взаимодействия с активными метаболитами O_2 образуются еще более токсичные пероксинитриты. Для продукции NO необходим кофактор тетрагидробиоптерин. Активацию этого механизма в макрофагах мыши вызывает ИФγ (**1**); затем ФНО стимулирует его до оптимального уровня активности (**2**). В макрофагах человека запуск этого механизма происходит более сложным образом и требует обычно перекрестного связывания молекул CD23 на клеточной мембране. Иногда макрофаги способны экспрессировать иСОА, но при этом не содержат достаточного для ее активности количества тетрагидробиоптерина, и для максимального образования NO может быть необходимо взаимодействие с клетками других типов.

тетрагидробиоптерина – обязательного кофактора для образования NO.

Важное значение могут иметь кислород-независимые бактерицидные механизмы

Роль этих механизмов, возможно, более существенна, чем предполагалось ранее. Так, фагоциты больных хроническим гранулематозом неспособны продуцировать РМК, а в случае наследственного дефицита миелопероксидазы – иодноватистую и хлорноватистую кислоты, но тем не менее они могут уничтожать разнообразные микроорганизмы. Частично это может быть обусловлено действием NO, но многие бактерии уничтожаются в анаэробных условиях, что указывает на существование других, не зависимых от кислорода бактерицидных механизмов, и некоторые из них идентифицированы.

Катионные антибиотико-подобные белки фагоцитарных клеток В макрофагах кролика и полиморфноядерных гранулоцитах человека обнаружены дефензины — богатые остатками цистеина и аргинина катионные пептиды из 30–33 аминокислотных остатков. Они составляют в этих клетках от 30 до 50 % всех белков гранул. Дефензины вызывают образование ионных каналов в мембране микробной клетки. Вероятно, они начинают действовать сразу после образования фаголизосомы, ещё до подкисления ее содержимого (*рис. 17.11*). Дефензины могут уничтожать самые разнообразные микробы, например *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Cryptococcus neoformans* и обладающий оболочкой вирус простого герпеса. Кроме того, в фагоцитарных клетках обнаружены катионные белки с различными pH-оптимумами, в частности катепсин G и азуроцидин, родственные эластазе, но обладающие неферментативной антибиотической активностью в отношении грамотрицательных бактерий.

Другие антимикробные механизмы После слияния лизосом содержимое фаголизосомы временно — на 10–15 мин — подщелачивается, после чего pH падает, т. е. происходит подкисление. Возможно, низкий pH сам по себе обеспечивает уничтожение некоторых микробов, но более вероятно, что он необходим для действия лизосомных ферментов, имеющих оптимум pH в кислой области. Некоторые грамположительные бактерии могут погибать под действием лизоцима — он разрушает легкодоступный пептидогликановый слой их клеточной стенки. В уничтожении бактерий участвует и ряд других молекул, например лактоферрин, продуцируемый полиморфноядерными гранулоцитами. Он связывает железо, недоступное в такой форме для поглощения бактериями даже в кислой среде (при избытке железа полиморфноядерные гранулоциты теряют обусловленную лактоферрином способность уничтожать бактерии некоторых видов). Возможно, все эти антимик-

pH-зависимые бактерицидные механизмы

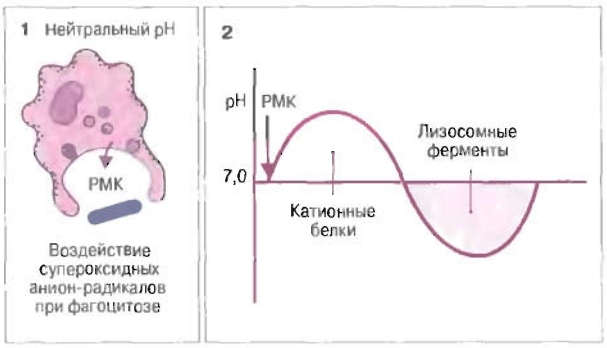


Рис. 17.11
При фагоцитозе на бактерии непосредственно действуют реакционноспособные метаболиты кислорода (РМК) (**1**).Это вызывает кратковременное подщелочение среды (повышение pH), способствующее эффективному действию катионных белков (**2**). Затем pH падает в результате «закачивания» в фаголизосому ионов H^+; при низком pH начинают действовать лизосомные ферменты с pH-оптимумом в кислой области. Кроме того, бактерицидная активность включает действие лактоферрина, хелатирующего свободное железо как в кислой, так и в щелочной среде.

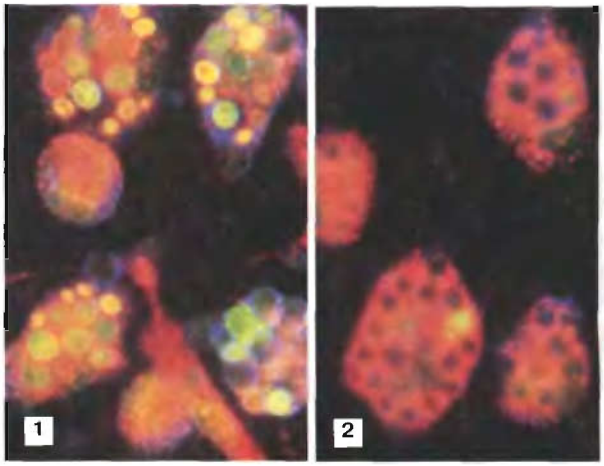


Рис. 17.12
Блокада хлористым аммонием слияния вторичных лизосом с фагосомами, содержащими дрожжевые клетки. Культивируемые перитонеальные макрофаги мыши инкубировали с красителем акридиновым оранжевым, который накапливается во вторичных лизосомах. Затем в культуру добавили живые клетки дрожжей, что вызвало образование темных «лунок» на поверхности макрофагов. В норме при фагоцитозе вторичные лизосомы сливаются с фагосомами и в них поступает акридиновый оранжевый, флуоресцирующий зеленым, желтым или оранжевым в зависимости от концентрации, в результате чего «лунки» исчезают (**1**). Однако в присутствии хлористого аммония слияния не происходит, и лунки остаются темными (**2**). Такую же блокаду слияния лизосом с фагосомами, возможно, осуществляют клетки *Mycobacterium tuberculosis* и отдельные виды лейшманий, выделяющие соединения аммония. Кроме того, аналогичный эффект вызывают некоторые полианионы, например полиглутаминовая кислота или сурамин. (Иллюстрация любезно предоставлена г-ном R. Young и д-ром P.D. Hart).

робные механизмы функционируют только после слияния фагосом с лизосомами (*рис. 17.11* и *17.12*).

Покоящиеся макрофаги способны уничтожать микробов, но активация стимулирует этот процесс, вызывая экспрессию новых механизмов

Активация макрофагов происходит под действием микробных продуктов и лимфокинов, секретируемых Т-клетками. Пониженную активность недельной культуры макрофагов можно восстановить с помощью соответственного активирующего фактора (*рис. 17.13*).

Отдельные микробные продукты могут активировать макрофаги в отсутствие распознавания лимфоцитами

Ряд микробных компонентов активирует моноциты и макрофаги прямо или опосредованно, инициируя выделение цитокинов самими макрофагами или НК-клетками. Цитокины затем активируют фагоциты. Это рассмотрено выше (с. 320) в связи с не зависимым от лимфоцитов распознаванием бактерий.

Макрофаги дополнительно активируются лимфокинами

Для полной активации макрофагов in vivo необходимо воздействие на них лимфокинов, выделяемых Т-клетками в ходе иммунного ответа. Чаще всего на макрофаги воздействует ИФγ, стимулирующий кислород-зависимые и другие бактерицидные механизмы. Имеются также сообщения об активации фагоцитов под действием ИЛ-2, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и других цитокинов. Как описано более подробно в гл. 10, для активации определенных функций фагоцитарных клеток требуется воздействие различных комбинаций цитокинов.

Лимфокины оказывают на фагоциты in vivo два основных эффекта – привлечения и активации, причем относительное значение каждого из них варьирует в зависимости от микроорганизма. Например, для иммунитета к *L. monocytogenes* наиболее важен эффект привлечения фагоцитов в очаг инфекции, поскольку клетки этой бактерии погибают под действием РМК внутри неактивированных моноцитов и нейтрофилов. Для устранения *M. tuberculosis*, напротив, требуется прежде всего активация нейтрофилов и моноцитов, так как эти микобактерии способны выживать внутри них.

Макрофаги человека и мыши различаются по бактерицидной активности

Большинство экспериментальных работ в области иммунологии инфекций выполнено на макрофагах мыши, однако они существенно отличны от тех же клеток человека по ряду активностей. Примером различий может быть активность мак-

Бактерицидная функция моноцитов и макрофагов человека

Вид бактерий	Фагоциты сразу после выделения, без активации	Фагоциты, культивированные в течение 7 сут	
		без активации	активация ИФγ
Escherichia coli	Лизируют	Лизируют	Не влияет
Salmonella typhimurium	Лизируют	Не лизируют	Лизируют (глюкокортикоиды не блокируют эффект ИФγ)
Listeria monocytogenes			
Legionella pneumophila	Не лизируют	Не лизируют	
Nocardia asteroides	Лизируют	?	Лизируют (глюкокортикоиды блокируют эффект ИФγ)
Mycobacterium tuberculosis	Не лизируют	Не лизируют	Эффект ИФγ вариабельный (в клетках отдельных доноров происходит некоторое замедление роста, но не уничтожение); при этой инфекции активнее, чем ИФγ, действует 1,25-дигидроксихолекальциферол
Chlamydia psittaci	Лизируют	Не лизируют	Лизируют
Chlamydia trachomatis	Лизируют	Лизируют	Не елияет
C. trachomatis biovar *lymphogranuloma venereum*	Лизируют	Не лизируют	Лизируют

Рис. 17.13
Моноциты и макрофаги, свежевыделенные из донорской крови, способны лизировать различные бактерии. При культивировании в течение 7 сут они частично утрачивают эту способность, но под действием ИФγ она восстанавливается. Данный лимфокин, очевидно, активирует несколько различных бактерицидных механизмов; одни из них подавляются глюкокортикоидами, другие – нет. Некоторые бактерии могут быть уничтожены только после активации фагоцитов лимфокинами, другие устойчивы ко всем защитным механизмам хозяина. Этим обусловлено большое разнообразие бактерицидных механизмов.

рофагов в отношении микобактерий. У мыши активация макрофагов ИФγ обеспечивает полное разрушение фагоцитированных микобактерий, по-видимому посредством NO-зависимого механизма. Воздействие же ИФγ на макрофаги человека дает в лучшем случае едва заметное подавление роста *M. tuberculosis*, а в худшем значительно усиливает рост микобактерий. Причиной таких особенностей могут быть видовые различия по способности к образованию NO, описанные выше (см. *рис. 17.10*).

В то же время клетки человека обладают свойствами, пока не обнаруженными у мыши. В макрофагах человека ИФγ вызывает экспрессию 1-α-гидролазы, которая превращает циркулирующую неактивную форму 25-гидроксихолекальциферола (витамин D_3) в активный метаболит – 1,25-дигидроксихолекальциферол. Этот метаболит активирует макрофаги для уничтожения микобактерий гораздо эффективнее, чем сам ИФγ (см. *рис. 17.13*).

Патогенные микроорганизмы способны избегать уничтожения фагоцитами

Поскольку фагоциты обладают способностью уничтожать большинство микробов, патогенные микроорганизмы должны иметь свойства, обеспечивающие им защиту от фагоцитоза (*рис. 17.14*).

Внутриклеточные возбудители инфекций могут «скрываться» в клетках иммунной системы

Инфицированные клетки уничтожаются цитотоксическими Т-клетками

Некоторые бактерии способны выживать и активно размножаться внутри поврежденных или метаболически неадекватных фагоцитов хозяина. Кроме того, они могут избегать уничтожения, перемещаясь внутри макрофагов из фагосом в цитоплазму. Так, клетки *Listeria monocytogenes* выходят из фагосом, так как выделяют ферменты, разрушающие мембрану этих органелл. Другие возбудители, например *Mycobacterium leprae*, способны вызывать свое поглощение клетками, которые обычно не относятся к фагоцитарным и не обладают достаточной антибактериальной активностью. В этом случае микробные клетки не могут быть уничтожены активированными фагоцитами или другими бактерицидными механизмами, прежде чем будут освобождены из клеток, где они «спасаются». Их высвобождение осуществляют Тц-клетки, разрушающие инфицированные клетки. Если исключить Т-клеточное распознавание молекул MHC класса I, устранив мето-

Защитные механизмы бактерий

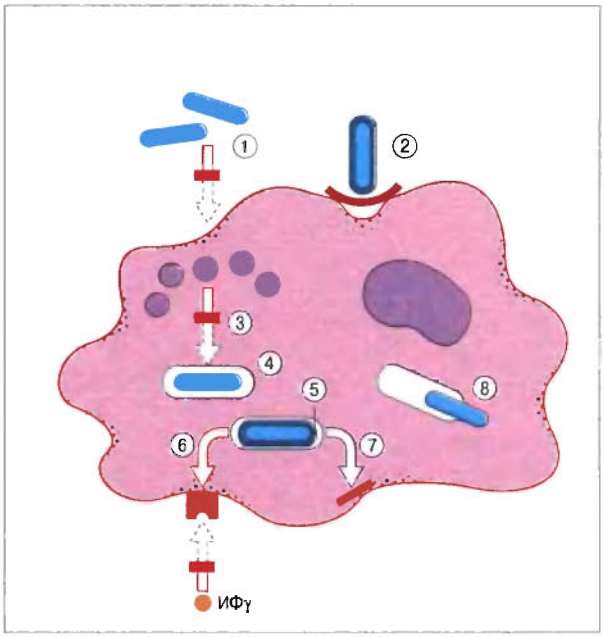


Рис. 17.14
Бактерии, особенно высокоприспособленные внутриклеточные паразиты, способны избегать действия бактерицидных механизмов фагоцитарной клетки. **1.** Некоторые микробы могут выделять репелленты или токсины, подавляющие хемотаксис. **2.** Другие виды обладают капсулами или оболочками, препятствующими связыванию бактерий фагоцитами. **3.** Третьи не препятствуют поглощению, но затем выделяют факторы, блокирующие запуск бактерицидных механизмов, например *M. tuberculosis* ингибирует слияние лизосом с фагосомами, а также подкисляющий содержимое фагосом протонный «насос», и в результате pH в них не снижается. **4.** Кроме того, бактерии могут выделять каталазу, которая разрушает образуемый фагоцитами пероксид водорода. **5.** Некоторые бактерии, например *M. leprae*, покрыты снаружи высокоустойчивой к повреждению оболочкой. Клетки *M. leprae* окружены слоем молекул фенольного гликолипида, который связывает свободные радикалы и тем самым инактивирует их. **6.** Микобактерии выделяют также липоарабиноманнан, который блокирует способность макрофагов отвечать активацией на воздействие ИФγ. **7.** Инфицированные бактериями фагоциты могут, помимо всего, утратить функцию презентации антигена. **8.** Некоторые виды бактерий (в частности, *M. leprae*) способны выходить из фагосом и размножаться в цитоплазме фагоцита, который в результате погибает (как, например, при инфицировании *M. tuberculosis*).

дом генного нокаута из мышиного генома ген β_2-микроглобулина, мыши становятся чрезвычайно чувствительны к *M. tuberculosis*. Это указывает на существенную роль цитотоксических Т-клеток в иммунитете к микобактериям.

γδ-Т-лимфоциты, как правило, обладают цитотоксичностью и способны разрушать инфицированные клетки

Значительная часть Т-клеток, несущих γδ-рецептор, по-видимому, пролиферирует в ответ на бактериальные антигены. Некоторые субпопуляции этих лимфоцитов избирательно заселяют («хоминг») эпителиальные покровы (см. гл. 2). Поэтому можно предполагать, что им принадлежит существенная, пока не выясненная, роль в антимикробном иммунитете. Обычно они обладают цитотоксичностью и, возможно, разрушают инфицированные клетки.

Клетки некоторых тканей могут обладать актимикробными механизмами

Убежищем для бактерий, таких как *M. leprae*, инвазивные виды *Shigella*, *Salmonella*, а также *Rickettsia* и *Chlamydia*, могут становиться клетки тканей, не относящихся к иммунной системе. Как указано выше, такие инфицированные клетки, возможно, уничтожаются цитотоксическими Т-клетками. Наряду с этим, рост внутриклеточно локализованных возбудителей может подавляться в результате активации фибробластов ИФγ; вероятно при этом действует NO-механизм, которым обладают не только фагоцитарные клетки.

Антимикробный ответ может приводить к иммунологическому повреждению тканей

Чрезмерный выброс цитокинов может привести к эндотоксическому шоку

Эндотоксический (септицемический) шок возникает при септицемии как следствие вызванного бактериальными продуктами обильного поступления в циркуляцию цитокинов. Как правило, шок вызывает эндотоксин – ЛПС грамотрицательных бактерий, хотя аналогичный синдром возможен и при грамположительной септицемии. Шоковый синдром представляет угрозу для жизни и проявляется как лихорадка, циркуляторный коллапс, диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови и геморрагический некроз; эти процессы приводят к недостаточности многих органов и систем (*рис. 17.15*).

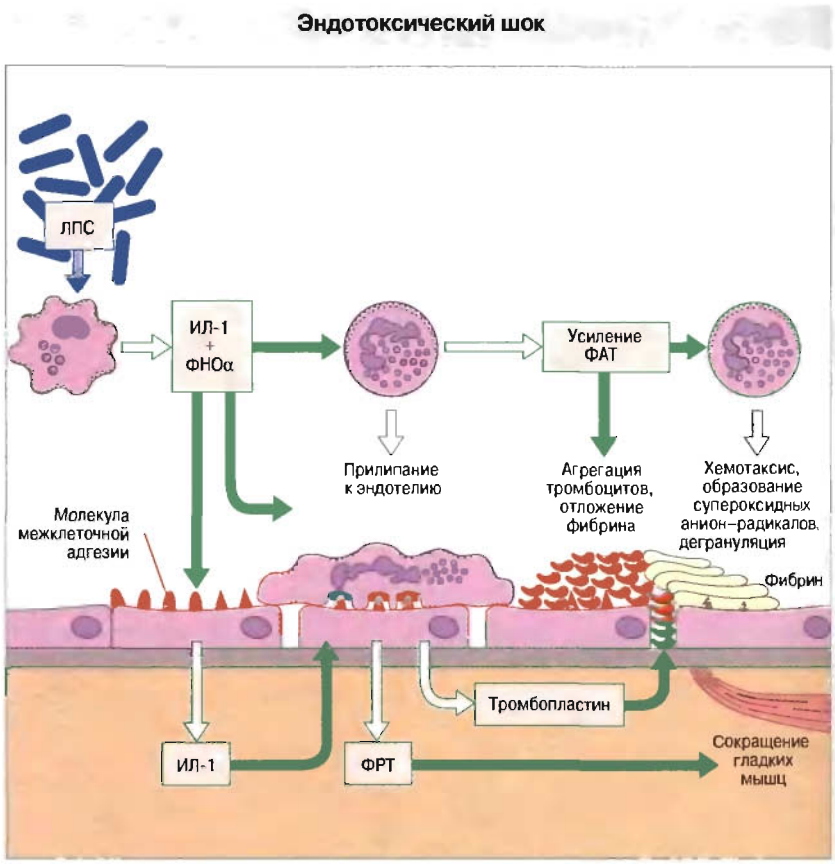
Реакция Шварцмана – одна из форм повреждения тканей цитокинами в очагах воспаления без заметного участия Т-клеток

Если ввести кролику суспензию клеток грамотрицательных бактерий, сначала внутрикожно и через 24 ч внутривенно, в месте первой инъекции появится геморрагический некроз. Этот эффект назван по имени исследователя, наблюдавшего его впервые, реакцией Шварцмана. Кроме того, Шварцманом было установлено, что две внутривенные инъекции с интервалом 24 ч вызывают системную реакцию, которая обычно приводит к циркуляторному коллапсу и двухстороннему некрозу корковой части почек. Этот феномен, описанный также Санарелли, называют системной реакцией Шварцмана или реакцией Санарелли–Шварцмана. Иногда она сопровождается некрозами в поджелудочной железе, гипофизе, надпочечниках и слизистой пищеварительного тракта. Для нее характерно острое диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови и тромбоз.

Как теперь известно, и многие другие инфекционные агенты, в том числе стрептококки, микобактерии, представители рода *Haemophilus*, коринебактерии и вирус коровьей оспы, способны «подготавливать» кожу таким же образом. «Разрешающий» эффект внутривенной инъекции обусловлен действием эндотоксина (ЛПС). Повреждение тканей при реакции Шварцмана в ранних публикациях связывали с альтерацией эндотелия, отложением фибрина, скоплениями и дегрануляцией нейтрофилов и тромбоцитов. Эти процессы действительно имеют место, но позднее выяснилось, что ключевыми медиаторами описанных реакций служат ФНОα, ИФγ, ИЛ-12 и ИЛ-1 (см. гл. 11). Введение ФНОα в очаг воспаления (вызванного предварительной инъекцией бактерий) дает некроз аналогичного типа; по всей вероятности, введенный ФНОα действует так же, как в том случае, когда он доставляется кровотоком после внутривенного введения ЛПС.

Реакцией Шварцмана объясняется появление характерной геморрагической сыпи у детей, больных менингококковым менингитом. Первый эпизод септицемии вызывает в разных тканях рассеянные очаги воспаления, которые вначале настолько малы, что клинически не проявляются, сохраняя, однако, исключительную чувствительность к цитокинам. Второй, более массированный выход возбудителя в кровь инициирует выброс цитокинов, достаточный чтобы вызвать некроз тканей в таких очагах.

Рис. 17.15
Избыточный выброс цитокинов, под действием чаще всего эндотоксина (ЛПС) грамотрицательных бактерий, может приводить к диссеминированному внутрисосудистому свертыванию крови с последующей недостаточностью ее свертывания, к нарушениям сосудистой проницаемости, утечке жидкой части крови в ткани, падению артериального давления, циркуляторному коллапсу и геморрагическим некрозам, особенно в слизистой оболочке пищеварительного тракта. На рисунке представлены отдельные ключевые этапы развития эндотоксического шока на клеточном уровне. Цитокины ФНОα и ИЛ-1 активируют эндотелиальные клетки для экспрессии молекул межклеточной адгезии и тканевого тромбопластина, которые вызывают соответственно прилипание циркулирующих клеток и отложение фибрина. Эти процессы дополнительно усиливает фактор, активирующий тромбоциты (ФАТ). В эксперименте развитие шока удается блокировать антителами, нейтрализующими ФНОα, и значительно ослабить антителами к тканевому тромбопластину либо ингибиторами образования ФАТ или оксида азота. Грамположительные бактерии могут вызывать шок в результате того, что их суперантигены инициируют массированный выброс цитокинов (см. ниже в тексте). (ФРТ – фактор роста из тромбоцитов, образуемый и тромбоцитами, и эндотелием.)



Феномен Коха – вызванная Т-клетками некротическая реакция в очагах микобактериального поражения и при внутрикожной туберкулиновой пробе

Некротическую реакцию на антигены *M. tuberculosis* впервые наблюдал Роберт Кох у морских свинок, зараженных туберкулезом (*рис. 17.16*). Этот феномен по меньшей мере отчасти обусловлен высвобождением цитокинов в очагах вызванного Т-клетками воспаления (проявление гиперчувствительности замедленного типа, см. гл. 26) и, по-видимому, имеет отношение к патогенезу туберкулеза у человека и животных. Как и при реакции Шварцмана, эти очаги могут быть чрезвычайно чувствительны к тканеповреждающим эффектам цитокинов, особенно, когда активность Тх1- и Тх2-клеток проявляется одновременно.

На *рис. 17.17* для отдельных видов бактерий указан патогенез вызываемых заболеваний, включая иммунопатологию, и механизм протективного иммунного ответа.

Новые направления в изучении антимикробного иммунитета

Суперантигены распознаются без процессинга и презентации

Суперантигенами названы недавно идентифицированные компоненты бактерий, связывающиеся непосредственно (т. е. без процессинга) с вариабельными областями β-цепей (Vβ) антигенспецифичных рецепторов некоторых субпопуляций Т-клеток и одновременно с молекулами МНС антигенпрезентирующих клеток (АПК) (см. *рис. 11.15*). В результате такого связывания

Феномен Коха

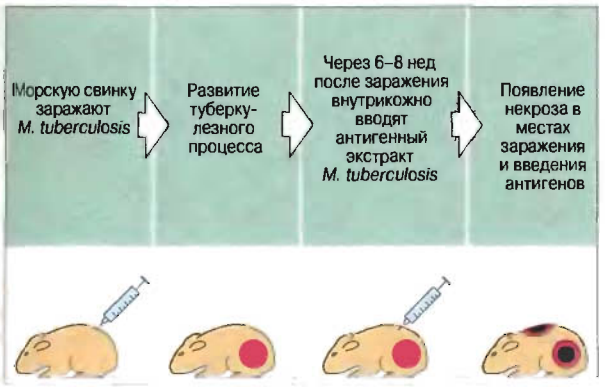


Рис. 17.16
Роберт Кох впервые обнаружил, что введение клеток *Mycobacterium tuberculosis* или их растворимых антигенов в кожу зараженной туберкулезом морской свинки вызывает некротическую реакцию как в месте инъекции, так и в очаге туберкулезного поражения. По меньшей мере отчасти эта реакция обусловлена тем, что ткани, реагирующие на антигены микобактерий по механизму гиперчувствительности замедленного типа, проявляют также высокую чувствительность к токсическому действию цитокинов, подобно тканям в месте инъекции ЛПС при реакции Шварцмана. Выделение цитокинов, возможно, происходит и в месте внутрикожной инъекции антигенов. Подобная реакция на антигены микобактерий наблюдается и у больных туберкулезом, и у лиц, перенесших его в прошлом. Внутрикожное введение микобактериальных антигенов дает воспалительную реакцию и после вакцинации БЦЖ, но, как правило, без некроза.

Иммунитет при ряде основных бактериальных инфекций

Возбудитель	Патогенез	Основные механизмы защиты
Corynebacterium diphtheriae	Неинвазивный фарингит – токсин	Антитела, нейтрализующие токсин
Vibrio cholerae	Неинвазивный энтерит – токсин	Антитела, нейтрализующие токсин и блокирующие адгезию
Neisseria meningitidis (грам–)	Заселение носоглотки → бактериемия → менингит → эндотоксемия	Бактерицидное действие антител и комплемента; опсонизация и фагоцитоз
Staphylococcus aureus (грам+)	Локальная инвазия с выделением токсина (в коже и т. п.)	Опсонизация антителами и комплементом; уничтожение фагоцитами
Mycobacterium tuberculosis	Инвазивная инфекция с иммунопатологическими реакциями; ? токсин	? Активация макрофагов Т-клеточными цитокинами
Mycobacterium leprae	Инвазивная инфекция; вытеснение ткани гранулемами и/или иммунопатология	

Рис. 17.17
Зная природу возбудителя и патогенез инфекции, можно предсказать тип протективного иммунного механизма.

все Т-клетки, экспрессирующие соответственный продукт Vβ-гена, становятся активированными в отсутствие процессинга антигена и его презентации в виде пептидов в пептидсвязывающей полости молекул MHC, т. е. в отсутствие того, что требуется для нормальной Т-клеточной активации. Суперантигены обнаружены у стафилококков, стрептококков, микоплазм и других инфекционных агентов. Биологическая роль суперантигенов в качестве инструментов бактериальной адаптации остается неясной, но одним из основных их эффектов может быть интоксикация, вызванная массированным выбросом цитокинов (лимфокинов) многочисленными, одновременно стимулированными Т-клетками. По-видимому, именно таков патогенез синдрома токсического шока, вызываемого стафилококковыми токсинами, в частности TSST-1 (toxic shock syndrome toxin).

Белки теплового шока – высококонсервативные иммунодоминантные антигены

Найденные у всех эукариотических и прокариотических клеток белки теплового шока выполняют важные функции в сборке, укладке и транспорте других молекул. Эти белки образуются в значительном количестве в клетках при аномально высокой температуре или при стрессе иной природы, что в частности отражает их роль в стабилизации белковых структур. Аминокислотные последовательности белков теплового шока высококонсервативны (однотипны) у различных организмов; в связи с этим высказано предположение, что поскольку бактериальные белки теплового шока настолько сходны с аналогичными белками человека, они могут вызывать аутоиммунный ответ. Парадоксальным образом при протективном иммунном ответе белки теплового шока многих патогенных микроорганизмов вос-

принимаются иммунной системой вопреки такому сходству как иммунодоминантные (целевые) антигены. Это, однако, можно рассматривать как эволюционное преимущество, поскольку с помощью Т-клеток, распознающих набор консервативных эпитопов белков теплового шока, организм-хозяин способен, по-видимому, распознавать любой патогенный организм.

ИММУНИТЕТ К ГРИБАМ

Четыре типа микозов

О тонких механизмах иммунитета к грибковым заболеваниям известно очень немногое, но предполагается, что они в основном подобны механизмам устойчивости к бактериальным инфекциям. Микозы человека можно разделить на четыре основных типа.

- **Поверхностные микозы;** их вызывают грибы-дерматофиты, как правило поражающие только отмершие кератинизированные компоненты эпидермиса кожи, волосы и ногти.
- **Подкожные микозы;** это, например, хромомикоз, споротрихоз и мицетома, при которых в подкожной клетчатке образуются хронически воспаленные изъязвляющиеся узелки. Эти заболевания вызывают грибы-сапрофиты, проникающие в организм через травмированную кожу.
- **Респираторные микозы;** примеры – гистоплазмоз и кокцидиомикоз, скрытно или остро протекающие, очаговые (изредка диссеминированные) поражения легких, часто с образованием специфических гранулем.
- **Кандидоз** – поверхностное (редко системное) поражение кожи и слизистых оболочек, вызываемое обычным компонентом микрофлоры человека, грибом-комменсалом *Candida albicans.*

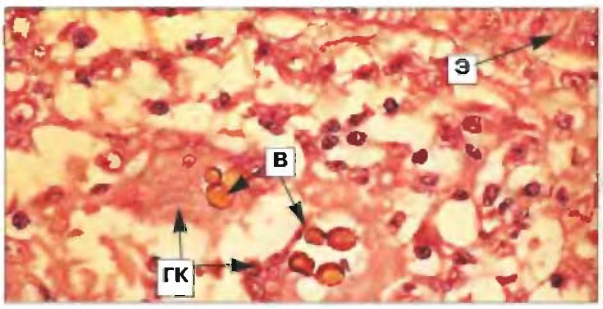


Рис. 17.18
Проявления Т-клеточного иммунитета при хромомикозе (подкожный микоз). Пигментированные клетки возбудителя хромомикоза (В) располагаются в коже больного внутри гигантских клеток (ГК). Вокруг виден лейкоцитарный инфильтрат, состоящий преимущественно из мононуклеаров. Вверху заметен участок базального слоя эпидермиса (Э). Окрашивание гематоксилином и эозином. × 400. (Микрофотография любезно предоставлена проф. R.J. Hay.)

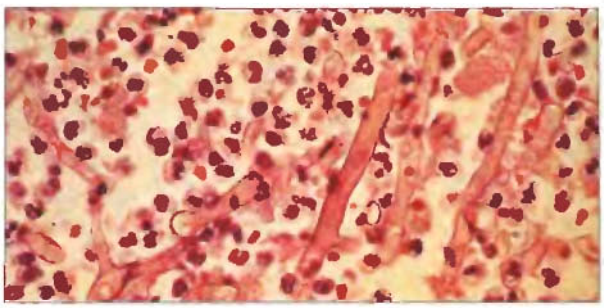


Рис. 17.19
Нейтрофилы в качестве эффекторных клеток иммунного ответа при микозе, вызванном мукоровым грибом. Представлен срез из легочной ткани больного этим типом микоза; в данном случае это оппортунистическая инфекция, возникшая при нарушении иммунитета. Воспалительный инфильтрат вокруг грибных гиф состоит почти исключительно из полиморфноядерных нейтрофилов. Это заболевание особенно часто возникает при нейтропении (отсутствии нейтрофилов). Окрашивание гематоксилином и эозином. × 400. (Микрофотография любезно предоставлена проф. R.J. Hay.)

Основу устойчивости к микотической инфекции составляет, по-видимому, клеточный иммунитет

Кожные грибковые инфекции обычно протекают как самоограничивающиеся, оставляя некоторую весьма ограниченную устойчивость к повторному заражению. Основой этой устойчивости скорее всего служит клеточный иммунитет, судя по тому, что у выздоровевших пробы на гиперчувствительность замедленного (IV) типа с грибными антигенами дают положительный результат, тогда как у больных с хроническими поражениями, как правило, отрицательный. Т-клеточный иммунитет важен как защитный механизм и при глубоких микозах – иногда устойчивость к ним удается перенести иммунными Т-клетками. Предположительно Тх-клетки выделяют цитокины, мобилизующие макрофаги на уничтожение грибов (*рис. 17.18*). При респираторных микозах клинические проявления до

некоторой степени напоминают наблюдаемые при проказе (см. гл. 26). Нарушение иммунофизиологии под действием иммунодепрессивных лекарственных средств или подавление антибиотиками нормальной микрофлоры могут стать причиной поражения организма грибами рода *Candida*. Кандидоз часто развивается также при синдромах иммунологической недостаточности (тяжелый комбинированный иммунодефицит, аплазия тимуса, СПИД и т. п.), что свидетельствует о важном значении иммунной системы для удержания грибов в нормальном статусе комменсалов.

Кроме того, имеются доказательства участия полиморфноядерных нейтрофилов в иммунном ответе при респираторных микозах, например вызванных мукоровыми грибами (*рис. 17.19*). Важная роль в устойчивости к грибам принадлежит, возможно, катионным белкам дефензинам (см. с. 326): фагоциты больных с нарушенными механизмами восстановления O_2 способны тем не менее уничтожать дрожжевые клетки и мицелий грибов почти так же эффективно, как в норме (*рис. 17.20*). Против *Criptococcus* активно действует NO-механизм, и не исключено, что он важен для устойчивости ко многим грибам.

Уничтожение грибов моноцитами и/или макрофагами

Вид грибов	Доноры моноцитов и макрофагов		
	здоровые индивиды	больные хроническим гранулематозом	больные с дефицитом миелопероксидазы
Candida albicans	+	+/–	+/–
Candida parapsilosis	+	–	?
Cryptococcus neoformans	+	?	+
Aspergillus fumigatus, конидии	+	+	?
Aspergillus fumigatus, гифы	+	+	?

Рис. 17.20
В норме моноциты и макрофаги способны уничтожать многие грибы. В отношении определенных видов грибов эта способность сохраняется при хроническом гранулематозе и наследственном дефиците миелопероксидазы, что свидетельствует о важном значении кислород-независимых защитных механизмов. («+» — уничтожение; «–» — не уничтожают; «+/–» — иногда уничтожают; «?» — нет данных.)

Вопросы для размышления

- Какими бактерицидными механизмами обладают фагоциты?
- Как связана перегрузка иммунной системы антигенами кишечной микрофлоры с патогенезом аутоиммунных заболеваний?
- Каким образом поглощенные фагоцитами бактерии могут избежать лизиса? Приведите примеры различных способов микробной самозащиты.
- Как можно выявить участие комплемента и фагоцитов в уничтожении различных микробов? Какие генетические и молекулярно-биологические методы позволяют выяснить способы защиты бактерий от разрушения комплементом и от фагоцитоза?
- Каким образом цитокины активируют макрофаги для разрушения поглощенных бактерий? Всегда ли эта активация выгодна организму-хозяину?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Roitt I.M., Delves P.J. (ed). 1992. *Encyclopedia of immunology.* London: Academic Press. (См. многочисленные статьи по отдельным видам грибов и бактерий.)

Бактерии

Catterall J.R., Black C.M., Leventhal J.P. et al. 1987. Monoxidative microbicidal activity in normal human alveolar and peritoneal macrophages. *Infect. Immun.* **55**: 1635–1640.

Cohen I.R., Young D.B. 1991. Autoimmunity, microbial immunity and the immunological homunculus. *Immunol. Today* **12**: 105–110.

Falkow S., Isberg R.R., Portnoy D.A. 1992. The interaction of bacteria with mammalian cells. *Ann. Rev. Cell. Biol.* **8**: 333–363.

Heeg K., Miethke T., Wagner H. 1996. Superantigen-mediated lethal shock: the functional state of ligand-reactive T cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **216**: 83–100.

Henderson B., Poole S., Wilson M. 1996. Bacterial modulins: a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis. *Microbiol. Rev.* **60**: 316–341.

Jones B., Pascopella L., Falkow S. 1995. Entry of microbes into the host using M cells to break the mucosal barrier. *Curr. Opin. Immunol.* **7**: 474–478.

Kagan B.L., Ganz T., Lehrer R.I. 1994. Defensins: a family of antimicrobial and cytotoxic peptides. *Toxicology* **87**: 131–149.

Kaufmann S.H. 1993. Immunity to intracellular bacteria. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 129–163.

Levy O. 1996. Antibiotic proteins of polymorphonuclear leukocytes. *Eur. J. Haematol.* **56**: 263–277.

Moffitt M.C., Frank M.M. 1994. Complement resistance in microbes. *Springer Semin. Immunopathol.* **15**: 327–344.

Moors M.A., Portnoy D.A. 1995. Identification of bacterial genes that contribute to survival and growth in an intracellular environment. *Trends Microbiol.* **3**: 83–85.

Ofek I., Goldhar J., Keisari Y. et al. 1995. Nonopsonic phagocytosis of microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* **49**: 239–276.

Orme I., Flynn J.L., Bloom B.R. 1993. The role of CD8+ T cells in immunity to tuberculosis. *Trends Microbiol.* **1**(3): 77–78.

Rietschel E.T., Brade H., Holst O. et al. 1996. Bacterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxication. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **216**: 39–81.

Rook G.A.W., Hernandez-Pando R., The pathogenesis of tuberculosis. *Ann. Rev. Microbiol.* **50**: 259–284.

Rothstein J.L., Schreiber H., 1988. Synergy between tumour necrosis factor and bacterial products causes haemorrhagic necrosis and lethal shock in normal mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**: 607–611.

Thiel S. 1992. Mannan-binding protein, a complement activating animal lectin. *Immunopharmacology* **24**: 91–99.

Ulevitch R.J., Tobias P.S. 1995. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 437.

Vouldoukis I., Riveros-Moreno V., Dugas B. et al. 1995. The killing of *Leischmania major* by human macrophages is mediated by nitric oxide induced after ligation of the Fc epsilon RII/CD23 surface antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**: 7804–7808.

Yamamura M., Uyemura K., Deans R. et al. 1991. Defining protect the responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science* **254**: 277–279.

Yu B., Wright S.D., 1996. Catalytic properties of lipopolysaccharide (LPS) binding protein. Transfer of LPS to soluble CD14. *J. Biol. Chem.* **271**: 4100–4105.

Грибы

Jones H.E. 1993. Immune response and host resistance of humans to dermatophyte infection. *J. Am. Acad. Dermatol.* **28**: S12–18.

Leibovici V., Evron R., Axelrod O. et al. 1995. Imbalance of immune responses in patients with chronic and widespread fungal skin infection. *Clin. Exp. Dermatol.* **20**: 390–394.

Levitz S.M. 1992. Overview of host defenses in fungal infections. *Clin. Infect. Dis.* **14**: S37–42.

Murphy J.W. 1991. Mechanisms of natural resistance to human pathogenic fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* **45**: 509–538.

Иммунитет к паразитарным инвазиям 18

- **Паразитами заражена значительная часть населения земного шара.** Как правило, они специфичны в отношении хозяина и в большинстве случаев вызывают хроническую инвазию. Многие паразиты распространяются беспозвоночными-переносчиками и имеют сложный жизненный цикл, причем на разных стадиях развития синтезируют различные антигены.
- **Устойчивость организма-хозяина** обеспечивают различные защитные реакции. Способностью уничтожать как простейших, так и гельминтов обладают эффекторные клетки – макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и тромбоциты. Они секретируют цитотоксические соединения, например высокоактивные метаболиты кислорода и оксид азота, и функционируют более эффективно при активации цитокинами.
- **Основная роль в развитии иммунитета принадлежит Т-клеткам.** Антитела, как сами по себе, так и в сочетании с комплементом, эффективно действуют против внеклеточных паразитов. Они усиливают фагоцитарный и цитотоксический потенциал эффекторных клеток и могут предотвращать внедрение паразитов в новые клетки организма-хозяина.
- **Паразиты** различными путями **избегают действия иммунного ответа хозяина,** иногда используя ответные реакции хозяина для своего собственного развития и в большинстве случаев противодействуя им.
- **При заражении паразитическими червями** повышаются численность эозинофилов и уровень циркулирующих антител IgE. Для развития иммунного ответа важны Тх2- и Тх1-клетки. Тх2-клетки необходимы для изгнания кишечных гельминтов. Продукты тучных клеток взаимодействуют с эозинофилами.
- Т-клетки, необходимые для осуществления защитных реакций, могут относиться к популяции **как $CD4^+$, так и $CD8^+$.** Тх1-клетки обеспечивают защиту против внутриклеточных простейших путем секреции ИФγ, активирующего макрофаги.
- **Паразитарные инвазии** сопровождаются образованием больших количеств неспецифических антител, спленомегалией и гепатомегалией. Иммунопатологические эффекты в основном могут быть опосредованы Т-клетками.

Как правило, паразитарные инвазии вызывают активацию ряда иммунологических защитных механизмов, гуморальных и клеточных, причем эффективность ответных реакций зависит от природы паразита и стадии инвазии. В данной главе рассмотрены основные аспекты иммунитета к паразитарным инвазиям и особенно подробно к заболеваниям, вызываемым некоторыми из наиболее важных паразитов человека (*рис. 18.1*).

Паразитические простейшие способны обитать в кишечнике (например, амебы), в крови (например, африканские трипаносомы), внутри эритроцитов (например, *Plasmodium* spp.), в макрофагах (например, *Leishmania* spp. и *Toxoplasma gondii*), в том числе локализованных в печени и селезенке (например, *Leishmania* spp.), или в мышцах (например, *Trypanosoma cruzi*). К паразитическим червям – гельминтам, которые заражают человека, относятся трематоды, или сосальщики (например, шистосомы), цестоды, или ленточные черви (например, широкий лентец, цепни, эхинококк), и нематоды, или круглые черви (например, *Trichinella spiralis*, анкилостомы, острицы, аскариды и нитчатки, или филярии). Цестоды и половозрелые анкилостомы заселяют кишечник, половозрелые шистосомы обитают в кровеносных сосудах, а некоторые филярии в лимфатической системе (*рис. 18.2*). Очевидно, что при таком разнообразном распространении возможны и самые разнообразные патологические реакции.

Многие гельминты имеют сложный жизненный цикл с миграцией через различные участки организма-хозяина, причем в различных тканях они проходят определенные стадии своего развития. На последнем этапе развития гельминт достигает области, где окончательно созревает и проводит оставшуюся часть жизненного цикла (*рис. 18.3*). Анкилостомы и личинки шистосом заражают хозяина, непосредственно проникая

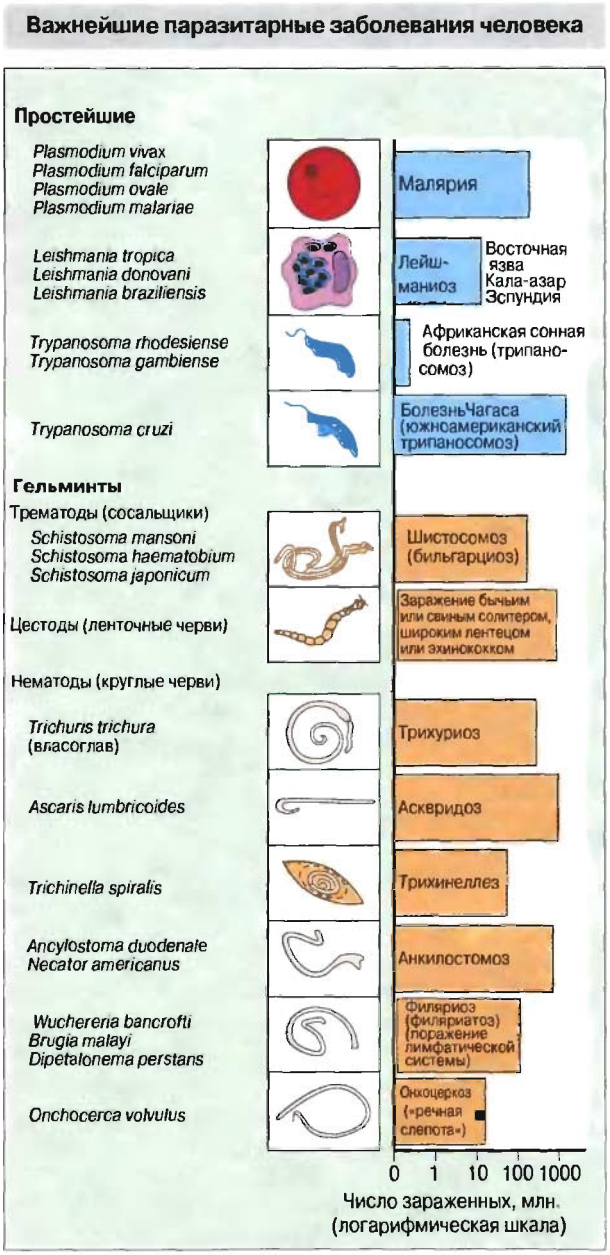


Рис. 18.1
Статистика зараженности паразитами по данным Всемирной организации здравоохранения (1993 г.).

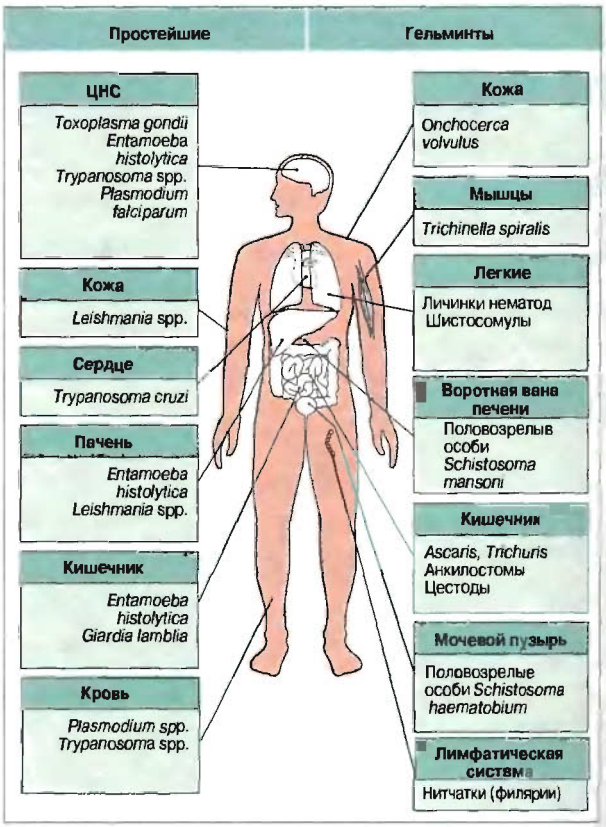


Рис. 18.2
Участки поражения при наиболее распространенных паразитарных инвазиях.

через кожу; ленточные черви и круглые черви попадают в организм человека через рот; распространение филярий зависит от промежуточного хозяина-насекомого или от переносчика. Большинство паразитических простейших распространяется насекомыми-переносчиками, а *Toxoplasma, Giardia* и амебы попадают в организм человека через рот. Возбудителей малярии переносят комары, трипаносом – мухи цеце, клопы и др. (в частности *T. cruzi* – клопы-хищнецы подсемейства *Triatominae*), *Leishmania* – москиты. Разнообразие путей заражения создает дополнительные проблемы при разработке способов иммунизации.

ОСНОВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПАРАЗИТАРНЫХ ИНВАЗИЙ

Паразитами заражена большая часть населения земного шара

Паразитарные болезни представляют собой серьезную медицинскую проблему, особенно в тропических странах (*рис. 18.1*). Малярия, напри-

Гельминты в организме человека

Паразит и вызываемое им заболевание	Срок выживания, годы	Количество яиц или личинок, образуемых одной половозрелой особью в сутки	Путь заражения	Миграция личинок	Место созревания паразита
Ascaris lumbricoides (аскаридоз)	1–2	>200 000	Через рот (яйца)	Кишечник → кровь → легкие → трахея → глотка	→ тонкий кишечник
Trichuris trichura (трихуриоз)	1–2		Через рот (яйца)	Кишечник	→ слепая кишка
Ancylostoma duodenale (анкилостомоз)	2–3	10 000–20 000	Через кожу, обычно ступней (личинки из почвы)	Кровь → легкие → трахея → глотка	→ кишечник
Schistosoma mansoni (шистосомоз)	3–5	100–300	Через кожу (церкарии, вышедшие из промежуточных хозяев – водных улиток)	Кровь → легкие → кровь	→ воротная вена печени
Schistosoma haematobium (мочеполовой шистосомоз)	3–5	500–3000	Через кожу (церкарии, вышедшие из промежуточных хозяев – водных улиток)	Кровь → легкие → кровь	→ вены мочевого пузыря
Wuchereria bancrofti (филяриоз)	3–5		Через прокол в коже при укусе комара-переносчика	Кровь	→ лимфатическая система
Onchocerca volvulus (онхоцеркоз «речная слепота»)	8–10	1600	Через кожу при укусе мошки	Кожа	→ подкожная ткань

Рис. 18.3
Сроки выживания, размножение и пути миграции гельминтов в организме человека.

мер, служит причиной смерти 1–2 млн. человек ежегодно. Кишечными гельминтами заражена треть населения земного шара; тяжесть заболевания зависит от степени инвазии, однако у детей даже инвазии средней тяжести могут вызывать задержку роста и замедление умственного развития. Паразитарные болезни характеризуются также анемией и истощением.

Паразитарные инвазии имеют ряд общих особенностей

Паразитические простейшие и черви значительно крупнее бактерий и вирусов (*рис. 18.4*) и соответственно обладают бóльшим количеством и разнообразием антигенов. Для некоторых видов характерна смена поверхностных антигенов – антигенная изменчивость. Паразиты, имеющие сложный жизненный цикл, могут экспрессировать некоторые антигены только на определенной стадии развития, вызывая соответствующий специфический иммунный ответ. Так, у малярийных паразитов белковая оболочка спорозоита (инфекционная, или расселительная, стадия, в виде которой плазмодий передается комарами и инфицирует организм-хозяин) вызывает образование специфичных антител, не реагирующих с паразитом на эритроцитарной стадии его цикла развития. Паразитический червь *T. spiralis* на разных стадиях жизненного цикла также экспрессирует различные антигены.

Простейшие, достаточно мелкие по размерам, чтобы паразитировать внутри клеток человека, обладают особыми свойствами проникновения в клетки и ткани организма-хозяина. Мерозоиты малярийного плазмодия (стадия цикла развития, на которой плазмодий способен проникать в эритроциты) связываются на поверхности клеток крови с определенными рецепторами и используют для проникновения внутрь клетки специальную органеллу — роптрий. Паразитические лейшмании для внедрения в макрофаги используют рецептор комплемента, чтобы помочь клеткам хозяина захватить их. Эти паразиты могут также проникать внутрь клетки, взаимодействуя с маннозо-фукозным рецептором на поверхности макрофагов.

Большинство паразитов специфично в отношении хозяина

За миллионы лет эволюции паразитические организмы хорошо адаптировались к своим хозяевам и обнаруживают ярковыраженную специфичность к ним. Например, возбудители малярии птиц, грызунов или человека способны размножаться только в организме данного хозяина.

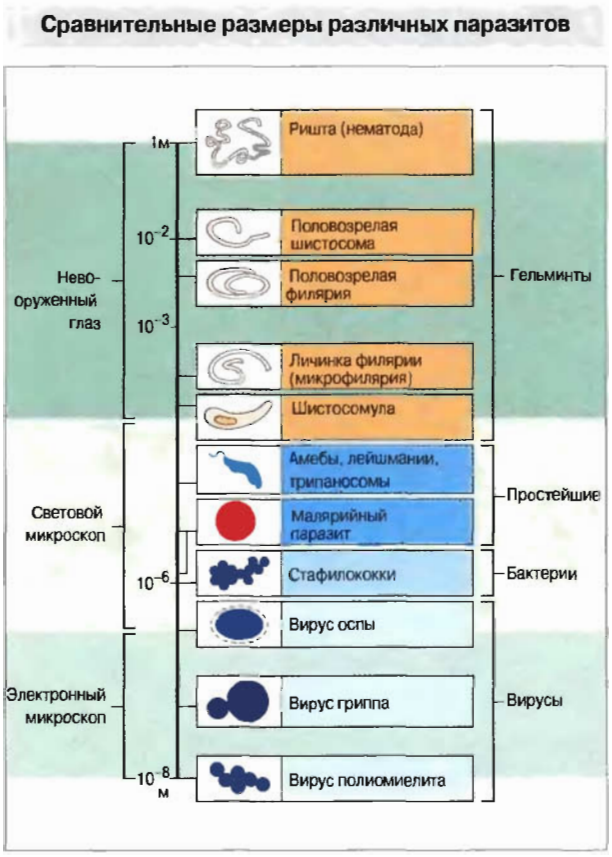


Рис. 18.4
Сравнительные размеры различных паразитических организмов.

Из этого правила имеются некоторые исключения: например, паразитическое простейшее *T. gondii* способно не только заражать все содержащие ядро клетки млекопитающих и размножаться в них, но также инфицировать незрелые эритроциты млекопитающих, культивируемые клетки насекомых и ядерные эритроциты птиц и рыб. Сходным образом, свиной солитер способен заражать человека.

Устойчивость хозяина к паразитарной инвазии может быть генетически обусловленной

Резистентность индивидуальных хозяев к инвазии варьирует и может контролироваться различными генами иммунного ответа. Ряд линий мышей (и некоторые люди), имеющие определенные гены MHC, не обладают способностью к активной продукции антител против одного из пептидов оболочки спорозоитов малярийного паразита, поскольку их Т-клетки не сенсибилизируются. В то же время наличие некоторых антигенов HLA, широко распространенных у жителей Западной Африки, но редко встречаемых у европеоидов, по-видимому, коррелирует с иммунитетом к тяжелым формам малярии.

Гены не-MHC также могут иметь важное значение.

- Чувствительность мышей к заражению *Leishmania donovani* и некоторыми другими паразитами определяется одним доминантным геном, регулирующим активацию макрофагов (см. гл. 1).
- Мерозоиты возбудителя малярии *Plasmodium vivax* используют для проникновения в эритроциты специфический рецептор их поверхности – антиген группы крови Даффи. У некоторых африканских народностей этот антиген утрачен – возможно, под давлением отбора – и они высокоустойчивы к заражению этим паразитом.

Для большинства гельминтозов характерно присутствие значительного количества паразитов у относительно небольшого числа лиц, однако следует отметить, что это необязательно обусловлено генетическими различиями в устойчивости. Результаты поведенческих исследований указывают на то, что даже в небольших сообществах отдельные индивиды сильно различаются по риску заражения, так как у них весьма различны возможности контакта с паразитами.

Многие паразитарные инвазии — хронические заболевания

Паразиту не выгодна гибель организма-хозяина, по крайней мере до тех пор, пока не произойдет его передача другому хозяину. При хронической инвазии тип иммунного ответа с течением времени меняется и зависит от наличия циркулирующих антител, персистентной антигенной стимуляции и образования иммунных комплексов (*рис. 18.5*). Для хронических инвазий типичны иммуносупрессия и иммунопатологические реакции.

Устойчивость организма-хозяина зависит от разнообразных эффекторных механизмов иммунитета

Развитие иммунитета – это сложный процесс, основанный на взаимодействии многих типов

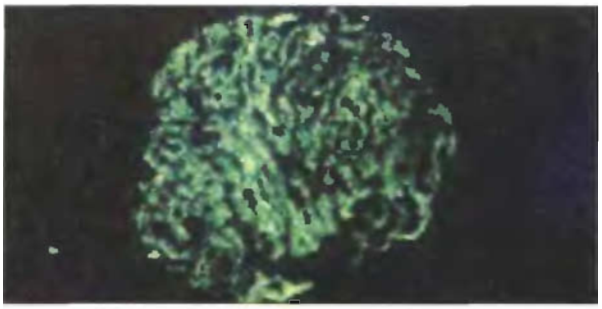


Рис. 18.5
Отложение иммунных комплексов при нефротическом синдроме, характерном для четырехдневной малярии. Микрофотография (флуоресцентная электронная микроскопия низкого напряжения) почечного клубочка (материал биопсии от нигерийского ребенка). При малярии, вызванной *Plasmodium malariae*, в результате отложения иммунных комплексов может развиться гломерулонефрит. Срез окрашен ФИТЦ, конъюгированным с IgG к антигенам человека; можно видеть гранулярное отложение иммуноглобулинов в капиллярных петлях почечного клубочка. (Фото любезно предоставлено д-ром V. Houba.)

клеток в течение определенного периода времени. Часто эффекты осуществляются локально, и различные клетки, секретирующие отдельные медиаторы, могут находиться в участках иммунологического отторжения. Кроме того, иммунные реакции, препятствующие размножению паразита в организме, могут отличаться от реакций, обеспечивающих развитие окончательной устойчивости. При некоторых гельминтозах формируется «сопутствующий иммунитет»; первичная инвазия не ликвидируется, но стабилизируется, и хозяин приобретает резистентность к заражению новыми гельминтами того же вида.

Гуморальный ответ как таковой необходим для уничтожения внеклеточных паразитов, например локализующихся в крови (*рис. 18.6*), жидкостях организма или кишечнике. Однако то, какой тип ответа в итоге будет главным, обеспечивающим защиту, зависит от природы паразита. Например, антитела сами по себе или в сочетании с комплементом могут повреждать некоторых внеклеточных паразитов, однако их действие усиливается, когда они функционируют совместно с эффекторными клетками. Как отмечено выше, при одной и той же инвазии в борьбе с паразитом на разных стадиях его жизненного цикла участвуют различные эффекторные механизмы. Так, при малярии антитела к внеклеточным формам паразита блокируют их способность проникать в новые клетки, в то время как клеточно-опосредованный ответ предотвращает развитие шизонтов в гепатоцитах. Протективный иммунитет к малярии не коррелирует непосредственным образом с уровнем антител и может быть индуцирован даже в их отсутствие. Это установлено на мышах, иммунизированных специально полученным штаммом *Salmonella typhimurium*; в геном бактерий этого штамма методом генетической инженерии внедрен ген, кодирующий поверхностный антиген спорозоитов малярийного плазмодия. При последующем заражении таких мышей спорозоитами у животных, несмотря на отсутствие специфических антител, развивался иммунитет к возбудителю малярии.

ЭФФЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Для того чтобы успешно внедриться в нового хозяина, до того как его иммунная система сформирует специфический иммунитет, паразиту необходимо преодолеть уже действующие защитные механизмы хозяина. Определенную роль среди таких механизмов выполняет комплемент, поскольку некоторые паразиты, включая половозрелых червей и способных к инвазии личинок *T. spiralis* и шистосомул *Schistosoma mansoni*, имеют в составе поверхностной оболочки определенные молекулярные структуры, которые запускают альтернативный путь активации комплемента.

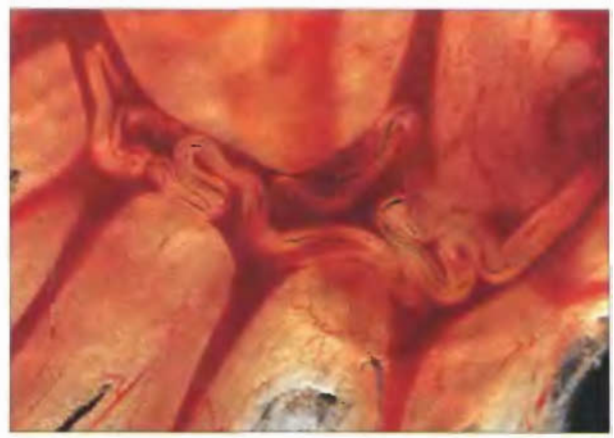


Рис. 18.6
Пары половозрелых шистосом в кровеносных сосудах брыжейки. Шистосомы высокоустойчивы к интенсивному воздействию эффекторных механизмов иммунитета. Половозрелые особи могут персистировать в организме в среднем 3–5 лет. (Фото любезно предоставлено д-ром A. Agnew.)

Первую линию защиты формируют макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и тромбоциты

Антитела и цитокины, специфически продуцируемые при развитии иммунного ответа на паразитарные антигены, стимулируют антипаразитарную активность всех указанных выше эффекторных клеток. Однако тканевые макрофаги, моноциты и гранулоциты обладают и определенной предсуществующей активностью.

Тип защитной реакции зависит, очевидно, от того, каким путем паразит проникает в организм.

- Церкарии *S. mansoni* проникают через кожу – экспериментальное удаление макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов из кожи мышей увеличивает восприимчивость к инвазии.
- Трипаносомы и малярийные паразиты, проникающие в кровь, удаляются из циркуляции фагоцитарными клетками в селезенке и печени.
- Сравнение линий мышей с различными иммунологическими дефектами показало, что устойчивость к инфицированию *Trypanosoma rhodesiense* обеспечивают макрофаги. На более поздней стадии инфекции они захватывают трипаносом, опсонизированных антителами и фрагментом комплемента C3b, еще быстрее в печени.

До того как макрофаги начнут функционировать в качестве антигенпрезентирующих клеток, инициирующих иммунный ответ, они действуют как эффекторные клетки, чтобы подавить размножение паразитов или даже разрушить их. Кроме того, макрофаги секретируют вещества, регулирующие воспалительную реакцию. Некоторые из них – ИЛ-1, ИЛ-2, ФНОα и колониестимулирующие факторы (КСФ) – усиливают иммунитет, активируя другие клетки или стимулируя их пролиферацию. Такие цитокины, как ИЛ-10, простагландины и ТФРβ, могут проявлять противовоспалительные и иммуносупрессивные свойства.

Макрофаги способны уничтожать внеклеточных паразитов

Фагоцитоз, осуществляемый макрофагами, обеспечивает важную линию защиты против мелких по размерам паразитов; помимо этого макрофаги секретируют многие цитотоксические факторы, позволяющие уничтожать паразитов без их поглощения. После активации цитокинами макрофаги способны уничтожать как относительно мелких внеклеточных паразитов, например малярийных на эритроцитарной стадии жизненного цикла, так и крупных по размерам паразитов, например шистосом на стадии развития шистосомул.

Макрофаги функционируют также как клетки-киллеры в реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ). Под действием специфических IgG и IgE, например, усиливается способность макрофагов уничтожать шистосомул (молодые особи шистосом). Кроме того, макрофаги секретируют цитокины, такие как ФНОα и ИЛ-1, которые взаимодействуют с другими типами клеток; например, они придают гепатоцитам устойчивость к малярийным паразитам.

После фагоцитоза, например *T. cruzi*, *T. gondii*, *Leishmania* spp. и малярийных паразитов, в макрофагах и гранулоцитах образуются высокоактивные метаболиты кислорода; филярии и шистосомы также стимулируют вспышку клеточного дыхания. Активированные цитокинами макрофаги выделяют больше супероксидных кислородных радикалов и пероксида водорода, чем тканевые оседлые макрофаги. Активизируются также и их O_2-независимые механизмы уничтожения чужеродных клеток.

Один из эффективных O_2-независимых токсинов – это оксид азота NO, продукт метаболизма L-аргинина. Образование его индуцируют цитокины ИФα и ФНОα, причем оно значительно усиливается при их совместном действии. Оксид азота могут также продуцировать эндотелиальные клетки. Эффект NO вносит определенный вклад в устойчивость к лейшманиозу, шистосомозу и малярии и предположительно важен для подавления большинства паразитарных инвазий (*рис. 18.7*). Например, врожденная устойчивость к заражению *T. gondii*, утрачиваемая при нарушениях иммунитета, по-видимому, обусловлена подавлением размножения паразита посредством такого O_2-независимого механизма.

Активация макрофагов характерна для ранних стадий инвазии

После заражения быстро усиливаются все эффекторные функции макрофагов. Специфическую активацию этих клеток вызывают цитокины, выделяемые Т-клетками (например, ИФγ, ГМ-КСФ, ИЛ-3 и ИЛ-4), но макрофаги могут активироваться и независимо от Т-клеток, например:

Токсическое действие NO на *Leishmania* in vitro

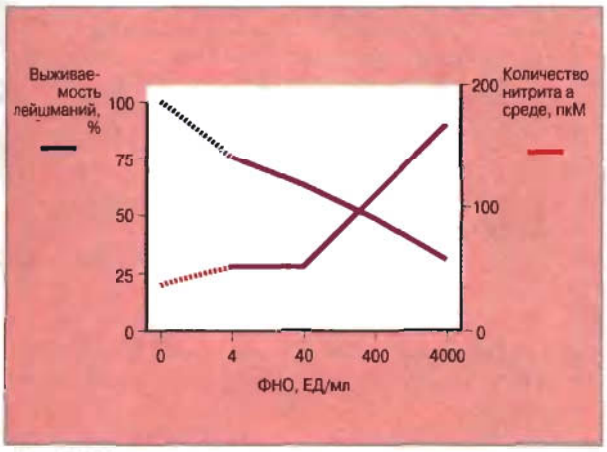


Рис. 18.7
Доказательство того, что уничтожение *Leishmania major* активированными макрофагами коррелирует с выделением ими оксида азота. Культивируемые макрофаги были активированы различными дозами рекомбинантного ФНОα; при использовании наиболее высоких доз выживаемость паразитов снижалась примерно на треть по сравнению с контролем. С этим коррелировало увеличение количества выделяемого макрофагами NO (измерение по концентрации нитрита в культуральной жидкости). При подавлении образования NO выживаемость паразитов не снижалась (По Liew et al. 1990. *Immunol.* **71**: 556.)

- нормальные клетки-киллеры (НК) секретируют ИФγ при стимулировании ИЛ-12, который выделяют макрофаги;
- макрофаги секретируют ФНОα в ответ на некоторые паразитарные антигены (например, фосфолипид-содержащие антигены малярийных паразитов и отдельные антигены *T. brucei*); затем этот цитокин активирует другие макрофаги.

Хотя ФНОα могут секретировать и некоторые другие типы клеток, активированные макрофаги служат наиболее важным источником этого фактора, необходимого для протективного ответа на инвазию некоторых простейших (например, *Leishmania* spp.) и гельминтов. Так, ФНОα активирует макрофаги, эозинофилы и тромбоциты для уничтожения шистосомул *S. mansoni*, причем его действие усиливается в присутствии ИФγ.

Следует отметить, что ФНОα может оказывать при инвазии как благоприятный, так и неблагоприятный эффект, в зависимости от его количества и от того, находится он в свободной циркуляции или сосредоточен локально. Так, содержание этого цитокина в сыворотке крови при малярии, вызванной *Plasmodium falciparum*, коррелирует с тяжестью заболевания. Введение ФНОα мышам чувствительной линии, инфицированным возбудителем малярии грызунов *P. chabaudi*, оказывает терапевтический эффект, но у животных генетически устойчивой линии вызывает гибель. Возможно, мыши этой линии уже вырабатывают достаточное количество ФНОα, которое препятствует размножению паразита, и введение дополнительного количества данного фактора приводит к токсическому эффекту.

Нейтрофилы способны уничтожать крупных и мелких паразитов

Эффекторные свойства, проявляемые макрофагами, характерны и для нейтрофилов — они обладают фагоцитарной активностью и способны уничтожать паразитов с помощью как O_2-зависимых, так и O_2-независимых механизмов, в том числе посредством NO. При этом для нейтрофилов характерна более интенсивная вспышка дыхания по сравнению с макрофагами, а их секреторные гранулы содержат чрезвычайно цитотоксичные белки (см. гл. 2). Активацию нейтрофилов могут вызывать цитокины, например ИФγ, ФНОα и ГМ-КСФ. Внеклеточное разрушение паразитов нейтрофилы осуществляют посредством выделяемого ими H_2O_2; внутриклеточное же уничтожение поглощенных паразитов происходит под действием компонентов гранул. Нейтрофилы присутствуют в очагах воспаления, вызванных внедрением паразитов, и, вероятно, способствуют уничтожению паразитов, высвобождающихся из разрушаемых ими клеток. Подобно макрофагам, нейтрофилы имеют Fc-рецепторы и рецепторы комплемента и могут участвовать в антителозависимых цитотоксических реакциях, например уничтожении шистосомул *S. mansoni*. Обладая такой активностью, они в большей степени способны к разрушению некоторых видов нематод, в том числе *T. spiralis*, чем эозинофилы, хотя относительная эффективность указанных двух типов клеток может зависеть от изотипа и специфичности антител.

Активность эозинофилов обычно ассоциирована с гельминтозами

Эозинофилы, как предполагается, эволюционно возникли специально для защиты против тканевых стадий развития паразитов, слишком крупных, чтобы их можно было уничтожить путем фагоцитоза. Согласно этой гипотезе, локализацию эозинофилов около паразитов и усиление их антипаразитарных функций обеспечивают IgE-зависимые реакции тучных клеток, предназначенные в первую очередь именно для этого.

Важная роль эозинофилов in vivo установлена в экспериментах с использованием специфичной к ним антисыворотки. У мышей, зараженных *T. spiralis* и получавших такую антисыворотку, в мышцах образовывалось больше цист по сравнению с контрольными животными: в условиях инактивации эозинофилов организм-хозяин не мог уничтожать паразитов и обезвреживал их, насколько возможно, путем инкапсулирования.

Однако недавно проведенные исследования показали, что хотя эозинофилы и способны участвовать в борьбе организма с гельминтами, в частности ограничивая перемещения паразитов в тканях, они не всегда делают это. Например, удаление эозинофилов не ослабляет иммунитет у мышей, зараженных *S. mansoni*, и не уменьшает количество паразитов при заражении ленточными червями.

Эозинофилы способны уничтожать гельминтов с помощью O_2-зависимых и O_2-независимых механизмов

Эозинофилы обладают меньшей фагоцитарной активностью по сравнению с нейтрофилами. Дегрануляция эозинофилов происходит в ответ на изменения в их поверхностной мембране, и активность усиливается под действием цитокинов, например ФНОα и ГМ-КСФ. Однако большинство функций эозинофилов зависит от антиген-специфических механизмов. Так, при связывании эозинофилов in vitro с личинками гельминтов (например, *S. mansoni* и *T. spiralis*) интенсивность дегрануляции на поверхность паразитов повышается, если личинки нагружены IgE или IgG. Повреждение шистосомул может быть обусловлено действием главного основного белка (MBP, от англ. *m*ajor *b*asic *p*rotein) кристаллоидного ядра эозинофилов. MBP не специфичен к какой-либо определенной мишени, но не вызывает существенных повреждений близлежащих собственных клеток организма-хозяина, поскольку локализуется в небольшом пространстве между эозинофилом и шистосомой.

Эозинофилы и тучные клетки действуют совместно

Уничтожение шистосомул *S. mansoni* эозинофилами усиливается под действием продуктов тучных клеток, и в экспериментах in vitro эозинофилы от больных шистосомозом обнаруживают бóльшую активность, чем эозинофилы от здоровых индивидов. Выделяемые паразитом антигены вызывают локальную IgE-зависимую дегрануляцию тучных клеток с выбросом медиаторов, которые избирательно привлекают эозинофилы к определенному участку и усиливают их активность. Другие продукты эозинофилов позднее блокируют реакции тучных клеток. То, что указанные эффекторные механизмы могут функционировать in vivo, установлено в экспериментах на обезьянах; уничтожение шистосом у них связано с накоплением эозинофилов (*рис. 18.8*).

Тромбоциты способны уничтожать различных паразитов

Потенциальные мишени тромбоцитов — молодые особи трематод, а также *T. gondii* и *T. cruzi*. Как и у других эффекторных клеток, их цитотоксическая активность усиливается при обработке цитокинами (например, ИФγ и ФНОα). У крыс, зараженных *S. mansoni*, тромбоциты приобретают способность уничтожать паразитов одновременно с появлением в сыворотке компонентов острой фазы, но до того, как в ней обнаруживаются антитела. Инкубирование нормальных тромбоцитов в такой сыворотке может способствовать их активации. Тромбоциты, подобно макрофагам и другим эффекторным клеткам, обладают поверхностными Fcε-рецепторами, с участием которых осуществляется их антителозависимое цитотоксическое действие, ассоциированное с IgE.

Т-ЛИМФОЦИТЫ ВЫПОЛНЯЮТ ОСНОВНУЮ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ИММУНИТЕТА

При большинстве паразитарных инвазий защитный ответ может быть экспериментально передан здоровым животным путем переноса им клеток селезенки, в первую очередь Т-лимфоцитов, от иммунных животных. Необходимость Т-лим-

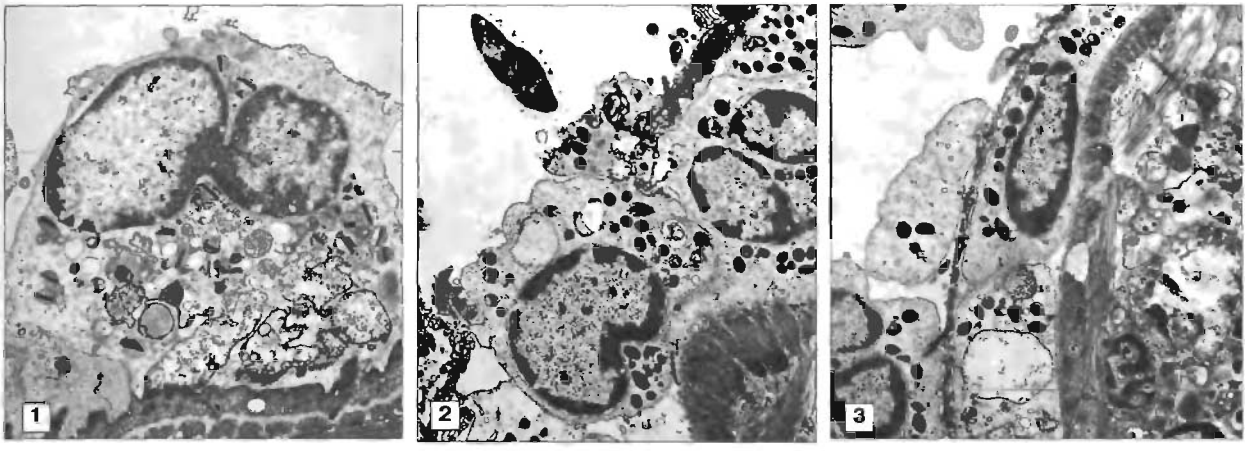


Рис. 18.8
Уничтожение шистосомулы эозинофилами. Эозинофилы способны прикрепляться к шистосомулам и уничтожать их путем дегрануляции с высвобождением содержимого гранул на поверхность паразита. Эта серия электронных микрофотографий демонстрирует прикрепление эозинофилов, дегрануляцию и высвобождение содержимого гранул на поверхность паразита (**1**), а также стадии разрушения его тегумента и миграции эозинофилов через поврежденные участки (**2** и **3**). (Фото любезно предоставлены д-ром D. McLaren.)

фоцитов для развития иммунитета подтверждается и тем, что мыши, истощенные по Т-клеткам, и бестимусные (голые) мыши не способны противостоять нелетальным протозойным инфекциям, например вызванным *T. cruzi* или *P. yoelii*, а истощенные по Т-клеткам крысы — освободиться от кишечных гельминтов *Nippostrongylus brasiliensis* (*рис. 18.9*). Однако в некоторых случаях перенос Т-клеток от сильно зараженных животных может подавлять протективный ответ и вызывать гибель реципиентов. Причина такого эффекта состоит в том, что эти Т-клетки секретируют ИЛ-4 и ИЛ-10 — цитокины, ингибирующие образование и активность ИФγ, необходимого для активации макрофагов и уничтожения паразитов.

Ранее роль цитокинов при паразитарных инвазиях можно было изучать только путем введения того или иного цитокина зараженным животным или путем его удаления с помощью моноклональных антител. Сейчас появился новый, более продуктивный подход, основанный на получении трансгенных по определенному цитокину мышей, а также мышей, у которых ген данного цитокина разрушен методом генного нокаута (нокаутные мыши). С помощью этого подхода установлено, что многие цитокины не только воздействуют на эффекторные клетки, усиливая их цитотоксическую или цитостатическую активность, но и функционируют как факторы роста, способствуя пролиферации определенных типов клеток. Так, наблюдаемые при малярии моноцитоз и увеличение селезенки, вызванное огромным ростом числа клеток, зависят от продуктов Т-лимфоцитов. Другие примеры Т-зависимых эффектов — это накопление макрофагов в гранулемах, образующихся в печени при шистосомозе, эозинофилия, характерная для гельминтозов, а также миграция эозинофилов и тучных клеток в слизистую кишечника при поражении гельминтами желудочно-кишечного тракта. Важные для освобождения от гельминтов тучные клетки слизистой и эозинофилы пролиферируют в ответ на продукты Т-клеток, а именно ИЛ-3 + ГМ-КСФ и ИЛ-5 соответственно.

Однако увеличение числа клеток может иметь и неблагоприятные последствия. Так, введение ИЛ-3 мышам, инфицированным *Leishmania major*, способно обострить локальную инфекцию и усилить распространение паразита, возможно вызывая пролиферацию костномозговых предшественников заражаемых им клеток.

Для защиты от некоторых паразитов необходимы Т-лимфоциты как $CD4^+$, так и $CD8^+$

Тип Т-лимфоцитов, участвующих в борьбе с инвазией, варьирует в зависимости от природы па-

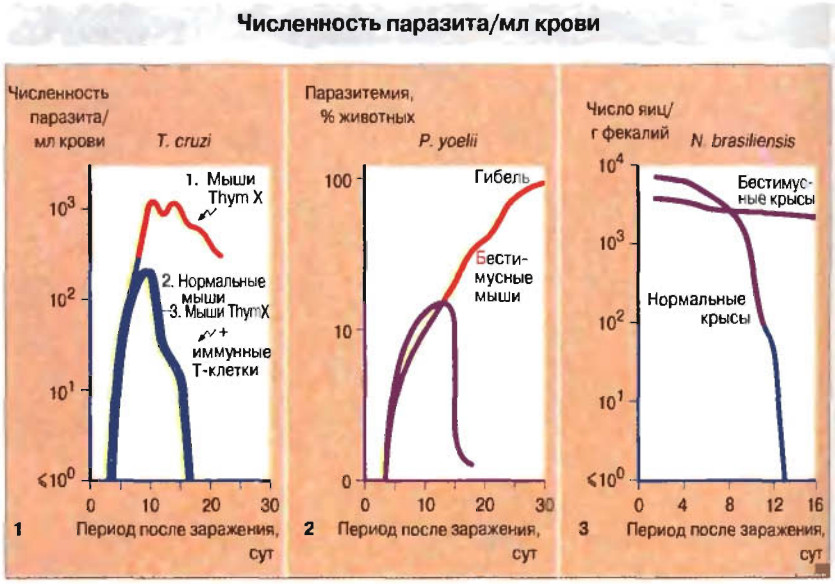


Рис. 18.9
Первые два графика показывают увеличение числа клеток простейших, размножающихся в крови (паразитемия), после заражения. **1.** У мышей с удаленным тимусом и облученных с целью разрушения Т-клеток (Thym X) клетки *Trypanosoma cruzi* размножаются быстрее, чем у нормальных животных, и вызывают гибель. У нормальных мышей трипаносомы на 16 сут после заражения исчезают из крови. Перенос мышам, истощенным по Т-клеткам, Т-лимфоцитов от иммунных животных (иммунные Т-клетки) восстанавливает способность организма ликвидировать инфекцию. В этих экспериментах тимэктомированным животным обеих групп вводили клетки печени плода для восстановления жизненно важной гемопоэтической функции. **2.** У нормальных мышей *Plasmodium yoelii* вызывает самоограничивающуюся инфекцию и удаляется из крови на 20 сут. В организме бестимусных (голых) мышей плазмодий продолжает размножаться, вызывая гибель животных примерно через 30 сут после инфицирования. **3.** Этот график иллюстрирует динамику изгнания кишечной нематоды *Nippostrongylus brasiliensis* у крыс. У нормальных животных гельминт полностью изгоняется к 13 сут, что определяют по числу яиц, обнаруживаемых в фекалиях. В то же время у бестимусных крыс развивается хроническая инвазия кишечника; таким образом, для изгнания гельминтов необходимы Т-клетки.

разита и стадии заболевания и определяется тем, какой цитокин эти клетки продуцируют. Например, Т-лимфоциты $CD4^+$ и $CD8^+$ действуют против различных стадий малярийных паразитов: Т-клетки $CD4^+$ опосредуют иммунный ответ против эритроцитарной стадии *P. yoelii*, а Т-клетки $CD8^+$ против печеночной стадии *P. berghei*. Действие Т-лимфоцитов $CD8^+$ двоякое: они секретируют ИФγ, ингибирующий размножение паразитов в гепатоцитах, и разрушают инфицированные гепатоциты. Гепатоциты экспрессируют антигены MHC класса I, но не класса II, поэтому Т-лимфоциты $CD4^+$ не распознают их и не активируются для секреции ИФγ. В свою очередь Т-клетки $CD8^+$ не эффективны в отношении эритроцитарной стадии паразитов, поскольку эритроциты не экспрессируют антигены MHC класса I.

Иммунный ответ против *T. cruzi* зависит не только от Т-лимфоцитов $CD4^+$ и $CD8^+$, но и от нормальных клеток-киллеров (НК) и продукции антител; то же характерно и для иммунного ответа против *T. gondii*. В эксперименте Т-клетки $CD8^+$ обеспечивают защитный ответ у мышей, истощенных по Т-клеткам $CD4^+$, как путем выделения ИФγ, так и путем цитотоксического действия на инфицированные макрофаги. Другим источником ИФγ служат К-клетки, активированные выделяемым макрофагами ИЛ-12. Хронические инвазии ассоциированы с пониженной продукцией ИФγ. Все эти данные, возможно, объясняют высокую заболеваемость токсоплазмозом среди больных СПИДом, для которого характерна супрессия Т-лимфоцитов $CD4^+$.

При различных инвазиях Т-клетки $CD4^+$ функционируют неодинаково

Хелперные Т-клетки $CD4^+$ подразделяются на две субпопуляции: Тх1 и Тх2 (см. гл. 10). В начальной стадии инвазии возможно равное присутствие обоих типов клеток; в дальнейшем их соотношение может меняться, сдвигаясь в сторону того или иного типа клеток по прошествии длительного периода заболевания. Поскольку цитокины Тх1- и Тх2-клеток взаимно антагонистичны, субпопуляция Т-лимфоцитов, которая в

конечном счете окажется доминирующей, будет иметь решающее значение для устранения паразита (тип ответа существенным образом зависит от природы паразита и может быть непредсказуемым). Поскольку относительное значение Тх1- и Тх2-клеток при протозойных инфекциях, как правило, различно и варьирует при различных гельминтозах, лучше рассматривать заболевания по отдельности. (Цитокины, продуцируемые указанными субпопуляциями клеток, и их роль в развитии иммунитета рассмотрены в гл. 10 и 11.)

Активность Тх1- и Тх2-клеток при малярии

Тх1-клетки действуют против печеночной стадии малярийного плазмодия: введение ИФγ (цитокина, продуцируемого Тх1-клетками) шимпанзе, инфицированным спорозоитами *P. vivax*, снижает паразитемию. Кроме того, установлено, что устойчивость иммунных мышей к заражению спорозоитами *P. berghei* может быть преодолена введением антител против ИФγ. Лимфоциты Тх2 обычно способствуют продукции антител, усиливая специфичность иммунной реакции. Антителозависимой реакцией является, например, уничтожение эритроцитарной стадии малярийного паразита в селезенке активированными эффекторными клетками (антителозависимая цитотоксичность). Для поддержания иммунитета важна функция адаптированной селезенки.

Субпопуляция Тх1 усиливает элиминацию внутриклеточных простейших

Цитокин ИФγ активирует макрофаги для уничтожения паразитирующих внутри них простейших, например *L. major*, *T. cruzi* и *T. gondii* (*рис. 18.10* и *18.11*), и усиливает также эффекторный ответ при инвазиях, вызванных другими паразитами. Действие ИФγ убедительно подтверждают данные по заражению мышей лейшманиями. У мышей резистентных линий развитию кожных повреждений, вызываемых *L. major*, препятствует действие ИФγ (цитокин, выделяемый Тх1-клетками). У чувствительных животных с прогрессирующим заболеванием доминируют Тх2-клетки – секретируемый ими ИЛ-4 подавляет образование ИФγ. Введение антител к ИЛ-4 ликвидирует инфекцию, вызывая уменьшение активности Тх2-клеток и увеличение популяции Тх1. Непосредственного введения рекомбинантного ИФγ чувствительным мышам для этого недостаточно; таким образом, чувствительность в данном случае обусловлена избыточной активностью Тх2-кле-

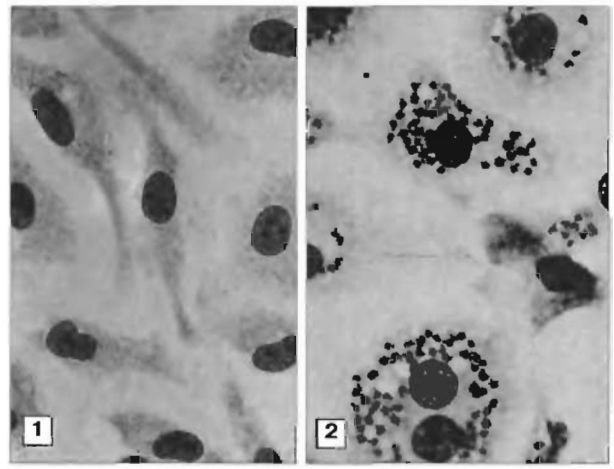


Рис. 18.10

Подавление размножения паразита в макрофагах, обработанных цитокинами. Перитонеальные макрофаги мышей BALB/c, зараженных амастиготами *Leishmania donovani*, через 72 ч после заражения обрабатывали экстрактом активированных Т-клеток (содержащим цитокины) или контрольных Т-клеток. При последующем культивировании: в клетках, обработанных цитокинами, паразиты не были обнаружены (**1**), тогда как необработанные макрофаги содержали большое количество паразитов (**2**). Дальнейшие эксперименты с использованием рекомбинантного ИФγ и моноклональных антител к ИФγ показали, что подавление паразитов вызывает этот цитокин. (Микрофотографии любезно предоставлены д-ром H. Murray; с разрешения из *J. Immunol.*, 1982; **129**: 344–357, © American Association of Immunologists.)

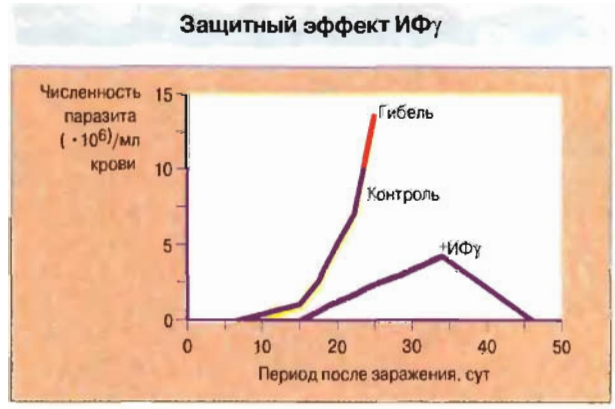


Рис. 18.11

Эффект введения Т-клеточного цитокина ИФγ при острой инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*. У мышей данной линии паразиты размножаются, вызывая гибель животных примерно через 3 нед после заражения. Введение рекомбинантного ИФγ подавляет размножение трипаносом и обеспечивает их уничтожение.

ток, а не дефицитом активности Тх1-клеток. В то же время ИЛ-12 (продукт макрофагов и В-клеток), стимулируя пролиферацию активированных Тх1-клеток и НК, а также синтез активных в отношении *Leishmania* цитокинов, в том числе ИФγ, подавляет развитие Тх2-клеток и обеспечивает излечение при введении чувствительным мышам на ранней стадии инфекции.

У человека в случаях диффузного кожного лейшманиоза и прогрессирующего висцерального лейшманиоза обнаруживается недостаточность синтеза ИФγ и повышенная экспрессия ИЛ-10 — Тх2-ассоциированного цитокина, который подавляет пролиферацию и функцию Тх1-клеток. В условиях in vitro индуцированную ИФγ-активность моноцитов человека против *L. donovani* ингибирует ИЛ-4 (*рис. 18.12*). Эти данные позволяют предполагать, что при лейшманиозе, возможно, было бы эффективным терапевтическое применение ИЛ-12 с одновременной нейтрализацией антагонистических цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 и ТФРβ.

Тх1- и Тх2-реакции важны для защиты от гельминтов

Характерные признаки развития иммунного ответа при заражении гельминтами — высокий уровень IgE и эозинофилия — зависят от действия цитокинов, секретируемых Тх2-лимфоцитами. Однако относительный вклад субпопуляций Тх1 и Тх2 в развитие иммунитета к этим паразитам пока неясен. Изучение данного вопроса осложнено тем, что реакции у мыши, крысы и человека различаются, по крайней мере в случае шистосомоза: у человека, по-видимому, важное значение в развитии иммунитета имеют Тх2-эффекты, поскольку устойчивость к повторному заражению после применения лекарственного препарата коррелирует с образованием IgE, но у мыши в индуцированном вакцинацией защитном ответе участвуют Тх1-клетки и ИФγ, а Тх2-клетки ассоциированы с иммунопатологией, вызванной откладкой паразитами яиц (переключение на образование Тх2-клеток инициируют антигены яиц).

По набору синтезируемых цитокинов зараженные животные могут отличаться от вакцинированных. Например, у мышей, зараженных *S. mansoni*, преобладают Тх2-клетки, продуцирующие ИЛ-5. У иммунизированных мышей уровень IgE и число эозинофилов относительно низки и доминируют Тх1-лимфоциты. Секреция ИФγ

Действие Тх1- и Тх2-клеток при лейшманиозе

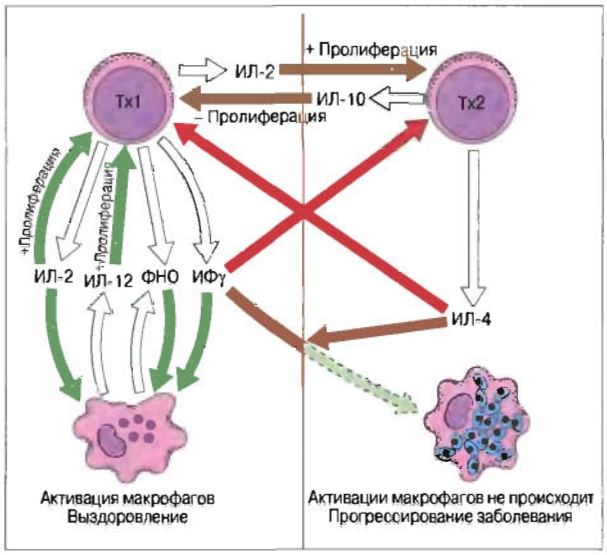


Рис. 18.12
При иммунном ответе на заражение *Leishmania* цитокины, выделяемые различными субпопуляциями Т-клеток, способствуют устранению инфекции или развитию заболевания. Обратите внимание, что ИЛ-12, продуцируемый также В-клетками, способствует пролиферации и НК-клеток, и Тх1-клеток; эти клетки выделяют ИФγ — цитокин, важный для уничтожения паразитов.

Тх1-клетками обеспечивает активацию эффекторных клеток, которые разрушают шистосомул на легочной стадии миграции посредством выделения оксида азота. Когда половозрелые особи откладывают яйца, последние выделяют растворимый антиген, действие которого проявляется только у чувствительных животных. Этот антиген яиц снижает функцию Тх1-клеток и уровень ИФγ, но повышает продукцию ИЛ-5 клетками Тх2.

При некоторых паразитарных инвазиях иммунная система не способна полностью устранить паразитов, но изолирует от него ткани организма с помощью клеток зоны воспаления. При этом организм-хозяин реагирует на локально высвобождаемый антиген, который стимулирует секрецию цитокинов, привлекающих клетки в соответствующий участок. Подобные реакции продемонстрированы на мышах, вакцинированных ослабленными облучением церкариями шистосом. Инфильтрирующие клетки, в основном представленные Тх1-лимфоцитами, окружают

шистосомул в легочной ткани уже через 24 ч после внутривенного введения паразита (*рис. 18.13*). Это предотвращает последующую миграцию шистосомул в органы и ткани организма, где возможно их развитие в половозрелые особи. Другой пример реакции хозяина, направленной на изолирование паразитов, — образование гранулем в печени в местах откладки яиц шистосомами. Эта реакция — хронический клеточноопосредованный ответ на растворимые антигены яиц, задержанных таким образом в печени. Макрофаги аккумулируют и выделяют фиброгенные факторы.

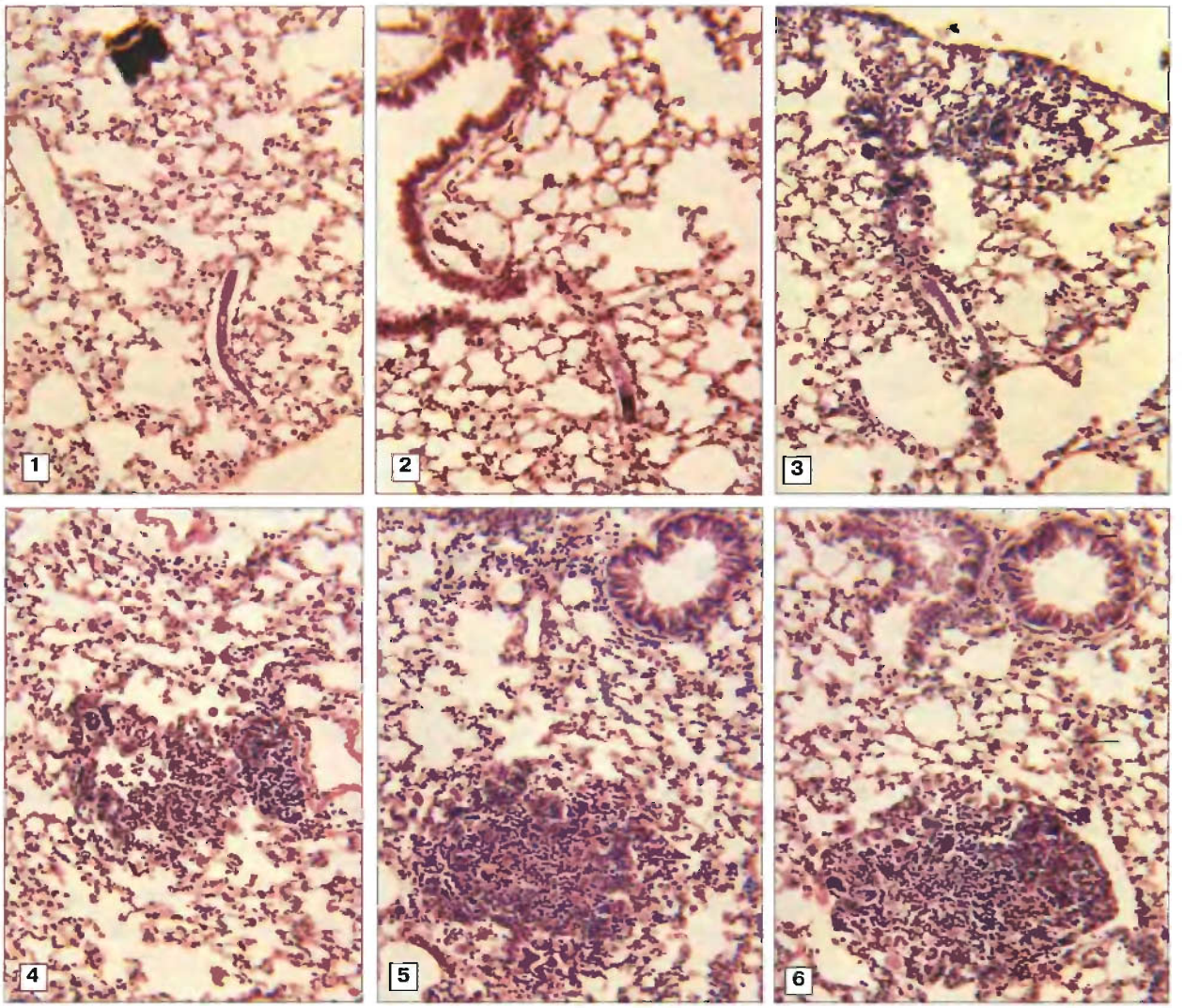


Рис. 18.13
Микрофотографии легочной ткани мыши, показывающие образование очагов вокруг мигрирующих шистосомул *Schistosoma mansoni*. Шистосомулы были введены внутривенно. **1.** Легкие невакцинированной мыши через 24 ч после введения паразита. У мышей, защищенных путем вакцинации ослабленными облучением церкариями, инфильтрирующие клетки появляются уже через 24 ч (**2**). **3–6**. Последовательное развитие очагов на 2, 4, 8 и 12 сут после заражения. Иммуноцитохимический анализ бронхоальвеолярных образцов показал, что основным компонентом легочных инфильтратов являются Т-лимфоциты $CD4^+$. Основной цитокин, продуцируемый этими клетками в культуре – ИФγ; синтез мРНК для ИФγ индуцируется по всей легочной ткани, из чего следует, что защитная реакция опосредована Тх1-клетками. (Фото любезно предоставлены д-ром L. Smythies; с разрешения из *Parasite Immunol.* 1996; **18**: 359–69.)

стимулирующие образование гранулематозной ткани и в конечном счете развитие фиброза. Данная реакция, несмотря на то что она может быть полезной для хозяина, поскольку изолирует клетки печени от секретируемых яйцами паразита токсинов, служит также и основной причиной патологии, так как вызывает необратимые изменения в печени и утрату печенью своей функции. В отсутствие Т-клеток гранулемы не образуются и последующей фиброзной инкапсуляции не происходит.

Для борьбы с гельминтами, поражающими различные участки организма – кишечник (например, *Trichuris trichura*) или ткани (например, *Onchocerca volvulus*), и различными стадиями жизненного цикла паразитов (например, с шистосомулами в легких и половозрелыми шистосомами в венах) могут быть задействованы разнообразные механизмы.

Tx2-клетки необходимы для изгнания кишечных гельминтов

Экспериментально установлено, что Tx2-клетки имеют важное значение для борьбы с гельминтами, поражающими кишечник. Например, у мышей, в норме устойчивых к заражению власоглавом, развивается хроническая инвазия, если нейтрализовать цитокин ИЛ-4, продуцируемый Tx2-клетками. Напротив, чувствительные мыши освобождаются от гельминтов, если активность ИЛ-4 усилена введением нейтрализующих антител к ИФγ. Сходным образом, введение ИЛ-12 крысам вскоре после заражения кишечным гельминтом *N. brasiliensis* стимулирует образование ИФγ и задерживает изгнание. Действие цитокина ИЛ-12 состоит в подавлении синтеза цитокинов Tx2-клетками, в частности ИЛ-4 и ИЛ-5; эти эффекты препятствуют синтезу IgE и гипертрофии тучных клеток кишечника (эффекты, опосредуемые ИЛ-4), а также развитию эозинофилии (опосредуемому ИЛ-5).

Механизм изгнания гельминтов включает дегрануляцию тучных клеток слизистой кишечника, вызванную продуктами активированных антигеном Т-клеток. Продукты тучных клеток усиливают интенсивность других эффекторных процессов, взаимодействуют с эозинофилами и ускоряют изгнание гельминтов (*рис. 18.14*). Цитоплазматические гранулы тучных клеток содержат предобразованные медиаторы (см. гл. 23), различные цитокины и протеазу. Компоненты гранул вызывают изменения в проницаемости стенок кишечника и слущивание эпителия, что способствует также устранению и некоторых паразитических простейших. При заражении кишечными нематодами бокаловидные клетки секретируют слизь, которая покрывает гельминтов и обеспечивает их изгнание. Это специфическая ответная реакция, наблюдаемая только у иммунных животных. Изменяя проницаемость слизистой оболочки, медиаторы тучных клеток обеспечивают проникновение комплемента и сывороточных антител в просвет кишечника и могут воздействовать на его гладкую мускулатуру, обеспечивая изгнание паразитов в результате усиления перистальтики.

Паразиты индуцируют образование неспецифических и специфических антител

При многих паразитарных инвазиях развивается неспецифическая гипергаммаглобулинемия, в основном, вероятно, под действием высвобождаемых паразитами соединений, вызывающих В-митогенный эффект. Повышается общее содержание иммуноглобулинов: IgM при трипаносомозе и малярии, IgG – при малярии и висцеральном лейшманиозе. Относительное значение антителозависимого и антителонезависимого ответов определяется видом инвазии (*рис. 18.15*). Механизмы действия специфических антител при паразитарных инвазиях и их эффекты суммированы на *рис. 18.16* и перечислены ниже.

- Антитела могут действовать на клетки простейших непосредственным образом или путем активации комплемента (*рис. 18.17*).
- Антитела способны непосредственно нейтрализовывать паразитов, препятствуя их прикреплению к новым клеткам; например, при инфекциях, вызываемых различными видами малярийных паразитов, мерозоиты проникают в эритроциты с помощью специального рецептора – этот процесс ингибируют специфические антитела (*рис. 18.18*). Антитела могут также предотвращать распространение инфекции, как в острой фазе инфекции, вызванной *T. cruzi*.
- Осуществляемый макрофагами фагоцитоз усиливается антителами, наиболее эффективно при участии комплемента. Указанные эффекты опосредованы Fc- и C3-рецепторами, число которых может увеличиваться в результате активации макрофагов.

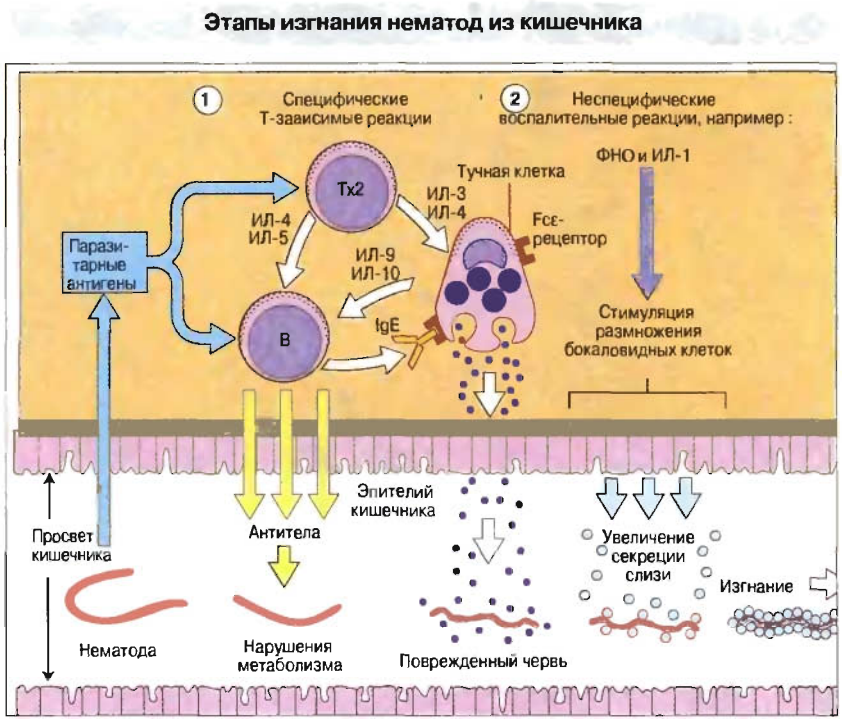


Рис. 18.14
Изгнание некоторых кишечных нематод происходит спонтанно через несколько недель после заражения. По-видимому, освобождение от паразитов происходит в две стадии и обеспечено совместным действием Т-зависимых и Т-независимых механизмов. **1.** Т-клетки (преимущественно Tx2) отвечают на паразитарные антигены и индуцируют а) образование антител В-клетками, которые пролиферируют в ответ на ИЛ-4 и ИЛ-5, б) пролиферацию тучных клеток слизистой оболочки в ответ на ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-9 и ИЛ-10 и в) гиперплазию секретирующих слизь бокаловидных клеток кишечного эпителия. Повреждение гельминтов вызывают антитела и продукты IgE-сенсибилизированных тучных клеток, дегранулирующих после контакта с антигеном и высвобождающих гистамин, который повышает проницаемость кишечного эпителия. Однако этих эффектов недостаточно для изгнания гельминтов. **2.** Секретируемые макрофагами неспецифические молекулы воспаления, в том числе ФНО и ИЛ-1, способствуют пролиферации бокаловидных клеток и вызывают усиленную секрецию ими слизи. Обволакивая червей, слизь способствует их изгнанию. Число бокаловидных клеток в эпителии тощей кишки и секреция слизи возрастают пропорционально количеству паразитов. Антигенспецифичные эффекторные Т-клетки образуются на ранних стадиях инвазии; лимитирующий ее развитие этап — это начало повреждения червей под действием антител. Относительный вклад указанных реакций в процесс изгнания зависит от вида нематод.

- Антитела участвуют в реакциях антителозависимой клеточной цитотоксичности, например в случае инвазий, вызываемых *T. cruzi*, *T. spiralis*, *S. mansoni* и филяриями. Цитотоксические клетки, такие как макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы, прикрепляются к покрытым антителами простейшим и гельминтам посредством Fc- и C3-рецепторов и осуществляют экзоцитоз паразитов.

Различные изотипы антител могут действовать разными путями. Как отмечено выше, при шистосомозе специфические антитела IgE ассоциированы с устойчивостью к инфекции и имеется обратная связь между количеством IgE в крови и возможностью повторного заражения. Антитела IgG4, по-видимому, блокируют действие IgE; повторное заражение наиболее вероятно в детском возрасте, для которого характерен высокий уровень IgG4. Развитие иммунитета скорее всего зависит от переключения с образования IgG4 на синтез IgE, которое происходит с возрастом; частота заражения максимальна в возрасте 10–14 лет, когда уровень IgG4 особенно высок.

Для многих инвазий трудно разграничить клеточный и гуморальный ответы, поскольку они развиваются одновременно. Это иллюстрирует *рис. 18.19*, на котором суммированы данные об иммунных механизмах, действующих против шистосом.

МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ ОТ ИММУННОГО ОТВЕТА

Для успешного внедрения и развития в организме-хозяине паразитам необходимо избежать действия его защитных механизмов, поэтому паразитические простейшие и гельминты обладают способностью обходить их разнообразными способами. Некоторые из паразитов даже ис-

Относительное значение разных типов иммунного ответа при протозойных инфекциях

Паразит и его локализация в организме		Антителозависимый ответ			Антителонезависимый ответ	
		значение	механизм	механизм обхода	значение	механизм
T. brucei свободно-циркулирующие в крови		+ + + +	Лизис под действием комплемента и опсонизация для фагоцитоза	Антигенная изменчивость	–	
Plasmodium внутри эритроцитов		+ + +	Предотвращение инвазии, опсонизация для фагоцитоза	Проникновение внутрь клеток; антигенная изменчивость	Печеночная стадия развития + + + Эритроцитарная стадия развития + + +	Цитокины Активация макрофагов
T. cruzi внутри макрофагов		+ +	Ограничение распространения при острой инфекции, сенсибилизация для АЗКЦ	Проникновение внутрь клеток	+ + + (хроническая фаза)	Активация макрофагов под действием ИФγ и ФНОα, уничтожение паразитов с помощью NO и метаболитов O_2
Leishmania внутри макрофагов		+	Ограничение распространения	Проникновение внутрь клеток	+ + + +	

Рис. 18.15
Относительное значение двух типов иммунного ответа, их механизмы и способы обхода паразитами повреждающего действия антител при протозойных инфекциях. Антитела наиболее важны для защиты от простейших, размножающихся в крови, таких как африканские трипаносомы и малярийные паразиты, а клеточный иммунитет эффективен против тканевых паразитов, например лейшманий. Антитела способны непосредственно повреждать клетки паразитов, а также стимулировать фагоцитоз, активировать комплемент или блокировать проникновение паразитов в клетки организма-хозяина и тем самым ограничивать распространение инфекции. Проникнув внутрь клеток, паразиты избегают всех этих эффектов антител. Клетки *Trypanosoma cruzi* и *Leishmania* чувствительны к метаболитам кислорода, образующимся при вспышке дыхания в макрофагах, и к оксиду азота. Обработка макрофагов цитокинами усиливает образование указанных продуктов, препятствует проникновению в клетки и снижает выживаемость паразитов. Малярийные паразиты в эритроцитах могут разрушаться продуктами активированных макрофагов, в том числе пероксидом водорода и другими цитотоксическими продуктами.

пользуют клетки и молекулы иммунной системы хозяина в своих интересах: лейшмании проникают в макрофаги с помощью рецепторов комплемента, не вызывая по этой причине вспышки дыхания и соответственно не подвергаясь разрушению под действием токсических продуктов макрофагов.

Цитокины хозяина, выполняя защитную роль при иммунном ответе на многие паразитарные инвазии, одновременно способствуют развитию паразитов. Так, ФНОα стимулирует откладывание яиц половозрелыми особями *S. mansoni*, а ИФγ служит фактором роста для *T. brucei*.

Паразиты могут быть устойчивы к разрушению комплементом

В случае лейшманий подобного рода устойчивость коррелирует с вирулентностью. При заражении *L. tropica*, клетки которой легко уничтожаются комплементом, возникает локализованная самоизлечивающаяся инфекция кожи, тогда как *L. donovani* – организм, в 10 раз более устойчивый к действию комплемента – распространяется во внутренних органах, вызывая заболевание, часто с летальным исходом.

Механизмы защиты паразитов от действия комплемента различны. В случае *L. major* липофосфогликановая поверхностная оболочка простейшего активирует комплемент, однако лизирующий мембрану комплекс сбрасывается с их клеток и тем самым они избегают лизиса. Трипомастиготы *T. cruzi* несут поверхностный гликопротеин, который обладает активностью фактора ускорения диссоциации С3-конвертазы (ФУД), ограничивающего реакционноспособность комплемента (см. гл. 4). Шистосомулы приобретают устойчивость по мере созревания, что также коррелирует с образованием поверхностных молекул, сходных с ФУД.

Механизмы действия специфичных антител при некоторых паразитарных инаазиях

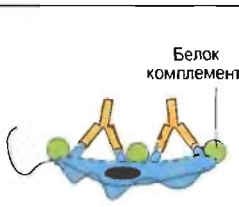
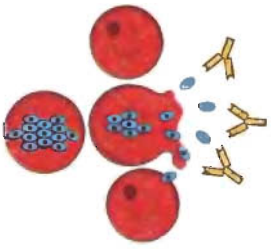
Паразит	Спорозоиты *Plasmodium*, кишечные гельминты, трипаносомы	Спорозоиты и мерозоиты *Plasmodium; Tripanosoma cruzi, Toxoplasma gondii*	*Plasmodium*, трипаносомы	Шистосомы, *Trichinella spiralis*, микрофилярии
Механизм	1 	2 	3 	4 
Эффект	Непосредственное повреждение или опосредованный комплементом лизис	Предотвращают распространение, блокируя участки прикрепления, предотвращают «побег» из лизосомных вакуолей и ингибирование слияния лизосом	Усиление фагоцитоза	Антителозависимая опосредованная клетками цитотоксичность (АЗКЦ)

Рис. 18.16

1. Непосредственное повреждение паразитов антителами. Антитела инициируют активацию комплемента по классическому пути, что приводит к повреждению клеточной мембраны простейшего и увеличению его чувствительности к другим медиаторам.

2. Нейтрализация. Некоторые паразиты, например *Plasmodium* spp., проникают в клетки, используя специфические клеточные рецепторы; антитела блокируют эти участки связывания и предотвращают тем самым прикрепление к эритроцитам и соответственно дальнейшее размножение мерозоитов.

3. Усиление фагоцитоза. Отложение фрагмента C3b комплемента на поверхности паразита опсонизирует его для фагоцитоза клетками, имеющими C3b-рецепторы (например, макрофагами). Макрофаги обладают также Fc-рецепторами.

4. Эозинофилы, нейтрофилы, тромбоциты и макрофаги могут оказывать цитотоксическое действие (АЗКЦ) на некоторых паразитов, распознавая их с помощью специфических антител. Эту реакцию усиливает комплемент.

Внутриклеточные паразиты избегают разрушения различными путями

Простейшие, паразитирующие внутри макрофагов, различными способами избегают уничтожения под действием метаболитов кислорода и лизосомных ферментов (*рис. 18.20* и *18.21*). Клетки *T. gondii* проникают в макрофаги не путем фагоцитоза (*рис. 18.21*) и поэтому не вызывают вспышки дыхания; клетки *Leishmania* spp. могут проникать внутрь макрофагов, связываясь с рецепторами комплемента, — другой путь обхода вспышки дыхания. Кроме того, лейшмании обладают ферментом супероксиддисмутазой и другими ферментами, защищающими их от действия высокоактивных метаболитов кислорода. Вакуоли, в которых выживают лейшмании, представляют собой лизосомы (*рис. 18.22*), однако эти простейшие обладают механизмами, обеспечивающими защиту от лизосомных ферментов. Липофосфогликановая поверхностная оболочка лейшманий функционирует как «ловушка» для метаболитов кислорода и защищает от ферментативного лизиса; кроме того, содержащийся в ней гликопротеин Gp63 (*рис. 18.23*) ингибирует действие лизосомных ферментов макрофагов. Лейшмании способны также снижать экспрессию антигенов MHC класса II на поверхности макрофагов, в которых они паразитируют, уменьшая, таким образом, способность макрофагов стимулировать Tx-клетки. Указанные механизмы, однако, менее эффективны при заражении иммунного хозяина.

Внеклеточные паразиты способны к маскировке

Паразиты, чувствительные к специфическим антителам, обладают рядом механизмов устойчиво-

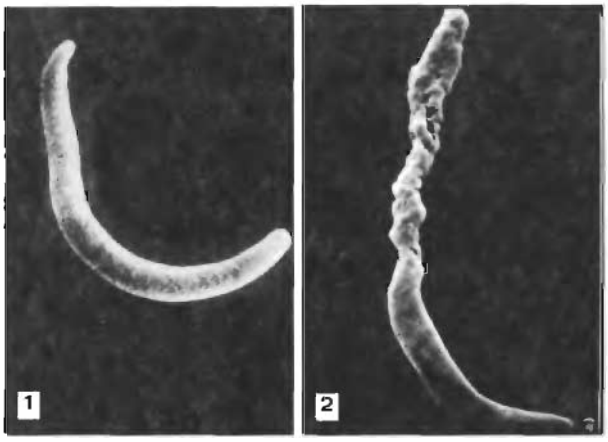


Рис. 18.17
Непосредственное действие специфических антител на спорозоиты малярийного паразита. Эти микрофотографии, сделанные с помощью сканирующего электронного микроскопа, показывают спорозоит *Plasmodium berghei*, возбудителя малярии грызунов, до (**1**) и после (**2**) инкубации с иммунной сывороткой. Антитела повреждают поверхность спорозоита, действуя на наружную мембрану, и вызывают потерю жидкости. Специфичные антитела обеспечивают защиту от инфекции *Plasmodium* spp. на определенных внеклеточных стадиях жизненного цикла. Антитела являются специфическими для каждой стадии. (Фото любезно предоставлены д-ром R. Nussenzweig.)

Действие антител на малярийных паразитов

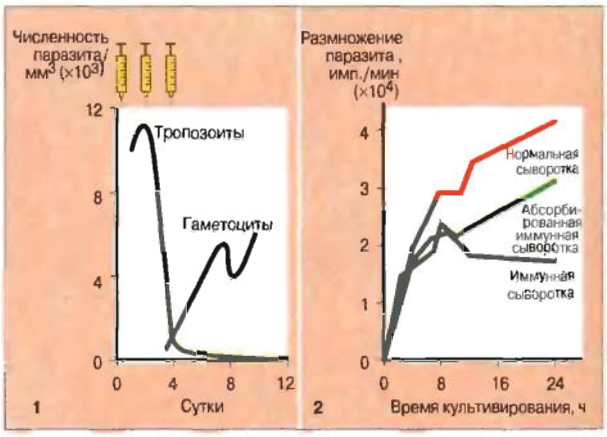


Рис. 18.18
1. Введение гамма-глобулина от иммунных взрослых ребенку, инфицированному *Plasmodium falciparum*, вызывает резкое снижение паразитемии. Специфичные антитела действуют на мерозоиты – одну из стадий жизненного цикла паразита – и предотвращают их дальнейшее размножение в крови. При этом развитие гаметоцитов из уже присутствующих внутриклеточных форм не подавляется.
2. Иммунная сыворотка блокирует размножение *P. knowlesi* (возбудитель малярии обезьян) в культуре, на что указывают данные по включению ^{3}H-лейцина. Размножение плазмодия подавляется на стадии, следующей за разрывом шизонтов; вышедшие из них мерозоиты не могут проникнуть в новые эритроциты. Активность иммунной сыворотки может снижаться в результате предварительной абсорбции специфичных антител свободными шизонтами.

сти к гуморальному иммунному ответу. У африканских трипаносом обнаружена способность к антигенной изменчивости: вариабельный поверхностный гликопротеин, образующий поверхностную оболочку паразитов, может экспрессироваться в новых, структурно измененных формах и это защищает лежащую ниже мембрану от лизиса под действием защитных систем организма-хозяина. Новые популяции трипаносом, возникающие в ходе инфекции, отличаются по антигенному составу от предыдущих (*рис. 18.24* и *18.25*). Некоторые антигены малярийных паразитов также обнаруживают антигенную изменчивость.

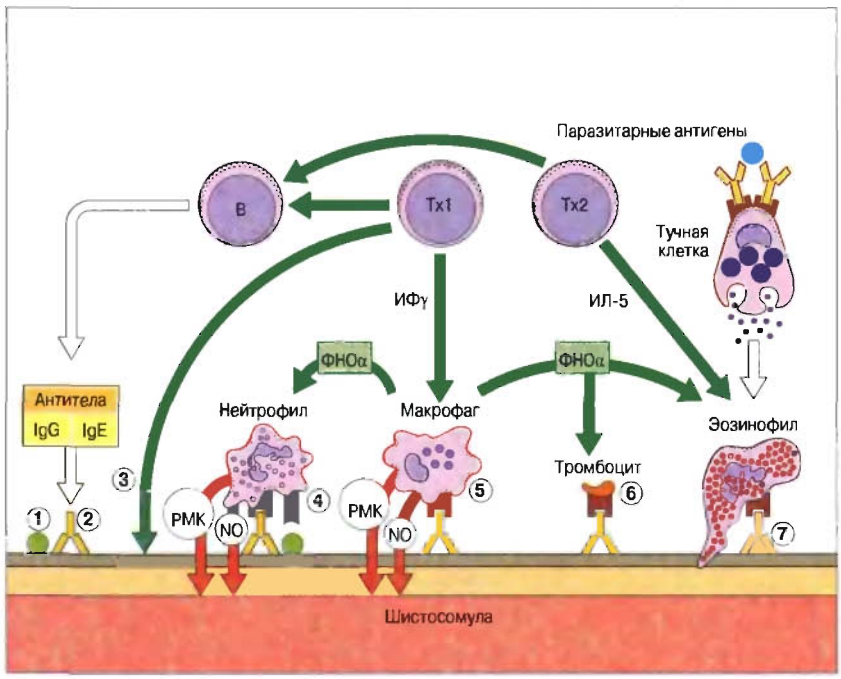
Другие паразитические организмы, например шистосомы, «одеваются» в оболочку из антигенов хозяина, чтобы его защитные системы не распознали их как чужеродные объекты и не отличили от своих тканей. При культивировании в питательной среде, содержащей сыворотку человека и эритроциты, шистосомулы способны приобретать поверхностные структуры, содержащие детерминанты групп крови А, В и Н, а также антигены МНС. Однако в среде, лишенной молекул хозяина, шистосомулы, как отмечено выше, также приобретают устойчивость к действию антител и комплемента.

Некоторые внеклеточные паразиты «прячутся» от иммунной атаки

Отдельные виды простейших (например, *Entamoeba histolytica*) и гельминтов (например, *T. spiralis*) образуют защитные цисты; половозрелые особи *O. volvulus*, локализованные в коже, индуцируют организм-хозяин к «окружению» их коллагеновыми узелками. Нематоды и ленточ-

Рис. 18.19
В условиях in vitro выявлены различные механизмы повреждения шистосом. Комплемент не только непосредственно повреждает гельминтов (**1**), но и действует в комплексе с антителами (**2**). Tx1-клетки могут подавлять развитие шистосомул в легких (**3**). Антитела сенсибилизируют нейтрофилы (**4**), макрофаги (**5**), тромбоциты (**6**) и эозинофилы (**7**), вызывая реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности. Нейтрофилы и макрофаги действуют, вероятно, путем образования токсичных метаболитов кислорода и азота, тогда как эозинофилы повреждают тегумент червя путем выделения главного основного белка. Ответ усиливают цитокины (например, ФНОα). Антитела IgE выполняют важную роль в сенсибилизации эозинофилов и местных тучных клеток, которые высвобождают различные медиаторы, в том числе и вызывающие активацию эозинофилов.
(РМК – реакционноспособные метаболиты кислорода.)

Возможные механизмы иммунного ответа против шистосомул



Различные механизмы устойчивости простейших, паразитирующих внутри макрофагов

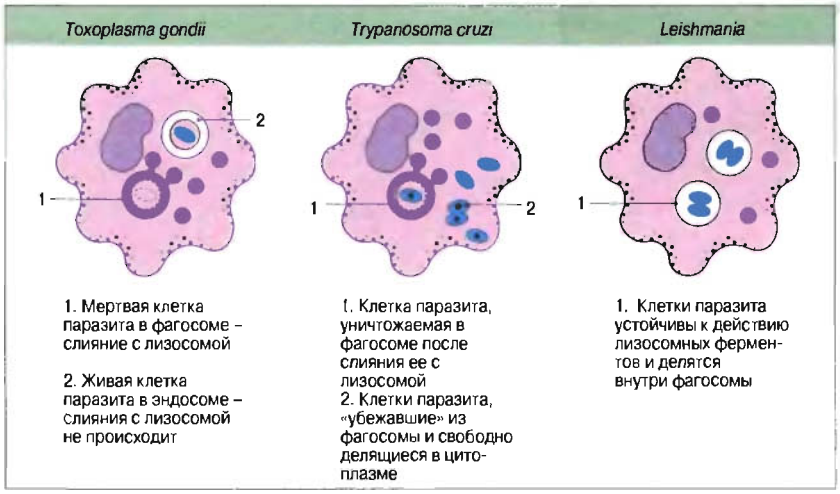


Рис. 18.20
Toxoplasma gondii. Живые амебы активно проникают в клетку, где локализуются в мембраносвязанной вакуоли. При этом они недоступны для ферментов, поскольку лизосомы не сливаются с такой вакуолью. Однако погибших амеб фагоциты поглощают путем нормального фагоцитоза с образованием фагосом (если амебы покрыты антителами, которые связываются с Fc-рецепторами на поверхности макрофагов), где они разрушаются ферментами после слияния фагосом с лизосомами.
Trypanosoma cruzi. Выживаемость этого паразита зависит от стадии развития: трипомастиготы «убегают» из фагосом и делятся в цитоплазме, тогда как эпимастиготы остаются в фагосомах и уничтожаются. Доля амеб, присутствующих в цитоплазме, меньше, если макрофаги активированы.
Leishmania spp. Лейшмании размножаются внутри фагосом: они устойчивы к действию лизирующих ферментов, так как обладают поверхностной протеазой. Если макрофаги были предварительно активированы цитокинами, количество проникающих в клетки и размножающихся в них паразитов будет меньше.

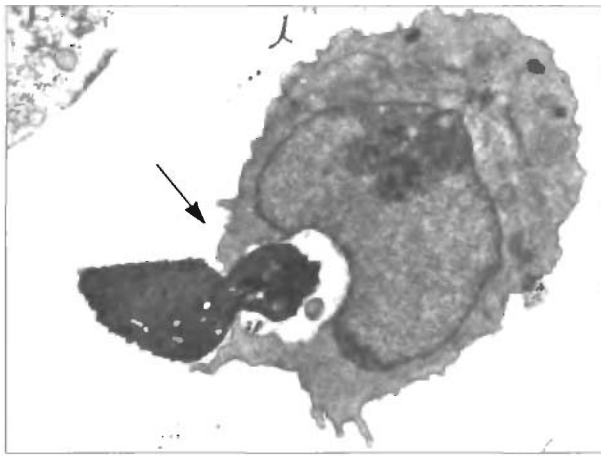


Рис. 18.21
Электронная микрофотография, показывающая активное проникновение *Toxoplasma gondii* в клетку хозяина. Внедрение происходит путем образования прочного контакта с мембраной клетки хозяина (показан стрелкой) и сопровождается модификацией образованной фагосомы для предотвращения ее слияния с лизосомой. (Фото любезно предоставлено д-ром J. Smith.)

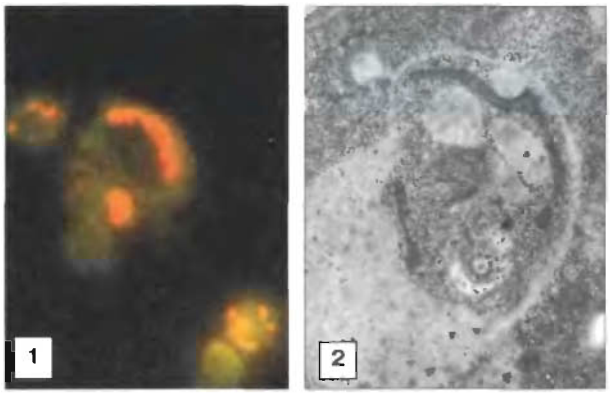


Рис. 18.22
Вакуоль, содержащая клетки лейшманий – это лизосома. 1. Иммунофлуоресцентное окрашивание макрофагов мыши, инфицированных *Leishmania mexicana*, с помощью конъюгированных с родамином антител к тубулину – окрашивают лейшмании в желто-красный цвет – и конъюгированных с флуоресцеином моноклональных антител, реагирующих с поздним маркером эндосом/лизосом LAMP-1, – зеленый цвет. **2.** Электронная микрофотография инфицированного *L. mexicana* макрофага мыши, обработанного меченными золотом антителами к катепсину D для выявления лизосомной протеиназы в вакуоли, содержащей лейшмании. (Фото любезно предоставлены д-ром D. Russel.)

Два поверхностных антигена *Leishmania*

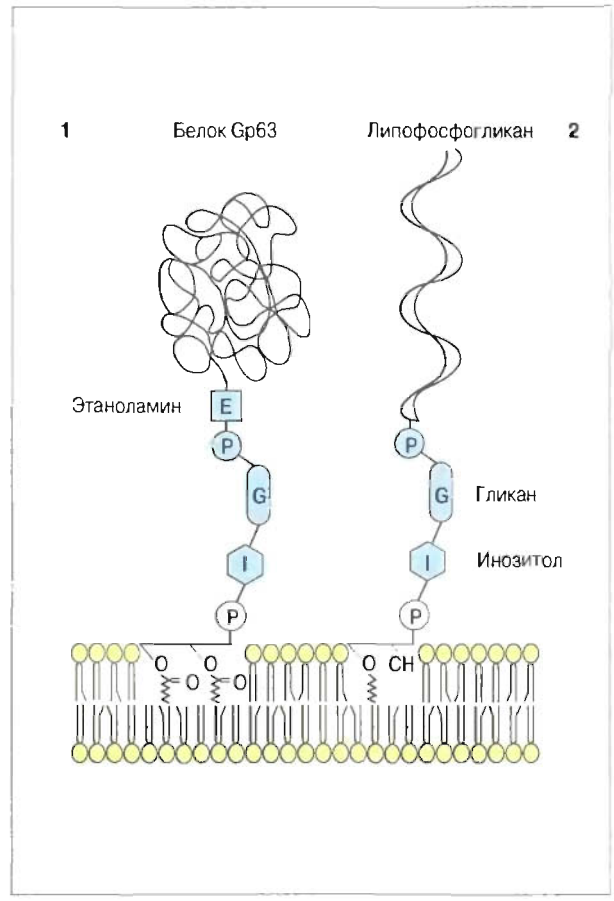


Рис. 18.23
Схематическое изображение двух поверхностных антигенов *Leishmania*, заякоренных в мембране фосфатидилинозитольными «хвостами» (GPI-якорь).
1. Белковый антиген Gp63 обладает протеазной активностью. У *L. mexicana* он совместно с липофосфогликаном связывает комплемент. Это позволяет промастиготе проникать в макрофаг при помощи рецептора к компоненту C3 комплемента.
2. Гликолипидный антиген липофосфогликан обеспечивает устойчивость к комплемент-опосредованному лизису. У *L. major* он связывает C3b, фрагмент третьего компонента комплемента, позволяя промастиготе проникать внутрь макрофага при помощи рецептора CR1 комплемента. У мыши антитела к обоим антигенам обеспечивают защиту против кожного лейшманиоза.
Как теперь известно, многие белки оболочки паразитов, например вариабельный поверхностный гликопротеин *T. brucei*, связаны с поверхностной мембраной с помощью GPI-якоря.

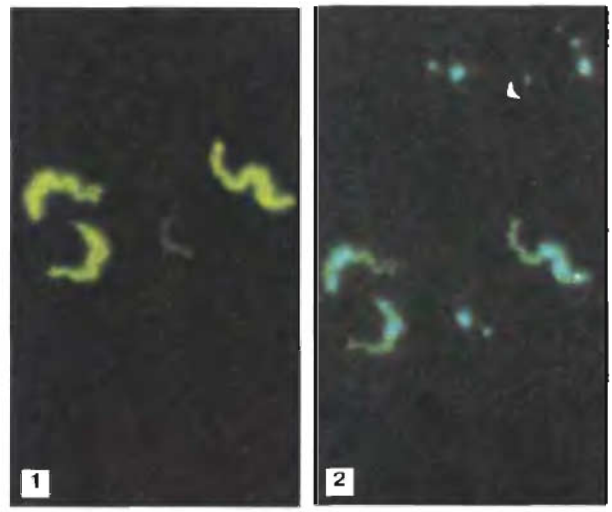


Рис. 18.24
Антигенная изменчивость у трипаносом. Иммунофлуоресцентное окрашивание трипаносом с помощью моноклональных антител, специфичных к определенному антигенному варианту (**1**). Микрофотография (**2**) представляет собой то же поле зрения, но с окраской ядер и кинетопластов паразита красителем, связывающим ДНК. Только некоторые из паразитов экспрессируют данный вариант, в то время как другие экспрессируют отличные от этого варианты антигена. (Фото любезно предоставлены д-ром M. Turner.)

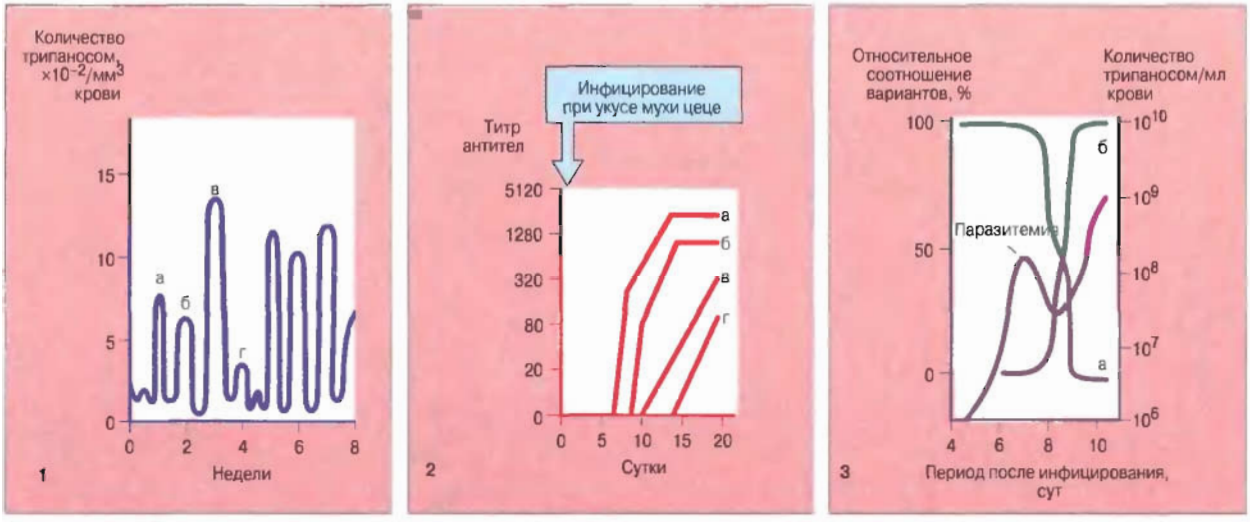


Рис. 18.25
Трипаносомная инфекция может длиться месяцами и сопровождаться периодическими вспышками паразитемии.
На графике **1** показаны колебания паразитемии при сонной болезни. Хотя инфекция была вызвана одним возбудителем, последовательные вспышки болезни вызывают его иммунологически различные популяции (а, б, в, г), при этом антитела против предшествующих антигенных вариантов не обеспечивают дальнейшую защиту. Существует устойчивая тенденция к появлению новых антигенных вариантов в одной и той же последовательности в различных организмах-хозяевах. Подобная изменчивость не обнаруживается у животных с нарушенным иммунитетом (например, обработанных определенным образом для ослабления той или иной иммунной функции).

График **2** показывает динамику образования антител к четырем вариантам трипаносомных антигенов у кролика после укуса мухи цеце – переносчика *Trypanosoma brucei*. Антитела к данному антигенному варианту обнаруживаются сразу же после его появления, и их титр повышается, выходя на плато. Образование антител вызывает изменение паразитарного антигена и появление иммунологически новой популяции паразита.
График **3** иллюстрирует кинетику одного цикла антигенной изменчивости. Крыса была инфицирована гомогенной популяцией одного антигенного варианта *T. brucei* (а). Вторая волна паразитемии наступает, когда появляется новый доминирующий антигенный вариант (б).

ные черви защищены от многих ответных реакций хозяина просто благодаря тому, что находятся в кишечнике.

Некоторые внеклеточные паразиты способны выдерживать иммунную атаку

Известны многочисленные примеры простых физических способов защиты у паразитов: нематоды имеют толстую внеклеточную кутикулу, которая защищает их от токсичных метаболитов организма-хозяина (*рис. 18.26*); тегумент шистосомул утолщается по мере их превращения в половозрелых особей, также обеспечивая защиту; «свободная» поверхностная оболочка многих нематод может «сползать» под действием иммунного ответа; ленточные черви предотвращают иммунные реакции, секретируя ингибитор эластазы, который препятствует привлечению к ним нейтрофилов.

Многие гельминты обладают способностью предохранять себя от высокоактивных метаболитов O_2, образуемых при вспышке дыхания в клетках иммунной системы. Например, филярии, поражающие лимфатическую систему, способны секретировать поверхностносвязанную глутатионпероксидазу; шистосомы имеют поверхностносвязанные глутатион-S-трансферазы, нематоды *Onchocerca* способны секретировать супероксиддисмутазу. У некоторых нематод и трематод выработан механизм повреждения антител путем секреции протеаз, расщепляющих иммуноглобулины с удалением Fc-фрагмента.

Большинство паразитов противодействует иммунному ответу

Для всех паразитарных инвазий характерна иммуносупрессия (*рис. 18.27*), и она касается как гуморального, так и клеточного ответа. Некоторые паразиты непосредственно вызывают разрушение лимфоидных клеток и тканей (например, ювенильные личинки *T. spiralis* выделяют лимфоцитотоксический фактор), однако в основном подавление иммунного ответа происходит путем инактивации макрофагов. Эти клетки могут быть «перегружены» свободными антигенами, поскольку многие гельминты секретируют значительное количество полисахаридов и гликоконъюгатов, которые препятствуют процессингу антигенов. У макрофагов мышей, зараженных шистосомами, нарушена способность презентировать антигены. Сходным образом, у мышей, зараженных африканскими трипаносомами, снижены презентация антигена и секреция ИЛ-1. При малярии в макрофагах накапливается пигмент гемозоин – продукт расщепления гемоглобина, подавляющий различные функции этих клеток. Многие продукты метаболизма паразитов стимулируют выделение макрофагами простагландинов и других супрессивных молекул, которые подавляют воспалительные реакции. Интересно, что цестоды и нематоды сами способны секретировать простагландины, которые также супрессируют воспалительные реакции.

Растворимые антигены паразитов, выделяемые ими в огромных количествах, могут подавлять иммунный ответ хозяина путем так называемого иммунного отвлечения. Например, растворимые антигены (S-, или термостабильные) *P. falciparum*, по-видимому, нейтрализуют циркулирующие антитела, создавая своего рода «дымовую завесу», защищающую от них паразитов. Многие слушивающиеся поверхностные антигены паразитов представляют собой растворимую форму молекул, встроенных в их клеточную мембрану с помощью GPI-якоря; в том числе это вариабельный поверхностный гликопротеин *T. brucei*, липофосфогликан, или «секретируемый фактор», *Leishmania* (*рис. 18.23*) и некоторые поверхностные антигены шистосомул. Такие антигены высвобождаются под действием эндогенных фосфатидилинозитол-специфичных фосфолипаз.

Антигенспецифическая супрессия проявляет-

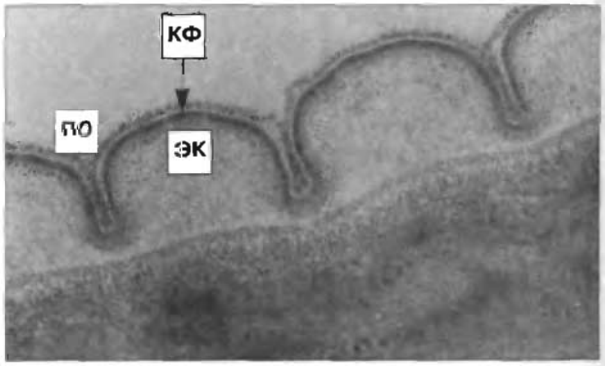


Рис. 18.26
Электронная микрофотография инфекционной личинки *Toxocara canis*. Видна поверхностная оболочка (ПО), связанная с катионизированным ферритином (КФ), покрывающим эпикутикулу (ЭК). Фиксация глутаральдегидом и четырехоксидом осмия. (Фото любезно предоставлено проф. R. Maizels; с разрешения из *Exp. Parasitol.* 1992; **75**: 72–86.)

Противодействие простейших и гельминтов иммунному ответу хозяина посредством высвобождаемых ими свободных антигенов

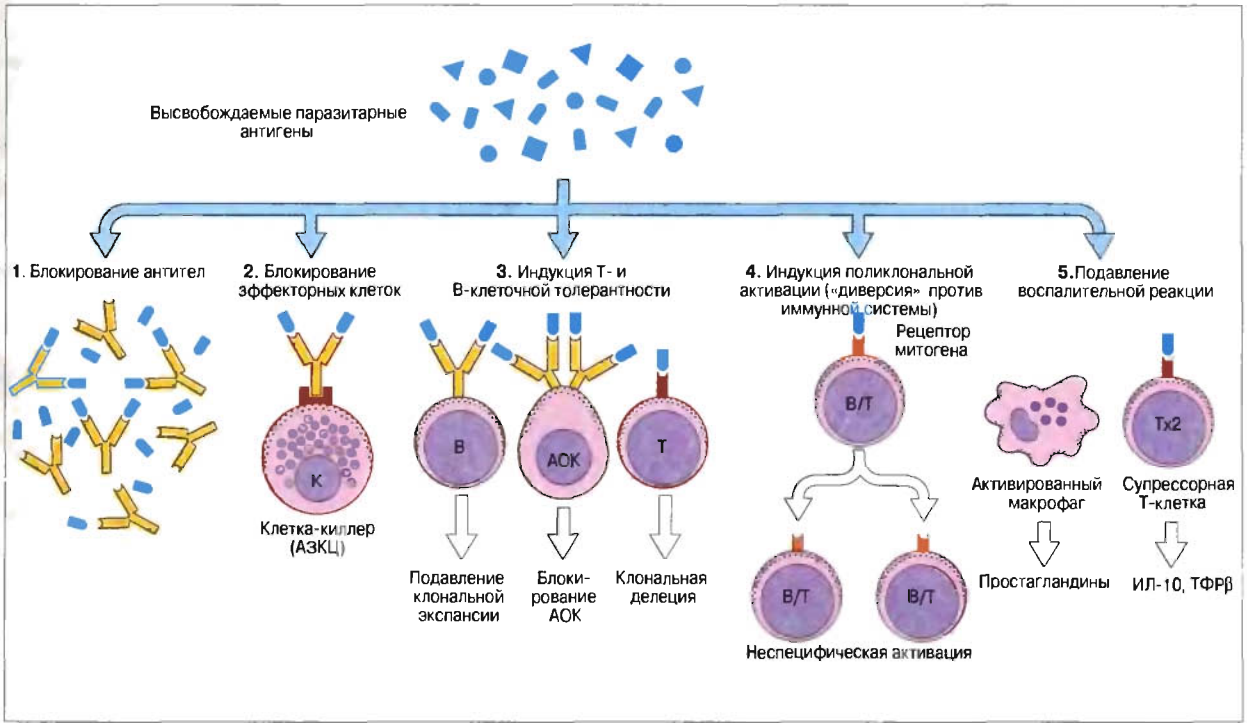


Рис. 18.27

Свободные антигены способны:

1) взаимодействовать с антителами и предотвращать их действие на паразитов, т. е. выполнять роль дымовой завесы или приманки. По-видимому, это характерно для вариабельного поверхностного гликопротеина *Trypanosoma brucei* и растворимых антигенов *Plasmodium falciparum*, полиморфных и содержащих повторяющиеся последовательности аминокислотных остатков;

2) блокировать эффекторные клетки как непосредственным образом, так и посредством иммунных комплексов. Циркулирующие комплексы, например, способны подавлять цитотоксическую активность К-клеток против *Schistosoma mansoni;*

3) индуцировать толерантность Т- или В-клеток, вероятно блокируя антителообразующие клетки (АОК) или истощая популяцию зрелых антигенспецифичных лимфоцитов путем подавления клональной экспансии;

4) вызывать поликлональную активацию. Многие паразитарные продукты оказывают митогенный эффект в отношении В- и Т-клеток, и при инвазиях в сыворотке часто присутствуют в высоких концентрациях неспецифические IgM (и IgG) – возможный результат такой поликлональной стимуляции. Продолжение ее приводит, предположительно, к ослаблению функций В-клеток, прогрессивному истощению популяции антигенреактивных В-лимфоцитов и, таким образом, к иммуносупрессии;

5) активировать Т-клетки, в первую очередь Тх2-клетки, или макрофаги, либо и те и другие, вызывая выделение ими иммуносупрессивных факторов.

ся также в подавлении реакции замедленной гиперчувствительности. Эта супрессия может быть избирательной и затрагивать только популяцию Т-клеток $CD4^+$, но изменять при этом соотношение Тх1/Тх2 в благоприятную для паразита сторону. Т-клетки больных лейшманиозом (заражение *L. donovani*) при культивировании со специфическим антигеном не секретируют ИЛ-2 или ИФγ. Продукция ИЛ-1 и экспрессия антигенов МНС класса II у них снижены, а секреция простагландинов повышенная. Состояние таких больных улучшается при лечении ИФγ в сочетании с пятивалентной сурьмой. Сходным образом, при филяриозе Тх1-клетки не пролиферируют в ответ на специфические антигены, хотя гуморальный эффект в этом случае не подавляется.

Действительно, у больных тяжелой формой филяриоза или шистосомоза присутствуют в значительном количестве антитела IgG4, которые блокируют защитный IgE-ответ. При шистосомозе антитела IgM и IgG2 против некоторых углеводных антигенов шистосом ингибируют цитотоксические функции гранулоцитов и уровень этих антител коррелирует с чувствительностью к повторному заражению.

При некоторых протозойных инфекциях, в том числе малярии, африканской сонной болезни и болезни Чагаса, отмечена недостаточность секреции ИЛ-2 – другого продуцируемого пролиферирующими Tx1-лимфоцитами цитокина. У мышей, инфицированных *T. cruzi*, некое выделяемое паразитом вещество, по-видимому, подавляет экспрессию рецепторов ИЛ-2. Введение им ИЛ-2 индуцирует образование рецепторов, восстанавливает активность Т-хелперных клеток, приводит к увеличению синтеза специфичных в отношении паразита антител IgM и IgG, а также к уменьшению численности паразитов в крови и повышает выживаемость животных.

Некоторые из рассмотренных выше механизмов устойчивости паразитов к защитным реакциям организма-хозяина приведены на *рис. 18.28*.

ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ПАРАЗИТАРНЫХ ИНВАЗИЙ

Помимо непосредственного повреждающего воздействия паразитов и неблагоприятного влияния продуктов их выделения на ткани хозяина, к патологическим последствиям инвазии могут относиться и многие вызванные ею иммунные реакции. При малярии, африканском трипаносомозе и висцеральном лейшманиозе повышение количества макрофагов в печени и селезенке и их усиленная активность приводят к увеличению размеров указанных органов. При шистосомозе патология большей частью обусловлена Т-зависимыми гранулемами, которые образуются в печени вокруг яиц паразитов. Проявления элефантиаза (слоновая болезнь) обусловлены, возможно, иммунопатологическими ответными реакциями организма против половозрелых филярий в лимфатической системе. Паразитарные инвазии обычно сопровождаются образованием иммунных комплексов, которые могут откладываться в почках, как при нефротическом синдроме в случае четырехдневной малярии, или вызывать другие патологические изменения. Например, связанные с тканью иммуноглобулины обнаруживаются в мышцах у мышей, инфицированных африканскими трипаносомами, и в сосудистом сплетении глаза у мышей, больных малярией.

Повышенный уровень IgE при гельминтозах может служить причиной тяжелых последствий для организма-хозяина в результате высвобождения медиаторов тучных клеток. При разрыве эхи-

Некоторые способы защиты паразитов от иммунного ответа хозяина

Паразит	Локализация в организме	Основной механизм иммунного ответа	Путь обхода
Trypanosoma brucei	Кровь	Антитела + комплемент	Антигенная изменчивость
Plasmodium spp.	Гепатоциты, кровь	Антитела CD8[1], цитокины	Антигенная изменчивость, проникновение внутрь клеток
Toxoplasma gondii	Макрофаги	Действие метаболитов O_2, NO и лизосомных ферментов	Уклонение от фагоцитоза, ингибирование слияния с лизосомами
Trypanosoma cruzi	Многие типы клеток	Действие метаболитов O_2, NO и лизосомных ферментов	Выход в цитоплазму, позволяющий избежать лизиса
Leishmania	Макрофаги	Действие метаболитов O_2, NO и лизосомных ферментов	Влияние на вспышку дыхания и нейтрализация ее продуктов, устойчивость к лизису
Trichinella spiralis	Кишечник, кровь, мышцы	Миелоидные клетки, антитела + комплемент	Инцистирование в мышцах, продукция ФУД
Schistosoma mansoni	Кожа, кровь, легкие, воротная вена	Миелоидные клетки, антитела + комплемент	Приобретение антигенов хозяина, блокирование антител, выделение растворимых антигенов, образование иммунных комплексов и антиоксидантов
Wuchereria bancrofti	Лимфоциты	Миелоидные клетки, антитела + комплемент	Толстая внеклеточная кутикула, образование антиоксидантов

Рис. 18.28
Паразиты обладают различными свойствами, позволяющими им ускользнуть от защитных реакций хозяина. (ФУД – фактор, ускоряющий диссоциацию С3-конвертазы (см. гл. 4).)

нококкового пузыря может наступить анафилактический шок. Инвазия, вызванная *Toxocara canis,* и тропическая легочная эозинофилия, связанная с миграцией филярий через легкие, сопровождаются реакциями астматического типа.

При инвазиях (например, трипаносомозе и малярии) выявлены аутоантитела против эритроцитов, лимфоцитов и ДНК, образующиеся, вероятно, в результате поликлональной активации клеток иммунной системы. Антитела к антигенам паразита могут перекрестно реагировать с тканями хозяина. Так, хроническая кардиомиопатия, расширение пищевода и ободочной кишки при болезни Чагаса обусловлены, по-видимому, аутоиммунными эффектами – действием на нервные ганглии антител и цитотоксических Т-клеток, которые перекрестно реагируют с *T. cruzi.* Подобно этому, вызывающая онхоцерхоз, или «речную слепоту», нематода *O. volvulus* несет антиген, который перекрестно взаимодействует с белком сетчатки.

Проявления некоторых заболеваний могут быть вызваны избыточной продукцией цитокинов. Так, лихорадка, анемия, диарея или изменения в легких при острой малярии весьма сходны с симптомами присутствия эндотоксинов в крови и, вероятно, обусловлены ФНОα. Тяжелое истощение при трипаносомозе у крупного рогатого скота также может быть опосредовано ФНОα. Причиной патологии могут быть также совокупные эффекты нескольких иммунологических механизмов; такие эффекты, например, вызывают анемию у больных малярией (*рис. 18.29*).

Наконец, то, что паразитарные инвазии сопровождает особая чувствительность к бактериальным и вирусным инфекциям (например, к кори), объясняется, вероятно, часто встречающейся при этом неспецифической иммуносупрессией. Ею же, по-видимому, обусловлена связь лимфомы Беркитта с малярией.

ВАКЦИНЫ

Некоторые вакцины из ослабленных жизнеспособных паразитов прошли успешные испытания в ветеринарной практике. Однако против паразитарных заболеваний человека вакцин пока нет, хотя интенсивно ведутся исследования по их разработке, в частности по созданию вакцин против малярии и шистосомоза. Начаты клинические испытания противомалярийных вакцин на основе комбинаций возможных протективных пептидов (см. гл. 1).

Возможные причины развития анемии при малярии

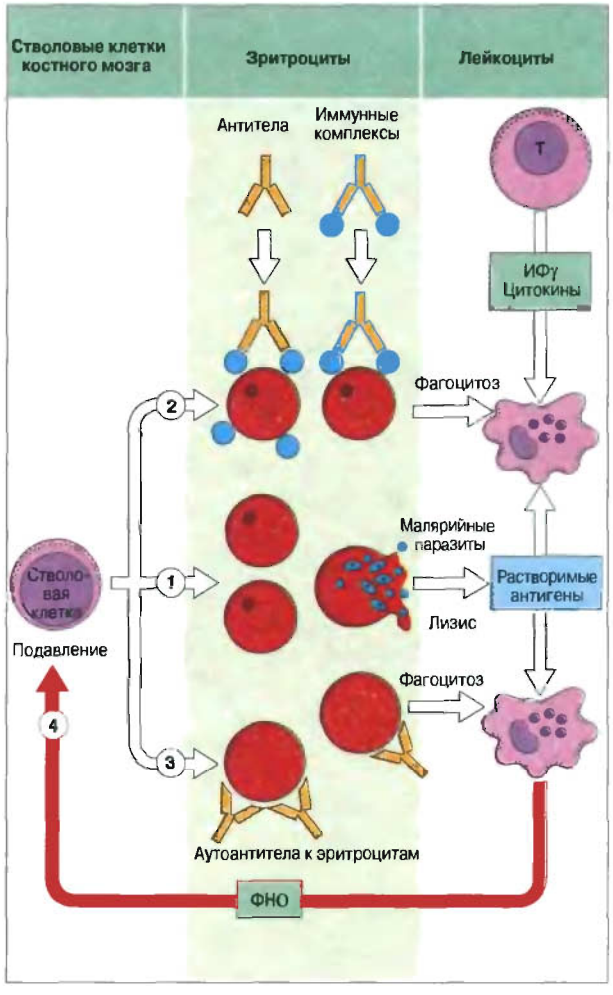


Рис. 18.29
При малярии происходит разрушение большего числа эритроцитов по сравнению с количеством инфицированных клеток. Помимо лизиса эритроцитов при разрыве шизонтов (**1**), причиной анемии служат, вероятно, иммунопатологические реакции. Антигены паразитов или иммунные комплексы, содержащие паразитарные антигены, могут связываться с неинфицированными эритроцитами, ускоряя тем самым их разрушение клетками макрофагально/моноцитарного ряда в селезенке и печени (**2**). Кроме того, образуется некоторое количество антител к нормальным эритроцитам, что также ускоряет их разрушение (**3**). ФНОα, высвобождаемый в ответ на инфекцию, подавляет развитие эритроцитов из стволовых клеток костного мозга и изменяет кинетику обновления пула эритроцитов (**4**).

Вопросы для размышления

- Паразиты хорошо приспособлены к существованию в организме-хозяине. Что свидетельствует об эффективном иммунитете против них?
- В чем различие между защитными механизмами у неиммунного и иммунного организмов-хозяев?
- Что понимают под специфичностью иммунитета к определенной стадии жизненного цикла паразита и чем подобная специфичность обусловлена?
- Почему активность Т-клеток важна при паразитарных заболеваниях и как она может способствовать их обострению? Каким образом Т-лимфоциты способствуют изгнанию гельминтов из кишечника?
- Каким образом цитокины ФНОα и ИФγ влияют на выживаемость паразитов?
- В чем различие между механизмами защиты от внутриклеточных и внеклеточных паразитов?
- Каким образом простейшие, паразитирующие внутри макрофагов, избегают разрушения под действием ферментов и других цитотоксических молекул?
- Как избегают действия иммунного ответа паразиты, локализованные в крови или жидкостях организма?
- Каким образом паразиты вызывают иммунопатологические реакции?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Butterworth A.E. 1994. Human immunity to schistosomes: some questions. *Parasitol. Today* **10**: 378–379.

Clark I.A., Rockett K.A. 1996. Nitric oxide and parasitic disease. *Adv. Parasitol.* **37**: 1–58.

Maizels R.M., Bundy D.A.P., Selkirk M.E. et al. 1993. Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. *Nature* **365**: 797–804.

Reiner S.L., Locksley R.M. 1995. The regulation of immunity to *Leishmania major*. *Annu. Rev. Immunol.* **13**: 51–177.

Russel D.G. 1995. *Leishmania* and *Mycobacterium*: Stowaways in the endosomal network. *Trends Cell Biology* **5**: 125–128.

Адреса в Интернет:

Информацию можно найти в различных разделах сети, хотя и не посвященных специально иммунологии. Доступ к ним осуществляется посредством ключевых слов. Несколько семинарных сайтов имеется в Бионет, например информацию можно получить по адресу http./www/bio.net. (почта семинара по паразитологии.)

Вакцинация

19

- **Неспецифическая иммунизация,** например путем введения цитокинов, может применяться, когда целесообразно стимулировать общую иммунореактивность.
- **Адъюванты** – вещества, усиливающие образование антител, – обычно необходимы при иммунизации убитыми вакцинами.
- **Технология рекомбинантных ДНК,** по всей вероятности, станет основой для разработки вакцин следующего поколения.
- Вакцинация основана на способности организма формировать **приобретенный иммунитет** и иммунологическую память в отношении возбудителя.
- В качестве вакцин применяют самые разнообразные **антигенные препараты,** от целых микробов до просто пептидов и полисахаридов.
- **Живые вакцины существенно отличаются от убитых** и, как правило, эффективнее их.
- Вакцинация представляет собой форму **активной иммунизации.**
- **Пассивная иммунизация** путем непосредственного введения готовых антител еще сохраняет свое значение как средство противоинфекционной защиты в определенных обстоятельствах, например при столбняке, когда токсин уже проник в кровоток.

Вакцинация, несомненно, самое известное и наиболее успешное применение иммунологических принципов в медицине. Первая вакцина была названа так по болезни крупного рогатого скота – vaccinia (коровья оспа), вызываемой, как выяснилось впоследствии, вирусом. Два столетия назад ее применил пионер исследований в этой области английский врач Дженнер. Это стало первой научно продуманной попыткой предотвратить инфекционное заболевание человека (натуральную оспу), причем автор метода ничего не знал о вирусах (или о любых других микробах) и об иммунитете.

Лишь столетие спустя уже Пастером был сформулирован фундаментальный принцип вакцинации: для создания напряженного иммунитета против высоковирулентных микроорганизмов можно применять препараты из тех же микробов, но с ослабленной путем определенного воздействия вирулентностью. Используя в соответствии с этим высушенный спинной мозг кролика, зараженного вирусом бешенства, и прогретые культуры бацилл сибирской язвы, Пастер создал по сути дела прототипы современных вакцин. В то же время созданная Дженнером вакцина животного происхождения, содержашая вирус коровьей оспы (гетерологичная), не получила впоследствии как метод какого-либо продолжения.

Даже и сам Пастер не знал ничего о функции лимфоцитов или сущности иммунологической памяти; их открытие заставило себя ждать еще полстолетия. Тогда, наконец, с появлением клонально-селекционной теории Бернета (1957) и данных о Т/В-дифференциации лимфоцитов (1965) стал понятен ключевой механизм вакцинации: содержащийся в вакцине антиген должен вызвать клональную экспансию специфических Т- и/или В-клеток, оставив после себя популяцию клеток иммунологической памяти. При следующей встрече с тем же антигеном именно они способны дать вторичный ответ, который обычно быстрее и эффективнее первичного. Часто первичный ответ слишком слаб, чтобы сдержать развитие опасной инфекции (см. *рис. 1.19*).

Таким образом, вакцинация приводит к формированию *приобретенного* иммунитета, а искусство создания вакцин заключается в разработке таких антигенных препаратов, которые

- безвредны для организма,
- вызывают нужную форму иммунного ответа и, кроме того,
- доступны по стоимости для населения.

Благодаря вакцинации достигнуты успехи в предупреждении многих инфекционных заболеваний, но сушествуют и болезни, для защиты от которых вакцин еше не создано. Причины такого противоречия и составляют в основном предмет рассмотрения в данной главе.

Основные типы вакцин

Тип антигенного препарата		Примеры вакцин
Живые микробы	Штаммы дикого типа	Вирус коровьей оспы (против натуральной оспы), микобактерии – возбудители мышиного туберкулеза (из истории противотуберкулезной ввкцинвции)
	Ослабленные (по иммуногенности), или аттенуированные штаммы	*Полиовирусная (оральная ввкцина Сейбина против полиомиелита), *коревая и *паротитная, *против краснухи, против желтой лихорадки (штамм 17D), против ветряной оспы / опоясывающего лишая (герпесвирус 3 человека), *противотуберкулезная – БЦЖ
Интактные, но нежизнеспособные микробы	Вирусы	*Полиовирусная Солка, против гриппа, гепатита А, бешенства
	Бактерии	*Коклюшная, брюшнотифозная, холерная, сыпнотифозная и противочумная
Субклеточные фрагменты микробных клеток	Капсульные полисахариды	Пневмококковая, менингококковая, против *Haemophilus influenzae*
	Поверхностный антиген	*Против гепатита В
Анатоксины		*Столбнячная, *дифтерийная
На основе рекомбинантных ДНК	Полученный путем клонирования и экспрессии гена	*Против гепатита В (экспрессия в клетках дрожжей)
	Полученный методом включения генов в экспрессируемые векторы	Экспериментальные препараты
	Чистая ДНК	Экспериментальные препараты
Антиидиотипические антитела		Экспериментальные препараты

* Включена в число плановых прививок в большинстве стран мира

Рис. 19.1
Вакцинами могут служит разнообразные препараты микробных антигенов.

АНТИГЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ КАК ВАКЦИНЫ

Выбор типа антигенного препарата для применения в качестве вакцины зависит от многих факторов. В общем, чем больше антигенов данного микроба останется в вакцине, тем лучше, и живые микроорганизмы, как правило, эффективнее убитых (см. ниже). Исключение составляют болезни, патогенез которых определяется действием токсина. В этом случае основой вакцины может служить сам токсин. Еще одно исключение – это вакцины, в которых нужные микробные антигены экспрессируются клетками других микробов, используемых в качестве вектора.

На *рис. 19.1* перечислены основные антигенные препараты, используемые в настоящее время в качестве вакцин.

Для приготовления живых вакцин могут использоваться как штаммы дикого типа, так и аттенуированные, или ослабленные, штаммы микробов

Живые микроорганизмы штаммов дикого типа редко используются для вакцин

За исключением вируса коровьей оспы, ни один полностью нативный (циркулирующий в природе) микроорганизм не служил когда-либо для приготовления используемых на практике вакцин. Однако известны испытания бычьего и обезьяньего ротавирусов в качестве вакцин для детей. Одно время внимание исследователей привлекала иммунизация микобактериями – возбудителями мышиного туберкулеза, как средство противотуберкулезной защиты. На Ближнем и Среднем Востоке, а также в России для создания иммунитета к кожному лейшманиозу делают прививки живой культуры *Leishmania tropica major*, выделенной от больного с легким течением болезни. Вполне вероятно, что в будущем будет получена еще одна хорошая гетерологичная (как у Дженнера) вакцина, но при этом возможны серьезные проблемы, связанные с требованием безвредности.

Наиболее эффективны живые ослабленные вакцины

При разработке вакцин самой плодотворной оказалась стратегия ослабления (*аттенуации*) вирулентности возбудителей, вызывающих болезни у человека, при сохранении нужных антигенов. Первый успех на этом пути был достигнут Кальметтом и Гереном с одним из штаммов туберкулезных бактерий бычьего типа (*Mycobacterium bovis* complex), который за 13 лет (1908–1921) пересевов превратился в намного менее вирулентную форму, известную теперь как BCG (bacille Calmette–Guérin) и в некоторой степени эффективную в качестве противотуберкулезной вакцины. По-настоящему удачными оказались работы по аттенуации вирусов. Началом их стало получение путем пассирования в мышах и куриных эмбрионах ослабленного штамма 17D вируса желтой лихорадки (1937). В дальнейшем принципиально сходный подход позволил создать вакцины против полиомиелита, кори, эпидемического паротита и краснухи (*рис. 19.2*). Об эффективности этих вакцин свидетельствует резкое снижение заболеваемости соответствующими

Живые аттенуированные (ослабленные) вакцины

	Заболевание	Комментарий
Вирусное	Полиомиелит	Типы 2 и 3 могут ревертировать; имеется также убитая вакцина
	Корь	Эффективность 80%
	Эпидемический паротит	
	Краснуха	Теперь вакцинацию производят без различия пола
	Желтая лихорадка	Вакцина стабильно сохраняет свойства с 1937 г.
	Ветряная оспа / опоясывающий лишай	Вакцинирование производят в основном при лейкозах
	Вирусный гепатит А	Имеется также убитая вакцина
Бактериальное	Туберкулез	Вакцина стабильно сохраняет свойства с 1921 г.; обладает некоторой защитной активностью против проказы

Рис. 19.2
Аттенуированные вакцины получены против многих, но не всех, инфекционных болезней. Как правило, легче аттенуировать вирусы, чем бактерии.

инфекциями на протяжении последних двух–трех десятилетий (*рис. 19.3*).

Аттенуация может быть результатом мутаций В чем суть изменений, приводящих к аттенуации? Впервые ослабленные микробы были получены в результате серии случайных мутаций, индуцированных неблагоприятными условиями роста; их удалось выделить благодаря постоянной перепроверке и отбору по признаку утраты вирулентности при сохранении исходного антигенного состава. Эта длительная кропотливая работа была остроумно названа генетической рулеткой. Когда стало возможным секвенирование вирусных геномов, оказалось, что результаты традиционного способа аттенуации весьма неоднозначны. Один из примеров этого – различия между вирусами полиомиелита трех типов, входящих в состав живой полиомиелитной вакцины Сейбина. Геном вируса первого типа содержит 57 мутаций и почти никогда не ревертирует к дикому (вирулентному) типу, в то время как с вакцинными штаммами полиовирусов 2 и 3 типов это происходит часто, поскольку их безвредность зависит всего от двух ключевых мутаций. В некоторых случаях реверсии приводят к вспышкам поствакцинального паралитического полиомиелита. Одна из них, произошедшая в Швеции, стала достаточно убедительным аргументом для службы здравоохранения этой страны, чтобы прекратить применение живой вакцины, заменив ее убитой вакциной Солка (см. ниже). Однако в пользу живой вакцины свидетельствует тот факт, что во многих районах США она в настоящее время вытеснила вирус полиомиелита дикого типа в источниках водоснабжения и несомненно обеспечивает иммунную защиту части никогда не вакцинированного населения – яркий пример «коллективного иммунитета». С появлением совре-

Влияние вакцинации на заболеваемость вирусными инфекциями

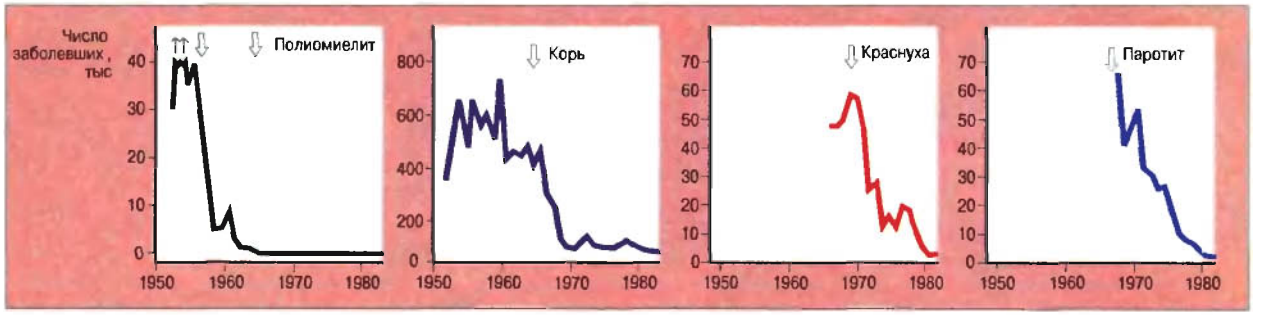


Рис. 19.3
В США эффект вакцинации проявился резким снижением заболеваемости рядом вирусных болезней после применения соответствующих вакцин (указано стрелками).

Убитые (цельноклеточные) вакцины

Заболевание		Комментарий
Вирусное	Полиомиелит	В Скандинавии предпочитают живой вакцине: безопасна при иммунодефиците
	Бешенство	Можно вводить вместе с антирабическим иммуноглобулином даже после инфицирования
	Грипп	Штамм-специфичная
	Гепатит А	Имеется также аттенуированная вакцина
Бактериальное	Коклюш	Потенциально энцефалопатогенная (*противоречивые оценки*)
	Брюшной тиф	Защищает примерно 70% вакцинированных
	Холера	Защита сомнительна, возможна комбинация с субъединицей токсина
	Чума	Обеспечивает лишь краткосрочную защиту
	Лихорадка Q	Хорошая защита

Рис. 19.4
Основные цельноклеточные убитые вакцины.

менной технологии получения рекомбинантных ДНК стало очевидным, что как вирусные, так и бактериальные аттенуированные вакцины должны создаваться на основе направленно точечных, а не случайных мутаций.

Убитые вакцины – это сохранившие нативность антигенов, но нежизнеспособные микроорганизмы

Эти вакцины создают по принципу упомянутых выше убитых вакцин Пастера. Некоторые из убитых вакцин высокоэффективны (антирабическая вакцина и полиомиелитная вакцина Солка), эффективность же других невысока (брюшнотифозная, холерная и гриппозная вакцины) или спорна (чумная вакцина и вакцина против эндемического сыпного тифа). Применение некоторых вакцин встречает возражения из-за их токсичности (цельноклеточная коклюшная вакцина). Перечень большей части применяемых в настоящее время убитых вакцин приведен на *рис. 19.4*. Можно надеяться, что некоторые из них будут заменены, как более эффективными, вакцинами на основе ослабленных возбудителей, и уже видна определенная перспектива появления такой антирабической вакцины, а также полученных методом генной инженерии брюшнотифозной и холерной вакцин.

Успехи иммунизации против дифтерии

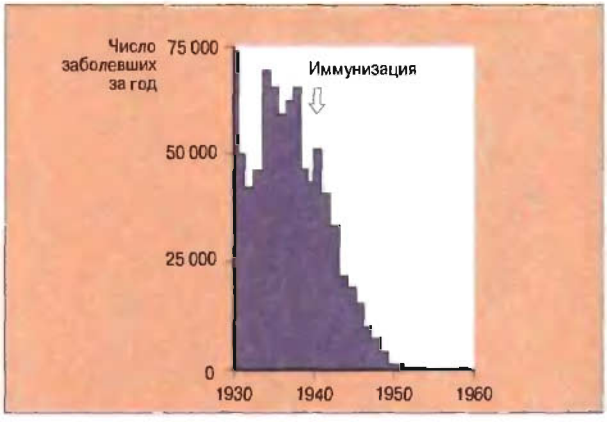


Рис. 19.5
Данные ежегодного учета случаев дифтерии демонстрируют поразительный успех применения вакцины из инактивированного токсина: число заболевших резко упало после введения в 1940 г. обязательной вакцинации. (С любезного разрешения по J.R. Pattison *In* Brostoff J. et al., eds. *Clinical Immunology* (Ch. 26). London: Mosby, 1991.)

Вакцины на основе токсинов

Микроорганизм	Вакцина	Комментарий
Clostridium tetani *Corynebacterium diphtheriae*	Токсин, инактивированный формальдегидом	Три инъекции анатоксина, адсорбированного на геле гидроксида алюминия; ревакцинация каждые 10 лет. Обычно вводят вместе со столбнячным анатоксином
Vibrio cholerae	Токсин, В-субъединица	Иногда применяется в комбинации с целыми убитыми клетками бактерий
Clostridium perfringens	Токсин, инактивированный формальдегидом	Иммунизируют новорожденных ягнят

Рис. 19.6
Вакцины, приготовленные на основе токсинов. В список не включены препараты против многочисленных экзотоксинов стафилококков и стрептококков, а также против бактериальных эндотоксинов, подобных липополисахариду.

Инактивированные токсины и анатоксины – наиболее удачные из бактериальных вакцин

Самыми эффективными среди всех бактериальных вакцин считаются столбнячная и дифтерийная вакцины (*рис. 19.5*), приготовленные из инактивированных экзотоксинов (*рис. 19.6*). Тот же

принцип может, как оказалось, быть использован для приготовления вакцин и против ряда других инфекционных болезней.

Столбнячный анатоксин может служить «носителем» в составе других вакцин

Столбнячный анатоксин, кроме применения в качестве вакцины против столбняка, используется еще и как «носитель» в вакцинах, состоящих из коротких пептидов, которые иначе лишены иммуногенности. Такой способ эффективен благодаря тому, что население в большинстве вакцинировано против столбняка и обладает Т-клетками иммунологической памяти, распознающими токсин. Однако целесообразно использовать в качестве носителя белок того же микроба, против которого направлена конструируемая вакцина (в частности, пневмококковая, малярийная и т. д.).

Безвредными и эффективными вакцинами служат поверхностные антигены и фрагменты микробных клеток

Иммунная система (главным образом В-клетки и антитела) распознает прежде всего поверхностные антигены большинства микроорганизмов и отвечает на них. Они и служат безвредной и эффективной вакциной в тех случаях, когда вторичное образование антител способно сдерживать инфекцию (*рис. 19.7*). Наиболее удачными оказались вакцины против инкапсулированных бактерий, капсульные полисахариды которых удается получить в препаративных количествах, и против вируса гепатита В, обладающего необычным свойством сверхсинтеза поверхностного антигена (HBs).

Вакцины на основе фрагментов микробных клеток

	Микроорганизм	Комментарий
Бактерии	*Neisseria meningitidis*	Эффективны группоспецифические полисахариды А и С; полисахарид группы В неиммуногенен
	Streptococcus pneumoniae	Известны 84 серотипа пневмококков; вакцины содержат не менее 23
	Haemophilus influenzae B	Все полисахаридные вакцины требуют конъюгации с белковым носителем
	Neisseria gonorrhoeae	Не очень эффективна
	Escherichia coli	Используется в ветеринарии
Вирус	Вирус гепатита В	Защищает более 95% вакцинированных

Рис. 19.7
Основные вакцины, состоящие из фрагментов микробных клеток.

Низкомолекулярные антигены можно получать путем химического синтеза или молекулярного клонирования

Если установлено, что защиту обеспечивает небольшой пептид (не частый случай), удобнее, возможно, получать его путем синтеза или клонирования в подходящем векторе экспрессии. Пример успешной реализации этого подхода – получение HBs-антигена, клонированного в клетках дрожжей. Изготовленная таким способом вакцина вытеснила теперь HBs-вакцину первого поколения, которую приходилось готовить трудоемким методом выделения HBs-антигена из крови носителей вируса и последующей очистки; при новом способе снизилась и стоимость вакцины.

Привлекательность молекулярного клонирования заключается и в том, что в продукт можно ввести дополнительные последовательности, например необходимые В- и Т-клеточные эпитопы, скомбинированные различным образом для оптимизации иммунного ответа. Т-клетки распознают *линейные аминокислотные последовательности*, тогда как В-клетки отвечают на трехмерную *конфигурацию* эпитопов антигена (см. гл. 9). Поэтому пептиды хорошо функционируют в качестве Т-клеточных эпитопов, но не способны имитировать структурированные В-клеточные эпитопы. Даже в том случае, если В-клеточная детерминанта имеет линейную конфигурацию, антитела, полученные к свободному гибкому пептиду, не связываются с ним так же оптимально, как с идентичной последовательностью в составе нативного белка, где она имеет более жесткую структуру.

Вакцины будущего – это микробные гены в комбинации с векторами для экспрессии антигена in situ

Дальнейшее развитие подхода с применением клонирования генов предполагает введение нужного гена в такой вектор, который способен после инъекции в организм обеспечивать репликацию и экспрессию с образованием большого количества антигена in situ (*рис. 19.8*). Ранее на роль

Получение рекомбинантного вируса коровьей оспы для экспрессии чужеродного гена

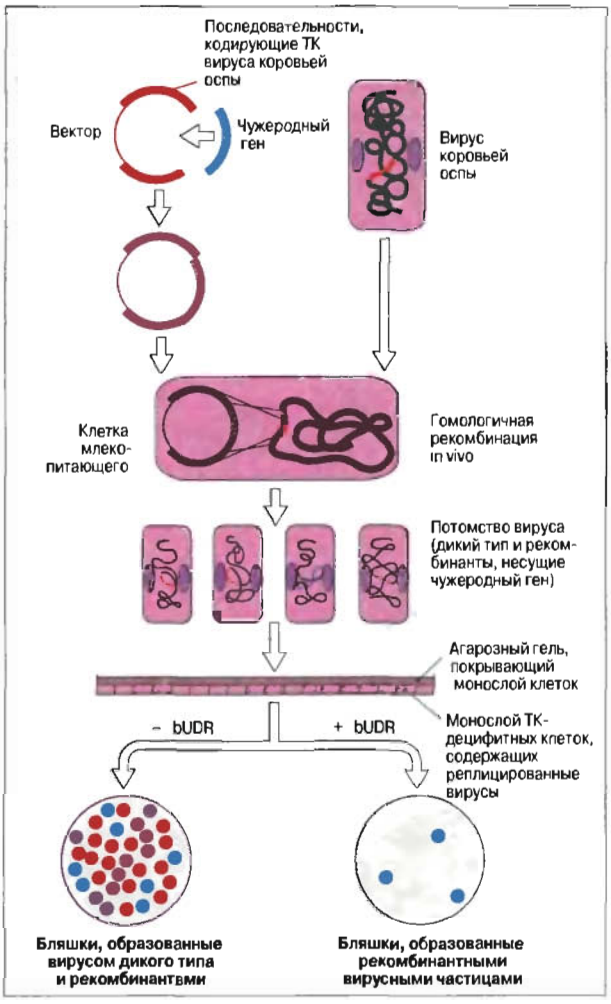


Рис. 19.8
Рекомбинантный вирус коровьей оспы может служить вектором для экспрессии чужеродного гена. Чужеродный ген встроен в ген тимидинкиназы (ТК) этого вируса, чтобы по условиям образования бляшек рекомбинантный вирус отличался от вируса дикого типа. ТК необходима вирусу для включения тимидина из питательной среды или внутриклеточного пула при синтезе ДНК. Рекомбинантный вирус не образует ТК, поскольку этот ген прерван вставкой, и вынужден использовать особый путь для синтеза тимидина de novo. В присутствии аналога тимидина – бромдезоксиуридина (bUDR), включение которого в ДНК блокирует ее синтез, репликации вируса дикого типа не происходит, тогда как рекомбинантный вирус продолжает реплицироваться за счет синтеза тимидина de novo. Клетки, образующие монослой, должны быть ТК-дефицитными, чтобы рекомбинантный вирус не мог использовать клеточную ТК для включения bURD. (С любезного разрешения д-ра D.J. Rowlands, по Brostoff J. et al., *Clinical Immunology* (Ch. 26). London: Mosby, 1991.)

вектора выдвигали вирус коровьей оспы (несмотря на изредка проявляемую им токсичность), однако его использованию препятствует то, что многие люди уже привиты против оспы и у них этот вирус будет слишком быстро выводиться из организма. В качестве альтернативы предлагались почти все из имеющихся аттенуированных вирусных вакцин.

Другой подход к созданию вакцины заключается в использовании в роли векторов аттенуированных бактерий, и естественным кандидатом на нее представляется вакцина БЦЖ (от франц. BCG – bacille Calmette–Guérin), поскольку геном микобактерий по расчетам достаточно велик для включения генов любых других микробов, из которых необходимо создать вакцину. Имеется также ряд мутантных штаммов сальмонелл, способных при пероральном введении проиммунизировать лимфоидную ткань кишечника, прежде чем будут элиминированы. Эти бактерии идеально подходят как векторная вакцина для индукции местного иммунитета в кишечнике – очень важная задача, если учесть, что диарейные заболевания составляют главную причину детской смертности на земном шаре. Еще одно преимущество аттенуированных микроорганизмов как векторов заключается в том, что их могут поглощать макрофаги, вызывая в результате системный иммун-

ный ответ вследствии миграции в другие части тела.

Самым новым направлением в этой области стала разработка метода вакцинирования чистой ДНК, в последовательность оснований которой включен подходящий промотор. Поразительным образом такая вакцина создает превосходный иммунитет, как гуморальный, так и клеточный, не вызывая при этом толерантности, которую можно было бы ожидать в случае потенциально неограниченного источника чужеродного антигена. Это направление, привлекающее огромный интерес, быстро развивается, и уже вскоре можно ожидать результатов испытаний «ДНКовой» гриппозной вакцины.

Когда нативный антиген непригоден для иммунизации, можно использовать антиидиотипические вакцины

Это единственный тип вакцин, созданный исключительно на основе теоретических представлений. Идея состоит в получении большого количества антиидиотипических моноклональных антител (анти-Id) против V-области (идиотипа) иммуноглобулина, заведомо обладающего защитной активностью. Отобранные соответствующим образом антитела анти-Id будут по пространственной конфигурации подобны эпитопам исходного иммунизирующего антигена и пригодны для использования с целью активной иммунизации вместо него (*рис. 19.9*). Такая стратегия, хотя и воспринимается нередко скептически, как плод «умозрительной иммунологии», все же может оказаться действительно эффективной в тех случаях, когда сам по себе нативный антиген непригоден, т. е. не обладает иммуногенностью, как, например, некоторые бактериальные полисахариды или липид А из бактериального эндотоксина (липополисахарида, ЛПС). При этом моноклональные антитела имеют то преимущество, что они как белки должны индуцировать иммунологическую память, которой полисахариды и липиды обычно не вызывают.

Антиидиотипические антитела в качестве вакцин

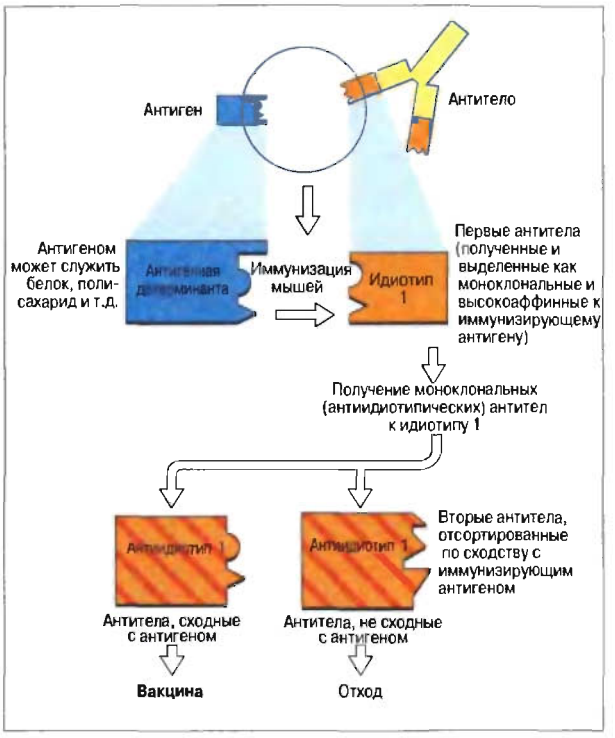


Рис. 19.9
Разработка метода получения моноклональных антител и открытие «идиотипической сети» (см. гл. 13) сделали возможным использование иммуноглобулинов в качестве заменителей антигенов. Такая технология позволяет получить белковую копию углеводного или липидного антигена, обладающую возможным преимуществом в качестве вакцины.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИН

Официально допущенная к применению вакцина должна быть безусловно эффективной, причем эффективность всех применяемых на практике вакцин периодически перепроверяется. Действенность вакцины определяется многими факторами. Чтобы считаться эффективной, вакцина должна обладать следующими свойствами:

- **индуцировать нужную форму иммунологического ответа;** например, вызывать образование антител к токсинам и внеклеточным микробам, таким как *Streptococcus pneumoniae*, или формирование клеточного иммунитета к внутриклеточно размножающимся возбудителям, таким как туберкулезные микобактерии. Когда оптимальный тип ответа неизвестен (как при малярии), сконструировать эффективную вакцину гораздо труднее;
- **быть стабильной при хранении;** это особенно важно для живых вакцин, которые постоянно, на всем пути от производства до медицинского кабинета, должны находиться при

низкой температуре, что не всегда легкодостижимо;
- **обладать достаточной иммуногенностью;** в случае убитых вакцин ее нередко требуется повышать, применяя *адъювант* (см. ниже).

Живые вакцины обычно эффективнее убитых

Чтобы вызвать иммунитет необходимой напряженности, антиген должен обладать определенными свойствами. Преимущество живых вакцин по сравнению с убитыми состоит в том, что они обеспечивают нарастающее антигенное воздействие, которое длится сутки или недели, и создают иммунитет именно в том участке, где он необходим. На практике это особенно важно для формирования иммунитета слизистых оболочек (*рис. 19.10*). По-видимому, живые вакцины содержат наибольшее число различных микробных антигенов. Недостатками убитых вакцин могут быть также две следующие особенности вызываемого ими иммунного ответа: независимость от Т-клеток и рестрикция по антигенам главного комплекса гистосовместимости (МНС) (см. гл. 11 и 13). Типичные Т-независимые антигены – это полисахариды; они не связываются с молекулами МНС и поэтому не вовлекают в ответ Т-клетки. Для индукции Т-клеточной иммунологической памяти полисахариды конъюгируют в современных вакцинах либо со стандартным белковым носителем, таким как столбнячный анатоксин (см. ниже), либо с одним из белков того же микроба, например с белком наружной мембраны пневмококков, *Haemophilus* и др. Рестрикция по МНС влияет на ответ против коротких пептидов из 10–20 аминокислотных остатков и проявляется как «генетическая неотвечаемость» – такие пептиды взаимодействуют только с определенными молекулами МНС. Вероятно, отсутствие ответа из-за МНС-рестрикции это скорее гипотетическая возможность, поскольку большинство предлагаемых вакцин содержит значительно более крупные пептиды. Тем не менее даже наиболее эффективные вакцины часто не обеспечивают стопроцентную иммунизацию; так, после полного курса вакцинации против гепатита В наблюдается отсутствие сероконверсии примерно у 5% вакцинированных.

Образование антител в ответ на введение живой и убитой полиомиелитных вакцин

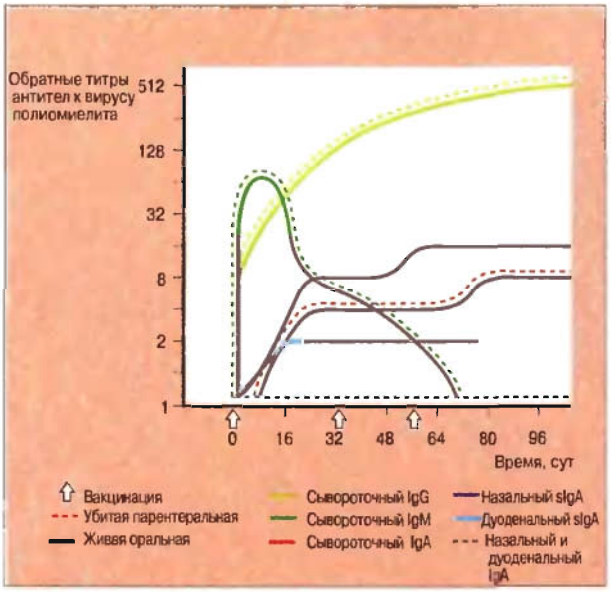


Рис. 19.10
Образование антител в ответ на пероральное введение живой аттенуированной вакцины (сплошные линии) и на внутримышечное введение убитой (прерывистые линии) полиомиелитной вакцины. Живая вакцина вызывает, кроме образования сывороточных антител IgM и IgG, продукцию секреторных IgA (sIgA). Поскольку sIgA – это антитела, образующиеся в системе лимфоидных тканей слизистых оболочек (ЛТС) (см. гл. 3), живая вакцина обеспечивает противовирусную защиту входных ворот инфекции – слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. (С любезного разрешения проф. J.R. Pattison, по Brostoff J. et al., eds. *Clinical Immunology* (Ch. 26) London: Mosbt, 1991.)

БЕЗВРЕДНОСТЬ ВАКЦИН

Безвредность вакцин, которой вначале не придавали должного значения, теперь становится главнейшим условием их применения. Конечно, безвредность весьма относительное понятие – небольшая болезненность или отек в месте инъекции и даже умеренная лихорадочная реакция обычно считаются приемлемыми последствиями вакцинации, хотя население (с помощью адвокатов) все больше осознает возможность выигрыша судебных дел по этому поводу. В подобных претензиях нет ничего удивительного, поскольку в отличие от антибиотиков и прочих лекарств вакцину вводят людям, которые перед тем чувствовали себя вполне здоровыми.

Проблемы безвредности вакцин

Тип вакцины	Потенциальная опасность	Примеры вакцин
Аттенуированные вакцины	Реверсия к дикому типу	Особенно вероятна для штаммов вируса полиомиелита типов 2 и 3
	Тяжелое заболевание в случае иммунологической недостаточности у вакцинируемого	Оспенная, коревая и БЦЖ
	Хроническая инфекция	Против ветряной оспы/опоясывающего лишая
	Гиперчувствительность к вирусным антигенам	Коревая
	Гиперчувствительность к антигенам куриных эмбрионов	Коревая и паротитная
Убитые вакцины	Микроб не убит	Полиомиелитная (инциденты в прошлом)
	Загрязнение дрожжами	Против гепатита В
	Контаминация вирусами животных	Полиомиелитная
	Примесь эндотоксина	Коклюшная

Рис. 19.11
Возможные осложнения, связанные с вакцинацией, делают необходимым постоянный контроль за производством и применением вакцин.

Возможны и более серьезные осложнения, зависящие от вакцины или от индивида (*рис. 19.11*). Вполне вероятно загрязнение вакцины посторонними белками или токсинами и даже живыми вирусами. Вакцина, называемая убитой, может оказаться недостаточно инактивированной, а аттенуированные вакцины способны ревертировать к дикому типу. Вакцинируемый индивид может обладать повышенной чувствительностью к следовой примеси какого-либо загрязняющего вакцину белка или страдать иммунологической недостаточностью, при которой любые живые вакцины, как правило, противопоказаны.

СТОИМОСТЬ ВАКЦИНАЦИИ

Вакцинацию с полной уверенностью можно отнести к экономически наиболее эффективным способам борьбы с инфекционными заболеваниями, однако некоторые вакцины еще слишком дорогостоящи для большинства из тех, кому они предназначены. Наглядный пример этому – вакцина против гепатита В: даже препарат на основе клонированного гена (стоимость дозы 80 долларов США) недоступен для 90% населения земного шара. На другом конце стоимостной шкалы находится вакцина БЦЖ, которая может продаваться по цене несколько центов за одну дозу. Если учесть, что доходность производства иммунобиологических препаратов гораздо меньше, чем, например, антибиотиков, то нужно быть благодарными каждому еще сохраняющему свое производство изготовителю вакцин.

СОВРЕМЕННЫЕ ВАКЦИНЫ

Вакцины, применяемые для массовой иммунизации, различны по эффективности

На *рис. 19.12* перечислены вакцины, вошедшие в стандартный набор для обязательной вакцинации в большинстве стран мира. Четыре из них – полиомиелитная, коревая, паротитная и краснушная – настолько эффективны, что эти заболевания, как ожидается, окончательно исчезнут в начале XXI века. Если так и произойдет, можно будет говорить о выдающемся достижении, поскольку, согласно математической модели, эти четыре болезни представляют более «трудные» объекты для искоренения, чем была в прошлом натуральная оспа. Однако другие вакцины в меньшей степени могут способствовать ликвидации заболеваний по причинам, перечисленным ниже.

Вакцины, входящие в календари прививок

Болезнь	Вакцина	Примечания
Столбняк	Анатоксин	Вводят одновременно, трехкратно, в возрасте от 2 до 6 мес; против столбняка и дифтерии ревакцинация каждые 10 лет
Дифтерия	Анатоксин	
Коклюш	Убитая цельноклеточная	
Полиомиелит	Убитая (Солка) или аттенуированная (Сейбина)	
Корь Паротит Краснуха	Аттенуированная	Вводят вместе («MMR») в возрасте 12–18 мес
Инфекция *Haemophilus*	Полисахарид	Новая вакцина; может сочетаться с приведенными выше

Рис. 19.12
Вакцины, предназначенные в настоящее время для поголовной, насколько это возможно, иммунизации.
[Перечень, сочетания, сроки и кратность введения вакцин в календарях прививок разных стран (в частности, России) несколько отличаются от приведенных. – *Прим. перев.*]

- **Носительство инфекции:** искоренение гепатита В было бы грандиозной победой, но для нее требуется, однако, ликвидировать носительство вируса, особенно в странах Дальнего Востока, где инфекция передается обычно от матери ребенку.
- **Недостаточная эффективность:** защитное действие вакцины БЦЖ существенно варьирует в разных странах (заболеваемость туберкулезом растет, особенно среди лиц с иммунологической недостаточностью, в частности при ВИЧ-инфекции); эффективность коклюшной вакцины не превышает 70%.
- **Побочное действие:** коклюшную вакцину подозревают в многочисленных побочных эффектах, что стало причиной отказов населения от вакцинации.
- **Наличие свободноживущих форм возбудителя и животных-хозяев:** споры возбудителя столбняка способны, вероятно, бесконечно долго выживать в окружающей среде; так же невозможно покончить с болезнями, возбудители которых имеют, кроме человека, еще и животных-хозяев, как в случае желтой лихорадки.

Одна из будущих проблем видится в настоятельной необходимости проводить вакцинацию и против заболеваний, считающихся ликвидированными. Другая проблема связана с тем, что по мере сокращения резервуара инфекции заболеваемость сдвигается в старшие возрастные группы населения и в случае кори и краснухи это грозит более тяжелым течением заболевания.

Некоторые вакцины предназначены для иммунизации только отдельных групп населения

В развивающихся странах к этой категории относятся вакцины против гепатита В и БЦЖ [1]. Однако ряд вакцин, по-видимому, всегда будет предназначен только для отдельных групп населения — путешественников, медицинских сестер, лиц престарелого возраста и др. (*рис. 19.13*). В некоторых случаях это обусловлено географической ограниченностью распространения инфекции (например, желтой лихорадки) или низкой частотой заражения (например, бешенством), в других — трудностью производства достаточного количества вакцины (которую нельзя приготовить заранее) в тот момент, когда в ней возникла потребность. В частности, каждую эпидемию гриппа вызывает новый штамм вируса, требующий соответственно и новой вакцины. Разумеется, бесценной была бы вакцина, иммунизирующая сразу против всех возможных штаммов этого возбудителя; однако, к сожалению, и гемагглютинин и нейраминидаза — антигены, вместе составляющие наружный слой оболочки вируса гриппа и важные как компоненты вакцины, как раз и подвержены изменчивости.

Для профилактики паразитарных инфекций и инвазий имеются пока лишь экспериментальные вакцины

Вакцины против главных тропических протозойных инфекций и глистных инвазий относятся к числу наиболее интенсивно разрабатываемых, и тем не менее ни одна из них не применяется на практике и, как полагают, не найдет применения в будущем, поскольку эти заболевания не оставляют после себя стойкого иммунитета. «Природу нельзя усовершенствовать», но вместе с тем исследования на лабораторных животных показа-

Вакцины, применяемые ограниченно (для иммунизации определенных групп населения)

Болезнь	Вакцина	Группы, подлежащие вакцинации
Туберкулез	БЦЖ	В тропических странах: новорожденные; в Великобритании: дети 10–14 лет; в США: только группы риска
Гепатит B*	Поверхностный антиген	Группы риска (врачи, медсестры и др.); наркоманы; мужчины-гомосексуалисты; случаи контакта с носителем
Бешенство	Убитая	Группы риска (профессиональный контакт с животными): предэкспозиционная и постэкспозиционная (после укусов, ослюнения) профилактика
Менингит Желтая лихорадка Брюшной тиф, холера Гепатит А	Полисахарид Аттенуированная Убитая или живая (мутант) Убитая или аттенуированная	Путешественники
Грипп	Убитая	Группы риска; престарелые
Пневмония, вызванная пневмококками	Полисахарид	Престарелые
Ветряная оспа / опоясывающий лишай	Аттенуированная	При лейкозах у детей

Рис. 19.13
Вакцины, применяемые в настоящее время для иммунизации лишь определенных групп населения.

[1] В России обе эти вакцины входят в календарь плановых прививок для всех детей. — *Прим. перев.*

ли, что идея создания вакцин против малярии, лейшманиоза и шистосомоза вполне осуществима; кроме того, уже имеется удовлетворительная по эффективности вакцина против собачьего бабезиоза. В ветеринарии уже несколько десятилетий применяют радиационно стерилизованную вакцину против вызываемого нематодами бронхита крупного рогатого скота.

Нельзя также исключать, что вакцинопрофилактика паразитарных заболеваний человека столь проблематична отчасти из-за полиморфизма и быстрой изменчивости многих паразитарных антигенов. Например, при моделировании малярии на мелких животных не обнаружено такой активной антигенной изменчивости, какая характерна для *Plasmodium falciparum* – возбудителя трехдневной злокачественной тропической малярии человека. По аналогичной причине, по-видимому, крысы иммунизируются против шистосомоза гораздо легче других животных и. возможно, человека. Частично эта проблема связана с тем, что в лабораторных условиях данных возбудителей обычно культивируют не в естественных хозяевах.

Опубликованные результаты нескольких клинических испытаний малярийных вакцин (приготовленных из антигенов плазмодия на печеночной или эритроцитарной стадии его развития) свидетельствуют лишь о весьма ограниченной их эффективности. Малярия отличается от многих инфекций тем, что на различных стадиях жизненного цикла возбудитель экспонирует разные мишени для иммунного ответа (*рис. 19.14*). Испытания вакцины из убитых лейшманий в комбинации с БЦЖ, проведенные в Венесуэле, продемонстрировали ее защитную активность не менее чем у 90% вакцинированных.

Патогенез рассматриваемых хронических паразитарных заболеваний связан с иммунопатологией. Так, симптомы болезни Чагаса, вызываемой *Trypanosoma cruzi*, большей частью обусловлены функцией иммунной системы, а именно аутоиммунными реакциями. Среди бактериальных инфекций аналогичным примером служит проказа, при которой ряд симптомов вызван, предположительно, чрезмерной реактивностью Tx1- или Tx2-клеток. Вакцина же, стимулируя специфический иммунитет в организме, не освобожденном от возбудителя, способна усилить иммунопатологию. Другой пример функции иммунной системы с отрицательным эффектом наблюдается в патогенезе лихорадки денге, при которой антитела определенного изотипа усиливают инфекцию, позволяя вирусам проникать в клетки посредством взаимодействия с их Fc-рецепторами. Появление антител, потенцирующих инфекцию, обнаружено также на экспериментальной модели при изучении иммуногенности малярийной вакцины, «блокирующей передачу инфекции».

Пути разработки противомалярийной вакцины

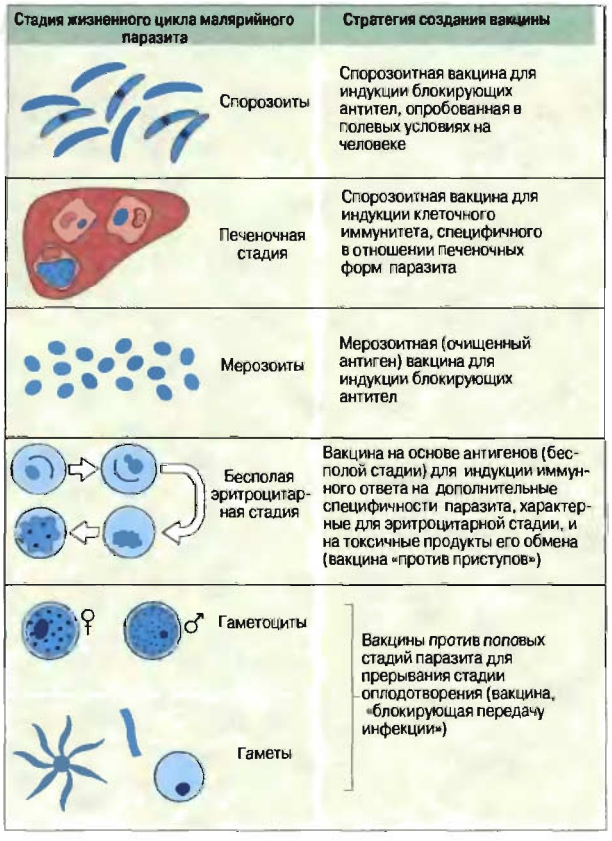


Рис. 19.14
Разработка малярийной вакцины ведется по ряду стратегических направлений, что отражает сложность жизненного цикла возбудителя и полиспецифичность иммунного ответа на него.

Другие экспериментальные вакцины

В стадии экспериментальной разработки находится еще ряд вирусных и бактериальных вакцин, например, на основе обезвреженного холерного токсина, аттенуированных штаммов шигелл, «детских» штаммов ротавирусов и поверхностного гликопротеина вируса Эпштейна–Барр.

Иммунопрофилактика многих заболеваний невозможна из-за отсутствия вакцин

До настоящего времени остается обширный список серьезных инфекционных заболеваний, против которых еще нет эффективных вакцин (*рис. 19.15*). На первом месте среди них синдром приобретенного иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция); создание вакцины против СПИДа будет главной целью научных исследований и разработок будущего десятилетия.

Основные инфекционные заболевания, против которых в настоящее время нет вакцин

Возбудители и болезни		Проблемы
Вирусы	ВИЧ	Изменчивость антигенов; иммуносупрессия?
	Вирусы герпеса	Опасность реактивации? (но аттенуированная вакцина против ветряной оспы/опоясывающего лишая, по имеющимся данным, безопасна)
	Аденовирусы, риновирусы	Множественность серотипов
Бактерии	Стафилококки Стрептококки группы А	Разработанные ранее вакцины неэффективны (антибиотики первоначально давали лучший эффект)
	Mycobacterium lepra (проказа)	Некоторую защиту обеспечивает БЦЖ
	Treponema pallidum (сифилис)	Нет данных об эффективном иммунитете
	Chlamydia	Предложенные ранее вакцины неэффективны
Грибы	*Candida* *Pneumocystis*	Нет данных об эффективном иммунитете
Простейшие	Малярия	Изменчиаость антигенов
	Трипаносомоз: сонная болезнь; болезнь Чагаса	Чрезвычайная изменчивость антигенов; иммунопатология; аутоиммунитет
	Лейшманиоз	Обнадеживающие результаты клинических испытаний
Гельминты	Шистосомоз	(Обнадеживающие результаты испытаний на животных)
	Онхоцеркоз	Нет данных об эффективном иммунитете

Рис. 19.15
Против некоторых тяжелых инфекционных болезней в настоящее время нет эффективных вакцин. Основное препятствие на пути их создания – отсутствие концептуальной идеи: как сформировать стойкий иммунитет.

АДЪЮВАНТЫ

В 1920-х гг. при разработке гетерологичных сывороток для терапии инфекционных заболеваний человека было обнаружено, что некоторые вещества, в частности соли алюминия, добавленные в раствор антигена или эмульгированные в нем, весьма усиливают образование антител, т. е. действуют в качестве *адъювантов*. (Гидроксид алюминия до сих пор широко используется, например, в вакцинах, содержащих дифтерийный и столбнячный анатоксины.) Впоследствии, исходя из современных представлений о механизмах активации лимфоцитов и формирования иммунологической памяти, многие исследователи пытались разработать адъюванты с лучшими свойствами, и особенно усиливающие Т-клеточный ответ. Перечень этих новых адъювантов приведен на *рис. 19.16*, однако необходимо подчерк-

Адъюванты

Тип адъюванта	Применяются при вакцинации населения	Экспериментальная стадия разработки или слишком высокая токсичность для человека
Неорганические соли	Гидроксид алюминия (алгидрогель) Фосфат алюминия Фосфат кальция	Гидроксид бериллия
Системы доставки		Липосомы* Иммуностимулирующие комплексы Блок-сополимеры Препараты пролонгированного высвобождения БЦЖ
Бактериальные продукты	*Bordetella pertussis* (с дифтерийным и столбнячным анатоксинами)	*Mycobacterium bovis* + масло (полный адъювант Фрейнда) Мурамилдипептид
Природные медиаторы (цитокины)		ИЛ-1 ИЛ-2 ИЛ-12 ИФγ

Рис. 19.16
Действовать в качестве иммуноадъювантов могут разнообразные вещества экзогенного и эндогенного происхождения, однако лишь соли алюминия и кальция, а также цельноклеточная убитая коклюшная вакцина используются как адъюванты при плановой вакцинации населения.

нуть, что ни один из них еще не принят для использования при плановой вакцинации населения.

Адъюванты либо удерживают антиген в месте введения, либо индуцируют образование цитокинов

Воздействие адъювантов на иммунный ответ в основном обусловлено, как предполагается, двумя их активностями: способностью удерживать (или даже накапливать) антиген в том месте, где он экспонируется лимфоцитам (эффект «депо»), и способностью вызывать синтез цитокинов, регулирующих лимфоцитарные функции. Соли алюминия действуют, вероятно, главным образом как депо, индуцируя образование мелких гранулем, в которых они задерживаются вместе с адсорбированным антигеном. Адъюванты нового поколения, такие как липосомы и иммуностимулируюшие комплексы (ISCOMs), позволяют достичь той же цели; заключенный в них антиген доставляется к антигенпрезентирующим клеткам. Адъюванты бактериального происхождения, такие как клеточные стенки микобактерий, эндотоксин и др., действуют, вероятно, в основном путем стимуляции образования соответствующих цитокинов. Это предположение подтверждается тем фактом, что цитокины действуют как эффективные адъюванты, особенно если связаны непосредственно с антигеном. Применение цитокинов в наибольшей степени целесообразно при вакцинации лиц, страдающих иммунологической недостаточностью (см. *рис. 19.18*), для которых вакцины обычного состава часто не эффективны. Можно также надеяться, что применение цитокинов позволит придавать иммунному ответу нужное направление — например, когда желательно образование только Tx1- или только Tx2-клеток памяти.

ПАССИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ

Идея лечить инфекционные заболевания заранее приготовленными препаратами антител, хотя и вытесняемая успехами антибиотикотерапии, все же сохраняет свою ценность в определенных ситуациях (*рис. 19.17*). Когда токсины уже проникли в кровоток (например, при дифтерии, столбняке или после укуса змеи) и для их нейтрализации требуется высокий титр специфических антител, жизнь больного удается спасти только введением именно таких препаратов, изготавливаемых обычно из плазмы крови гипериммунизированных лошадей, а иногда из сывороток лиц, перенесших заболевание. Если расположить препараты антител по градиенту удельной активности, то в конце этого ряда окажется нормальный иммуноглобулин человека — препарат, приготовленный из смеси образцов крови неиммунизированных доноров, но содержащий тем не менее антитела к возбудителям банальных инфекций в количестве, вполне достаточном для того, чтобы при введении в дозе 100–400 мг IgG обеспечивать в течение месяца защиту больному, страдающему гипогаммаглобулинемией. При производстве каждой серии этого препарата в одной реакторной загрузке смешивается плазма крови более 1000 доноров, безопасная в отношении вирусов иммунодефицита человека, а также гепатитов B и C.

Применение специфических моноклональных антител, теоретически привлекательное, на практике еше не имеет преимуществ перед традиционными методами серотерапии. В настоящее время оно осуществляется главным образом в области диагностики инфекционных заболеваний. Но ситуация может измениться, когда станут более доступными (и менее дорогостоящими)

Пассивная иммунизация

Болезни	Видовая принадлежность антител	Назначение
Дифтерия Столбняк	Человек, лошадь	Для профилактики и лечения
Ветряная оспа / опоясывающий лишай	Человек	Лечение при иммунологической недостаточности
Газовая гангрена Ботулизм Укус ядовитой змеи Ранение жалом скорпиона	Лошадь	Постэкспозиционное лечение
Бешенство	Человек	Постэкспозиционное лечение (плюс вакцина)
Гепатит B	Человек	Постэкспозиционное лечение
Гепатит A	Иммуноглобулин из смеси образцов нормальной плазмы человека	Профилактика (путешествия)
Корь		Постэкспозиционное лечение

Рис. 19.17
Лечение препаратами специфических антител может еще служить для спасения жизни больных в определенных клинических ситуациях, хотя и не применяется так широко, как 50 лет назад.

моноклональные антитела человека, полученные либо в культуре клеток, либо методами белковой инженерии (см. гл. 29).

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ

Многие из веществ, используемых в качестве адъювантов в вакцинах, применяются также отдельно для стимуляции общей иммунореактивности (*рис. 19.18*). Лучшие результаты дают при этом не традиционные иммуноадъюванты, а цитокины, среди которых наиболее широко используется α-интерферон (ИФα), в основном ввиду его антивирусной, а также и антиопухолевой активности (см. ниже и гл. 20). По-видимому, наиболее выраженный клинический эффект был получен при применении гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) для восстановления костномозгового кроветворения после цитотоксической химиотерапии: наблюдалась нормализация свертываемости крови и противоинфекционной резистентности.

Антиген-неспецифическая иммунотерапия

Источник получения препаратв		Примечания
Микробный	Фильтраты бактериальных культур	Применялись Коули (1909) для лечения опухолей
	БЦЖ	Проявляет некоторую противоопухолевую активность
Цитокины	ИФα	Эффективен при хронических инфекциях: гепатите В, гепатите С, опоясывающем лишае, вирусных бородавках; действует профилактически против простуды (а также некоторых опухолей)
	ИФγ	Эффективен в некоторых случаях хронического гранулематоза, лепроматозной проказы и лейшманиоза (кожного)
	ИЛ-2	Эффективен при лейшманиозе (кожная форма)
	Г-КСФ	Восстанавливает костномозговое кроветворение после цитотоксической химиотерапии
Ингибиторы цитокинов	Антагонисты ФНО	Эффективны при септическом шоке
	Антагонисты ИЛ-1	Эффективны при тяжелой (церебральной) малярии?
	ИЛ-10	

Рис. 19.18
Антиген-неспецифическая стимуляция или подавление активности отдельных компонентов иммунной системы может иногда давать положительный клинический эффект.

Для лечения тяжелых или хронических воспалительных заболеваний предложено также применять ингибиторы цитокиновой активности. Различные подходы к инактивации фактора некроза опухолей (ФНО) и интерлейкина-1 (ИЛ-1) дали результаты при лечении ревматоидного артрита и (с менее однозначными результатами) септического шока, вызванного грамотрицательными бактериями, а также тяжелой формы малярии. Можно надеяться, что в ближайшие несколько лет клиническая фармакология цитокинов и их ингибиторов будет настолько разработана, что появится реальная возможность использовать свойства этих коммуникационных молекул иммунной системы так же целенаправленно, как при вакцинации используются свойства лимфоцитов.

ПРИМЕНЕНИЕ ВАКЦИН В ПРОТИВОРАКОВОЙ ТЕРАПИИ

Идея использовать неспецифическую стимуляцию иммунной системы, чтобы вызвать отторжение опухолей, впервые была осуществлена почти сто лет назад в работе Коули, который, используя фильтраты бактериальных культур, добился желаемого эффекта, по-видимому, благодаря высвобождению в результате их применения цитокинов, таких как ФНО и ИФ. Однако попытки получить аналогичные результаты с помощью очищенных цитокинов или стандартных иммуностимуляторов (например, БЦЖ) оказались успешными только в случаях опухолей некоторых типов. Поэтому современные изыскания в этой области направлены в основном на индукцию *антигенспецифического* противоопухолевого иммунитета, подобного антимикробному. Надежда добиться положительных результатов опирается на достоверные факты спонтанного отторжения опухолей, которое в некоторых случаях происходит так, как будто опухоли представляли собой аллотрансплантаты; более полно эта тема изложена в гл. 20.

ПРОТИВОЗАЧАТОЧНЫЕ ВАКЦИНЫ

По существу, оплодотворению яйцеклетки и имплантации яйца можно препятствовать, вызывая в организме женщины иммунный ответ на разнообразные гормоны беременности. Наиболее успешными попытки такого рода оказались в тех случаях, когда мишенью для антител служил хо-

рионический гонадотропин человека (ХГЧ) – эмбриоспецифический гормон, поддерживающий функции желтого тела при беременности. Вакцины в виде конъюгатов β-цепи ХГЧ со столбнячным или дифтерийным анатоксином чрезвычайно успешно отменяли оплодотворение у бабуинов, и, по совсем недавно полученным данным, у человека. В испытаниях на человеке возникшее бесплодие было лишь временным, и каких-либо серьезных побочных эффектов вакцинации не наблюдалось. Несомненно, такие вакцины представляют собой новое мощное средство безопасного регулирования размеров семьи, хотя, безусловно, существуют этические проблемы их применения, которые нельзя оставить без внимания.

Вопросы для размышления

- Почему не удается приготовить аттенуированные вакцины против всех без исключения вирусных и бактериальных инфекций?
- «Ни одна вакцина не способна усовершенствовать природу». Не слишком ли пессимистична эта мысль?
- «История успешной борьбы с натуральной оспой вряд ли повторится». Насколько это верно?
- Смогут ли вакцины в конце концов заменить антибиотики?
- Что представляет собой БЦЖ: вакцину, адъювант или неспецифический иммуностимулятор?
- Почему вакцина против гельминтоза может причинить больше вреда, чем пользы?
- Каким способом, исключая постановку реакции с антителами, можно идентифицировать антигены, пригодные для использования в качестве вакцин?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

HMSO. 1988. *Immunisation against Infectious Diseases*. London.

Hoffman S.L., ed. 1996. *Malaria Vaccine Development*. Washington, DC: ASM Press.

Mims C.A., Playfair J.H.L., Roitt I.M., Wakelin D., Williams R. Vaccination. In: *Medical Microbiology*. London: Mosby; 1993.

Modern Vaccines. London: Edward Arnold, 1990.

Brown F., Dougan G., Hoey E.M., Martin S.J., Rima B.K., Trudgett A. 1993. *Vaccine Design*. Chichester: John Wiley & Sons.

20 Иммунология опухолей

- **Иммунологический надзор,** согласно теории, обеспечивает разрушение иммунной системой организма появляющихся аномальных клеток и тем самым предотвращает развитие большинства опухолей.
- **Вероятно, иммунологический надзор действует против онкогенных вирусов, а не самих опухолей.** Об этом свидетельствует то, что у лиц с иммуносупрессией при общем повышении частоты возникновения опухолей в большинстве случаев эти опухоли ассоциированы с онкогенными вирусами.
- **Опухолеассоциированные онкогены вызывают клеточный иммунный ответ.** Эти антигены либо имеют вирусное происхождение, либо представляют собой измененные или сверхэкспрессируемые продукты собственных генов организма.
- **Дифференцировочные антигены,** экспрессируемые на клетках опухолей, могут быть выявлены с помощью моноклональных антител. Хотя эти антигены присутствуют не только на опухолевых клетках, они полезны для диагностики и в качестве мишеней для применяемых с терапевтической целью антител.
- **Пассивная иммунотерапия с использованием моноклональных антител** перспективна, если мишенями служат отдельные клетки или обеспечено проникновение антител в массу опухоли.
- **Иммунотерапия путем активной иммунизации** или пассивного переноса клеток пока остается на стадии экспериментов. Против немногих типов опухолей эффективно действуют применяемые цитокины.

ОПУХОЛЬ КАК ТКАНЕВОЙ ТРАНСПЛАНТАТ

Идея о том, что опухоли могут вызывать иммунный ответ, была высказана уже очень давно. Еще в начале века Пауль Эрлих предположил, что у человека с высокой частотой возникают «аномальные зачатки» – опухоли, которые неизбежно разовьются в смертельные, если их не будет устранять иммунная система. Согласно этому, опухоль стали рассматривать как структуру, сходную с тканевым трансплантатом и распознаваемую иммунной системой. В развитие этих представлений были начаты эксперименты по стимуляции иммунной системы для отторжения опухолей. Редкие случаи спонтанной регрессии опухолей или их исчезновения после обработки бактериальными вакцинами (токсином Коли) считались свидетельством эффективного иммунного ответа.

Ранние исследования по изучению противоопухолевого иммунитета (начало века) показали, что пересаженные опухоли обычно регрессируют. Этот эффект был истолкован как следствие развития иммунного ответа. Однако позднее такой вывод для большинства подобных работ признали несостоятельным, так как было установлено, что регрессия опухолей происходила в них просто по причине генетических различий между организмом-хозяином и опухолевой тканью. И только в послевоенные годы, благодаря выведению генетически однородных, инбредных линий грызунов появилась возможность изучать противоопухолевый иммунный ответ у животных как таковой. Идею Эрлиха об иммунном ответе на «аномальные зачатки» развили далее Бернет и Томас, создавшие на ее основе теорию иммунологического надзора.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР

Иммунологический надзор наиболее эффективен против вирусов, а не опухолевых клеток

Гипотеза Бернета и Томаса состояла в том, что иммунная система постоянно следит за появлением в организме измененных клеток и при распознавании разрушает их. Таким образом, согласно данной концепции, противоопухолевый иммунный ответ формируется на ранней стадии развития опухоли и обеспечивает ее уничтожение в большинстве случаев до того, как она даст клинические проявления. Эти ученые высказали также предположение, что иммунная система важна для задержки роста опухолей и для регрес-

сии уже развившихся опухолей. В качестве подтверждения этих взглядов приводились различного рода данные.

- При патологоанатомическом исследовании может быть выявлено больше опухолей, чем по клиническим проявлениям.
- Во многих случаях опухоли инфильтрированы лимфоцитами и иногда это может быть благоприятным признаком.
- Возможна спонтанная регрессия опухолей.
- Наиболее часто опухоли возникают у новорожденных и в старческом возрасте, т. е. когда иммунная система функционирует менее эффективно.
- Опухоли часто развиваются у лиц с иммуносупрессией.

На первый взгляд подобные доказательства кажутся убедительными, однако при более тщательном анализе основное положение теории – ассоциация иммуносупрессии с повышенной частотой опухолевых заболеваний – вызывает сомнения. Большая часть имеющихся на этот счет данных – это результаты наблюдений за больными, которым была произведена пересадка почки; во многих случаях наблюдения продолжались до 20 лет. Для данных больных с иммуносупрессией характерна повышенная частота возникновения многих типов опухолей и некоторые из них, судя по всему, имеют вирусную природу (*рис. 20.1*). Риск возникновения многих других, не связанных с вирусами опухолевых заболеваний также повышен при этом, но незначительно. Отсюда следует, что иммунный ответ, вероятно, предотвращает в основном распространение потенциально онкогенных вирусов, а в отношении опухолей не вирусного происхождения иммунологический надзор относительно неэффективен. У здоровых индивидов в случае инфицирования вирусом Эпштейна–Барр данный вирус сохраняется в организме на протяжении всей жизни одновременно с сильным цитотоксическим Т-клеточным ответом на него. У лиц с иммуносупрессией происходит усиленная репродукция этого вируса и слущивание вирусных частиц в секретируемые жидкости. Следовательно, в норме иммунный ответ ограничивает размножение вируса (*рис. 20.2*).

Предположение о направленности иммунологического надзора большей частью на вирусы, а не на опухоли, подтверждают и данные, полученные в экспериментах на животных. Так, у бестимусных (голых) мышей, а также у мышей с иммуносупрессией, вызванной введением антилимфоцитарной сыворотки, общего повышения частоты возникновения опухолей не обнаружено, но у большинства этих животных развиваются опухоли, вызываемые мелким ДНК-содержащим вирусом полиомы, который редко вызывает опухоли у нормальных животных. Из этого не следует, что на большинство опухолей иммунный ответ вообще не развивается, однако он, по-видимому, относительно поздний и неэффективный.

Онковирусы и иммунодефицит

Причина иммунодефицита	Обычные типы опухолей	Ассоциированные вирусы
Наследственный иммунодефицит	Лимфома	ВЭБ
Иммуносупрессия при трансплантации органов или СПИД	Лимфома	ВЭБ
	Рак шейки матки	Вирус папилломы
	Рак кожи	Возможно, вирус папилломы
	Рак печени	Вирус гепатита В
	Саркома Капоши	Вирус 8 типа герпеса человека
Малярия	Лимфома Беркитта	ВЭБ
Аутоиммунитет	Лимфома	ВЭБ

Рис. 20.1
При всех видах иммунодефицита наиболее всего повышается вероятность развития опухолей лимфоидной системы. В развитии многих из них играет роль вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ). У большинства взрослых ВЭБ сохраняется в течение всей жизни без каких-либо клинических проявлений. Частота возникновения большинства злокачественных опухолей эпителия, не ассоциированных с вирусами, у больных с иммуносупрессией или иммунодефицитом не повышается.

Опухолевые антигены могут распознаваться клетками иммунной системы или антителами

У человека связь с вирусами установлена для немногих типов злокачественных новообразований (*рис. 20.3*), но среди них рак печени и шейки матки – распространенные причины смерти на всем земном шаре. Мишенями для распознавания при иммунном ответе на опухоль могут служить не только вирусные антигены, но и так называемые опухолеассоциированные антигены – компоненты опухолевых клеток, измененные (по структуре

Роль ВЭБ в развитии опухолей

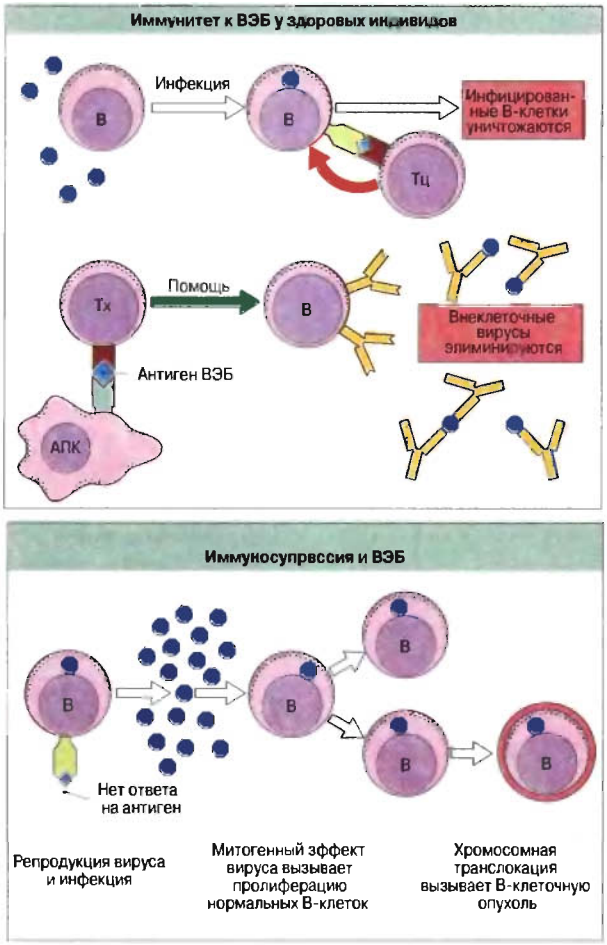


Рис. 20.2
У здоровых людей ВЭБ инфицирует В-лимфоциты, но распространение инфекции предотвращается Тц-клетками и антителами, которые уничтожают инфицированные клетки и вирусы. У больных с иммуносупрессией и некоторых больных, получающих иммунодепрессант циклоспорин, вирус размножается и заражает все больше В-клеток. Он служит также митогеном для В-клеток, поэтому при иммуносупрессии инфицированные В-клетки имеют тенденцию к более быстрой пролиферации. Хромосомная транслокация в инфицированных В-клетках может привести к злокачественной трансформации.

или экспрессии) относительно нормальных клеток организма. Получены многочисленные данные о генетических изменениях – мутациях, амплификации генов, хромосомных делециях и транслокациях, происходящих в клетках большинства (если не всех) опухолей. Некоторые из этих генетических аберраций приводят к экспрессии измененных молекул в опухолевых клетках, другие – к сверхэкспрессии нормальных молекул. Подобные изменения могут быть выявлены либо путем определения иммунного ответа хозяина, либо экспериментально — путем иммунизации животных других биологических видов материалом опухоли.

ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ АНТИГЕНЫ, РАСПОЗНАВАЕМЫЕ КЛЕТКАМИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Существование опухолевых антигенов впервые было обнаружено при постановке трансплантационных тестов. Когда опухоль пересаживали животному, предварительно иммунизированному инактивированными клетками той же опухоли, трансплантат отторгался. Резистентность к пересаженной опухоли, опосредованная, как впоследствии было установлено, клетками иммунной системы, направлена на опухолеассоциированные трансплантационные антигены двух типов. Антигены первого типа (Т-, от англ. tumor, антигены) — общие для многих опухолей, даже различного тканевого происхождения. Антигены второго типа специфичны для каждой отдельной опухоли — это опухолеспецифические трансплантационные антигены. Возможна одновременная экспрессия специфических и Т-антигенов.

Т-антигены имеют вирусное происхождение

Эти антигены обнаруживаются на клетках опухолей, индуцированных вирусами, например мелким ДНК-содержащим вирусом полиомы и вирусом SV40 (эти два вируса способны вызывать опухоли у экспериментальных животных) и вирусами папилломы (они ассоциированы с раком шейки матки у человека). Данные вирусы кодируют Т-антигены, свойственные и другим вирусам той же группы. Эти антигены представляют собой ядерные белки, играющие определенную роль в поддержании трансформированного состояния.

Инфекционные РНК-содержащие онкогенные вирусы вызывают лейкозы и саркомы у животных; обнаружен также по крайней мере один вирус Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-I) (*рис. 20.3*). Эти вирусы выходят из инфицированных клеток путем отпочковывания от их клеточ-

Вирусы и опухоли человека

Опухоль	Вирус
Рак печени	Гепатит В
Рак шейки матки	Вирус папилломы человека (ВПЧ 16, 18 и других типов)
Лимфома Беркитта и другие лимфомы при иммуносупрессии	ВЭБ
Рак носоглотки	ВЭБ
Т-клеточный лейкоз взрослых	Вирус 1 типа лейкоза Т-клеток человека (HTLV-1)

Рис. 20.3
Вирус Эпштейна–Барр ассоциирован с лимфомой Беркитта – заболеванием, эндемичным для экваториальной Африки, и с карциномой носоглотки, эндемичной для Южного Китая. Эндемичность указывает на роль дополнительных факторов, например генетических или окружающей среды, в возникновении опухолей. Т-клеточный лейкоз взрослых распространен главным образом в Японии и в странах Карибского бассейна.

ной мембраны, приобретая при этом оболочку; в мембране инфицированных ими клеток выявляется гликопротеин вирусной оболочки. Общие антигены ДНК-, как и РНК-содержащих онкогенных вирусов вызывают сильный гуморальный и клеточный ответ, способный обеспечить защиту против опухоли. Поскольку опухоли, вызываемые данным онкогенным вирусом, экспрессируют один и тот же антиген, инбредные мыши, иммунизированные, например, многократными инъекциями облученных клеток опухоли, индуцированной SV40, отторгают опухоли, вызванные данным вирусом, но чувствительны к опухолям, вызываемым вирусом полиомы.

Для некоторых линий мышей характерна спонтанная активация эндогенных РНК-содержащих онкогенных вирусов, приводящая к развитию лейкоза. У животных других линий опухоли, которые могут экспрессировать вирусные антигены и продуцировать инфекционный вирус лейкоза мышей (MuLV), образуются в том случае, если им вводить канцерогенное химическое соединение. Такие опухоли экспрессируют как общие опухолеассоциированные антигены, так и опухолеспецифические антигены, рассматриваемые ниже. У организма-хозяина, однако, эндогенные РНК-содержащие вирусы вызывают лишь слабый иммунный ответ, возможно, из-за иммунологической толерантности (см. гл. 14).

Специфические опухолевые антигены отражают изменения в опухолевых генах или в экспрессии генов

К специфическим опухолевым антигенам относят те антигены, которые могут вызвать иммунный ответ на введенные опухолевые клетки, в том случае если животное было предварительно иммунизировано материалом той же опухоли (*рис. 20.4*). Такие антигены впервые были выявлены при изучении опухолей, индуцированных у инбредных мышей канцерогенными химическими веществами, и к настоящему времени их природа установлена в описываемых ниже экспериментах.

Перевиваемую (т. е. слабоиммуногенную) культуру опухолевых клеток от мыши инбредной линии подвергали in vitro воздействию сильного мутагена. Затем из этой культуры получали субклоны мутантных опухолевых клеток, часть которых была неспособна к дальнейшему росту in vivo, если только имплантат не был очень массивным. Мутантные культуры обнаруживали бóльшую иммуногенность, чем родительские опухолевые клетки. При иммунизации одним из этих опухолеотрицательных (tum^-) клонов у генетически идентичных мышей образовывались Тц-клетки, способные уничтожать имплантат только того клона, который был использован для иммунизации, а не родительской или других tum^--культур (*рис. 20.5*). Эти Тц-клетки затем использовали в качестве зондов для определения мутантного опухолевого антигена при молекулярном клонировании соответствующего гена. В итоге мутантный ген, кодирующий данный опухолевый антиген (tum^--ген), был идентифицирован и секвенирован. Сравнение этого гена с гомологичным геном из клеток родительской опухоли показало различие их продуктов всего по одному аминокислотному остатку. В дальнейшем было четко доказано, что такая мутация приводит к образованию иммуногенного антигена, распознаваемого Тц-клетками: если клетки родительской опухоли инкубировали с пептидом из 10 аминокислотных остатков, содержащим tum^--последовательность, эти клетки затем уничтожались Тц-клетками, однако в случае инкубации с гомологичным пептидом из клеток родительской опухоли лизиса не происходило (*рис. 20.6*). Учитывая, что распознавание антигенов Тц-клетками рестриктировано по молекулам МНС класса I, можно предположить, что опухолеспецифичный белок процессируется в опухолевой клетке с образованием пептида, который

Демонстрация опухолеспецифических антигенов (химически индуцированные опухоли)

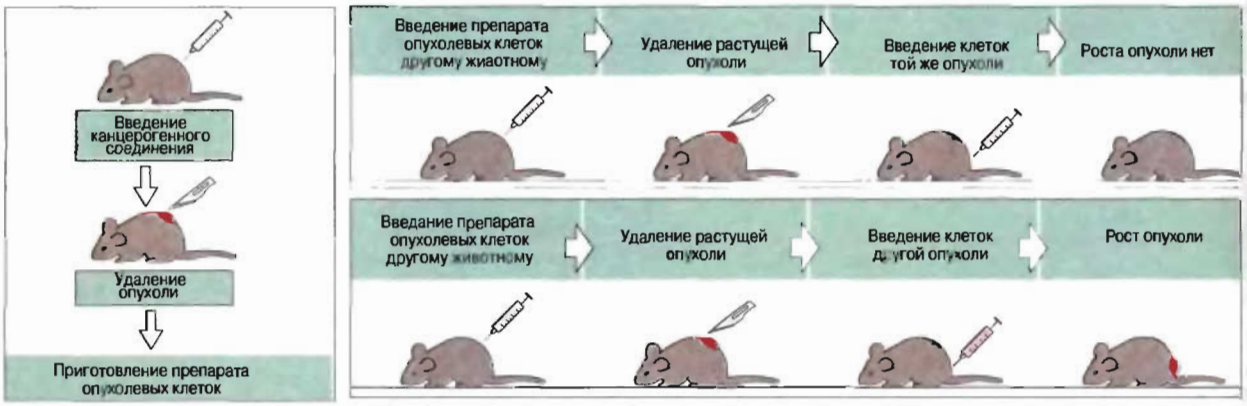


Рис. 20.4
У мышей индуцировали образование опухолей введением химического канцерогенного соединения (метилхолантрена). Затем опухолевые клетки этих животных подкожно инъецировали генетически идентичным мышам. Растущие опухоли удаляли хирургическим путем, после чего животным вводили клетки той же опухоли; в этом случае опухоль не развивалась. При введении клеток другой опухоли (индуцированной тем же канцерогеном) опухоль развивалась. Способность к отторжению опухоли может быть передана лимфоидными клетками.

затем образует комплекс с антигенами MHC класса I и транспортируется на клеточную поверхность.

Клонированные гены опухолевых антигенов из клеток других tum$^-$-клонов иногда оказывались идентичными родительскому гену. Отличие таких tum$^-$-клонов от родительской линии заключалось в том, что в tum$^-$-клетках происходила сверхэкспрессия данного антигена. Получены убедительные доказательства в пользу существования иммунного ответа, рестриктированного по антигенам MHC класса II, по крайней мере на опухоли человека, однако значительно меньше известно о том, какие опухолевые антигены распознаются в комплексе с антигенами MHC класса II.

ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ АНТИГЕНЫ, РАСПОЗНАВАЕМЫЕ АНТИТЕЛАМИ

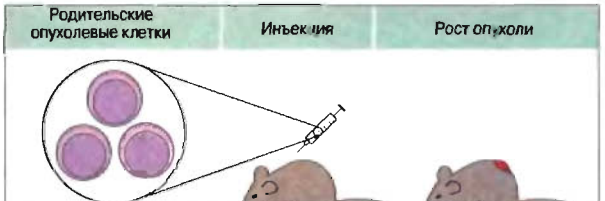
Некоторые антигены присущи только опухолям

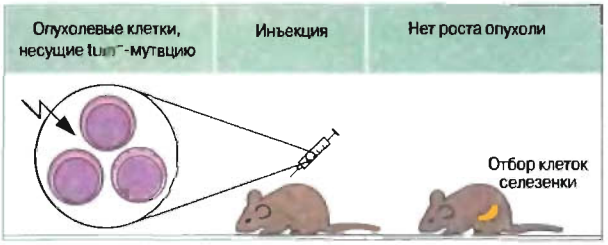
В многочисленных исследованиях, предпринимаемых с целью выявить специфические опухолевые антигены, используют как сыворотку крови того животного, от которого взята опухоль (аутологичное типирование), так и сыворотки от животных, иммунизированных опухолевым материалом (гетерологичное типирование). Недавно начаты исследования с применением моноклональных антител, образуемых аутологичными или гетерологичными B-клетками. Доказательств существования опухолеспецифических антигенов получено очень немного, однако идентифицировано несколько типов антигенов, тем или иным образом ассоциированных с опухолями.

Сыворотка крови больных с опухолями выявляет широко распространенные антигены

При использовании сыворотки крови от больных с опухолями или моноклональных антител, полученных к опухолевым клеткам от таких больных, обычно выявляются антигены, широко представленные на поверхности или чаще внутри как опухолевых, так и нормальных клеток. Соответствующие антитела большей частью принадлежат к классу IgM и, следовательно, обладают низкой аффинностью. Аналогичные моноклональные антитела могут быть получены с использованием иммортализованных B-клеток от здоровых индивидов. Такие антитела выявляют аутоантигены, и роль их в иммунном ответе организма на опухоль (если он существует) неясна.

Специфичность противоопухолевого иммунитета





Тип опухолевых клеток	Воздействие клеток селезенки на опухоль
Родительская опухоль	Отсутствие эффекта
Tum⁻-вариант опухоли	Цитотоксический эффект

Рис. 20.5
Образование высокоиммуногенного клона опухолевых клеток (tum⁻) мышей DBA2 и специфичность Тц-клеток к данной опухоли. После индуцирования мутаций в клетках родительской опухоли из них были получены субклоны, часть которых оказалась неспособной к росту in vivo при введении мышам DBA2. Тц-клетки из селезенки животных, которым были введены tum⁻-клетки, уничтожали опухолевые клетки tum⁻-клона, но не родительской линии.

Специфичность Тц-клеток к опухолевому антигенному пептиду

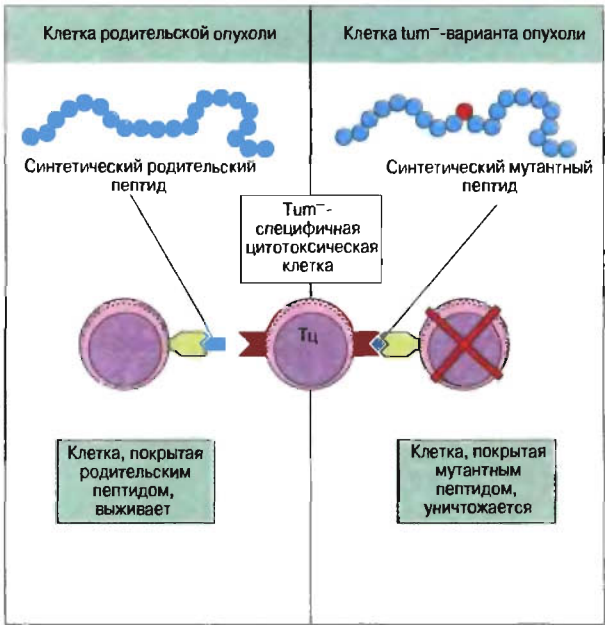


Рис. 20.6
Тц-клетки мышей, иммунизированных опухолевыми клетками tum⁻-клона, in vitro уничтожают опухолевые клетки, покрытые пептидом — продуктом tum⁻-гена, но не клетки, покрытые гомологичным пептидом из родительской опухоли. Два этих пептида различаются одним аминокислотным остатком.

Опухоли могут экспрессировать нормальные дифференцировочные антигены,характерные для немногих типов нормальных клеток

Большинство опухолевых клеток представляет собой клон — потомство одной клетки, и клетки именно такого типа могут быть в организме относительно редкими. Соответственно опухолевые клетки экспрессируют антигены, присутствующие только у некоторых типов нормальных клеток. Примерами таких антигенов могут служить общий антиген острого лимфобластного лейкоза (CALLA, или CD10) (*рис. 20.7*) и раково-эмбриональные антигены (РЭА), которые представляют собой дифференцировочные антигены, экспрессируемые во время развития плода, но обычно отсутствующие (или экспрессируемые в очень низкой степени) на клетках взрослого человека. К РЭА относятся α-фетопротеин (АФП), продуцируемый клетками опухолей печени, и антиген, продуцируемый клетками карциномы толстой кишки человека и другими эпителиальными опухолями.

Экспрессируемые опухолями антигены нормальных клеток могут быть измененными за счет гликозилирования

Изменения в гликозилировании клеточных молекул характерны для многих опухолей. Они могут приводить к экспрессии новых углеводных эпитопов, как в случае антигена Томсена–Фриденрайха – дисахарида, который обычно не выявляется на нормальных клетках. Подобным образом могут возникать и аберрантные антигены групп крови. В результате изменения в гликози-

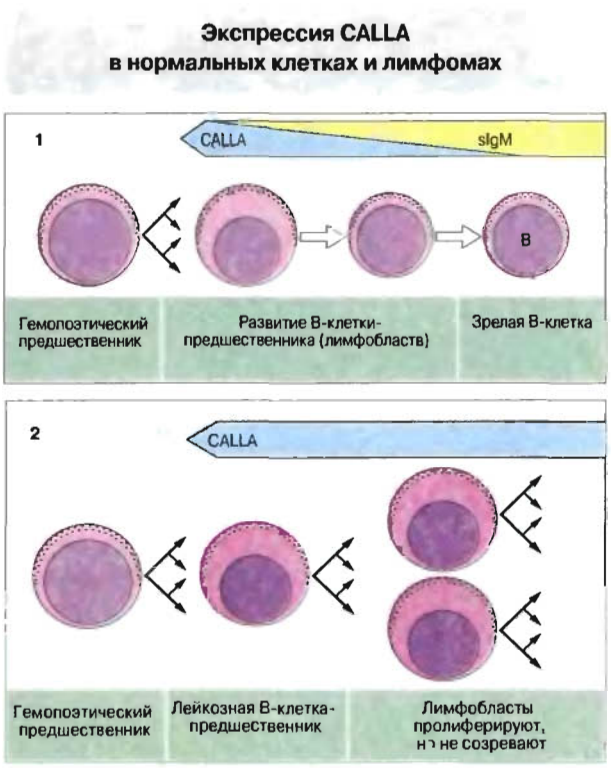


Рис. 20.7
1. Антиген CALLA обычно экспрессируется только на В-клетках-предшественниках (лимфобластах); по численности их менее 1 % среди нормальных клеток костного мозга. **2.** Экспрессия CALLA значительно возрастает при наиболее распространенной форме детского лейкоза.

лировании могут также открываться эпитопы белкового остова, которые редко обнаруживаются в нормальных клетках. Соответствующий пример демонстрируют полиморфные молекулы эпителия – муцины, образуемые многими нормальными эпителиальными клетками. Это высокомолекулярные гликопротеины, в которых повторяющийся сердцевинный пептид несет боковые углеводные цепи. В эпителиальных опухолях в этой сердцевинной структуре выявляется новый белковый эпитоп.

ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ОПУХОЛИ У ЧЕЛОВЕКА И МЕХАНИЗМЫ, ПОЗВОЛЯЮЩИЕ ОПУХОЛЯМ «УСКОЛЬЗАТЬ» ОТ ЕГО ДЕЙСТВИЯ

Большинство опухолей инфильтрировано лимфоидными клетками

Гистологический анализ опухолей человека в большинстве случаев показывает, что они инфильтрированы клетками зоны воспаления (*рис. 20.8*). В инфильтрате обычно доминируют лимфоциты и макрофаги, но могут присутствовать и клетки других типов, в том числе дендритные клетки, гранулоциты и тучные клетки. Более точный анализ типов составляющих опухоли клеток с применением моноклональных антител (мАт), позволяющий выявлять субпопуляции лимфоидных клеток (*рис. 20.9*), показывает, что в опухолях может присутствовать большинство основных субпопуляций лимфоцитов.

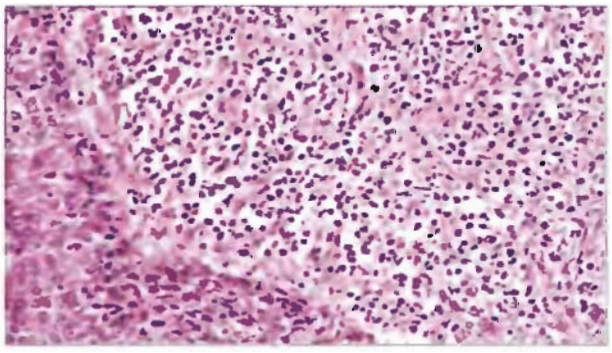


Рис. 20.8
Иммунологическая реакция при раке молочной железы. Срез опухоли, окруженной плотным инфильтратом из мононуклеарных клеток. Воспалительный процесс указывает, что опухолевые клетки распознаются клетками иммунной системы, которые потенциально способны замедлять рост опухоли или уничтожать опухолевые клетки. Окрашивание гематоксилином и эозином.

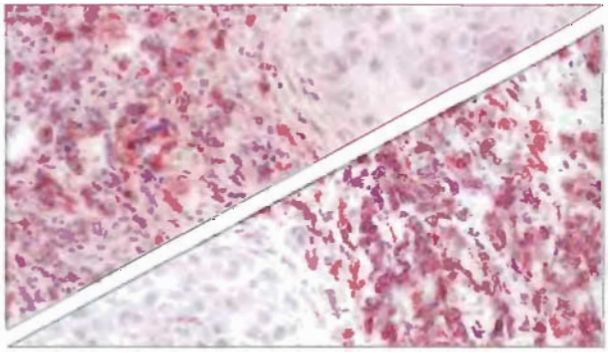


Рис. 20.9
Т-клетки $CD4^+$ и $CD8^+$ в раковой опухоли молочной железы. Эти клетки выявлены с помощью иммунологического метода окрашивания на щелочную фосфатазу (розовый цвет) с использованием моноклональных антител. Срезы контрастированы гематоксилином. Видны окружающие опухоль клетки $CD4^+$ (*вверху*) и в меньшем количестве $CD8^+$ (*внизу*), а также редкие лимфоциты внутри опухоли.

С помощью моноклональных антител, специфичных к рецептору для ИЛ-2, антигенам MHC класса II и другим маркерам активации, можно установить также степень активации клеток. Однако пока не выявлены выраженные ассоциации между определенными субпопуляциями лимфоидных клеток и прогнозом развития злокачественной опухоли. Это может быть обусловлено тем, что в действительности лишь небольшая часть инфильтрирующих клеток специфична к опухоли. Предпринят ряд исследований для выяснения функций инфильтрирующих опухоли лимфоцитов in vitro; они рассмотрены в следующем разделе.

Смешанная культура лимфоцитов и опухолевых клеток (СКЛОК)

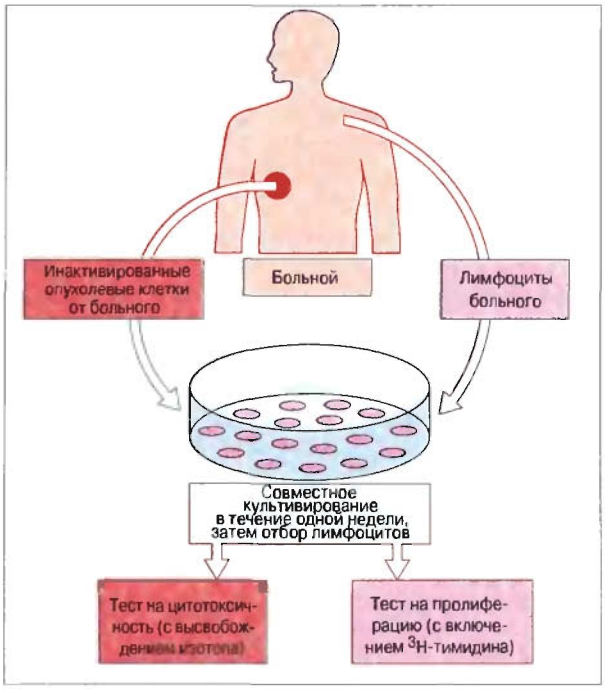


Рис. 20.10
Лимфоциты, выделенные из крови, из дренирующих область опухоли лимфоузлов или непосредственно из опухолевой ткани, культивировали совместно с аутологичными опухолевыми клетками, инактивированными рентгеновским облучением или обработкой митомицином С. После этого определяли способность лимфоцитов к пролиферации (по включению ^{3}H-тимидина). Разработан также тест для определения способности лимфоцитов лизировать клетки-мишени, основанный на высвобождении изотопа.

Противоопухолевые реакции обнаружены в смешанных культурах лимфоцитов и опухолевых клеток

Идея о том, что ответ примированных антигеном Тх- и Тц-клеток можно выявить путем повторной стимуляции их специфическим антигеном in vitro, была проверена в следующих экспериментах. С целью установить, способна ли иммунная система больного реагировать на опухоль, лимфоциты больных стимулировали инактивированными опухолевыми клетками в смешанных культурах лимфоцитов и опухолевых клеток (СКЛОК) (*рис. 20.10*). Лимфоциты для этого могли быть взяты из периферической крови, из дренирующих опухоль лимфатических узлов или из самой опухоли (последние названы инфильтрирующими опухоль лимфоцитами).

Как установлено, в подобных смешанных культурах возможна стимуляция Тх-клеток $CD4^{+}$, в результате которой они пролиферируют и выделяют эффекторные цитокины. В тех же культурах образуются Тц-клетки $CD8^{+}$; их цитотоксическую активность можно определить в тесте с высвобождением ^{51}Cr (см. *рис. 29.26*). Тц-клетки могут быть также получены при культивировании лимфоцитов в присутствии ИЛ-2 для увеличения популяции эффекторных клеток, образовавшихся in vivo. Активность Тц-клеток следует отличать от активности нормальных киллеров (НК); для их дифференциации возросшую популяцию лимфоцитов исследуют с использованием соответствующих стандартных культур.

В СКЛОК образуется много различных специфичностей Т-клеток

Специфичности Тх- и Тц-клеток сходны между собой и обнаруживают различную реакционноспособность по отношению к тем или иным клеткам-мишеням у различных больных (*рис. 20.11*).

- В обоих случаях лишь незначительная часть клонированных Т-клеток специфична в отношении аутологичной опухоли.
- Некоторые клоны реагируют с аутологичной опухолью и со всеми или с частью аутологичных тестированных тканей.
- Ряд клонов обнаруживает реактивность по отношению к аутологичным и некоторым аллогенным опухолям.
- Остальные клетки обнаруживают специфичность ко многим опухолевым клеткам-мишеням.

Характер ответа, формируемого в СКЛОК

Клетки-мишени	Отвечающие лимфоциты			
	опухолеспецифические Тц	аутореактивные Тц	опухолеспецифичные МНС-нерестриктированные цитотоксические клетки	НК-клетки ± Т клетки
НК-мишени	–	–	–	+
Аллогенные опухолевые клетки	–	–	+	+
Аутологичные нормальные клетки	–	+	–	+
Аутологичные опухолевые клетки	+	+	+	+

Рис. 20.11
Лимфоциты, отобранные из СКЛОК, исследовали в тесте с высвобождением изотопа ^{51}Cr, используя различные типы опухолевых и нормальных клеток (высвобождение изотопа в культуральную среду указывает на гибель клеток). Лимфоциты от различных больных различаются по специфичности; их свойства варьируют от способности лизировать только аутологичные опухолевые клетки до неспецифического лизирования всех клеток-мишеней. В последнем случае, возможно, действуют активированные НК-клетки или Т-клетки. Среди Т-лимфоцитов популяции $CD4^+$ и $CD8^+$ функционируют сходным образом, обнаруживая одинаковое разнообразие ответов.

Опухолеспецифичные Т-клетки обнаруживаются у больных с различными типами опухолей. Особой иммуногенностью, по-видимому, обладает меланома. Выявлено несколько антигенов, ассоциированных с меланомой (ААМ) и определяемых с помощью моноклональных мышиных антител. Мишенями для Тц-клеток служат ААМ, экспрессируемые некоторыми нормальными клетками, и тирозиназа – фермент, связанный с пигментными клетками. В опухолевых клетках не выявлены мутации ни в генах ААМ, ни в гене тирозиназы. У больных с опухолями выявляется также ответ на продукт мутантного онкогена *ras* и продукт гена супрессора опухолей, p53.

Третий тип Т-клеточных клонов был выделен от больных раком молочной железы и яичников. Недавно получены данные о том, что эти линии способны отвечать специфически, но нерестриктированно на повторяющийся сердцевинный пептид муцина. Пока неизвестно, презентируется ли указанный пептид в комплексе с молекулами МНС или другим способом (например, действуя как суперантиген). Отвечающие на муцин клетки принадлежат к Тх- или Тц-лимфоцитам ($CD4^+$ или $CD8^+$).

Какое значение in vivo имеют цитотоксические ответные реакции, обнаруженные in vitro, остается неясным, однако в модельных экспериментах на животных культивируемые противоопухолевые цитолитические клетки могут вызывать регрессию опухолей.

Опухоли способны многими путями избегать действия иммунного ответа

Спонтанно возникающие опухоли способны к прогрессирующему росту со смертельным исходом для организма, следовательно во многих случаях они избегают действия иммунного ответа. Для объяснения этого предложены разнообразные гипотезы. Наиболее очевидное предположение состоит в том, что опухоли неиммуногенны. Причиной неимунногенности может быть не отсутствие опухолеспецифических антигенов, а недостаточность их презентации на опухолевых клетках. Для индукции иммунного ответа необходимы костимулирующие факторы, которыми могут служить молекулы клеточной поверхности или цитокины, секретируемые антигенпрезентирующими клетками (АПК). Обнаруженная на специализированных АПК молекула B7, как сейчас известно, служит ключевым костимулирующим фактором; она действует путем связывания с маркером CD28 на поверхности Т-клеток (см. гл. 11). В эксперименте презентация комплексов молекула МНС–антигенный пептид Т-клеточным рецепторам в отсутствие B7 может вызывать анергию. Давно известно, что при онкологических заболеваниях иммунные реакции у больных подавлены. Недавно при исследовании лимфоцитов периферической крови таких больных было выявлено нарушение Т-клеточной передачи сигнала; лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, в некоторых случаях могут быть анергичными. Кроме того, если клетки опухоли не несут антигенов МНС класса II, инициация Тх-клеточного ответа зависит от процессинга опухолевых антигенов специализированными АПК (*рис. 20.12*).

Опухолевые клетки могут также быть лишены других молекул, например LFA-1 и LFA-3 или ICAM-1, необходимых для лимфоцитарной адгезии (см. гл. 5), либо могут экспрессировать антиадгезивные молекулы, такие как муцин. Клетки опухолей способны секретировать и иммуносу-

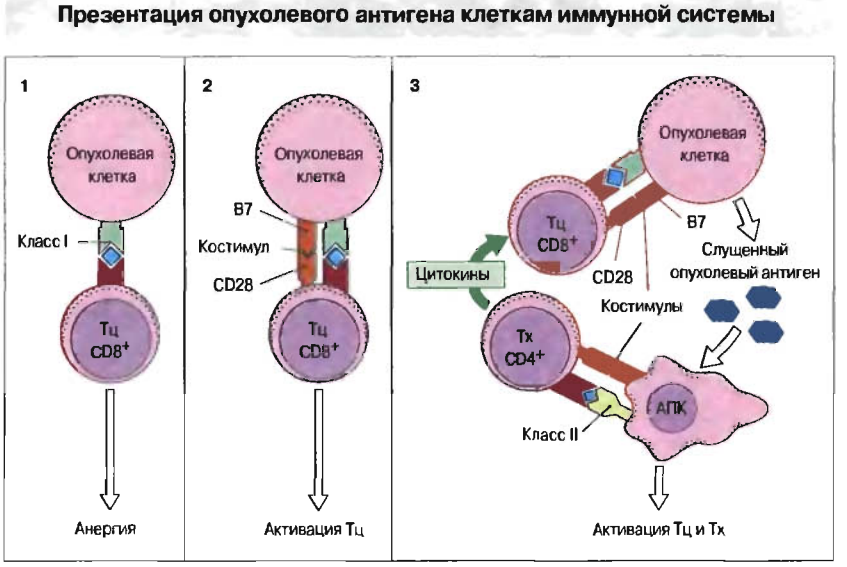


Рис. 20.12
Опухолевый антиген может быть презентирован Т-клеткам различным образом. **1.** Непосредственная презентация антигена в отсутствие костимулирующих молекул, приводящая к анергии. **2.** Непосредственная презентация антигена на клетках опухоли, которые экспрессируют костимулирующие молекулы, приводит к активации Тц-клеток. **3.** Непосредственная презентация на опухолевых клетках и опосредованная презентация специализированными АПК, приводящая к активации и Тц-, и Тх-клеток.

прессивные цитокины, например ТФРβ. Особо важный механизм обхода опухолями иммунного ответа – это утрата ими антигенов MHC, приводящая к неспособности презентировать пептиды опухолевых антигенов. В более чем 50 % случаев опухоли утрачивают один или большее число аллелей MHC класса I, а иногда и все эти аллели (*рис. 20.13*).

ИММУНОДИАГНОСТИКА

Несмотря на то что для опухолевых клеток известно лишь небольшое число присущих только им маркеров, для диагностики могут быть весьма полезны антитела к опухолеассоциированным антигенам, поскольку они позволяют выявить повышенное количество того или иного антигена или присутствие какого-либо антигена в необычном участке. Поэтому используемые для диагностики антигены необязательно должны быть опухолеспецифическими.

In vivo Для выявления опухолей in vivo используют радиоактивно меченные антитела к опухолеассоциированным антигенам (*рис. 20.14*), однако этот метод часто менее чувствительнен, чем современные методы компьютерной томографии или ядерного магнитного резонанса. Кроме того, иммуносцинтиграфия имеет те недостатки, что используемые антитела необходимо заново метить при исследовании каждого больного и для определения различных типов опухолей оптимальны различные антитела. Чувствительность иммуносцинтиграфии в будущем может быть повышена за счет получения рекомбинантных фрагментов высокоаффинных антител.

In vitro С помощью антител можно определять клеточное происхождение недифференцированных опухолей (*рис. 20.15*) и выявлять микрометастазы в костном мозге, спинномозговой жидкости, лимфоидных органах и т. д. (*рис. 20.16*). Разработаны также методы иммунологического анализа для выявления нескольких опухолеассоциированных антигенов в сыворотке крови. К таким антигенам относятся, например, раково-эмбриональный антиген (РЭА) и α-фетопротеин (АФП). Повышенный уровень указанных антигенов может быть полезным диагностическим признаком, однако АФП и РЭА не ассоциированы только с каким-либо одним типом опухолей и поэтому их определение важно главным образом для контроля эффективности лечения (*рис. 20.17*).

ИММУНОТЕРАПИЯ

В настоящее время значение иммунотерапии невелико

Иммунотерапия имеет долгую историю, однако лишь в редких случаях этот метод применим как основной. Иммунолечение может быть активным или пассивным, специфическим или неспецифическим и даже комбинированным. На

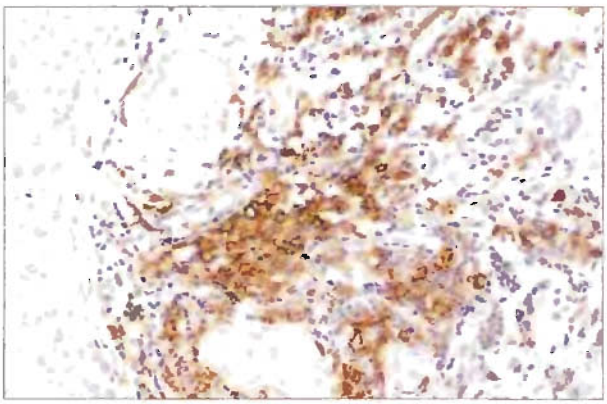


Рис. 20.13
Ткань раковой опухоли молочной железы реагирует с моноклональными антителами к мономорфной детерминанте антигенов HLA класса I. Окрашены только стромальные клетки (коричневый цвет), поскольку злокачественные эпителиальные клетки утрачивают способность экспрессировать нормальные антигены MHC класса I. Примерно 50 % первичных злокачественных опухолей человека относятся к опухолям эпителиального происхождения. На клетках некоторых опухолей происходит аберрантная экспрессия антигенов MHC класса II. (Метод непрямого иммунопероксидазного окрашивания; контрастирование гематоксилином.)

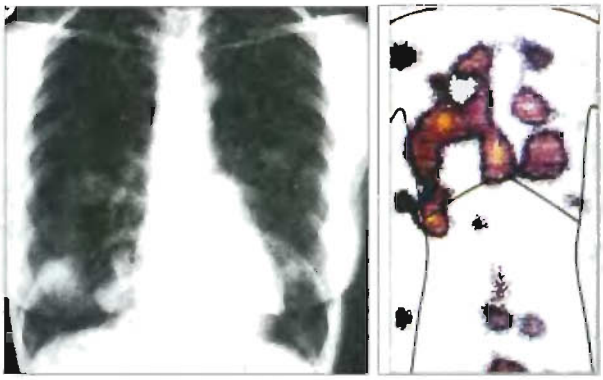


Рис. 20.14
Радиография грудной клетки и иммуносцинтиграфическое сканирование больного с карциномой толстой кишки и метастазами в легких и печени. Моноклональные антитела YPC2/12.1 к опухоли толстой кишки человека взаимодействуют с раково-эмбриональным антигеном (РЭА) (гликопротеин с мол. массой 180 кДа). Антитела радиоактивно метили ^{131}I и вводили внутривенно. Сцинтиграммы были получены через 48 ч. Изображение получено с исключением фонового окрашивания, обусловленного неспецифическим окрашиванием антител крови. (Фото любезно предоставлены проф. K. Sokora).

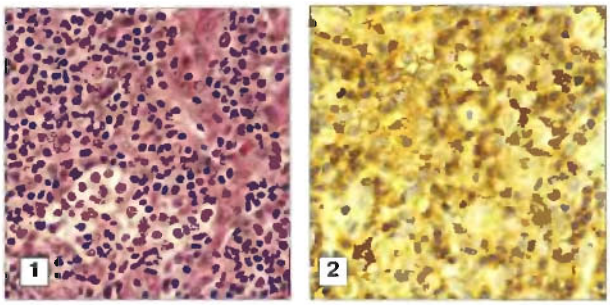


Рис. 20.15
Идентификация клеточного происхождения недифференцированной опухоли. Обычное гистологическое исследование биоптата опухоли (**1**) выявило недифференцированные опухолевые клетки, идентифицировать которые таким путем невозможно. При окрашивании опухоли непрямым иммунопероксидазным методом (**2**) с использованием антител к CD45 (общему лейкоцитарному антигену) получен четкий положительный результат (коричневая окраска), свидетельствующий о том, что данная опухоль представляет собой лимфому.

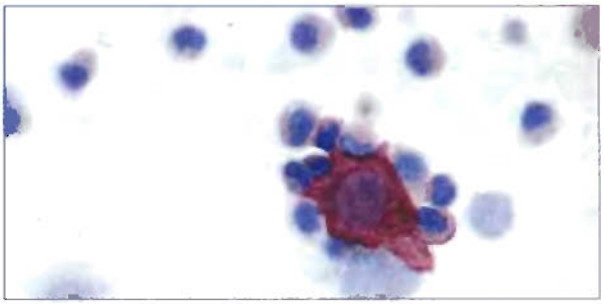


Рис. 20.16
Выявление микрометастазов с помощью моноклональных антител. Микрофотография отпечатка клеток из лимфатического узла, дренирующего область расположения злокачественной опухоли. Отпечаток окрашен на щелочную фосфатазу иммунологическим методом с использованием антител к цитокератину. Клетки карциномы экспрессируют цитокератины, и в отпечатке ясно видна крупная, окрашенная в розовый цвет опухолевая клетка. При обычном цитологическом исследовании редкие опухолевые клетки, как в представленном отпечатке клеток лимфатического узла, легко могут быть пропущены.

Мониторинг уровня сывороточного РЭА при карциноме толстой кишки

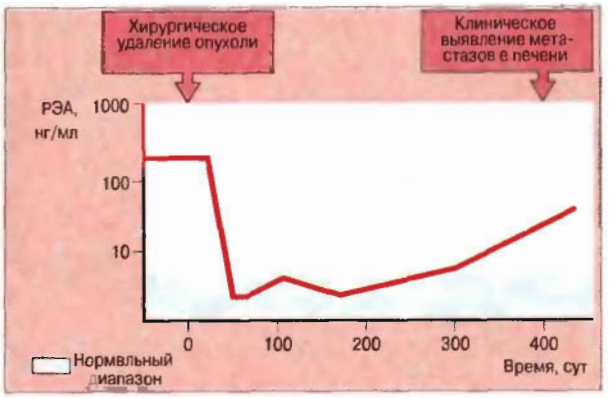


Рис. 20.17
Взаимосвязь между уровнем РЭА в сыворотке и клиническими проявлениями у больного с карциномой толстой кишки. Уровень РЭА падает после хирургического вмешательства, и его дальнейший подъем обнаруживается раньше, чем могут быть обнаружены клинические проявления метастазов.

Иммунотерапия опухолей

Активная	Неспецифическая	БЦЖ, *Corynebacterium parvum*, левамизол
	Специфическая	Профилактические вакцины из опухолевых клеток, клеточные экстракты, очищенные или рекомбинантные антигены или идиотипы
Пассивная	Неспецифическая	ЛАК-клетки, цитокины
	Специфическая	Антитела, чистые или конъюгированные с лекарственными средствами, пролекарствами, токсинами или радиоизотопами; биспецифичные антитела; Т-клетки
	Комбинированная	ЛАК-клетки и биспецифичные антитела

Рис. 20.18
Неспецифические агенты активируют специфические и неспецифические механизмы иммунитета, вероятно вызывая выделение цитокинов. Возможно и применение цитокинов или эффекторных клеток (например, лимфокин-активированных киллерных клеток), отдельно или совместно с биспецифичными антителами, «наводящими» эти клетки на опухоль.

рис. 20.18 суммированы некоторые иммунотерапевтические способы лечения.

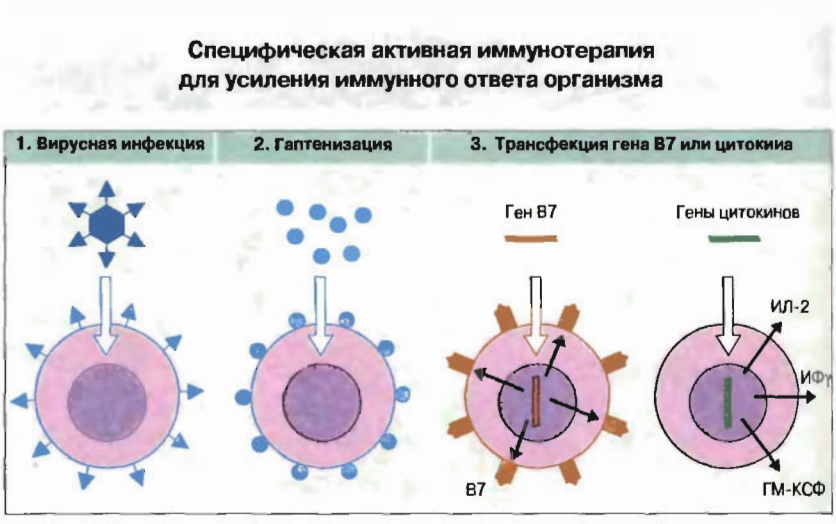
Активная иммунотерапия остается пока большей частью на стадии экспериментальной разработки

Специфическая активная иммунизация В экспериментах на животных оказался до некоторой степени успешным подход, основанный на применении инактивированных опухолевых клеток для иммунизации до прививки опухоли. Намного менее удачными оказались попытки вызвать регрессию развившихся опухолей. Большие усилия были направлены на то, чтобы найти способ повышения иммуногенности опухолевых клеток (*рис. 20.19*), однако пока это не дало практического выхода. Новые данные — о презентации Т-клеточных эпитопов молекулами MHC и о зависимости иммунного ответа на стадии индукции от костимулирующих факторов — позволили начать разработку более рациональных подходов.

Так, в опытах на животных установлено, что трансфекция генов B7 или цитокинов, например ИЛ-2, ИЛ-4, ИФγ или ГМ-КСФ, в опухолевые клетки существенно увеличивает иммуногенность этих клеток. Кроме того, путем иммунизации определенными пептидными эпитопами с применением новых адъювантов удалось индуцировать образование цитотоксических Т-лимфоцитов, способных вызывать отторжение экспериментальных опухолей. Для непосредственной иммунизации животных могут быть также использованы полученные методом генетической инженерии фрагменты ДНК, кодирующие опухолевые антигены и костимуляторные молекулы; это позволяет устранить генетические ограничения, мешающие при использовании самих опухолевых клеток для иммунизации. У животных все указанные методы могут обеспечивать защиту при последующей пересадке опухоли, но значительно менее эффективны при лечении развившихся опухолей. Таким образом, лишь немногие данные указывают на то, что специфическая активная иммунизация применима для противоопухолевой терапии у человека.

Неспецифическая стимуляция иммунного ответа Для этой цели используют различные агенты (*рис. 20.20*). У человека большинство попыток системной терапии не дает успеха, однако локальное применение противотуберкулезной вакцины — БЦЖ — может быть эффективным: вве-

Рис. 20.19
1 и **2**. Возможность противоопухолевой вакцинации, основанной на повышении иммуногенности клеток опухолей, изучается уже в течение многих лет. **3**. Новым подходом к решению этой задачи стало встраивание генов важных костимулирующих молекул (например, B7 или цитокинов), необходимых для индукции иммунного ответа, в опухолевые клетки путем трансфекции. Продукция такими клетками костимулирующих молекул обеспечивает активацию примированных Т-лимфоцитов, которые в результате атакуют родительские опухолевые клетки.



дение БЦЖ в очаг поражения способно вызвать регрессию меланомы. И, кроме того, неспецифическая локальная иммунизация БЦЖ эффективна при опухолях мочевого пузыря.

Иммунизация против онкогенных вирусов Поскольку все больше данных указывает на роль вирусов в развитии некоторых онкологических заболеваний у человека, наиболее перспективным направлением иммунизации может быть предотвращение инфекций, вызываемых потенциально онкогенными возбудителями. Массовая иммунизация против гепатита В несомненно уменьшит частоту возникновения первичного рака печени. Возможна вакцинация людей определенной группы риска против вирусов папилломы, вируса Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1) и вируса Эпштейна–Барр.

Пассивная иммунотерапия моноклональными антителами имеет некоторые перспективы, но с ограничениями

На раннем этапе исследований был сделан ряд попыток применить пассивную иммунотерапию поликлональной антисывороткой, но они остались без продолжения из-за трудности получения специфичных антител в высоких титрах. Возможно, эти проблемы поможет решить гибридомная технология получения моноклональных антител. Хотя специфические опухолевые антигены пока не обнаружены (за исключением В- и Т-клеточных идиотипов на лимфомах), все же выявлена повышенная экспрессия определенных антигенов на клетках некоторых опухолей, что открывает

Неспецифическая активная иммунотерапия: модуляторы биологических реакций (МБР)

Тип МБР	Примеры	Основной эффект
Бактериальные продукты	БЦЖ, *C. parvum*, мурамилдипептид, димиколат трегалозы	Активация макрофагов и НК-клеток
Синтетические молекулы	Сополимер пирана, ДЭМА, поли-(I:C), пиримидины	Индукция образования ИФ
Цитокины	ИФα, ИФβ, ИФγ, ИЛ-2, ФНО	Активация макрофагов и НК-клеток
Гормоны	Тимозин, тимулин, тимопоэтин	Изменение функции Т-клеток

Рис. 20.20
Модуляторы биологических реакций (МБР), используемые для усиления иммунного ответа на опухоли, подразделяются на четыре группы. В общем случае, бактериальные продукты обладают адъювантными функциями по отношению к макрофагам (см. гл. 17 и 19); различные синтетические полимеры, нуклеотиды и полинуклеотиды индуцируют образование и выделение ИФ; введенные цитокины непосредственно действуют на макрофаги и НК-клетки; разнообразные гормоны, в том числе тимуса, могут усиливать активность Т-клеток. (ДЭМА – дивиниловый эфир малеинового ангидрида; ФНО – фактор некроза опухолей; поли-(I:C) – полиинозиновая и полицитидиловая кислоты).

путь для терапии с помощью мАт, поскольку повреждение нормальных клеток организма, несущих те же антигены, может быть при этом незначительным или отсутствовать. Моноклональные антитела могут использоваться как в виде чистых препаратов, так и в конъюгированной форме – с лекарственными средствами, пролекарствами, токсинами, цитокинами или изотопами (*рис. 20.21*). Однако имеется целый ряд ограничений для применения антител с терапевтической целью.

- **Как правило, антитела слабо проникают в массивные опухоли.** Теоретически это возможно преодолеть, применяя молекулы меньших размеров, но сохраняющие способность специфического связывания антигена, например Fab′-фрагменты, или специально сконструированные однодоменные антитела. Другой подход состоит в том, чтобы направлять терапевтическое воздействие на эндотелий кровеносных сосудов, снабжающих опухоль.
- **Антитела связываются другими клетками,** в том числе нормальными клетками, экспрессирующими антиген-мишень. Возможно и неспецифическое связывание антител клетками, имеющими Fc-рецепторы или рецепторы для углеводных компонентов иммуноглобулинов. Частично эти проблемы можно решить путем химической модификации антител или их изменения методом генетической инженерии. Предотвратить связывание антител нормальными клетками можно было бы и путем применения биспецифичных антител, т. е. направленных сразу к двум различным антигенам, одновременно экспрессируемым на опухолевых клетках, при том что только один из них присутствует на нормальных клетках.
- **Антитела обладают иммуногенностью** и могут быть «атакованы» иммунной системой. Поэтому химерные, или гибридные, антитела, т. е. содержащие участки иммуноглобулинов человека, способны индуцировать антиидиотипический иммунный ответ. Эту проблему возможно устранить путем проведения последовательных курсов лечения различными мАт.

Несмотря на перечисленные трудности, уже получены некоторые обнадеживающие результаты. В исследовании, проведенном по методу случайной выборки, мАт были использованы для лечения рака толстой кишки после хирургического удаления первичной опухоли. Мишенью терапии

Терапевтическая модификация моноклональных антител

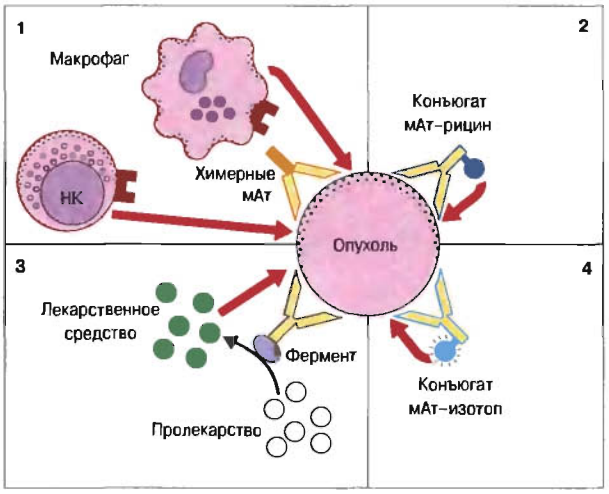


Рис. 20.21

1. Получение методом генетической инженерии химерных антител, содержащих Fc-фрагмент антител человека, связанный с $F(ab)'_2$-фрагментом антител мыши, позволяет снизить вероятность иммунного ответа на мАт со стороны организма-хозяина. Кроме того, Fc-фрагмент антител человека обеспечивает мобилизацию эффекторных механизмов хозяина. Другой путь оптимизации терапевтического действия мАт – связывание с ними различных молекул для «нацеливания» на опухолевые клетки. К таким молекулам относятся, например, токсины (**2**), цитотоксические лекарственные препараты, ферменты, способные активировать пролекарства (**3**) или радиоактивно меченные изотопы (**4**). (мАт – моноклональные антитела.)

были микрометастазы, что исключало проблемы, связанные со слабым проникновением мАт в массу опухоли. Такое лечение существенно продлевало жизнь больных. Определенные перспективы обнаруживает и применение радиоактивно меченных антител к В-клеткам в случае лимфом, устойчивых к традиционным методам лечения.

Антитела могут быть также использованы in vitro — либо для очистки костного мозга от опухолевых клеток с его последующей аутотрансплантацией (*рис. 20.22*), либо для удаления Т-клеток с целью предотвращения реакции «трансплантат против хозяина» при аллотрансплантации.

В последние годы сконструированы библиотеки генов вариабельной области Ig человека,

Очистка инфильтрированного клетками опухоли костного мозга in vitro

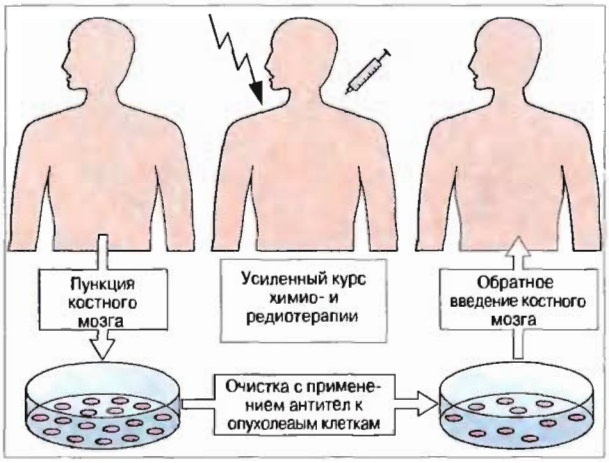


Рис. 20.22
Костный мозг, содержащий опухолевые клетки, может быть очищен с помощью мАт и комплемента, конъюгатов токсин–антитела или с применением антител, адсорбированных на магнитных гранулах. Очищенный костный мозг вводят больному после прохождения им усиленного курса химиотерапии и радиотерапии. Такой способ лечения дает обнадеживающие результаты при некоторых лейкозах и лимфомах, когда не эффективны традиционные методы лечения.

встроенных в рекомбинантные бактериофаги нитевидной формы, которые экспонируют Ig на своей поверхности. Благодаря этому можно отбирать высокоаффинные антитела к любому данному антигену и уже получены антитела ко многим антигенам клеточной поверхности, так что описанная технология, вполне вероятно, обеспечит получение терапевтически эффективных антител второго поколения, направленных к опухолеассоциированным молекулам.

Результаты пассивной иммунотерапии с помощью лимфоцитов неоднозначны

Культивируемые in vitro мононуклеарные клетки периферической крови человека в присутствии ИЛ-2 приобретают высокую цитотоксическую активность к широкому спектру опухолевых мишеней, большая часть которых устойчива к свежевыделенным НК-клеткам. Начальные эксперименты на животных и человеке, в которых такие лимфокин-активированные киллерные клетки (ЛАК) реинфузировали больным, дали хорошие результаты, особенно при одновременном введении ИЛ-2. Однако в клинических испытаниях результаты менее обнадеживающие, причем применение в высоких дозах ИЛ-2 вызывает существенный токсический эффект. По-видимому, лишь небольшое количество ЛАК локализуется в опухолях, и это может служить одной из причин слабого эффекта подобного лечения. Для повышения его эффективности применяют биспецифичные моноклональные антитела. Один антигенсвязывающий участок таких антител специфичен к опухолевой молекуле, а другой – к поверхностным маркерам эффекторных клеток, например CD3 на Тц-клетках или CD16 на НК-клетках. Теоретически данные антитела должны способствовать локализации ЛАК на поверхности опухоли. Описанные подходы дают эффект in vitro, однако in vivo их эффективность менее очевидна.

Для реинфузии используют также культуры Т-клеток, экстрагированных из участков опухолей и выращиваемых в присутствии ИЛ-2. В некоторых случаях такие культивируемые Т-клетки обнаруживают относительную специфичность к опухоли, из которой они были выделены. В экспериментах на животных четко установлено, что опухолеспецифичные цитотоксические Т-клетки способны вызывать быструю регрессию опухоли. Токсичность инфильтрирующих опухоль лимфоцитов может быть повышена путем трансфекции в них генов, кодирующих тот или иной цитокин. Однако реальную эффективность подобных стратегий в применении к человеку еще только предстоит выяснять. В то же время с терапевтической целью уже применяют ВЭБ-специфичные Тц-клетки, культивируемые в присутствии ИЛ-2; их вводят больным, у которых образовались лимфомы после трансплантации костного мозга. В результате такой терапии происходит ремиссия опухолей. Мишенями при этом служат сильные антигены ВЭБ. Предполагается исследовать эффективность такого подхода в отношении распространенных эпителиальных злокачественных новообразований.

Регрессию опухолей может вызывать пассивная иммунотерапия с применением цитокинов

Для терапии опухолей используются многие цитокины, препараты которых получены на основе

клонированных генов. Данные о наиболее хорошо исследованных к настоящему времени цитокинах приведены на *рис. 20.23*. Успехи в этой области пока ограниченные, тем не менее установлено, что ИФγ способен обеспечивать длительную ремиссию волосатоклеточного лейкоза, а ИЛ-2 эффективен при некоторых типах меланом и раке почки. Имеются также перспективные результаты терапии перитонеальных опухолей яичников с помощью ИФγ и ФНОα. Возможно, однако, что цитокины пока используются несоответствующим образом. Обычно их применяют по аналогии с цитотоксическими препаратами, т. е. в предельно допустимых дозах. Вместе с тем последние данные по лечению злокачественных опухолей головы и шеи позволяют предполагать, что не менее, если не более эффективными могут быть меньшие дозы, в которых цитокины будут давать значительно меньше побочных эффектов.

Некоторые цитокины обнаруживают полезные эффекты для поддерживающей терапии. Например, колониестимулирующие факторы способны уменьшать период аплазии после трансплантации костного мозга или цитотоксической терапии, а эритропоэтин ослабляет анемию.

Терапия опухолей с применением цитокинов

Цитокин	Тип опухоли и результаты лечения	Эффекты цитокинов и возможные механизмы действия
ИФα	Длительная ремиссия волосатоклеточного лейкоза	Возможно цитостатическое действие на опухоль
	Слабое действие на некоторые карциномы	Усиление экспрессии антигенов МНС класса I, цитостатическое действие
ИФγ	При системном применении не эффективен; ремиссия перитонеальной карциномы яичников	Усиление экспрессии антигенов МНС классов I и II, активация макрофагов и Тц, цитостатическое действие
ИЛ-2	Ремиссия рака почки и меланомы	Активация и пролиферация Т-клеток, активация НК-клеток
ФНОα	Возможно подавление злокачественных асцитов	? Усиление адгезии опухолевых клеток, активация макрофагов и лимфоцитов

Рис. 20.23
Как правило, цитокины назначают для системного применения в высоких дозах. В большинстве случаев механизм их противоопухолевого действия неизвестен. In vitro интерфероны и ФНОα оказывают цитостатическое действие на некоторые опухолевые клетки, однако in vivo их эффекты могут быть опосредованными, поскольку многие цитокины индуцируют образование других цитокинов (цитокиновый каскад). Иногда после применения ИЛ-2 у больных отмечается транзиторный аутоиммунный тиреоидит, что свидетельствует о действительном усилении иммунореактивности в результате лечения цитокинами.

Вопросы для размышления

- По имеющимся данным, у многих больных формируется иммунный ответ на опухолеассоциированные антигены. Тем не менее в отсутствие лечения злокачественные опухоли растут, что приводит к летальному исходу. Как можно объяснить этот парадокс?
- Иммунологию опухолей часто рассматривают как отдельную проблему. Существуют ли явные особенности иммунного ответа на опухоли, отличающие его от других?
- Поиски способов иммунотерапии злокачественных опухолей продолжаются уже более 100 лет. Почему успешные результаты пока столь ограниченны и с чем связаны основные надежды?
- Профилактическая иммунизация против инфекционных заболеваний дает высокий эффект. Будет ли этот метод наибольшим вкладом иммунологии в онкологию?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Boon T., Cerrotini J.-C., Van de Eynde B. et al. 1994. Tumor antigens recognised by T lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 337–66.

Franks L.M., Teich N. 1991. *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer*. Oxford: Oxford University Press.

De Kruif J., van der Vuurst de Vries A.-R., Cilenti L. et al. 1996. New on recombinant human antibodies. *Immunol. Today* **17**: 453–55.

Kedar E., Klein E. 1992. Cancer immunotherapy: are the results discouraging? Can they be improved? *Adv. Cancer Res.* **59**: 245–94.

Pardoll D.M. 1993. New strategies for enhancing the immunogenicity of tumors. *Curr. Opin. Immunol.* **5**: 719–25.

Riethmuller G., Schneider-GKdicke E., Schlimok G. et al. 1994. German Cancer Aid 17–1A Study Group. Randomised trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes C colorectal carcinoma. *Lancet* **343**: 1177–83.

Sheil A.G.R. 1992. Development of malignancy following renal transpantation in Australia and New Zealand. *Transplant Proc.* **24**: 275–79.

Soussi T. 1996. The humoural response to the tumor-suppressor gene-product p53 in human cancer: implications for diagnosis and therapy. *Immunol. Today* **17**: 353–56.

Sulitzeanu D. 1993. Immunosuppressive factors in human cancer. *Adv. Cancer Res.* **60:** 247–62.

Vlasveld L.T., Rankin E.M. 1994. Recombinant interleukin-2: basic and clinical aspects. *Cancer Treat. Rev.* **20**: 275–311.

Zier K., Gransbacher B., Salvadori S. 1996. Preventing abnormalities in signal transduction of T cells in cancer: the promise of cytokine gene therapy. *Immunol. Today* **17**: 39–45.

Первичная иммунологическая недостаточность

21

- **При нарушениях иммунного ответа** повышается чувствительность организма к пиогенным (гноеродным) бактериям. Подобные нарушения могут возникнуть вследствие недостаточности функции В-клеток, как это имеет место при сцепленной с Х-хромосомой агаммаглобулинемии. В других случаях причина состоит в том, что В-клетки не получают соответствующих сигналов от Т-клеток. С этим связано возникновение таких расстройств, как синдром IgM-гипергаммаглобулинемии, общий вариабельный иммунодефицит и транзиторная гипогаммаглобулинемия детского возраста.
- **При недостаточности клеточного иммунитета** организм подвержен оппортунистическим инфекциям. Такой тип иммунодефицита обусловлен нарушением функций Т-клеток, как это имеет место при тяжелом комбинированном иммунодефиците (ТКИД), недостаточности молекул MHC класса II, атаксии-телеангиэктазии, синдромах Вискотта–Олдрича и Ди Джорджи.
- **Наследственная патология системы комплемента** обнаруживается при ряде клинических синдромов. Наиболее часто ее дефект состоит в недостаточности ингибитора С1, клинически проявляющейся как ангионевротический отек.
- **При наследственной недостаточности терминальных компонентов** комплемента (С5, С6, С7 и С8) и белков альтернативного пути активации комплемента (фактора Н, фактора I и пропердина) чрезвычайно повышена чувствительность к инфекциям, вызываемым двумя видами *Neisseria* – *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis*.
- **Нарушения механизма восстановления молекулярного кислорода в фагоцитах,** а именно сборки молекулы NADP•H-оксидазы и образования активных метаболитов кислорода, обладающих бактерицидными свойствами, служат причиной развития хронического гранулематоза. Длительное присутствие бактериальных продуктов в фагоцитах ведет к образованию либо абсцессов, либо гранулем, в зависимости от вида возбудителя.
- **Недостаточность адгезии лейкоцитов** ассоциирована с персистирующим лейкоцитозом, поскольку лейкоциты крови, несущие дефектные молекулы интегринов, не способны проникать через сосудистый эндотелий в ткани.

Иммунодефицитные состояния возникают в результате выпадения или недостаточности функции одного или нескольких элементов иммунной системы. Причинами заболеваний, обусловленных специфической иммунной недостаточностью, служат нарушения функций Т- или В-лимфоцитов – основы приобретенного иммунитета. Неспецифические иммунодефициты связаны с нарушениями в таких элементах иммунной системы, как комплемент и фагоциты, действующих при иммунном ответе неспецифично. Первичные иммунодефицитные состояния обусловлены внутренними дефектами клеток иммунной системы и большей частью генетически детерминированы.

При иммунодефицитном состоянии наблюдается повышенная чувствительность к инфекциям. Наиболее часто возникающие у таких больных инфекции можно разделить на две категории. При нарушениях, связанных с иммуноглобулинами, компонентами комплемента и фагоцитарной активностью, резко возрастает восприимчивость к повторным инфекциям, вызываемым бактериями, которые обладают капсулой, – *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. Эти бактерии называют пиогенными, или гноеродными, поскольку они вызывают гнойное воспаление. В случаях нарушений в системе клеточного иммунитета, т. е. функциях Т-клеток, повышается чувствительность к микроорганизмам, широко распространенным во внешней среде и в норме безвредным – у здоровых людей к ним быстро развивается резистентность, но у больных с недостаточностью Т-клеточной функции они способны вызывать генерализованные и даже летальные инфекции. Это так называемые оппортунистические инфекции; их возбудителями могут быть различные микроорганизмы, от дрожжей до обычных вирусов, таких как вирус ветряной оспы.

В-КЛЕТОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

Больные с общими дефектами В-клеточной функции (*рис. 21.1*) подвержены рецидивирующим пиогенным инфекциям, таким как пневмония, воспаление среднего уха и синусит. При отсутствии лечения повторные пневмонии могут вызвать тяжелое обструктивное заболевание органов дыхания (бронхоэктаз) вследствие разрушения эластических тканей бронхиальной стенки.

При сцепленной с Х-хромосомой агаммаглобулинемии (Х-АГ) нарушено созревание В-клеток на ранней стадии их развития

Этот синдром иммунодефицита, описанный в 1952 г., стал первым детально изученным расстройством такого рода. Он встречается только у мальчиков и характеризуется отсутствием или резким снижением числа В-клеток в крови или лимфоидных тканях, из-за которого лимфатические узлы у больных очень мелкие, а миндалины отсутствуют. В сыворотке крови обычно отсутствуют IgA, IgM, IgD или IgE, а количество IgG пониженное (<100 мг/100 мл). В первые 6–12 мес жизни ребенок защищен от инфекций за счет IgG, полученных при трансплацентарном переносе от матери в период внутриутробного развития. Но поскольку со временем эти IgG катаболизируются, у страдающих данным нарушением мальчиков возникают рецидивирующие гнойные инфекции. Здоровье таких детей можно поддерживать, только вводя им внутривенно большие дозы гамма-глобулина.

Виды первичной В-клеточной недостаточности

Х-сцепленная агаммаглобулинемия
Недостаточность IgA
Недостаточность подклассов IgG
Иммунодефицит с гиперпродукцией IgM
Общий вариабельный иммунодефицит
Транзиторная гипогаммаглобулинемия детского возраста

Рис. 21.1
Недостаточность В-лимфоцитов может проявляться в различных формах, например как задержка продукции нормальных иммуноглобулинов, дефицит одного из изотипов Ig или Х-сцепленная агаммаглобулинемия, при которой в организме отсутствуют В-клетки, а сыворотка не содержит иммуноглобулинов.

Иммунодефициты, сцепленные с Х-хромосомой

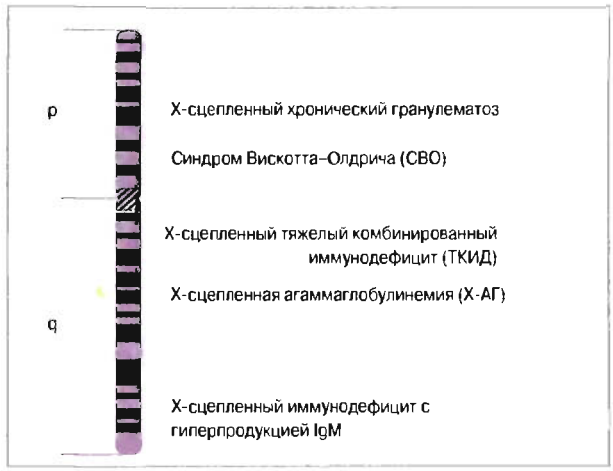


Рис. 21.2
Гены, с которыми связаны многие синдромы иммунодефицита, локализованы в Х-хромосоме. При всех этих синдромах обнаружены генетические дефекты. (По Schwaber J., Rosen F.S., 1990. X-chromosome linked immunodeficiency. *Immunodefic. Rev.* **2**: 233-51.)

Ген Х-АГ картирован в длинном плече Х-хромосомы (*рис. 21.2*). Здесь же локализованы многие гены, ответственные за другие наследственные синдромы иммунодефицита; обнаружение дефектов этих генов весьма существенно для пренатальной диагностики. Недавно проведенные исследования позволили идентифицировать дефектный ген при Х-АГ. Им оказался ген цитоплазматической тирозинкиназы В-клеток (*btk*), принадлежащий к семейству онкогена *src*. Роль этого гена в созревании В-клеток еще не выяснена, однако очевидно, что он имеет решающее значение для развития В-лимфоцитов. Костный мозг у больных Х-АГ содержит нормальное число пре-В-клеток, однако вследствие мутаций гена *btk* они не могут превратиться в зрелые В-лимфоциты (*рис. 21.3*).

При дефиците иммуноглобулинов IgA и IgG не происходит конечной дифференцировки В-клеток

Наиболее часто встречающаяся форма иммунодефицита – это отсутствие или резкое снижение уровня IgA в сыворотке крови. У европеоидов частота этой формы составляет 1 на 700, однако у представителей других рас она не обнаруживает-

Созревание В-клеток при Х-сцепленных иммунодефицитах

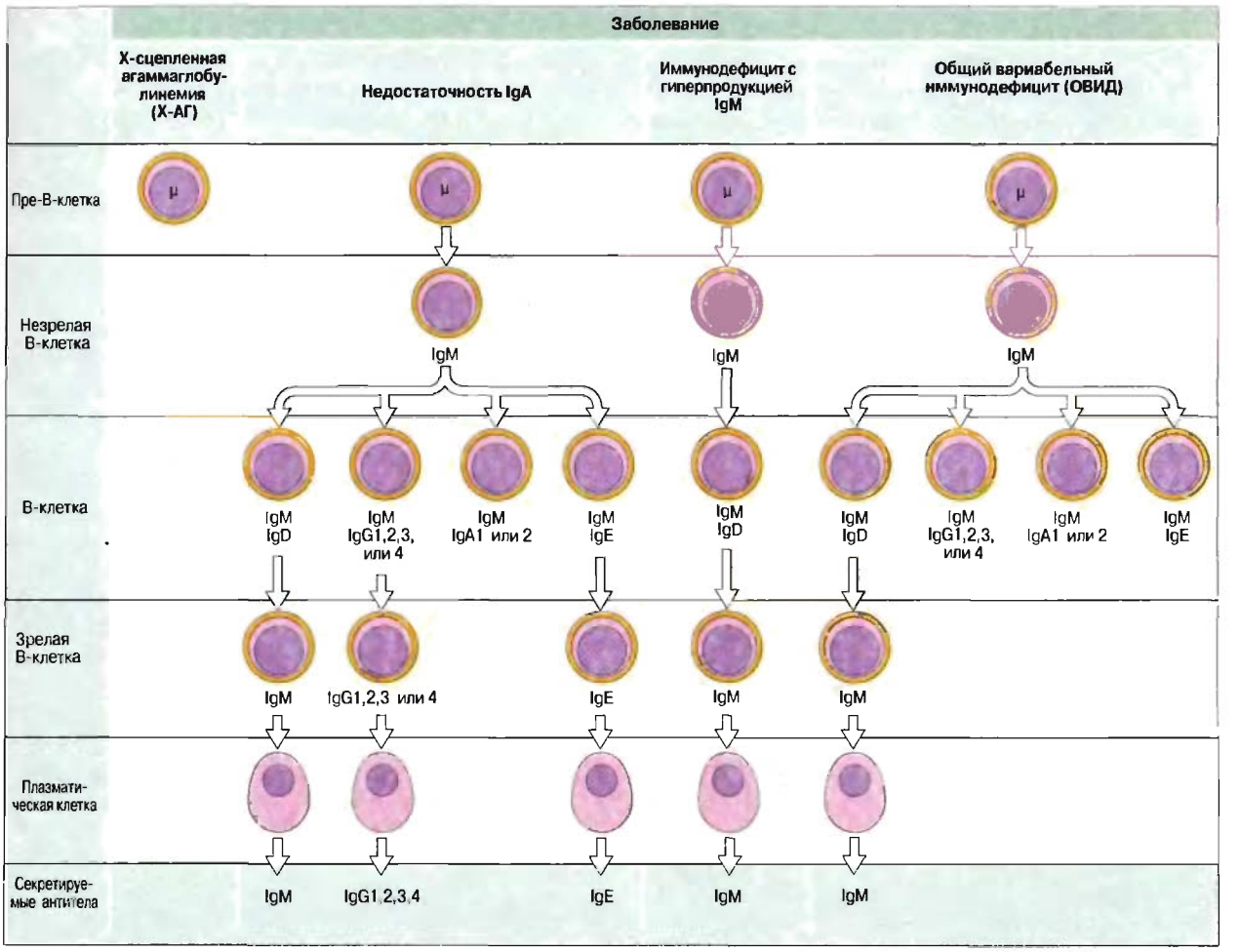


Рис. 21.3
У мальчиков, больных Х-АГ, отсутствуют В-клетки и сывороточные иммуноглобулины, за исключением небольшого количества IgG материнского происхождения. При IgA-недостаточности В-клетки, несущие IgA, а в некоторых случаях также IgG2 и IgG4, неспособны дифференцироваться в плазматические клетки. У лиц, страдающих иммунодефицитом с повышенным содержанием IgM, отсутствуют IgG и IgA. При ОВИД В-клетки большинства изотипов не могут дифференцироваться в плазматические.

ся или встречается очень редко. Лица с недостаточностью IgA подвержены заболеваниям, в развитии которых играют роль иммунные комплексы (гиперчувствительность III типа). Примерно у 20 % больных с дефицитом IgA отсутствуют также IgG2 и IgG4, что сильно повышает чувствительность к гноеродным микроорганизмам. Антитела против капсульных полисахаридов гноеродных бактерий у человека относятся преимущественно к подклассу IgG2, поэтому сам по себе дефицит IgG2 также ведет к возникновению повторных гнойных инфекций. При недостаточности только IgG4 больные, кроме того, особо подвержены рецидивирующим инфекциям (причина этого неясна). Дефицит иммуноглобулинов указанного класса и подкласса возникает в результате нарушения конечного этапа дифференцировки В-клеток (*рис. 21.3*).

При иммунодефиците с гиперпродукцией IgM (ГИГМ) не происходит переключения изотипа

Особая форма иммунологической недостаточности – это дефицит IgG и IgA в сочетании с образованием большего количества поликлональных IgM (>200 мг/100 мл). Такое состояние сопровождается повышенной чувствительностью к гнойным инфекциям и требует лечения высокими дозами вводимого внутривенно гамма-глобулина. При нем наблюдается продукция IgM-аутоантител к нейтрофилам, тромбоцитам и другим элементам крови, а также к тканевым антигенам, т. е. состояние иммунодефицитности у таких больных осложнено аутоиммунными процессами. Некоторые ткани, особенно желудочно-кишечного тракта, инфильтрированы IgM-продуцирующими клетками (*рис. 21.4*). При ГИГМ в В-клетках не происходит переключения с синтеза IgM на образование IgG, IgA и IgE, что обычно имеет место при В-клеточной дифференцировке. В нормальных условиях такое переключение обусловлено двумя факторами: связыванием ИЛ-4 с рецептором к ИЛ-4 на поверхности В-клеток и взаимодействием молекул CD40 на поверхности В-клеток с лигандом, CD40L, на активированных Т-клетках. В 70 % случаев ГИГМ наследуется по сцепленному с Х-хромосомой рецессивному типу; она обусловлена мутациями в гене лиганда CD40, поскольку этот ген картирован точно в том же участке длинного плеча Х-хромосомы, что и ген, ответственный за ГИГМ.

Общий вариабельный иммунодефицит (ОВИД) связан с нарушением передачи сигналов от Т- к В-клеткам

При ОВИД у больных в возрасте от 10 до 30 лет или старше развивается агаммаглобулинемия. Оба пола поражаются с одинаковой частотой, и в общем причина заболевания неизвестна, хотя оно может возникнуть после вирусной инфекции, в частности вызванной вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ). Как и при Х-АГ, больные с ОВИД чрезвычайно чувствительны к гноеродным микроорганизмам и кишечному паразиту *Giardia lamblia* (*рис. 21.5*), вызывающему тяжелую диарею. У большинства больных (80 %) с ОВИД В-клетки не функционируют надлежащим образом и являются незрелыми. Они не имеют дефекта, но просто не получают необходимых для активации сигналов от Т-клеток. Очевидно, причина этого кроется в каком-то дефекте Т-лимфоцитов, однако его природа при ОВИД не определена достаточно точно. Для предупреждения повторных гнойных инфекций больным необходимо в течение всей жизни вводить внутривенно гамма-глобулин. У многих из них возникают аутоиммунные заболевания, особенно часто злокачественная анемия, этиологический фактор которой неизвестен. ОВИД не является наследственным заболеванием, однако он ассоциирован с MHC-гаплотипами HLA-B8 и HLA-DR3.

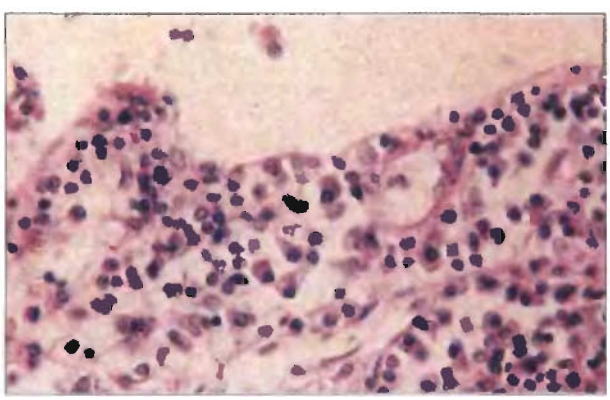


Рис. 21.4
Желчный пузырь больного с синдромом IgM-гипергаммаглобулинемии. Подслизистая основа инфильтрирована клетками с окрашенной в розовый цвет цитоплазмой и эксцентрично расположенным ядром. Эти клетки синтезируют и секретируют IgM.

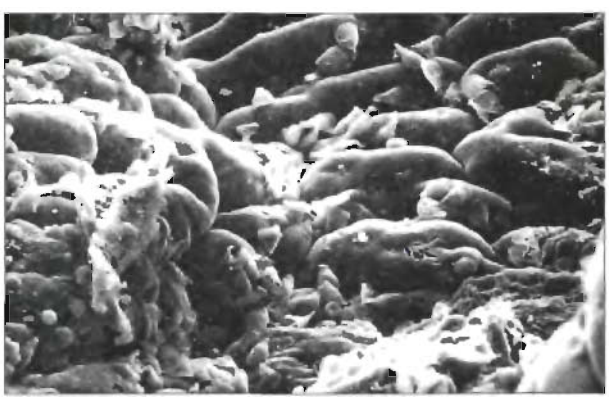


Рис. 21.5
Giardia lamblia. Множество лямблий – клеток паразитического простейшего рода *Giardia* – на поверхности слизистой оболочки тощей кишки у больного с ОВИД.

Транзиторная гипогаммаглобулинемия детского возраста характеризуется задержкой образования IgG

Выше уже отмечено (*см. рис. 21.3*), что противоинфекционная защита у детей в раннем постнатальном периоде обусловлена наличием IgG, полученных от матери до рождения. Этот IgG катаболизируется с периодом полураспада около 30 сут. В обычных условиях у детей начиная с возраста 3 мес вырабатываются собственные IgG, хотя продукция антител против капсульных полисахаридов бактерий в лучшем случае начинается только на втором году жизни. У некоторых детей начало нормального синтеза IgG наблюдается не раньше трехлетнего возраста, и до этого они особо подвержены гнойным инфекциям. В-клетки таких детей не имеют дефектов, однако, по-видимому, не получают от Т-клеток $CD4^+$ достаточной помощи, необходимой для продукции антител.

Т-КЛЕТОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

Основные виды Т-клеточной недостаточности приведены на *рис. 21.6*. Больные с нарушением функции Т-клеток или их отсутствием восприимчивы к оппортунистическим инфекциям. Поскольку функционирование В-лимфоцитов у человека в основном является Т-зависимым, Т-клеточная недостаточность сопровождается также гуморальным иммунодефицитом; иными словами, Т-клеточный дефицит ведет к комбинированной недостаточности как гуморального, так и клеточного иммунитета.

Тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД) характеризуется недостаточностью лимфоцитов и недоразвитием тимуса

Наиболее выраженный наследственный дефицит клеточного иммунитета наблюдается у детей с ТКИД, при котором в отличие от Х-АГ уже в раннем возрасте возникают повторные инфекции. У таких детей развивается затяжная диарея, возбудителями которой могут быть ротавирусы или кишечные бактерии, а также пневмония, вызываемая обычно простейшим *Pneumocystis carinii*. Обычный представитель микрофлоры человека дрожжеподобный гриб *Candida albicans* дает у них бурный рост в полости рта и на коже (*рис. 21.7*). Иммунизация таких детей стандартными живыми вакцинами, в частности вакциной против полиомиелита или туберкулеза (БЦЖ), которые, как правило, безвредны для организма, ведет к прогрессирующей инфекции с летальным исходом. Больные ТКИД дети обречены и погибают обычно в первые 2 года жизни, если только им не произвести трансплантацию костного мозга. В этом случае создается лимфоцитарный химеризм, и ребенок может нормально жить и развиваться.

Кровь больных ТКИД детей содержит очень мало лимфоцитов (<3000/мл). Лимфоидная ткань также бедна лимфоцитами или же они в ней вовсе отсутствуют. Тимус у таких детей име-

Виды первичной Т-клеточной недостаточности

Тяжелый комбинированный иммунодефицит
Дефицит аденозиндезаминазы
Дефицит пуриннуклеозидфосфорилазы
Недостаточность MHC-антигенов класса II
Синдром Ди Джорджи
Наследственная атаксия-телеангиэктазия
Синдром Вискотта–Олдрича

Рис. 21.6
Причины Т-клеточной недостаточности могут быть весьма различными, от полного отсутствия лимфоцитов до недостаточности MHC-антигенов и ферментных дефектов. Все они влияют на функцию Т-клеток, что ведет к комбинированной Т- и В-клеточной недостаточности.



Рис. 21.7
Поражение тканей полости рта *Candida albicans* при ТКИД. Этот гриб обильно размножается в полости рта и на коже у больных ТКИД.

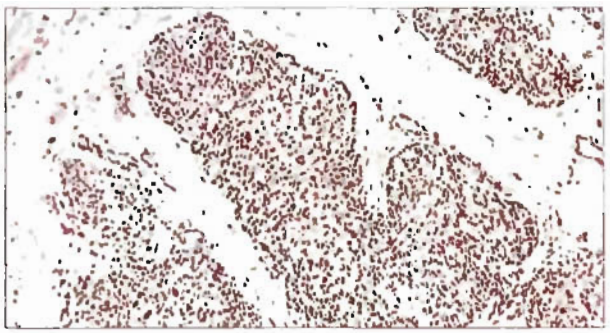


Рис. 21.8
Тимус при ТКИД. Строма не содержит лимфоидных клеток, и тельца Гассаля не обнаруживаются. Орган имеет вид эмбрионального.

ет эмбриональное строение (*рис. 21.8*); он состоит из энтодермальных клеток стромы, развивающихся в эмбриогенезе из третьего и четвертого глоточных карманов. Стволовые лимфоидные клетки, в норме заселяющие тимус эмбриона к 6 неделе развития (см. гл. 12), в данном случае отсутствуют и тимус не становится лимфоидным органом.

ТКИД развивается чаще у мальчиков, чем у девочек (3:1), поскольку более чем в 50 % случаев заболевание обусловлено дефектом гена, расположенного в Х-хромосоме. Этот ген кодирует γ-цепь рецептора к ИЛ-2, которая входит также в состав рецепторов к другим интерлейкинам – ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-11 и ИЛ-15. Для созревания Т-клеток особо важное значение имеет взаимодействие ИЛ-7 со своим рецептором. Таким образом, в случае ТКИД, вызванного этим генетическим дефектом, стволовые лимфоидные клетки не могут получать ряд сигналов, необходимых для роста и дифференцировки. В остальных случаях ТКИД связан с дефектами в рецессивных генах других хромосом. Из числа этих больных у половины имеется недостаточность аденозиндезаминазы (АДА) или пуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФ). Дефицит данных ферментов, расщепляющих пурины, ведет к накоплению метаболитов, токсичных для стволовых лимфоидных клеток, – дезоксиаденозинтрифосфата (dATP) и дезоксигуанозинтрифосфата (dGTP) (*рис. 21.9*). Эти метаболиты ингибируют фермент рибонуклеотидредуктазу, необходимую для синтеза ДНК и соответственно для размножения клеток. Поскольку АДА и ПНФ обнаруживаются во всех клетках млекопитающих, возникает вопрос, почему при их недостаточности поражаются только лимфоциты. По-видимому, это связано с относительно низкой активностью 5′-нуклеотидазы в лимфоидных клетках; в других клетках этот фермент компенсирует недостаточность АДА и ПНФ тем, что предотвращает накопление dAMP и dGMP.

Оптимальным способом лечения ТКИД служит трансплантация костного мозга, взятого у полностью совместимого по антигенам МНС донора. Обычно таким донором может быть здоровый сибс, однако примерно в 70 % случаев больной ребенок не имеет гистосовместимых братьев и сестер и тогда для пересадки с успехом применяют гаплоидентичный костный мозг одного из родителей. Недавним достижением стало трансфицирование лимфоцитов детей с недостаточностью АДА ретровирусным вектором со вставкой гена АДА – первый пример успешного применения «генотерапии».

Возможная роль аденозиндезаминазы и пуриннуклеозидфосфорилазы при ТКИД

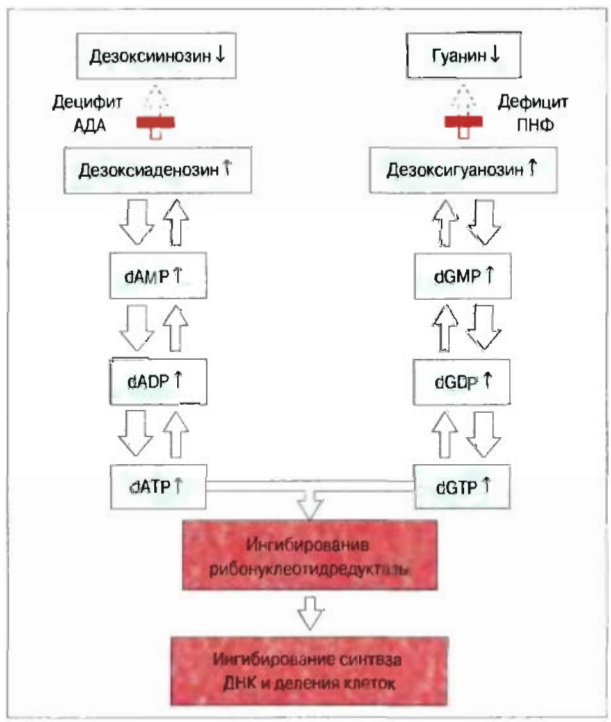


Рис. 21.9
Предполагается, что дефицит аденозиндезаминазы и пуриннуклеозидфосфорилазы ведет к накоплению dATP и dGTP соответственно. Оба метаболита действуют как сильные ингибиторы рибонуклеотидредуктазы – фермента, необходимого для синтеза ДНК.

Недостаточность молекул MHC класса II ведет к дефициту Тх-клеток

Недостаточность экспрессии антигенов MHC класса II антигенпрезентирующими клетками (макрофагами и В-клетками) наследуется как аутосомно-рецессивный признак, не сцепленный с MHC-локусом в коротком плече хромосомы 6. У больных детей наблюдаются повторяющиеся инфекции с преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта. Поскольку развитие Тх-клеток $CD4^+$ (Т-хелперов) зависит от положительной селекции с участием молекул MHC класса II в тимусе (см. гл. 12), у детей с недостаточностью этих молекул возникает дефицит Т-лимфоцитов $CD4^+$. Отсутствие Тх-клеток ведет также к недостаточности продукции антител. Дефицит MHC класса II возникает в результате дефектов промоторных белков, которые связываются с 5′-нетранслируемой областью генов класса II.

Синдром Ди Джорджи связан с нарушением развития тимуса в эмбриональном периоде

Эпителий тимуса образуется, как известно, из третьего и четвертого глоточных карманов к 6 неделе эмбрионального развития. Вслед за этим энтодермальную закладку органа заселяют стволовые лимфоидные клетки, дающие начало Т-клеткам. Такое же эмбриональное происхождение имеют паращитовидные железы. Врожденный дефект развития органов, происходящих из третьего и четвертого глоточных карманов, приводит к возникновению синдрома Ди Джорджи. Данный вид недостаточности Т-клеток носит вариабельный характер в зависимости от степени поражения тимуса. Лицо больного ребенка имеет характерные черты (*рис. 21.10*): широко расставленные глаза (гипертелоризм), низко расположенные уши, укороченный фильтр верхней губы. Описаны также врожденные пороки сердца или дуги аорты, а также гипокальциемические судороги у новорожденных вследствие гипоплазии или аплазии паращитовидных желез.

Наследственная атаксия-телеангиэктазия связана с разрывами хромосом в области генов ТкР и иммуноглобулинов

Атаксия-телеангиэктазия (АТ) наследуется как аутосомно-рецессивный признак. У больных детей в возрасте примерно полутора лет появляются двигательные расстройства, в частности шаткая походка (атаксия). К 6 годам развивается расширение капилляров (телеангиэктазия) конъюнктивы и кожи. Это заболевание сопровождается вариабельной Т-клеточной недостаточностью. Примерно 70 % больных имеет также недостаточность IgA, а у некоторых из них наблюдается еще и дефицит IgG2 и IgG4. Количество и активность циркулирующих Т-клеток резко снижены, в связи с чем наблюдается супрессия Т-клеточного иммунитета. У больных детей развиваются тяжелые инфекции придаточных полостей носа и легких. При цитогенетическом исследовании в клетках обнаруживаются разрывы хромосом, обычно хромосом 7 и 14, в области генов Т-клеточного рецептора (ТкР) и генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов. Клетки больных АТ, как in vivo, так и культивируемые in vitro, высокочувствительны к ионизирующей радиации. Ген, дефектом которого обусловлена АТ, кодирует белок, участвующий в репарации разрывов двухцепочечной ДНК.

Синдром Вискотта–Олдрича обусловлен Т-клеточными дефектами и отклонениями в уровне иммуноглобулинов

Синдром Вискотта-Олдрича (СВО) — это сцепленное с Х-хромосомой иммунодефицитное заболевание мальчиков. Для него характерно уменьшение размеров и резко измененная морфология тромбоцитов наряду с уменьшением их числа (тромбоцитопения). Заболевание сопрово-



Рис. 21.10
Синдром Ди Джорджи. Характерные признаки – широко расставленные глаза, низко расположенные уши, укороченный фильтр верхней губы. При этом синдроме описаны также врожденные пороки сердца и крупных сосудов.

ждается экземой, а также гнойными и оппортунистическими инфекциями. В сыворотке крови повышено содержание IgA и IgE, уровень IgG нормальный, а IgM снижен. Функционирование Т-клеток нарушено, и этот дефект клеточного иммунитета прогрессирует. Сканирующая электронная микроскопия позволяет выявить уникальные изменения морфологии Т-клеток больных, отражающие нарушение цитоскелета. Число микроворсинок на поверхности этих клеток снижено по сравнению с нормальными Т-лимфоцитами. Известно, что в ходе кооперации Т- и В-клеток при антителообразовании цитоскелет Т-клетки меняет свою ориентацию или поляризуется в направлении В-клетки. При СВО этого не происходит, и в результате взаимодействие клеток иммунной системы нарушено.

НЕДОСТАТОЧНОСТЬ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА

Компоненты комплемента и их взаимодействие с иммунной системой описаны в гл. 4. У человека встречается генетически обусловленный дефицит различных белков комплемента (*рис. 21.11*); изучение таких состояний помогает выяснить нормальные функции системы комплемента.

Нарушения в системе комплемента могут влиять на элиминацию иммунных комплексов, воспаление, фагоцитоз и бактериолиз

Дефицит компонентов классического пути активации комплемента – C1q, C1r и C1s, C4 или C2 – вызывает предрасположенность к заболеваниям, обусловленным нарушениями в формировании и клиренсе иммунных комплексов, например к возникновению системной красной волчанки. Это коррелирует с известной ролью классического пути в элиминации иммунных комплексов. Дефицит C3, фактора B или фактора I приводит к повышению чувствительности организма к гнойным инфекциям, что коррелирует с данными о важном значении C3 для опсонизации возбудителей этих инфекций. Недостаточность терминальных компонентов – C5, C6, C7 и C8, а также компонентов альтернативного пути активации комплемента – фактора D и пропердина – создает особую предрасположенность к инфекциям, вызываемым двумя видами *Neisseria* – *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis*. Это ясно указывает на важную роль альтернативного пути активации комплемента и лизирующего мембрану комплекса в элиминации бактерий указанных видов.

Наследственная недостаточность системы комплемента у человека

Группа	Тип патологии	Недостаточность	Тип наследования		
			АР	АД	ХР
I	Заболевания, связанные с нарушениями формирования и клиренса иммунных комплексов	C1q	•		
		C1s или C1r + C1s	•		
		C2	•		
		C4	•		
II	Ангионевротический отек	Ингибитор C1		•	
III	Повторные гнойные инфекции	C3	•		
		Фактор H	•		
		Фактор I	•		
IV	Повторные инфекции, вызываемые *Neisseria*	C5	•		
		C6	•		
		C7	•		
		C8	•		
		Пропердин			•
		Фактор D	?	?	?
V	Отсутствие симптомов	C9	•		

Рис. 21.11
Генетически обусловленные дефекты системы комплемента у человека. (Типы наследования: АР – аутосомно-рецессивный, АД – аутосомно-доминантный, ХР – Х-сцепленный рецессивный).

Все перечисленные формы недостаточности компонентов комплемента наследуются как аутосомно-рецессивные признаки, за исключением дефицита пропердина (Х-сцепленный рецессивный тип наследования) и недостаточности ингибитора C1 (аутосомно-доминантный тип наследования).

Наследственный ангионевротический отек (НАО) как результат недостаточности ингибитора C1

Наиболее тяжелые клинические проявления имеет нарушение функции комплемента, связанное с недостаточностью ингибитора C1. Эта молекула вызывает диссоциацию активированного



Рис. 21.12
Наследственный ангионевротический отек. На фотографии виден характерный для этого вида патологии преходящий местный отек.

C1, связываясь с Clr_2Cls_2. Недостаточность ингибитора C1 является причиной наследственного ангионевротического отека (НАО), хорошо изученного заболевания (*рис. 21.12*), которое передается как аутосомно-доминантный признак. Болезнь характеризуется периодическим возникновением ограниченного отека различных частей тела. Если процесс развивается в кишечнике, он вызывает чрезвычайно резкие спазмы и боли в области живота, сопровождающиеся неукротимой рвотой. Отек верхних дыхательных путей может привести к гибельному для больного удушью и требует немедленного медицинского вмешательства для восстановления нормального дыхания.

Ингибитор C1 блокирует не только классический путь активации комплемента, но подавляет также активность связанных с ним элементов кининовой и плазминовой систем, а также системы свертывания крови. Возникновение отека опосредовано двумя пептидами, образующимися в результате неингибируемой активации комплемента и связанных с ним систем. Один из пептидов – кинин C2 – представляет собой продукт активации компонента C2, другой – брадикинин – возникает при активации кининовой системы (*рис. 21.13*). В результате действия этих пептидов на посткапиллярные венулы происходит сокращение эндотелиальных клеток с образованием между ними щелей, через которые плазма выходит в ткани (см. гл. 5).

Существуют две генетически различающиеся формы НАО. Тип I НАО обусловлен дефектом в гене ингибитора C1, вследствие которого не образуются РНК-транскрипты. При типе II НАО ген ингибитора имеет точковые мутации, и молекулы ингибитора синтезируются, но имеют дефекты. Различие между двумя типами НАО важно учитывать, поскольку заболевание II типа путем только количественного определения ингибитора C1 в сыворотке крови диагностировать невозможно. Необходимо также исследовать содержание компонента C4. Уровень последнего в сыворотке больных НАО всегда снижен вследствие его разрушения неингибируемым, активированным C1.

Недостаточность ингибитора C1 может появиться в позднем возрасте. В некоторых случаях при этом обнаруживаются аутоантитела к инги-

Патогенез наследственного ангионевротического отека

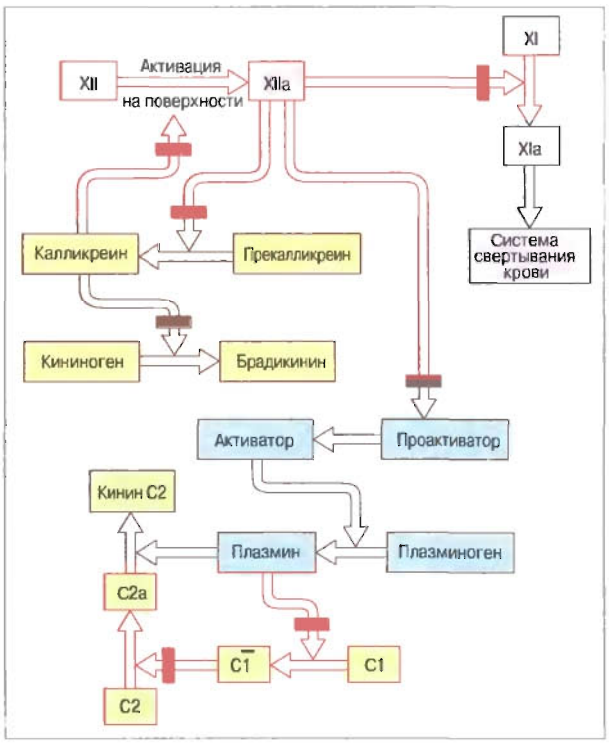


Рис. 21.13
Ингибитор C1 участвует в инактивации элементов свертывающей системы крови, кининовой и плазминовой систем и комплемента. Он может активироваться вслед за поверхностнозависимой активацией фактора XII (фактор Хагемана). Красным цветом обозначены участки действия ингибитора C1. Нерегулируемая активация всех этих процессов ведет к образованию брадикинина и кинина C2, вызывающих отеки.

битору C1, в других – пролиферация моноклонов В-клеток (как это имеет место при хроническом лимфолейкозе), множественная миелома или В-клеточная лимфома. У больных присутствуют антиидиотипические антитела к продуцируемому в избытке иммуноглобулину; по неизвестным причинам взаимодействие идиотип–антиидиотип сопровождается потреблением C1, C4, C2 и ингибитора C1 без образования эффективной C3-конвертазы (которая вызывает отложение C3 и удаление комплексов комплемента).

ДЕФЕКТЫ ФАГОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК

Фагоцитарные клетки – полиморфноядерные лейкоциты и клетки моноцитарно-макрофагального ряда – выполняют важную роль в защите против гноеродных бактерий и других внутриклеточных микроорганизмов. Выраженная недостаточность полиморфноядерных лейкоцитов (нейтропения) может привести к развитию генерализованной бактериальной инфекции. Особое клиническое значение имеют два генетических дефекта, нарушающих функцию фагоцитов и тем самым вызывающих повышение чувствительности к инфекциям. С этими дефектами связано возникновение тяжелых заболеваний, часто с летальным исходом – хронического гранулематоза и недостаточности адгезии лейкоцитов.

Причина хронического гранулематоза (ХГ) состоит в нарушении механизма восстановления кислорода

У больных ХГ имеется дефект NADP·H-оксидазы, катализирующей восстановление O_2 с образованием $\bullet O_2^-$:

$$NADP{\cdot}H + 2O_2 \rightarrow NADP^+ + 2\bullet O_2^- + H^+.$$

По причине этого дефекта фагоциты больных не способны продуцировать супероксидный кислородный радикал ($\bullet O_2^-$) и пероксид водорода и поэтому не могут быстро разрушать поглощенные ими клетки бактерий или грибов, в первую очередь каталазообразующих видов (см. гл. 17). В результате микроорганизмы внутри фагоцитов таких больных остаются жизнеспособными. Персистирующие внутриклеточно микробные антигены вызывают клеточный иммунный ответ и формирование гранулем. У детей, больных ХГ, развиваются пневмония, инфекции лимфоузлов (лимфаденит) и абсцессы в коже, печени и других внутренних органах.

Диагноз ХГ устанавливают по неспособности фагоцитов после стимуляции восстанавливать краситель тетразолиевый нитросиний (ТНС). Поглощаемый фагоцитами, когда они переваривают захваченные частицы, этот краситель, имеющий в окисленной форме бледно-желтую окраску, восстанавливается, присоединяя ион водорода при окислении NADP·H; при этом в клетках образуются кристаллы ТНС темно-красного цвета. В фагоцитах больных ХГ восстановления ТНС не происходит (*рис. 21.14*).

Реакция с участием NADP·H-оксидазы представляет собой сложный процесс, и ферментный комплекс состоит из многих субъединиц. Мембраны покоящихся фагоцитов содержат специфичный для клеток этого типа цитохром b_{558}. Он построен из двух цепей, одна из которых имеет молекулярную массу 91 кДа и кодируется геном в коротком плече Х-хромосомы. Другая цепь, с молекулярной массой 22 кДа, кодируется геном, локализованным в хромосоме 16. При фагоцитозе несколько цитозольных белков фосфорилируются, перемещаются к мембране и связываются с цитохромом b_{558}. Сформированный комплекс действует как фермент NADP·H-оксидаза, катализируя реакцию окисления NADP·H, в результате которой образуются высокореакционноспособный кислородный радикал (*рис. 21.15*). Чаще

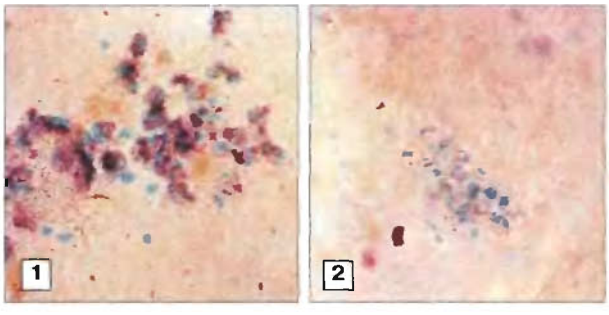


Рис. 21.14
Тест с красителем тетразолиевым нитросиним (ТНС). У здоровых людей в полиморфноядерных лейкоцитах и моноцитах при фагоцитозе образуются высокореакционноспособные метаболиты кислорода (ВМК), при этом желтый ТНС восстанавливается, превращаясь в красно-фиолетовый формазан (**1**). У больных ХГ образования ВМК не происходит и ТНС сохраняет желтый цвет (**2**). (Фото любезно предоставлены проф. A.R. Hayward.)

встречается Х-сцепленная форма ХГ, для которой характерен дефект цепи 91 кДа в составе цитохрома b_{558}. Три других типа ХГ являются аутосомно-рецессивными расстройствами и обусловлены дефектами другой цепи (22 кДа) цитохрома b_{558} или одного из двух белков, $p47^{phox}$ или $p67^{phox}$ (*phox* – сокращение от англ. phagocytic oxidase).

Недостаточность адгезии лейкоцитов (НАЛ) обусловлена дефектами в генах интегринов

Для поглощения микроорганизмов фагоцитарными клетками решающее значение имеет мембранный рецептор фагоцитов, который связывается с C3bi на поверхности опсонизированных микробных клеток. У больных, страдающих НАЛ, этот рецептор – интегрин, названный рецептором 3 комплемента (CR3), – отсутствует, вследствие чего они подвержены тяжелым бактериальным инфекциям, особенно часто поражающим полость рта и желудочно-кишечный тракт.

Молекула CR3 построена из двух полипептидных цепей: α-цепи с молекулярной массой 165 кДа (CD11b) и β-цепи с молекулярной массой 95 кДа (CD18). При НАЛ имеется генетический дефект β-цепи, которую кодирует ген в хромосоме 21. Ту же самую β-цепь содержат два других интегриновых белка – лейкоцитарный функциональный антиген (LFA-1) и p150,95 (см. гл. 5). Хотя каждый из этих белков имеет свою α-цепь (CD11a и CD11c соответственно), оба они при НАЛ дефектны. Молекула LFA-1 играет важную роль в клеточной адгезии; она взаимодействует с молекулой 1 межклеточной адгезии (ICAM-1) на поверхности эндотелиальных клеток и других клеточных мембранах. Вследствие дефекта LFA-1 фагоциты больных НАЛ не способны прикрепляться к сосудистому эндотелию и поэтому не могут мигрировать из кровеносных сосудов в область внедрения инфекционного агента. У больных не происходит образования локальных гнойных очагов, в связи с чем бактерии имеют возможность быстро распространяться по организму.

NADP·H-оксидаза и ее компоненты

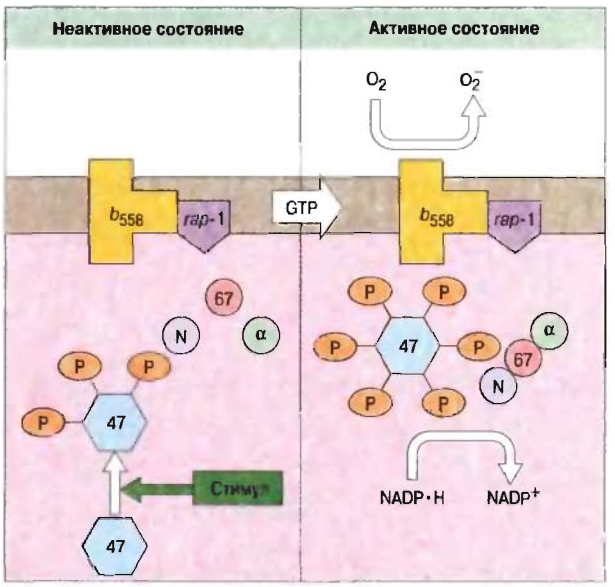


Рис. 21.15
Согласно существующим представлениям о природе данной NADP·H-оксидазы, в отсутствие активирующего стимула некоторые из компонентов этого фермента локализованы в мембране (цитохром b_{558}, и, возможно, *rap*-1), тогда как другие находятся в цитозоле ($p47^{phox}$, $p67^{phox}$, NADP·H-связывающий компонент N и предполагаемый четвертый компонент α). В ответ на стимул, индуцированный фагоцитозом, происходит сборка комплекса из цитозольных элементов, который перемещается затем к мембране. Возможно, этот процесс опосредован фосфорилированием (P) $p47^{phox}$. Как только цитозольные компоненты связываются с мембранными, оксидаза становится каталитически активной и $p47^{phox}$ фосфорилируется далее. При различных формах ХГ обнаружены дефекты генов, кодирующих различные компоненты этой оксидазы. (По Smith R.M., Curnutte J.T., 1991. Molecular basis of chronic granulomatous disease. *Blood* **77 (4)**: 673–86, с разрешения).

Вопросы для размышления

- Клиническая картина при Х-сцепленной агаммаглобулинемии неотличима от проявлений наследственной недостаточности третьего компонента комплемента (С3): и те и другие больные имеют повышенную чувствительность к гнойным инфекциям. Как это объяснить?
- У лиц с недостаточностью антигенов МНС класса II отсутствуют Т-клетки $CD4^+$. В редких случаях наблюдается недостаточность МНС-антигенов класса I. Недостаточность какой субпопуляции Т-клеток должна быть у этих больных?
- Лица с недостаточностью компонентов комплемента С1, С2, С4 и ингибитора С1 могут быть не столь восприимчивы к гнойным инфекциям, как больные с дефицитом С3. В чем причина этого различия?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Conley M.E. 1991. Molecular approaches to analysis of X-linked immunodeficiencies. *Ann. Rev. Immunol.* **10**:215.

Cumutte J.T., Orkin S.H.. Dinauer M.C. Genetic disorders of phagocyte function. *In:* Stramatoyannopoulos G., Nienhuis A.W., Majerus P.W., Varmus H. (eds.). *The Molecular Basis of Blood Diseases*. Philadelphia: PA Saunders; 1994: 443.

Rosen F.S., Cooper M.D., Wedgwood R.J.P. 1995. The primary immunodeficiencies. *N. Engl. J. Med.* **333**:43.

Rosen F.S., Seligman M. (eds.). *Immunodeficiencies*. Switzerland: Harwood Academic Publishers GmbH. 1993.

Von Andrian U.H., Berger E.M., Chambers, J.D. et al. 1993. In vivo behaviour of neutrophils from two patients with distinct inherited leukocyte adhesion deficiency syndromes. *J. Clin. Invest.* **91**: 2893.

Вторичная иммунологическая недостаточность

22

- **Иммуномодулирующие лекарственные препараты** могут сильно подавлять иммунные функции.
- **Стероиды** влияют на миграцию клеток, индуцируют лейкоцитопению и ингибируют синтез цитокинов.
- **Циклофосфамид, азатиоприн и микофенолат-мофетил** действуют непосредственно на ДНК или ее синтез.
- **Белково-калорическая недостаточность** оказывает выраженное негативное влияние на лимфоидную ткань и клеточный иммунитет.
- **Недостаток в пище отдельных микроэлементов,** таких как цинк, селен, медь или железо, а также витаминов А, B_6 и фолата приводит к ослаблению функции иммунной системы.
- **Правильные диета и питание** – факторы, позволяющие снизить заболеваемость и смертность от инфекций.
- **Возбудителем СПИДа** является вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) – РНК-содержащий ретровирус, который связывается с CD4.
- **Значительное снижение числа Т-клеток $CD4^+$,** обусловленное разными причинами, ведет к резкому нарушению клеточного иммунитета и к гибели от оппортунистических инфекций.
- **Комбинированная терапия** с применением ингибиторов обратной транскриптазы и протеаз дает определенный эффект, однако это дорогостоящий способ лечения.
- **Эффективной вакцины** против СПИДа пока не разработано.

ИММУНОДЕФИЦИТЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

В последнее десятилетие достигнуты существенные успехи в изучении регуляторных основ иммунитета, а также избирательного влияния на него лекарственных веществ, подавляющих или в некоторых условиях усиливающих иммунный ответ. В настоящей главе рассматривается действие наиболее важных лекарственных препаратов, обычно используемых для системной иммунотерапии.

Стероиды

Функцию иммунной системы регулируют по меньшей мере четыре основных механизма: гормональный (т. е. опосредованный глюкокортикоидами), цитокиновый (с участием интерлейкинов и интерферонов), опосредованный сетевыми взаимодействиями (идиотипические – антиидиотипические реакции) и антигенный. Глюкокортикоиды являются наиболее сильными естественными модуляторами иммунного ответа, оказывая выраженное влияние на большинство его стадий и компонентов. Помимо прямого гормонального действия на миграцию и функции иммунных клеток, стероиды оказывают сильный опосредованный эффект, существенно влияя на синтез цитокинов.

Действие на клеточную миграцию

Стероидные препараты вызывают резкие изменения в популяционном составе циркулирующих лейкоцитов. Этот эффект имеет место даже при использовании стероидов в низких дозах, например таких, какие применяют для создания их физиологических концентраций у адреналэктомированных больных. Характер эффекта зависит от типа клеток (*рис. 22.1*).

Действие кортикостероидов на циркулирующие лейкоциты

Тип клеток	Часы после инъекции		
	0	6	24
Нейтрофилы	4000	10 000	4000
Лимфоциты	2000	500	2000
Эозинофилы	400	100	400
Моноциты	300	50	300
Базофилы	100	0	100

Рис. 22.1
Действие глюкокортикоида, введенного однократно в дозе 40 мг/кг, на содержание лейкоцитов в крови человека (число клеток в 1 $мм^3$).

Применение стероидов приводит к снижению числа циркулирующих лимфоцитов – *лимфоцитопении*, максимальной через 4–6 ч после введения препарата; через 24 ч содержание этих клеток восстанавливается до нормального. При этом число В-клеток падает меньше, чем Т-клеток, а среди последних субпопуляция $CD4^+$ уменьшается в большей степени, чем $CD8^+$. Экспериментальные данные указывают на то, что происходит перераспределение этих клеток с их миграцией в костный мозг и селезенку.

Кроме того, применение стероидов вызывает *моноцитопению*, наиболее выраженную через 2 ч после введения препарата; через 24 ч число моноцитов в крови восстанавливается до нормального уровня. Однако в отличие от эффекта, оказываемого на лимфоциты, в данном случае при повторном ежедневном введении стероида содержание моноцитов существенно не меняется.

Лечение стероидами приводит также к возникновению *нейтрофилии*, частично обусловленной поступлением в кровь зрелых клеток из костного мозга и частично – их задержкой в циркуляции. После введения стероидов здоровым индивидам одновременно с нейтрофилией наблюдается быстрое и продолжительное падение числа циркулирующих в крови эозинофилов и базофилов.

Влияние на клеточные функции

Стероиды ингибируют активацию и пролиферацию Т-клеток, лишая их способности отвечать на ИЛ-1 и, следовательно, синтезировать ИЛ-2. В-клетки чувствительны к стероидам только на самых ранних стадиях своего созревания (в результате блокирования функций участвующих в их дифференцировке моноцитов и Т-лимфоцитов); на зрелые В-лимфоциты стероиды действуют слабо. Тем не менее при длительном введении высоких доз гормонов в определенной степени снижается содержание в крови иммуноглобулинов всех изотипов.

Стероиды ингибируют продукцию ИЛ-1 и ФНО моноцитами (см. ниже), но эффект действия цитокинов на фагоцитоз при этом не падает, а наоборот, может быть даже повышенным. Так, введение стероидов в низких дозах может усиливать связывание ИФγ и последующую экспрессию молекул HLA-DR и Fc-рецептора. В то же время на функции полиморфноядерных лейкоцитов стероиды в фармакологических концентрациях не влияют, судя по хемотаксической, фагоцитарной и цитотоксической активности этих клеток.

Действие на синтез цитокинов

Как показывают исследования in vitro, стероиды в физиологических и фармакологических концентрациях ингибируют синтез цитокинов, однако не затрагивают существенно их функции. Более выражено влияние стероидов in vivo: после их введения наблюдается снижение продукции ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-10, ФНОα и ИФγ. Это может быть обусловлено различными механизмами: 1) связыванием с потенциальными глюкокортикоид-чувствительными элементами в области промотора генов цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-6 или ИЛ-10); 2) ингибированием факторов активации транскрипции ИЛ-2, ИЛ-8 и ФНОα путем их прямого связывания или 3) ускоренным расщеплением мРНК (ИЛ-1 и ИЛ-3). Основными следствиями этих эффектов являются угнетение активации Т-клеток (в равной мере Тх1- и Тх2-клеток субпопуляции $CD4^+$), а также подавление активности клеток моноцитарно-макрофагальной системы.

Циклофосфамид

Циклофосфамид, как и хлорамбуцил, относится к группе иммуномодулирующих агентов, действие которых основано на ковалентном алкилировании других молекул. Сам по себе циклофосфамид не обладает алкилирующими свойствами, однако они присущи многим его метаболитам: имея два активных участка, они перекрестно связывают цепи ДНК, препятствуя их расхождению во время деления клетки. Основной побочный эффект этого препарата – токсическое действие на костный мозг, поэтому при терапевтическом применении циклофосфамида необходимо постоянно контролировать число лейкоцитов.

Действие на иммунную систему

Циклофосфамид главным образом снижает число лимфоцитов и подавляет их функции, что особенно проявляется при ежедневном приеме препарата внутрь в низких дозах. На число полиморфноядерных клеток он действует незначительно. Пероральная терапия низкими дозами больше влияет на клеточный иммунитет, тогда как периодическое одноразовое введение большой дозы циклофосфамида в большей степени сказывается на антителообразовании. И у человека, и у экспериментальных животных после введения небольшой дозы (600 мг/м^2) этого препарата содержание В-лимфоцитов падает значи-

тельнее, чем Т-клеток (при этом Т-клетки $CD8^+$ поражаются сильнее, чем $CD4^+$); однако с повышением дозы циклофосфамида примерно одинаково уменьшается число клеток всех типов. Экспериментально установлено, что избирательное поражение CD8-клеток при введении низких доз циклофосфамида сопровождается парадоксальным усилением некоторых функций, регулируемых этими клетками, в частности повышением продукции антител. Существующие данные об эффекте низких доз циклофосфамида, полученные в экспериментах, еще не позволяют говорить о том, что подобный же эффект может быть воспроизведен у человека в условиях клинического применения этого агента.

Поскольку эффект циклофосфамида сказывается как на В-, так и на Т-клетках, он способен существенно подавлять и гуморальный, и клеточный иммунный ответ, что было установлено в экспериментах на животных и в исследованиях, проведенных на людях. Поэтому циклофосфамид можно с успехом применять для лечения аутоиммунных заболеваний и предотвращения отторжения аллогенных трансплантатов.

Азатиоприн

Этот препарат in vivo оказывает эффект за счет быстрого неферментативного превращения в 6-меркаптопурин и дальнейшего метаболизирования до тиоинозиновой кислоты, которая конкурентно ингибирует обмен пуринов и включается в молекулу ДНК как ложное основание. Таким образом, основное действие азатиоприна состоит в ингибировании синтеза ДНК. В отличие от циклофосфамида, обладающего цитотоксическими свойствами, азатиоприн служит цитостатическим агентом и действует лишь на делящиеся клетки, давая максимальный эффект при введении в ближайшие сроки после антигенного стимула. Аллопуринол, ингибитор ксантиноксидазы, повышает эффективность азатиоприна в 4 раза, поэтому при лечении больных, которые получают аллопуринол по клиническим показаниям, например при подагре, дозу азатиоприна необходимо уменьшать до 25%.

Действие на иммунную систему

Азатиоприн обладает умеренным имуносупрессивным действием и вызывает не слишком сильное снижение числа Т- и В-клеток после продолжительного приема внутрь в дозах 2–3 мг/кг в сутки. По-видимому, он специфически действует на К- и НК-клетки, подавляя их активность. В дозах, применяемых в клинике, азатиоприн не влияет на гуморальный иммунитет и гиперчувствительность замедленного типа, хотя лимфоциты больных, получавших препарат, отвечают сниженной реакцией на митоген лаконоса.

Микофенолат-мофетил

Этот препарат был разработан с целью избирательного воздействия на конечную стадию синтеза пуринов, которая специфична для лимфоцитов, пролиферирующих в ответ на антигенную стимуляцию. Таким образом, в отличие от азатиоприна и других аналогов нуклеозидов он не ингибирует функцию ферментов, репарирующих повреждения ДНК, и не включается в ДНК как ложный аналог пуринов. Микофенолат быстро гидролизуется in vivo с образованием активного метаболита – микофеноловой кислоты.

Действие на иммунную систему

Микофенолат блокирует пролиферативные Т- и В-клеточный ответы при введении в дозах, которые, видимо, не влияют на клетки других типов. Кроме того, он ингибирует гликозилирование молекул адгезии, играющих роль в миграции лейкоцитов через сосудистый эндотелий, и тем самым ограничивает развитие воспалительных реакций.

Метотрексат

Это соединение представляет собой структурный аналог фолиевой кислоты и блокирует метаболические процессы, протекающие с ее участием и необходимые для синтеза ДНК.

Действие на иммунную систему

В ряде работ приводятся данные о том, что применение метотрексата в течение трех месяцев вызывает значительное снижение уровня иммуноглобулинов всех изотипов, угнетая их синтез. Ни кратковременное, ни длительное применение этого препарата не вызывает соответственного изменения в субпопуляциях Т-лимфоцитов и клеток моноцитарно-макрофагальной системы. Противовоспалительные свойства метотрексата связаны с тем, что он ингибирует дигидрофолатредуктазу (фермент, участвующий в синтезе пуринов) и тем самым вызывает высвобождение

аденозина, который служит мощным ингибитором активированных полиморфноядерных лейкоцитов. Противовоспалительные свойства могут быть обусловлены и другими эффектами метотрексата, в частности подавлением метаболизма арахидоновой кислоты, однако еще более сильное антивоспалительное действие проявляется в быстром падении таких показателей воспалительного процесса, как содержание С-реактивного белка и скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Эти изменения возникают столь быстро, что не могут быть вызваны действием метотрексата на функции клеток иммунной системы или синтез иммуноглобулинов.

Циклоспорин, такролимус и рапамицин

	Циклоспорин	Такролимус	Рапамицин
Секреция лимфокинов (ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6, ГМ-КСФ, ИФγ)	↓	↓	– или ↑
Экспрессия рецептора ИЛ-2	↓	↓	–
Ингибирование эффекта ИЛ-2	–	–	+

Рис. 22.2
Влияние циклоспорина, такролимуса и рапамицина на активность цитокинов.

Циклоспорин, такролимус (FK506) и рапамицин

Все три агента оказывают сложные по характеру эффекты на внутриклеточную передачу сигнала и, следовательно, функцию Т-клеток. Эти вещества связываются с цитоплазматическими белками иммунофилинами, обладающими пептидилпролилизомеразной (ротамазной) активностью. В результате связывания активность этих белков подавляется. Предположительно иммунофилины выполняют решающую роль в передаче сигналов с клеточной поверхности в ядро.

Циклоспорин связывается с белками одного из семейств иммунофилинов, циклофилинами, тогда как такролимус и рапамицин соединяются с FK-связывающими белками. Комплекс циклоспорин–циклофилин воздействует на серин-треонин-фосфатазу – белок, называемый кальцинейрином. Комплекс рапамицина с FK-связывающим белком действует иначе. И циклоспорин, и такролимус блокируют пути передачи сигналов, связанные с повышением внутриклеточной концентрации свободного кальция, а также ингибируют активацию транскрипции генов цитокинов и других генов, важных для пролиферации и функционирования Т-клеток. Рапамицин блокирует Т-клеточную пролиферацию другим путем, ингибируя ИЛ-2-зависимые механизмы передачи сигналов, не связанные с изменениями концентрации кальция; на транскрипцию генов цитокинов он не влияет (*рис. 22.2*).

Действие на иммунную систему

Циклоспорин существенно подавляет ранние стадии пролиферации Т-клеток, индуцированной в смешанной культуре лимфоцитов, конканавалином А или фитогемагглютинином. Кроме того, циклоспорин специфически действует на В-клетки: ингибирует их пролиферативную реакцию, вызванную антиглобулином, не влияет на пролиферацию, стимулированную липополисахаридом, и угнетает антигенпрезентирующую функцию моноцитов и клеток Лангерганса. Таким образом, иммуносупрессивное действие циклоспорина, наиболее выраженное в отношении Т-лимфоцитов, распространяется и на другие клетки иммунной системы. Такролимус действует, как считается, подобно циклоспорину, хотя эти агенты связываются с разными иммунофилинами. Рапамицин поражает также клетки негемопоэтического происхождения; например, он ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудистой стенки после ее повреждения при катетеризации; поэтому данный препарат может быть эффективен для предотвращения повторного стеноза после реконструкции сосудов. Рапамицин подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов на более поздних стадиях по сравнению с циклоспорином или такролимусом, поэтому его можно использовать совместно с этими агентами или же в тех случаях, когда к одному из них развивается рефрактерность.

ПИТАНИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

На существование связи между питанием и устойчивостью к инфекциям указывают исторические сведения о распространении инфекционных заболеваний среди населения в голодные годы, а также клинические наблюдения и эпиде-

миологические данные. Как правило, иммунные реакции при недостаточном питании нарушаются. Наиболее всего этот фактор влияет на пять форм иммунологической реактивности: клеточный иммунитет, фагоцитарную функцию, активность системы комплемента, секрецию антител и синтез цитокинов. По данным мировой статистики, истощение – это самая частая причина иммунодефицитных состояний.

Как социальное явление недостаточность питания наиболее широко распространена в экономически неблагополучных странах, а также среди бедных слоев населения индустриально развитых государств. Кроме того, во многих случаях дефицит питания возникает у больных как следствие разнообразных системных нарушений: опухолевых заболеваний, хронических почечных расстройств, ожогов, множественных травм, хронических инфекций. Вместе с тем парадоксальным образом ожирение и избыточное питание также ассоциированы с ослаблением иммунных реакций.

Недостаточность питания и инфекция

Недостаточность питания обычно утяжеляет течение инфекций, и наоборот, инфекционное заболевание усиливает расстройства, вызванные недостатком питания. Однако такая зависимость наблюдается не при всех инфекциях; на клиническое течение и конечный исход пневмонии, диареи, кори и туберкулеза дефицит питания действует благоприятно; при некоторых инфекционных заболеваниях (например, столбняке и вирусном энцефалите) эффект недостаточности питания минимален, а при таких, как грипп и ВИЧ-инфекция, характер питания оказывает лишь умеренное влияние.

Существует множество факторов, предрасполагающих к развитию инфекций при недостаточном питании. К ним относятся плохие санитарные условия, употребление загрязненных пищи и воды, отсутствие гигиенических навыков в питании и повседневной жизни, большая скученность в местах проживания.

Лимфоидные ткани

Лимфоидные ткани чрезвычайно чувствительны к отрицательным эффектам недостаточности питания. Масштаб и степень нарушения иммунных функций, возникающего при дефиците питательных веществ, зависят от ряда факторов, в том числе от скорости клеточной пролиферации, интенсивности синтеза белка и значения отдельных элементов питания в основных метаболических процессах. Для функционирования многих ферментов, играющих ключевую роль в иммунных реакциях, необходимо поступление в организм цинка, железа, витамина B_6 и других микроэлементов и витаминов.

Выраженный признак недостаточности питания – это атрофия лимфоидной ткани. У детей раннего возраста чувствительным «барометром», отражающим характер питания, является тимус, и явное падение веса и объема этого органа у истощенных в результате плохого питания лиц получило название «пищевой тимэктомии». При гистологическом исследовании такого тимуса обнаруживается нарушение дольчатого строения, исчезновение границы между корковой и мозговой зонами, уменьшение содержания лимфоидных клеток. Тельца Гассаля при этом увеличены и находятся в состоянии дегенерации, некоторые из них кальцифицированы. Атрофия захватывает тимус-зависимые периартериолярные районы селезенки, а также паракортикальную область лимфатических узлов.

Белково-калорическая недостаточность питания (БКНП)

Умеренная или тяжелая БКНП сопровождается значительным угнетением клеточного иммунитета, на которое указывают снижение числа Т-хелперов $CD4^+$ и уменьшение соотношения клеток $CD4^+/CD8^+$ (*рис. 22.3*). Эксперименты по совместному культивированию показывают, что при этом В-лимфоциты не получают достаточной Т-клеточной «помощи». Отмечено снижение способности лимфоцитов отвечать пролиферацией на митоген. Состояние незрелости циркулирующих Т-клеток выражается в повышенной активности лейкоцитарной дезоксинуклеотидилтрансферазы. В основе изменений числа и функций Т-клеток может лежать снижение активности тимулина. При иммунизации обычно применяемыми вакцинами наблюдается недостаточно высокая продукция секреторных антител IgA – возможная причина частых инфекционных поражений слизистых оболочек.

В условиях БКНП страдает фагоцитарная функция. Ослаблен процесс опсонизации, в основном в результате снижения уровня различных компонентов комплемента – С3, С5 и фактора В.

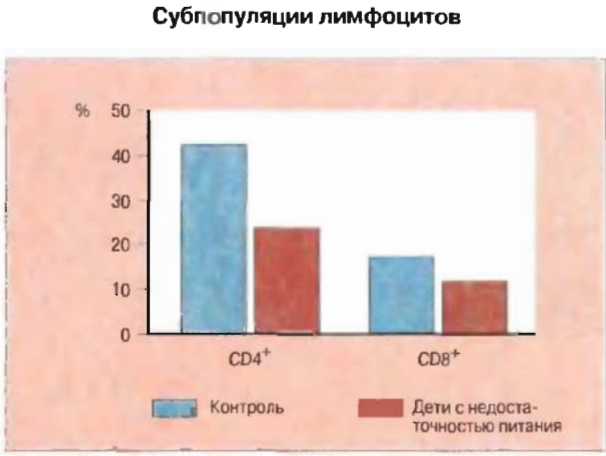


Рис. 22.3
Субпопуляции лимфоцитов у детей с белково-калорической недостаточностью питания. Контроль – нормально питающиеся дети. (По данным Chandra R. K. 1983; *Clin. Exp. Immunol.* **52**: 126–131, с разрешения).

Поглощение микроорганизмов фагоцитами не изменяется, тогда как способность фагоцитарных клеток разрушать захваченные микробы нарушена. Снижена также продукция некоторых цитокинов, в частности ИЛ-2 и ФНО.

Кроме того, БКНП сопровождается изменением некоторых показателей врожденного иммунитета, в том числе незначительным уменьшением образования лизоцима. При недостаточности питания данного вида большое число бактерий связывается с эпителиальными клетками, что ухудшает заживление ран. Относительно качества и количества продуцируемой при БКНП слизи сведений крайне мало.

Отдельные элементы питания

Хорошо изучено заметное влияние, которое оказывает на иммунный ответ недостаток *цинка*. Оно состоит в ослаблении кожных реакций гиперчувствительности замедленного типа, снижении соотношения клеток $CD4^+/CD8^+$, нарушении функций Т-клеток. Острым и патогномоничным признаком недостаточности цинка является уменьшение активности сывороточного тимулина – нонаполипептида, содержащего цинк.

Железо представляет собой, образно говоря, обоюдоострое оружие: оно необходимо для роста большинства микроорганизмов и наряду с этим для активности железо-зависимых ферментов, обеспечивающих функции лимфоцитов и фагоцитов. Поэтому дефицит железа в целом ведет к уменьшению способности нейтрофилов уничтожать бактерии и грибы, к снижению реакции лимфоцитов на митогены и нарушению активности НК-клеток.

Селен и *медь* также играют роль в осуществлении иммунного ответа. По новейшим данным, вирусы могут мутировать и изменять свою вирулентность при инфицировании животных, в питании которых имеется дефицит этих элементов. Вирус Коксаки, выделенный от мышей с дефицитом селена, вызывал сильное поражение миокарда; по сравнению с вирусом введенного мышам исходного, авирулентного штамма, вирулентный вирус от дефицитных по селену мышей имел 6 нуклеотидных замен.

Недостаток *витамина А* неблагоприятно отражается на структуре эпителия, приводя к метаплазии клеток и повышенному связыванию бактерий. Уменьшается число некоторых субпопуляций лимфоцитов и снижается их реакция на митоген. Недостаток *витамина* B_6 и *фолата* вызывает нарушения клеточного иммунитета, в особенности пролиферативной реакции лимфоцитов.

Ожирение и избыточное питание

У тучных людей и животных наблюдаются изменения различных типов иммунореактивности, включая цитотоксичность, активность НК-клеток и способность фагоцитов лизировать поглощенные бактерии и грибы. Причиной нарушений иммунного статуса может быть изменение содержания в организме отдельных микроэлементов, липидов и гормонов.

Некоторые питательные вещества при умеренно избыточном поступлении с пищей усиливают ряд иммунных реакций, в частности клеточный иммунитет. К таким элементам питания относятся витамин Е, витамин А, цинк и селен. Однако для большинства питательных веществ существует верхний предел потребления, превышение которого ведет к нарушению иммунных функций.

Клиническое значение питания

В настоящее время открыты новые возможности предупреждения первичных и вторичных инфекций у лиц из групп повышенного риска при по-

мощи соответствующего режима питания. В больничных условиях пациенты в состоянии истощения подвергаются повышенному риску возникновения оппортунистических инфекций. Усиленное питание в этом случае повышает иммунитет и снижает вероятность развития таких осложнений, как сепсис и плохое заживление ран. У лиц пожилого возраста, для которого характерна повышенная чувствительность к респираторным инфекциям, пищевые добавки при употреблении в умеренном количестве улучшают иммунные реакции и, что еще более существенно, снижают частоту инфекций дыхательных путей, ограничивая тем самым необходимость применения антибиотиков. Кроме того, у лиц, получающих пищевые добавки, при вакцинации развивается более эффективный иммунный ответ, чем в случае питания без пищевых добавок.

СПИД

Возбудителем СПИДа является вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), который передается половым путем, при гемотрансфузии или при введении препаратов крови, а также от больной матери ребенку в перинатальный период. Существуют два основных варианта вируса – ВИЧ-1 и ВИЧ-2, причем последний эндемичен для Западной Африки и, по-видимому, менее патогенен.

Более 80% инфицированных ВИЧ людей проживают в развивающихся странах, где в 80% случаев вирус передается половым путем (70% гетеро- и 10% гомосексуальных контактов). По прогнозам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к 2000 году общее число ВИЧ-инфицированных лиц на планете составит 30 млн. (из которых 99% будут жителями развивающихся стран), а число погибших от СПИДа достигнет 2 млн. в год.

Вирус

ВИЧ относится к вирусам, содержащим двухцепочечную РНК; диаметр его частицы составляет 100–120 нм (*рис. 22.4*). Основные гены ВИЧ – это *gag* (кодирует сердцевинный белок), *pol* (ген полимеразы/обратной транскриптазы) и *env* (кодирует белок оболочки вируса). Кроме того, несколько дополнительных генов служат для регуляции синтеза вирусных белков. Рецептором для ВИЧ является антиген CD4, который присутствует на Т-лимфоцитах $CD4^+$ и клетках моноцитарно-макрофагального ряда. С молекулой CD4 связывается вирусный гликопротеин gp120; в процессах последующего слияния вируса с клеткой и его интернализации, опосредуемых гликопротеином gp41, участвуют хемокиновые корецепторы.

Расстройства иммунных функций

Спектр этих расстройств весьма широк и включает нарушения активации клеток иммунной системы в результате прямого действия ВИЧ, а также истощение и дисфункцию субпопуляции Т-клеток $CD4^+$, развивающиеся со временем и составляющие основную причину возникновения иммунодефицита. Каким образом вирус убивает клетки-мишени, еще не совсем ясно. Для объяснения предложены разные механизмы, в частности накопление РНК и неинтегрированной ДНК в цитоплазме и внутриклеточное связывание CD4 с gp120. Инфицированные клетки могут соединяться с неинфицированными в результате взаимодействия gp120–CD4, при этом образуются гигантские многоядерные клетки и синцитий. Связываясь с поверхностью неинфицированных Т-клеток $CD4^+$, gp120 делает их также чувствительными к антителозависимой клеточной цитотоксической активности (АЗКЦ); инфицированные клетки могут уничтожаться gp120-специфическими цитотоксическими Т-лимфоцитами. Белки ВИЧ способны действовать как суперантигены, вызывая выраженную экспансию пула иммунокомпетентных клеток с его последующим истощением. Кроме того, ВИЧ может индуцировать апоптоз Т-клеток и вызывать повреждение клеточной мембраны и лизис при отпочковывании вирусных частиц с поверхности клетки.

Нарушения иммунных функций под влиянием ВИЧ состоят в истощении субпопуляции Т-клеток $CD4^+$ и угнетении их реакций на антигены, митогены, аллоантигены и антитела анти-CD3 с параллельным снижением продукции ИЛ-2 и другими изменениями продукции цитокинов. В результате этих нарушений утрачивается способность цитотоксических Т-клеток к ВИЧ-специфичному ответу и некоторые антигенпрезентирующие клеточные функции. При этом возрастает число активированных и ареактивных Т-клеток $CD8^+$, повышается содержание β_2-микроглобулина и неоптерина в сыворотке, происходит поликлональная В-клеточная акти-

Структура и жизненный цикл вируса иммунодефицита человека

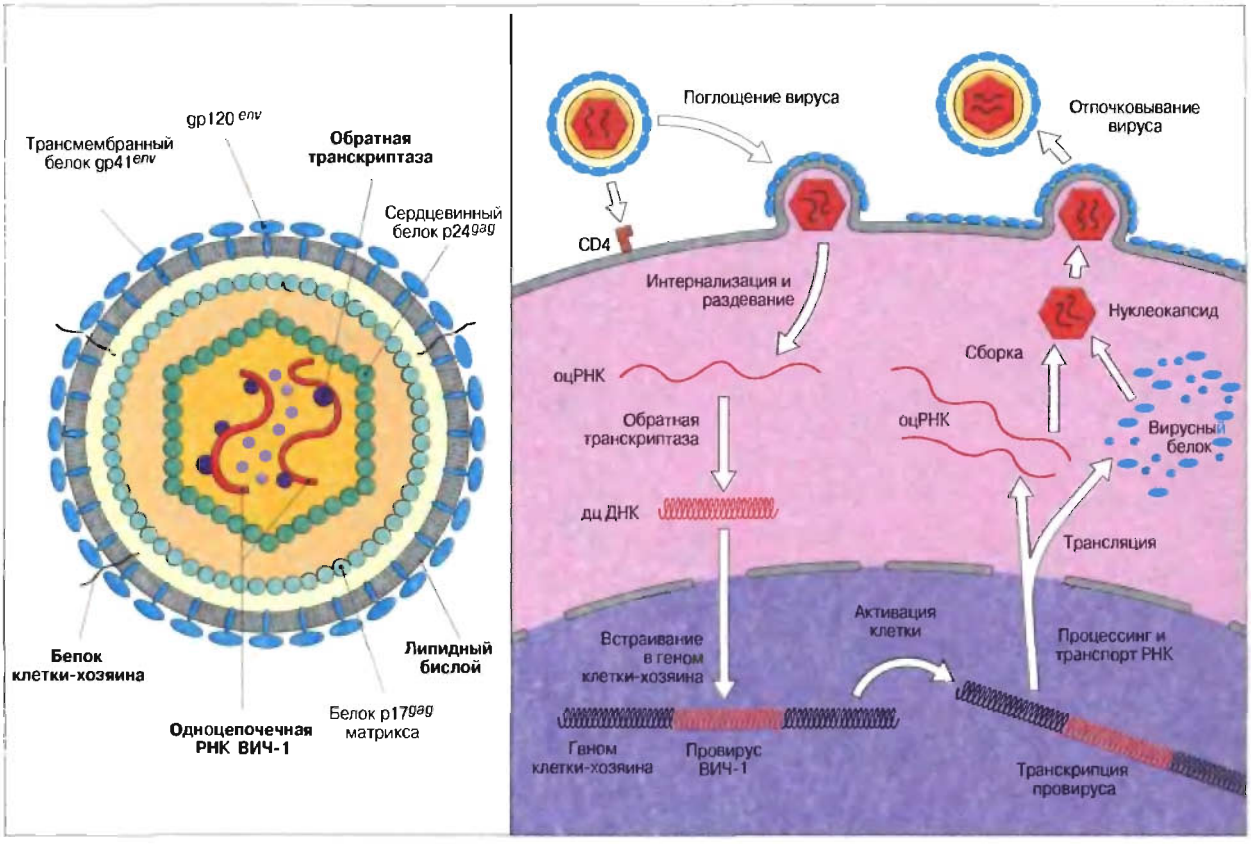


Рис. 22.4
После раздевания вириона вирусная одноцепочечная РНК (оцРНК) транскрибируется с участием обратной транскриптазы в двухцепочечную ДНК (дцДНК). При участии вирусного фермента интегразы эта ДНК встраивается в геном клетки-хозяина как провирус ВИЧ. Активация клетки ведет к транскрипции ДНК с образованием вирусной мРНК и последующему синтезу белков, формирующих структуру вирусной частицы. После сборки вирусные частицы высвобождаются путем отпочковывания от клетки; затем происходит дальнейшее формирование их структуры (оно включает расщепление крупного сердцевинного белка-предшественника на небольшие белковые компоненты при участии вирусных протеаз) с образованием зрелых вирионов.

вация с появлением В-лимфоцитов, невосприимчивых к действию Т-независимых В-клеточных активаторов, возрастает образование аутоантител и иммунных комплексов.

Результаты модельных опытов по определению реакции вируса и Т-клеток $CD4^+$, содержащихся в плазме крови, на антивирусную терапию показали, что среднее время полужизни вируса и инфицированных клеток в циркуляции составляет менее 2 сут. Ежедневно из инфицированных клеток высвобождаются 10^9–10^{10} вирусных частиц и сходное число новых клеток подвергается инфицированию и погибает.

Клиническое течение заболевания

Первичная ВИЧ-инфекция может сопровождаться кратковременными расстройствами, напоминающими инфекционный мононуклеоз, с недомоганием, мышечными болями, припухлостью лимфатических узлов, фарингитом и сыпью. Происходит временное уменьшение числа периферических Т-клеток $CD4^+$, повышение содержания Т-лимфоцитов $CD8^+$ и содержания ВИЧ в плазме крови (*рис. 22.5*). С помощью иммуноферментного метода в период от 2 до 6 нед после инфицирования удается обнаружить антитела к сердцевинному и оболочечному белкам

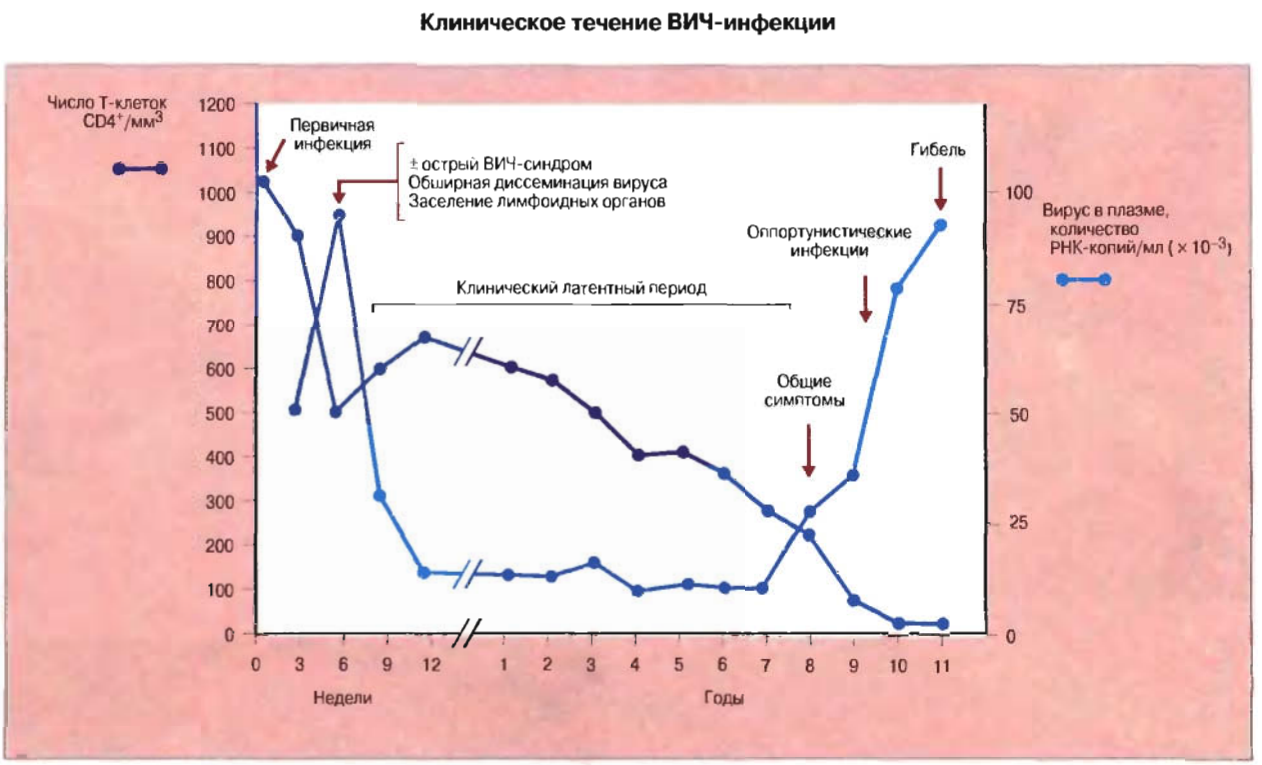


Рис. 22.5
Типичное течение ВИЧ-инфекции. (Рисунок любезно предоставлен д-ром A.S. Fauci; из работы Pantaleo G., Graziosic. 1993. *N. Engl. J. Med.* **328**: 327–35, изменено с разрешения.)

вируса. Хроническая инфекция не сопровождается клиническими проявлениями, однако примерно 33% больных имеют увеличенные лимфатические узлы. У половины инфицированных в течение 9–10 лет развивается СПИД.

На поздних стадиях заболевания отмечаются неспецифические симптомы общего характера: лихорадка, ночная потливость, диарея и потеря веса наряду с «минорными» явлениями, главным образом со стороны слизистых оболочек и кожи; например, у больных может возникать кандидоз ротовой полости (молочница), опоясывающий лишай, герпетические поражения (вирус простого герпеса) аноректальной области и различные кожные инфекции. Часто эти расстройства служат предвестниками развития тяжелых оппортунистических инфекций и опухолей, которое и представляет собой собственно СПИД. К этому времени число Т-клеток $CD4^+$ обычно становится меньше 200/мкл (*рис. 22.5*).

Наиболее часто встречающимся видом новообразований при СПИДе является саркома Капоши – многоочаговая опухоль эндотелиального происхождения (*рис. 22.6*). Широко распространяясь, опухоль поражает кожу, слизистые оболочки, внутренние органы (кишечник и легкие) и лимфатические узлы. С развитием опухоли ассоциирована инфекция, возбудителем которой является вирус герпеса человека 8, HHV8 (human herpes virus 8). Описано также возникновение у больных СПИДом В-клеточных лимфом, поражающих головной мозг, кишечник и костный мозг.

Оппортунистические инфекции развиваются большей частью в результате реактивации микробов, присутствующих в организме в латентном состоянии, и в некоторых случаях вследствие инфицирования микроорганизмами из внешней среды, с которыми человек постоянно контактирует. Эти инфекции трудно диагностировать, и лечение часто лишь подавляет их проявления, не приводя к полному выздоровлению. Для них характерно возникновение рецидивов, что делает необходимым проведение постоянной супрес-



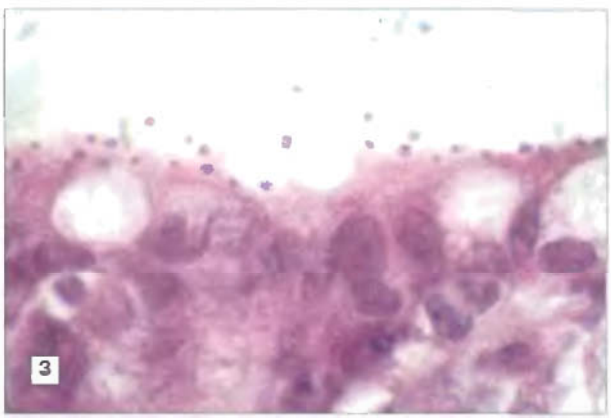
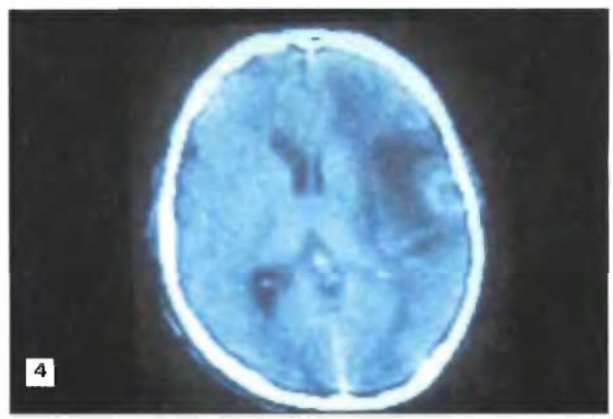



Рис. 22.6
Патологические проявления, характерные для СПИДа. **1.** Множественные очаги саркомы Капоши на поверхности груди и живота. **2.** Рентгенограмма грудной клетки больного пневмонией, вызванной *Pneumocystis carinii*. Видно двустороннее интерстициальное затемнение. **3.** Небольшой биоптат кишечника больного диареей, вызванной *Cryptosporidium*. На поверхности слизистой оболочки видны промежуточные формы криптоспоридий (небольшие розовые пятна). **4.** Сканограмма, полученная с помощью компьютерной томографии головы больного церебральным токсоплазмозом. Клинически расстройство проявлялось в судорогах и слабости левых руки и ноги. Инъекция контрастирующего вещества выявила в правом полушарии кольцевидный очаг поражения с отеком вокруг него (темная зона).

сивной или поддерживающей терапии; при этом применяются лекарственные препараты, опасные из-за своих побочных эффектов.

Главными объектами поражения при СПИДе являются три системы: дыхательная, пищеварительная и нервная. Обычная оппортунистическая инфекция при СПИДе – пневмония, и чаще всего ее вызывает *Pneumocystis carinii* (*рис. 22.6*). Однако возбудителями заболеваний легких могут быть и другие бактерии, включая *Mycobacterium*

tuberculosis, а также грибы. Причиной расстройства глотания обычно является кандидоз (молочница), и, кроме того, возможны язвенные поражения пищевода, вызываемые цитомегаловирусом. У больных с потерей веса, страдающих диареей, чаще всего могут быть выделены патогенные простейшие (*Cryptosporidium* и микроспоридии) (*рис. 22.6*), однако обнаруживаются также и энтеробактерии – *Salmonella* и *Campylobacter*.

Неврологические осложнения СПИДа обусловлены либо прямым действием на нервную систему ВИЧ и возбудителей оппортунистических инфекций, либо развитием лимфомы. Связанная со СПИДом деменция, первоначально диагностируемая у 10–20% больных с другими проявлениями СПИДа, теперь возникает реже благодаря применению более эффективных методов антивирусной терапии. Встречаются также заболевания спинного мозга и периферических нервов. Токсоплазмоз (протозойная инфекция) вызывает образование кист в головном мозге и расстройства неврологических функций (*рис. 22.6*). Гриб *Cryptococcus neoformans* может вызывать менингит. Ряд поражений нервной системы возникает под влиянием других инфекционных агентов: цитомегаловирус вызывает воспаление сетчатки, головного и спинного мозга и спинномозговых корешков, вирус полиомы (JC-вирус), который инфицирует олигодендроциты в головном мозге, – возникновение быстро прогрессирующего летального демиелинизирующего заболевания – лейкоэнцефалопатии.

Противовирусная терапия

В 1987 г. для лечения ВИЧ-инфекции был предложен зидовудин (AZT), первый из полученных нуклеозидных аналогов – ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ). С того времени были достигнуты значительные успехи в разработке и применении других НИОТ, а также ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) и ингибиторов протеаз (см. *рис. 22.4*).

Монотерапия зидовудином на поздних стадиях заболевания снижает смертность в ближайшие сроки после начала лечения и задерживает прогрессирование болезни. Будучи применен в ранний период инфекции, этот препарат дает слабый и преходящий клинический эффект и не повышает выживаемость. В связи с этим были применены комбинации двух или большего числа терапевтических агентов в расчете на их аддитивный или синергичный эффект, а также с целью задержать развитие лекарственной резистентности; такую задержку может обеспечивать снижение частоты мутаций RT-гена или же возникновение обратных мутаций, которые могут приводить к утрате резистентности или делать вирус менее компетентным. Комбинация двух НИОТ снижала скорость прогрессирования СПИДа и смертность от него примерно на 40% в интервале от 1 до 3 лет по сравнению с монотерапией. Оказалось также клинически эффективным сочетанное применение НИОТ и ингибиторов протеаз. Использование других комбинаций, в состав которых входят и НИОТ, и ННИОТ, и ингибиторы протеаз, дает многообещающий противовирусный эффект вместе с резким кратковременным увеличением числа Т-клеток $CD4^+$ – дополнительный фактор, улучшающий клиническое течение заболевания.

Остается неясным вопрос об оптимальном сроке начала терапии, однако большинство врачей считает, что лечение нужно начинать тогда, когда при повторном определении содержания $CD4^+$-клеток их число оказывается сниженным до 200–400/мл, а также во всех случаях, когда у больных возникают симптомы заболевания. Ориентиром может также быть уровень вирусной РНК в сыворотке крови. Необходимо указать, что даже монотерапия относится к дорогостоящим способам лечения, и это создает трудности для лечения больных СПИДом в развивающихся странах. Поскольку в настоящее время не имеется средств, излечивающих СПИД полностью, как нет и вакцины против этой инфекции, главным оружием в борьбе со СПИДом может быть профилактика, т. е. пропаганда здорового образа жизни и контроль за распространением инфекции.

Вопросы для размышления

- Почему антимитотические лекарственные препараты должны обладать иммуносупрессивными свойствами?
- Какой эффект, по вашему мнению, должно давать комбинированное применение циклоспорина и рапамицина: неаддитивный, аддитивный или синергичный?
- Представьте, что вы являетесь главой округа в одной из развивающихся стран с ограниченными бюджетными средствами. Какие мероприятия по снижению заболеваемости инфекционными болезнями вы стали бы финансировать в первую очередь?
- Каковы последствия быстрого мутирования РНК-вирусов, например ВИЧ?
- Предположим, что можно трансфицировать клетки антисмысловым нуклеозидом, включающимся в мРНК регуляторных белков ВИЧ. Какие клетки вы избрали бы в качестве мишени трансфекции, чтобы получить максимальный терапевтический эффект для данного больного?
- Какие элементы питания, назначаемые для приема в умеренно избыточном количестве, могут усиливать иммунитет?
- Каковы наиболее характерные изменения иммунной системы при белково-калорической недостаточности?
- Представьте, что вы лечите тяжелобольных и стариков; какая диета улучшит их состояние и снизит тяжесть инфекции?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Chandra R.K. (ed). 1992. *Nutrition and Immunology*. St John's NF, Canada ARTS Biomedical.

Chandra R.K. 1996. Nutrition, immunity and infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 14304–307.

Chandra R.K. 1997. Graying of the immune system. Can nutrient supplements improve immunity in the elderly? *JAMA* **277**: 1898–99.

Gershwin M.E., Beach R.S. Hurley L.S. 1984. *Nutrition and Immunity*. New York: Academic Press.

Гиперчувствительность – тип I

23

- **У лиц, страдающих атопией/аллергией,** при контакте с безвредными в норме антигенами (аллергенами) окружающей среды, например с цветочной пыльцой, перхотью животных и клещами домашней пыли, вырабатывается IgE.
- **IgE связывается специфическими рецепторами** (FcεRI) **тучных клеток.** При взаимодействии связанного IgE с аллергеном тучные клетки выделяют медиаторы (аутокоиды, цитокины), которые и вызывают клинические симптомы аллергии.
- **Типичные примеры аллергических реакций** – сенная лихорадка, астма, атопическая экзема, лекарственная аллергия и анафилаксия. Для их лечения применяют антигистаминные препараты, бронхорасширяющие препараты, адреналин, кортикостероиды и специфические иммунотерапевтические средства.
- **Эпидемиология семейных случаев аллергии** и особенно анализ конкордантности среди близнецов показывают, что продукция IgE обусловлена генетической предрасположенностью к иммунному ответу на аллерген с участием Тх2-клеток и ИЛ-4.
- **Факторы окружающей среды,** такие как аллергенный фон, вирусные инфекции и загрязнение, модифицируют и усиливают IgE-ответ и клинические симптомы.
- **В процессе эволюции антитела класса IgE появились, возможно, для защиты организма от гельминтов.** Продукцию IgE в ответ на аллергены с последующим развитием аллергической реакции можно рассматривать как нежелательный побочный эффект.

Гиперчувствительностью называют чрезмерное или неадекватное проявление реакций приобретенного иммунитета. В основе гиперчувствительности лежит полезный в норме для организма иммунный ответ, но в данном случае действующий неадекватно, иногда с развитием воспаления и повреждением тканей. Реакции гиперчувствительности могут провоцироваться многими антигенами, и причины их у разных людей различны. Гиперчувствительность проявляется не при первом, а, как правило, лишь при последующих контактах с антигеном. Кумбсом и Джеллом (Coombs, Gell) выделены четыре типа гиперчувствительности (типы I, II, III, и IV), но на практике они необязательно встречаются порознь. Реакции первых трех типов опосредуются антителами; реакции четвертого – преимущественно Т-клетками и макрофагами.

Гиперчувствительность I (немедленного) типа развивается в том случае, когда IgE-ответ направлен против в норме безвредных антигенов внешней среды, таких как цветочная пыльца, клещи домашней пыли или перхоть животных. Сенсибилизированные IgE тучные клетки выделяют при этом биологически активные медиаторы, которые вызывают острую воспалительную реакцию с симптомами астмы или ринита. Гиперчувствительность II типа, называемая также антителозависимой цитотоксической, возникает, когда антитела, обычно класса IgG, связываются на поверхности клеток с ауто- или чужеродным антигеном, вызывая в результате фагоцитоз, активацию киллерных клеток или комплемент-опосредованный лизис (см. гл. 24). Гиперчувствительность III типа развивается при образовании большого количества иммунных комплексов или при нарушении их элиминации ретикулоэндотелиальной системой; обе эти причины вызывают реакции наподобие сывороточной болезни (см. гл. 25). Гиперчувствительность IV, или замедленного, типа (ГЗТ) наиболее резко проявляется в тех случаях, когда макрофаги поглощают чужеродный материал (например, возбудителей туберкулеза), но не способны его элиминировать. При этом происходит стимуляция синтеза Т-клетками цитокинов, вызывающих различные воспалительные реакции. Другими проявлениями реакций ГЗТ являются отторжение трансплантата и аллергический контактный дерматит (см. гл. 26). Перечисленные четыре типа реакций гиперчувствительности проиллюстрированы *рис. 23.1.*

Четыре типа реакций гиперчувствительности

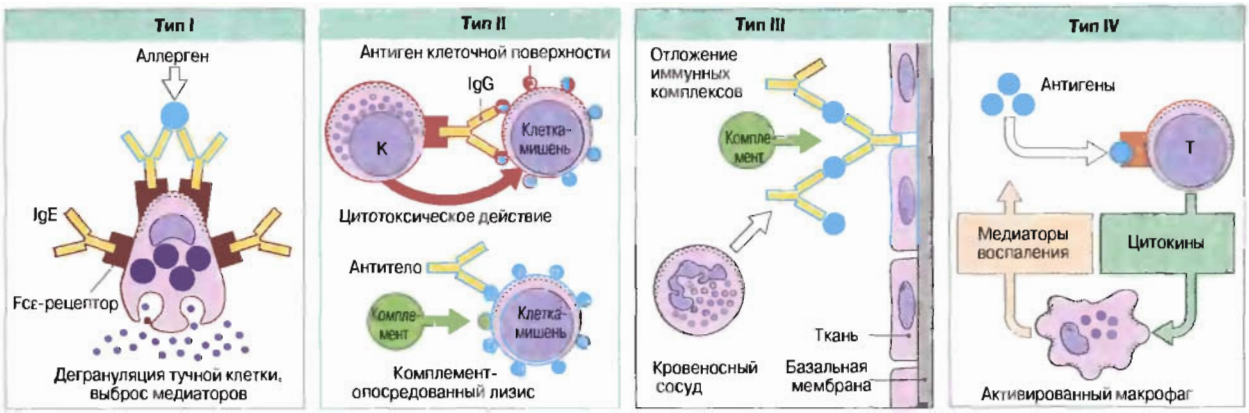


Рис. 23.1
Существует четыре типа реакций гиперчувствительности. Тип I характеризуется связыванием IgE с Fc-рецепторами тучных клеток. При контакте с аллергеном происходит перекрестное связывание IgE; оно вызывает дегрануляцию тучных клеток и высвобождение ими медиаторов аллергических реакций. При гиперчувствительности II типа вырабатываются антитела к антигену поверхности собственных клеток организма (клеток-мишеней) или к чужеродному антигену, например эритроцитов при переливании крови. Связывание таких антител на клетках-мишенях может вызывать цитотоксический эффект K-клеток или комплемент-опосредованный лизис клеток-мишеней. Гиперчувствительность III типа обусловлена отложением в тканях иммунных комплексов. При этом происходит активация комплемента и в месте отложения комплексов накапливаются полиморфноядерные клетки, вызывая локальное повреждение тканей и воспаление. Гиперчувствительность IV типа связана с тем, что сенсибилизированные антигеном T-клетки при повторной встрече с тем же антигеном выделяют цитокины. Цитокины вызывают воспалительные реакции, а также активируют и привлекают макрофаги, которые высвобождают медиаторы воспаления.

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ I (НЕМЕДЛЕННОГО) ТИПА

Гиперчувствительность I типа характеризуется аллергической реакцией (*рис. 23.2*), развивающейся сразу же после контакта с антигеном, который в данном случае называют аллергеном. Термин «аллергия», означающий измененную реактивность организма-хозяина при его повторных встречах с «агентом», впервые был предложен в 1906 г. фон Пирке (Pirquet) (без разделения развивающихся при этом иммунологических реакций по типам). Синонимом для обозначения гиперчувствительности I типа термин аллергия стал лишь в последние годы.

Атопия – общий термин, объединяющий астму, экзему, сенную лихорадку и пищевую аллергию

Термин «атопия» впервые был использован Кока и Куком (Coca, Cooke) в 1923 г. для описания клинических проявлений гиперчувствительности I типа, включая астму, экзему, сенную лихорадку, крапивницу и пищевую аллергию. Эти симптомы обычно наблюдаются у лиц с семейным анамнезом таких же или сходных заболеваний, а также у тех, кто сразу реагирует на обычные аллергены внешней среды покраснением кожи и появлением на ней волдырей.

Выше уже отмечалось сходство анафилаксии у животных, описанной Портье и Рише (Portier, Richet) в 1902 г., с сенной лихорадкой и астмой у человека. Однако у животных введение чужеродных белков или токсинов приводит к образованию преципитирующих антител в 90% случаев, тогда как у человека после воздействия присутствующих в воздухе аллергенов сенсибилизация наблюдается лишь в 10–20% случаев. Другое существенное различие заключается в том, что аллергия у человека, но не анафилаксия у животных (насколько известно), тесно связана с наследственностью. Таким образом, исходные механизмы аллергических реакций у животных и атопии у человека, по-видимому, различны.



Рис. 23.2
Анафилактическая реакция на пчелиный яд. Немедленная реакция является наглядным примером гиперчувствительности I типа, обусловленной высвобождением из тучных клеток биологически активных медиаторов, в том числе гистамина. Показана локальная реакция на укус пчелы в области глаза. При попадании аллергена в организм не через дыхательные пути, а непосредственно в кровь, реакция может принимать характер генерализованной анафилаксии и даже быть смертельной. Реакцию может усиливать присутствующий в яде меллитин, который вызывает дегрануляцию тучных клеток по механизму, не связанному с иммунной системой.

Аллергия опосредуется иммуноглобулинами Е

Механизм аллергической реакции первыми описали Прауснитц и Кюстнер (Prausnitz, Kustner) в 1921 г. Эти исследователи провели следующий эксперимент: сыворотку крови Кюстнера (он страдал аллергией к рыбе) ввели подкожно Прауснитцу. При последующем введении рыбьего антигена в тот же участок кожи у Прауснитца сразу же появилась гиперемия с волдырями. [Это напоминает ПКА-тест (пассивная кожная анафилаксия), применяемый для оценки продукции IgE у экспериментальных животных.] Прауснитц и Кюстнер предположили, что в сыворотке страдающих аллергией лиц присутствует «атопический реагин». Спустя примерно 45 лет Исицака (Ishizaka) с сотрудниками выделили этот «атопический реагин» и продемонстрировали, что он представляет собой иммуноглобулин нового класса – IgE.

Реакции гиперчувствительности I типа развиваются вследствие активации IgE-сенсибилизированных тучных клеток аллергеном

Реакции гиперчувствительности I типа обусловлены активацией специфическим аллергеном тучных клеток, сенсибилизированных IgE. Тучные клетки выделяют при этом биологически активные медиаторы, которые и вызывают воспалительный ответ, типичный для такого рода реакций (*рис. 23.3*).

Согласно новейшим данным, в результате IgE-активации тучных клеток выделяется и ряд многофункциональных цитокинов. При этом ИЛ-3 и ИЛ-4 могут оказывать сильный аутокринный эффект на сами тучные клетки, другие цитокины – способствовать продукции IgE В-клетками. Кроме того, некоторые цитокины, в том числе ИЛ-5 и продукты семейств генов ИЛ-8 и ИЛ-9, могут принимать участие в хемотаксисе и активации клеток зоны воспаления в участке аллергической реакции. Важно отметить, однако, что роль цитокинов, выделяемых тучными клетками in vitro, до конца не установлена.

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ Е

Первоначальный контакт аллергена со слизистой оболочкой вызывает сложную последовательность событий, приводящих к продукции IgE. Этот IgE-ответ возникает локально, в участке проникновения аллергена в организм, т. е. на слизистых оболочках и/или в регионарных лимфоузлах. Продукция В-клетками IgE зависит от презентации аллергена АПК и кооперации между В- и Тх2-клетками (см. *рис. 23.3*). Местно продуцируемые IgE вначале сенсибилизируют только местные тучные клетки, но затем проникают в кровь и связываются со специфическими рецепторами циркулирующих базофилов и тканевых тучных клеток во всем организме.

Важное свойство IgE – высокая аффинность к Fc-участкам рецепторов тучных клеток и базофилов. И хотя период полужизни свободных IgE в сыворотке составляет всего несколько суток, тучные клетки могут оставаться сенсибилизированными IgE в течение многих месяцев благодаря высокой аффинности связывания этих иммуноглобулинов с рецепторами FcεRI, которые защищают IgE от разрушения сывороточными протеазами. (FcεRII обладает гораздо меньшим сродством к IgE). Это было показано изящными экспериментами Стенворта (Stanworth), который

Индукция и эффекторные механизмы гиперчувствительности I типа

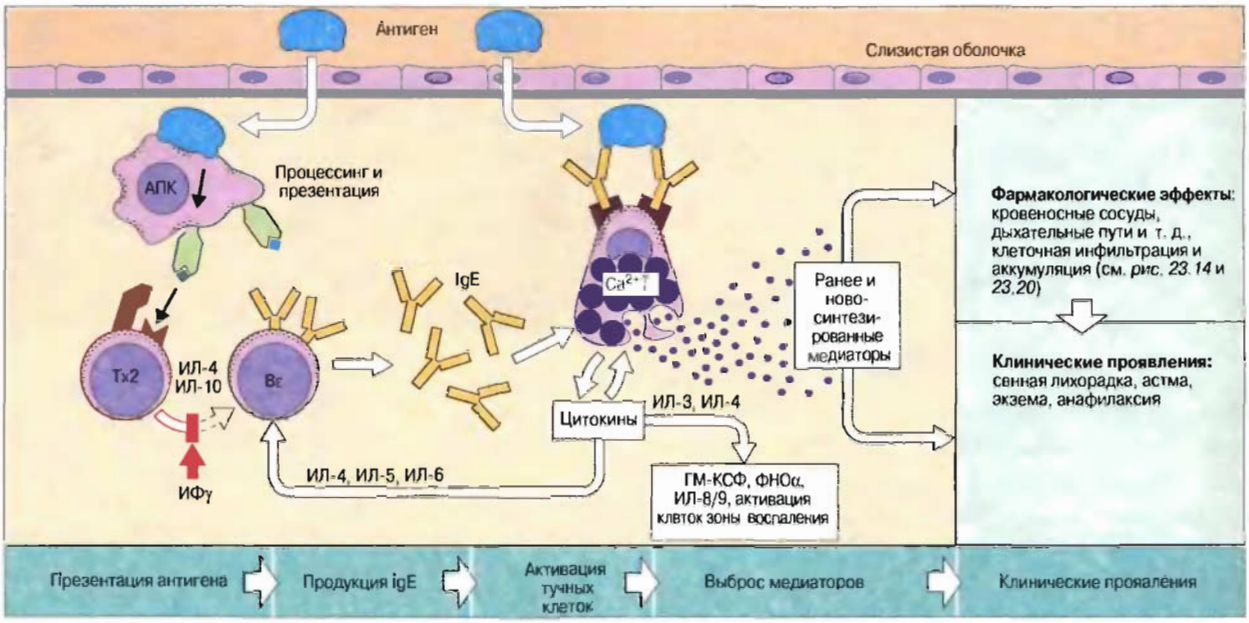


Рис. 23.3
Безвредные в норме антигены внешней среды (аллергены) проникают через слизистые оболочки и поглощаются местными антигенпрезентирующими клетками (АПК), которые осуществляют их процессинг и презентацию Тх-клеткам. Тх2-клетки секретируют цитокины, вызывающие пролиферацию В-клеток и способствующие развитию аллерген-специфической IgE-реакции. Антитела IgE связываются с Fcε-рецепторами (FcεRI) тучных клеток, тем самым сенсибилизируя их. При повторной встрече аллергена с сенсибилизированной тучной клеткой он перекрестно связывается с фиксированными на ее поверхности IgE, что приводит к повышению внутриклеточной концентрации Ca^{2+}. В результате клетка выделяет ранее синтезированные медиаторы, такие как гистамин и протеазы, а также новосинтезированные медиаторы липидной природы – лейкотриены и простагландины. Эти аутокоиды и обусловливают развитие клинических симптомов аллергии.
Дегранулированные тучные клетки выделяют также цитокины, усиливающие воспалительную реакцию и IgE-ответ.

вводил сыворотку страдающего атопией человека в двенадцать разных участков кожи собственной руки, а затем каждую неделю на протяжении трех месяцев повторно вводил специфический аллерген всякий раз в новые сенсибилизированные участки кожи. При введении аллергена в последний участок на нем все еще развивалась гиперемическая реакция с волдырями. Иными словами, даже через три месяца после сенсибилизации с местными тучными клетками кожи оставалось связанным достаточное для возникновения реакции количество IgE.

Аллергические заболевания сопровождаются повышением уровня IgE

При аллергических заболеваниях содержание IgE в сыворотке крови часто повышено; особенно значительное его возрастание отмечается при паразитарных инвазиях. В случае симптомов атопии у детей и взрослых повышенный уровень IgE имеет диагностическое значение, хотя нормальное его содержание не исключает атопии (*рис. 23.4*). Следует отметить, что сам по себе уровень IgE не служит показателем аллергического состояния, поскольку важную роль в возникновении клинических симптомов играют также генетические и средовые факторы. Тем не менее очень высокий уровень IgE в отсутствие признаков гельминтоза с высокой вероятностью указывает на аллергию.

При обследовании крупных групп населения число лиц с положительными кожными пробами намного превышает количество тех, у кого действительно имеются симптомы атопии. Недавно установлено, что положительные кожные реак-

Уровень IgE и атопия

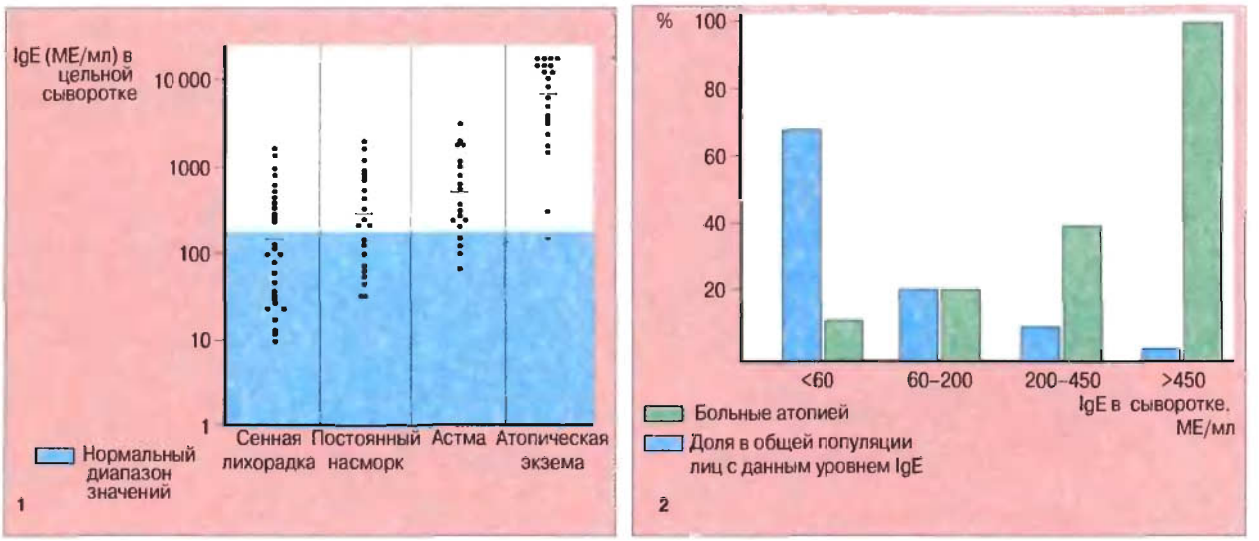


Рис. 23.4

1. В норме концентрация IgE в сыворотке (примерно 100 МЕ/мл) в 10^5 раз ниже уровня IgG (около 10 мг/мл) и составляет менее 0,001% общего уровня иммуноглобулинов. У лиц с атопией содержание IgE обычно возрастает, что особенно очевидно при атопической экземе. (1 МЕ = 2 нг). **2.** Относительное количество лиц с повышенным уровнем IgE в популяции тем меньше, чем выше рассматриваемое значение концентрации этого иммуноглобулина, но вероятность атопии среди них в этом ряду возрастает. Среди тех, у кого содержание IgE превышает 450 МЕ/мл, атопия имеет место уже в большинстве случаев.

ции на один или несколько обычных аллергенов имеются почти у 30% лиц из случайной выборки в 5000 человек. Таким образом, у этих людей специфический IgE вырабатывается, но отсутствует некий фактор (фактор X, см. *рис. 23.27*), обусловливающий клинические симптомы атопии.

Продукцию IgE регулируют хелперные Т-клетки

Указания на регуляторную роль «супрессорных» Т-клеток в ранних исследованиях

Исследования в лаборатории Тада (Tada), проведенные на крысах в начале 1970-х гг., четко продемонстрировали регуляторную роль Т-клеток в продукции IgE. У животных, иммунизированных антигенным препаратом ДНФ–*Ascaris* (с *Bordetella pertussis* в качестве адъюванта), титры IgE возрастали, достигая пика через 5–10 сут, а в течение последующих 6 нед постепенно нормализовывались. Если же крыс вначале тимэктомировали или облучали, IgE-ответ был более выраженным и продолжительным. Когда на стадии усиленной продукции IgE тимэктомированным животным вводили тимоциты или клетки селезенки крыс, примированных антигенным препаратом *Ascaris*, продукция IgE уменьшалась (*рис. 23.5*). Супрессию IgE-ответа эти исследователи рассматривали как следствие активности супрессорных Т-клеток, присутствующих во вводимых клеточных препаратах; тимэктомия или облучение, очевидно, снижали эту активность. Перенос клеток не отражался на уровнях IgG и IgM у реципиентов, что свидетельствовало об особенно высокой чувствительности именно IgE-ответа к действию гипотетических супрессорных Т-клеток.

Как показали другие эксперименты, тимэктомия в неонатальном возрасте полностью лишает крыс способности продуцировать IgE в ответ на введение антигенного препарата ДНФ–*Ascaris*, что свидетельствует о необходимости Тх-клеток для индукции этой реакции. При некоторых клинических состояниях обнаруживается обратная корреляция между количеством супрессорных Т-клеток и уровнем IgE, указывающая на значение Т-клеточной регуляции для синтеза IgE и у человека.

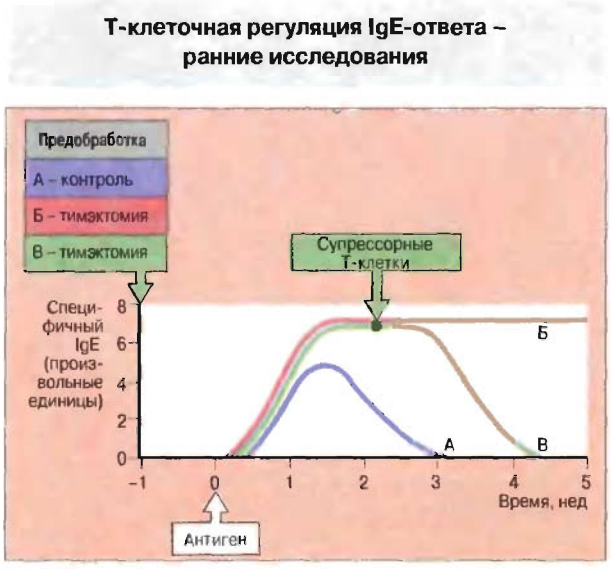


Рис. 23.5
IgE-ответ регулируется как Т-хелперами (Тх), так и Т-супрессорами (Тс). Этот эксперимент проводили на трех группах крыс: контрольной (А), не подвергавшейся какому-либо воздействию в течение недели перед введением антигена, и двух опытных (Б и В), в которых крысам перед иммунизацией удаляли тимус. После введения антигена у животных периодически определяли уровни IgE. В контроле иммунизация антигеном приводила к временному повышению содержания антигенспецифичного IgE. Тимэктомия (или облучение) обусловливала более длительный ответ (Б), который можно было сократить введением стимулированных антигеном клеток селезенки, содержащей Тс (В). У крыс, тимэктомированных в неонатальном возрасте, IgE-ответ вообще отсутствовал, что указывает на необходимость Тх-клеток для его развития.

Супрессивный эффект осуществляют Тх1-клетки

В настоящее время известно, что за описанную Тада регуляцию синтеза IgE ответственны субпопуляции Тх-клеток, выделяющих специфические цитокины. Клеточные и молекулярные механизмы такой регуляции показаны на *рис. 23.6*. Следует обратить внимание на то, что цитокины, продуцируемые Тх2-клетками (ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9 и ИЛ-13), кодирует кластер генов, расположенный у человека в хромосоме 5, а у крысы – в хромосоме 13.

Важная роль этих цитокинов in vivo была установлена на мышах, у которых нейтрализующие антитела к ИЛ-4 или введение ИФγ ингибировали IgE-ответ. Точно так же трансгенные мыши, гомозиготные по мутации, инактивирующей ген ИЛ-4, неспособны продуцировать IgE при заражении нематодами. У больных с гипер-IgE-синдромом введение ИФα (он вызывает меньше побочных эффектов, чем ИФγ) также приводит к снижению уровня IgE в сыворотке. Молекулярные механизмы, посредством которых ИЛ-4/ИЛ-13 переключают В-клетки на синтез IgE, остаются неизвестными.

Следует отметить, что Тх2-клетки продуцируют также ИЛ-5, который стимулирует синтез и секрецию В-клетками IgA, а также играет важную роль в созревании и выживании эозинофилов в очагах воспаления. Этим может объясняться эозинофилия, столь часто сопровождающая опосредованные IgE аллергические реакции (см. также рис. *23.20–23.22*). Очевидно, полезной стратегией терапии IgE-опосредуемых заболеваний могло бы стать воздействие, направленное на изменение состава продуцируемых цитокинов или их эффектов.

ГЕНЕТИКА АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У ЧЕЛОВЕКА

В 1920-е гг. было установлено, что дети страдающих аллергией родителей чаще обнаруживают аллергические реакции, чем дети здоровых родителей. Действительно, если аллергией страдают оба родителя, вероятность ее возникновения у детей составляет 50%, если один из родителей – примерно 30%. Таким образом, наличие аллергии у родителей является фактором риска в отношении атопии. Однако исследования близнецов показывают, что развитие атопических заболеваний не полностью зависит от генетических факторов (*рис. 23.7*).

Существенным образом возникновение аллергии связано с различными факторами внешней среды, такими как степень воздействия аллергена, питание и хронические инфекции либо острые вирусные заболевания. Что касается степени воздействия, то доза загрязнений воздуха, приходящаяся в год на 1 человека, составляет примерно 1 мкг. Следует, вероятно, удивляться тому, что около 30% населения реагируют на столь низкую дозу загрязняющих воздушную среду химических соединений.

Генетические механизмы регулируют три аспекта аллергической реакции:

- общий уровень IgE,
- специфичность реакции на определенный аллерген и
- генерализованную гиперчувствительность.

Регуляция IgE-ответа цитокинами

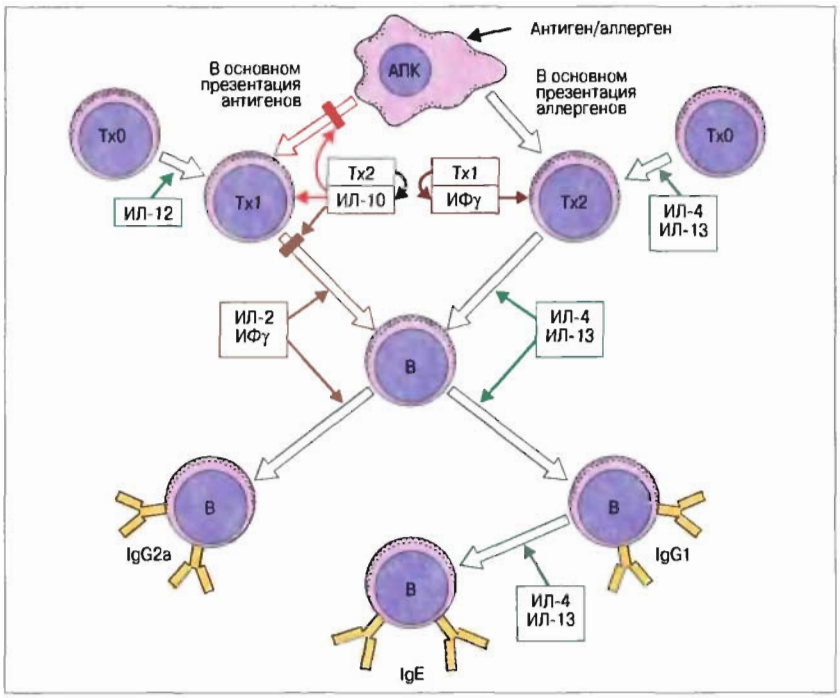


Рис. 23.6
Образование той или иной субпопуляции Т-клеток из Тх0-клеток и соответственно судьба В-клеток определяются присутствием тех или иных цитокинов. Так, преобладание в среде цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-13 способствует образованию Тх2-клеток и переключению В-клеток на продукцию IgE. Цитокин ИЛ-10, продуцируемый Тх2-клетками, ингибирует Тх1-ответ, влияя на АПК, и усиливает зависимость ответа от Тх2. Таким образом, именно Тх2-ответ способствует продукции IgE в ответ на аллергены. Напротив, Тх1-ответу на типичные антигены, например на столбнячный анатоксин, способствует продукция ИФγ, ИЛ-2 и ИЛ-12, которые одновременно подавляют образование Тх2-клеток. Тх1-ответ стимулирует продукцию IgG и формирование Т-клеточного иммунитета.

Роль наследственности и факторов внешней среды при атопии

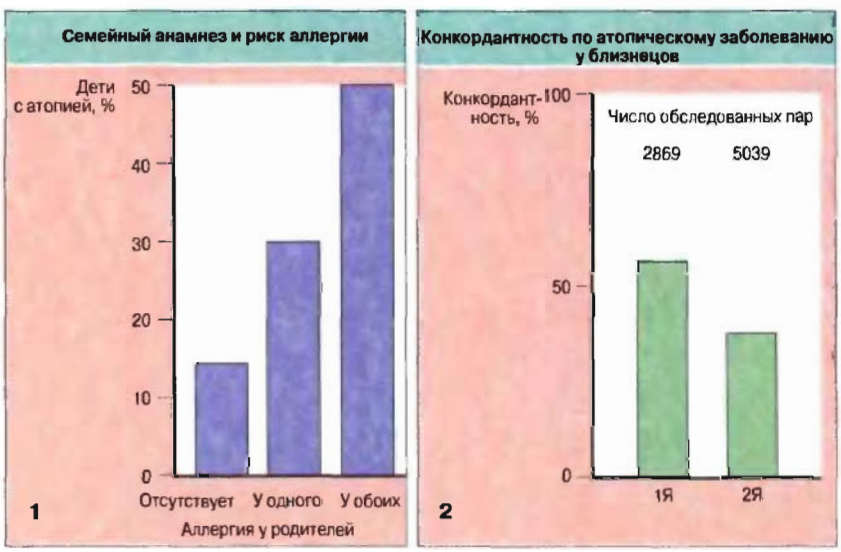


Рис. 23.7
1. У лиц с аллергией в семейном анамнезе очень часто имеет место атопия. Как показывают крупномасштабные исследования, чем больше случаев аллергии в роду, тем больше вероятность атопии у детей. **2.** Конкордантность по атопическим заболеваниям у двуяйцевых (2Я, неидентичных) близнецов выше, чем в общей популяции (приблизительно 30%). Однако конкордатность у однояйцевых (1Я, идентичных) близнецов намного ниже 100 % – вероятности, которой следовало бы ожидать, если бы развитие атопии определял только генотип. Эти два факта свидетельствуют о том, что проявление атопического заболевания зависит как от генетических, так и от средовых факторов.

Общий уровень IgE определяется генетическими факторами

Обследование семей и близнецов ясно показывает, что общий уровень IgE в организме определяется генетическими факторами. Поскольку IgE-ответу благоприятствуют Тх2-клетки и выделяемые ими цитокины, имеет, вероятно, смысл искать связь между генетическими маркерами в области «кластера генов ИЛ-4» и общим уровнем, а также содержанием специфичных IgE. Группа Марша (Marsh) провела соответствующие исследования и подтвердила существование такой связи. Эти авторы продемонстрировали, что ИЛ-4 и/или продукты других генов данного участка длинного плеча хромосомы 5 регулируют общий уровень (но не содержание специфичных) IgE. Примечательно, что другие участки длинного плеча хромосомы 5 могут также играть роль в регуляции гиперчувствительности бронхов, контролируя ген β_2-адренорецептора. Кроме того, установлено, что потенциальный маркер астмы и атопической чувствительности локализован в хромосоме 11q.13. Этот маркер ассоциирован, по-видимому, с полиморфизмом β-цепи FcεRI.

ГЕНЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ АЛЛЕРГЕНСПЕЦИФИЧНЫЙ ОТВЕТ, СЦЕПЛЕНЫ С HLA

Основную регуляцию аллергенспецифичного IgE-ответа осуществляют, по-видимому, сцепленные с HLA гены иммунного ответа (IR). Это наиболее очевидно для ответа на очень низкие дозы аллергенов, в частности минорных детерминант с малой молекулярной массой. Например, более 90% лиц, реагирующих повышением уровня IgE на аллерген амброзии *Amb a* V (5 кДа), являются носителями HLA-Dw2 (*рис. 23.8*). Для IgE-ответа на более крупный и присутствующий в бóльших количествах аллерген *Amb a* I (38 кДа) данных об ассоциации с HLA не имеется.

Образование антител класса IgE и кожные реакции гиперчувствительности немедленного типа в большей степени ассоциированы с HLA, чем образование антител класса IgG. Однако после гипосенсибилизации к аллергенам амброзии выраженный IgG-ответ наблюдается только у лиц с генотипом HLA-Dw2, *Amb a* V^+; это показывает, что иммунный ответ на *Amb a* V не ограничен образованием IgE, но связан и с другими классами иммуноглобулинов.

Наконец, еще более тесная связь между аллергией и типом HLA отмечается при низком уровне IgE. Например, среди лиц с аллергией на амброзию только один из шести реагирует на минорную детерминанту *Amb a* III, а среди реагирующих на нее лиц с низким общим уровнем IgE 90% оказываются носителями HLA-A2 (*рис. 23.9*). С увеличением общего уровня IgE ассоциация с HLA снижается.

Общая и специфическая гиперчувствительность ассоциирована с HLA

Общей гиперчувствительность считают в том случае, если результаты кожных проб положительны для широкого спектра аллергенов. Исследования показывают, что лица с общей гиперчувствительностью с большей частотой, чем здоровые индивиды, являются носителями генотипов HLA-B8 и HLA-Dw3 (но не HLA-A1).

Среди тех, у кого уже имеются антитела класса IgE к аллергенам амброзии, можно выявить лиц и с более специфической гиперчувствительностью, причем у носителей HLA-B8 и титры антител, и общий уровень IgE особенно высоки.

Для генотипа HLA-B8 обнаружена также выраженная ассоциация с другими формами иммунной «гиперактивности», например с аутоиммунными заболеваниями. Это позволяет предполагать, что HLA-B8 имеет отношение к супрессивной Т-клеточной регуляции иммунного отве-

Аллергены и HLA-ассоциации

Систематическое название	Старое название	Мол. масса, Да	Основная ассоциация	p (вероятность)
Ambrosia (амброзия)				
Amb a I	AgE	37 800	Нет	–
Amb a III	Ra3	12 300	A2	0,01
Amb a VI	Ra6	11 500	DR5	$<10^{-7}$
Amb a V	Ra5	5000	DR2/Dw2	$<10^{-9}$
Amb t V	Ra5G	4400	DR2/Dw2	$<10^{-3}$
Lolium (плевел)				
Lol p I	Rye I	27 000	DR3/Dw3	$<10^{-3}$
Lol p II	Rye II	11 000	DR3/Dw3	$<10^{-3}$
Lol p III	Rye III	11 000	DR3/Dw3	$<10^{-4}$

Рис. 23.8
HLA-ассоциация IgE-ответа на аллергены амброзии и плевела.

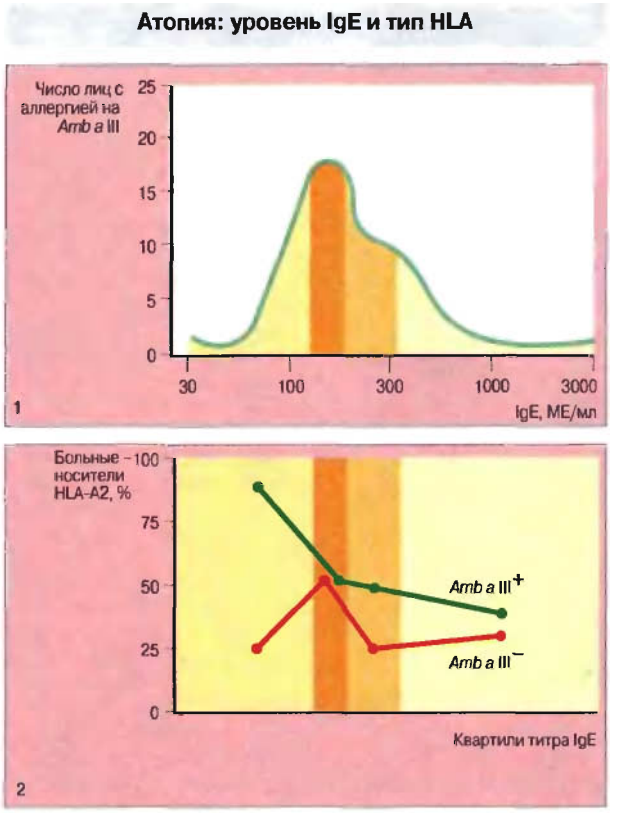


Рис. 23.9.
1. Диаграмма, показывающая число лиц с аллергией на амброзию (*Amb a* III$^+$) при данном общем уровне IgE; квартили диапазона указаны разными цветами.
2. Диаграмма, показывающая процент обладающих HLA-A2 лиц (как *Amb a* III$^+$, так и *Amb a* III$^-$) для четырех квартилей. Очевидна повышенная вероятность реакции на *Amb a* III у носителей HLA-A2. Эта связь наиболее выражена при низком уровне IgE. Генотип HLA-A2 присутствует у 47 % населения.

та, поскольку считается, что сниженная активность супрессорных клеток играет роль в развитии и аутоиммунных заболеваний, и IgE-ответа.

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ

Давно известно, что существуют различия между видами по морфологии тучных клеток – окрашиваемости, характеру наружной поверхности и механизму дегрануляции. Последнее можно четко продемонстрировать: у человека перед экзоцитозом гранул их мембраны сливаются друг с другом (совместный экзоцитоз), тогда как у крысы гранулы высвобождаются порознь (*рис. 23.10*).

По тканевой локализации тучных клеток, их окрашиваемости и набору протеаз различают два типа этих клеток – соединительнотканные тучные клетки (СТТК) и тучные клетки слизистых оболочек (ТКСО) (*рис. 23.11* и *23.12*).

Между двумя популяциями тучных клеток имеются и функциональные различия – они поразному реагируют на вещества, стимулирующие дегрануляцию (ионофоры Ca^{2+}, препарат 48/80 и т. д.) или ингибирующие выброс гистамина (кромогликат натрия).

Классификация тучных клеток по их локализации и морфологии

В большинстве тканей СТТК локализованы вокруг сосудов. Хотя СТТК разных тканей обладают сходными свойствами, клетки из брюшины и кожи, например, могут значительно различаться количеством и размером гранул, плотностью окрашивания и реакциями на фармакологические препараты (см. *рис. 23.11* и *23.12*). ТКСО распределяются иным образом: у человека наибольшая концентрация их отмечается в слизистой оболочке средней части кишечника и в легких.

При паразитарной инвазии, например *Nippostrongylus brasiliensis* у крыс, количество ТКСО в слизистой кишечника резко возрастает. Увеличение их количества наблюдается также при болезни Крона и язвенном колите. Однако роль тучных клеток при этих заболеваниях неясна.

Предполагается, что предшественники кишечных ТКСО образуются в регионарных лимфоузлах и попадают в кишечник через грудной проток. Пролиферация ТКСО при паразитарной инвазии явно зависит от Т-клеточных цитокинов, в том числе ИЛ-3 и ИЛ-4. Клоны же СТТК образуются в культуре из фибробластов независимо от Т-клеток или Т-клеточных факторов.

Недавно полученные данные свидетельствуют о том, что ТКСО и СТТК образуются из одних и тех же клеток-предшественников, а окончательный их фенотип зависит от факторов микроокружения.

СТТК и ТКСО содержат в гранулах характерные протеазы

В недавно проведенных исследованиях гены некоторых протеаз из гранул тучных клеток были клонированы и секвенированы. По различному содержанию двух из этих ферментов – триптазы

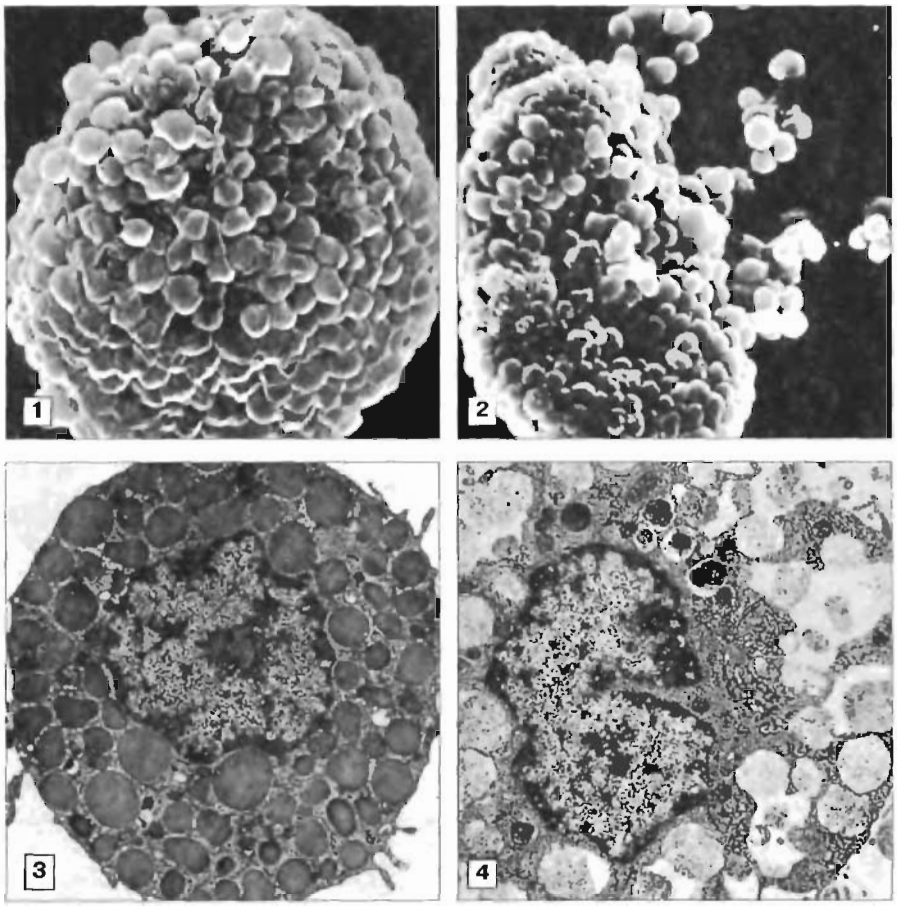


Рис. 23.10
Электронно-микроскопические фотографии тучных клеток крысы. 1. Интактная тучная клетка брюшины крысы с покрытыми клеточной мембраной гранулами. Сканирующая электронная микроскопия. ×1500. **2.** Дегрануляция тучной клетки брюшины крысы после 30-секундной инкубации с антителами анти-IgE. Сканирующая электронная микроскопия. ×1500. (Фото любезно предоставлены д-ром T. Orr.) **3.** Тучная клетка брюшины крысы с электроноплотными гранулами. **4.** После инкубации с антителами анти-IgE происходит вакуолизация клетки, сопровождающаяся экзоцитозом содержимого гранул. Просвечивающая электронная микроскопия. × 2700. (Фото любезно предоставлены д-ром D. Lawson.)

Различия между популяциями тучных клеток – I

	Тучные клетки слизистых оболочек	Соединительно-тканные тучные клетки
Локализация in vivo	Кишечник и легкие	Повсеместная
Продолжительность жизни	<40 сут (?)	>40 сут (?)
Зависимость от Т-клеток	+	–
Число Fcε-рецепторов	$25 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^4$
Содержание гистамина	+	+ +
Цитоплазматический IgE	+	–
Соотношение основных метаболитов АК: LTC_4 : $ПГД_2$	25:1	1:40
Ингибирование выброса гистамина КГН и теофиллином	–	+
Основной протеогликан	Хондроитин-сульфат	Гепарин

Рис. 23.11
Существуют по меньшей мере две субпопуляции тучных клеток – тучные клетки слизистых оболочек (ТКСО) и соединительнотканные тучные клетки (СТТК). Различия этих клеток по морфологии и реакции на фармакологические препараты свидетельствуют об их разной функциональной роли in vivo. ТКСО принимают участие в реакциях на глистную инвазию и, возможно, в аллергических реакциях. ТКСО имеют меньшие размеры и меньшую продолжительность жизни, чем СТТК; их функция зависит от Т-клеток, на их поверхности присутствует больше Fcε-рецепторов, а в цитоплазме содержится IgE. Гранулы клеток обоих типов содержат гистамин и серотонин; большее количество гранул в СТТК может объясняться большим содержанием в них гистамина. Тучные клетки обоих типов продуцируют основные метаболиты арахидоновой кислоты (АК) – простагландины и лейкотриены, но в разных количествах. Например, ТКСО продуцируют лейкотриен LTC_4 и простагландин $ПГД_2$ в соотношении 25:1, а СТТК – 1:40. Различные вещества по-разному влияют на дегрануляцию клеток двух типов. Кромогликат натрия (КГН) и теофиллин ингибируют выброс гистамина из СТТК, но не из ТКСО. (Это может иметь важное значение при лечении астмы.) Следует учесть, что многие из приведенных данных получены в исследованиях на грызунах и могут быть неприменимы к человеку.

Различия между популяциями тучных клеток – II

Тип клеток	Локализация	Количество на клетку, пкг	
		триптаза	химаза
$ТК_т$ (ТКСО)	Легкие, носовые пазухи, слизистая кишечника	10	<0,04
$ТК_х$ (СТТК)	Кожа, кровеносные сосуды, подслизистый слой кишечника	35	4,5
Базофилы	Кровь	0,04	<0,04

Рис. 23.12
Триптаза представляет собой тетрамер мол. массой 134 кДа, на долю которого приходится до 25 % белка тучной клетки. Химаза – это мономер с мол. массой 30 кДа. По соотношению этих протеаз тучные клетки разделяют на субпопуляции $ТК_т$ и $ТК_х$, по-разному представленные в разных тканях у человека. Базофилы содержат крайне малое количество обеих этих протеаз. (Подстрочные буквы – «т» и «х» – означают присутствие триптазы и химазы в клетках.)

и химазы – СТТК и ТКСО можно разделить на субпопуляции (см. *рис. 23.12*).

Эти протеазы представляют интерес для медицины, так как триптаза может вызывать гиперреактивность бронхов, а химаза стимулирует секрецию бронхиальной слизи; и то, и другое – характерные признаки астмы (см. *рис. 23.20*). Обе протеазы способны также расщеплять вазоактивный интестинальный пептид (ВИП), медиатор расслабления бронхов. Кроме того, триптаза является мощным фактором роста фибробластов и может служить молекулярным звеном, связывающим активацию тучных клеток с фиброзом.

Клинические исследования тучных клеток при астме и сенной лихорадке

Недавние клинические исследования показали, что во время сезона цветения (но не перед ним) у лиц, страдающих сенной лихорадкой, наблюдается инфильтрация эпителия носовой полости ТКСО. Подобно этому, увеличенное количество тучных клеток (пока не охарактеризованных) обнаруживается в бронхоальвеолярных смывах от больных астмой.

Поскольку слизистая поверхность бронхов является участком первого контакта организма с вдыхаемым аллергеном, взаимодействие с ним тучных клеток приводит к выбросу медиаторов и увеличению проницаемости слизистой. В результате происходит дальнейшее выделение медиаторов тучными клетками подслизистого слоя, что усиливает клинические симптомы. Степень дегрануляции можно оценить по уровню триптазы в сыворотке. Благодаря стабильности молекулы триптаза служит более надежным маркером дегрануляции тучных клеток, чем гистамин.

Лекарственные препараты, влияющие на тучные клетки, могут оказывать клинически важные эффекты

Выяснение природы тучных клеток бронхоальвеолярной поверхности и их реакции на антиаллергические средства могло бы существенно помочь разработке способов терапии. Например, у крыс, зараженных паразитом *Nippostrongylus brasiliensis*, кортикостероиды быстро и резко уменьшают накопление ТКСО в кишечнике.

Интересно, что местное применение кортикостероидов блокирует также увеличение количества тучных клеток в носовой полости, которое наблюдается у лиц, страдающих сенной лихорадкой, в период цветения. Механизм этой супрессии неясен, но известно, что кортикостероиды ингибируют продукцию Тх-клетками цитокинов, в том числе ИЛ-3 и ИЛ-4, действующих как факторы роста тучных клеток.

Влияние различных лекарственных средств на дегрануляцию тучных клеток может иметь важнейшее функциональное и клиническое значение. У крыс кромогликат натрия и теофиллин ингибируют выброс гистамина из СТТК, но не из ТКСО. Гетерогенность тучных клеток и их видовые различия не позволяют с уверенностью экстраполировать эти данные на человека. Получение «чистых» клонов тучных клеток человека могло бы помочь разработке средств лечения аллергических заболеваний, ставших в наше время бичом человечества.

Другие клетки иммунной системы также связывают IgE

Нормальные эозинофилы и тромбоциты при сенсибилизации IgE приобретают повышенную цитотоксичность в отношении некоторых пара-

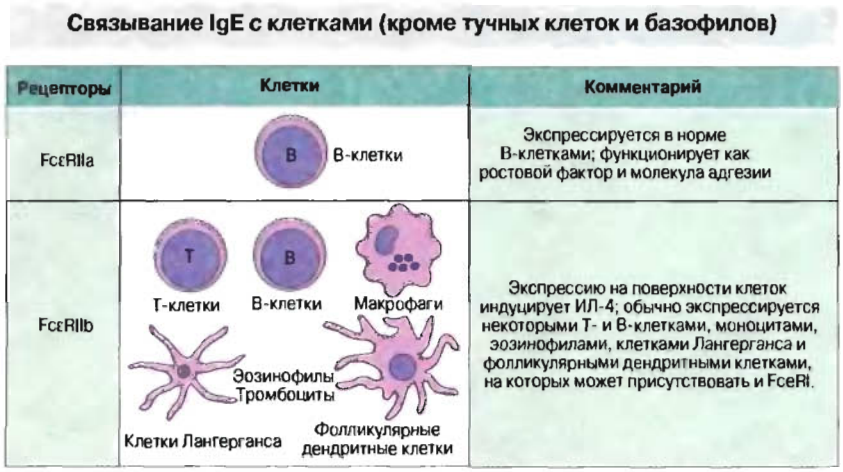


Рис. 23.13
По сравнению с FcεRI тучных клеток и базофилов рецепторы других клеток (FcεRII) обладают гораздо меньшей аффинностью к IgE. Рецептор FcεRIIa конститутивно экспрессируется нормальными В-клетками, тогда как экспрессию FcεRIIb различными клетками индуцирует ИЛ-4. Рецептор FcεRIIb экспрессируется на Т-клетках, В-клетках, моноцитах и макрофагах, а также на кожных клетках Лангерганса. Клетки Лангерганса, макрофаги и эозинофилы экспрессируют и высокоаффинные FcεRI.

зитов, включая шистосом. Кроме того, у страдающих аллергией лиц эти клетки могут сенсибилизироваться циркулирующими иммунными комплексами, содержащими IgE. Как эозинофилы, так и тромбоциты, возможно, принимают участие в аллергических реакциях, поскольку они содержат различные медиаторы и воспалительные белки, способные усиливать эти реакции. Недавно было установлено, что эозинофилы, макрофаги, тромбоциты и клетки Лангерганса экспрессируют как высоко-, так и низкоаффинные рецепторы к IgE (*рис. 23.13*).

Примечательно, что на поверхности кожных клеток Лангерганса у больных атопической экземой присутствует связанный IgE, который может играть важную роль в презентации антигена/аллергена инфильтрирующим кожу Т-клеткам и тем самым вызывать воспалительные реакции в коже. Такие IgE-связывающие клетки Лангерганса отсутствуют в коже здоровых людей или лиц с атопией без экземы.

Дегрануляция тучных клеток может индуцироваться различными путями

После связывания IgE с FcεRI на поверхности тучных клеток и базофилов перекрестное связывание этого иммуноглобулина может вызывать дегрануляцию клеток. Такое перекрестное связывание осуществляется аллергеном или другими молекулами и приводит к агрегации Fcε-рецепторов, что вызывает поступление кальция в клетку и как следствие ее дегрануляцию.

К дегрануляции приводит также непосредственное перекрестное связывание рецепторов (*рис. 23.14*). Например, такие лектины, как ФГА или КонА, могут перекрестно связывать IgE, взаимодействуя с углеводными остатками в составе Fc-фрагмента. Этим, возможно, объясняется причина крапивницы у некоторых лиц с аллергией на землянику – ягоды, содержащие большое количество лектина.

Некоторые вещества чрезвычайно активны в отношении дегрануляции тучных клеток. Вероятно, in vivo наибольшее значение среди них имеют продукты распада компонентов комплемента C3a и C5a. Эти анафилатоксины влияют и на многие другие клетки, в том числе на нейтрофилы, тромбоциты и макрофаги. К веществам, способным непосредственно активировать тучные клетки, относятся также кальциевые ионофоры, меллитин, соединение 48/80 и лекарственные средства, например синтетический АКТГ, кодеин и морфин. Все они активируют тучные клетки, вызывая поступление в них ионов кальция. Анафилактический ответ, индуцируемый этими агентами, идентичен ответу, опосредуемому IgE, хотя, конечно, эти вещества действуют по IgE-независимым механизмам.

Дегрануляция приводит к выделению предобразованных медиаторов и индуцирует синтез других из арахидоновой кислоты

Индуцируемое антигеном поступление кальция в тучные клетки имеет два основных следствия. Во-первых, происходит экзоцитоз гранул с высвобождением ранее образованных медиаторов (у человека это в основном гистамин). Во-вторых, индуцируется образование новых медиаторов из арахидоновой кислоты – простагландинов

Активация тучных клеток и физиологические эффекты медиаторов, высвобождаемых этими клетками

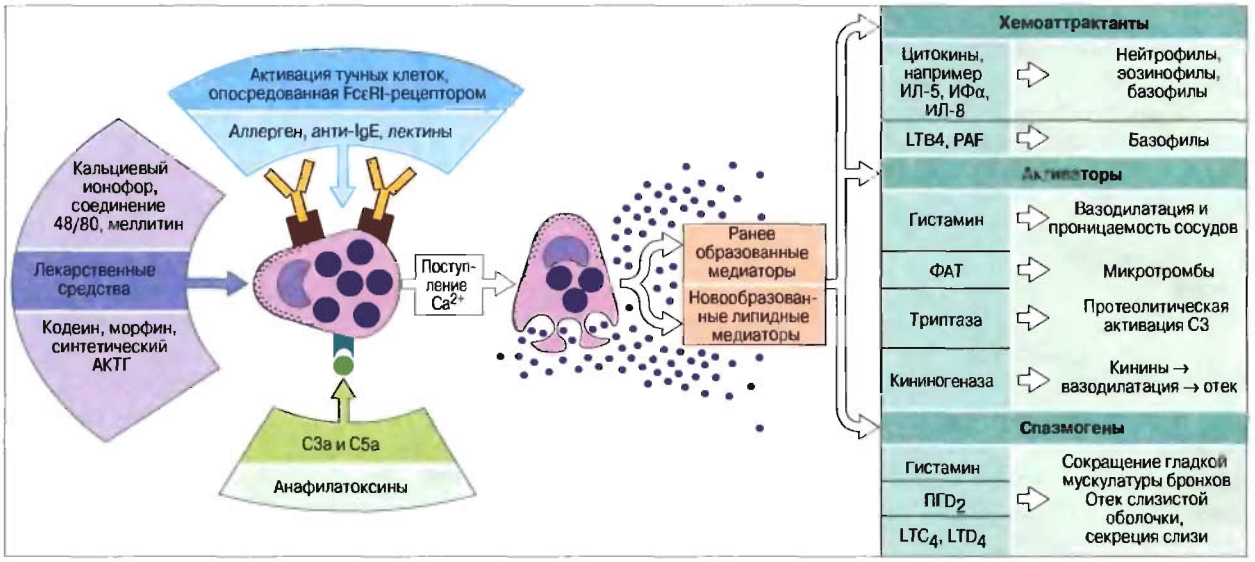


Рис. 23.14
Тучные клетки могут активироваться иммунологическими стимулами, приводящими к перекрестному связыванию Fcε-рецепторов, а также другими агентами, такими как анафилатоксины и секретогены (например, соединение 48/80, меллитин и кальциевый ионофор A23187). Как установлено, и некоторые другие вещества, в том числе кодеин, морфин и синтетический АКТГ, непосредственно действуют на тучные клетки. Все эти агенты оказывают один и тот же эффект – вызывают поступление в клетку ионов Ca^{2+}, необходимое как обязательное условие для ее дегрануляции. Формирование микротрубочек и перемещение гранул к клеточной мембране приводит к их слиянию с мембраной и высвобождению находящихся в гранулах ранее образованных медиаторов. Изменения плазматической мембраны, сопровождающиеся активацией фосфолипазы A2, обусловливают высвобождение арахидоновой кислоты, которая затем подвергается действию одного из ферментов (в зависимости от типа тучной клетки) – липоксигеназы или циклооксигеназы. К образующимся при этом липидным метаболитам циклооксигеназного пути относятся простагландины ($ПГD_2$) и тромбоксаны, липоксигеназного пути – лейкотриены (LTC_4, LTD_4 и хемотаксический LTB_4). Как пред-, так и новообразованные липидные медиаторы гранул оказывают эффекты трех видов.
Хемотаксические агенты привлекают к месту активации тучных клеток многие другие клетки, в частности эозинофилы, нейтрофилы и мононуклеарные клетки, включая лимфоциты. Кроме того, недавно установлено, что некоторые предобразованные цитокины, выделяемые тучными клетками при их дегрануляции, также служат сигналами хемотаксиса для воспалительных клеток.
Активаторы воспаления могут вызывать расширение сосудов, отек и (при участии фактора активации тромбоцитов, ФАТ) образование микротромбов с локальным повреждением тканей. Триптаза, главная нейтральная протеаза тучных клеток, присутствующих в легких у человека, может непосредственно активировать C3; этот эффект блокируется гепарином. Высвобождаемые при воспалении кининогеназы, превращая кининогены в кинины, расширяют мелкие кровеносные сосуды, в свою очередь способствуя воспалению.
Спазмогены непосредственно влияют на гладкую мускулатуру бронхов, но могут усиливать и секрецию слизи, приводящую к закупорке бронхов.

и лейкотриенов, которые оказывают прямое местное влияние на ткань. В легких они сразу же вызывают констрикцию бронхов, отек слизистой и гиперсекрецию слизи, что приводит к астме (см. *рис. 23.14* и *23.20*).

Как выясняется, различные популяции тучных клеток продуцируют разные новообразованные медиаторы. Например, противогистаминные средства оказывают клинический эффект при рините и крапивнице, но не при астме, в развитии которой более важную роль играют лейкотриены.

Некоторые соединения блокируют выделение медиаторов, увеличивая внутриклеточный уровень cAMP (например, такой эффект оказывает стимулирующий β-адренорецепторы изопрена-

лин) или препятствуя его распаду под действием фосфодиэстеразы (таково, например, действие теофиллина). Механизм действия кромогликата натрия, блокирующего выброс гистамина из тучных клеток, пока неясен; возможно, он состоит в ингибировании вызываемого аллергеном поступления кальция в клетки; это вещество может также влиять на выделение медиаторов из других клеток.

КОЖНЫЕ РЕАКЦИИ

Внутрикожная проба Удивительным образом кожная проба – простейший тест на аллергию – позволяет получить много сведений об иммунопатологии аллергических реакций. Классический результат теста при атопии – немедленная гиперемия с образованием волдыря – связан с тем, что введенный в кожу аллерген приводит к выбросу предобразованных медиаторов, повышающих сосудистую проницаемость и вызывающих местный отек и зуд (*рис. 23.15*). Положительный результат кожного теста обычно коррелирует с положительным результатом радиоаллергосорбентного теста (РАСТ) на аллергенспецифичный IgE в сыворотке, а также с положительной реакцией на провокацию (например, нанесением аллергена на слизистую оболочку носа или бронхов). Поздний ответ на кожную пробу наблюдается нечасто, но когда он возникает, то проявляется болезненным, а не зудящим кожным инфильтратом.

Положительный результат кожной пробы (классическая гиперемическая реакция с образованием волдыря) у лиц с различными атопическими заболеваниями указывает на то, что IgE у них связан с тучными клетками кожи, хотя аллергические симптомы могут наблюдаться со стороны носа или бронхов. Однако у небольшой группы больных с явным анамнезом, например, аллергического ринита кожные пробы и РАСТ оказываются отрицательными. Несмотря на отсутствие IgE в коже и сыворотке таких больных, у них можно наблюдать IgE-реакцию в некоторых слизистых оболочках. Об этом свидетельствует положительный результат назального провокационного теста, а также обнаружение с помощью РАСТ специфического IgE в отделяемом из носа. При стимуляции лимфоцитов таких больных аллергеном in vitro эти клетки трансформируются и начинают продуцировать цитокины, что говорит о Т-клеточном ответе на аллерген. Это не обязательно доказывает непосредственную роль гиперчувствительности замедленного типа при такого рода патологических процессах, но тем не менее свидетельствует о присутствии у данных больных аллергенспецифичных Тх-клеток, которые могут оказывать «помощь» при IgE-ответе.

Накожная проба Эту пробу проводят путем аппликации аллергена на слегка поцарапанную для этого «нормальную» кожу. Так, у больных атопической экземой (*рис. 23.16*), сыворотка которых содержит IgE-антитела к клещам домашней пыли, отмечается положительный результат накожной пробы с клещевым аллергеном (*рис. 23.17*). Интересно, что и у некоторых больных аллергическим ринитом, обусловленным контактом с клещами домашней пыли (*рис. 23.18*), при нанесении этого аллергена на кожу развивается базофильная инфильтрация; иными словами, такая инфильтрация не специфична для экземы.

В начале изучения кожной реакции поздней фазы ее причиной считали гиперчувствительность III типа (опосредованную иммунными комплексами) и связывали ее с преципитирующими антителами класса IgG по аналогии с бронхо-легочным аспергиллезом. Однако преципитирующие антитела при этой реакции обнару-

Немедленные и поздние кожные реакции



Рис. 23.15
Кожные пробы, произведенные за 5 ч (слева) и за 20 мин (*справа*) до фотографирования. Тесты справа обнаруживают типичный конечный результат, заключающийся в немедленной (тип I) гиперемической реакции с образованием волдыря. Кожная реакция поздней фазы (*слева*) хорошо выявляется через 5 ч, особенно при интенсивной предшествующей реакции немедленного типа. Указано разведение экстракта аллергена.



Рис. 23.16
Атопическая экзема на руке ребенка с аллергией на рис и яйца.

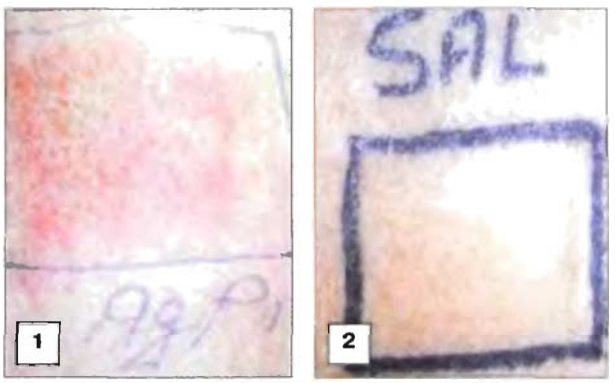


Рис. 23.17
Накожные пробы с очищенным антигеном клеща домашней пыли (*Dermatophagoides pteronyssinus*) у больного атопической экземой. 1. На слегка поцарапанный для удаления поверхностного кератина непораженный участок кожи наносили экстракт антигена; участок закрывали и через 48 ч оценивали реакцию. Можно видеть экзематозные изменения; при микроскопическом исследовании были обнаружены инфильтраты, содержащие эозинофилы и базофилы. **2.** Контроль с нанесением солевого раствора. (Фото любезно предоставлены д-ром E. Mitchell.)

живаются редко; как показали дальнейшие исследования, она зависит от IgE.

РЕАКЦИИ БРОНХОВ

Бронхи также реагируют на аллергены двухфазной реакцией (*рис. 23.19*). Весьма эффективным средством для лечения аллергической астмы служит кромогликат натрия; он препятствует развитию как немедленной реакции, так и реакции поздней фазы при провокационной пробе с введением аллергена в бронхи. Это означает, что развитие легочной реакции поздней фазы требует начального взаимодействия между аллергеном, IgE и тучными клетками; кромогликат натрия, блокируя дегрануляцию, предотвращает все последующие события. Если больному предварительно ввести кортикостероиды или ингибиторы простагландинсинтазы, исчезает только реакция поздней фазы, тогда как немедленная реакция полностью сохраняется. Это указывает на роль производных арахидоновой кислоты, например простагландинов и лейкотриенов, в развитии реакции поздней фазы (см. *рис. 23.14*).



Рис. 23.18
Клещ, обитающий в домашней пыли, – основная причина аллергических заболеваний. Электронная микрофотография клеща домашней пыли, *Dermatophagoides pteronyssinus*, и его экскрементов (*внизу справа*), которые служат основным источником аллергена. Именно эти частицы, а не сам клещ, с воздухом попадают в легкие. (Фото любезно предоставлены д-ром R. Tovey.)

Большинству больных астмой с повторяющимися приступами помогает вдыхание кортикостероидов, которые уменьшают воспалительную клеточную инфильтрацию бронхов, особенно связанную с реакцией поздней фазы (*рис. 23.20*).

Важную роль при астматической реакции играют бронхоальвеолярные тучные клетки

У больных астмой количество тучных клеток в просвете бронхов увеличено. Местоположение этих клеток создает для них уникальную возможность взаимодействия с аллергенами из вдыхаемого воздуха и инициации IgE-ответа в легких.

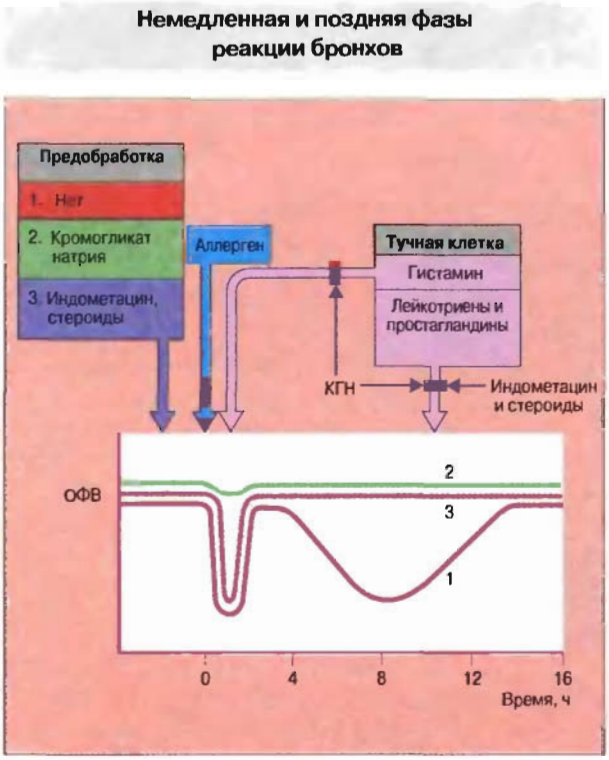


Рис. 23.19
На графике показан объем форсированного выдоха (ОФВ) – показатель функции легких – у лиц трех групп до и через несколько часов после провокационной пробы (нанесение аллергена на слизистую бронхов). В контроле (группа 1) наблюдается двухфазная (начальная и поздняя) констрикция бронхов. Начальная реакция продолжается в течение 1 ч и сменяется реакцией поздней фазы (РПФ), продолжающейся несколько часов. Основным медиатором немедленной реакции у человека считается гистамин, выделяемый тучными клетками при их дегрануляции. Испытуемые двух других групп предварительно получали различные препараты. Предварительное введение кромогликата натрия (КГН) (группа 2) блокировало дегрануляцию тучных клеток и предотвращало как немедленную реакцию, так и реакцию поздней фазы. Предварительное введение индометацина или кортикостероидов, которые блокируют метаболизм арахидоновой кислоты, угнетало только реакцию поздней фазы (группа 3). Это свидетельствует об участии лейкотриенов и простагландинов в развитии данного ответа. Длительное лечение кортикостероидами может ослаблять и немедленную реакцию, но РПФ при этом блокируется полностью. Больные астмой часто в первую очередь используют для вдыхания кортикостероидные препараты, которые уменьшают воспалительную инфильтрацию бронхов. Это свидетельствует о первостепенной клинической важности при хронической астме именно РПФ и ее последствий.

Клетки, выделенные из бронхоальвеолярного смыва (БАС), обладают низким порогом дегрануляции (о чем свидетельствует высокий уровень медиаторов в жидкости БАС). По-видимому, именно эти клетки служат основной мишенью противоастматического действия кромогликата натрия, а также, вероятно, и других средств, например циклоспорина: они ингибируются легче, чем клетки, полученные из легочной паренхимы (*рис. 23.19*). Кроме того, как недавно установлено, среди Т-клеток, присутствующих в БАС больных астмой, преобладают Тх2-клетки, что служит подтверждением роли IgE при аллергической иммунной реакции легких у больных астмой. В слизистой оболочке бронхов наблюдается и выраженная клеточная инфильтрация, которая может вносить свой вклад в хронизацию астмы.

Другие факторы патогенеза хронической астмы

Эозинофилы Многочисленные данные указывают на центральную роль воспалительной клеточной инфильтрации в развитии реакции поздней фазы. На этой (но не на ранней) фазе астматических реакций в БАС обнаруживается, в частности, повышенное количество эозинофилов. Выделяемый Тх2- и тучными клетками ИЛ-5 служит хемоаттрактантом для эозинофилов и усиливает продукцию ими медиаторов и цитокинов (*рис. 23.21*). Выделяя из своих гранул основные белки, эозинофилы повреждают эпителий дыхательных путей (*рис. 23.22*). Это способствует более глубокому проникновению аллергенов и облегчает доступ воспалительных медиаторов к окончаниям афферентных нервов, вызывая бронхоспазм через аксон-рефлексы. Выделяющиеся нейрогенные пептиды, такие как вазоактивный интестинальный пептид, вещество Р и пептид, связанный с геном кальцитонина, усиливают воспалительную реакцию и тем самым повышают реактивность бронхов.

Гиперреактивность бронхов Чувствительность бронхов к гистамину и неспецифическим стимулам, например к холодному и влажному воздуху, при астме возрастает. Действительно, у здоровых людей приступ удушья развивается при вдыхании

Воспалительная реакция в бронхах при астме

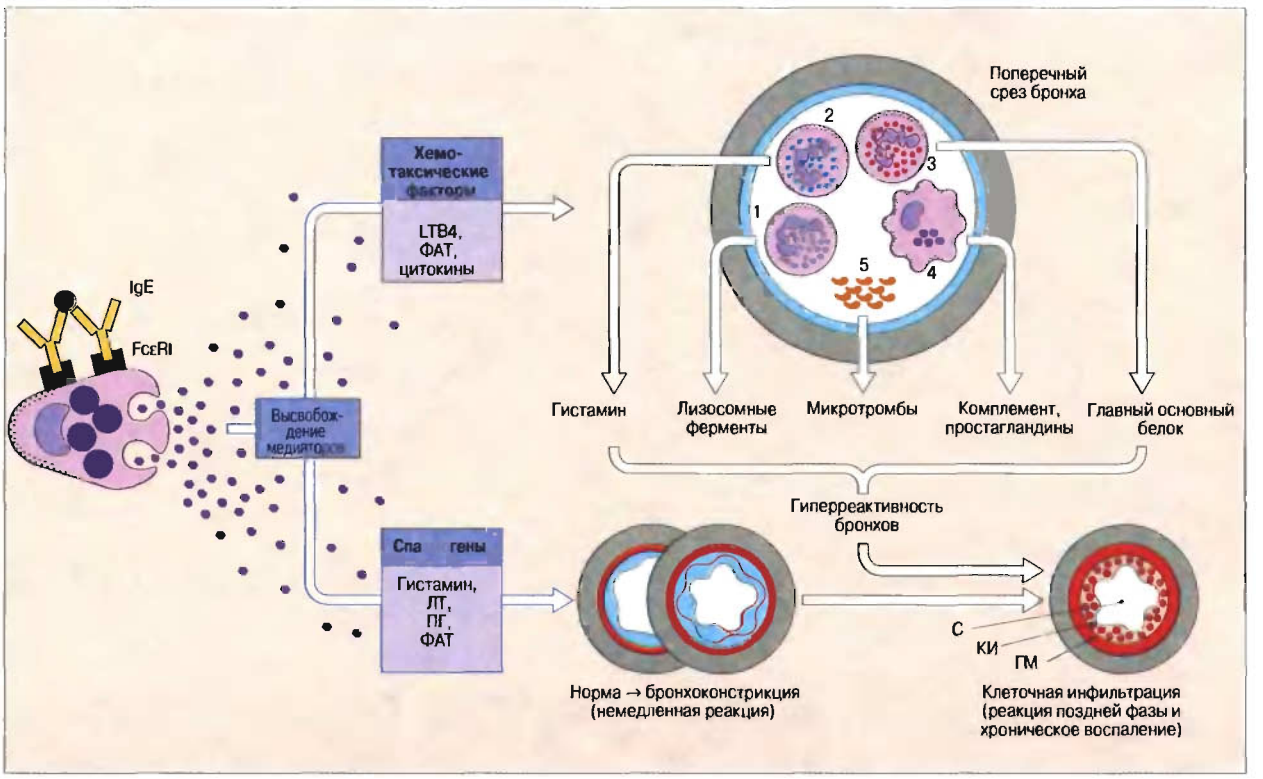


Рис. 23.20
К медиаторам тучных клеток относятся хемотаксические и спазмогенные факторы. Спазмогены вызывают немедленную реакцию сокращения бронхов и увеличивают проницаемость мелких сосудов, обусловливая отек и поступление клеток в интерстициальное пространство. Хемотаксические факторы и цитокины, такие как ГМ-КСФ, ИЛ-5 и ФНОα, способствуют активному накоплению нейтрофилов (**1**), базофилов (**2**), эозинофилов (**3**), макрофагов (**4**) и тромбоцитов (**5**). Эти инфильтрирующие ткань клетки продуцируют воспалительные молекулы, что приводит к развитию реакции поздней фазы и поддерживает типичное для астмы хроническое воспаление. В генезе подострой или хронической астмы совместно участвуют многие факторы, в том числе гиперсекреция слизи (С), гипертрофия гладкой мускулатуры (ГМ) и клеточная инфильтрация (КИ) с сопутствующей гиперреактивностью бронхов. Кортикостероиды уменьшают клеточную инфильтрацию и образование оксида азота.

10 нг гистамина, тогда как больные астмой реагируют уже на 0,5 нг и меньшие дозы. Как установлено Платтс-Миллсом (Platts-Mills), трехмесячное пребывание больных астмой в чистой больничной среде, где они избавлены от воздействия домашних условий (вдыхания экскрементов клещей домашней пыли), резко снижает или полностью нормализует их чувствительность к гистамину; улучшается и течение астмы. Эти данные подтверждают представление о том, что гиперчувствительность бронхов при астме связана с хроническим действием аллергена.

Оксид азота В ответ на стимуляцию цитокинами многие клетки начинают продуцировать оксид азота NO при участии индуцибельной формы синтазы оксида озота (иСОА). Недавно установлено, что в эпителии бронхов больных астмой в отличие от здоровых людей этот фермент присутствует в высокой концентрации (*рис. 23.23*). Оксид азота, образующийся под влиянием иСОА, можно определить в выдыхаемом воздухе не получавших лечения больных астмой; его количество снижается при ингаляции кортикостероидами (*рис. 23.23*), которые, как известно, ингибиру-

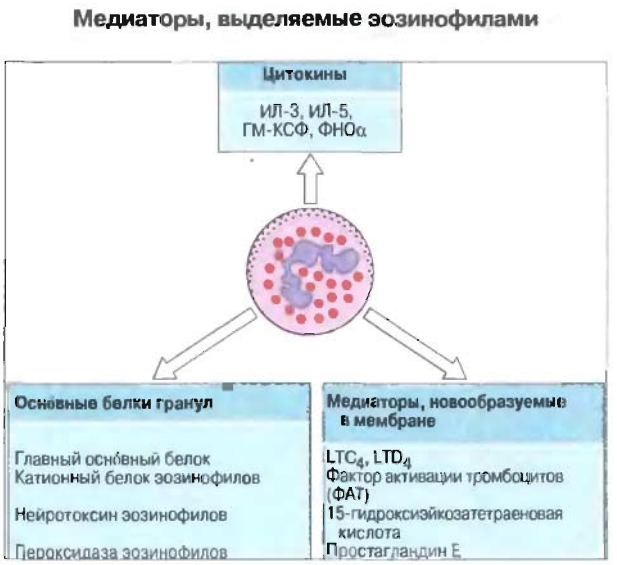


Рис. 23.21
Дегрануляцию эозинофилов может стимулировать аллерген, взаимодействуя с IgE, связанным с FcεRI и FcεRII, либо растворимые медиаторы, такие как ФАТ и LTB_4. Эозинофилы выделяют различные провоспалительные цитокины и новообразованные в мембране медиаторы. Кроме того, они выделяют из своих гранул и обладающие высокой цитотоксичностью основные белки, которые повреждают эпителиальные клетки при хронической астме.

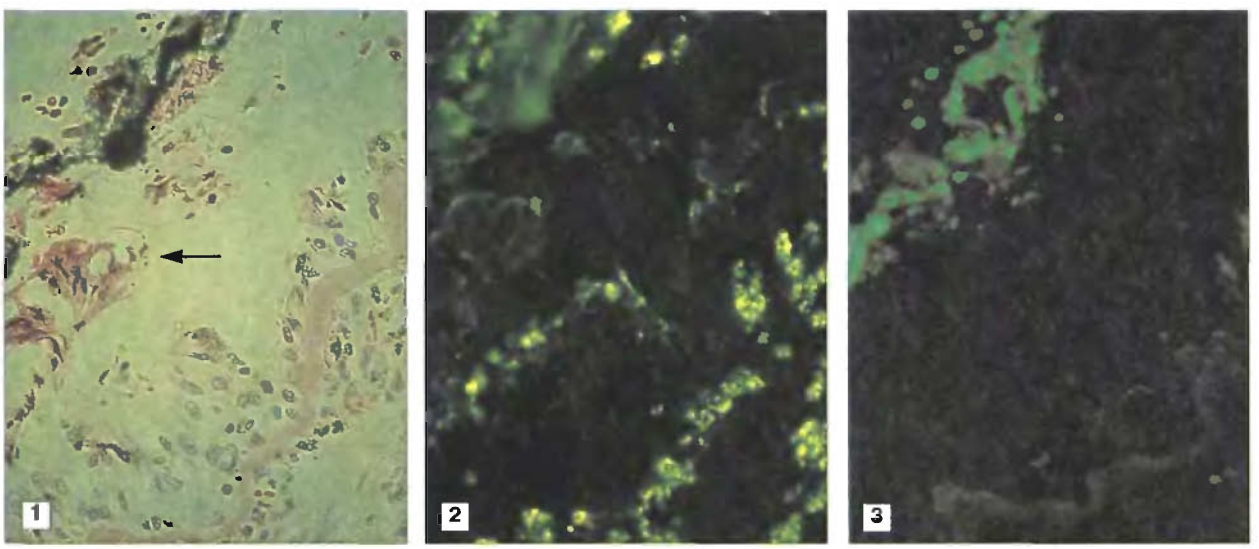


Рис. 23.22
Локализация главного основного белка (ГОБ) в легких больного с тяжелой формой астмы. **1.** Выраженная эозинофильная инфильтрация подслизистого слоя дыхательного эпителия и скопление слущенных эпителиальных клеток в просвете бронха (показаны стрелкой) рядом с «волокнистыми» отложениями сажи. Окраска гематоксилином и эозином. **2.** Тот же срез, окрашенный на главный основной белок, который определяется по иммунофлуоресценции, локализованной в инфильтрирующих ткань эозинофилах. Отложения ГОБ видны также на слущенных эпителиальных клетках, расположенных на люминальной поверхности. **3.** Контрольный срез, окрашенный с использованием нормальной кроличьей сыворотки. Эозинофилы и бронхиальная ткань не флуоресцируют, но наблюдается легкое неспецифическое окрашивание отложений сажи. (Фото любезно предоставлены д-ром G. Gleich, из публикации в *J. Allergy Clin. Immunol.* 1982; **70**: 160–9. Воспроизведено с разрешения.)

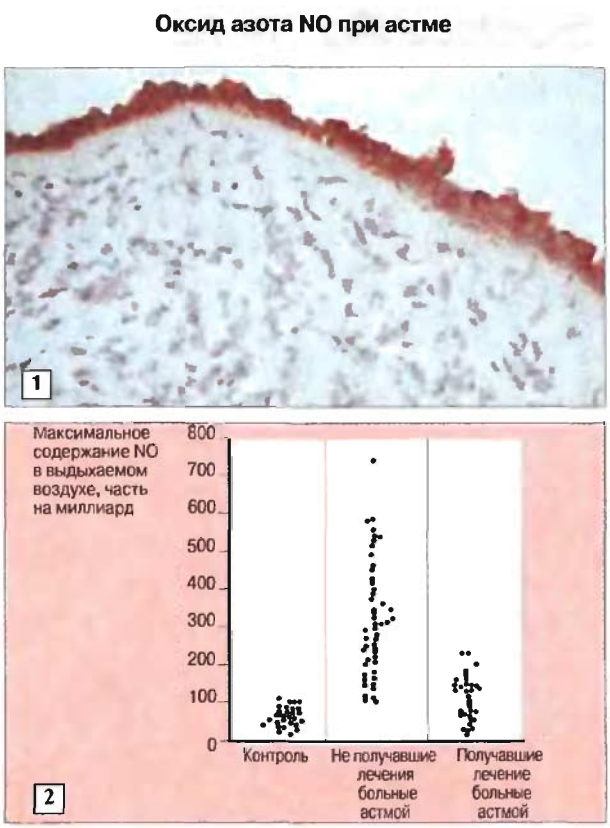


Рис. 23.23
1. Биоптат от больного астмой. Эпителий бронхов с признаками повреждения на отдельных участках интенсивно окрашивается антителами к иСОА. **2.** У не получавших лечение больных с легкой формой астмы содержание NO в выдыхаемом воздухе часто оказывается выше по сравнению с нормой. У больных, получавших лечение кортикостероидами, уровень NO в выдыхаемом воздухе близок к нормальному. (Рисунок любезно предоставлен д-ром D. Springall.)

ют экспрессию и цитокинов, и иСОА. Эти данные свидетельствуют о возможной роли NO в патогенезе астмы и указывают на важность определения его уровня в выдыхаемом воздухе для диагностики, мониторинга и лечения заболевания.

ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РАЗВИТИЕ АЛЛЕРГИИ

В настоящее время установлено, что важную роль в развитии аллергии играют не только генетические, но и другие факторы, рассматриваемые ниже.

При атопии имеет место Т-клеточная недостаточность

Существуют многочисленные доказательства роли Т-клеток как в развитии, так и в супрессии IgE-ответа (см. *рис. 23.5* и *23.6*). Это позволило предположить, что причиной атопии может быть тот или иной дефект, связанный с Т-клетками, в частности с «супрессорными Т-клетками». Действительно, у больных экземой число супрессорных Т-клеток $CD8^+$ снижено (*рис. 23.24*), а при тяжелой атопии (экземе) ослаблен и Т-клеточный ответ на митогены. Это ослабление Т-клеточных реакций, регистрируемое in vitro, коррелирует с ослаблением клеточного иммунитета, которое in vivo может проявляться угнетением кожных реакций замедленной гиперчувствительности.

Пока неясно, является ли такая Т-клеточная недостаточность причиной или следствием атопического заболевания. Тем не менее некоторые данные о причинно-следственной связи между Т-клеточной недостаточностью и атопией все же имеются, но только применительно к детям, находящимся на искусственном вскармливании.

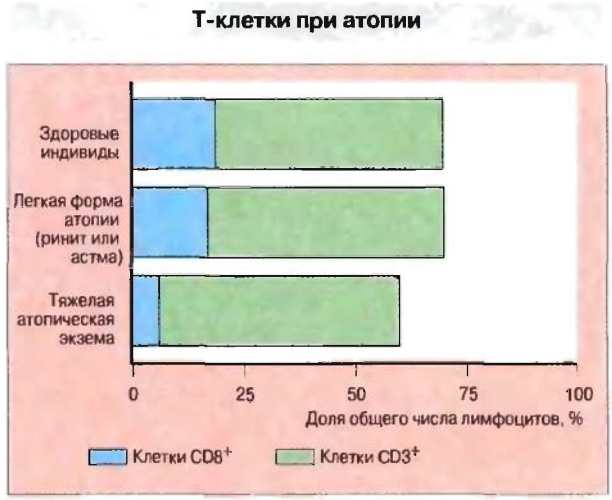


Рис. 23.24
У больных с тяжелой формой атопической экземы (но не у больных ринитом или астмой) снижено количество Т-клеток $CD3^+$, причем это снижение почти целиком обусловлено уменьшением числа Т-клеток $CD8^+$, популяция которых, как полагают, включает популяцию «супрессорных» клеток. Уменьшение популяции этих клеток в крови часто коррелирует с выраженным повышением уровня IgE, наблюдаемым у больных атопической экземой.

Влияние искусственного вскармливания на содержание Т-клеток и уровень IgE

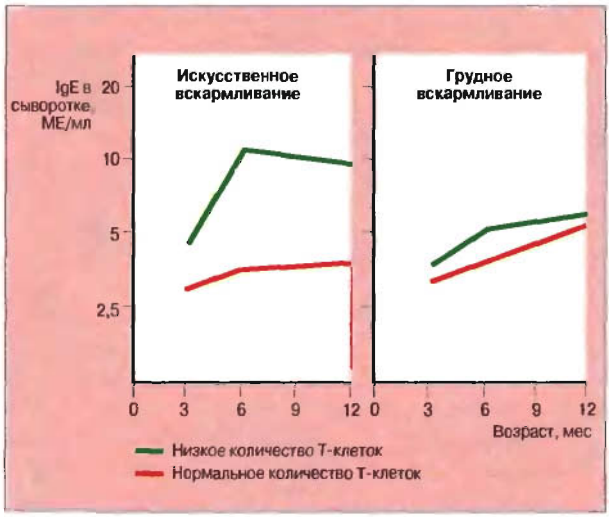


Рис. 23.25
Влияние искусственного вскармливания на Т-клетки и уровень IgE. При обследовании детей с низким содержанием Т-клеток в крови оказалось, что уровни IgE в сыворотке у младенцев, вскармливаемых коровьим молоком, выше, чем у тех, кого кормят грудью. Последняя группа по уровню IgE была сходна с детьми, имеющими нормальное содержание Т-клеток, независимо от характера вскармливания. Эти данные, свидетельствующие о влиянии характера вскармливания и количества Т-клеток на уровень IgE, позволяют предполагать, что на развитие атопического состояния может влиять Т-клеточный дефект в сочетании с факторами внешней среды (способ вскармливания).

По данным Сутхилла (Soothill) с сотрудниками, при грудном вскармливании экзема у детей возникает реже; другие авторы обнаружили, что искусственное вскармливание младенцев коровьим молоком коррелирует со снижением численности некоторых субпопуляций регуляторных Т-клеток и повышением уровня IgE (*рис. 23.25*). Однако неясно, само ли по себе искусственное вскармливание влияет на количество Т-клеток. Не вызывает сомнений, что в патогенезе аллергических заболеваний важная роль принадлежит и другим факторам внешней среды.

Предстоит выяснить также, каким образом связаны различия в содержании супрессорных Т-клеток, выявленные в ранних исследованиях, с недавно установленным фактом – важностью баланса Тх1/Тх2 для иммунного ответа.

Загрязнители внешней среды повышают уровень антигенспецифичных IgE

Такие загрязнители окружающей среды, как диоксид серы (сернистый газ), оксиды азота, присутствующие в воздухе частицы дизельных выхлопов и золы, могут повышать проницаемость слизистых оболочек, способствуя проникновению в организм аллергенов и возникновению IgE-реакций. Частицы дизельных выхлопов (ЧДВ) способны играть роль мощного адъюванта, усиливающего продукцию IgE (*рис. 23.26*). Диаметр этих частиц меньше 1 мкм; они долго сохраняются в атмосфере загрязненных городов и воздействуют на дыхательные пути. Концентрация ЧДВ в городском воздухе составляет в среднем примерно 1 мкг/м^3, а на главных магистралях может достигать 30 мкг/м^3, возрастая в периоды особенно напряженного движения до 500 мкг/м^3. При интраназальном введении ЧДВ вместе с антигеном содержание антигенспецифичного IgE резко воз-

Влияние загрязнителей на IgE-ответ

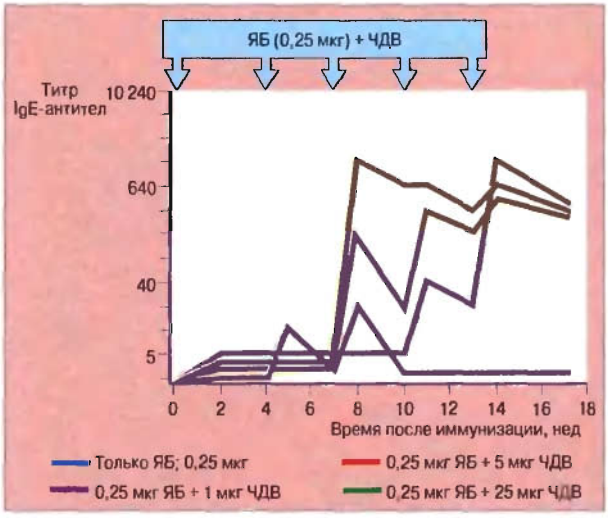


Рис. 23.26
Влияние загрязнителей, а именно частиц дизельных выхлопов (ЧДВ), на IgE-ответ против яичного белка у мыши. При интраназальной иммунизации мышей яичным белком (ЯБ) небольшие подъемы уровня антител IgE наблюдаются только на 5 и 8 нед, но не позже. При добавлении к ЯБ ЧДВ происходит дозозависимое усиление IgE-ответа. Таким образом, ЧДВ служит мощным адъювантом, усиливающим продукцию IgE, что отчасти может объяснять рост случаев аллергии в последние годы. (Рисунок любезно предоставлен д-ром S. Takafuji из публикации в *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1987; **79**: 639–45б, с разрешения.)

растает. Такой адъювантный эффект проявляется и при низкой концентрации антигена, сопоставимой с той, которая присутствует в окружающей среде.

Частота встречаемости аллергического ринита и астмы в течение последних 30 лет нарастает параллельно с увеличением в атмосферном воздухе загрязнений. Таким образом, загрязнители внешней среды, способствующие IgE-ответу, могут вносить свой вклад в рост распространенности аллергических заболеваний. Следует отметить, что частота встречаемости атопии в какой-то степени зависит и от размеров семьи, поскольку риск развития таких состояний особенно высок у первенцев.

Влияние курения, по-видимому, зависит от дозы: уровень IgE возрастает при малом количестве выкуриваемых сигарет и снижается при их высоком количестве. У активных курильщиков иммунный ответ на вдыхаемые антигены существенно ослаблен, тогда как пассивное «курение» может увеличивать риск развития астмы у детей.

ГИПОТЕЗА АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ПРОРЫВА

Развитие аллергии несомненно определяется многими факторами. Согласно гипотезе аллергического прорыва, клинические симптомы аллергии возникают лишь в том случае, когда иммунологическая активность превышает некий порог (*рис. 23.27*). Этот порог зависит от множества условий, в том числа от уровня воздействия аллергена, генетической предрасположенности, тенденции к образованию IgE, а также от других факторов, например от наличия вирусной инфекции верхних дыхательных путей, относительного участия Tx1/Tx2-клеток в иммунном ответе и транзиторной недостаточности IgA. Еще один фактор возникновения аллергического прорыва – это возрастание уровня загрязнения внешней среды.

ДЕСЕНСИБИЛИЗАЦИЯ

Десенсибилизирующая терапия состоит во введении возрастающих доз аллергена. Хотя при этом часто достигается клинический эффект, его механизм точно неизвестен. После таких инъекций уровень аллергенспецифичного IgG в сыворотке и активность супрессорных Т-клеток возрастают, тогда как содержание специфичного IgE снижается (*рис. 23.28*). Однако в большинстве

Гипотеза аллергического прорыва у человека

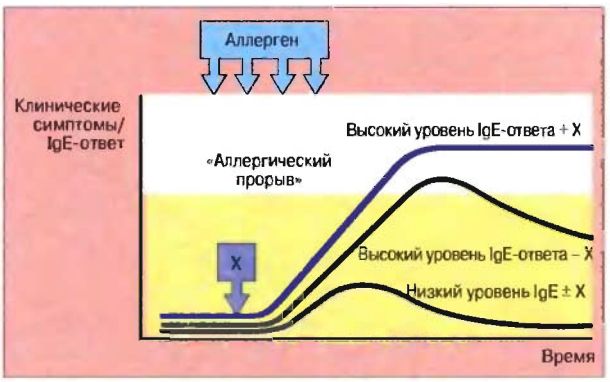


Рис. 23.27
При воздействии аллергена у лиц с низким уровнем IgE-ответа может развиться транзиторный IgE-ответ, исчезающий затем в результате регуляции за счет супрессивной активности Т-клеток и/или изменения соотношения Tx1/Tx2. У высокореагирующих лиц IgE-ответ на аллерген гораздо выше, но явные клинические симптомы появляются только в точке аллергического прорыва. Он может зависеть от сопутствующих факторов (X), например вирусной инфекции верхних дыхательных путей, транзиторной недостаточности IgA или сниженной супрессивной активности Т-клеток. Все эти факторы усиливают IgE-ответ и вызывают появление клинических симптомов. В отсутствие фактора X при кратковременном воздействии аллергена клинические симптомы не всегда развиваются даже у лиц, реагирующих высоким подъемом уровня IgE, но продолжительное воздействие аллергена и добавление фактора X может привести к возникновению таких симптомов.

случаев четкой корреляции между любым из этих изменений и улучшением клинического состояния больных не было отмечено. В то же время установлено, что успешная десенсибилизация при аллергии к амброзии сопровождается появлением в сыворотке аллергенспецифичных супрессорных Т-клеток. Это может иметь ряд последствий, например возможна супрессия IgE-ответа и зависимой от Т-клеток мобилизации тучных клеток. Наблюдаемый эффект мог бы объясняться также преобладанием действия Tx1-, а не Tx2-клеток в иммунном ответе на аллерген. В случае аллергии к пчелиному яду, когда десенсибилизация сопровождается продукцией IgG, уровень IgG-антител, специфически блокирующих действие этого яда, хорошо коррелирует с клиническим защитным эффектом.

Эффекты десенсибилизирующей терапии

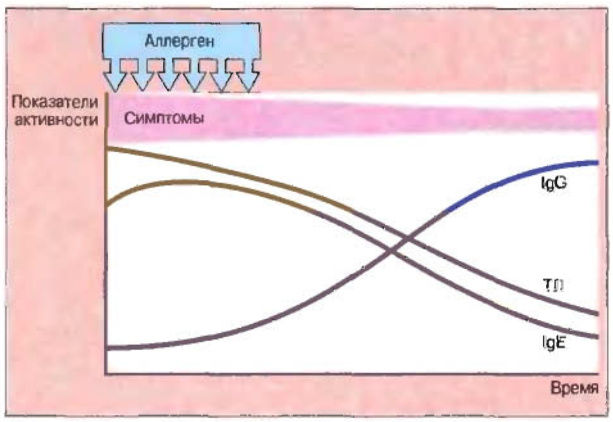


Рис. 23.28
Классическая десенсибилизирующая терапия заключается во многократном введении аллергена в возрастающих дозах. При этом повышается уровень антигенспецифичного IgG и снижается содержание антигенспецифичного IgE. Снижение уровня IgE объясняют увеличением активности супрессорных Т-клеток, которое проявляется в ослаблении индуцируемой антигеном трансформации лимфоцитов (ТЛ) in vitro. Десенсибилизация может также быть связана с изменением баланса Тх1/Тх2-клеток, участвующих в иммунном ответе на аллерген.

Толерантность можно индуцировать путем модификации структуры аллергена

Недавние исследования структуры аллергенов показали, что их Т-клеточные эпитопы можно определить по пролиферации лимфоцитов in vitro. Иммунотерапия этими пептидами индуцирует Т-клеточную толерантность и может быть использована в клинике. Другой подход к ограничению IgE-ответа у мышей заключается в применении аллергенов, модифицированных глутаровым альдегидом; при этом соотношение между Тх2- и Тх1-клетками смещается в сторону последних и тем самым гуморальный ответ изменяется с IgE-типа на IgG2a (см. *рис. 23.6*). В обоих случаях уменьшается продукция ИЛ-4. Возможность использования специфической иммунотерапии такого типа (с помощью модифицированных аллергенов) у человека еще предстоит выяснить. Модифицированные аллергены (так называемые аллергоиды) уже применялись в 1950-х гг. и давали некоторый клинический эффект.

Индукция толерантности подавляет IgE-ответ, не приводя к исчезновению продуцирующих этот иммуноглобулин В-клеток

По имеющимся к настоящему времени достоверным данным, у животных существуют очень долгоживущие супрессорные Т-клетки и резистентные к облучению (неделящиеся) В-клетки иммунологической памяти, способные продуцировать IgE. Например, у нормальных крыс и мышей повторная ингаляция антигена (яичного белка) обусловливает толерантность с супрессией IgE-ответа.

Группой исследователей под руководством Хольта (Holt) установлено, что у животных с высоким уровнем IgE-ответа IgE-клетки памяти и IgE-плазматические клетки очень устойчивы к эффектам овальбумин-специфичных супрессорных Т-клеток, которые не изменяют IgE-ответ этих животных на яичный белок. Однако введение таких супрессорных Т-клеток неиммунизированным животным с высоким уровнем IgE-ответа предотвращает развитие у них сильного IgE-ответа на яичный белок. Эти данные несомненно имеют важное значение, поскольку аллергия у людей диагностируется после сенсибилизации, что может объяснять относительную неэффективность десенсибилизирующей терапии во многих случаях. Дальнейшее изучение механизма(ов) сохранения этих Вε-клеток в течение длительного времени (например, длительной презентации аллергена дендритными клетками или системы идиотипических сетей) должно внести существенный вклад в разработку новых методов лечения.

Интересно, что ингаляция вредных соединений (оксида азота или гистамина), по данным той же группы Хольта, до ингаляции антигена может вызывать выраженный IgE-ответ даже у слабореагирующих животных. Это подтверждает роль факторов внешней среды в индукции IgE-ответа (см. выше).

ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ РОЛЬ IgE

Если с IgE-ответом связаны столь многочисленные отрицательные эффекты, возникает вопрос, почему вообще в эволюции появились антитела этого класса?

Давно считается, что IgE играет основную роль в защите от гельминтов; механизмы этого эффекта показаны на *рис. 18.9*. Паразитирующие

в кишечнике гельминты выделяют растворимые аллергены, которые вызывают чрезвычайно резкий IgE-, а также IgG-ответ в лимфоидной ткани кишечника (ЛТК). Созревающие в ЛТК тучные клетки сенсибилизируются IgE и мигрируют в слизистую кишечника, где после контакта с антигеном гельминтов происходит дегрануляция этих клеток с выбросом медиаторов, увеличивающих сосудистую проницаемость и привлекающих клетки зоны воспаления, в частности эозинофилы, в данную область. IgE из лимфоузлов сенсибилизирует и гельминтов к действию эозинофилов, которые обладают Fc-рецепторами к IgE. Вследствие увеличения сосудистой проницаемости, обусловленного медиаторами, например гистамином, в очаг воспаления поступают также комплемент и специфичный к антигенам гельминта IgG. Одновременно возрастает продукция слизи кубовидными клетками слизистой оболочки. Все это приводит к повреждению и изгнанию гельминтов из организма.

Поскольку примерно треть всего населения земного шара заражена гельминтами, не исключено, что класс IgE возник вследствие давления отбора, а аллергия в таком случае оказывается нежелательным побочным эффектом эволюции.

Вопросы для размышления

- Tx2-клетки (и продуцируемые ими цитокины) – это единственные наиболее важные факторы патогенеза аллергии. Верно ли такое утверждение?
- Если бы вы занимались разработкой новых подходов к лечению аллергии, по какому пути вы бы шли?
- Что следует предпринять для специфической блокады реакций поздней фазы в легких, и повлияет ли это на астматическую реакцию?
- Как можно проверить относительную роль генетического и средового факторов в развитии аллергии?
- С чем связано распространение аллергических заболеваний среди населения – с 1–2% в 1900 гг. до почти 30% в настоящее время?
- Действительно ли аллергическая астма представляет собой пример гиперчувствительности замедленного типа в легких?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Beaven M.A., Metzger H. 1993. Signal transduction by Fc receptors: the FcεRI case. *Immunol. Today* **14**: 222–6.

Bruynzeel-Koomen C., Wichen D., Toonstra J. et al. 1986. The presence of IgE molecules on epidermal Langerhans' cells in patients with atopic dermatitis. *Arch. Dermatol. Res.* **278**: 199–205.

Coca A.F., Cooke R.A. 1923. On the classification of the phenomenon of hypersensitiveness. *J. Immunol.* **8**: 163.

Cooke R.A., Vander-Veer A. 1916. Human sensitization. *J. Immunol.* **1**: 201.

de Vries J.E. 1994. Novel fundamental approaches to intervening in IgE-mediated allergic diseases. *J. Invest. Dermatol.* **102**: 141–4.

Galli S.J. 1993. New concepts about the mast cell. *N. Engl. J. Med.* **328**: 257–65.

Geha R.F. 1992. Regulation of IgE synthesis in humans. *J. Allergy Clin. Immunol.* **90**: 143–50.

Gordon J. 1991. CD23 novel disease marker with a split personality. *Clin. Exp. Immunol.* **86**: 356–9.

Gordon J.R., Burd P.R., Galli S.J. 1990. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunol. Today* **11**: 458–64.

Juto P. 1980. Elevated serum immunoglobulin E in T cell deficient infants fed cow's milk. *J. Allergy Clin. Immunol.* **66**: 402.

Kaliner M.A. 1987. The late-phase reaction and its clinical implications. *Hosp. Prac.* **15(Oct)**: 73–83.

Kharitonov S.A., Yates D., Robbins R.A. et al. 1994. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* **343**: 133–5.

Marsh D.G., Neely J.D., Breazeale D.R. et al. 1994. Linkage analysis of IL-4 and other chromosome

5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* **264**: 1152–6.

Miller J.S., Schwartz L.B. 1989. Human mast cell proteases and mast cell heterogeneity. *Curr. Opin. Immunol.* **1**: 637–42.

Montfort S., Robinson H.C., Holgate S.T. 1992. The bronchial epithelium as a target for inflammatory attack in asthma. *Clin. Exp. Immunol.* **22**: 511–20.

O'Hehir R.E., Lamb J.R. 1992. Strategies for modulating immunoglobulin E synthesis. *Clin. Exp. Allergy* **22**: 7–10.

Prausnitz C., Kustner H. *In:* Gell PGH, Coombes RRA (eds). 1962. *Clinical Aspects of Immunology*. Oxford: Blackwel Scientific Publications. 808–16 (Appendix).

Romagnani S. 1992. Human Th1 and Th2 subsets: Regulation of differentiation and role in protection and immunopathology. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **98**: 279–85.

Sedgwick J.D., Holt P.G. 1986. Induction of IgE-secreting cells in the lymphatic drainage of the lungs of rats following passive antigen inhalation. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **79**: 329–31.

Shau-Ku H., Marsh D.G. 1993. Genetics of allergy. *Ann. Allergy* **70**: 347–58.

Spry C.J.F., Jay A.B., Gleich G.J. 1992. Eosinophils. *Immunol. Today* **13**: 384–7.

Sutton B.J., Gould H.J. 1993. The human IgE network. *Nature* **366**: 421–8.

Takafuji S., Suzukki S., Kolzumi K., et al. 1987. Diesel-exhaust particulates inoculated by the intranasal route have adjuvant activity for IgE production in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* **79**: 639–45.

Wide L., Bennich H., Johansson S.G.O. 1967. Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. *Lancet* **ii**: 1105.

Гиперчувствительность – тип II

24

- **Реакции гиперчувствительности II типа** опосредованы IgG- или IgM-антителами к антигенам клеточной поверхности и внеклеточного матрикса. Может происходить и образование антител к внутриклеточным компонентам, но они обычно непатогенны, хотя могут иметь диагностическое значение.
- **Трансфузионные реакции на эритроциты** вызываются антителами к антигенам групп крови; образование таких антител может происходить независимо или в результате индукции предшествующим контактом с несовместимой тканью или кровью при трансплантации, переливании крови или беременности.
- **Антитела** повреждают клетки и ткани вследствие активации комплемента, а также связывания и активации эффекторных клеток, несущих Fcγ-рецепторы.
- **Гемолитическая болезнь новорожденных** развивается в тех случаях, когда материнские антитела к групповым антигенам крови плода проходят через плаценту и разрушают его эритроциты.
- **Повреждение тканей** могут вызывать антитела к базальным мембранам, молекулам межклеточной адгезии или рецепторам. Характер патологии зависит от молекул- и тканей-мишеней.

Антитела IgG и IgM, связываясь с определенными клетками или тканями, вызывают развитие реакций гиперчувствительности II типа. Локализация возникающих повреждений ограничена тем самым клетками или тканями, экспонирующими соответствующие антигены. Патогенность, как правило, характерна для антител к антигенам клеточной поверхности, тогда как антитела к внутриклеточным антигенам обычно непатогенны. В отличие от этого в реакциях III типа участвуют антитела к растворимым антигенам сыворотки, вызывающие образование в крови комплексов антиген–антитело. Повреждения в данном случае связаны с неспецифическим отложением таких комплексов в тех или иных тканях и/или органах (см. гл. 25).

МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЙ

При гиперчувствительности II типа повреждение клеток-мишеней обусловлено взаимодействием антител к антигенам клеточной поверхности или тканей с комплементом и различными эффекторными клетками (*рис. 24.1*).

Прикрепившиеся к поверхности клеток или тканей антитела могут связывать и активировать компонент C1 комплемента, вызывая следующие эффекты (см. гл. 4).

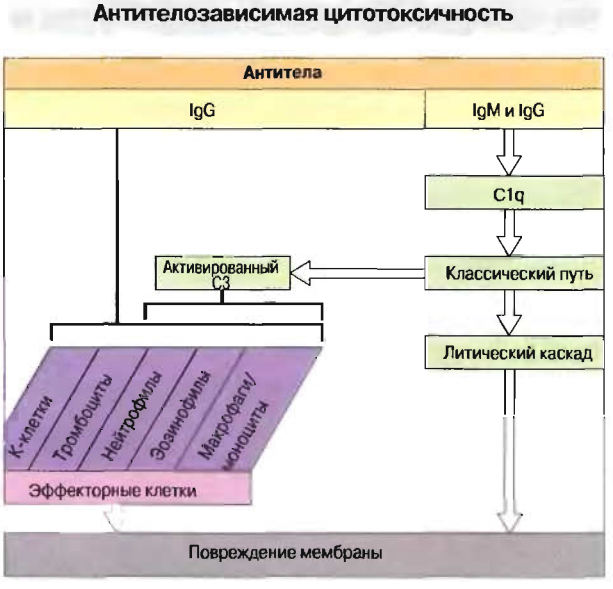


Рис. 24.1
Все эффекторные клетки (К-клетки, тромбоциты, нейтрофилы, эозинофилы и клетки мононуклеарно-фагоцитарного ряда) обладают рецепторами к Fc-фрагменту, посредством которых они взаимодействуют с антителами, фиксированными в тканях на клетках-мишенях. Активация C3 может непосредственно приводить к комплемент-опосредованному лизису клеток-мишеней или способствовать связыванию фагоцитов с их мишенями – при участии C3b, C3bi или C3d, которые одновременно активируют фагоциты.

- Фрагменты комплемента (C3a и C5a), образующиеся при его активации, привлекают к данному участку макрофаги и полиморфноядерные клетки, а также стимулируют продукцию тучными клетками и базофилами молекул, привлекающих и активирующих другие эффекторные клетки (см. гл. 10).
- Активация комплемента по классическому пути и действие механизма усиления приводят к отложению C3b, C3bi и C3d на мембране клеток-мишеней.
- Активация комплемента по классическому пути на ее конечной стадии приводит к образованию лизирующего мембрану комплекса (C5b–9), который встраивается в мембрану клетки-мишени.

Эффекторные клетки – в данном случае макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и K-(киллерные) клетки – взаимодействуют посредством своих Fc-рецепторов с фиксированными на клетках антителами или через свои C3-рецепторы с мембраносвязанными C3b, C3bi и C3d (см. *рис. 24.2* и гл. 5). Связывание антител с Fc-рецепторами фагоцитов стимулирует продукцию ими большего количества лейкотриенов и простагландинов, которые выполняют важную роль в процессе воспаления (см. гл. 5). Хемокины и хемотаксические молекулы, в том числе C5a, лейкотриен B_4 (LTB_4) и пептиды фибрина, также могут активировать поступающие в участок реакции клетки. Прочно связанные с клетками-мишенями и полностью активированные эффекторные клетки могут вызывать значительные повреждения (см. гл. 10).

Антитела разных изотипов различаются по способности индуцировать такие реакции, что зависит от эффективности связывания ими C1q или взаимодействия с Fc-рецепторами эффекторных клеток. Фрагменты комплемента или IgG могут выступать в роли опсонинов, связываясь с тканями хозяина или с микроорганизмами; опсонизированные частицы поглощаются фагоцитами. Повышая активность лизосомных ферментов фагоцитов и продукцию ими высокоактивных метаболитов кислорода, опсонины увеличивают способность этих клеток не только разрушать патогенные микробы, но и вызывать иммунопатологические реакции гиперчувствительности II типа (*рис. 24.3*). Например, у больных ревматоидным артритом нейтрофилы из синовиальной жидкости при стимуляции выделяют больше супероксид-анионов по сравнению с нейтрофилами из крови. Это считают следствием активации нейтрофилов в пораженных суставах под действием таких медиаторов, как иммунные комплексы и фрагменты комплемента.

Эффекторные клетки вызывают характерные для гиперчувствительности II типа повреждения клеток собственного организма посредством тех же механизмов, какими они действуют на инфекционные агенты (*рис. 24.4*). Так, большинство

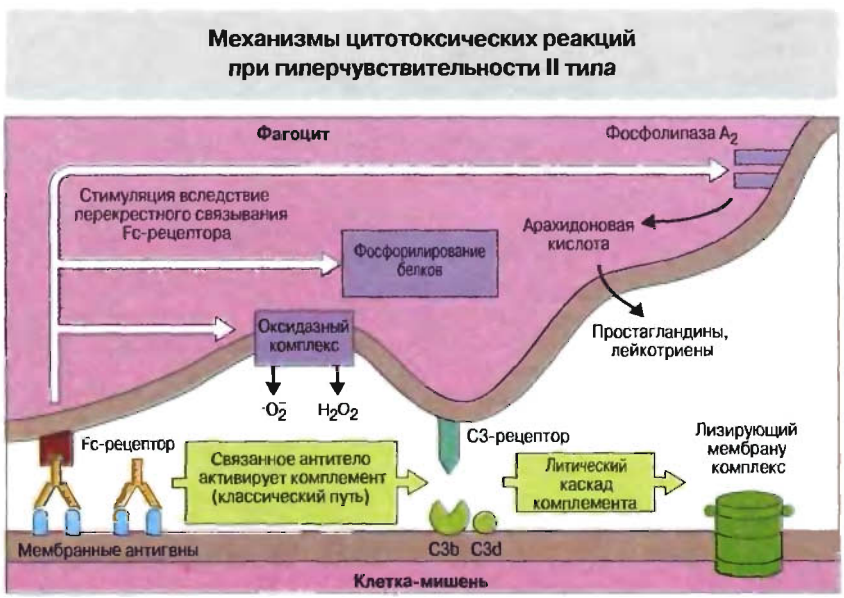


Рис. 24.2
Антитела, связываясь с мембранными антигенами клеток-мишеней, опсонизируют их, способствуя фагоцитозу. Перекрестное связывание антител с Fc-рецепторами на поверхности фагоцитов активирует мембранный оксидазный комплекс этих клеток, приводя к выдвлению ими кислородных радикалов; одновременно усиливается и фосфорилирование белков, т. е. происходит активация эффекторных клеток. Под действием фосфолипазы A_2 из мембранных фосфолипидов высвобождается арахидоновая кислота. Иммунные комплексы индуцируют отложение фрагмента C3b комплемента, также способного взаимодействовать с рецепторами фагоцитов. Активация литического каскада приводит к сборке лизирующего мембрану комплекса (ЛМК) из компонентов комплемента C5–C9.

Активация нейтрофилов

Функции нейтрофилов	Активатор					
	IgG	C3	IgG+C3	C5a	C5b67	IgA
Прикрепление	+	+	+++	+	–	+
Образование метаболитов кислорода	+	±	++++	+++	++	+
Выделение лизосомных ферментов	+	+	++++	+++	++	+
Хемотаксис	+	–	+	+++	++	?
Фагоцитоз	+	±	++++	–	–	?

Рис. 24.3
Нейтрофилы активируются фиксированными на клетках антителами (IgG или IgA) и активированными компонентами комплемента. Каждый из этих активаторов стимулирует определенные функции нейтрофилов. Обратите внимание, что активированный C3 (включая C3b, C3bi и C3d – в зависимости от зрелости участвующих в реакции клеток) и IgG усиливают эффекты друг друга. Действуя вместе, они формируют особенно сильный активационный сигнал для эффекторных клеток.

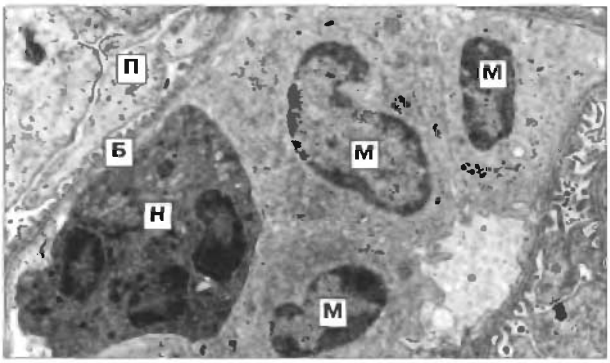


Рис. 24.5
Фагоциты, атакующие базальную мембрану. На электронной микрофотографии видны нейтрофил (Н) и три моноцита (М), связанные с базальной мембраной (Б) капилляра почки кролика, у которого имеются антитела к базальной мембране. (П – подоцит.) × 3500. (Фото любезно предоставлено проф. G.A. Andres.)

Механизмы повреждений



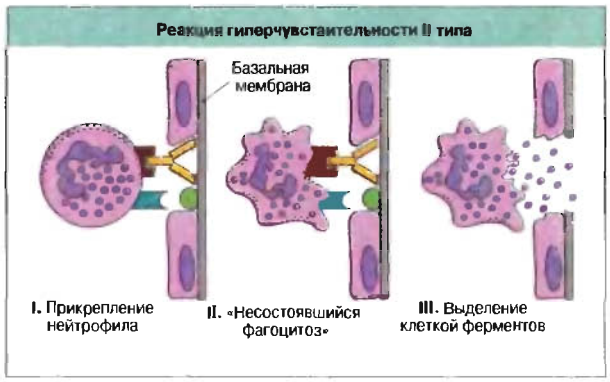


Рис. 24.4
Повреждающее действие нейтрофилов на собственные ткани – это отражение нормальной антибактериальной функции этих клеток. **1.** Нейтрофилы взаимодействуют с микробами через свои Fc- и C3-рецепторы. **2.** Затем микробную клетку поглощает фагоцит, внутри которого она разрушается по мере слияния лизосом и фагосомы с образованием фаголизосомы **(3).** При реакциях гиперчувствительности II типа отдельные нагруженные антителами клетки хозяина также могут подвергаться фагоцитозу, но при крупных размерах мишени, если это, например, базальная мембрана **(I)**, нейтрофилы неспособны фагоцитировать ее **(II)** и выделяют содержимое лизосом наружу, повреждая близлежащие клетки **(III)**.

патогенных микробов (если они не резистентны к воздействию фагоцитов) уничтожается внутри фаголизосом в результате совместного действия высокоактивных метаболитов кислорода и азота, радикалов, ионов, ферментов, изменения pH и влияния других факторов, обеспечивающих лизис. Если объект слишком крупный для фагоцитоза, эффекторные клетки выделяют содержимое своих гранул и лизосом в направлении сенсибилизированной мишени (экзоцитоз) (*рис. 24.4*). В определенных случаях, например при эозинофильной реакции на инвазию шистосом (см. гл. 18), выброс содержимого гранул обеспечивает защиту; когда же мишенью оказываются сенсибилизированные антителами клетки хозяина, эта реакция приводит к повреждению собственных тканей (*рис. 24.5*).

Антитела вызывают реакцию гиперчувствительности и путем перекрестного связывания K-клеток с тканями-мишенями. K-клетки присутствуют главным образом в популяции больших

гранулярных лимфоцитов и связываются с антителами через свои высокоаффинные Fc-рецепторы. В условиях in vitro они оказывают цитотоксическое действие на клетки многих типов, осуществляя его преимущественно посредством цитокинов и путем экзоцитоза гранул. Однако оценить вклад активности К-клеток в развитие реакций гиперчувствительности II типа довольно трудно, отчасти из-за того, что не существует двух клеток-мишеней, обладающих равной чувствительностью к данной эффекторной клетке. Чувствительность клеток-мишеней зависит от количества экпрессированного на их поверхности антигена и от их способности к репарации повреждений. Например, для лизиса одного эритроцита достаточно одного лизирующего мембрану комплекса, тогда как для лизиса большинства ядерных клеток требуется много таких комплексов.

Ниже рассмотрен ряд ситуаций, в которых, как принято считать, реакции гиперчувствительности II типа служат основной причиной деструкции клеток-мишеней, т. е. иммунопатологии.

РЕАКЦИИ ПРОТИВ КЛЕТОК КРОВИ

Наиболее яркие примеры гиперчувствительности II типа – это антиэритроцитарные реакции. Они могут вызывать тяжелые последствия в следующих случаях:

- переливание несовместимой крови, когда реципиент сенсибилизирован к поверхностным антигенам эритроцитов донора;
- гемолитическая болезнь новорожденных, возникающая в результате сенсибилизации беременной женщины эритроцитами плода, и
- аутоиммунные гемолитические анемии, когда больной сенсибилизирован собственными эритроцитами.

Антитромбоцитарные реакции могут служить причиной тромбоцитопении; при системной красной волчанке имеют место антинейтрофильные и антилимфоцитарные реакции.

Трансфузионные реакции развиваются при наличии у реципиента антител, реагирующих с эритроцитами донора

У человека идентифицировано более 20 систем групп крови, определяющих существование более 200 генетических вариантов эритроцитарных антигенов. Каждая система групп крови представляет собой генный локус, определяющий специфичность антигенов на поверхности клеток крови (обычно, но не всегда, эритроцитов). В каждой системе возможны два или большее число фенотипов. Система АВ0, например, определяет четыре возможных фенотипа (А, В, АВ и 0) и, следовательно, четыре группы крови. Иммуноциты индивида с данной группой крови распознают эритроциты, несущие аллогенные (несвои) антигены и вырабатывают антитела к ним. Для некоторых групповых антигенов антитела могут быть и «естественными», т. е. вырабатываться без предшествующей сенсибилизации чужеродными эритроцитами (см. ниже). Трансфузия аллогенных эритроцитов человеку, у которого имеются антитела к ним, может вызывать разрушение эритроцитов и появление симптомов «трансфузионной реакции». Некоторые групповые антигены крови (АВ0 и резус) обладают относительно сильной иммуногенностью, т. е. чаще индуцируют образование антител. Планируя переливание крови, важно предусмотреть совместимость донора и реципиента по этим главным группам крови, иначе возникнут трансфузионные реакции. Некоторые основные системы групп крови человека перечислены на *рис. 24.6*.

Система АВ0 Это наиболее важная система; соответствующие эпитопы присутствуют не только на эритроцитах, но и на клетках многих других типов, и локализованы в углеводной части гликопротеинов. Структура этих углеводов, как и углеводов, определяющих близкую систему групп крови – Льюис, зависит от генов ферментов, транспортирующих терминальные сахара к углеводному скелету (*рис. 24.7*). У большинства людей присутствуют антитела к аллогенным антигенам системы АВ0, так как их образование не требует предварительной сенсибилизации чужеродными эритроцитами; необходимая сенсибилизация происходит при контакте с идентичными эпитопами, экспрессируемыми на клетках многих видов микроорганизмов. Поэтому антитела к антигенам АВ0 встречаются очень часто, что придает чрезвычайную важность подбору донорской крови именно по этой системе. Однако все люди толерантны к антигену 0, и поэтому носители данного антигена являются универсальными донорами в отношении системы АВ0.

Система резус Эта система также очень важна, поскольку именно с ней связана основная причина гемолитической болезни новорожденных.

Пять основных систем групп крови, обусловливающих трансфузионные реакции

Система	Генные локусы	Антигены	Частота фенотипа
ABO	1	A, B или 0	A 42% B 8% AB 3% 0 47%
Резус	2 тесно сцепленных локуса: основной антиген – RhD	C или c D или d E или e	RhD^+ 85% RhD^- 15%
Келл	1	K или k	K 9% k 91%
Даффи	1	Fy^a, Fy^b или Fy	Fy^aFy^b 46% Fy^a 20% Fy^b 34% Fy 0,1%
MN	1	M или N	MM 28% MN 50% NN 22%

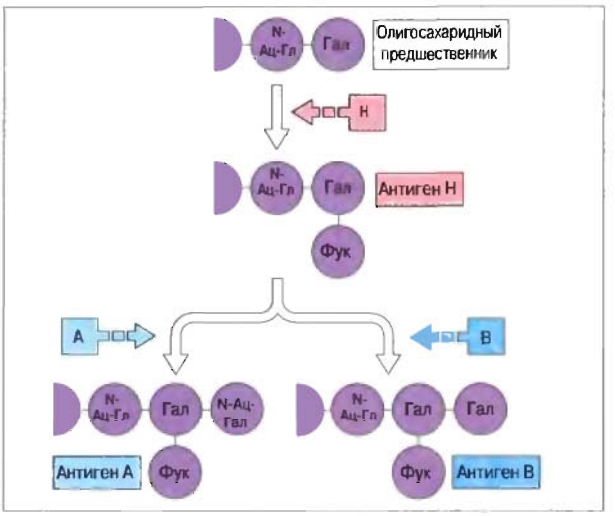
Рис. 24.6
Не все групповые антигены обладают равной антигенностью: так, RhD вызывает более сильную трансфузионную реакцию у несовместимого реципиента, чем другие антигены системы резус, а Fy^a – более сильную, чем Fy^b. Указанные частоты фенотипов характерны для европеоидов. Для других рас характерна иная частота генов.

Антигены резус ассоциированы с мембранными белками 30 кДа, которые в умеренном количестве экспрессированы на поверхности эритроцитов. Эти антигены кодируются двумя тесно сцепленными генными локусами – RhD и RhCcEe, характеризующимися 92% гомологией. С клинической точки зрения наиболее важен RhD , поскольку он высокоиммуногенен; у лиц RhD^- локус RhD полностью отсутствует. Локус RhCcEe кодирует молекулу, содержащую эпитопы RhC/c и RhE/e.

Минорные системы групп крови Эпитопы системы MN представлены N-концевыми гликозилированными участками гликофорина A – гликопротеина поверхности эритроцитов. Антигенность определяется полиморфизмом аминокислотных остатков 1 и 5. Носителем антигенов близкой системы Ss является гликофорин B. Зависимость групп крови от поверхностных белков эритроцитов представлена на *рис. 24.8*. Минорные группы крови относительно редко служат причиной трансфузионных реакций, если только не производятся повторные переливания. И опять-таки, тщательный подбор донорской крови резко снижает риск таких реакций.

Проба на совместимость Цель такой пробы заключается в том, чтобы проверить, не содержатся ли в крови реципиента антитела, способные реагировать с эритроцитами донора и разрушать их. Например, антитела к антигенам системы ABO вызывают агглютинацию несовместимых клеток и эта реакция видна невооруженным глазом.

Антигены групп крови ABO



Группа крови (фенотип)	Генотипы	Антигены	Антитела к антигенам ABO в сыворотке
A	AA, A0	A	анти-B
B	BB, B0	B	анти-A
AB	AB	A и B	Нет
0	00	H	анти-A и анти-B

Рис. 24.7
Схема, иллюстрирующая формирование системы групп крови ABO. Фермент, кодируемый геном H, прикрепляет остаток фукозы (Фук) к терминальному галактозному (Гал) остатку олигосахаридного предшественника. У лиц, обладающих геном A, к этому остатку галактозы присоединяется N-ацетилгалактозамин (N-Ац-Гал), а у лиц с геном B – вторая молекула галактозы; в результате образуются антигены A и B соответственно. У лиц с обоими генами образуются оба антигена. В таблице указаны генотипы и антигены системы ABO. У большинства людей продуцируются «естественные» антитела к отсутствующим у них антигенам.

Эритроцитарные антигены групп крови

Гликопротеины поверхности эритроцитов	Группы крови	Количество эпитопов на клетку
Анион-транспортный белок	ABO, Ii	10^6
Гликофорин A	MN	10^6
Переносчик глюкозы	ABO, Ii	$5 \cdot 10^5$
Белок с относительной мол. массой 45 000–100 000	ABO	
Белок с относительной мол. массой 30 000	ABO, Rh	$1{,}2 \cdot 10^5$
Гликофорин B	N, Ss	$2{,}5 \cdot 10^5$
Гликофорины C и D	Гербич (Ge)	10^5
ФУД (фактор ускорения диссоциации)	Кромер	<10 000
CD44 (80 кДа)	Ina/Inh	3000–6000
Келл (93 кДа)	Келл	3000–6000
Fg (40 кДа)	Fg	12 000
Лютеран (78 и 85 кДа)	Лютеран	1500–4000

Рис. 24.8
Обратите внимание, что групповые эпитопы, формируемые углеводными структурами, такие как ABO и Ii (экспрессированный на полисахариде – предшественнике ABO), могут появляться на многих различных белках, включая Rh-антигены. Другие групповые антигены, например резус и Кромер, представляют собой белки, поэтому носителями данных эпитопов могут быть лишь определенные белковые молекулы. Как правило, наиболее важные групповые антигены крови присутствуют на эритроцитах в большом количестве, создавая тем самым изобилие мишеней для комплемент-зависимого лизиса или опосредованного Fc-рецепторами клиренса.

Антигены минорных систем групп крови вызывают менее выраженные реакции, которые можно зарегистрировать только с помощью непрямого теста Кумбса (см. *рис. 24.12*). При переливании цельной крови необходимо убедиться и в том, что сыворотка донора не содержит антител к эритроцитам реципиента. Однако переливание цельной крови осуществляют редко. Донорскую кровь обычно разделяют на клеточную и сывороточную фракции, которые используют порознь.

При трансфузионных реакциях происходит массовое разрушение клеток крови хозяина

Трансфузия эритроцитов реципиенту, у которого имеются антитела к этим клеткам, вызывает немедленную реакцию – лихорадку, падение давления, тошноту и рвоту, а также боли в спине и груди. Тяжесть реакции зависит от класса и количества участвующих в ней антител.

Антитела к антигенам системы ABO обычно относятся к классу IgM и вызывают агглютинацию, активацию комплемента и внутрисосудистый гемолиз.

Другие системы групповых антигенов крови индуцируют образование антител IgG, которые по сравнению с IgM слабее агглютинируют эритроциты. Клетки, сенсибилизированные IgG, обычно поглощаются фагоцитами печени и селезенки, хотя при тяжелых реакциях разрушение эритроцитов происходит и вследствие активации комплемента. В таких случаях возможно развитие коллапса, а выделяющееся содержимое эритроцитов может вызвать острый некроз почечных канальцев. Эти острые трансфузионные реакции часто наблюдаются у несенсибилизированных лиц и развиваются через несколько суток или недель, по мере образования антител к чужеродным клеткам. В результате возникает анемия или желтуха.

Возможны трансфузионные реакции и на другие компоненты крови, хотя их последствия, как правило, не столь серьезны, как реакций на эритроциты.

Сверхострое отторжение трансплантата связано с трансфузионной реакцией

В тех случаях, когда у реципиента уже имеются антитела к трансплантируемой ткани, происходит сверхострое отторжение трансплантата. Оно возможно лишь в отношении тех тканей, которые реваскуляризуются сразу же после пересадки, например при пересадке почки. Наиболее тяжелые реакции отторжения этого типа обусловлены антигенами системы ABO, присутствующими на почечных клетках. Повреждение вызывают антитела и активация комплемента в кровеносных сосудах с последующим привлечением и активацией нейтрофилов и тромбоцитов. Однако в настоящее время, благодаря тщательному подбору доноров и реципиентов по антигенам ABO, такие реакции наблюдаются крайне редко. Антитела к другим антигенам трнсплантата (например, молекулам MHC), образовавшиеся при предыдущих пересадках, также могут вызывать реакции этого типа.

Гемолитическую болезнь новорожденных вызывают материнские IgG-антитела, реагирующие с эритроцитами плода in utero

Гемолитическая болезнь новорожденных (ГБН) развивается в тех случаях, когда мать сенсибили-

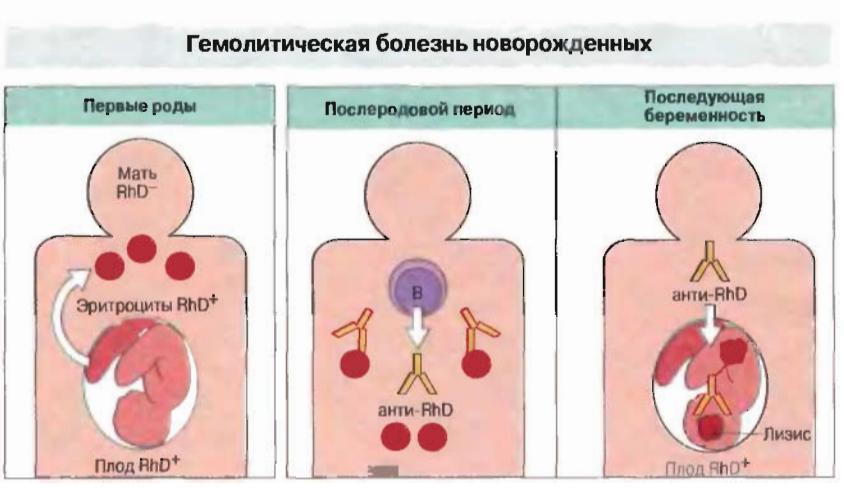


Рис. 24.9
Эритроциты резус$^+$ (RhD$^+$) плода попадают в кровь матери обычно во время родов. Это стимулирует образование антител анти-Rh класса IgG в послеродовой период. При последующих беременностях IgG-антитела проходят через плаценту в кровь плода (антитела IgM через плаценту не проникают). Если плод опять оказывается RhD$^+$, IgG-антитела матери вызывают разрушение его эритроцитов.



Рис. 24.10
Ребенок, страдающий ГБН. Для этой болезни характерно значительное увеличение размеров печени и селезенки из-за разрушения эритроцитов, вызванного материнскими антиэритроцитарными антителами, попавшими в кровь плода. В крови ребенка повышена концентрация билирубина (продукта распада гемоглобина). Геморрагические петехии на лице обусловлены нарушением функции тромбоцитов. Чаще всего такие реакции направлены против антигена RhD. (Фото любезно предоставлено д-ром K. Sloper.)

зирована эритроцитарными антигенами плода и у нее образуются IgG-антитела к этим антигенам. Такие антитела проходят через плаценту и реагируют с эритроцитами плода, вызывая их разрушение (*рис. 24.9* и *24.10*). Чаще всего в этих реакциях участвует антиген резус D (RhD).

При второй беременности сенсибилизированной Rh$^-$-матери, если плод и на этот раз оказывается Rh$^+$, риск ГБН возрастает. Сенсибилизация Rh$^-$-матери Rh$^+$-эритроцитами плода обычно происходит при рождении первого Rh$^+$-ребенка, когда какая-то часть его эритроцитов попадает через плаценту в кровь матери и распознается ее иммунной системой. Таким образом, первый Rh$^-$-несовместимый ребенок обычно остается здоровым, тогда как для последующих детей высок риск заболевания, поскольку мать при каждой новой беременности сенсибилизируется повторно.

ГБН может быть связана и с реакциями на другие групповые антигены крови; следующим по частоте иммуногенным антигеном является K-антиген системы Келл. Реакции, обусловленные антителами анти-K, встречаются гораздо реже, чем обусловленные анти-RhD, поскольку антиген K встречается относительно редко (9%) и обладает более слабой антигенностью.

Известно, что риск ГБН вследствие резус-несовместимости уменьшается, если у отца и матери группы крови системы AB0 различные. Это наблюдение позволило считать, что в таких случаях в организме Rh$^-$-матери клетки Rh$^+$ разрушаются быстрее, поскольку они несовместимы и по антигенам AB0. В результате Rh$^+$-эритроциты плода не успевают сенсибилизировать мать. Отсюда возникла идея резус-профилактики: сразу после рождения Rh$^+$-ребенка Rh$^-$-матерью ей вводят антитела анти-RhD с целью разрушить попавшие в ее кровь эритроциты Rh$^+$-плода прежде, чем они смогут оказать сенсибилизирующее

действие. Таким способом удалось существенно снизить частоту ГБН, обусловленной резус-несовместимостью (*рис. 24.11*).

Аутоиммунные гемолитические анемии возникают либо спонтаннно, как аутоиммунные заболевания, либо как реакции на лекарственные препараты

Реакции на групповые антигены крови могут развиваться спонтанно, как это наблюдается при аутоиммунных гемолитических анемиях, когда у больных происходит выработка антител к собственным эритроцитам. Подозрение на аутоиммунную гемолитическую анемию возникает в том случае, когда кровь больного дает положительный результат в непрямом антиглобулиновом тесте (*рис. 24.12*), выявляющем присутствие антител на эритроцитах. Обычно эти антитела направлены против эритроцитарных антигенов или иммунных комплексов, адсорбированных на поверхности эритроцитов. Непрямой антиглобулиновый тест применяется также для обнаружения антител на эритроцитах при переливании иногруппной крови и при ГБН (см. выше). Аутоиммунные гемолитические анемии можно разделить на три типа в зависимости от того, чем они вызваны:

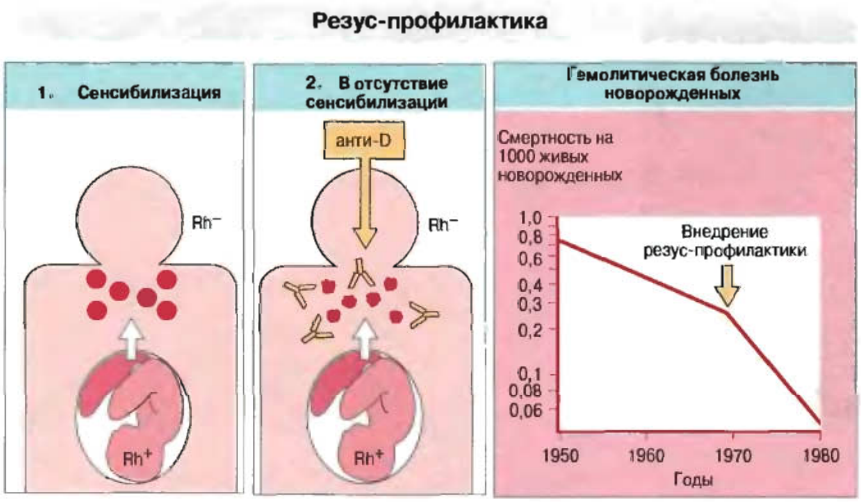


Рис. 24.11
1. В отсутствие профилактики эритроциты Rh^+, попадающие в кровь Rh^--матери, сенсибилизируют ее к антигену Rh. **2.** Если женщине сразу же после родов вводят антитела анти-Rh (анти-D), они разрушают Rh+-эритроциты и предотвращают сенсибилизацию. В период 1950–1966 гг. снижение смертности от ГБН было связано с общим улучшением медицинского обслуживания. Внедрение резус-профилактики в 1969 г. заметно ускорило это снижение.

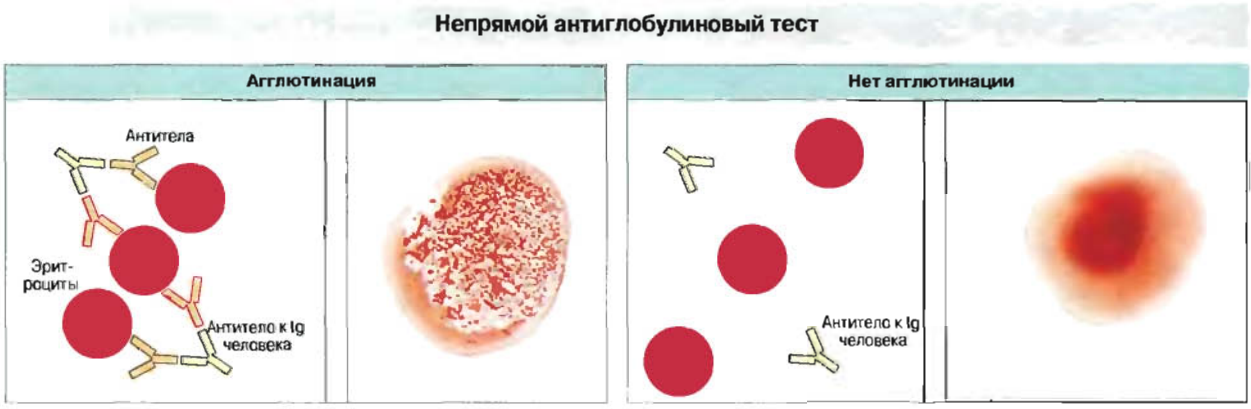


Рис. 24.12
Этот тест, называемый также пробой Кумбса, применяют для обнаружения антител на поверхности эритроцитов больного. При наличии таких антител антитела к иммуноглобулину человека вызывают агглютинацию эритроцитов. В отсутствие антител на эритроцитах антиглобулин человека агглютинации не вызывает.

- тепловыми аутоантителами, реагирующими с антигеном при 37 °С,
- холодовыми аутоантителами, реагирующими с антигеном только при температуре ниже 37 °С, или
- антителами, образующимися при аллергической реакции на лекарственные препараты.

Тепловые аутоантитела ускоряют элиминацию эритроцитов

Тепловые аутоантитела часто образуются к антигенам системы резус, в том числе к детерминантам локусов RhC, RhE и RhD. От антител, вызывающих трансфузионные реакции, они отличаются тем, что взаимодействуют с другими эпитопами. Существуют тепловые аутоантитела и к другим групповым антигенам крови, но они встречаются редко. Причины гемолитических анемий обычно остаются неизвестными, но некоторые из этих заболеваний ассоциированы с другими аутоиммунными болезнями. Анемия чаще связана с ускоренным разрушением сенсибилизированных эритроцитов селезеночными макрофагами, чем с их комплемент-опосредованным лизисом.

Холодовые аутоантитела вызывают лизис эритроцитов в результате фиксации комплемента

Холодовые аутоантитела часто присутствуют в более высоких титрах, чем тепловые. Они принадлежат главным образом к классу IgM и прочно связывают комплемент. В большинстве случаев эти антитела специфичны по отношению к антигенам системы групп крови Ii. Эпитопы I и i присутствуют на молекулах – предшественниках полисахаридов, содержащих эпитопы системы АВО, и являются результатом неполного гликолизирования основного полисахарида.

Реакция холодовых антител с эритроцитами происходит в периферической крови – кожных капиллярах, где температура крови, особенно в зимнее время, может упасть ниже 30 °С. В тяжелых случаях агрегация клеток и микротромбоз мелких сосудов, вызванные комплемент-опосредованным разрушением эритроцитов, приводят к некрозу периферических тканей. Тяжесть анемии поэтому непосредственно связана со способностью сыворотки больного фиксировать комплемент. (Опосредованного Fc-рецепторами разрушения сенсибилизированных клеток в селезенке и печени в данном случае не происходит, поскольку температура этих органов слишком высока для взаимодействия этих антител с эритроцитами.)

Холодовые аутоиммунные гемолитические анемии чаще всего встречаются у людей пожилого возраста. Их причина неизвестна, но следует подчеркнуть, что образующиеся аутоантитела обладают весьма ограниченной клональностью, что указывает на присутствие ограниченного числа аутореактивных клонов. В то же время в ряде случаев болезни предшествует инфекция, вызванная *Mycoplasma pneumoniae*; анемия при этом возникает остро, длится недолго и характеризуется присутствием поликлональных аутоантител. Такие случаи, как считают, обусловлены перекрестным взаимодействием антигенов на поверхности бактерий и эритроцитов, которое вызывает нежелательные реакции в обход нормальных механизмов толерантности (см. гл. 28).

«Лекарственные» реакции на компоненты крови могут быть вызваны как связыванием антител с адсорбированными на клетках веществами, так и срывом аутотолерантности

Лекарственные препараты (или продукты их катаболизирования) могут провоцировать реакции гиперчувствительности против клеток крови (включая эритроциты и тромбоциты) тремя разными путями (*рис. 24.13*).

- Реакция возникает в том случае, если происходит связывание лекарственного вещества с клетками крови и к нему образуются антитела. При этом варианте необходимо присутствие как вещества, так и антител. Соответствующий феномен впервые был описан Акройдом (Ackroid), который обнаружил тромбоцитопеническую пурпуру (разрушение тромбоцитов, ведущее к появлению красной сыпи) после введения лекарственного препарата седормида. После введения многих лекарств, включая пенициллин, хинин и сульфаниламиды, наблюдались гемолитические анемии. Подобные реакции встречаются редко.
- Если на клеточной мембране эритроцитов адсорбируются иммунные комплексы «лекарственное вещество–антитело», происходит опосредованный комплементом лизис клеток.
- Когда лекарственное вещество вызывает аллергическую реакцию и аутоантитела направлены против самих эритроцитарных антигенов, это также вызывает повреждение, как, например, у 0,3 % больных, получающих α-метилдофа. Образующиеся при этом антитела

Реакции на клетки крови, вызываемые лекарственными веществами: возможные механизмы повреждения

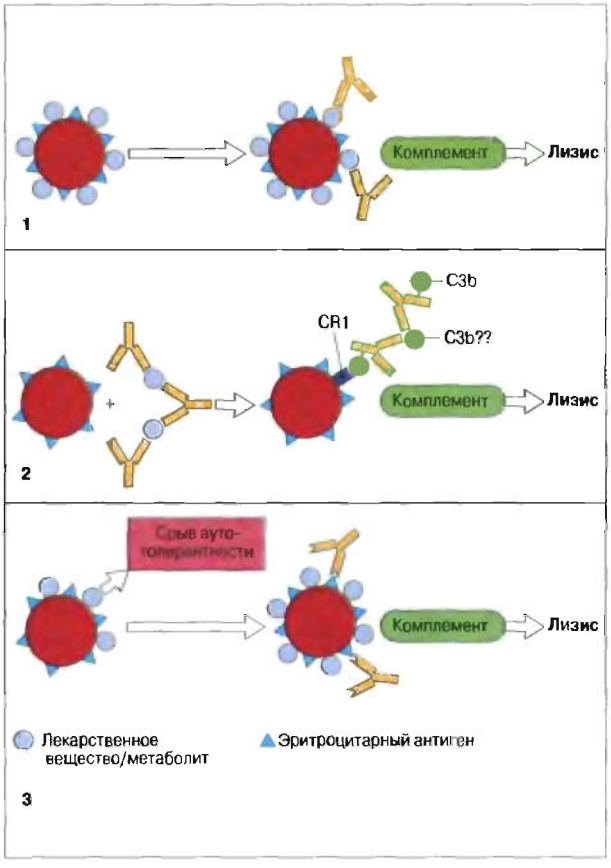


Рис. 24.13
Три механизма повреждения, вызываемого лекарственными веществами. **1.** Вещество адсорбируется на клеточных мембранах. Антитела к нему связываются с клеткой и обусловливают ее комплемент-опосредованный лизис.
2. Иммунные комплексы, состоящие из вещества и антитела, адсорбируются на эритроцитах. Это могло бы происходить при участии Fc-рецептора, но вероятнее участие CR1-рецептора C3b. Повреждение обусловлено комплемент-опосредованным лизисом клеток.
3. Вещество, предположительно адсорбированное на клеточной поверхности, вызывает срыв аутотолерантности, возможно в результате стимуляции Т-хелперных (Тх) клеток. Это приводит к образованию антител к другим антигенам (групповым антигенам крови) клеточной поверхности.
Обратите внимание, что в случаях **1** и **2** для возникновения повреждения необходимо присутствие вещества на клетке, тогда как в случае **3** клетки разрушаются независимо от адсорбции на нем вещества.

сходны с тепловыми. В подобных случаях вскоре после отмены препарата наступает выздоровление.

При системной красной волчанке и тромбоцитопении развиваются реакции против других клеток крови

Антитела к нейтрофилам и лимфоцитам Аутоантитела к нейтрофилам (*рис. 24.14*) полностью тканеспецифичны; они связываются только с нейтрофилами и ни с чем больше. (Напротив, антитела к антигенам системы АВ0 практически не обладают тканеспецифичностью, поскольку те же антигены этой системы присутствуют не только на эритроцитах, но и на клетках почек, слюнных желез и многих других тканей.) При системной красной волчанке (СКВ) обнаруживаются антитела как к нейтрофилам, так и к лимфоцитам, но роль таких антител в патогенезе заболевания относительно невелика, возможно потому, что эти клетки очень быстро удаляют связанные антитела со своей поверхности.



Рис. 24.14
Антитела к нейтрофилам при СКВ, обнаруживаемые по иммунофлуоресценции нормальных нейтрофилов. (К нормальным нейтрофилам добавляли сыворотку больного СКВ, а затем антитела к Fab′-человека, меченные флуоресцентным красителем. Микрофотография отчетливо указывает на присутствие антител к нейтрофилам.) Острая трансфузионная реакция против нейтрофилов может сопровождаться повышением температуры тела, вероятно вследствие высвобождения пирогенных веществ из поврежденных клеток. Это свидетельствует о способности антинейтрофильных антител повреждать нейтрофилы, хотя роль таких антител в патогенезе СКВ остается неясной. (Воспроизведено с разрешения из *J. Clin. Inv.*, 1979; **64**:902–12.)

Антитела к тромбоцитам Аутоантитела к тромбоцитам присутствуют почти у 70% больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (при этом заболевании происходит ускоренное исчезновение тромбоцитов из циркуляции, главным образом в результате поглощения их макрофагами селезенки). В элиминации тромбоцитов участвуют макрофагальные рецепторы иммуноадгезии.

Тромбоцитопеническая пурпура чаще развивается после бактериальных или вирусных инфекций, но может быть связана и с аутоиммунными заболеваниями, в том числе СКВ. При СКВ иногда определяются антитела к кардиолипину мембраны тромбоцитов. Аутоантитела к кардиолипину и другим фосфолипидам могут нарушать одну из реакций свертывания крови (в этом случае их называют волчаночным антикоагулянтом) и в ряде случаев служат причиной венозного тромбоза и повторных выкидышей. Механизмы развития тромбоцитопении под влиянием лекарственных веществ могут быть сходны с теми, которые показаны на *рис. 24.13*.

РЕАКЦИИ ПРОТИВ ТКАНЕВЫХ АНТИГЕНОВ

Существует ряд аутоиммунных заболеваний, при которых аутоантитела к тканевым антигенам повреждают ткани посредством механизмов гиперчувствительности II типа. Антигены при этом расположены вне клеток, а именно на структурных белках ткани или на клеточной поверхности. Примеры таких заболеваний – синдром Гудпасчера, пузырчатка и злокачественная миастения – рассмотрены ниже.

Нередко можно обнаружить антитела и к внутриклеточным антигенам различных клеток, но их роль в механизмах гиперчувствительности II типа менее изучена. В таких случаях большее значение имеет, вероятно, взаимодействие антигена с Т-клетками, аутоантитела же образуются вторично.

Нефрит при синдроме Гудпасчера вызывают антитела к базальной мембране

У многих больных нефритом обнаруживаются антитела к гликопротеину базальной мембраны клубочковых капилляров. Обычно эти антитела принадлежат к классу IgG и по меньшей мере у 50 % больных они способны фиксировать комплемент. При таком нефрите, как правило, развивается некроз клубочков с отложением фибрина.

Гудпасчер (Goodpasture) впервые описал сочетание нефрита этого типа с кровоизлияниями в легких (отсюда «синдром Гудпасчера»). Легочные симптомы имеют место не у всех больных, однако сочетание легочных и почечных повреждений обусловлено наличием перекрестнореагирующих аутоантигенов в двух этих тканях.

Существует ряд экспериментальных моделей синдрома Гудпасчера. Так, введение крысам или кроликам гетерологичных антител к базальной мембране почечных клубочков вызывает у животных нефротоксический нефрит [гломерулонефрит Масуги (Masugi)]. Введенные антитела откладываются на базальных мембранах, затем на этих антителах происходит отложение уже антител хозяина, что вызывает острый нефрит. Развитие нефрита и протеинурии обусловлено накоплением нейтрофилов, которые связываются по комплемент-зависимому и по комплемент-независимому механизмам. Аналогичные повреждения можно вызвать иммунизацией животных гетерологичными базальными мембранами [модель Стебли (Steblay)].

Еще одна модель заболевания [нефрит Хейманна (Heymann)], напоминающего мембранный гломерулонефрит у человека, воспроизводится у животных при выработке у них аутоантител к белку щеточной каемки эпителиальных клеток клубочковых капилляров. В этом случае повреждение опосредуется в основном комплементом: истощение животных по комплементу уменьшает тяжесть заболевания.

Пузырчатку вызывают аутоантитела к молекуле межклеточной адгезии

Обыкновенная пузырчатка представляет собой тяжелое заболевание, сопровождающееся образованием пузырей на коже и слизистых оболочках. У больных определяются аутоантитела к десмоглеину-3 – компоненту десмосом, формирующему контакты между клетками эпидермиса (*рис. 24.15*). Эти антитела нарушают связь между клетками, что приводит к нарушению целостности эпидермального слоя. Заболевание коррелирует с присутствием антител IgG4 к различным участкам молекулы десмоглеина-3. Пузырчатка тесно ассоциирована с редким гаплотипом HLA-DR4 (DRB1*0402), причем установлено, что данная молекула в отличие от других субтипов DR4 презентирует пептид десмоглеина-3. Таким образом, пузырчатка служит наглядным примером ау-

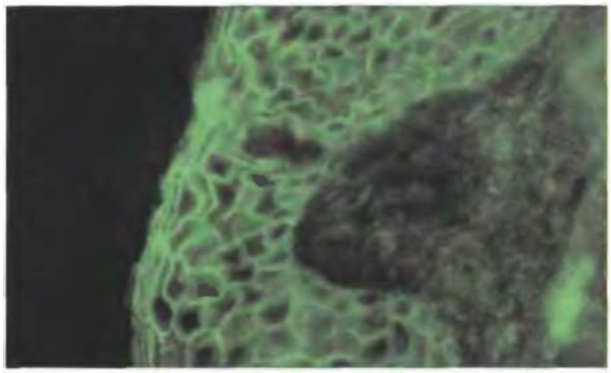


Рис. 24.15
При пузырчатке выявляются аутоантитела в местах межклеточных соединений (иммунофлуоресцентный метод). Антиген входит в состав десмосом, обеспечивающих межклеточную адгезию. Иммунофлуоресценция кожи человека, окрашенной анти-IgA. (Микрофотография любезно предоставлена д-ром R. Mirakian и г-ном P. Collins.)

тоиммунных заболеваний, при которых патологический процесс связан с механизмами гиперчувствительности II типа.

Злокачественную миастению и синдром Ламберта–Итона (Lambert–Eaton) вызывают антитела, уменьшающие доступность ацетилхолина в концевых пластинках двигательных нейронов

При злокачественной миастении (заболевание, характеризующееся крайней мышечной слабостью) образуются антитела к рецепторам ацетилхолина на поверхности мышечных мембран. Рецепторы ацетилхолина расположены на концевой пластинке мышечного волокна, там где двигательный нейрон контактирует с мышцей. Передача импульсов с нерва на мышцу происходит путем выделения ацетилхолина из нервного окончания и его диффузии через синаптическую щель к мышечному волокну.

Иммунизация очищенным препаратом рецептора к ацетилхолину вызывает у экспериментальных животных состояние мышечной слабости, напоминающее миастению у человека; на основании этого было высказано предположение о роли антител к рецептору ацетилхолина в патогенезе этого заболевания. Анализ мышечной патологии при миастении показал, что при данном заболевании ни синтез ацетилхолина, ни его выделение в ответ на нервный импульс не нарушаются; по-видимому, выделяющийся ацетилхолин слабее деполяризует мышечную мембрану (*рис. 24.16*).

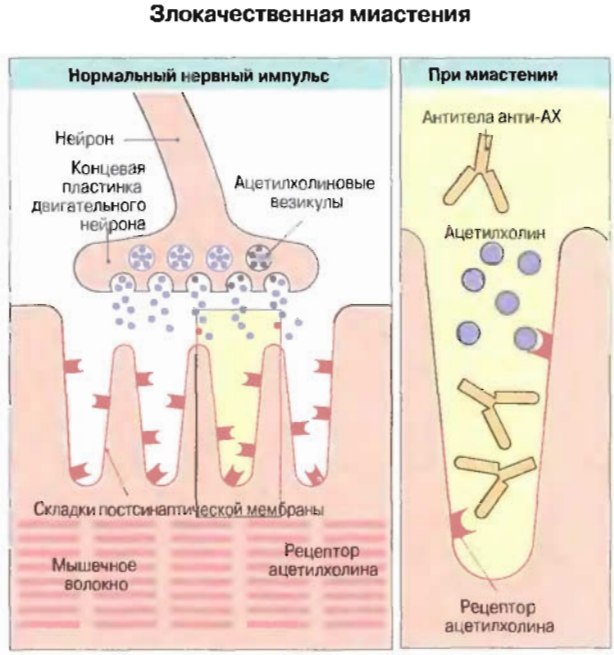


Рис. 24.16
Проходящий по нейрону нервный импульс в норме достигает концевой пластинки и вызывает выделение ацетилхолина (АХ). Последний диффундирует через нервно-мышечный синапс, связывается с ацетилхолиновыми рецепторами мышцы и вызывает открытие ионных каналов в мышечной мембране, что инициирует мышечное сокращение. При злокачественной миастении антитела к рецепторам блокируют связывание медиатора (ацетилхолина). Поэтому эффект выброса ацетилхолина из везикул уменьшается и мышца становится очень слабой. Вероятно, это лишь один из факторов патогенеза данного заболевания.

Иммунохимическое исследование концевых пластинок нейро-мышечных синапсов обнаружило присутствие IgG и белков комплемента C3 и C9 на складках постсинаптической мышечной мембраны (*рис. 24.17*). (Дополнительным доказательством патогенной роли IgG при этом заболевании стало обнаружение транзиторной мышечной слабости у новорожденных от страдающих миастенией матерей. Это веский аргумент, поскольку известно, что IgG способен проникать через плаценту в кровоток плода.) Считается, что IgG и комплемент действуют двумя путями: увеличивая скорость оборота рецепторов ацетилхолина и частично блокируя связывание ацетилхо-

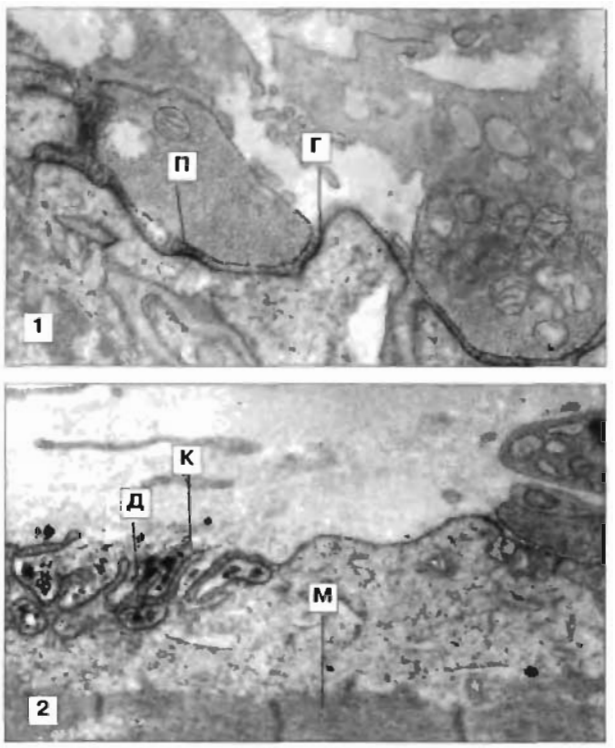


Рис. 24.17
Электронные микрофотографии, показывающие локализацию IgG-аутоантител (1) и компонента C9 комплемента на концевой пластинке двигательного нейрона при злокачественной миастении. На верхнем фото видны дискретные отложения IgG (Г) на постсинаптической мембране (П). ×13 000. На нижнем фото видна постсинаптическая область, лишенная нервного окончания; она представлена обрывками и дегенерирующими складками (Д). Эти распадающиеся обрывки дают сильную реакцию при окраске на C9 (К). (М – мышечное волокно) × 9000. (Фото любезно предоставлены д-ром A.G. Engel.)

лина. Клеточная инфильтрация концевых пластинок при миастении наблюдается редко и поэтому высказано предположение, что эффекторные клетки в развитии патологического процесса не участвуют.

При сходном состоянии, синдроме Ламберта–Итона, мышечная слабость обусловлена нарушением выделения ацетилхолина из нейронов. При введении мышам сыворотки или IgG от больных с этим синдромом у животных развивается аналогичное состояние, что свидетельствует о присутствии у больных аутоантител. Такие аутоантитела взаимодействуют с компонентами потенциал-зависимых кальциевых каналов или белком синаптических пузырьков синаптотагмином. Считается, что различные формы синдрома обусловлены аутоантителами к разным антигенам, а также разными классами и титрами антител. Оба эти заболевания служат примерами состояний, при которых аутоантитела к рецепторам блокируют их нормальную функцию. Однако существуют и такие заболевания, при которых аутоантитела оказывают противоположный эффект. Например, при некоторых формах аутоиммунного поражения щитовидной железы антитела к рецепторам ТТГ (тиреотропного гормона) имитируют действие самого ТТГ, т. е. стимулируют функцию щитовидной железы (см. гл. 27).

Аутоантитела к тканевым антигенам не обязательно вызывают реакцию гиперчувствительности II типа

Хотя существует множество аутоантител, взаимодействующих с тканевыми антигенами, их значение как факторов, вызывающих патологический процесс в тканях in vivo, не всегда очевидно. Например, в сыворотке некоторых больных диабетом можно обнаружить in vitro аутоантитела к островковым клеткам поджелудочной железы (*рис. 24.18*), но основные иммунопатологические процессы при аутоиммунном диабете индуцируются, по-видимому, аутореактивными Т-клетками.

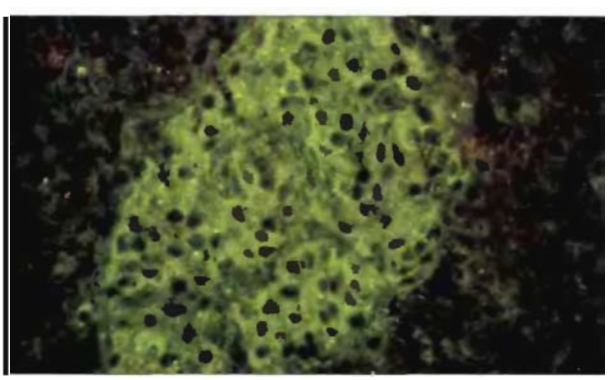


Рис. 24.18
Аутоантитела к островковым клеткам. С помощью метода иммунофлуоресценции при сахарном диабете можно обнаружить аутоантитела к клеткам поджелудочной железы. Они имеют диагностическое и, возможно, патогенетическое значение. (Микрофотография любезно предоставлена д-ром B. Dean.)

До недавнего времени считалось, что аутоантитела к внутриклеточным антигенам, как правило, не вызывают иммунопатологических процессов, поскольку не могут контактировать со «своим» антигеном в живой клетке. Однако в последние годы удалось выяснить, что такие антитела, как анти-РНП и анти-ДНК, способны проникать даже в клеточные ядра и изменять функцию клеток. В некоторых случаях они могут индуцировать апоптоз. Несмотря на то, что роль таких антител в повреждении клеток остается спорной, они часто служат надежными маркерами болезни, поскольку нередко обнаруживаются еще до развития иммунопатологического процесса.

Вопросы для размышления

- Какие эффекторные клетки иммунной системы активируются при реакциях гиперчувствительности II типа?
- Что происходит с аллогенными эритроцитами при их первой или последующей трансфузии человеку, полностью лишенному компонента С5 комплемента?
- Почему антитела к антигенам клеточной поверхности часто вызывают патологические реакции, тогда как антитела к внутриклеточным антигенам обычно такого действия не оказывают?
- Почему ГБН встречается только у 1 из 20 резус-несовместимых пар мать–плод?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Alarcon-Segovia D., Ruiz-Argüelles A., Llorente L. 1996. Broken dogma: penetration of autoantibodies into living cells. *Immunol. Today* **17**: 163–14.

Anstee D.J. 1990. Blood group substances of the human red blood cell. *Vox Sang.* **58**: 1.

Bhol K., Natarajan K., Nagarwalla N. et al. 1995. Correlation of peptide specificity and IgG subclass with pathogenic and non-pathogenic autoantibodies in pemphigus vulgaris: a model for autoimmunity. *Proc. Nat. Acad. Sci.* USA **92**: 5239–43.

Bloy C., Blanchard D., Lambin P. et al. 1988. Characterization of the D, C, E and G antigens of the Rh blood group system with human monoclonal antibodies. *Mol. Immunol.* **25**: 926–30.

Druet P., Glotz D. 1984. Experimental autoimmune nephropathies: induction and regulation. *Adv. Nephrol.* **13**: 115.

Hughes-Jones N.C. 1987. Monoclonal antibodies as potential blood-typing reagents. *Immunol. Today* **9**: 68.

Le van Kim C., Mouro I., Chenif-Zahar B. et al. 1992. Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide. *Proc. Nat. Acad. Sci.* USA **89**: 10925–29.

King M.J. 1994. Blood group antigens on human erythrocytes – distribution, structure and possible functions. *Biochim. Biophys. Acta* **1197**: 14–44.

Lang B., Newson-Davis J. 1995. Immunopathology of the Lambert Eaton myasthenic syndrome. *Springer Semin. in Immunopathol.* **17**: 3–15.

Lindstrom J. 1985. Immunobiology of myasthenia gravis, experimental autoimmune myasthenia gravis and Lambert-Eaton syndrome. *Annu. Rev. Immunol.* **3**: 109–31.

Mauro I., Colin Y., Chenif-Zahar B. et al. 1993. Molecular genetic basis of the human rRhesus blood group system. *Nature – Genet.* **5**: 62–5.

Naparstek Y., Plotz P.H. 1993. The role of autoantibodies in autoimmune disease. *Annu. Rev. Imminol.* **11**: 79–104.

Race R., Sanger R. 1975. *Blood Groups in Man* 6th edn, Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Yamamoto F-I., Clausen H., White T. et al. 1990. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* **345**: 229.

Гиперчувствительность – тип III

25

- **Иммунные комплексы образуются при каждой встрече антител с антигеном** и разрушаются мононуклеарными фагоцитами после активации комплемента.
- **Персистенция антигена** при длительной инфекции или при аутоиммунном заболевании может приводить к болезни иммунных комплексов.
- **Образование иммунных комплексов** может происходить в крови, приводя к системным заболеваниям, или локально, например в легких.
- **Комплемент** способствует разрыву связей между антигеном и антителом и поддерживает иммунные комплексы в растворимом состоянии.
- **Эритроциты приматов обладают рецептором к C3b** и играют важную роль в транспорте содержащих комплемент иммунных комплексов в селезенку, где они разрушаются.
- При **недостаточности комплемента** происходит образование крупных, слабо растворимых комплексов с отложением их в тканях.
- **Положительно заряженные антигены обладают способностью связываться с тканями,** особенно с почечными клубочками, и способствовать локальному накоплению комплексов в почках.
- **Факторы, повышающие проницаемость кровеносных сосудов,** увеличивают отложение иммунных комплексов в тканях.

Иммунные комплексы образуются при каждой встрече антител с антигеном и обычно эффективно разрушаются мононуклеарными фагоцитами, но иногда сохраняются в течение длительного времени и откладываются в различных тканях и органах. Развивающиеся в результате повреждения, опосредуемые комплементом и эффекторными клетками, называют реакциями гиперчувствительности III типа или болезнью иммунных комплексов.

В каких местах произойдет отложение иммунных комплексов, отчасти зависит от локализации антигена в тканях и отчасти – от условий попадания комплексов из крови в ткани.

Три категории болезней иммунных комплексов

Причина	Антигеи	Место отложения комплексов
Персистенция инфекции	Микробные антигены	Инфицированный орган(ы), почки
Аутоиммунитет	Аутоантиген	Почки, суставы, артерии, кожа
Вдыхаемые антигены	Антигены грибного, растительного или животного происхождения	Легкие

Рис. 25.1
В таблице указаны источники антигена и наиболее часто поражаемые органы.

ТИПЫ БОЛЕЗНЕЙ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ

Болезни, обусловленные образованием иммунных комплексов, можно разделить на три большие группы: связанные с персистенцией инфекции, связанные с аутоиммунными заболеваниями и связанные с вдыханием антигенного материала (*рис. 25.1*).

Персистенция инфекции Сочетание хронической инфекции со слабым гуморальным ответом приводит к постоянному образованию иммунных комплексов и в конце концов к их отложению в тканях (*рис. 25.2*). К болезням с такой этиологией относятся проказа, малярия, геморрагическая лихорадка денге, вирусный гепатит и стафилококковый эндокардит.

Аутоиммунные заболевания Болезнь иммунных комплексов часто является осложнением аутоиммунных заболеваний, при которых хроническое образование комплексов обусловлено непрерывной продукцией антител к аутоантигенам. По мере увеличения количества иммунных комплексов в крови ответственная за их удаление система (мононуклеарные фагоциты, эритроциты и комплемент) перестает справляться со своей задачей, и комплексы начинают откладываться в тканях (*рис. 25.3*). Болезни с такой этиологией включают

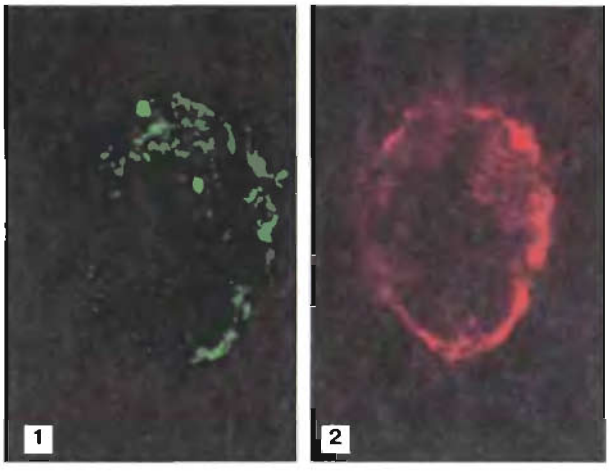


Рис. 25.2
Иммунофлуоресценция иммунных комплексов при инфекционном заболевании. Срезы почечной артерии больного хроническим гепатитом В, окрашенные флуоресцентной антисывороткой к антигену вируса гепатита В (**1**) и родаминированной антисывороткой к IgM (**2**). Присутствие и антигена, и антител на внутренней и средней оболочке артериальной стенки свидетельствует об отложении комплексов в данном месте. Аналогично распределяются также отложения IgG и C3. (Микрофотографии любезно предоставлены д-ром A. Nowoslawski.)

ревматоидный артрит, системную красную волчанку (СКВ) и полимиозит.

Вдыхание антигенного материала При действии наружных антигенов иммунные комплексы могут образовываться на поверхности полостей. Такие реакции наблюдаются в легких после повторного вдыхания антигенных компонентов актиномицетов, а также антигенов растительного или животного происхождения. К подобным болезням относятся, например, «легкое фермера» и «легкое голубевода», при которых в крови присутствуют антитела к антигенам актиномицетов (из заплесневевшего сена) или к белку из экскрементов голубей. Оба эти заболевания представляют собой формы экзогенного аллергического альвеолита и развиваются лишь при повторном воздействии антигена. (Антитела к таким антигенам относятся преимущественно к классу IgG, а не IgE, который характерен для реакций гиперчувствительности I типа.) Когда антиген вновь поступает в организм аэрогенным путем, в альвеолах образуются локальные иммунные комплексы, что приводит к воспалению и фиброзу (*рис. 25.4*). Преципитирующие антитела к антигенам актиномицетов обнаруживаются в сыворотке крови в 90 % случаев заболевания «легкое фермера», но в то же время присутствуют у некоторых лиц, не страдающих этим заболеванием, и отсутствуют у части больных. Таким образом, в патогенезе этого экзогенного аллергического альвеолита принимают участие, очевидно, и другие факторы, в том числе реакции гиперчувствительности IV типа.

МЕХАНИЗМЫ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ III ТИПА

Иммунные комплексы способны инициировать разнообразные воспалительные процессы.

- Они взаимодействуют с системой комплемента, способствуя образованию анафилатоксинов C3a и C5a, которые стимулируют выделение вазоактивных аминов (в том числе гистамина и 5-гидрокситриптамина) и хемотаксических факторов из тучных клеток и базофилов. Компонент C5 служит также хемоаттрактантом для базофилов, эозинофилов и нейтрофилов.

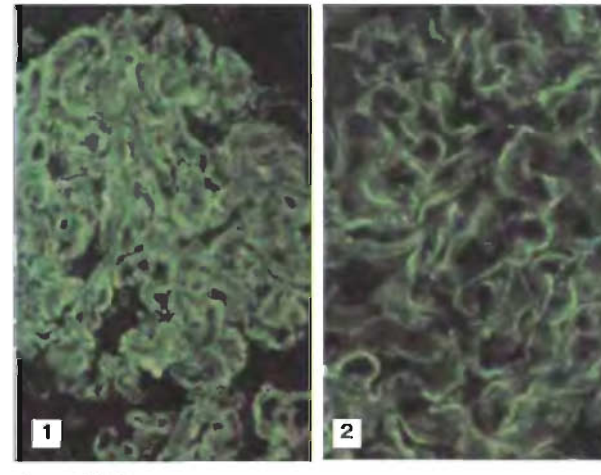


Рис. 25.3
Иммунофлуоресценция иммунных комплексов при аутоиммунном заболевании. Срезы почек больного системной красной волчанкой (гиперчувствительность III типа) (**1**) и больного с синдромом Гудпасчера (гиперчувствительность II типа) (**2**) В обоих случаях антитела выявлены с помощью флуоресцентной антисыворотки к IgG. Образующиеся в крови и откладывающиеся в почке комплексы формируют характерные дискретные массы (**1**). Антитела к базальной мембране при синдроме Гудпасчера ровным слоем выстилают базальную мембрану клубочковых капилляров. (Микрофотографии любезно предоставлены д-ром S. Thiru.)

Экзогенный аллергический альвеолит

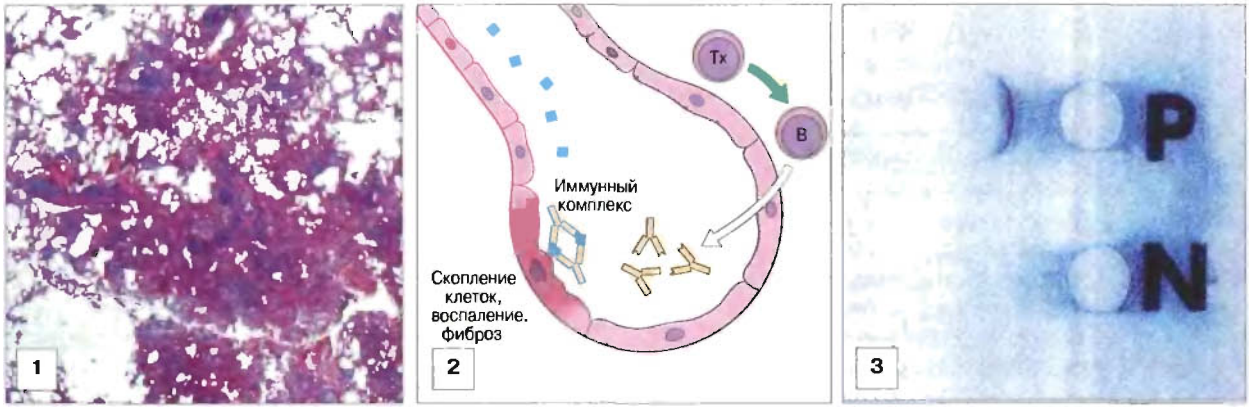


Рис. 25.4
При попадании антигена актиномицетов в легкие сенсибилизированных лиц в альвеолах образуются иммунные комплексы (**2**). Связывание комплемента приводит к накоплению клеток, воспалению и фиброзу. Гистологическое исследование легких при экзогенном аллергическом альвеолите (**1**) обнаруживает сливающиеся участки клеточных скоплений. Преципитирующие антитела, присутствующие в сыворотке при болезни «легкое голубевода» (P; **3**), направлены против антигенных белков птичьего помета.

- В присутствии иммунных комплексов активируются макрофаги, выделяющие цитокины, в частности ФНОα и ИЛ-1, которые играют важную роль в процессах воспаления.
- Комплексы непосредственно взаимодействуют с базофилами и тромбоцитами (через Fc-рецепторы), что приводит к высвобождению вазоактивных аминов (*рис. 25.5*).

Вазоактивные амины, выделяемые тромбоцитами, базофилами и тучными клетками, вызывают ретракцию клеток эндотелия, увеличивая тем самым проницаемость сосудов, и создают возможность отложения иммунных комплексов на их стенках (*рис. 25.6*). Откладывающиеся комплексы продолжают стимулировать образование C3a и C5a.

На обнаженном коллагене базальной мембраны сосуда происходит агрегация тромбоцитов, чему способствует их взаимодействие с Fc-участками отложившихся иммунных комплексов; в результате образуются микротромбы. Агрегированные тромбоциты продолжают продуцировать вазоактивные амины и стимулировать образование C3a и C5a. (Тромбоциты служат также богатым источником факторов роста, которые могут участвовать в клеточной пролиферации, наблюдаемой при таких болезнях иммунных комплексов, как гломерулонефрит и ревматоидный артрит.)

К месту образования C5a мигрируют полиморфноядерные клетки. Они пытаются поглотить иммунные комплексы, но не способны это сделать, поскольку комплексы прикреплены к стенке сосуда. Поэтому полиморфноядерные клетки выделяют свои лизосомные ферменты путем экзоцитоза непосредственно в место отложения комплексов (*рис. 25.6*). При выделении лизосомных ферментов в кровь или тканевую жидкость они не вызывают сильного воспаления, поскольку быстро нейтрализуются сывороточными ингибиторами, но в том случае, когда фагоцит приходит в близкое соприкосновение с фиксированным в ткани комплексом, связываясь с его Fc-фрагментом, действие сывороточных ингибиторов исключается, и лизосомные ферменты могут повреждать ткань.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ

Существуют экспериментальные модели всех трех описанных выше типов болезней иммунных комплексов.

- Эффект хронической инфекции имитирует сывороточная болезнь, вызываемая инъекциями чужеродного антигена.
- Аутоиммунные процессы развиваются у мышей NZB/NZW.
- Моделью местного повреждения, вызываемого наружным антигеном, является реакция Артюса.

Отложение иммунных комплексов в стенках кровеносных сосудов – I

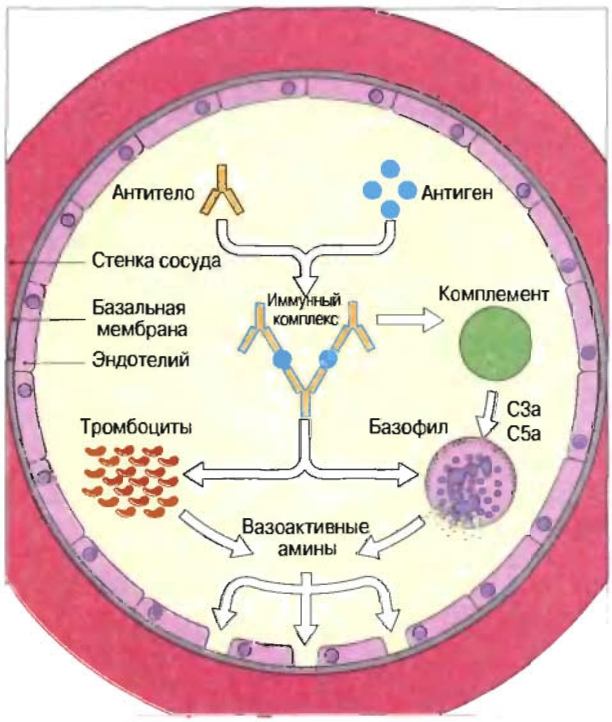


Рис. 25.5
Иммунные комплексы влияют на комплемент, стимулируя образование фрагментов C3a и C5a, которые в свою очередь усиливают выделение базофилами вазоактивных аминов. Комплексы непосредственно воздействуют также на базофилы и тромбоциты (у человека), вызывая выделение вазоактивных аминов. Выделившиеся амины (например, гистамин и 5-гидрокситриптамин) приводят к сокращению эндотелиальных клеток и тем самым увеличивают сосудистую проницаемость.

Отложение иммунных комплексов в стенках кровеносных сосудов – II

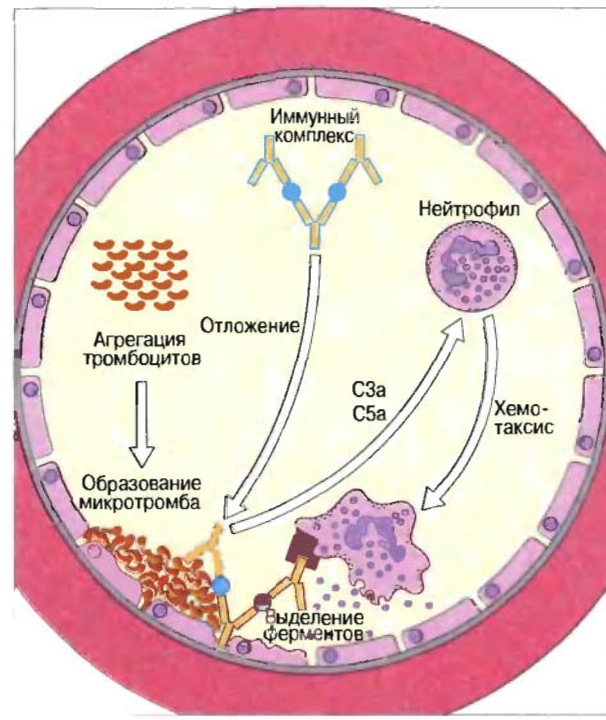


Рис. 25.6
Повышенная проницаемость сосуда создает возможность отложения иммунных комплексов в его стенке. Иммунные комплексы индуцируют агрегацию тромбоцитов и активацию комплемента. Агрегированные тромбоциты формируют микротромбы на обнаженном коллагене базальной мембраны эндотелия. К месту образования продуктов активации комплемента стягиваются нейтрофилы, которые, однако, не способны поглотить комплексы. Они путем экзоцитоза выделяют свои лизосомные ферменты, вызывающие дальнейшее повреждение сосудистой стенки.

К интерпретации результатов, получаемых на экспериментальных моделях, необходимо подходить с осторожностью, учитывая, что эритроциты грызунов и кроликов лишены рецепторов C3b (называемых CR1), которые легко связывают иммунные комплексы после фиксации ими комплемента. У приматов же эти рецепторы присутствуют на эритроцитах.

Сывороточную болезнь можно воспроизвести введением больших количеств чужеродного антигена

При сывороточной болезни циркулирующие в крови иммунные комплексы откладываются в стенках кровеносных сосудов и тканях, что приводит к повышению сосудистой проницаемости и тем самым к развитию воспаления, как это происходит при гломерулонефрите и артрите.

Пока не были открыты антибиотики, сывороточная болезнь часто осложняла лечение таких болезней, как, например, дифтерия, при которых больному вводили массивные дозы антител. Обычно применяли лошадиную антидифтерийную сыворотку, и у некоторых больных образовывались антитела к лошадиным белкам.

В настоящее время сывороточную болезнь изучают, как правило, на кроликах, которым внутривенно вводят растворимый чужеродный

белок, например бычий сывороточный альбумин (БСА). Спустя примерно 1 нед у кролика образуются антитела, которые в крови связываются с антигеном. Поскольку эта реакция происходит при избытке антигена, образующиеся иммунные комплексы имеют небольшие размеры (*рис. 25.7*). Такие мелкие комплексы медленно удаляются лишь системой мононуклеарных фагоцитов и поэтому долго сохраняются в крови. Вслед за образованием комплексов происходит резкое падение общего содержания комплемента; клинические признаки сывороточной болезни обусловлены зернистыми отложениями комплексов антиген–антитело и образованием C3 вдоль базальной мембраны почечных клубочковых капилляров и других мелких сосудов. По мере образования все большего количества антител и сдвиге реакции в сторону их избытка размеры комплексов увеличиваются и они начинают поглощаться быстрее; животное выздоравливает. При ежедневном введении антигена болезнь приобретает хроническое течение.

Динамика экспериментальной сывороточной болезни

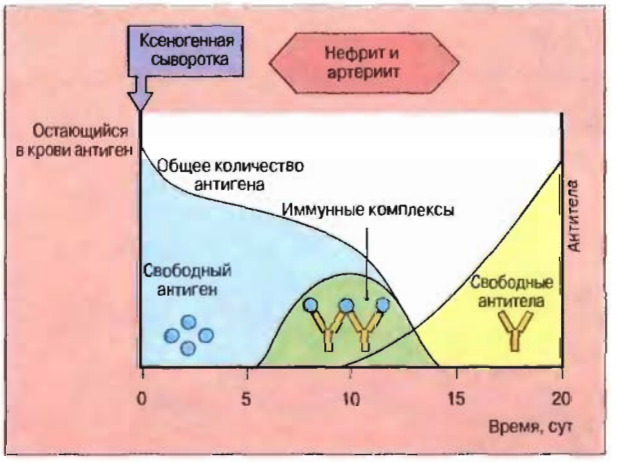


Рис. 25.7
После введения ксеногенной сыворотки наступает длящийся примерно 5 сут латентный период, в течение которого антиген в сыворотке присутствует только в свободной форме. Затем образуются антитела к чужеродным белкам и в сыворотке появляются иммунные комплексы; именно в это время возникают симптомы нефрита и артериита. Вначале, при избытке антигена, происходит образование лишь мелких растворимых иммунных комплексов. С увеличением титра антител формируются более крупные комплексы и происходит их отложение в тканях, но при этом и быстрое разрушение. На этой стадии симптомы заболевания исчезают.

Аутоиммунные реакции у мышей NZB/NZW сопровождаются болезнью иммунных комплексов

У гибридных мышей (NZB×NZW) F_1 образуются различные аутоантитела (в том числе к эритроцитам, клеточным ядрам, ДНК и Sm) и развивается болезнь иммунных комплексов, во многом сходная с наблюдаемой у человека при СКВ. Мыши NZB/NZW рождаются клинически нормальными (здоровыми), но в 2–3-месячном возрасте у них появляются признаки гемолитической анемии. Пробы на антиэритроцитарные (тест Кумбса) и антиядерные антитела, на волчаночные клетки и циркулирующие иммунные комплексы дают положительные результаты, а в почечных клубочках и хориоидном сплетении обнаруживаются отложения комплексов. Заболевание гораздо более выражено у самок; они погибают через несколько месяцев после появления симптомов (*рис. 25.8*).

Внутрикожное введение антигена предварительно сенсибилизированным животным вызывает реакцию Артюса

Реакция Артюса развивается локально, внутри и вокруг стенок мелких кровеносных сосудов: чаще всего ее воспроизводят в коже.

Животное многократно иммунизируют, пока содержание антител (главным образом IgG) в сыворотке не достигнет определимого уровня. Последующее подкожное или внутрикожное введение антигена приводит к развитию местной реакции, иногда с выраженным отеком и кровоизлияниями (в зависимости от количества введенного антигена). Реакция достигает пика через 4–10 ч, а затем затухает, и через 48 ч обычно остаются лишь минимальные ее проявления (*рис. 25.9*). Иммунофлуоресцентные исследования показывают, что вслед за отложением антигена, антител и комплемента в стенках сосудов происходит их нейтрофильная инфильтрация, а внутри сосудов скапливаются тромбоциты (*рис. 25.10*). Все это может приводить к окклюзии сосудов и в тяжелых случаях к некрозу ткани. Через 24–48 ч нейтрофилы замещаются мононуклеарными клетка-

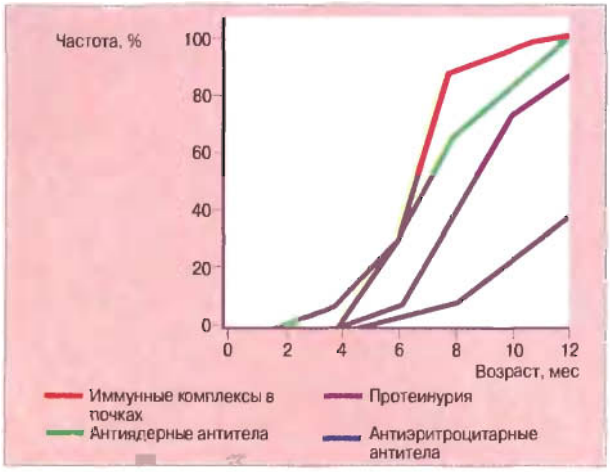


Рис. 25.8
На графике показана зависимость появления различных признаков аутоиммунного заболевания от возраста у самок мышей NZB/NZW. По оси ординат отложена «частота» – доля мышей данного возраста, у которых выявляются указанные признаки. Иммунные комплексы определяли с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания почечных срезов, антиядерные антитела в сыворотке – методом непрямой иммунофлуоресценции. Показателем поражения почек служила протеинурия. Аутоантитела к эритроцитам при данном заболевании появляются позднее и поэтому, вероятно, менее связаны с возникновением почечной патологии. У мышей-самцов заболевание возникает примерно на 3 мес позднее.

ми и в конце концов появляется некоторое количество плазматических клеток.

Важное значение для развития реакции Артюса имеет активация комплемента по классическому или альтернативному пути. В отсутствие комплемента не происходит привлечения нейтрофилов к месту реакции и последняя ограничивается лишь легким отеком.

Цитокин ФНОα многими путями усиливает клеточный иммунный ответ (см. гл. 10). Введение антител к ФНОα ослабляет реакцию Артюса. Имеются сообщения об эффективности антител анти-ФНО и при ревматоидном артрите.

Выраженность реакции прямо зависит от соотношения антител и антигена. Комплексы, образующиеся в условиях избытка либо антигена, либо антител, гораздо менее токсичны, чем те, которые образуются при балансе этих факторов.

ПЕРСИСТЕНЦИЯ КОМПЛЕКСОВ

В норме иммунные комплексы уничтожаются мононуклеарными фагоцитами

Иммунные комплексы после активации комплемента опсонизируются C3b и уничтожаются мононуклеарными фагоцитами, преимущественно в печени и селезенке. Элиминация происходит при участии C3b-рецепторов (CR1). У приматов CR1 присутствует в основном на эритроцитах. (У

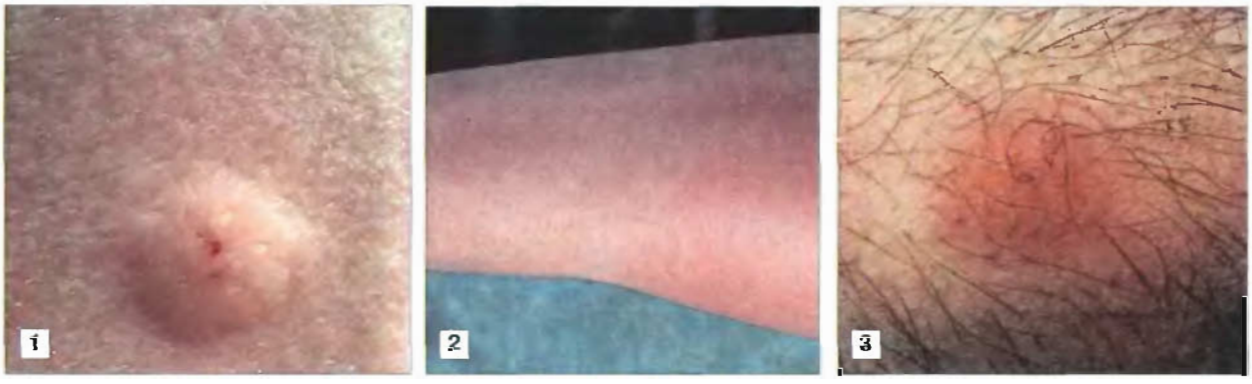
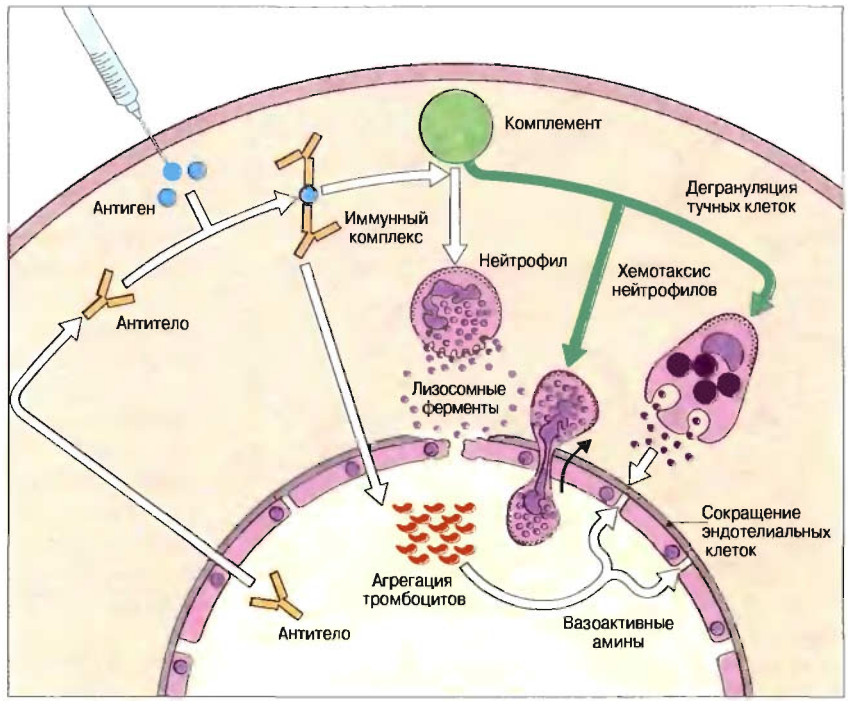


Рис. 25.9
Иллюстрация трех основных кожных тестов. Реакция гиперчувствительности I типа (**1**) сопровождается появлением примерно через 15 мин волдыря диаметром 5–7 мм с четкими краями. При гиперчувствительности III типа (**2**) через 5–12 ч развивается реакция Артюса, участок которой захватывает большую площадь (50 мм или больше) и имеет менее четкие края. Реакция гиперчувствительности IV типа (замедленная) проявляется через 24–48 ч краснотой и индурацией примерно 5-мм участка кожи (**3**).

Рис. 25.10
Антиген, введенный внутрикожно, соединяется с поступающими из крови специфическими антителами, что приводит к образованию иммунных комплексов. Комплексы активируют комплемент и влияют на тромбоциты, выделяющие вазоактивные амины. Иммунные комплексы индуцируют также выброс ФНО и ИЛ-1 макрофагами (не показан). Фрагменты комплемента C3a и C5a вызывают дегрануляцию тучных клеток и привлекают в ткань нейтрофилы. Продукты тучных клеток, в том числе гистамин и лейкотриены, повышают кровоток и проницаемость капилляров. Воспалительную реакцию стимулируют лизосомные ферменты, которые выделяются полиморфноядерными клетками. Кроме того, откладывающийся на комплексах C3b опсонизирует их, способствуя фагоцитозу. Реакция Артюса возникает у тех лиц, кровь которых содержит преципитирующие антитела, например у сельскохозяйственных рабочих, страдающих экзогенным аллергическим альвеолитом («легкое фермера»).

Реакция Артюса



других животных эритроциты лишены CR1 и поэтому опсонизированные комплексы связываются с CR1 тромбоцитов.) На каждом эритроците присутствует примерно 700 рецепторов и их эффективность повышается за счет кластеризации, что создает возможность высокоавидного связывания крупных комплексов. Как показывают эксперименты на животных, лишенных комплемента, рецепторы CR1 легко связывают лишь те иммунные комплексы, которые фиксировали комплемент (*рис. 25.11*).

В норме у приматов эритроциты выполняют функцию буфера, связывая фиксировавшие комплемент комплексы и эффективно удаляя их из плазмы. В мелких сосудах ток крови ламинарный, при этом эритроциты локализованы в центре сосуда и со всех сторон окружены плазмой. Таким образом, со стенками сосуда контактирует только плазма (*рис. 25.12*). Эритроциты соприкасаются с внутренней оболочкой сосудов лишь в синусоидах печени и селезенки, где ток крови становится турбулентным.

Комплексы переносятся в печень и селезенку, где их извлекают из крови тканевые макрофаги (*рис. 25.12*). При этом удаляется и большая часть CR1; поэтому в случае постоянного образования иммунных комплексов количество активных рецепторов на эритроцитах постепенно уменьшается, что снижает эффективность транспорта комплексов. У больных СКВ, например, количество рецепторов может быть снижено вдвое.

Комплексы могут также отделяться от эритроцитов в крови благодаря ферментативному действию фактора I, который расщепляет C3b, оставляя присоединенным к CR1 на клеточной мембране небольшой его фрагмент (C3dg). Эти растворенные комплексы удаляются затем фагоцитами, несущими рецепторы для Fc-фрагмента IgG (*рис. 25.13*).

Солюбилизация иммунных комплексов комплементом

Еще в 1930-х гг. Гейдельбергер (Heidelberger) обнаружил, что комплемент замедляет преципитацию иммунных комплексов. (Эти данные были потом надолго забыты.) Удержание иммунных комплексов в растворимом состоянии обеспечивается действием классического пути активации

Влияние инактивации комплемента на динамику иммунных комплексов в крови

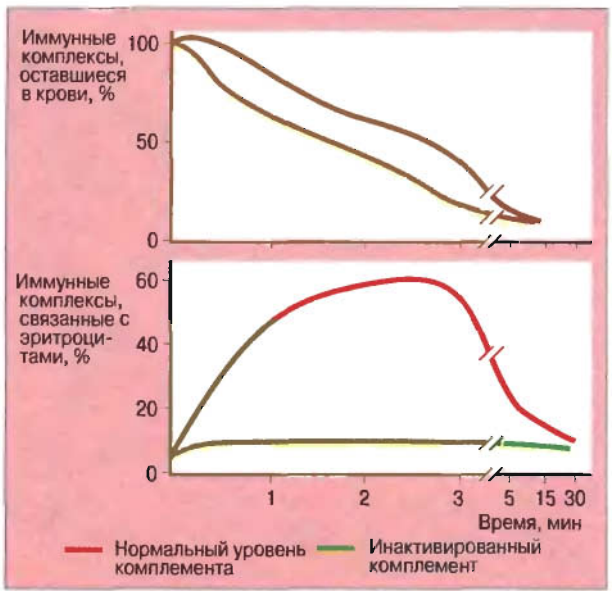


Рис. 25.11
Обезьянам одномоментно впрыскивали в кровь иммунные комплексы. У животных с нормальной системой комплемента они быстро связывались CR1 на поверхности эритроцитов. В то же время у животных, которым предварительно вводили яд кобры для инактивации комплемента, эритроциты практически не связывали иммунные комплексы. Парадоксально, но это несколько ускоряло исчезновение комплексов из крови; они, однако, не элиминировались клетками селезенки, а откладывались в тканях. (По Waxman et al., 1984.)

комплемента. Белки комплемента снижают количество антигенных эпитопов (т. е. валентность антигена), с которыми смогут связываться антитела, внедряясь в структуру комплекса. Это приводит к уменьшению размеров комплексов и делает их растворимыми. У приматов такие содержащие комплемент комплексы легко связываются C3b-рецепторами (CR1) на поверхности эритроцитов.

Комплемент способен быстро ресолюбилизировать осажденные комплексы благодаря альтернативному пути активации (*рис. 25.14*). Солюбилизация происходит, по-видимому, в результате встраивания в комплекс фрагментов комплемента C3b и C3d.

Возможно, у здоровых людей непрерывно происходит отложение комплексов, но они столь же непрерывно удаляются путем солюбилизации. Если это так, то при сниженном содержании комплемента процесс должен нарушаться и комплексы могут накапливаться в тканях. Действительно, у лиц, страдающих системной болезнью иммунных комплексов, солюбилизирующий эффект сыворотки снижен по сравнению с нормой, хотя неизвестно, является это причиной или следствием заболевания.

При недостаточности комплемента нарушается клиренс комплексов

У лиц с низким уровнем компонентов классического пути активации комплемента иммунные комплексы плохо связываются эритроцитами. Недостаточность комплемента может быть следствием его исчерпания, вызванного болезнью иммунных комплексов, или врожденным состоянием, как это имеет место в случае дефицита C2. Можно было бы ожидать, что в таких случаях иммунные комплексы постоянно будут находиться в крови, но на самом деле происходит обратное: комплексы быстро исчезают из крови. Такие не

Роль эритроцитов при болезни иммунных комплексов

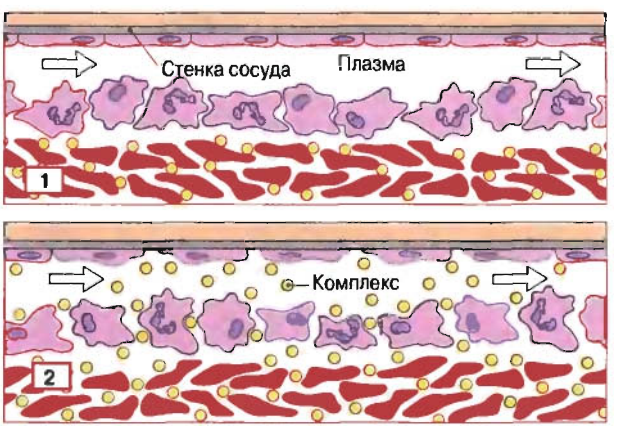


Рис. 25.12
В сосудах кровь течет ламинарным потоком и в центре его находятся эритроциты, окруженные лейкоцитами и затем еще как бы чехлом из плазмы, которая контактирует с сосудистой стенкой. Иммунные комплексы, связанные с эритроцитами через CR1 (**1**), удерживаются в отдалении от стенок сосуда. Недостаточность комплемента препятствует связыванию комплексов с эритроцитами и создает возможность контакта и связывания комплексов со стенками сосуда (**2**).

Клиренс иммунных комплексов в печени

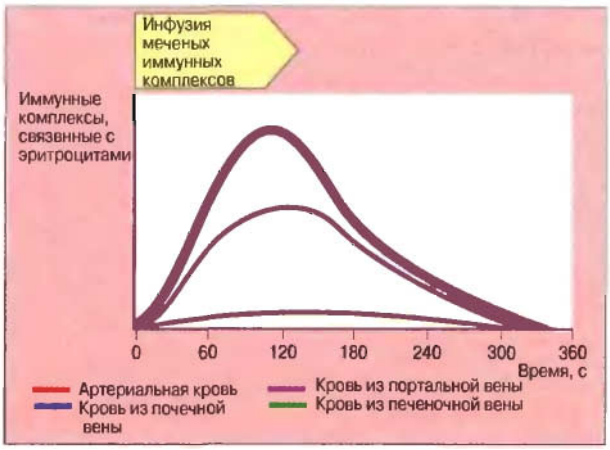


Рис. 25.13
Комплексы ^{125}I-БСА/анти-БСА вводили обезьянам в течение 120 с. Содержание связанных с эритроцитами комплексов определяли радиометрически в пробах крови из почечной, портальной и печеночной вен. Содержание комплексов в почечной и портальной венах не отличалось от их содержания в артериальной крови. Однако в крови печеночных вен комплексы практически отсутствовали. Это свидетельствует об удалении связанных с эритроцитами комплексов за время одного пассажа через печень.
(По Cornacoff et al., 1983.)

связанные с эритроцитами комплексы активно поглощаются печенью (но не селезенкой), а затем высвобождаются вновь и откладываются в таких тканях, как кожа, почки и мышцы, вызывая в них воспалительные реакции (*рис. 25.15*).

Вливание свежей плазмы, содержащей комплемент, восстанавливает нормальный клиренс иммунных комплексов, что свидетельствует о роли комплемента в этом процессе. Отсутствие поглощения комплексов в селезенке не только приводит к болезни иммунных комплексов, но может иметь важное значение и для развития соответствующих иммунных реакций, поскольку селезенке принадлежит центральная роль в процессинге антигенов и индукции иммунного ответа (см. гл. 3).

Отложение иммунных комплексов зависит от их размеров

Крупные иммунные комплексы, как правило, уже за несколько минут извлекаются из крови в печени, тогда как комплексы меньших размеров остаются в крови более длительное время (*рис. 25.16*). Это объясняется тем, что крупные комплексы эффективнее фиксируют комплемент и за счет этого лучше связываются с эритроцитами. Они и медленнее отделяются от эритроцитов под действием фактора I. Поэтому все, что влияет на размер комплексов, должно изменять их клиренс. Как предполагается, генетический дефект, способствующий образованию низкоаффинных антител, вполне может обусловливать формирование мелких комплексов и тем самым развитие болезни иммунных комплексов. Повышение (созревание) аффинности зависит от эффективного соматического мутирования и селекции В-клеток в центрах размножения после связывания антигена. Этот процесс протекает гораздо эффективнее в тех случаях, когда В-клетки стимулируются антигеном или иммунными комплексами, покрытыми комплементом. Недостаточность комплемента увеличивает предрасполо-

Солюбилизация иммунных комплексов комплементом



Рис. 25.14
Комплемент способен солюбилизировать осаждаемые комплексы in vitro. Добавление свежей сыворотки, содержащей активный комплемент, к нерастворимым комплексам (при 37 °С) вызывает уже через 15 мин их солюбилизацию. Часть комплексов остается резистентной к солюбилизации. Прогретая сыворотка (56 °С в течение 30 мин) лишена активного комплемента и не способна солюбилизировать комплексы. Включение компонентов комплемента C3b и C3d в комплексы приводит к солюбилизации в результате разрыва связей между антигеном и антителами. Искусственно образованные комплексы с ковалентными связями не поддаются солюбилизирующему действию комплемента.

Транспорт и удаление иммунных комплексов

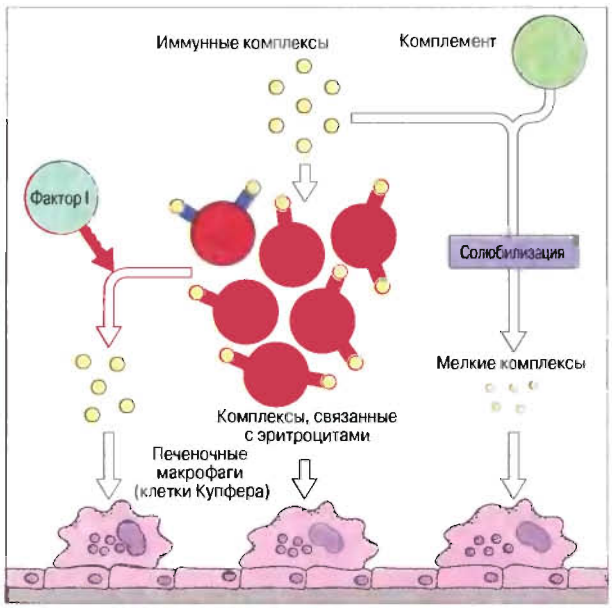


Рис. 25.15
У приматов комплексы связываются с CR1 на эритроцитах и поступают в печень, где их поглощают тканевые макрофаги. Комплексы, отделившиеся от эритроцитов под действием фактора I, связываются клетками (в том числе и макрофагами), обладающими рецепторами к Fc и комплементу. Солюбилизация крупных комплексов комплементом превращает их в меньшие по размерам растворимые частицы, которые могут непосредственно поглощаться тканевыми макрофагами.

женность к болезни иммунных комплексов, и одной из причин этого, как показывают недавно полученные данные, является замедленная скорость поступления связанного в комплексы антигена в центры размножения, препятствующая созреванию аффинности. Антитела к аутоантигенам могут обладать низкой аффинностью и распознавать лишь небольшое количество эпитопов. Этот дефект приводит к образованию мелких комплексов и возрастанию периода их клиренса, поскольку ограничивает формирование крупных перекрестно-связанных структур.

Скорость клиренса иммунных комплексов зависит от класса иммуноглобулинов

Класс иммуноглобулинов существенно влияет на клиренс комплексов. IgG-комплексы связываются с эритроцитами и удаляются из крови постепенно, тогда как IgA-комплексы плохо связываются с эритроцитами, но исчезают из крови быстрее, в большей степени откладываясь в почках, легких и мозге.

Дефекты фагоцитов могут быть причиной персистенции комплексов

Опсонизированные иммунные комплексы в норме элиминируются мононуклеарными фагоцитами, главным образом в печени и селезенке. Однако при большом количестве комплексов возможна перегрузка системы мононуклеарных фагоцитов, приводящая к увеличению содержания комплексов в крови и большему их отложению в почечных клубочках и других тканях. При болезни иммунных комплексов у человека наблюдаются дефекты мононуклеарных фагоцитов, но это вполне может быть следствием их перегрузки, а не первичным нарушением.

На клиренс комплексов влияет углеводный компонент антител

Как установлено, важную роль в удалении иммунных комплексов фагоцитарными клетками

Клиренс комплексов мононуклеарными фагоцитами

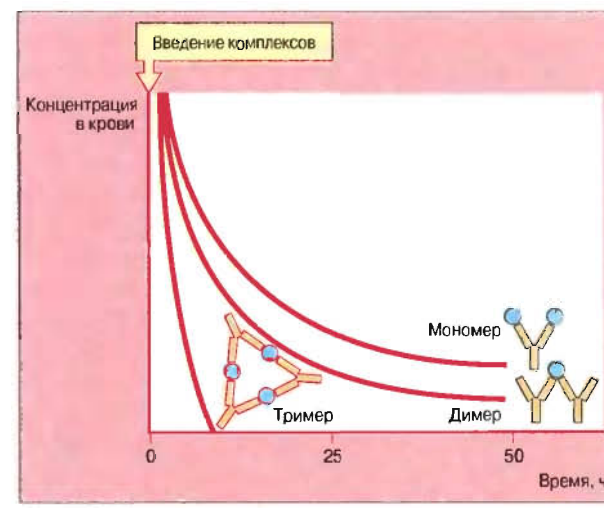


Рис. 25.16
Крупные иммунные комплексы удаляются из крови быстрее за счет того, что клетки ретикулоэндотелиальной системы, обладающие Fc-рецепторами, с большей авидностью связывают Fc-фрагменты IgG. Кроме того, крупные комплексы лучше фиксируют комплемент, чем мелкие.

выполняют углеводные группы молекул иммуноглобулинов. При болезнях иммунных комплексов, например при ревматоидном артрите, наблюдаются отклонения в составе этих углеводов, приводящие к обострению патологического процесса. Из-за отсутствия концевого остатка галактозы в олигосахаридной цепи Fc-фрагмента иммуноглобулинов усиливается связывание ревматоидного фактора. Недавно обнаружено, что с антителами IgG, не содержащими этого остатка галактозы, взаимодействует маннан-связывающий белок и в результате происходит активация комплемента.

ОТЛОЖЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ В ТКАНЯХ

Иммунные комплексы могут длительное время оставаться в крови. Однако сама по себе их персистенция здесь обычно неопасна; неприятности начинаются лишь при отложении комплексов в тканях.

В связи с этим возникают два вопроса:

- с чем связано отложение комплексов и
- почему комплексы при разных заболеваниях обнаруживают сродство к разным тканям?

Наиболее важным фактором отложения иммунных комплексов в тканях служит, вероятно, увеличение сосудистой проницаемости

Эксперименты на животных показывают, что такие инертные вещества, как коллоидный уголь, после введения вазоактивных соединений (например, гистамина или серотонина) откладываются в стенках сосудов. После введения агентов, вызывающих выброс вазоактивных аминов (включая гистамин) из тучных клеток, аналогичным образом откладываются и циркулирующие иммунные комплексы. Предварительное введение антигистаминных препаратов блокирует этот эффект.

При исследовании экспериментальной болезни иммунных комплексов у кроликов установлено, что длительное введение антагонистов вазоактивных аминов, таких как хлорфенирамин и метисергид, значительно уменьшает отложение иммунных комплексов (*рис. 25.17*). Еще большее значение (для целей профилактики) имеет тот факт, что у молодых мышей NZB/NZW, которым вводили метисергид, повреждения почек были выражены слабее, чем у контрольных животных (*рис. 25.18*).

Эффект антагонистов вазоактивных аминов при болезни иммунных комплексов

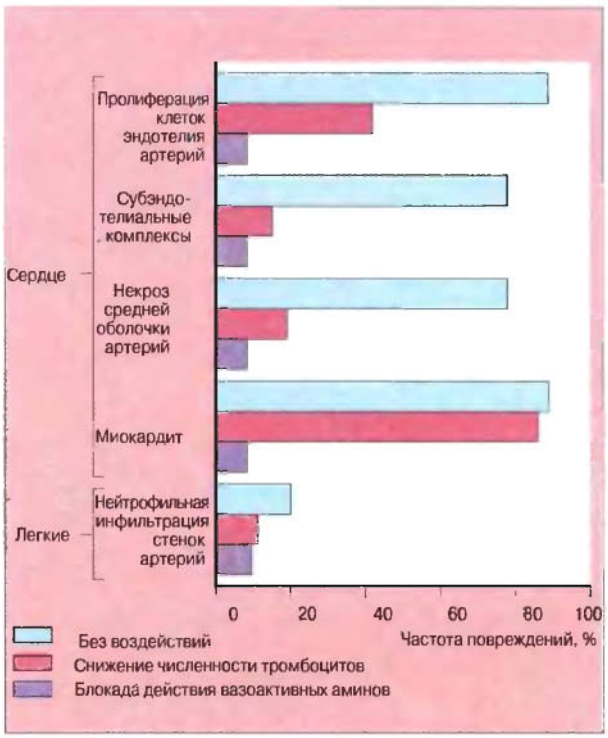


Рис. 25.17
У кроликов вызывали сывороточную болезнь однократным введением бычьего сывороточного альбумина. Опыты проводили на трех группах животных: 1) контрольных, 2) со сниженным количеством тромбоцитов и 3) получавших препараты, блокирующие действие вазоактивных аминов. Регистрировали частоту характерных для сывороточной болезни изменений в сердце и легких. Введение лекарственных средств значительно ослабляло проявления болезни за счет снижения сосудистой проницаемости и уменьшения благодаря этому отложения иммунных комплексов.

Повышение сосудистой проницаемости может иметь многочисленные последствия, значение которых зависит от характера заболевания и вида животных. Это затрудняет интерпретацию отдельных данных, получаемых на экспериментальных моделях. В целом, однако, и комплемент, и тучные клетки, и базофилы, и тромбоци-

Влияние антагониста вазоактивных аминов метисергида на повреждение почек

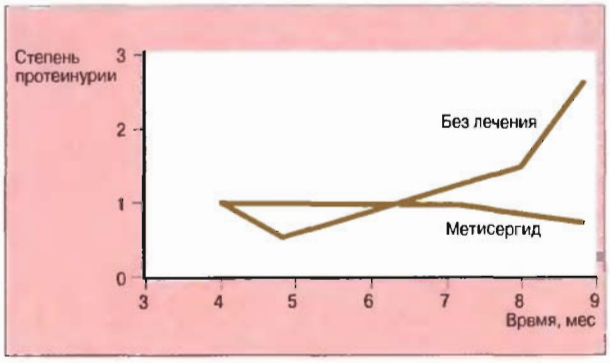


Рис. 25.18
Повреждение почек (оцениваемое по степени протеинурии) регистрировали у мышей NZB/NZW в течение 5 мес. У животных, не получавших лечения, развивалась тяжелая протеинурия, тогда как у мышей, получавших метисергид, этого не наблюдалось. Метисергид блокирует образование вазоактивного амина 5-гидрокситриптамина (серотонина) и тем самым тормозит различные воспалительные реакции, например отложение комплексов, нейтрофильную инфильтрацию сосудистых стенок и пролиферацию клеток эндотелия, вызывающие патологию почечных клубочков.

ты могут считаться потенциальными продуцентами вазоактивных аминов.

Отложение иммунных комплексов наиболее вероятно в тех структурах, где имеется высокое артериальное давление и турбулентный ток крови

Многие макромолекулы откладываются в капиллярах почечных клубочков, где кровяное давление примерно в четыре раза выше, чем в других капиллярах (*рис. 25.19*). Если у кроликов с помощью частичного сужения почечной артерии или перевязки мочеточника снизить давление в клубочках, отложение макромолекул также уменьшается. Если же путем индукции экспериментальной гипертензии повысить давление в клубочках, то увеличивается и отложение в них иммунных комплексов, как это показано на модели сывороточной болезни. Наиболее тяжелые повреждения возникают в тех участках, где имеется турбулентный ток крови, например в местах изгиба или бифуркации артерий, а также в таких «сосудистых фильтрах», как хориоидное сплетение и цилиарное тело глаза.

Отложение комплексов в определенных тканях может быть связано с аффинностью к ним антигенов

Местным высоким давлением крови можно объяснить более частое отложение иммунных комплексов в определенных органах, но это не объясняет, почему при разных заболеваниях комплексы откладываются в разных органах. При СКВ основным органом-мишенью являются почки, тогда как при ревматоидном артрите, несмотря на наличие комплексов в крови, почки обычно не страдают, а основной мишенью оказываются суставы.

Возможно, органная специфичность поражения определяется содержащимся в комплексе антигеном, причем существует экспериментальная модель, убедительно подтверждающая такое предположение. Введение мышам эндотоксина приводит к повреждению клеток и высвобождению ДНК, которая связывается с базальной мембраной капилляров интактных почечных клубочков. В результате происходит поликлональная активация В-клеток и образуются антитела к ДНК, которые взаимодействуют с ДНК, фиксированной в ткани, вызывая местное формирова-

Гемодинамические факторы, влияющие на отложение комплексов

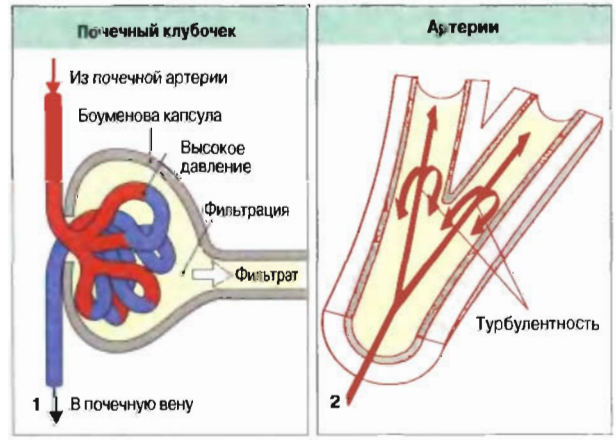


Рис. 25.19
К факторам, влияющим на отложение комплексов, относятся фильтрация и высокое давление крови; оба эти фактора действуют при образовании ультрафильтрата в почечных клубочках (**1**). Турбулентный ток крови в местах изгиба или бифуркации артерий (**2**) также способствует отложению иммунных комплексов.

Связывание антигена тканью с местным образованием иммунных комплексов

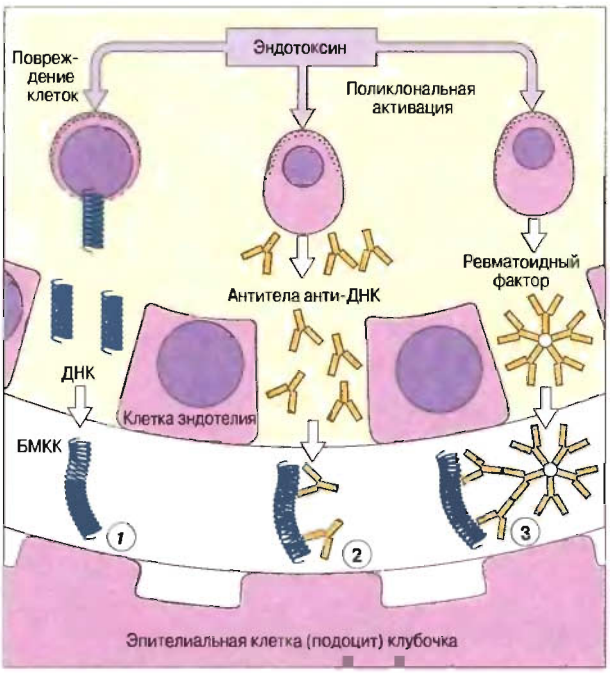


Рис. 25.20
Введенный мышам эндотоксин увеличивает сосудистую проницаемость и повреждает клетки, приводя к высвобождению ДНК, которая затем откладывается (**1**) на коллагене базальной мембраны клубочкового капилляра (БМКК). Эндотоксин может вызывать также поликлональную активацию В-клеток, часть которых продуцирует аутоантитела, такие как анти-ДНК и анти-IgG (последние известны как ревматоидные факторы, РФ). Антитела анти-ДНК связываются с отложениями ДНК, образуя местные иммунные комплексы (**2**). РФ обладают низкой аффинностью к мономерному IgG, но с высокой авидностью связываются с уже образовавшимся комплексом ДНК/анти-ДНК (**3**). Таким образом, in situ происходит дальнейшее формирование иммунного комплекса.

ние иммунных комплексов (*рис. 25.20*). Продукция ревматоидного фактора – IgM-антител к IgG – создает возможность дальнейшего образования иммунных комплексов in situ. Не исключено, что будут найдены антигены со сродством к специфическим органам и при других заболеваниях.

Важное значение в ряде случаев может иметь заряд антигена и антитела. Например, положительно заряженные антигены и антитела должны с большей вероятностью откладываться на отрицательно заряженной базальной мембране клубочков. На судьбу комплексов, содержащих гликопротеиновые антигены, влияет и степень их гликозилирования, поскольку некоторые механизмы клиренса (например, с участием маннан-связывающего белка) активируются при взаимодействии с молекулами сахаров.

При ряде заболеваний в органе-мишени образуются и антитела, и антигены. Это наиболее выражено при ревматоидном артрите – ревматоидный фактор IgG анти-IgG продуцируется в этом случае плазматическими клетками синовиальной оболочки; затем эти антитела взаимодействуют друг с другом (аутоассоциация), вызывая тем самым воспалительную реакцию.

Место отложения иммунных комплексов отчасти зависит от их размеров

Примером этого служат почки. Мелкие иммунные комплексы способны проходить сквозь базальную мембрану клубочкового капилляра и достигать ее эпителиальной стороны; для крупных комплексов мембрана непроницаема и они обычно накапливаются между эндотелием и базальной мембраной, в мезангии (*рис. 25.21*). Размеры иммунных комплексов зависят от валентности антигена, а также от титра и аффинности антител.

Отложение иммунных комплексов зависит от класса входящих в них иммуноглобулинов

Существуют заметные возрастные и половые различия между классами и подклассами антител анти-ДНК, образующихся при СКВ. Так, у мышей NZB/NZW по мере их взросления происходит переключение с преимущественного синтеза IgM на продукцию IgG2a. У самок это происходит раньше, чем у самцов, и совпадает с началом поражения почек, что свидетельствует о значении класса антител для отложения комплексов в ткани (*рис. 25.22*).

ОБНАРУЖЕНИЕ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ

Отложение иммунных комплексов можно выявить с использованием иммунофлуоресценции

С наибольшей вероятностью отложение комплексов можно обнаружить в пораженном органе. С этой целью срезы тканей исследуют иммунофлуоресцентным методом на присутствие имму-

Отложение иммунных комплексов в почках

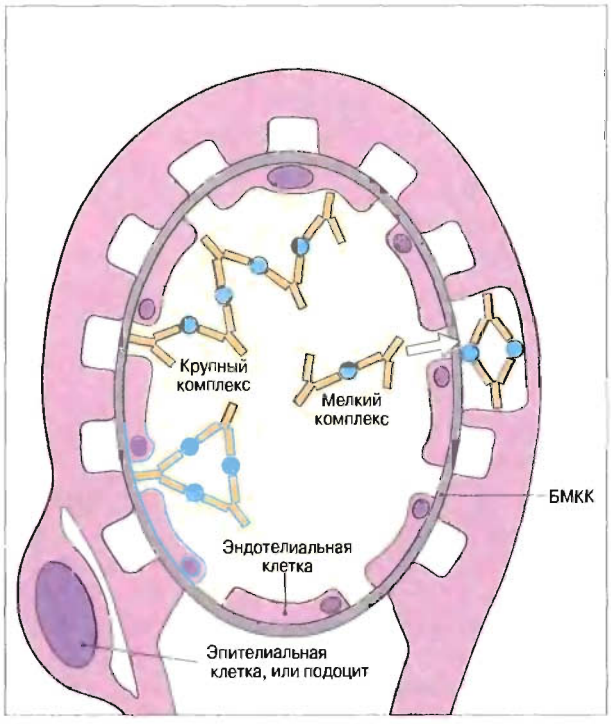


Рис. 25.21
Место отложения комплексов в почках зависит от размеров комплексов, присутствующих в крови. Крупные комплексы откладываются на базальной мембране клубочковых капилляров (БМКК), тогда как мелкие проходят через нее на эпителиальную сторону.

Классы антител при болезни иммунных комплексов

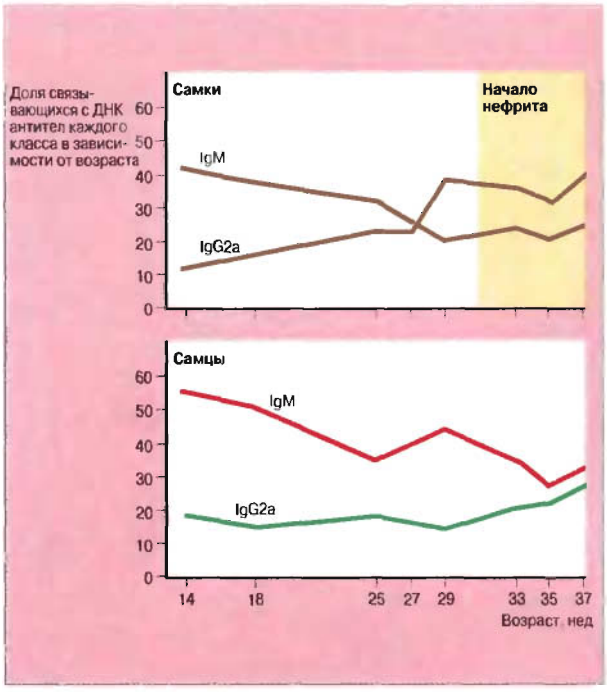


Рис. 25.22
У мышей NZB/NZW болезнь иммунных комплексов развивается спонтанно и проявляется вслед за переключением класса антител с IgM на IgG2a, которое происходит в раннем возрасте. На графике показано соотношение IgM- и IgG2a-изотипов антител анти-ДНК у самок и самцов. И переключение классов антител, и смертельное поражение почек раньше возникает у самок мышей этой линии.

ноглобулинов и комплемента. Данные о составе и характере комплексов, а также месте их локализации в пораженной ткани важны для оценки тяжести и для прогноза заболевания. Например, в случае мембранозного гломерулонефрита при наличии крупных зернистых отложений IgG в субэпителиальном слое почечных клубочков прогноз плохой, а при локализации комплексов в мезангии – хороший. Воспалительная реакция обнаруживается не во всех тканях, связывающих иммунные комплексы. Например, при СКВ комплексы часто присутствуют в биоптатах не только воспаленной, но и внешне нормальной кожи.

Выявление иммунных комплексов в крови

В крови комплексы не только связаны с эритроцитами, но присутствуют также в свободной форме в плазме. Связанные с эритроцитами комплексы реже оказывают повреждающее действие, поэтому больший интерес представляет определение уровня свободных комплексов. При отборе проб крови необходимо соблюдать ряд предосторожностей, поскольку связанные комплексы при образовании сгустка легко высвобождаются под действием фактора I. Чтобы избежать этого, следует быстро отделять эритроциты от плазмы.

Для идентификации крупных комплексов, содержащих антитела IgG, часто используют осаждение иммунных комплексов полиэтиленгликолем (ПЭГ) с последующим определением IgG в осадке. На этом принципе основана одна из коммерческих систем определения иммунных комплексов (*рис. 25.23*).

Циркулирующие комплексы часто определя-

Определение иммунных комплексов с использованием полиэтиленгликоля (ПЭГ)

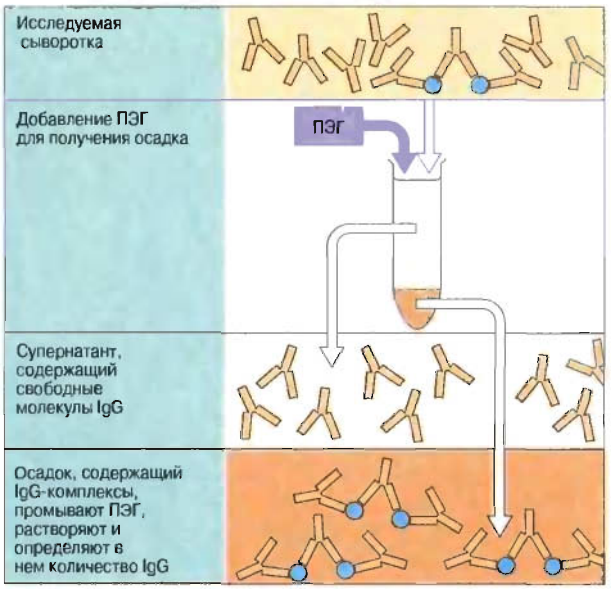


Рис. 25.23
К пробе сыворотки, содержащей IgG-комплексы и мономер IgG, добавляют полиэтиленгликоль (ПЭГ). При 2% концентрации ПЭГ осаждаются только комплексы, а свободные антитела остаются в растворе. Затем пробирки центрифугируют, при этом образуется осадок комплексов на дне. Содержащий свободные антитела супернатант удаляют. Осадок промывают и вновь переводят в раствор для определения количества присутствующего в комплексах IgG (например, с помощью простой радиальной иммунодиффузии, нефелометрии или радиоиммунологического анализа).

Радиоиммунологическое определение иммунных комплексов

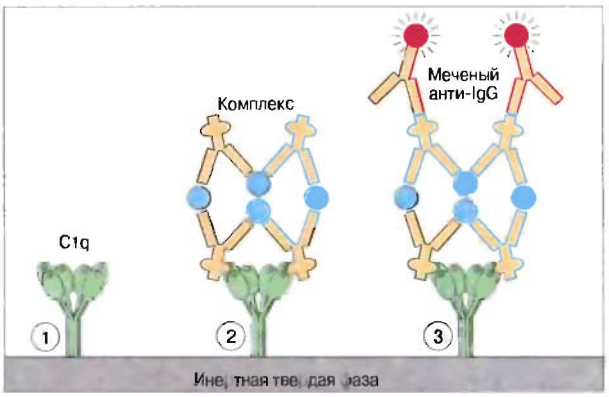


Рис. 25.24
Радиоиммунологическое определение иммунных комплексов с использованием C1q.
1. C1q связывают с инертной твердой фазой (подложкой); обычно ею служит полистироловая пробирка или пластинка.
2. Добавляют содержащую комплексы сыворотку. Комплексы связываются с твердофазным C1q посредством своих Fc-участков, доступных для взаимодействия с C1q.
3. Добавляют радиоактивно меченные антитела анти-IgG. После промывания регистрируют с помощью гамма-счетчика радиоактивность твердой фазы и по ней рассчитывают количество связанных с C1q комплексов.

ют также по их сродству к компоненту C1q комплемента, используя радиоактивно меченный или находящийся в твердой фазе (связанный с твердой подложкой) C1q (*рис. 25.24*).

Для связывания и определения количества иммунных комплексов можно использовать и другие рецепторы, например C3-рецептор клеток линии RAJI (B-клеточная опухоль) или Fc-рецептор тромбоцитов.

Однако к определению комплексов в случае аутоиммунных заболеваний необходимо подходить с большой осторожностью. У таких больных могут присутствовать аутоантитела к компонентам самой тест-системы. При СКВ, например, образуются антилимфоцитарные и анти-ДНК-антитела, которые связываются с клетками RAJI, обусловливая ложно-положительные результаты определения иммунных комплексов. Подобно этому, при ряде заболеваний соединительной ткани найдены антитела анти-C1q (структура C1q сходна со структурой коллагена), что создает возможность получения ложно-положительных результатов при использовании систем определения с применением C1q.

При любом используемом способе важно убедиться в том, что определяемые соединения действительно обладают большей молекулярной массой, чем мономерный IgG. Наконец следует учесть, что к оценке роли циркулирующих комплексов необходимо подходить даже более осторожно, чем к оценке значения тканевых отложений. Многие циркулирующие комплексы сами по себе безвредны. Повреждение возникает лишь при их отложении в тканях.

Вопросы для размышления

- Какие факторы могут обусловливать персистенцию иммунных комплексов?
- Почему иммунные комплексы откладываются в одних, а не других органах?
- Какие новые воздействия на иммунную систему могли бы помочь в лечении болезней иммунных комплексов?
- Полезна или вредна для организма вызываемая иммунными комплексами активация комплемента?
- Каким образом класс антител влияет на судьбу иммунных комплексов?
- Какие трудности возникают при лабораторном определении иммунных комплексов?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Agnello V. 1983. Immune complex assays in rheumatic diseases. *Hum. Pathol.* **14**: 343–9.

Arthus M. 1903. Injections répétées de sérum de cheval chez le lapin. *C.R. Seances Soc. Biol. Filiales* **55**: 817.

Birmingham D.J., Herbert L.A., Cosio F.G., et al. 1990. Immune complex erythrocyte complement receptor interactions in vivo during induction of glomerulonephritis in non-human primates. *J. Lab. Clin. Med.* **116**: 242–52.

Boackle S.A., Holer V.M., Karp D.R. 1997. CD21 augments antigen presentation in immune individuals. *Eur. Immunol.* **27**: 122–29.

Cornacoff J.B., Hebert L.A., Smead W.L., Vanaman M.E., Birmingham D.J., Waxman F.J. 1983. Primate erythrocyte immune complex clearing mechanism. *J. Clin. Invest.* **71**: 236–47.

Czop J., Nussenzweig V. 1976. Studies on the mechanism of solubilization of immune precipitates by serum. *J. Exp. Med.* **143**: 615–30.

Davies K.A., Erlendsson J., Beynon H.L.C. et al. 1993. Splenic uptake of immune complexes in man is complement-dependent. *J. Immunol.* **151**: 3866–73.

Davies K.A., Hird V., Stewart S., et al. 1990. A study of in vivo immune complex formation and clearing in man. *J. Immunol.* **144**: 4613–20.

Davies K.A., Schifferli J.A., Walport M.J. 1994. Complement deficiency and immune complex diseases. *Springer Seminars in Immunopathology* **15**: 397–416.

Dixon F.J., Joseph D., Feldman J.D. et al. 1961. Experimental glomerulonephritis: the pathogenesis of a laboratory model resembling the spectrum of human glomerulonephritis. *J. Exp. Med.* **113**: 899–919.

Dixon F.J., Vazques J.J., Weigle W.O. et al. 1958. Pathogenesis of serum sickness. *Arch. Pathol.* **65**: 18–28.

Emlen W., Carl V., Burdick C.G. 1992. Mechanism of transfer of immune complexes from red blood cell CR1 to monocytes. *Clin. Exp. Immunol.* **89**: 8–17.

Finbloom D.S., Magilvary D.B., Harford J.B. et al. 1981. Influence of antigen on immune complex behaviour in mice. *J. Clin. Invest.* **68**: 214–24.

Heidelberger M. 1941. Quantitative chemical studies on complement or alexin. J. Exp. Med. **73**: 681–709.

Inman R.D. 1982. Immune complexes in SLE. *Clin. Rheum. Dis.* **8**: 49–62.

Johnston A., Auda G.R., Kerr M.A. et al. 1992. Dissociation of primary antigen-antibody bonds is essential for complement mediated solubilization of immune complexes. *Mol. Immunol.* **29**: 659–65.

Kijlstra H., van Es L.A., Daha M.R. 1979. The role of complement in the binding and degradation of immunoglobulin aggregates by macrophages. *J. Immunol.* **123**: 2488–93.

Lachmann P.J. 1980. Complement deficiency and the pathogenesis of autoimmune complex disease. *Chem. Immunol.* **49**: 245–263.

Lucisano Valim M., Lachmann P.J. 1991. The effect of antibody isotype and antigenic epitope density on the complement-fixing activity of immune complexes: a systematic study using chimaeric anti-NIP antibodies with human Fc regions. *Clin. Exp. Immunol.* **84**: 1–8.

Miller G.W., Nussenzweig V. 1975. A new complement function: solubilization of antigen-antibody aggregates. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **72**: 418–22.

Qiao J.-H., Castellani L.W., Fishbein M.C. et al. 1993. Immune-complex-mediated vasculitis increases coronary artery lipid accumulation in autoimmune-prone MRL mice. *Arteriosclerosis Thromb.* **13**: 932–43.

Schifferli J.A., Ng Y.C., Peters D.K. 1986. The role of complement and its receptor in the elimination of immune complexes. *N. Engl. J. Med.* **315**: 488–95.

Takata Y., Tamura N., Fujota T. 1984. Interaction of C3

with antigen-antibody complexes in the process of solubilisation of immune precipitates. *J. Immunol.* **132**: 2531–7.

Theofilopoulos A.N., Dixon F.J. 1979. The biology and detection of immune complexes. *Adv. Immunol.* **28**: 89–220.

Warren J.S., Yabroff K.R., Remick D.G. et al. 1989. Tumour necrosis factor participates in the pathogenesis of acute immune complex alveolitis in the rat. *J. Clin. Invest.* **84**: 1873–82.

Waxman F.J., Hebert L.E., Cornacoff J.B. et al. 1984. Complement depletion accelerates the clearance of immune complexes from the circulation of primates. *J. Clin. Invest.* **74**: 1329–40.

Whaley K. 1987. *Complement and immune complex diseases.* In: Whaley K (ed). Complement in Health and Disease. Lancaster: MTP Press Ltd.

Williams R.C. 1980. *Immune Complexes in Clinical and Experimental Medicine*. Massachusetts: Harvard University Press.

World Health Organization Scientific Group. *Technical Report 606. The Role of Immune Complexes in Disease.* Geneva: WHO, 1977.

26 Гиперчувствительность – тип IV

- **Известны три реакции гиперчувствительности IV типа:** контактная, туберкулиновая и гранулематозная.
- Нанесенный на кожу гаптен поглощают и процессируют **клетки Лангерганса;** эти же клетки презентируют гаптен антигенспецифичным Т-клеткам.
- **Цитокины, продуцируемые иммунокомпетентными клетками кожи** (например, кератиноцитами, клетками Лангерганса или Т-клетками), обусловливают участие в реакции антигенеспецифичных Т-клеток и макрофагов.
- **Реакцию гиперчуаствительности туберкулинового типа** можно использовать в качестве диагностической пробы на присутствие многих инфекционных агентов.
- **Для гранулематозных реакций** характерен определенный баланс между защитным иммунитетом к нерастворимому антигену и опосредованным Т-клетками повреждением ткани. Характерный пример такого равновесия – туберкулоидная форма проказы.
- **Персистенция антигена** приводит к дифференцировке макрофагов в эпителиоидные клетки и их слиянию с образованием гигантских клеток. Этот патологический процесс, называемый гранулематозной реакцией, приводит к повреждению тканей.
- **Формирование гранулемы** связано с Т-клеточной активацией макрофагов и зависит от ФНО.

Согласно классификации Кумбса и Джелла, гиперчувствительность IV типа (замедленная) – это реакции, проявляющиеся не ранее, чем через 12 ч и опосредованные клеточными, а не гуморальными иммунными механизмами. Однако для некоторых реакций гиперчувствительности такая классификация не подходит. Например, реакции поздней фазы, достигающие пика через 12–24 ч после контакта с аллергеном, опосредованы преимущественно IgE, хотя в них принимают участие и Т-хелперные клетки, т. е. механизм их комплексный. Другие реакции (например гиперчувствительность Джонса–Моута, которая напоминает кожные базофильные реакции у морских свинок) раньше также относили к IV типу, хотя их механизмы и клиническое значение остаются неясными; в этой главе они не рассматриваются.

В отличие от других видов гиперчувствительности, реакции IV типа могут быть перенесены от сенсибилизированного животного несенсибилизированному не сывороткой, а Т-клетками (у мыши Тц1-клетками). В основе таких реакций лежат несомненно механизмы защитного Т-клеточного иммунитета, однако полная корреляция между ним и гиперчувствительностью IV типа наблюдается далеко не всегда. Ответственные за осуществление замедленной реакции Т-клетки специфически сенсибилизированы антигеном в период предшествующего контакта с ним и действуют путем привлечения к месту реакции клеток других типов.

Известны три варианта реакций гиперчувствительности IV типа (*рис. 26.1*). Контактная и туберкулиновая реакции развиваются в течение 72 ч после начала действия антигена, тогда как гранулематозная реакция – лишь через 21–28 сут; гранулемы образуются в результате накопления и пролиферации макрофагов и могут сохраняться неделями. Эта форма гиперчувствительности IV типа вызывает наиболее серьезные клинические последствия. Необходимо отметить, что один и

Варианты реакций гиперчувствительности замедленного типа

Замедленная реакция	Время максимального развития ревкции
Контактная	48–72 ч
Туберкулиновая	48–72 ч
Гранулематозная	21–28 сут

Рис. 26.1
Контактная и туберкулиновая формы гиперчувствительности имеют сходную временну́ю динамику и достигают максимума через 48–72 ч. В некоторых случаях (например, при воздействии нврастворимого антигена) чврез 21–28 сут развивается и гранулвматозная реакция (например, при кожной пробе на проказу).

тот же антиген способен вызывать реакции разных видов, которые могут перекрывать друг друга.

Названные три вида реакций замедленного типа исходно были выделены по характеру проявлений, возникающих при накожном нанесении или внутрикожном введении антигена. Степень реакции обычно оценивают у животных по толщине пораженного участка кожи. Вслед за местной реакцией могут развиваться и различные системные иммунные реакции.

КОНТАКТНАЯ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Контактная гиперчувствительность характеризуется экзематозной реакцией в месте воздействия антигена (*рис. 26.2*). Она часто возникает в результате контакта с такими веществами, как никель, хромат, применяемые в резиновой промышленности катализаторы и пентадекакатехол (присутствующий в растении сумах укореняющийся). При контакте с токсически действующими раздражающими веществами экзема может возникать и без участия механизмов гиперчувствительности. Хотя начальные реакции в этих двух случаях различны, иммунологические сдвиги, развивающиеся после воздействия раздражителей и аллергенов, сходны между собой.



Рис. 26.2
Клинические проявления и результат кожной пробы при контактной реакции гиперчувствительности. 1. Экзематозные изменения на запястье, вызванные никелевой застежкой от часов. **2.** Подозрение на аллергию можно подтвердить, нанося потенциальные аллергены (в достаточной концентрации и в комплексе с подходящим носителем) на кожу внутренней поверхности предплечья (кожная проба). При положительной реакции через 2–4 сут на месте нанесения вызывающего аллергию антигена появляется ограниченный участок экземы.

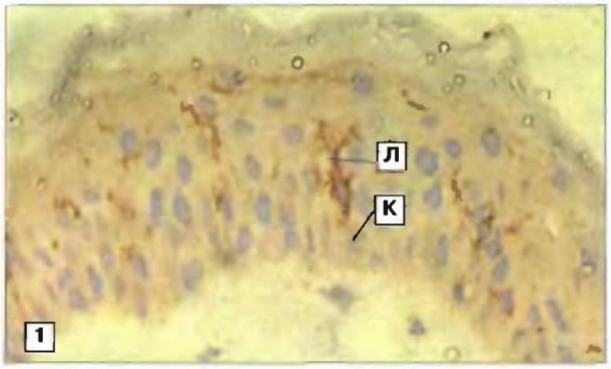
Иммунологически активные компоненты перечисленных выше агентов названы гаптенами. Сами по себе гаптены не обладают антигенными свойствами (размеры их молекул для этого слишком малы – молекулярная масса часто не достигает и 1 кДа), но, проникая в эпидермис и присоединяясь (чаще всего ковалентно) к собственным белкам организма, они приобретают антигенную активность. Сенсибилизирующую активность гаптенов трудно предсказать на основании их структуры, хотя имеется некоторая корреляция между количеством связанного с носителем гаптена и его способностью проникать в кожу. Отдельные контактные аллергены содержат ненасыщенные углеродные связи и легко окисляются. Некоторые гаптены, например динитрохлорбензол (ДНХБ), сенсибилизируют почти любого человека и могут быть использованы для оценки клеточного иммунитета. Нанесенный на кожу ДНХБ связывается с белками эпидермиса через NH_2-группы остатков лизина.

Ключевая роль при контактной гиперчувствительности принадлежит клеткам Лангерганса и кератиноцитам

Клетки Лангерганса служат основными антигенпрезентирующими клетками

Контактная гиперчувствительность – это главным образом эпидермальная реакция, и основными антигенпрезентирующими клетками (АПК) в данном случае служат дендритные клетки Лангерганса, локализованные в надбазальном слое эпидермиса (*рис. 26.3*). Эти клетки имеют костномозговое происхождение и экспрессируют на своей поверхности маркер CD1, антигены MHC класса II, а также рецепторы для Fc и комплемента (см. гл. 2). Как показывает электронная микроскопия, клетки Лангерганса содержат бербековы гранулы (специфические для этих клеток органеллы, образующиеся из клеточной мембраны). Под действием В-ультрафиолета клетки Лангерганса инактивируются, что предотвращает или смягчает проявления контактной гиперчувствительности.

In vitro клетки Лангерганса действуют как АПК, будучи в этом отношении более активными, чем моноциты. Однако механизм процессинга антигена в клетках Лангерганса остается неясным. Антигены, связанные с молекулами MHC класса II, могут поглощаться ими путем опосредованного рецепторами эндоцитоза с участием бербековых гранул.



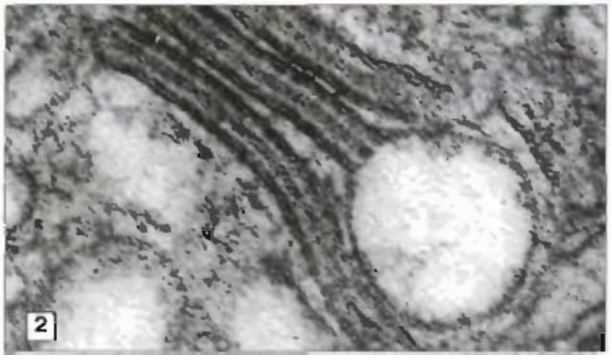


Рис. 26.3
Клетка Лангерганса. 1. Эти дендритные клетки составляют 3 % всех клеток эпидермиса. Они экспрессируют ряд поверхностных маркеров, по которым их можно визуализировать. В данном случае срез нормальной кожи окрашен моноклональными антителами к CD1 (второй краситель – гемалум Майера). (Л – клетка Лангерганса; К – кератиноцит.) × 312.
2. На электронной микрофотографии клетки Лангерганса видна характерная бербекова гранула. Эта пластинковидная органелла имеет четкую центральную исчерченность и часто расширена с одного конца. ×132 000.

Кератиноциты продуцируют ряд важных для реакций контактной гиперчувствительности цитокинов

Кератиноциты обеспечивают структурную целостность эпидермиса и выполняют центральную роль в иммунных реакциях этого слоя кожи. Они могут экспрессировать на мембране молекулы MHC класса II и ICAM-1, а также выделять цитокины, в том числе ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-8, ГМ-КСФ, ФНОα, ТФРα и ТФРβ. Интерлейкин-3 способен активировать клетки Лангерганса, участвовать в стимуляции пролиферативного ответа и привлекать тучные клетки, а также индуцировать секрецию иммуносупрессивных цитокинов (например, ИЛ-10 и ТФРβ), которые подавляют иммунный ответ и вызывают клональную анергию (иммунологическую ареактивность) Tx1-клеток.

Кератиноциты активируются многими стимулами, включая аллергены и раздражающие вещества, и в активированном состоянии продуцируют иммунорегуляторные цитокины, такие как ФНОα и ГМ-ГСФ, которые в свою очередь активируют клетки Лангерганса. Некоторые антигены, в том числе урушиол из сумаха укореняющегося, непосредственно индуцируют образование ФНОα и ИЛ-8.

Реакция конактной гиперчувствительности протекает в две стадии: сенсибилизации и проявления

В процессе сенсибилизации образуются Т-клетки иммунологической памяти

У человека период сенсибилизации длится 10–14 сут. Гаптен, проникнув в кожу, соединяется с белком, после чего происходит его поглощение (интернализация) эпидермальными клетками Лангерганса. Эти клетки затем покидают эпидермис и по афферентным лимфатическим сосудам мигрируют в паракортикальную область регионарных лимфоузлов. Здесь они презентируют подвергшиеся процессингу гаптен-белковые конъюгаты (ассоциированные с молекулами MHC класса II) лимфоцитам $CD4^+$, формирующим популяцию клеток иммунологической памяти (*рис. 26.4*). Исследования на человеке с применением ДНХБ показывают, что сенсибилизация зависит прежде всего от дозы гаптена на единицу площади кожи, а не от общей дозы или общей площади, на которую воздействует гаптен.

Фаза проявления реакции протекает с участием лимфоцитов $CD4^+$ и моноцитов

В течение нескольких часов после нанесения аллергена на кожу обычно наблюдается некоторое снижение количества клеток Лангерганса в эпидермисе. Затем в коже и лимфоузлах эти клетки презентируют антиген. Вскоре происходит дегрануляция тучных клеток с выделением цитокинов. Продуцируемые клетками разных типов, в частности макрофагами, цитокины ФНОα и ИЛ-1 служат мощными индукторами выделения молекул адгезии эндотелиальными клетками. В результате местного выделения этих цитокинов формируется градиент их концентрации, что слу-

Контактная гиперчувствительность: фаза сенсибилизации

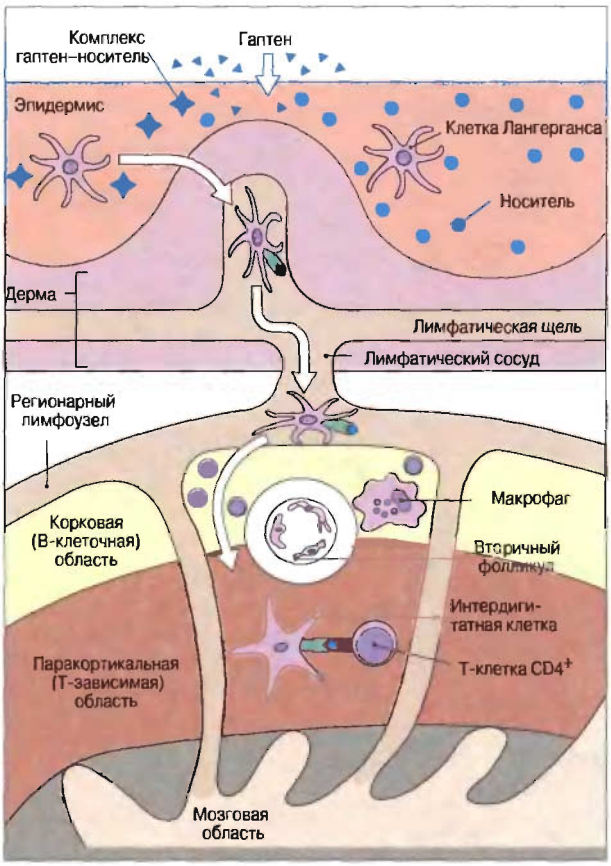


Рис. 26.4
В эпидермисе образуется комплекс гаптена с белком-носителем. Клетки Лангерганса поглощают (интернализуют) антиген и по афферентным лимфатическим сосудам мигрируют в паракортикальную область регионарного лимфоузла, где в качестве интердигитатных клеток презентируют антиген Т-клеткам $CD4^+$.

жит сигналом для движения мононуклеарных клеток в направлении дермо-эпидермального контакта и эпидермиса. Фазу проявления контактной гиперчувствительности иллюстрирует *рис. 26.5.*

Наиболее раннее (через 4–8 ч) гистологическое изменение состоит в появлении мононуклеарных клеток вокруг производных кожи (ногти, волосы) и кровеносных сосудов; в дальнейшем они инфильтрируют эпидермис. Макрофаги проникают в дерму и эпидермис через 48 ч. Количество инфильтрирующих эти слои кожи клеток достигает максимума через 48–72 ч (*рис. 26.6*), причем большинство лимфоцитов относится к популяции $CD4^+$ и лишь немногие к $CD8^+$. Менее 1% инфильтрирующих кожу клеток принадлежит к одному клону (а именно к клону антигенспецифичных клеток иммунологической памяти – Tx1-клеток $CD4^+$). Привлечение Т-клеток происходит в основном по независимому от антигена механизму.

Механизмы реакций на аллергены и на раздражающие вещества частично сходны

И аллергены, и раздражающие вещества могут повреждать клетки Лангерганса и индуцировать выделение цитокинов, способствующих созреванию этих клеток в активные АПК, которые мигрируют в лимфоузлы и инициируют иммунный ответ. Синтез мРНК для ФНОα, ИФγ и ГМ-КСФ начинается уже в первые 30 мин после нанесения на кожу аллергена или раздражающего вещества, а через 2–4 ч содержание этих мРНК возрастает в 10 раз. Некоторые изменения в транскрипции мРНК отмечаются только после воздействия гаптена. К ним относится увеличение уровня мРНК для ИЛ-1β в клетках Лангерганса (через 15 мин), а также усиление транскрипции мРНК для ИЛ-1α в кератиноцитах, воспалительного белка-2 макрофагов (MIP-2) и индуцируемого интерфероном белка-10 (IP-10) (*рис. 26.7*).

Нанесение на кожу химических веществ может привести к усилению через 2 ч экспрессии ELAM-1 и VCAM-1 и через 8 ч – ICAM-1, независимо от предварительной сенсибилизации. Большее значение по сравнению с ELAM-1 и VCAM-1 имеет ICAM-1: эта молекула служит лигандом для LFA-1, присутствующего на поверхности лимфоидных и миелоидных клеток, и выполняет важную роль в удержании этих клеток в коже. Хемотаксические цитокины и «сигнальный эффект» перемещающихся клеток Лангерганса привлекают Tx1-клетки. Т-клетки иммунологической памяти остаются в кожных капиллярах, где они могут инициировать реакцию и накапливаться независимо от присутствия специфического антигена.

Ряд цитокинов подавляет воспалительную реакцию

Через 48–72 ч реакция затухает; макрофаги и кератиноциты выделяют ПГЕ, который ингибирует

Контактная гиперчувствительность: фаза проявления

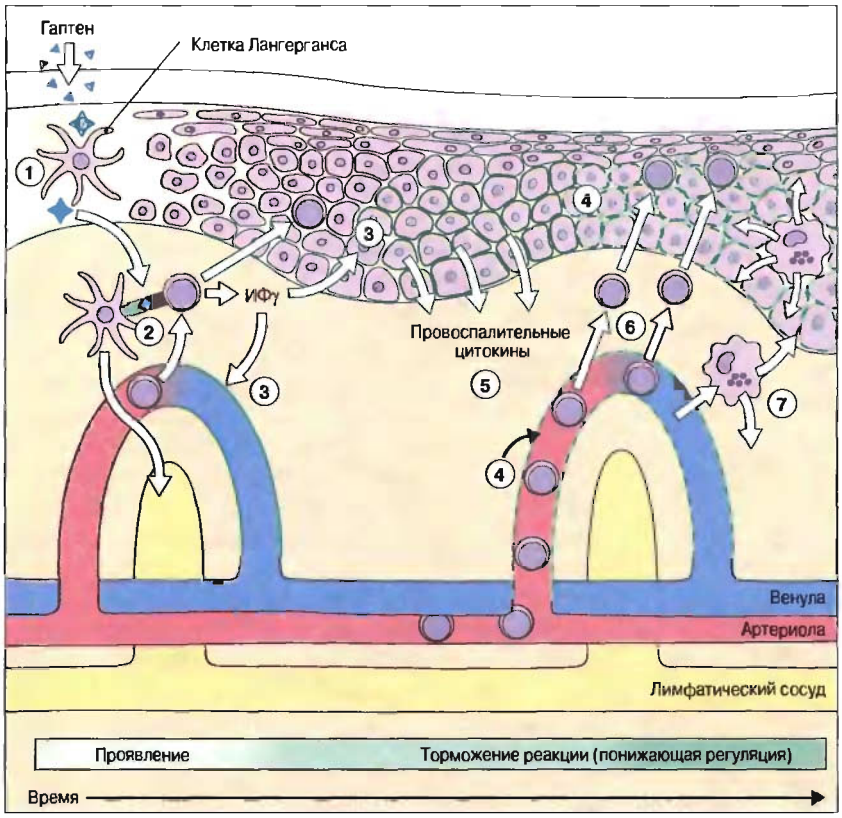


Рис. 26.5
Клетки Лангерганса, несущие комплекс гаптен–носитель (**1**) перемещаются из эпидермиса в дерму, где презентируют этот комплекс Т-клеткам ($CD4^+$) иммунологической памяти (**2**). Активированные Т-клетки $CD4^+$ выделяют ИФγ, который индуцирует экспрессию ICAM-1 (**3**) и, позднее, молекул MHC класса II (**4**) на поверхности кератиноцитов и на эндотелиальных клетках кожных капилляров, а также стимулирует кератиноциты, вызывая продукцию ими провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1, ИЛ-6 и ГМ-ГСФ (**5**). Цитокины привлекают к месту реакции антиген-неспецифические Т-клетки CD4+ (**6**), которые могут связываться с кератиноцитами через ICAM-1 и молекулы MHC класса II. К очагу реакции привлекаются также активированные макрофаги, но это происходит позднее. С данного момента реакция начинает угасать. В супрессии реакции могут участвовать эйкозаноиды, например ПГЕ, выделяемый активированными кератиноцитами и макрофагами (**7**).

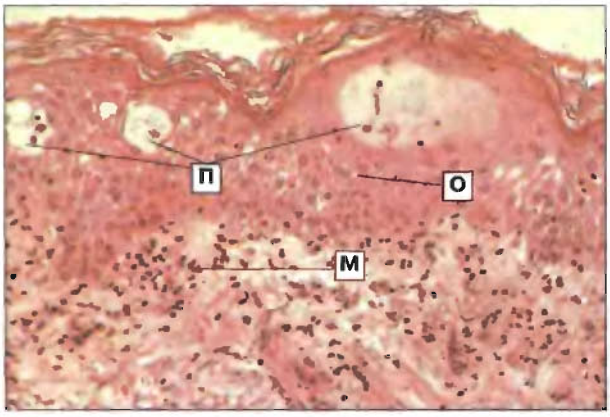


Рис. 26.6
Гистологическая картина повреждения при контактной реакции гиперчувствительности. Мононуклеарные клетки (М) инфильтрируют дерму и эпидермис. Эпидермис набухает и в нем вследствие отека (О) появляются микропузырьки (П). Окраска гематоксилином и эозином. ×130.

продукцию ИЛ-1 и ИЛ-2; Т-клетки связываются с активированными кератиноцитами, и гаптеновый конъюгат подвергается ферментативной и клеточной деградации. Затуханию реакции способствуют следующие механизмы.

- Лимфокины, ингибирующие миграцию, препятствуют распространению воспалительной реакции.
- ТФРβ, выделяемый тучными клетками дермы, активированными кератиноцитами и лимфоцитами, ингибирует воспаление и блокирует пролиферативные эффекты ИЛ-1 и ИЛ-2.
- ИЛ-1, синтезируемый кератиноцитами после контакта с аллергенами, ингибирует окислительный метаболизм в макрофагах и тормозит продукцию ими провоспалительных медиаторов.
- ИЛ-10 ослабляет экспрессию молекул класса II и подавляет продукцию цитокинов и антиген-специфическую пролиферацию Tx1-клеток.

Цитокины, простагландины и клеточные взаимодействия при контактной гиперчувствительности

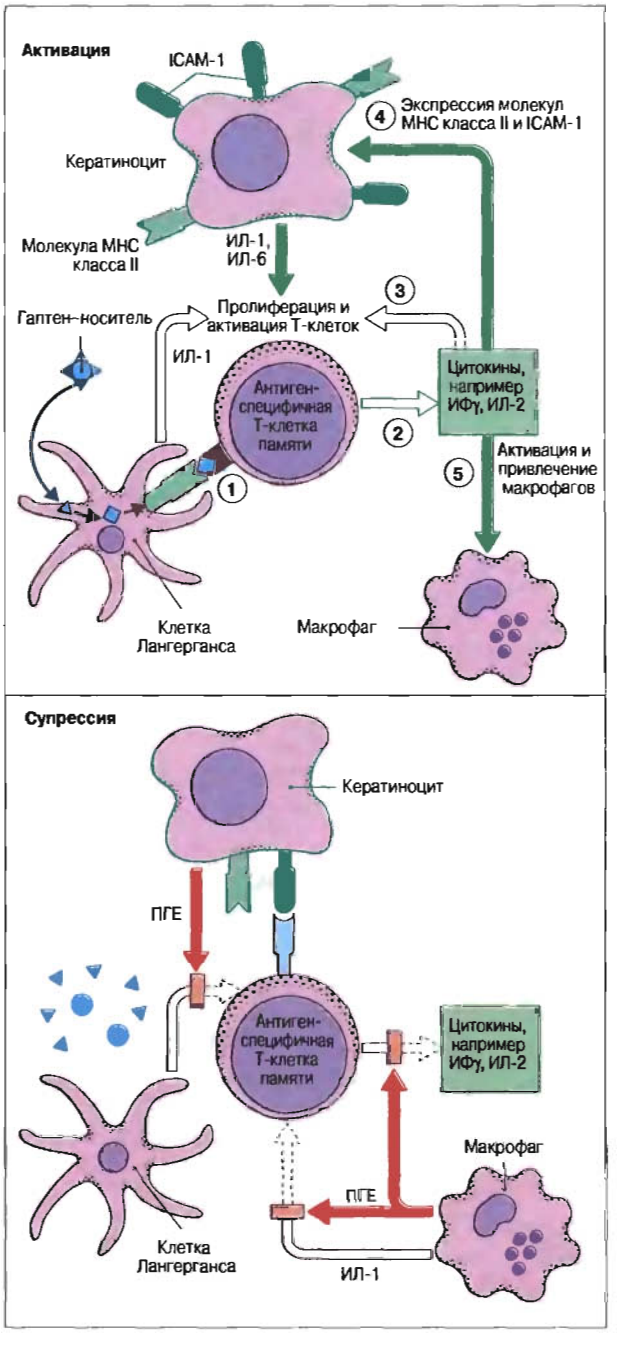


Рис. 26.7
Центральная роль в сложных взаимодействиях между клетками Лангерганса, Т-клетками $CD4^+$, кератиноцитами, макрофагами и эндотелиальными клетками при контактной реакции гиперчувствительности принадлежит цитокинам и простагландинам. Презентация антигена (**1**) вызывает каскадное выделение цитокинов (**2**). Это вначале приводит к активации и пролиферации Т-клеток $CD4^+$ (**3**), повышению экспрессии ICAM-1 и молекул MHC класса II на поверхности кератиноцитов и эндотелиальных клеток (**4**), а также к привлечению в кожу Т-клеток и макрофагов (**3, 5**). Последующая продукция ПГЕ кератиноцитами и макрофагами может ингибировать образование ИЛ-1 и ИЛ-2. В торможение реакции вносит вклад не только продукция ПГЕ, но и связывание активированных Т-клеток с кератиноцитами, а также ферментативное и клеточное разрушение комплекса гаптен–носитель.

- Возможно участие внешних факторов; так, у мыши УФ-облучение индуцирует синтез специфического ингибитора активности ИЛ-1.
- Кератиноциты, экспрессирующие молекулы класса II, в отсутствие костимулирующих молекул не могут действовать как АПК, но, экспрессируя гаптен, способны вызывать клональную анергию Тх1-клеток.

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТУБЕРКУЛИНОВОГО ТИПА

Эта форма гиперчувствительности впервые была описана Кохом. При подкожной инъекции фильтрата из культуры вызывающих туберкулез микобактерий (он содержит так называемый туберкулин – комплекс антигенов этих бактерий) у больных туберкулезом повышается температура и развивается общее болезненное состояние. В участке инъекции возникают уплотнение и отек. Аналогичные реакции вызывают у сенсибилизированных лиц растворимые антигены многих микроорганизмов, включая *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae* и *Leishmania tropica*. Кожную реакцию часто используют для проверки сенсибилизации теми или иными микроорганизмами (*рис. 26.8*). Эту форму гиперчувствительности могут индуцировать и немикробные антигены, например бериллий и цирконий.

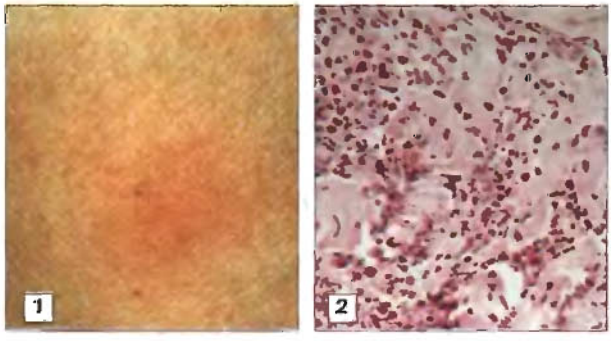


Рис. 26.8
Клиническое проявление и гистологическая картина реакции туберкулинового типа. Реакцию сенсибилизированных лиц на инъекцию возбудителя проказы называют реакцией Фернандеса. Она проявляется покраснением и набуханием участка кожи и достигает максимума через 48–72 ч после введения антигена (**1**). Гистологически (**2**) в дерме выявляется плотный инфильтрат из лейкоцитов и макрофагов. Окраска гематоксилином и эозином. × 80.

В реакции на туберкулиновую кожную пробу участвуют в основном моноциты

Кожная туберкулиновая проба позволяет выявить реакцию на растворимый антиген у ранее инфицированных лиц. После внутрикожной инъекции туберкулина сенсибилизированным лицам антигенспецифичные Т-клетки активируются и начинают секретировать цитокины, опосредующие реакцию гиперчувствительности. Выделяемые Т-клетками ФНОα и лимфотоксин (ФНОβ) действуют на эндотелий кожных сосудов, индуцируя последовательную экспрессию молекул адгезии – Е-селектина, ICAM-1 и VCAM-1. Эти молекулы связываются рецепторами на поверхности лейкоцитов и привлекают их к месту реакции. На протяжении первых 4 ч здесь скапливаются нейтрофилы, но через 12 ч их замещают моноциты и Т-клетки. Инфильтрат, распространяясь и разрушая пучки коллагена дермы, увеличивается до максимальных размеров через 48 ч. Количество Т-клеток $CD4^+$ в инфильтрате примерно вдвое превышает число клеток $CD8^+$. Через 24 и 48 ч в инфильтрате дермы присутствуют и клетки $CD1^+$ (сходные с клетками Лангерганса, но лишенные бербековых гранул); в период между 24 и 48 ч некоторые клетки $CD4^+$ проникают и в эпидермис.

Примерно 80–90 % всех клеток инфильтрата приходится на долю моноцитов. И лимфоциты, и макрофаги, присутствующие в инфильтрате, экспрессируют молекулы MHC класса II, что повышает способность активированных макрофагов презентировать антиген. Через 48–96 ч после появления лимфоцитарного инфильтрата покрывающие его кератиноциты начинают экспрессировать молекулы HLA-DR. Эти процессы проиллюстрированы *рис. 26.9*.

В реакциях гиперчувствительности туберкулинового типа основными АПК служат, вероятно, макрофаги. Однако в дермальном инфильтрате присутствуют и клетки $CD1^+$, что указывает на возможное участие в реакции клеток Лангерганса или каких-то иных дендритных клеток. Перемещение иммуноцитов в регионарные лимфоузлы и из них в данном случае происходит, повидимому, так же, как при контактной гиперчувствительности.

Нарушения, вызванные туберкулином, обычно исчезают через 5–7 сут, но при персистенции антигена в тканях они могут прогрессировать в гранулематозную реакцию. Субэпидермальная

Туберкулиновая форма гиперчувствительности

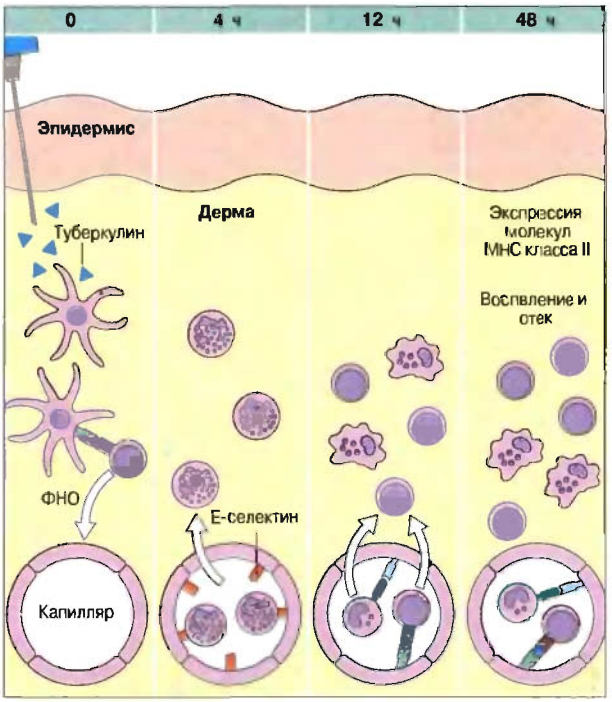


Рис. 26.9
Перемещение клеток после внутрикожной инъекции туберкулина. В первые 1–2 ч на эндотелии капилляров экспрессируется E-селектин, что обусловливает кратковременный приток нейтрофильных лейкоцитов. Через 12 ч ICAM-1 и VCAM-1 на клетках эндотелия связываются с интегринами LFA-1 и VLA-4, экспрессированными на моноцитах и лимфоцитах, что приводит к накоплению этих клеток в дерме. Реакция достигает пика через 48 ч и сменяется экспрессией молекул HLA класса II на кератиноцитах. Отек эпидермиса при этом отсутствует.

инфильтрация базофилами для такой реакции не характерна, но может иметь место при некоторых реакциях контактной гиперчувствительности и кожных пробах с гетерологичными белками, например при реакции Джонса–Моута.

ГРАНУЛЕМАТОЗНАЯ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Гранулематозные реакции представляют наиболее важную для клиники категорию гиперчувствительности IV типа; именно ими обусловлены многие проявления заболеваний, связанных с Т-клеточными иммунными реакциями. Обычно гранулематозные реакции развиваются при внутриклеточной персистенции в макрофагах микроорганизмов или других частиц, которые клетка не способна разрушить. Иногда (например, при аллергическом альвеолите) причиной таких реакций является персистенция иммунных комплексов. В результате реакции формируется эпителиоидно-клеточная гранулема.

Гистологически гранулематозная реакция резко отличается от реакции туберкулинового типа. Однако обе они часто развиваются при сенсибилизации одними и теми же микробными антигенами, например *M. tuberculosis* и *M. leprae* (*рис. 26.10*). Формирование иммунологической гранулемы наблюдается также при гиперчувствительности к цирконию и бериллию, а также при саркоидозе, хотя в последнем случае антиген остается неизвестным. При попадании в организм талька, кремния и многих других частиц гранулемы содержат эти неорганические вещества. Такие неиммунологические гранулемы можно отличить по отсутствию в них лимфоцитов.

Для реакции гранулематозной гиперчувствительности типично присутствие эпителиоидных и гигантских клеток

Эпителиоидные клетки Эти крупные уплощенные клетки содержат развитый эндоплазматический ретикулум (*рис. 26.11*). Они образуются из активированных макрофагов при хронической стимуляции цитокинами. Продолжая секретировать ФНО, они тем самым усиливают воспаление.

Гигантские клетки При слиянии эпителиоидных клеток образуются многоядерные гигантские клетки (*рис. 26.12*), называемые иногда гигантскими клетками Ланганса (не путать с описанными выше клетками Лангерганса). Гигантские клетки содержат несколько эксцентрично расположенных ядер. В них присутствуют слабо развитый эндоплазматический ретикулум и дегенерирующие митохондрии и лизосомы. Таким образом, гигантские клетки могут представлять собой конечную стадию дифференцировки клеток моноцитарно-макрофагального ряда.

Гранулема содержит эпителиоидные клетки, макрофаги и лимфоциты

В центре иммунологической гранулемы, как правило, расположены эпителиоидные клетки и макрофаги, иногда вместе с гигантскими клетками.

Роль $T_{ГЗТ}$-лимфоцитов при гиперчувствительности IV типа

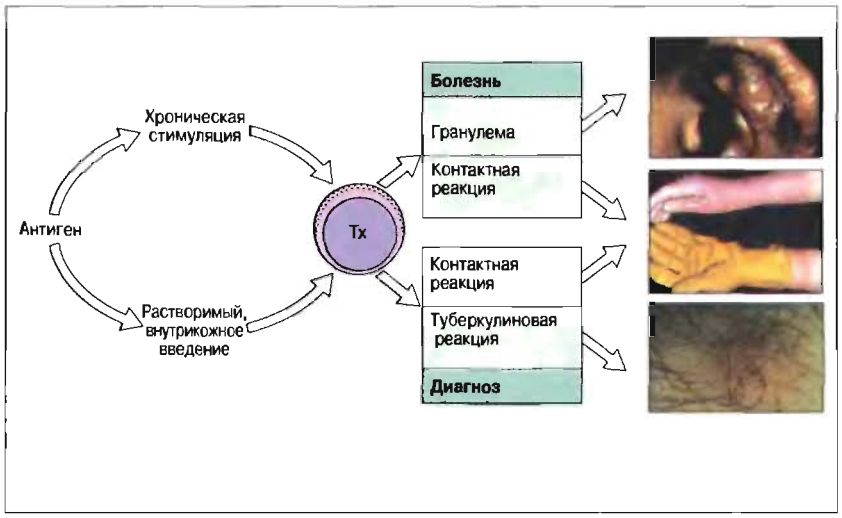
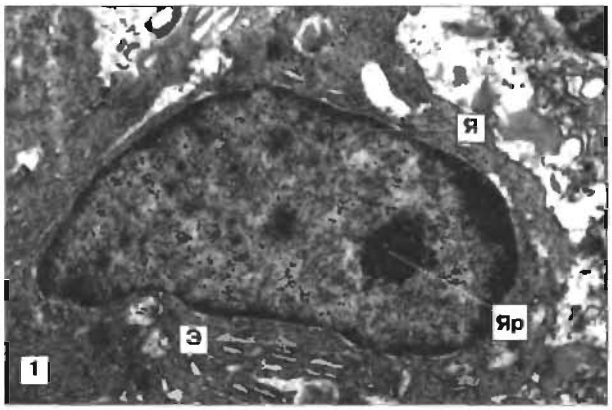


Рис. 26.10
Кожная реакция на туберкулин (фото внизу, любезно предоставленное проф. J. H. L. Playfair) служит клинической диагностической пробой на клеточный иммунитет при туберкулезе. В случае длительной антигенной стимуляции (а не однократной инъекции растворимого антигена) развивается гранулематозная реакция (фото вверху, любезно предоставленное д-ром A. du Vivier) или контактная гиперчувствительность (фото в центре, любезно предоставленное д-ром D. Sharvill). Такие реакции могут иметь место и в тех случаях, когда макрофаги не способны разрушить антиген.



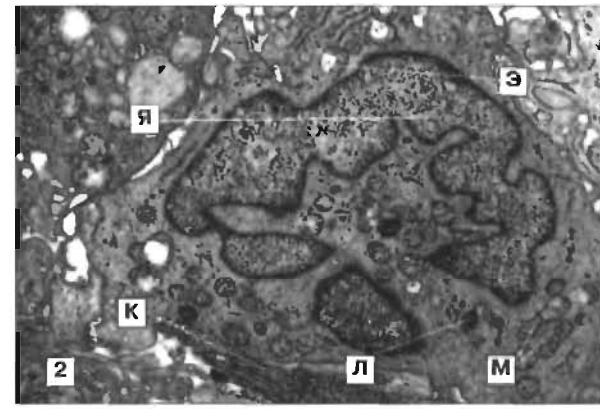


Рис. 26.11
Электронная микрофотография эпителиоидной клетки. Присутствие таких клеток характерно для реакции гранулематозной гиперчувствительности. Сравните протяженность эндоплазматического ретикулума (Э) в эпителиоидной клетке (**1**) (× 4800) и в макрофаге (**2**) (× 4800). (Яр – ядрышко; Я – ядро; К – коллаген; Л – лизосома; М – митохондрия.) (Фото любезно предоставлены M. J. Spencer.)

При некоторых заболеваниях, например туберкулезе, в центральной области гранулемы появляется зона некроза с полной потерей клеточной структуры. Ядро гранулемы, состоящее из макрофагов и эпителиоидных клеток, окружено зоной лимфоцитов; возможен выраженный фиброз (отложение коллагеновых волокон), вызванный пролиферацией фибробластов и усилением синтеза коллагена. Примеры гранулематозных реакций – реакция Мицуды на антигены *M. leprae* (см. *рис. 26.12*) и реакция Квейма, при которой больные саркоидозом реагируют на (неизвестные) селезеночные антигены от других больных саркоидозом. Признаки трех форм реакций замедленной гиперчувствительности суммированы на *рис. 26.13*.

КЛЕТОЧНЫЕ РЕАКЦИИ ПРИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ IV ТИПА

Эксперименты на мышах, лишенных тех или иных генов методом генного нокаута, подтверди-

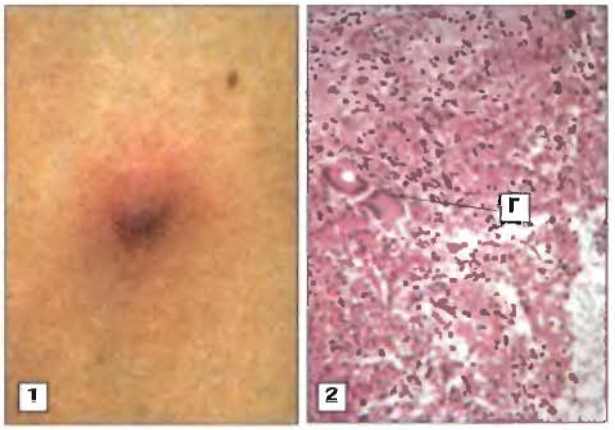


Рис. 26.12
Клиническое проявление и гистологическая картина реакции Мицуды при проказе на 28 сут.
1. Отек кожи (которая может быть изъязвленной) гораздо более плотный и отграниченный, чем через 48ч. **2.** При гистологическом исследовании обнаруживается типичная эпителиоидно-клеточная гранулема (окраска гематоксилином и эозином; × 60). В центре гранулемы видна гигантская клетка (Г), окруженная лимфоцитами. Подобная картина более характерна для реакций замедленной гиперчувствительности, чем для спонтанно разрешающейся туберкулиновой реакции. Гранулематозная реакция обусловлена постоянным присутствием антигена микобактерий.

Реакции гиперчувствительности замедленного типа

Форма	Время реакции	Клинические проявления	Гистология	Антиген
Контактная	48–72 ч	Экзема	Лимфоциты, позднее макрофаги; отек эпидермиса	Нанесенный на кожу, например никель, резина, растение сумах укореняющийся
Туберкулиновая	48–72 ч	Местная индурация	Лимфоциты, моноциты, макрофаги	Введенный внутрикожно, например туберкулин
Гранулематозная	21–28 сут	Уплотнение, например в коже или легких	Макрофаги, эпителиоидные клетки, гигантские клетки, фиброз	Персистирующие комплексы Аг/Ат или неиммуноглобулиновые стимулы, например тальк

Рис. 26.13
Признаки реакций гиперчувствительности IV типа.

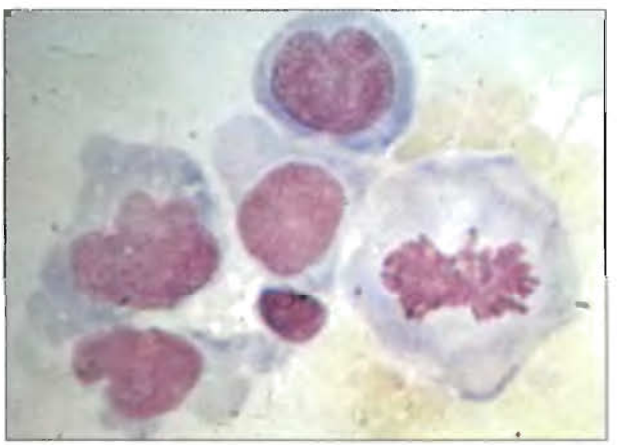


Рис. 26.14
Трансформированные лимфоциты. Активированные соответствующим антигеном Т-клетки, прежде чем делиться, претерпевают бласттрансформацию. Микрофотография демонстрирует клетки-бласты с увеличенными ядрами (один из лимфоцитов находится в метафазе клеточного деления).

ли, что для возникновения реакций замедленного типа в ответ на бактериальную внутриклеточную инфекцию необходимы Т-клетки, несущие αβ-, а не γδ-ТкР. Сенсибилизированные αβ-Т-клетки, стимулированные соответствующим антигеном, АПК, перед делением претерпевают бласттрансформацию (*рис. 26.14*). На этом основан тест для определения стимуляции лимфоцитов (см. гл. 29). Стимуляция лимфоцитов сопровождается синтезом ДНК, который можно выявить по включению радиоактивно меченного тимидина (нуклеотида, необходимого для синтеза ДНК). Тест состоит в том, что лимфоциты больного культивируют с вероятным антигеном, проверяя, вызывает ли он трансформацию клеток. Положительный результат данного теста указывает, однако, только на присутствие Т-клеток иммунологической памяти и не обязательно на защитный иммунитет.

После активации, вызванной АПК, Т-клетки выделяют многочисленные провоспалительные цитокины, которые привлекают и активируют макрофаги. К таким цитокинам относятся ИФγ, лимфотоксин, ИЛ-3 и ГМ-КСФ. Преобладание Тх1-клеточных цитокинов связано с активацией Т-клеток цитокином ИЛ-12, который выделяют макрофаги под действием бактериальных продуктов; этот цитокин подавляет выделение цитокинов Тх2-клетками. Роль отдельных цитокинов можно проанализировать в опытах на нокаутных мышах, лишенных гена определенного цитокина. Например, мыши, лишенные гена ИФγ, не способны активировать макрофаги и бороться с

Необходимость ИФγ для активации макрофагов

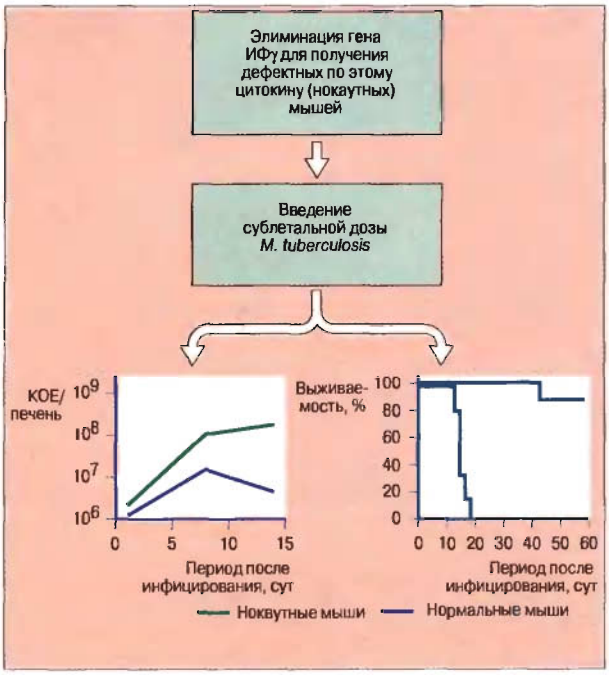


Рис. 26.15
У мышей, лишенных гена ИФγ, отсутствует активация макрофагов при внутриклеточной бактериальной инфекции. Макрофаги, хотя и накапливаются в очаге инфекции, не образуют типичных гранулем. Неконтролируемая инфекция (график слева) вызывает обширный некроз тканей и гибель животных (график справа).

туберкулезной инфекцией (*рис. 26.15*). При гранулематозных реакциях активированные макрофаги служат основным источником ФНО и гранулема развивается за счет аутоамплификации с превращением макрофагов в эпителиоидные клетки (*рис. 26.16* и *26.17*). Последние продолжают секретировать ФНО, стимулируя дальнейшее образование эпителиоидных клеток, которые, сливаясь, формируют гигантские клетки (*рис. 26.18*).

ЗАБОЛЕВАНИЯ С ГРАНУЛЕМАТОЗНЫМИ РЕАКЦИЯМИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ IV ТИПА

У человека существует множество хронических заболеваний, при которых проявляется гиперчувствительность IV типа. Причиной большинства из них являются инфекционные агенты, например, микобактерии, простейшие и грибы, однако при отдельных гранулематозных заболеваниях, таких как саркоидоз и болезнь Крона, присутствие инфекционного агента не установлено.

К важнейшим заболеваниям этого типа относятся следующие:

- проказа,
- туберкулез,
- шистосомоз,
- саркоидоз,
- болезнь Крона.

Общая особенность этих инфекций и инвазий состоит в том, что патогенный агент персистирует и служит хроническим антигенным стимулом. Активация макрофагов лимфоцитами может способствовать ограничению инфекции, но постоянная стимуляция способна приводить к повреждению тканей в результате выделения макрофа-

Дифференцировка макрофагов

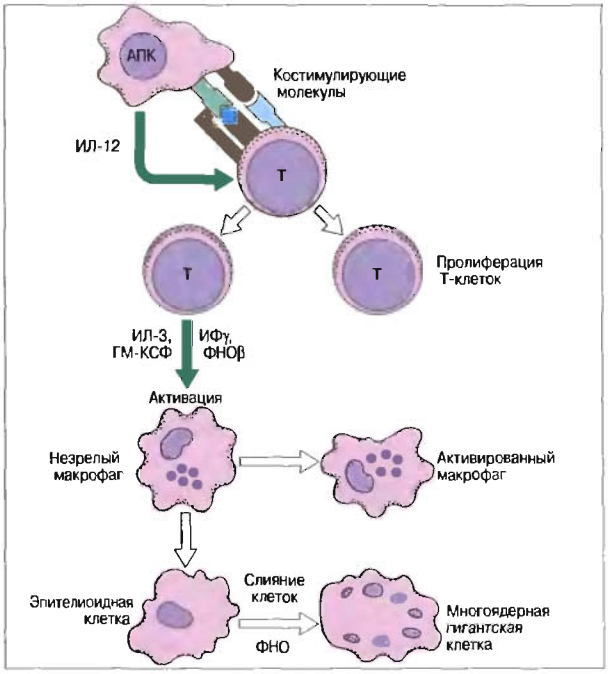


Рис. 26.16
Бактериальные продукты стимулируют секрецию макрофагами ИЛ-12. Активация Т-клеток этим цитокином приводит к выделению ИФγ и других цитокинов – ФНОβ, ИЛ-3 и ГМ-ГСФ, которые активируют макрофаги, помогая уничтожению внутриклеточных паразитов. Неспособность ликвидировать антигенный стимул обусловливает постоянное выделение цитокинов и дифференцировку макрофагов в эпителиоидные клетки, которые секретируют большое количество ФНОа. Некоторые эпителиоидные клетки сливаются, образуя многоядерные гигантские клетки.

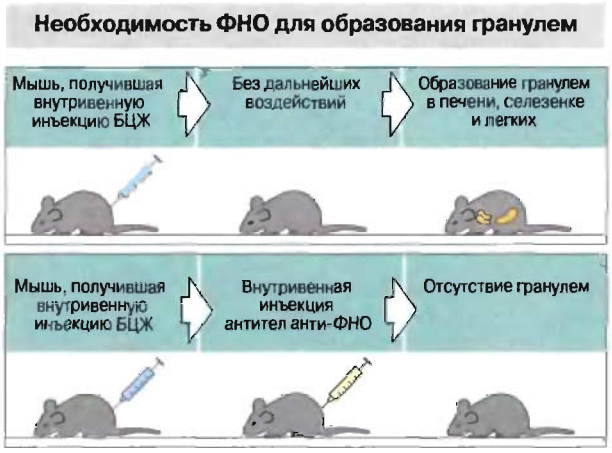


Рис. 26.17
ФНО необходим для образования эпителиоидно-клеточных гранулем. Если получившим БЦЖ мышам ввести антитела анти-ФНОα, гранулемы у них не образу-

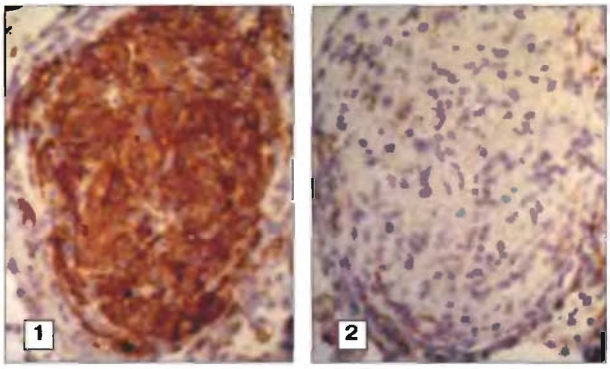


Рис. 26.18
Эпителиоидные клетки в гранулеме из легкого при саркоидозе. 1. Эпителиоидные клетки и гигантские клетки в центре окрашены специфическими антителами RFD-9. **2.** Окружающие гранулему зрелые тканевые макрофаги, окрашенные специфическими антителами RFD-7. (Микрофотографии любезно предоставлены C. S. Munro.)

гами ряда продуктов, включая высокоактивные метаболиты кислорода и ферменты гидролазы. Хотя гиперчувствительность замедленного типа указывает на активацию Т-клеток, инфекция при этом не всегда ликвидируется, т. е. защитный иммунитет и гиперчувствительность замедленного типа не обязательно совпадают. Поэтому некоторые лица с гиперчувствительностью замедленного типа могут оставаться незащищенными от возможной инфекции.

Проказа (лепра) Клинически проказа делится на три основных типа: туберкулоидный, пограничный и лепроматозный. При туберкулоидной проказе на коже могут появляться отдельные, слабопигментированные пятна с четкими краями, обнаруживающие интенсивную лимфоцитарную и эпителиоидную инфильтрацию, но не содержащие микроорганизмов. В отличие от этого при лепроматозной проказе образуются множественные, сливающиеся друг с другом участки поражения кожи, в которых содержится огромное количество палочковидных бактерий, «пенистые» макрофаги и лишь незначительное число лимфоцитов. Пограничная проказа характеризуется признаками обеих предыдущих форм (*рис. 26.19*). Защитный иммунитет при проказе обычно связан с клеточными реакциями, но в диапазоне форм от туберкулоидной до лепроматозной эти реакции ослабляются, и возрастает титр непротективных антител к *M. leprae*.

Пограничная форма проказы – это типичный пример гиперчувствительности замедленного типа. Пограничные реакции развиваются как спон-

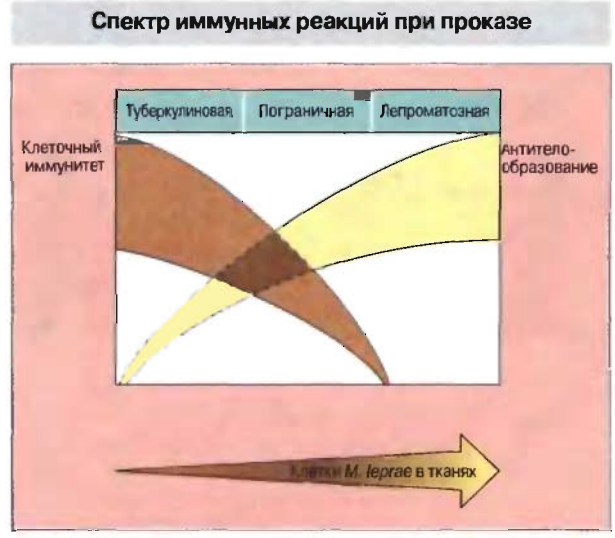
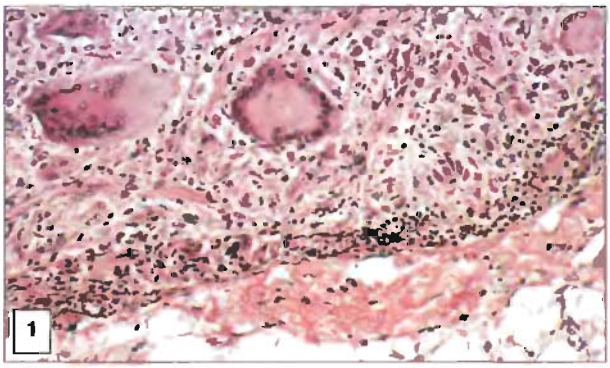


Рис. 26.19
Клинические проявления проказы варьируют от туберкулоидных (с небольшими повреждениями и незначительным присутствием бактерий) до лепроматозных, характеризующихся множественными поражениями и неконтролируемым размножением бактерий. Этот диапазон отражает иммунный статус организма, оцениваемый по специфическому ответу клеток и антител на инфекцию *M. leprae*, а также по тканевой экспрессии цитокинов.



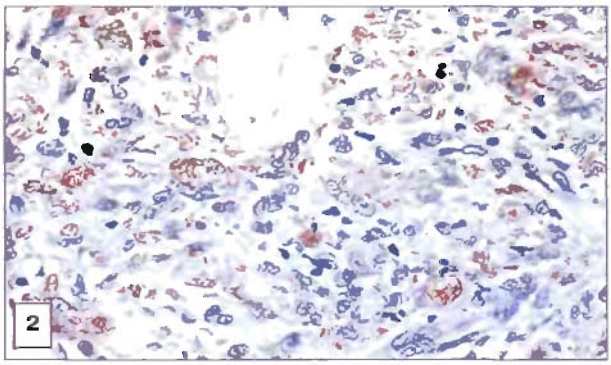




Рис. 26.20
Пограничная реакция при проказе. 1. Небольшой нерв, почти полностью замещенный гранулематозным инфильтратом. **2.** Лепроматозная форма проказы. Присутствует большое количество бактерий. (Микрофотографии любезно предоставлены д-ром Phillip McKee.) **3.** Пограничная форма проказы. Видны крупные инфильтрированные воспаленные бляшки с четко очерченными краями. (Фото любезно предоставлено д-ром S. Lucas.)

танно, так и после медикаментозного лечения. В ходе таких реакций слабопигментированные повреждения кожи, в которых присутствуют клетки *M. leprae*, набухают и воспаляются (*рис. 26.20*), что свидетельствует о возникновении реакции гиперчувствительности замедленного типа. Гистологически реакция весьма сходна с туберкулоидной: наблюдается инфильтрация лимфоцитами, секретирующими ИФγ. Процесс может поражать периферические нервы, в шванновских клетках которых присутствуют при этом клетки *M. leprae*; это наиболее важная причина разрушения нервов при данном заболевании. Повреждения при пограничной проказе представляют собой типичную гранулематозную форму гиперчувствительности (*рис. 26.20*). У больных с реакцией туберкулоидного типа сенсибилизацию Т-клеток можно оценить in vitro с помощью теста стимуля-

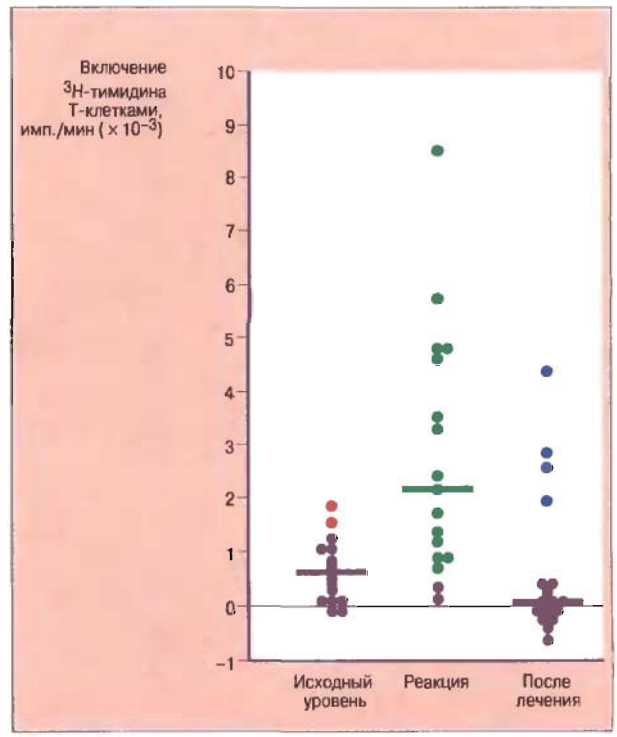


Рис. 26.21
При пограничной лепроэной реакции ответ лимфоцитов на стимуляцию *M. leprae* возрастает. После успешного лечения кортикостероидами ответ уменьшается. Приведены данные по стимуляции лимфоцитов препаратами обработанных ультразвуком клеток *M. leprae* (включение ^{3}H-тимидина) у 17 больных: а) до начала лечения антилепрозными средствами (исходный уровень); б) во время реакции и в) после успешного лечения стероидами. Горизонтальными черточками отмечена медиана распределения.



Рис. 26.22
Рентгенограмма грудной клетки больного туберкулезом легких. Видна выраженная исчерченность паренхимы легких (преимущественно верхушек). Такие изменения типичны для хронического двустороннего легочного туберкулеза. Выявлено также некоторое увеличение размеров сердца.

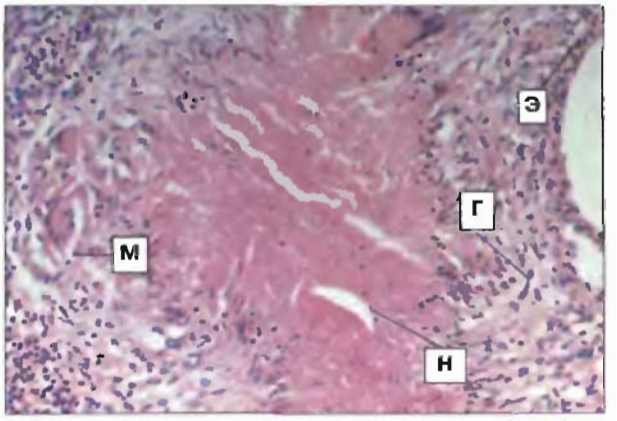


Рис. 26.23
Гистологический срез легкого, пораженного туберкулезом. Видна эпителиоидно-клеточная гранулема (Э) с гигантскими клетками (Г), а также инфильтрация мононуклеарными клетками (М), участок выраженного казеоза и некроза (Н). Окраска гематоксилином и эозином. × 75.

ции лимфоцитов (см. гл. 29), используя в качестве антигена препараты интактных или обработанных ультразвуком клеток *M. leprae* (*рис. 26.21*).

Туберкулез При туберкулезе существует определенный баланс между эффектами активированных макрофагов; с одной стороны, они противодействуют инфекции, с другой же, вызывают повреждение тканей инфицированных органов. Гранулематозные реакции в легких приводят к образованию полостей и распространению инфекции. Такие реакции часто сопровождаются обширным фиброзом, что можно видеть на рентгенограммах грудной клетки больных (*рис. 26.22*).

Гистологическая картина туберкулезного поражения – это типично гранулематозная реакция с центральным казеозным (творожистым) некрозом (*рис. 26.23*), вокруг которого расположены эпителиоидные клетки и небольшое число гигантских клеток. По краю участок поражения инфильтрирован мононуклеарными клетками.

Шистосомоз При шистосомозе – болезни, вызываемой паразитическими червями шистосомами, – организм хозяина сенсибилизируется яйцами гельминтов, что приводит к развитию типичной гранулематозной реакции в пораженной ткани (*рис. 26.24*; см. также гл. 18).

Саркоидоз Саркоидоз – это хроническое заболевание неизвестной этиологии, при котором во многих тканях накапливаются активированные макрофаги, образующие гранулемы, что часто сопровождается фиброзом (*рис. 26.25*). Поражения в основном локализованы в лимфоидной ткани, и на рентгенограмме грудной клетки можно видеть увеличенные лимфоузлы (*рис. 26.26*). У больных не удается выделить какой-либо инфекционный агент, но предположительно им служат микобактерии, поскольку они вызывают аналогичные морфологические изменения.

Как один из парадоксов клинической иммунологии следует отметить то, что при данном заболевании как in vivo, так и in vitro обычно можно обнаружить депрессию замедленной гиперчувствительности. Кожная туберкулиновая проба у больных саркоидозом дает отрицательный результат. Однако если вместе с туберкулином в кожу ввести кортизон, то результат пробы становится положительным, что указывает на роль чувствительных к кортизону Т-супрессорных клеток в генезе анергии. В обычных условиях кортизон должен был бы угнетать замедленную гиперчувствительность.

Гранулемы при саркоидозе образуются в различных органах, но чаще всего в легких, лимфоузлах, костях, нервной ткани и коже. Болезнь может проявляться резким повышением температу-

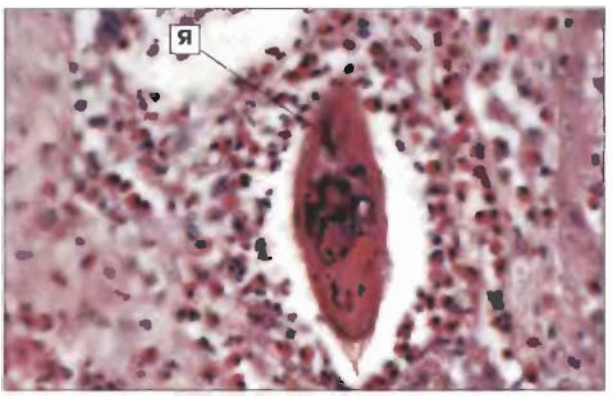


Рис. 26.24
Гистологическая картина печени при шистосомозе. Эпителиоидно-клеточная гранулема вокруг яйца шистосомы (Я). Окраска гемотоксилином и зозином. × 300. (Микрофотография любезно предоставлена д-ром Phillip McKee.)

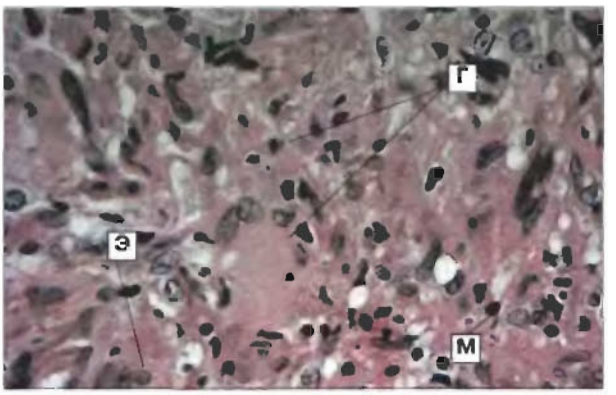


Рис. 26.25
Гистологическая картина саркоидоза в биоптате лимфоузла. Типичная саркоидная гранулема, состоящая из эпителиоидных (Э) и многоядерных гигантских клеток (Г), но без казеозного некроза. На периферии гранулемы видна лишь скудная инфильтрация мононуклеарными клетками (М). Окраска гематоксилином и эозином. × 240.

ры и недомоганием; у лиц с поражением легких в дальнейшем развивается одышка, связанная с фиброзом легочной ткани. Диагноз нередко предполагают на основании клинической картины и рентгенологических данных и подтверждают с помощью биопсии. Иногда в сыворотке обнаруживается повышенный уровень ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и кальция, поскольку активированные макрофаги служат источником и АПФ, и 1,25-дигидрокси-холекальциферола (активного метаболита витамина D_3).

Болезнь Крона Это еще одно заболевание, сопровождающееся образованием гранулем. При болезни Крона (хроническом воспалении подвздошной и толстой кишок) во всех слоях кишечной стенки скапливаются лимфоциты и макрофаги. Гранулематозная реакция и фиброз вызывают сужение кишечника и образование свищей, проникающих в другие органы. Природа антигенов или инфекционных агентов, инициирующих и поддерживающих гранулематозную реакцию, неизвестна.

Попытки оценить роль пищевой аллергии в этом заболевании путем исключения из питания тех или иных продуктов оказались эффективными у значительного процента больных. Однако пока не ясно, сама ли по себе диета или изменение кишечной микрофлоры приводит к улучшению состояния кишечника.

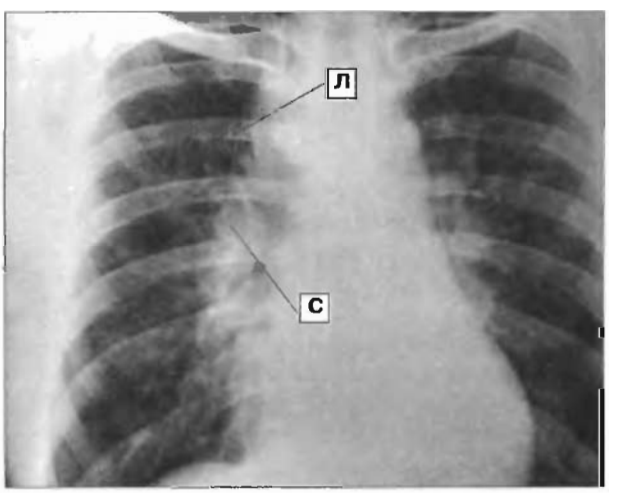


Рис. 26.26
Рентгенограмма грудной клетки больного саркоидозом. Видны увеличенные лимфоузлы рядом с сердцем (С) и в паратрахеальных областях легких (Л) с характерной диффузной инфильтрацией легочной ткани.

Вопросы для размышления

- Каким образом те же цитокины, которые придают макрофагам способность уничтожать внутриклеточных паразитов, могут вызывать повреждение тканей?
- Какие из других иммунологических реакций могли бы блокироваться антителами к цитокинам?
- Каким образом раздражающие вещества и контактная гиперчувствительность вызывают одну и ту же форму кожной реакции?
- Какие формы гиперчувствительности IV типа вызывают наибольшее повреждение тканей?
- Как можно отличить реакцию поздней фазы, опосредованную IgE, от реакций гиперчувствительности IV типа?
- Как влияют количество и функция Т-клеток на проявления гиперчувствительности туберкулинового типа?
- Могут ли другие иммунологические механизмы обострять реакции, характерные для пограничной проказы?
- Можно ли использовать воздействие на кожу ультрафиолета В для выяснения механизмов гиперчувствительности IV типа?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Baadsgaard O., Wang T. 1991. Immune regulation in allergic and irritant skin reactions. *Int. J. Dermatol.* **30**: 161–72.

Bevilacqua M.P. 1993. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu. Rev. Immunol.* **11**: 767–804.

Bjone G., Barnetson T., Ridley D.S. et al. 1976. Lymphocyte transformation test in leprosy: correlation of the response with inflammation of tesions. *Clin. Exp. Immunol.* **25**: 85–94.

Britton W.J. 1993. Immunology of leprosy. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **87**: 508–14.

Cooper A.M., Flynn J.L. 1995. The protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr. Opin. Immunol.* **7**: 512–16.

Enk A.H., Katz S.I. 1995. Contact hypersensitivity as a model for T-cell activation in skin. *J. Invest. Dermatol.* **105**: 805–35.

Flynn J.L., Chan J., Triebold K.J. et al. 1993. An essential role for interferon-γ in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J. Exp. Med.* **178**: 2249–54.

Friedmann P.S. 1991. The immunology of allergic contact dermatitis: the DNCB story. *Adv. Dermatol.* **5**: 175–96.

Gaspan A.A. 1993. Advances in the understanding of contact hypersensitivity. *Am. J. Cont. Derm.* **4**: 138–49.

Gawkrodger D.J., McVittie E., Carr M.M. et al. 1986. Phenotypic characterisation of the early cellular responses in allergic and irritant contact dermatitis. *Clin. Exp. Immunol.* **66**: 590–98.

Gawkrodger D.J., Carr M.M., McVittie E. et al. 1987. Keratinocyte expression of MHC class II antigens in allergic sensitisation and challenge reactions and in irritant contact dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* **88**: 11–16.

Hoefakker S., Canbo M., van't Erre EHM. et al. 1995. In vitro cytokine profiles in allergic and irritant contact dermatitis. *Contact Dermatitis* **33**: 258–66.

Kaufmann S.H.E. 1994. Bacterial and protozoal infection in genetically disrupted mice. *Curr. Opin. Immunol.* **6**: 518–25.

Kindler V., Sappino A-P., Gran G.E. et al. 1989. The inducing role of tumour necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell* **56**: 731–40.

Lowes J., Lewell D. 1990. Immunology of inflammatory bowel disease. Vol. 12. *Springer Semin. Immunopathol.* **180**: 251–68.

Munro C.S., Campbell D.A., Collings L.A. et al. 1987. Monoclonal antibodies distinguish mactophages and epithelioid cells in sarcoidosis and leprosy. *Clin. Exp. Immunol.* **68**: 282–87.

Sauder D.N. 1986. Allergic contact dermatitis. In: Thiers B.H., Dobson R.L. (eds.). *Pathogenesis of Skin Diseases*. New York: Churchill Livingstone: 3–12.

Schwarzenberger K., Udey M.C. 1976. Contact allergens and epidermal proinflammatory cytokines modulate Langerhans cell E-cadherin expression in situ. *J. Invest. Dermatol.* **106**: 553–8.

Trinchieri G. 1993. Interleukin-12 and its role in the generation of Th1 cells. *Immunol. Today* **14**: 335–8.

Yamamura M., Uyemura K., Deans R.J. et al. 1991. Defining protective immune responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science* **254**: 277–9.

27 Трансплантация и отторжение

- **Отторжение трансплантированных тканей** происходит в результате того, что иммунная система реципиента распознает чужеродные тканевые антигены гистосовместимости на клетках трансплантата и реагирует на них.
- Наиболее важные **антигены гистосовместимости** закодированы в главном комплексе гистосовместимости (MHC, от англ. major histocompatibility complex).
- **Т-лимфоциты** способны непосредственно распознавать чужеродные молекулы MHC и реагировать на них.
- **Активированные хелперные Т-клетки** продуцируют лимфокины, приводящие в действие разнообразные эффекторные механизмы разрушения трансплантата.
- **Лимфокины** могут также действовать непосредственно на трансплантат, повышая экспрессию антигенов MHC и молекул адгезии и делая тем самым трансплантат более чувствительным к отторжению.
- **Реакции отторжения трансплантата могут быть ослаблены** путем подбора донора и реципиента, совместимых по антигенам MHC, особенно если это молекулы MHC класса II.
- Для блокирования отторжения трансплантата можно использовать **неспецифические иммуносупрессивные агенты,** однако они способны также снижать устойчивость к инфекциям.
- В будущем предполагается использовать методы **специфической иммуносупрессии,** т. е. инактивации лишь тех клонов лимфоцитов, которые ответственны за отторжение трансплантата.

Исследования в области иммунобиологии трансплантации расширяют наши представления о механизмах иммунных реакций и создают основу для развития клинической трансплантологии. Так, именно изучение отторжения кожных трансплантатов у мышей привело к открытию молекул главного комплекса гистосовместимости (MHC) (см. гл. 7), выполняющих важную функцию в процессе презентации антигенов Т-клеткам (см. гл. 9). Многие сведения о физиологии и функциях Т-лимфоцитов, о толерантности к собственным антигенам, аутоиммунитете и о роли тимуса в развитии Т-клеток также получены в результате изучения трансплантационного иммунитета, поскольку Т-клетки играют ведущую роль в отторжении трансплантатов. И наконец, последний из называемых, но не менее значимый аспект этой области исследований – применение трансплантации в медицине. Необходимость предотвратить отторжение трансплантата заставляет искать новые иммуномодуляторы и разрабатывать способы индукции толерантности к трансплантируемым тканям. Эти исследования имеют и более широкое значение, поскольку открывают возможности для лечения разнообразных расстройств, связанных с иммунными реакциями, например гиперчувствительности и аутоиммунитета.

В клинической практике трансплантацию органа предпринимают с целью возмещения недостаточности функции того же органа у больного (*рис. 27.1*). За исключением тех случаев, когда донор и реципиент идентичны генетически, антигены трансплантата всегда вызывают иммуноло-

Клиническая трансплантация

Трансплантируемый орган	Заболевание (примеры)
Почка	Конечная стадия почечной недостаточности
Сердце	Конечная стадия сердечной недостаточности
Легкие или сердце/легкие	Легочная гипертензия, кистозный фиброз
Печень	Цирроз, рак, атрезия желчных путей
Роговица	Дистрофия, кератит
Поджелудочная железа, островковая ткань	Диабет
Костный мозг	Иммунодецифит, лейкоз
Тонкий кишечник	Рак
Кожа	Ожоги

Рис. 27.1
Органы и ткани, трансплантируемые при различных заболеваниях. Для врачей, включая хирургов, любая пересадка сопряжена с трудностями, характер которых зависит от типа трансплантата.

гическую реакцию отторжения. Трансплантация может активировать разнообразные механизмы гуморального и клеточного иммунитета, как специфического, так и неспецифического. Активация происходит вследствие распознавания Т-клетками реципиента чужеродных пептидных антигенов, ассоциированных с чужеродными молекулами MHC на поверхности трансплантированных клеток. Обычно антигенные пептиды представляют собой фрагменты молекул, входящих в состав клеток донора, однако это могут быть и фрагменты молекул внутриклеточных вирусов или других микробных молекул. Поэтому трансплантат способен активировать все регуляторные механизмы, связанные с иммунными реакциями (см. гл. 13), и соответственно иммунобиология трансплантации охватывает практически все аспекты функционирования иммунной системы.

ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЙ БАРЬЕР

Это понятие связано с генетическими различиями между донором и реципиентом. В трансплантологии различают аутотрансплантаты, изотрансплантаты, аллотрансплантаты и ксенотрансплантаты (*рис. 27.2*). Аутотрансплантат – это собственная ткань донора, перенесенная из одного участка организма в другой; не будучи чужеродным, он не отторгается. То же относится к изотрансплантату – органу или ткани, пересаженному изогенному (т. е. генетически идентичному) реципиенту (гомозиготный, однояйцевый близнец или мышь той же инбредной линии); в этом случае ткани донора не несут антигенов, чужеродных для реципиента, и неспособны активировать реакцию отторжения. В медицинской практике чаще всего применяется аллотрансплантат – орган или ткань, пересаживаемая генетически отличному от донора реципиенту, однако относящемуся к одному с ним биологическому виду. В этом случае реципиент и донор имеют аллельные варианты некоторых генов. Клетки аллотрансплантата экспрессируют аллоантигены, которые иммунная система реципиента распознает как чужеродные.

В случае ксенотрансплантации – пересадки между особями разных видов (наиболее выраженные генетические различия) – трансплантационный барьер, как правило, непреодолим: ксенотрансплантат быстро отторгается либо под влиянием имеющихся у реципиента естественных антител IgM, либо в результате быстро развивающейся клеточной реакции (см. ниже). Если подвергнуть ксенотрансплантат предварительной обработке, снижающей его иммуногенность, исход пересадки может быть благоприятным; таким образом человеку можно трансплантировать кожу, кровеносные сосуды или сердечные клапаны свиньи. Однако, несмотря на это, попытки трансплантировать человеку цельные органы животных оказались полностью безуспешными, хотя в опытах на животных разных видов при ксенотрансплантации был достигнут определенный успех. Если бы удалось преодолеть иммунологи-

Генетические барьеры, препятствующие приживлению трансплантата

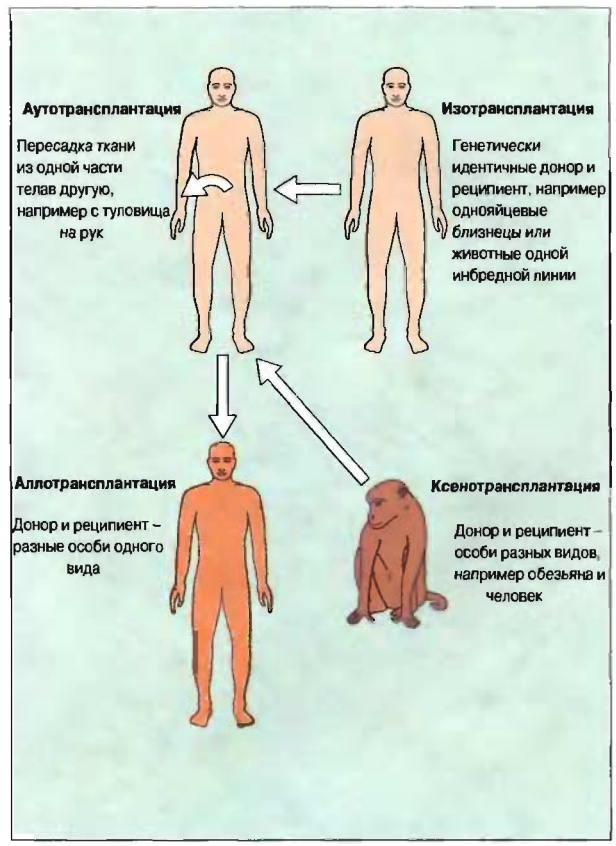


Рис. 27.2
Судьба трансплантата – приживление или отторжение – определяется генетическими различиями между донором и реципиентом. Ауто- и изотрансплантаты обычно приживляются, тогда как алло- и ксенотрансплантаты отторгаются.

ческий барьер для ксенотрансплантата, была бы решена существующая во всем мире проблема недостатка органов человека для трансплантации. Конечно, остаются и другие трудности, уже не относящиеся к области иммунологии, а связанные, например, с величиной органов донора, риском передачи заболеваний от животных, а также с этическими проблемами.

АНТИГЕНЫ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

Антигены гистосовместимости служат мишенями при реакции отторжения

Главные антигены, ответственные за отторжение генетически чужеродных тканей – это антигены гистосовместимости (или тканевой совместимости); кодирующие их гены носят название генов гистосовместимости. Всего существует более 30 локусов гистосовместимости, и они различны по степени вызываемого их продуктами отторжения. Аллоантигены, кодируемые генами MHC, вызывают особенно сильную реакцию отторжения; это те самые молекулы, которые презентируют антигены Т-клеткам. Комплекс генов MHC присутствует у позвоночных всех видов. У мыши он назван H-2, у человека – системой лейкоцитарных антигенов (HLA) (см. гл. 7). Продукты аллельных вариантов других генов гистосовместимости сами по себе вызывают менее сильную реакцию отторжения, в связи с чем их относят к «минорным», или слабым, антигенам гистосовместимости; эти антигены являются нормальными клеточными компонентами. Однако в сочетании несколько слабых антигенов могут вызвать сильную реакцию отторжения (*рис. 27.3*).

Гаплотипы MHC наследуются от обоих родителей и экспрессированы кодоминантно

Гены MHC наследуются в соответствии с законами Менделя и экспрессируются кодоминантно. Иными словами, каждый индивид наследует два «половинных набора» (гаплотипа) генов, по одному от каждого родителя (*рис. 27.4*); оба гапло-

Антигены гистосовместимости мыши и приживление трансплантата

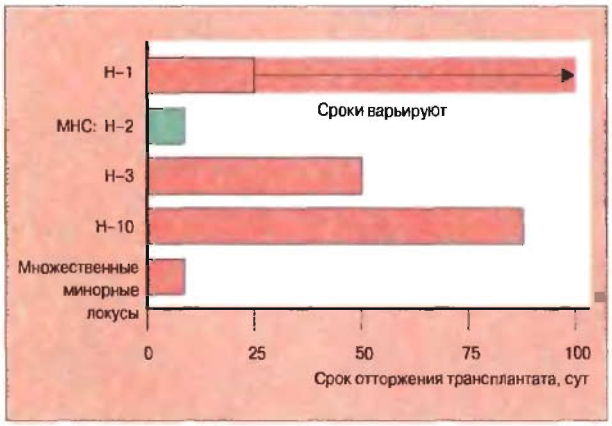


Рис. 27.3
Время отторжения кожного трансплантата у мыши при различиях доноров и реципиентов по минорным локусам гистосовместимости (красный цвет) или по главному комплексу гистосовместимости H-2 (зеленый цвет). В случае различий по многим минорным локусам отторжение трансплантата происходит столь же быстро, как и при несовместимости по H-2. (Данные д-ра R. Graff и д-ра D. Bailey.)

Наследование гаплотипов MHC

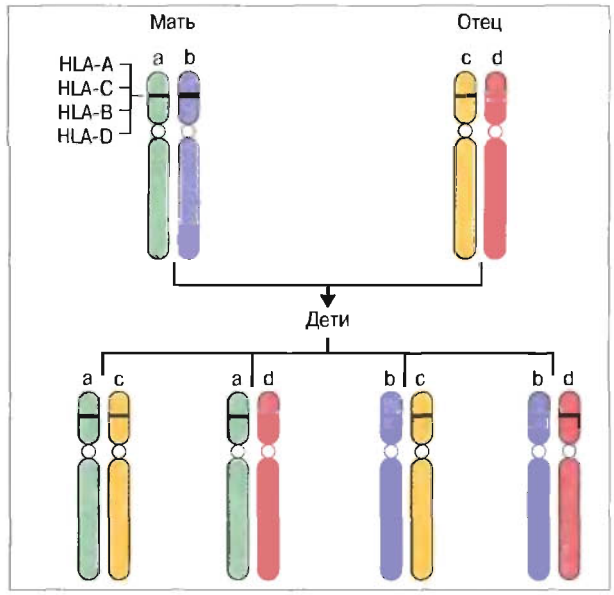


Рис. 27.4
MHC человека (HLA) расположен в коротком плече хромосомы 6. Комплекс генов HLA класса I (HLA-A, HLA-B и HLA-C) и класса II (HLA-D), локализованных в одной хромосоме (гаплотип), наследуется целиком (en bloc), и, таким образом, в соответствии с законами Менделя, любой индивид имеет два HLA-гаплотипа, каждый из которых унаследован от одного из родителей.

Кодоминантная экспрессия антигенов МНС

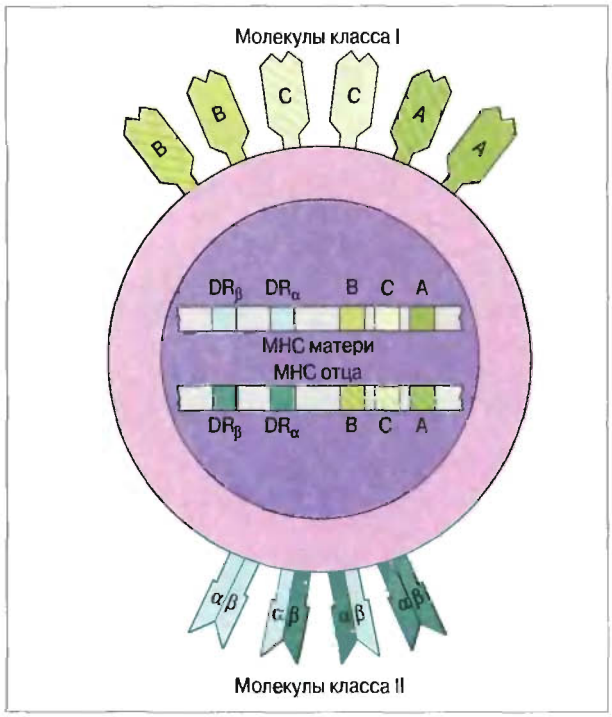


Рис. 27.5
На поверхности клеток экспрессированы все унаследованные от обоих родителей антигены МНС. Каждый гаплотип представлен HLA-молекулами класса I (A, B и C) и α- и β-цепями HLA-антигенов класса II (DR, DQ и DP). Две α-цепи и две β-цепи, кодируемые соответствующими генами гомологичных хромосом, могут ассоциировать, образуя 4 разных молекулы (на рисунке изображены только DR-гены и их продукты, однако это относится также к DQ- и DP-генам). В-клетка имеет на поверхности $23 \cdot 10^5$ молекул класса I и такое же число молекул класса II.

типа экспрессированы в равной степени, так что любая клетка имеет на поверхности молекулы МНС, унаследованные как от отца, так и от матери (*рис. 27.5*).

Экспрессию молекул МНС трансплантированными тканями индуцируют цитокины

Антигены МНС распределены неодинаково среди клеток разных типов. В обычных условиях молекулы МНС класса I экспрессирует большинство ядерных (содержащих ядро) клеток (у некоторых видов также эритроциты и тромбоциты), тогда как экспрессия молекул класса II ограничена антигенпрезентирующими клетками (АПК), такими как дендритные клетки и активированные макрофаги, и В-лимфоцитами. У некоторых видов эти молекулы обнаруживаются также на активированных Т-клетках и эндотелии сосудов. Экспрессию антигенов МНС регулируют цитокины – интерферон-γ (ИФγ) и фактор некроза опухолей (ФНО). Оба эти агента служат мощными индукторами экспрессии МНС клетками многих типов, которые до этой активации экспрессируют молекулы МНС лишь в слабой степени. Как будет видно из дальнейшего изложения, это обстоятельство играет существенную роль в реакции отторжения трансплантата (см. с. 495).

ЗАКОНЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

Для обычной Т-клеточной реакции на чужеродные белковые антигены необходимо, чтобы эти антигены были процессированы с образованием пептидов, а эти последние презентированы на поверхности АПК реципиента в ассоциации с молекулами МНС. Иммунный ответ при трансплантации уникален в том отношении, что чужеродные молекулы МНС непосредственно активируют Т-клетки.

Реакция «хозяин против трансплантата» вызывает отторжение трансплантата

Отторжение аллогенного трансплантата происходит вследствие того, что он несет антигены, отсутствующие у реципиента. Принцип реакции «хозяин против трансплантата» проиллюстрирован *рис. 27.6*.

Реакция «трансплантат против хозяина» возникает в том случае, когда лимфоциты донора атакуют ткани реципиента

Особая ситуация создается при трансплантации аллогенного костного мозга реципиенту, организм которого не способен отторгнуть трансплантированную ткань: иммунологически компетентные Т-клетки донора, взаимодействуя с аллоантигенами реципиента, вызывают реакцию трансплантат против хозяина (РТПХ), приводящую к развитию так называемой болезни трансплантат против хозяина (БТПХ). Неспособность клеток реципиента реагировать против транс-

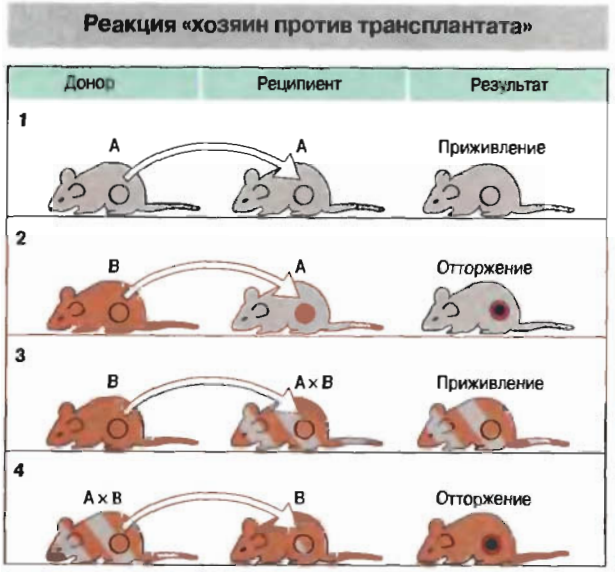


Рис. 27.6
При реципрокной трансплантации кожи у генетически идентичных животных трансплантаты приживляются. Если животные генетически неидентичны, происходит отторжение трансплантатов, скорость которого зависит от степени генетических различий. Так, у сингенных донора и реципиента, совместимых по комплексу MHC, реципрокная трансплантация дает положительный результат (**1**). При различиях по MHC трансплантаты отторгаются (**2**). Способность трансплантата к приживлению определяется общностью антигенов гистосовместимости донора и реципиента. Примером может служить пересадка кожи мышей родительской линии B реципиентам (A × B)F1, т. е. (B → F1) (**3**) и, наоборот, F1 → B (**4**). При различиях по другим локусам гистосовместимости (не-MHC) отторжение также происходит, но гораздо медленнее.

плантированных Т-лимфоцитов донора может быть обусловлена генетическими различиями донора и реципиента или иммунологической некомпетентностью реципиента вследствие его незрелости или состояния иммуносупрессии. В этих условиях содержащиеся в аллотрансплантате костного мозга иммунокомпетентные Т-клетки могут атаковать ткани реципиента (*рис. 27.7*). РТПХ представляет собой главное осложнение при трансплантации костномозговой ткани, так как приводит к развитию тяжелых повреждений, затрагивающих в основном кожу и кишечник. Для предупреждения РТПХ необходимо тщательное типирование донора и реципиента, удаление зрелых Т-клеток из трансплантата и применение иммуносупрессивных агентов.

РОЛЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ОТТОРЖЕНИИ ТРАНСПЛАНТАТА

Т-клеткам принадлежит ведущая роль в отторжении трансплантата

Грызуны с врожденным отсутствием тимуса (бестимусные, или «голые», животные) не имеют зрелых Т-клеток и не отторгают трансплантаты. То же самое имеет место и у нормальных мышей и крыс, тимэктомированных в неонатальный период, до заселения периферических лимфоидных органов зрелыми Т-клетками. Аналогичный эффект можно получить путем тимэктомии взрослых мышей и крыс (она позволяет устранить продукцию зрелых клеток) с последующим облучением (для элиминации имеющихся зрелых Т-клеток) и пересадкой костного мозга (с целью восстановления гемопоэза). Таким способом получают реципиентов ATx.BM (от англ. adult thymectomy и bone marrow), которые лишены Т-клеток и не могут отторгать трансплантаты.

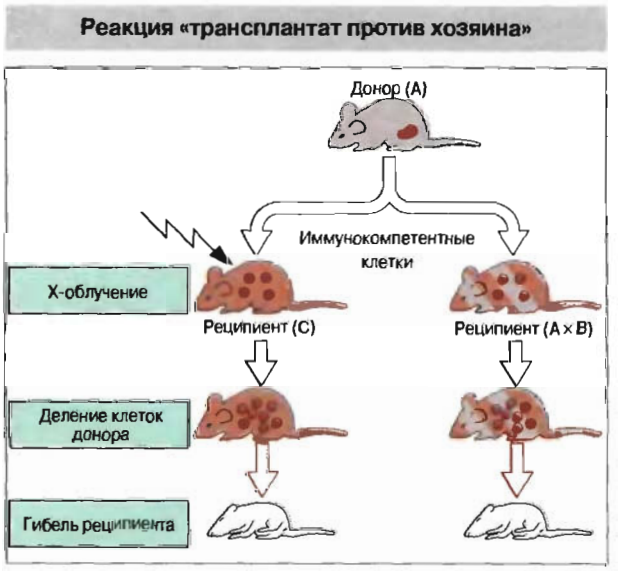


Рис. 27.7
Иммунокомпетентные клетки донора A введены реципиенту C, предварительно подвергнутому иммуносупрессивной обработке (X-облучение), или нормальному реципиенту (A × B)F1. Организм облученного реципиента C не способен отторгнуть клетки A, а животные F1 полностью толерантны к клеткам родительской линии A. В обоих случаях клетки донора A распознают чужеродные антигены реципиентов B или C. Они делятся, реагируют на тканевые антигены реципиента и привлекают большое число клеток хозяина в область воспаления. Очень часто этот процесс ведет к гибели реципиента.

У всех перечисленных животных (бестимусных, неонатально тимэктомированных или АТх.ВМ) способность разрушать трансплантированные ткани удается восстановить путем введения Т-клеток нормальных животных той же линии. Таким образом, для отторжения трансплантата необходимы Т-клетки. Это не означает, что антитела, В-лимфоциты или клетки других типов не принимают участия в отторжении. В частности, антитела вызывают повреждение трансплантированной ткани, а макрофаги способствуют развитию в ней воспалительных реакций.

Молекулярная основа реакции отторжения – это взаимодействие ТкР–МНС

С помощью своих Т-клеточных рецепторов (ТкР) участвующие в реакции отторжения Т-лимфоциты распознают пептиды донора, экспрессированные на клетках трансплантата в ассоциации с антигенами МНС. Как известно (см. гл. 7), Т-клеточный рецептор построен таким образом, что Т-клетки могут «видеть» только те антигенные пептиды, которые ассоциированы с молекулами МНС. Подобная МНС-рестрикция возникает в результате положительной селекции в тимусе (см. гл. 12 и 14 и *рис. 27.8*). Таким образом, чтобы оценить ту роль, которую выполняют Т-клетки в реакции отторжения, необходимо определить различия между молекулами МНС донора и реципиента и установить, какое значение имеют эти различия для презентации широкого спектра антигенов рецепторам Т-лимфоцитов реципиента.

Различные молекулы МНС в целом сходны по структуре, однако различаются по строению пептидсвязывающей полости

По структуре различные молекулы МНС почти идентичны. Каждая молекула имеет две α-спира-

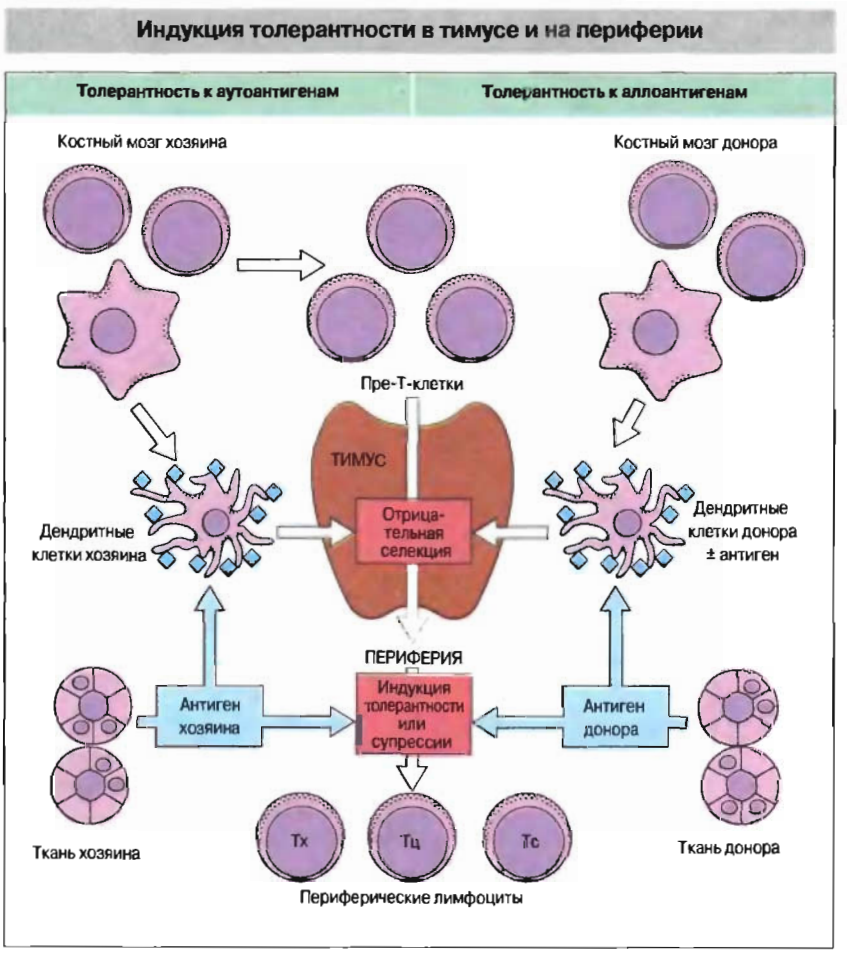


Рис. 27.8
В нормальных физиологических условиях пре-Т-клетки костномозгового происхождения попадают в тимус, где подвергаются положительной и отрицательной селекции. Положительная селекция происходит при взаимодействии тимоцитов с собственными молекулами МНС на эпителиальных клетках корковой зоны. В результате этого процесса пре-Т-клетки избегают запрограммированной клеточной гибели. Отрицательная селекция (делеция аутореактивных клонов) осуществляется при контакте тимоцитов с дендритными клетками в области кортико-медуллярного соединения. Вновь образующиеся аутореактивные клетки могут быть инактивированы (но не обязательно элиминированы) и вне тимуса, на периферии, под влиянием антигена. В другом случае они могут стать активированными клетками-супрессорами. У животных, толерантных к аллогенным клеткам, чужеродный антиген может присутствовать в мозговой зоне тимуса (его несут дендритные клетки донорского происхождения, т. е. клетки-«пассажиры», или же он презентирован дендритными клетками реципиента). Этот аллоантиген способен действовать как собственный и вызывать развитие толерантности в результате отрицательной селекции реагирующих с ним Т-клеток (клональная делеция). В периферических лимфоидных органах чужеродный антиген способен вызвать клональную анергию (т. е. индуцировать толерантность – ареактивность) или у животных, толерантных к аллоантигенам, стимулировать активную супрессию.

ли, расположенные на β-складчатом слое поверх двух иммуноглобулин-подобных доменов, «сидящих» на клеточной мембране (см. гл. 7). Между α-спиралями имеется глубокая полость, в которой происходит связывание пептидов. Часть молекулы MHC, ответственная за Т-клеточное распознавание, представлена обращенной вверх стороной α-спиралей, относительно консервативной у различных молекул MHC.

Аминокислотные остатки, определяющие важные различия между молекулами MHC – например, между аллельными вариантами A2 и Aw68 антигена HLA-A, находятся большей частью внутри полости, образованной α-спиралями, а не на их верхних сторонах, контактирующих с TkP (см. гл. 7). Поэтому для Т-клеточного распознавания основное значение имеют различия в форме и заряде поверхности пептидсвязывающей полости (см. гл. 7), которые определяют, какие пептиды могут связываться и в какой ориентации они будут представлены для распознавания Т-клеточным рецептором (см. гл. 9).

Молекулы MHC трансплантата и реципиента презентируют различные пептиды

В обычных физиологических условиях в полости молекул MHC находятся пептиды, представляющие собой фрагменты нормальных клеточных компонентов, образующиеся вследствие внутриклеточной деградации белков. Состояние иммунологической толерантности, индуцированной в тимусе (клональная делеция аутореактивных клеток, см. гл. 14), препятствует возникновению аутоиммунных реакций, которые могли бы развиться в результате распознавания Т-клетками комплексов «свой пептид – своя молекула MHC». Но если клетки инфицированы (например, вирусом), собственные пептиды в полости молекул MHC «профессиональных» АПК могут быть замещены чужеродными. В этом случае Т-клетки будут реагировать на чужеродные пептиды, ассоциированные со «своими» молекулами MHC.

Однако при трансплантации генетически чужеродной ткани возникает третий вариант. Здесь на поверхности клеток трансплантата презентирован иной набор пептидов, что определяется отличиями в форме и заряде поверхности пептидсвязывающей полости молекул MHC трансплантата. Кроме того, трансплантат может содержать аллельные варианты нормальных клеточных компонентов, отличные от вариантов этих молекул реципиента (детерминированных локусами минорных генов гистосовместимости). Это существенно сказывается на характеристиках пептидов, презентируемых клетками трансплантата. Различия между донором трансплантируемой ткани и реципиентом по антигенам MHC (неодинаковые формы и заряд поверхности пептидсвязывающей полости) или по минорным антигенам гистосовместимости (различающиеся антигенные пептиды) служат причиной того, что трансплантат экспрессирует чрезвычайно большое число новых чужеродных антигенов, которые могут распознаваться Т-клетками реципиента. Поэтому до 10 % Т-клеток в организме способны реагировать на эти антигены аллогенного трансплантата.

В реакции отторжения участвуют хелперные Т-клетки (Тх-клетки) и лимфокины

Роль Тх-клеток в отторжении

Введение Т-клеток $CD4^+$ (Тх) бестимусным мышам или реципиентам ATx.BM вызывает реакцию острого отторжения кожного трансплантата. Непримированные Т-лимфоциты $CD8^+$ (Тц-клетки) неспособны давать такую реакцию, однако если вводить их вместе с очень небольшим числом Т-клеток $CD4^+$ или использовать Т-клетки $CD8^+$, предварительно сенсибилизированные антигенами трансплантата (например, полученные от животных, у которых уже произошло отторжение трансплантата), то наблюдается быстрое разрушение трансплантата. Значение Тх-клеток в реакции отторжения подтверждают результаты опытов с введением реципиентам моноклональных антител анти-$CD4^+$ (*рис. 27.9*).

Тх-клетки активируются АПК костномозгового происхождения, несущими молекулы MHC класса II. Стимулирующие отторжение АПК могут принадлежать как донору, так и реципиенту. АПК донора присутствуют в трансплантате в качестве лейкоцитов-пассажиров (интерстициальные дендритные клетки) и могут обусловить «прямую» активацию Тх-клеток реципиента. АПК, принадлежащие реципиенту и локализованные в дренирующих лимфоидных тканях, приобретают антиген, высвобождаемый трансплантатом, и презентируют его Тх-клеткам реципиента, вызывая их «непрямую» активацию. Прямая активация дает более мощный стимул к отторжению трансплантированной ткани по сравнению с непрямым пу-

Роль Т-клеток в отторжении трансплантата

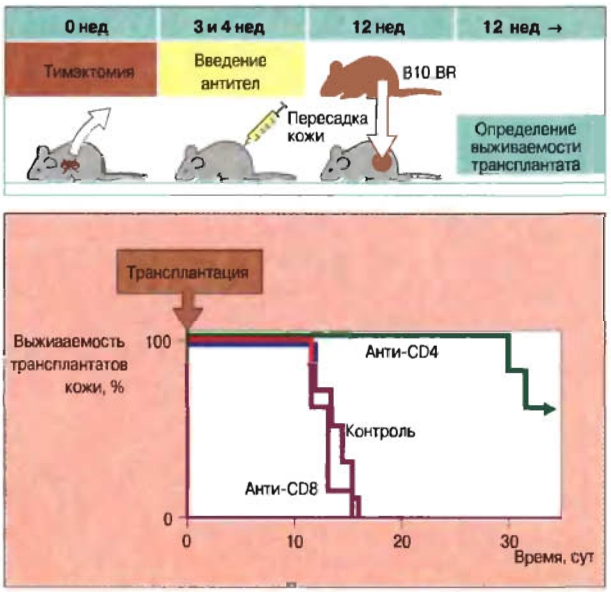


Рис. 27.9
Тимэктомированным мышам линии CBA были введены цитотоксические моноклональные антитела анти-CD4 или анти-CD8 для избирательного истощения популяций Тх- и Тц-клеток соответственно. Затем животным трансплантировали кожу мышей линии B10.BR, несовместимых с реципиентами по минорным локусам гистосовместимости. Регистрировали приживление трансплантатов. У животных, обработанных антителами анти-CD4, выживаемость трансплантата была гораздо выше, чем у необработанных реципиентов или у мышей, получивших антитела анти-CD8. Эти результаты свидетельствуют о значении популяции Т-клеток $CD4^+$ (Тх) в отторжении трансплантата. (По данным проф. H. Waldman и д-ра S. Cobbold).

Роль клеток-«пассажиров» в деструкции трансплантата

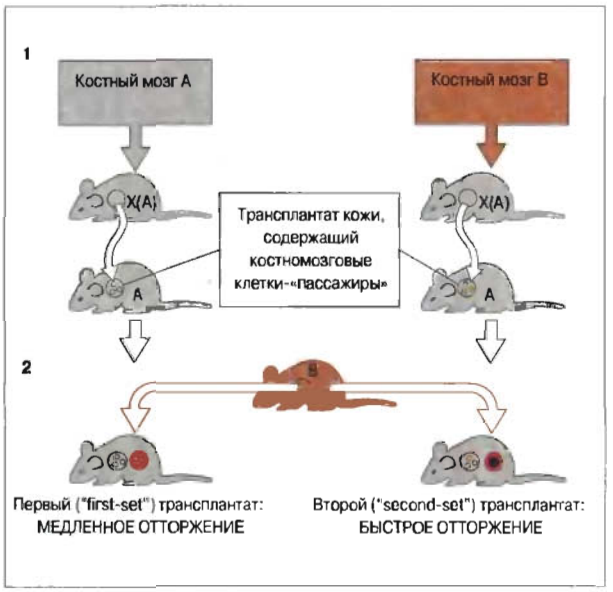


Рис. 27.10
Мышам линии A, подвергнутым X-облучению [X(A)], вводили клетки костного мозга мышей линии A или B. Кожный трансплантат этих животных приживлялся при пересадке мышам-реципиентам линии A (**1**). Затем реципиентам трансплантировали кожу мышей линии B. Мыши с первым трансплантатом, донором которого были животные X(A), получившие клетки костного мозга A, отторгали кожу мышей линии B медленнее, чем те животные, которым первый трансплантат пересаживали от доноров X(A), получивших клетки B (**2**). Это свидетельствует, что костномозговые клетки мышей линии B, содержавшиеся в первом трансплантате в качестве клеток-«пассажиров», примировали реципиента к аллоантигенам B.

тем. Таким образом, лейкоциты-пассажиры могут оказывать сильное влияние на приживаемость трансплантата (*рис. 27.10*).

Роль лимфокинов в отторжении

Помимо Тх-клеток $CD4^+$ в отторжении участвуют и другие иммунологические факторы, включая лимфокины (*рис. 27.11*).

Наиболее важную роль в разрушении трансплантированных клеток играют интерлейкин-2 (ИЛ-2) – он необходим для активации Тц-клеток, и ИФγ – он индуцирует экспрессию MHC, повышает активность АПК, стимулирует большие гранулярные лимфоциты и совместно с ФНОβ (лимфотоксином) активирует макрофаги. [Примечание: ранее смесь ИФγ и ФНОβ была известна под названием фактора, активирующего макрофаги (ФАМ)].

Лимфокины (ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-6) требуются также для активации B-клеток, продуцирующих антитела против трансплантата. Эти антитела связывают комплемент и вызывают повреждение сосудистого эндотелия, что ведет к возникновению геморрагий, агрегации тромбоцитов внутри сосудов трансплантата и их тромбозу; антитела обусловливают также литическое повреждение клеток трансплантата и высвобождение провоспалительных компонентов комплемента, C3a и C5a.

Для отторжения трансплантата не обязательно, чтобы иммунные факторы подействовали на все его структуры. Главными объектами их воз-

Иммунологические компоненты отторжения

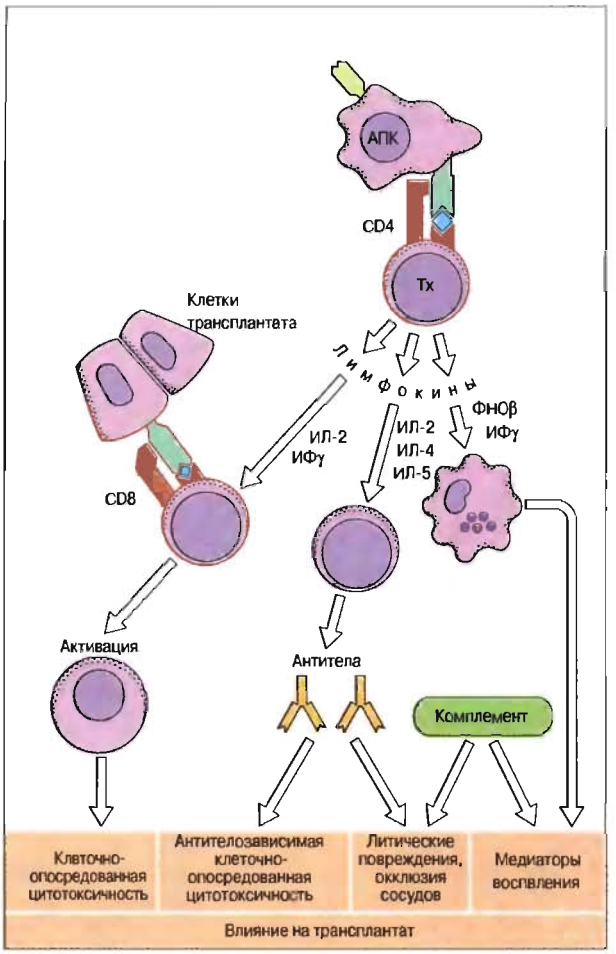


Рис. 27.11
Активированные АПК Тх-клетки выделяют цитокины, из которых ИЛ-2 и ИФγ необходимы для активации Тц-клеток, ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-5 – В-клеток, а ФНОβ (лимфотоксин) в сочетании с ИФγ действует как фактор активации макрофагов (ФАМ). Эти клетки вызывают специфические клеточно- и антителоопосредованные реакции или неспецифические воспалительные процессы, которые вызывают отторжение трансплантата.

действия (мишенями) служат эндотелий микрососудистого русла трансплантата и специализированные паренхиматозные клетки данного органа – почечные канальцы, островки Лангерганса поджелудочной железы или миоциты сердечной мышцы.

Лимфокин ИФγ способен индуцировать высокий уровень экспрессии молекул МНС класса II клетками эндотелия сосудов, а также появление молекул классов I и II на паренхиматозных клетках, которые в обычных условиях не экспрессируют антигены МНС или экспрессируют их в небольшом количестве. Такое повышение экспрессии антигенов МНС клетками трансплантата увеличивает число молекул-мишеней для действия антител и активированных клеток, что ведет к усилению реакции отторжения.

Под влиянием ФНОβ и ИФγ возрастает также экспрессия молекул адгезии на сосудистом эндотелии. Эти молекулы необходимы для прилипания циркулирующих в крови лейкоцитов к стенке сосудов, перед тем как они проходят через эндотелий в ткани.

ДИНАМИКА ОТТОРЖЕНИЯ

Скорость отторжения трансплантата частично зависит от характера эффекторных механизмов (*рис. 27.12*).

Сверхострое отторжение Отторжение этого типа происходит чрезвычайно быстро и наблюдается у больных, в сыворотке крови которых уже присутствуют антитела против трансплантата. Образование антител анти-HLA индуцируют предшествующие гемотрансфузии, множественные беременности или отторжение ранее трансплантированных тканей. Кроме того, сверхострое отторжение могут вызывать антитела против антиге-

Скорость развития реакции отторжения

Тип отторжения	Срок отторжения	Причина отторжения
Сверхострое	Минуты – часы	Предобразованные антидонорские антитела и комплемент
Ускоренное	Сутки	Реактивация сенсибилизированных Т-клеток
Острое	Сутки – недели	Первичная активация Т-клеток
Хроническое	Месяцы – годы	Причины неясны: антитела, иммунные комплексы, медленная клеточная реакция, рецидив основного заболевания

Рис. 27.12
По скорости развития повреждений трансплантата можно судить о механизме отторжения. Предобразованные антитела и пресенсибилизированные лимфоциты вызывают более быстрое отторжение, чем при первичной и медленно развивающейся реакции.

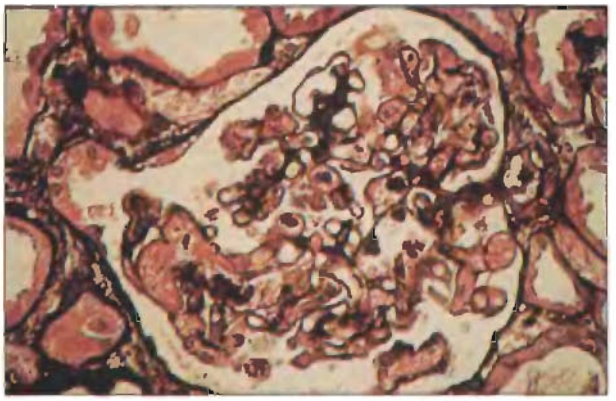


Рис. 27.13
Гистологическая картина сверхострого отторжения трансплантированной почки. Имеется обширный некроз клубочковых капилляров вместе с выраженной интерстициальной геморрагией. Возникновению некроза предшествует сильная инфильтрация ткани полиморфноядерными лейкоцитами, которая происходит уже в течение первого часа реваскуляризации трансплантата. На микрофотографии видны изменения, развивающиеся спустя 24–48 ч после этого. Окраска гематоксилином и эозином. × 200.

нов системы АВ0. Предобразованные антитела фиксируют комплемент, повреждая эндотелиальные клетки внутренней поверхности кровеносных сосудов. В результате этих повреждений сосудистая стенка становится проницаемой для плазмы и клеток, происходит агрегация тромбоцитов и нарушение микроциркуляции, препятствующее кровоснабжению трансплантата (*рис. 27.13*; см. также с. 446). Для того чтобы избежать сверхострого отторжения, при подборе донора и реципиента необходимо соблюдать условие их совместимости по группам крови АВ0, а также производить перекрестную пробу на присутствие в сыворотке крови будущего реципиента цитотоксических антидонорских антител.

Из-за сверхострой реакции отторжения невозможно трансплантировать больным органы животных, поскольку у человека имеются естественные антитела IgM и IgG к клеточным антигенам животных. В настоящее время идет интенсивный поиск способов предотвращения такой реакции. Они могут быть различными – удаление антител, истощение комплемента или получение с помощью методов генетической инженерии таких животных, органы которых менее чувствительны к сверхострому отторжению.

Острое отторжение Оно проявляется спустя несколько суток или недель и первично обусловлено активацией Т-клеток с последующим запуском различных эффекторных механизмов (*рис. 27.14–27.16*). Если трансплантация произведена больному, пресенсибилизированному к антигенам трансплантата, происходит вторичная активация Т-клеток, вызывающая ускоренное клеточно-опосредованное отторжение. Особенно резко развивается ускоренное отторжение кожного трансплантата (реакция «белого трансплантата») – кожа разрушается еще до того, как может начаться ее приживление (см. *рис. 27.18*).

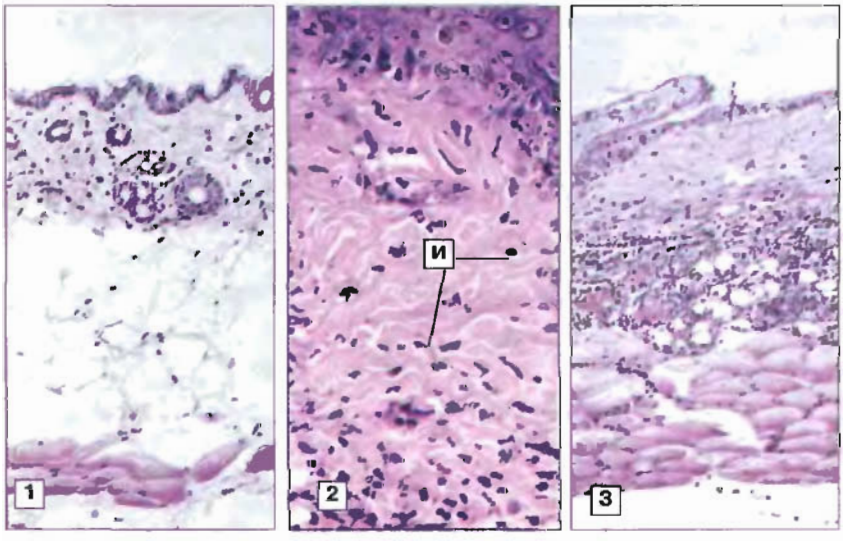


Рис. 27.14
Срезы кожи мышей линии А: нормальные животные (1) и трансплантат кожи через 5 (2) и 12 (3) сут после пересадки мышам линии СВА. Через 5 сут обнаруживается значительная инфильтрация (И) области трансплантата мононуклеарными клетками хозяина. Спустя 12 сут эпителий полностью разрушен и отслаивается от дермы, которая теперь не содержит клеток; инфильтрирующие трансплантат клетки хозяина погибли в результате аноксии, однако в области ложа трансплантата, между дермой и тонким мышечным слоем (panniculus carnosus) все еще наблюдается интенсивная клеточная миграция. (Микрофотографии любезно предоставлены проф. L. Brent.)

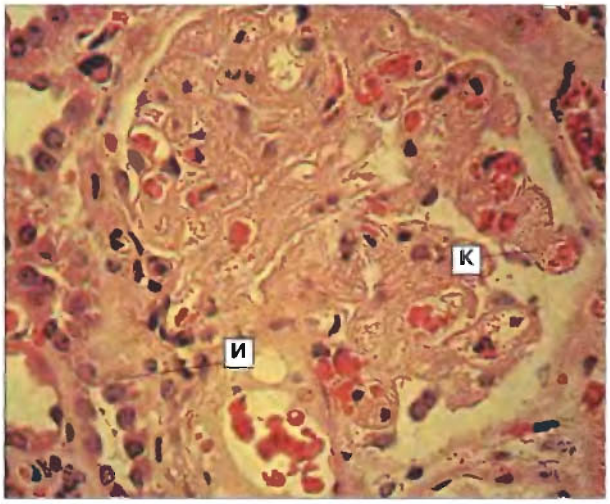


Рис. 27.15
Гистологическая картина острого отторжения трансплантированной почки – I. Скопления малых лимфоцитов и других клеток в интерстициальной ткани трансплантата. Такая инфильтрация (И) характерна для острого отторжения и возникает до появления каких-либо клинических признаков. (К – клубочек.) Окраска гематоксилином и эозином. × 200.

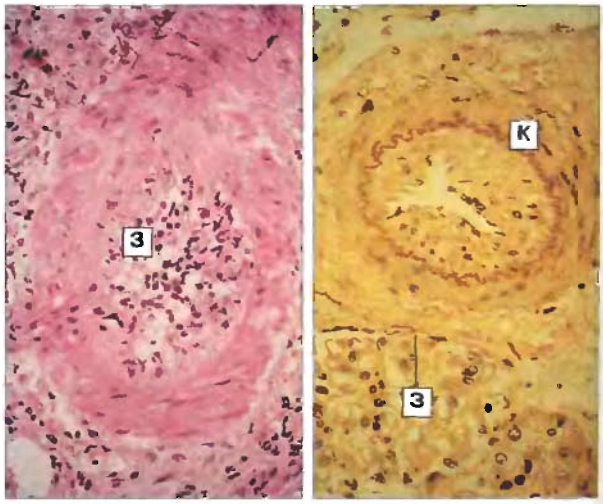


Рис. 27.16
Гистологическая картина острого отторжения трансплантированной почки – II. На срезе слева видна закупорка сосуда (З) (окраска гематоксилином и эозином), справа – конечная стадия этого процесса (окраска по ван Гизону). (К – клубочек.) × 140.

Иммунологические механизмы хронического отторжения трансплантата

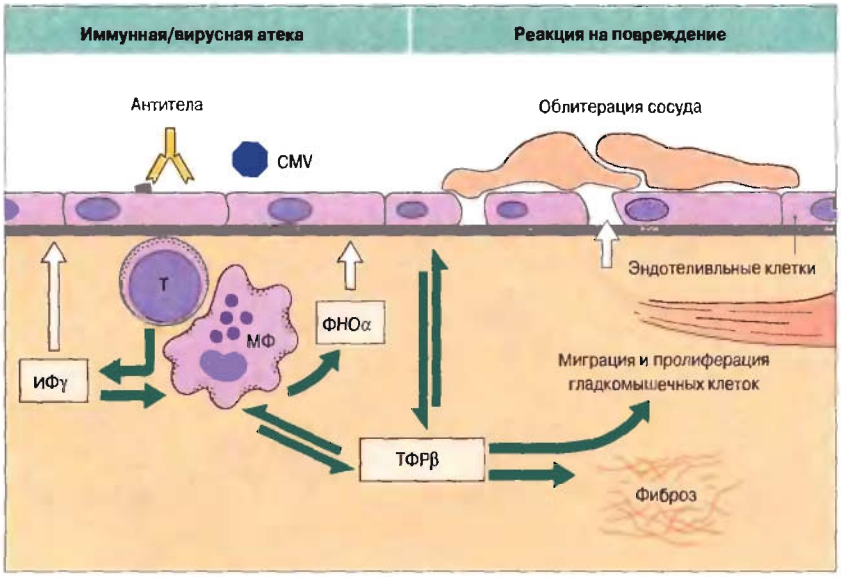


Рис. 27.17
Активация эндотелия под влиянием иммунной реакции или вируса ведет к высвобождению различных факторов роста. Среди них важное значение имеет ТФРβ, так как он вызывает фиброз трансплантата и способствует развитию артериосклероза. Облитерация просвета кровеносных сосудов, питающих трансплантат, происходит вследствие миграции гладкомышечных клеток интимы в сосудистую стенку, их пролиферации и отложения компонентов матрикса. Постепенное уменьшение кровоснабжения тканей трансплантата ведет к развитию фиброза, что проявляется в постепенной утрате функции трансплантата.

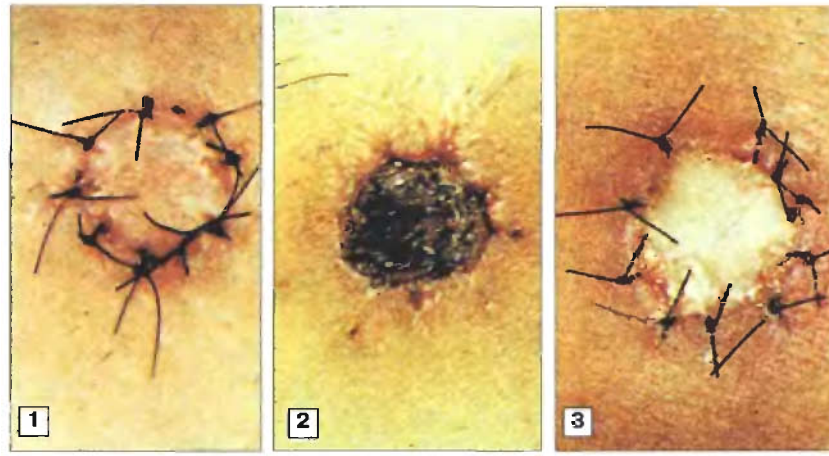


Рис. 27.18
Характер отторжения трансплантата зависит от развития иммунологической памяти. Аллотрансплантат кожи человека спустя 5 сут после пересадки (**1**) полностью васкуляризован и клетки делятся, однако через 12 сут (**2**) он целиком разрушается. Второй ("second-set") трансплантат того же донора (здесь на 7 сут после пересадки) не васкуляризуется и быстро разрушается (**3**). Это свидетельствует о формировании иммунологической памяти в результате сенсибилизации антигенами первого трансплантата.

Хроническое отторжение При определенных генетических различиях между донором и реципиентом и в условиях применения иммуносупрессивной терапии отторжение трансплантата может быть медленным процессом, растягивающимся на месяцы или годы. Стенки сосудов трансплантата при этом утолщаются вплоть до полного закрытия их просвета. Это так называемое хроническое отторжение может быть обусловлено несколькими причинами, например опосредуемой клетками вялотекущей реакцией отторжения или отложением в трансплантированной ткани антител и комплексов антиген–антитело с повреждением либо активацией эндотелиальных клеток сосудов и последующей неадекватной регенерацией.

Хроническое отторжение характеризуют два основных признака – облитерация сосудов (закрытие просвета сосудов трансплантата пролиферирующими гладкомышечными клетками, которые мигрируют из сосудистой стенки, и отложениями белков матрикса) и интерстициальный фиброз (диффузное образование рубцовой ткани в трансплантате). Эти процессы регулируются различными факторами роста, например трансформирующим фактором роста β, выделяемым в результате иммунных или других повреждений трансплантата (см. *рис. 27.17*). Время полужизни трансплантированной почки пока составляет лишь 7–8 лет, и за последнее десятилетие увеличения этого срока не удалось добиться, несмотря на применение нового препарата – циклоспорина А – для устранения острой реакции отторжения. По-прежнему настоятельно необходим поиск новых иммуносупрессивных агентов для борьбы с хроническим отторжением трансплантатов.

Повреждение трансплантированного органа может возникнуть также в результате рецидива заболевания, для лечения которого и была произведена трансплантация.

ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА

Реакцию отторжения трансплантата можно ослабить правильным подбором пары донор–реципиент

Идеальная пара для пересадки – это изогенные донор и реципиент, например однояйцевые близнецы. Однако возможность подобрать такую пару встречается редко, и в большинстве случаев существуют различия между донором и реципиентом по MHC и/или минорным локусам гистосовместимости. На практике достаточно подобрать пару, совместимую по главным антигенам (MHC, у человека HLA). Проверить совместимость можно при помощи серологического типирования (*рис. 27.19*), постановка которого требует всего лишь нескольких часов и поэтому может быть осуществлена в течение срока хранения донорского органа во льду. Недавно был разработан новый, чувствительный и точный метод типирования с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР; см. гл. 29), позволяющий идентифицировать гены HLA донора и реципиента.

Обеспечить совместимость по всем известным антигенам HLA практически невозможно, однако хорошие результаты удается получить в тех случа-

Серологическое типирование тканей

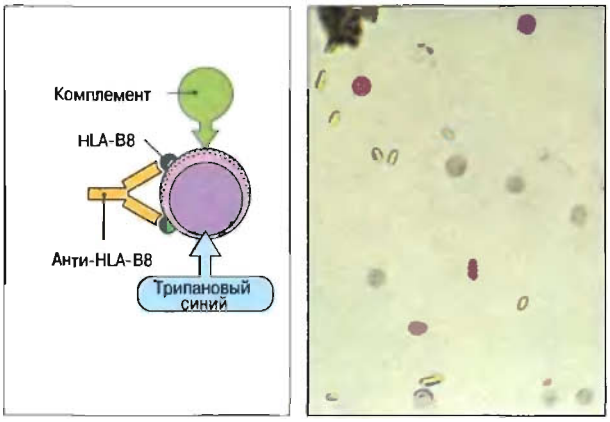


Рис. 27.19
Серологическое типирование тканей производят при помощи микролимфоцитотоксического теста. К испытуемым клеткам добавляют типирующие сыворотки (например, анти-HLA-B8), комплемент и краситель трипановый синий. Гибель клеток, определяемая по их окрашиванию, говорит о том, что тест-клетки несут определяемый антиген (в данном случае HLA-B8). На микрофотографии справа видны окрашенные трипановым синим (темные) погибшие клетки.

HLA-совместимость и выживаемость почечного трансплантата



Рис. 27.20
На рисунке представлены результаты двух разных исследований, в которых определяли выживаемость трансплантированных трупных почек через 1 год после пересадки. В первой работе (Евротрансплантат) доноров типировали по антигенам HLA-A и HLA-B (класс I). Во втором исследовании (Оксфорд) производили типирование доноров по антигенам HLA-DR (класс II).

ях, когда донор и реципиент имеют одни и те же MHC-антигены класса II, особенно если это антигены HLA-DR (*рис. 27.20*) — они непосредственно активируют Тх-клетки реципиента.

Число известных к настоящему времени HLA-антигенов класса I (HLA-A, HLA-B и HLA-C) и класса II (HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR) достаточно велико (*рис. 27.21*), так что полная совместимость двух выбранных случайным образом индивидов крайне маловероятна.

Для определения реактивности лимфоцитов реципиента в отношении антигенов, экспрессируемых клетками донора, можно использовать также реакцию смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ) (*рис. 27.22*). Слабая реакция в смеси клеток донора и реципиента ассоциируется с отличной выживаемостью трансплантата. Однако постановка реакции СКЛ занимает 4–5 сут, что служит серьезным препятствием для ее использования в клинике – органы, полученные от трупа или больного, смерть которого зарегистрирована по прекращению функционирования головного мозга, не могут сохраняться более 24–48 ч. Тест СКЛ можно применять в тех случаях, когда орган взят от живого донора (например, родственника). Результаты этой реакции особенно важны при трансплантации костного мозга, так как они позволяют установить, способны ли клетки костного мозга донора реагировать на антигены реципиента и вызывать РТПХ (см. с. 491).

Реакцию отторжения трансплантата можно предотвратить неспецифической иммуносупрессией

Существуют две формы иммуносупрессивной обработки – антиген-неспецифическая и антиген-специфическая. Путем неспецифической иммуносупрессии можно подавить или ослабить активность иммунной системы по отношению ко всем антигенам, однако при этом повышается чувствительность реципиента трансплантата к инфекциям. Так, Х-облучение в высокой дозе предотвращает отторжение, но одновременно вызывает ряд неблагоприятных эффектов, включая угнетение противомикробного иммунитета. Большинство неспецифических иммуносупрессивных агентов, применяемых в настоящее время, – это препараты, оказывающие избирательное воздействие на иммунную систему или дейст-

Серологически определяемые HLA-специфичности

Локус	Класс I				Класс II		
	A	B		C	DR	DQ	DP
Антигены	1	5	w50	w1	1	w1	w1
	2	7	51	w2	2	w2	w2
	3	8	w52	w3	3	w3	w3
	9	12	w53	w4	4	w4	w4
	10	13	w54	w5	5	w5	w5
	11	14	w55	w6	w6	w6	w6
	w19	15	w56	w7	7	w7	
	23	16	w57	w8	w8	w8	
	24	17	w58	w9	w9	w9	
	25	18	w59	w10	w10		
	26	21	w60	w11	w11		
	28	w22	w61		w12		
	29	27	w62		w13		
	30	35	w63		w14		
	31	37	w64		w15		
	32	38	w65		w16		
	w33	39	w67		w17		
	w34	40	w70		w18		
	w36	w41	w71		w52		
	w43	w42	w72		w53		
	w66	44	w73				
	w68	45	w75				
	w69	w46	w76				
	w74	w47	w4				
		w48	w6				
		49					

Рис. 27.21
У человека идентифицировано примерно 80 различных молекул класса I (HLA-A, HLA-B и HLA-C) и свыше 35 разных молекул класса II (HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR). При помощи молекулярно-генетических методов удается обнаружить гораздо больше вариантов. Однако не все из этих новых вариантов можно различить серологически.

Типирование тканей при помощи реакции смешанной культуры лимфоцитов

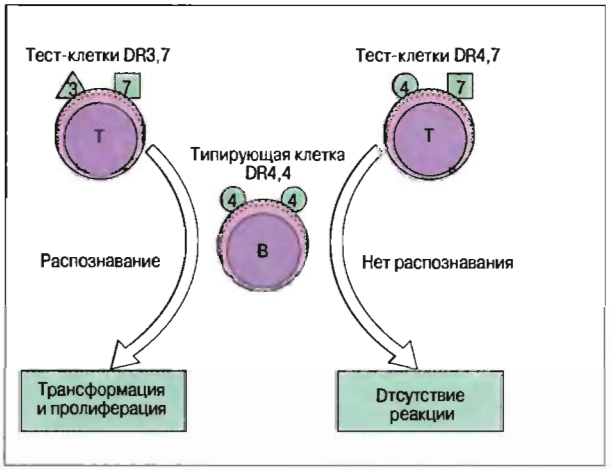


Рис. 27.22
В реакции смешанной культуры лимфоцитов тест-клетки инкубируют с «типирующими» клетками известной HLA-специфичности (в данном случае DR4,4). Клетки DR3,7 распознают типирующие клетки как чужеродные; это можно определить по трансформации и пролиферации типируемых клеток (типирующие клетки заранее обрабатывают таким образом, что сами они не могут делиться при взаимодействии с тест-клетками). В отличие от этого клетки DR4,7, имеющие такую же специфичность, как типирующие клетки (DR4), не распознают типирующие клетки и не реагируют на них.

вующие в той или иной степени избирательно благодаря использованию их по определенной схеме. В будущем такой подход будет усовершенствован, чтобы можно было элиминировать только те клоны лимфоцитов, которые специфичны к антигенам донора, оставляя другие клоны интактными. Это позволит сохранять защиту от инфекций и избегать других побочных эффектов. Такая высокоспецифическая иммуносупрессия пока остается для трансплантационной иммунобиологии своего рода чашей Грааля (см. ниже, с. 503, 504).

В клинической практике сейчас наиболее широко применяются неспецифические иммуносупрессивные агенты трех типов – стероиды, циклоспорин и азатиоприн (*рис. 27.23*).

Стероиды обладают противовоспалительными свойствами, супрессируют активированные макрофаги, угнетают функции АПК и снижают экспрессию антигенов МНС. Такое действие стероидов обусловлено тем, что они могут отменять многие эффекты ИФγ в отношении макрофагов и трансплантированных тканей.

Циклоспорин – это циклический полипептидный антибиотик, продуцентами которого служат почвенные грибы. Он обладает высокой иммуносупрессивной активностью. Основное в действии циклоспорина – это подавление синтеза лимфокинов (в результате влияния на активацию генов лимфокинов) и прямое или опосредованное снижение экспрессии рецепторов ИЛ-2 лимфоцитами, получившими сигнал активации. Другие продуцируемые грибами циклические по-

Лекарственная иммуносупрессия

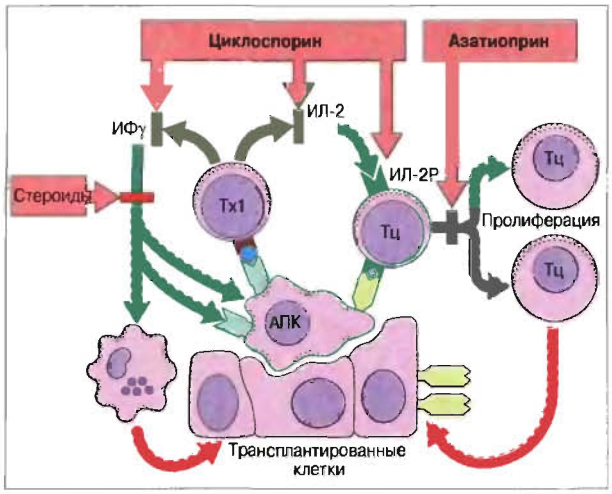


Рис. 27.23
Широко используемые в клинике агенты – стероиды, циклоспорин и азатиоприн – подавляют реакцию отторжения разными путями. Стероиды обладают противовоспалительными свойствами – угнетают функции макрофагов и АПК, снижая также экспрессию антигенов МНС. Циклоспорин блокирует продукцию цитокинов; азатиоприн подавляет пролиферацию активированных клеток.

Структура иммуносупрессивных антибиотиков, образуемых грибами

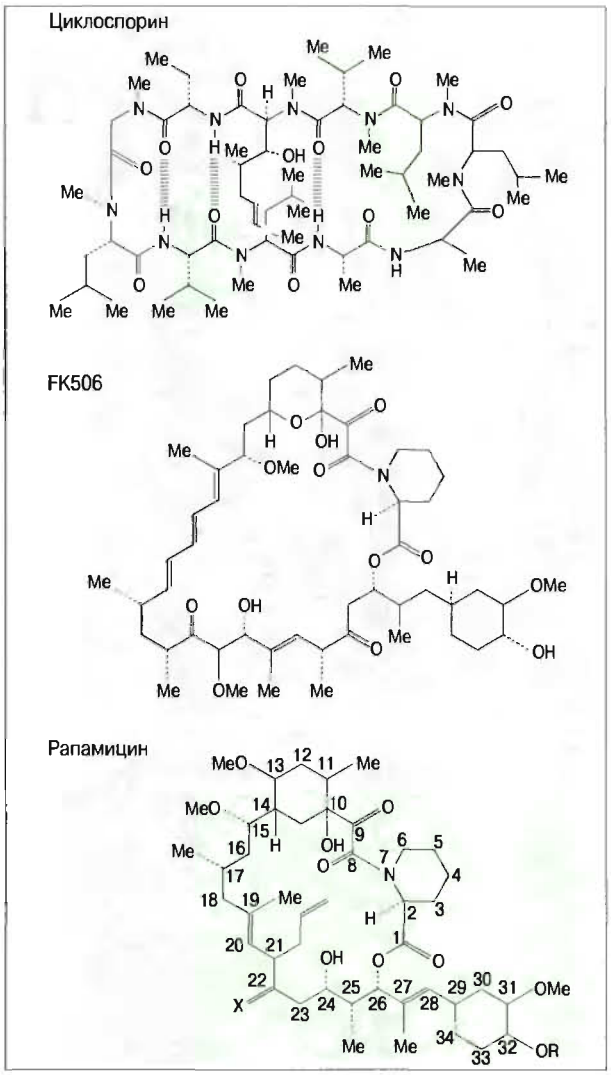


Рис. 27.24
Иммуносупрессивные циклические полипептидные антибиотики, продуцируемые грибами, различны по структуре и различным образом действуют на лимфоциты: циклоспорин и FK506 угнетают образование лимфокинов, а рапамицин блокирует передачу сигнала, осуществляемую при участии рецептора к ИЛ-2 (ИЛ-2Р).

липептидные антибиотики, например FK506 (такролимус) и рапамицин, также обладают иммуносупрессивными свойствами. Антибиотик FK506 подавляет продукцию лимфокинов Тх-клетками, обладая сходным с циклоспорином механизмом действия. Рапамицин блокирует пути внутриклеточной передачи сигнала с рецептора ИЛ-2 и тем самым угнетает ИЛ-2-зависимую активацию лимфоцитов. Структура циклоспорина, FK506 и рапамицина показана на *рис. 27.24*.

Реакция отторжения трансплантата связана с быстрым делением и дифференцировкой – пролиферацией – лимфоцитов. Воздействовать на нее можно с помощью антипролиферативного агента азатиоприна. Продукт его метаболизирования включается в ДНК делящихся клеток, препятствуя их дальнейшей пролиферации. Сейчас изучаются новые антипролиферативные препараты, в частности производные микофеноловой кислоты.

Все эти иммуносупрессивные агенты могут быть эффективны как монотерапевтические средства, однако для получения желаемого результата требуется их введение в высоких дозах, из-за чего возрастает вероятность возникновения побочных токсических эффектов. При использовании в сочетаниях иммунодепрессанты дают синергичный эффект, так как влияют на разные стадии одного и того же иммунного процесса. Поэтому дозы отдельных компонентов комбина-

ции можно уменьшать, сводя тем самым к минимуму побочные реакции. Применение циклоспорина существенно улучшило результаты трансплантации в клинике (выживаемость трансплантатов почек, сердца и печени достигает 1 года в 85–90 % случаев). Однако время полужизни трансплантированных почек по-прежнему составляет 7–8 лет, поскольку использование циклоспорина не решило проблемы хронического отторжения, а длительное применение этого препарата все же сопряжено с побочными эффектами. Дальнейших успехов следует ожидать от введения в клиническую практику новых лекарственных препаратов.

Сейчас проводится изучение новых агентов, также обладающих неспецифическими иммуносупрессивными свойствами, но действующих более избирательно (*рис. 27.25*). Для элиминации клеток или блокирования их функции могут быть использованы моноклональные антитела к антигенам клеточной поверхности, в частности к CD3, CD4, CD8 и рецептору ИЛ-2. С целью повышения эффективности этих антител их можно конъюгировать с цитотоксическими агентами. Другой, подобный этому подход заключается в соединении токсина с ИЛ-2: экспрессирующие рецептор ИЛ-2 клетки, активация которых происходит при ответе на антигены трансплантата, связывают конъюгат ИЛ-2–токсин и избирательно инактивируются токсином.

Методы избирательной иммуносупрессии

Агент		Мишень
Гетерологичные антисыворотки/ антитела	Антилимфоцитарная сыворотка (ALS) Антитимоцитарный глобулин (ALG)	Все лимфоциты Избирательное действие на Т-клетки
Моноклональные антитела	Анти-CD3 Анти-CD4 Анти-CD25 (ИЛ-2Р)	Зрелые Т-клетки Тх-клетки Активированные Т-клетки
Конъюгаты антитело–токсин	Анти-CD25, связанные с А-цепью рицина	Активированные ($CD5^{+}$) Т-клетки
Конъюгаты лимфокин–токсин	ИЛ-2, связанный с дифтерийным токсином	Активированные Т-клетки (экспрессирующие ИЛ-2Р)
Молекулы, инактивирующие комплемент	DAF/MCP, CD59 – трансфекция в клетки донора (особенно при ксенотрансплантации)	Повреждения, вызываемые комплементом при активации по классическому и альтернативному пути

Рис. 27.25
Антитела и лимфокины могут направленно действовать на определенные клетки иммунной системы. В отличие от этого лекарственные средства способны оказывать нежелательное влияние на нелимфоидные ткани, например обладать нефро- и гепатотоксичностью. Эффективность биологических агентов повышается при соединении их с химическими агентами или токсинами. (DAF – фактор, ускоряющий диссоциацию, от англ. decay accelerating factor; MCP – мембранный кофакторный белок, от англ. membrane cofactor protein.)

Специфическая иммуносупрессия ослабляет иммунный ответ на трансплантат, не вызывая повышения чувствительности к инфекциям

Регуляция интенсивности, типа и специфичности иммунологических реакций происходит различными путями по механизму обратной связи (см. гл. 13). В эксперименте можно предотвратить отторжение трансплантата, воздействуя на эти пути регуляции с помощью трех классических приемов: индукции толерантности в неонатальный период, активного усиления и пассивного усиления толерантности.

Введение антигенов донора новорожденным животным может индуцировать у них ареактивность к трансплантату

У грызунов, в противоположность человеку, зрелые Т-клетки начинают покидать тимус уже в неонатальный период (соответствующая стадия развития у человека приходится на 16–20 нед внутриутробного развития). Если новорожденным мышам ввести постоянный источник антигена (например, живые клетки, способные к росту) или вводить антиген многократно, развитие зрелых Т-клеток, которые реагируют с данным антигеном, подавляется. В классической постановке опыт производят следующим образом. Клетки костного мозга мышей (A × B)F1 вводят новорожденным мышам линии B. (Использование клеток гибридов F1 исключает РТПХ анти-B, которая возникает, если вместо клеток (A × B)F1 мышам линии B ввести клетки мышей линии A.) Трансплантированный костный мозг служит постоянным источником донорских антигенов. Когда мыши линии B достигают взрослого состояния, они оказываются ареактивными к антигенам A, воздействию которых подверглись в постнатальный период. Эти животные характеризуются толерантностью к антигенам A кожного трансплантата и других тканей доноров линии A

или (A × B)F1. Механизм неонатальной индукции толерантности представлен на *рис. 27.8* и детально описан в гл. 12.

Антиген может избирательно активировать некоторые субпопуляции лимфоцитов. Согласно современным представлениям, Тх-клетки делятся на две основные популяции — Тх1 и Тх2 (см. гл. 11). Мыши с неонатально индуцированной толерантностью могут иметь дефицит донор-специфических Тх1- и повышенное число донор-специфических Тх2-лимфоцитов. Как показано на *рис. 27.23*, Тх1-клетки продуцируют ИФγ и ИЛ-2 и участвуют в отторжении трансплантата. В противоположность этому Тх2-клетки образуют другие лимфокины, включая ИЛ-10 и фактор, подавляющий синтез лимфокинов клетками Тх1. Наличие немногочисленных Тх1-клеток и большого числа Тх2-клеток донора у таких мышей означает изменение баланса между процессами отторжения и приживления трансплантата, которое ведет к развитию толерантности. Строго говоря, эта форма толерантности представляет собой не ареактивность per se, а скорее иммунное отклонение. Интересно, что циклоспорин может действовать преимущественно на Тх1-клетки, оставляя интактными Тх2.

И, наконец, антиген может активировать супрессорные Т-клетки (Тс-клетки). Их природа все еще остается неясной. Единственное наблюдение, свидетельствующее об активности Тс-клеток, состоит в том, что перенос Т-лимфоцитов, полученных от донора, толерантного к кожному трансплантату А, предотвращает у реципиента отторжение трансплантата, несущего антигены А. Это означает адоптивный перенос супрессии, и ответственными за эффект клетками могут быть Тх- или Тс-лимфоциты. Экспериментальные данные с определенностью указывают, что Т-клетки, выполняющие супрессивную функцию, существуют, однако мнения о природе Тс-клеток и механизмах их действия весьма противоречивы. Эти клетки резистентны к циклоспорину и могут способствовать его эффектам, опосредуя толерантность благодаря активной иммуносупрессии.

Специфическая иммуносупрессия у человека Состояние, эквивалентное неонатально индуцированной толерантности животных, у человека получить невозможно. Однако сходная до некоторой степени ситуация возникает при использовании специальных методов воздействия на иммунную систему человека. Общее облучение лимфоидной ткани (ООЛ) ведет к ее резкому истощению, а применяемое при этом экранирование (защита) костного мозга сохраняет гемопоэз неповрежденным. В результате у человека возникает состояние, напоминающее неонатально индуцированную толерантность у грызунов. Действительно, ООЛ с последующим введением антигена вызывает развитие глубокой толерантности. Однако использовать ООЛ в повседневной клинической практике довольно опасно. При пересадке сердца широко применяют антилимфоцитарную сыворотку, получаемую от животных, иммунизированных лимфоцитами человека. Эффект такой сыворотки состоит в элиминации циркулирующих Т-клеток реципиента. Более безопасно, но столь же эффективно позволяют элиминировать Т-клетки моноклональные антитела к антигенам зрелых Т-лимфоцитов, и в клинике нашли применение антитела анти-CD3.

У человека ареактивность к трансплантату можно индуцировать при помощи гемотрансфузий

В некоторых случаях выживаемость трансплантата удается продлить, иногда на неопределенно долгое время, предварительным введением антигенов донора (*рис. 27.26*). Это противоположно тому, чего можно было бы ожидать от иммунизации реципиента антигенами донора — ускоренного или сверхострого отторжения трансплантата. Данный феномен получил название активного усиления выживаемости трансплантата. Большое значение имеет путь введения антигена, что обусловлено, по-видимому, вовлечением в реакцию разных отделов лимфоидной ткани. Так, в опытах с трансплантацией почек у крыс было установлено, что внутривенное введение крови донора реципиенту за неделю до трансплантации обеспечивает долговременную выживаемость трансплантированного органа, тогда как при подкожной инъекции то же количество донорской крови вызывает ускоренное отторжение. Эффект иммунологически специфичен, поэтому донор крови и донор почки должны иметь по крайней мере некоторые общие антигены.

В клинике нашел применение метод активного усиления толерантности — путем предварительной трансфузии донор-специфичной крови (ТДК). Например, перед трансплантацией почки одного из родителей ребенку трансфузируют кровь этого родителя. К сожалению, примерно у 20 % больных, которым производят ТДК, образу-

Иммунное усиление выживаемости трансплантата

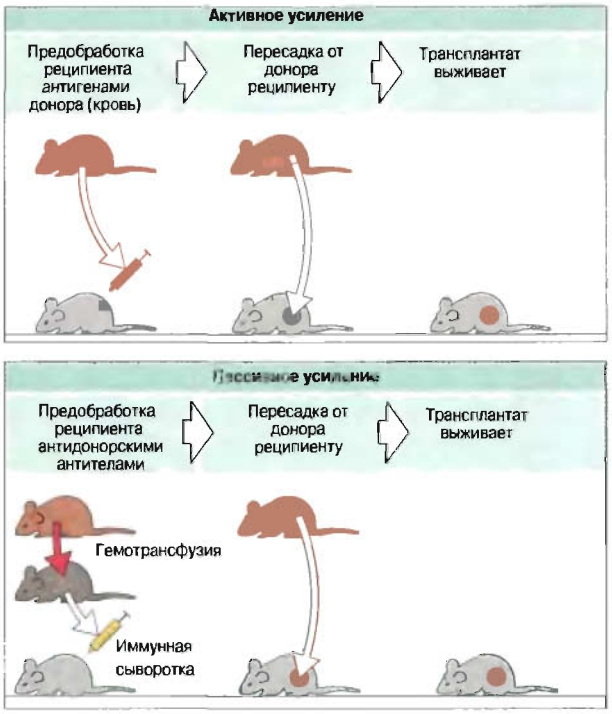


Рис. 27.26
Предварительное внутривенное введение реципиентам антигенов донора может повысить выживаемость пересаженного вслед за этим аллотрансплантата. Этот феномен носит название активного иммунного усиления толерантности, так как обусловлен активным иммунным ответом реципиента. (Следует отметить, что при другом пути введения крови того же донора может произойти быстрое отторжение трансплантата.) В отличие от этого введение реципиенту антидонорских антител во время трансплантации способно вызвать пассивное усиление толерантности. Как активное, так и пассивное усиление иммунологически специфичны, поскольку подавляется реакция лишь на антигены данного донора; продления выживаемости (усиления) трансплантата «третьего порядка», т. е. взятого у постороннего, неродственного донора, при этом не происходит.

ются антидонорские антитела и запланированную пересадку почки невозможно осуществить вследствие риска развития реакции сверхострого отторжения. Однако у остальных 80 % больных трансплантация оказывается успешной в 95–100 % случаев.

Благоприятный эффект переливания крови до трансплантации (гемотрансфузионный эффект) отмечен также у реципиентов, получивших кровь не подобранного специально донора (т. е. когда донор крови не является донором трансплантируемого органа). По-видимому, этот эффект обусловлен случайной общностью антигенов доноров крови и трансплантата (*рис. 27.27*). В пользу такого объяснения говорят данные о том, что гемотрансфузионный эффект возрастает с увеличением числа переливаний крови, взятой у разных доноров. В свое время в большинстве центров трансплантации была принята стратегия предварительной трансфузии крови любых доноров будущим реципиентам. Однако при этом всегда существовал риск сенсибилизации пациентов и передачи СПИДа; ставшее доступным применение иммунодепрессивных агентов сделало эту процедуру в большинстве случаев излишней.

Для активного усиления необходимо, чтобы у больного возникла активная иммунная реакция на введенные антигены донора. Возможные механизмы этого – индукция анергии, избирательная активация Тх2-клеток или активация Тс-клеток под влиянием антигенов крови, которые имеют место при неонатально индуцированной толерантности. В других случаях возможно образование «усиливающих антител», которые, блокируя распознавание специфических антигенов донора, подавляют процесс отторжения трансплантата или разрушают высокоиммуногенные лейкоциты-«пассажиры», содержащиеся в трансплантате. Может происходить и образование таких

Влияние гемотрансфузии на выживаемость трансплантированной почки

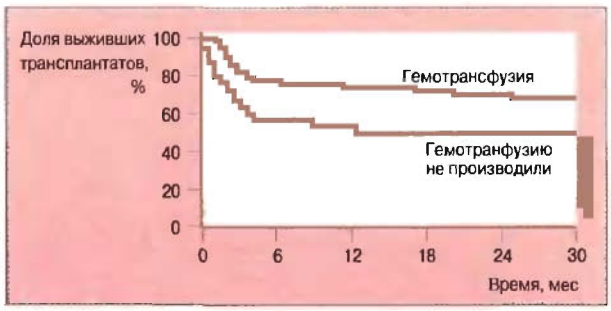


Рис. 27.27
Выживаемость трансплантированной почки у больных (102 человека), которым до трансплантации трансфузировали донорскую кровь, более продолжительна, чем у больных (71 человек), не получавших гемотрансфузии.

усиливающих антител, которые взаимодействуют с антигенными рецепторами клеток, реактивных по отношению к антигенам донора; эти клетки элиминируются или же изменяется презентация антигенов таким образом, что после трансплантации избирательно активируются определенные субпопуляции, например Тх2- и Тс-лимфоциты.

В организме реципиента трансплантата антитела могут осуществлять регуляцию по механизму обратной связи. Введение антидонорских антител (пассивное усиление) крысам при трансплантации почки может обеспечить долговременную выживаемость пересаженного органа (*рис. 27.26*).

Вопросы для размышления

- Чем отличаются реакции, индуцированные в результате прямой активации Т-клеток реципиента комплексом антигенный пептид донора – молекула МНС донора, от реакций, развивающихся при непрямой активации комплексом пептид донора – молекула МНС реципиента?
- Гемотрансфузия, произведенная до трансплантации, может продлить выживаемость трансплантата благодаря возникновению иммунологической ареактивности. Однако у некоторых больных образуются антитела к чужеродным клеткам крови донора, в связи с чем трудно рассчитывать на успех последующей трансплантации органа. Каким образом можно предотвратить продукцию антидонорских антител?
- Эффекторные механизмы хронического и острого отторжения различаются. Какие изменения нужно внести в схему лечения, чтобы избежать хронического отторжения?
- Первый барьер при ксенотрансплантации создают ранее образованные у реципиента антитела против антигенов донора. Предположим, что можно избежать развития сверхострого отторжения, например при трансплантации человеку органов свиньи. Однако существует вероятность возникновения клеточной реакции. Чем будут отличаться процессы распознавания чужеродных антигенов при ксено- и аллотрансплантации?
- В чем состоят механизмы, способствующие отторжению трансплантата при прямом и непрямом способах иммунизации?
- Какая комбинация лекарственных препаратов, антител и антигенов оказалась бы, по вашему мнению, наиболее эффективной при пересадке гистонесовместимого трансплантата?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Alexander G.P.J., Latime D., Gianello P. et al. 1991. Preformed cytotoxic antibodies and ABO-incompatible grafts. *Clin. Transplant.* **5**: 583.

Bach F.H. 1991. Xenotransplantation: problems for consideration. *Clin. Transplant.* **5**: 595.

Bjorkman P.J., Saper M.A., Samaouri B. et al. 1987. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* **329**: 512.

Burdick J.F. 1991. Chronic rejection. *Clin. Transplant.* **5**: 489.

Concar D. 1994. The organ factory of the future? *New Scientist* **1930**: 24–29.

Dallman M.J., Clark G.J. 1991. Cytokines and their receptors in transplantation. *Curr. Opin. Immunol.* **3**: 729.

Graff R.J., Bailey D.W. 1973. The non-H-2 histocompatibility loci and their antigens. *Transplant. Rev.* **15**: 26–49.

Hall B.M., Dorsch S., Roser B. 1978. The cellular basis of allograft rejection in vivo. I. The cellular requirements for first set rejection of heart grafts. *J. Exp. Med.* **148**: 878.

Halloran P.F. Broski A.P., Batiuk T.D. et al. 1993. The molecular immunology of acute rejection: an overview. *Transplant. Immunol.* **1**: 3–27.

Hunt S., Billingham M. 1991. Long-term results of cardiac transplantation. *Ann. Rev. Med.* **42**: 437.

Hutchinson I.V. 1991. Cellular mechanisms of allograft rejection. *Curr. Opin. Immunol.* **3**: 722.

Lechler R.I., Lombardi G., Batchelor J.R. et al. 1990. The molecular basis of alloreactivity. *Immunol. Today* **11**: 83.

Mason D.W., Morris P.J. 1986. Effector mechanisms in allograft rejection. *Annu. Rev. Immunol.* **4**: 119.

Masoor S., Schroeder T.J., Michler R.E. et al. 1986. Monoclonal antibodies in organ transplantation: an overview. *Transplant. Immunol.* **4**: 176–89.

Opelz G. 1989. Effect of HLA matching in heart transplantation. *Transplant. Proc.* **21**: 794.

Platt J.L., Bach F.H. 1991. The barrier to xenotransplantation. *Transplantation* **52**: 937.

Sablinski T., Hancock W.W., Tilney N.L. et al. 1991. CD4 monoclonal antibodies in organ transplantation. A review of progress. *Transplantation* **52**: 579.

Sachs D.H., Bach F.H. 1990. Immunology of xenograft rejection. *Human Immunol.* **28**: 245.

Steinmuller D. 1985. Which T cells mediate allograft rejection? *Transplantion* **40**: 229.

Thomson A.W. 1994. Immunosuppressive drugs and the induction of transplantation tolerance. *Transplant. Immunol.* **2**: 263–70.

Waldman H., Cobbold S. 1993. The use of monoclonal antibodies to achieve immunological tolerance. *Immunol. Today* **14**: 247–51.

Waldmann H. 1989. Manipulation of T-cell responses with monoclonal antibodies. *Annu. Rev. Immunol.* **7**: 407.

Wood K.J. 1991. Transplantation tolerance. *Curr. Opin. Immunol.* **3**: 710.

28 Аутоиммунные процессы и аутоиммунные заболевания

- **Аутоиммунные механизмы** лежат в основе многих органоспецифических и системных заболеваний.
- **Аутоиммунные нарушения могут быть множественными:** один и тот же человек может страдать сразу несколькими органоспецифическими или несколькими системными заболеваниями.
- Важная роль в развитии аутоиммунных заболеваний принадлежит **генетическим факторам,** таким как гаплотип HLA; вероятно, при любом из таких заболеваний имеют значение несколько генетических факторов.
- При экспериментальном моделировании аутоиммунных явлений и подобных спонтанных нарушениях у животных **аутоиммунные механизмы** играют роль патогенного фактора.
- **У человека аутоантитела** могут непосредственно оказывать патогенное действие.
- Системные аутоиммунные заболевания часто связаны с образованием **иммунных комплексов.**
- **Аутореактивные В- и Т-клетки** присутствуют и у здоровых лиц, но при болезни они подвергаются селекции аутоантигеном и вызывают аутоиммунные реакции.
- Причиной аутоиммунных явлений могут быть **перекрестнореагирующие микробные антигены и нарушения в цитокиновой сети регуляции.**
- **Определение присутствия и уровня аутоантител** имеет диагностическое, а иногда и прогностическое значение.
- **Лечение органоспецифических заболеваний** обычно сводится к нормализации обмена веществ.
- **Лечение системных заболеваний** включает применение противовоспалительных и иммуносупрессивных средств.
- **В будущем для лечения** будут, вероятно, применять воздействие антигенами или пептидами на аутореактивные Т-клетки, использовать антитела анти-CD4, и, возможно, вакцинацию Т-клетками.

СВЯЗЬ АУТОИММУНИТЕТА С ПАТОЛОГИЕЙ

Иммунная система способна реагировать на огромное число разнообразных агентов, и поскольку репертуар специфичностей В- и Т-клеток формируется случайным образом, он неизбежно включает множество молекул, специфичных по отношению к компонентам собственного организма. Для предупреждения аутореактивности действуют необходимые механизмы аутотолерантности, позволяющие различать «свои» и «несвои» антигенные детерминанты (см. гл. 14). Однако, как в любой системе, при работе механизмов аутотолерантности существует риск нарушений. Известен целый ряд заболеваний, при которых имеют место аутоиммунные проявления, обусловленные избыточным образованием аутоантител и аутореактивных Т-клеток.

В качестве одного из примеров поражения, связанного с продукцией аутоантител, можно назвать тиреоидит Хасимото. Он исследован особенно подробно, и многие рассматриваемые в данной главе аспекты аутоиммунных заболеваний трактуются на основе сведений, полученных при изучении именно этого состояния. Тиреоидит Хасимото представляет собой болезнь щитовидной железы и чаще всего поражает женщин среднего возраста, приводя к формированию зоба и гипотиреозу. Железа при этом инфильтрирована (иногда очень сильно) воспалительными лимфоидными клетками, среди которых преобладают моноядерные фагоциты, лимфоциты и плазматические клетки; кроме того, в ней, как правило, образуются вторичные лимфоидные фолликулы (*рис. 28.1*). Часто при болезни Хасимото происходит регенерация тиреоидных фолликулов, что отличает это заболевание от другого подобного состояния — первичной микседемы, которая связана с аналогичными иммунологическими нарушениями, но сопровождается почти полным разрушением и резким уменьшением размеров щитовидной железы.

Сыворотка больных тиреоидитом Хасимото, как правило, содержит антитела к тиреоглобулину. При высоком титре их можно обнаружить с помощью реакций гемагглютинации и преципи-

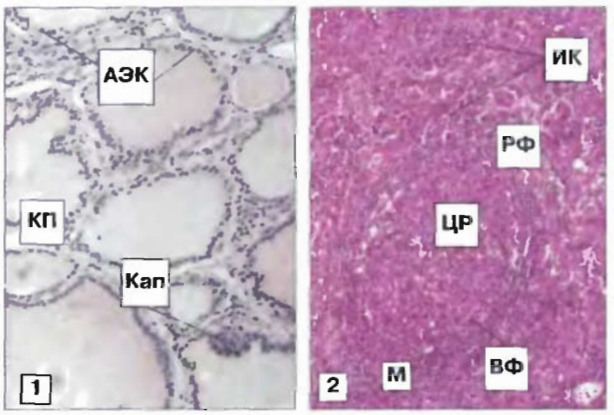


Рис. 28.1
Гистологические изменения при тиреоидите Хасимото. В нормальной щитовидной железе (**1**) ацинарные эпителиальные клетки (АЭК) выстилают коллоидную полость (КП), в которую они секретируют тиреоглобулин, распадающийся по мере потребности с образованием тиреоидных гормонов (Кап – капилляры, содержащие эритроциты). При болезни Хасимото (**2**) строение щитовидной железы нарушается и ее практически полностью замещают иные клетки (ИК), главным образом лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки. Видны вторичный лимфоидный фолликул (ВФ) с центром размножения (ЦР) и мантией (М) из мелких лимфоцитов, а также небольшие регенерирующие тиреоидные фолликулы (РФ). Окраска гематоксилином–эозином. ×80.

тации. У многих больных имеются и антитела к цитоплазматическому (микросомному) антигену, который локализован на апикальной поверхности фолликулярных эпителиальных клеток (*рис. 28.2*) и представляет собой тиреоидную пероксидазу – фермент, иодирующий тиреоглобулин.

СПЕКТР АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Антитела, характерные для тиреоидита Хасимото и первичной микседемы, реагируют только с компонентами ткани щитовидной железы, и поэтому развивающийся патологический процесс носит сугубо локальный характер. Напротив, при таких заболеваниях, как, например, системная красная волчанка (СКВ), сыворотка реагирует с компонентами многих, если не всех, тканей организма. Один из основных видов антител, характерных для СКВ, взаимодействует с клеточным ядром (*рис. 28.2*). Эти два заболевания образуют противоположные края спектра аутоиммунных болезней (*рис. 28.3*).

Органами-мишенями при органоспецифических заболеваниях часто оказываются щитовидная железа, надпочечники, желудок и поджелудочная железа. При органонеспецифических болезнях, в том числе ревматологических, обычно возникают поражения кожи, почек, суставов и мышц (*рис. 28.4*).

У одного человека может быть сразу несколько аутоиммунных заболеваний

Характерно, что аутоиммунные заболевания, находящиеся на одном краю спектра, часто встречаются вместе. У больных пернициозной анемией (с аутоиммунным поражением желудка) нередко обнаруживаются антитела к щитовидной железе, и среди таких больных аутоиммунные заболевания щитовидной железы встречаются чаще, чем в общей популяции. Точно так же, при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы у больных часто присутствуют аутоантитела к тканям желудка и (хотя и несколько реже) клинические проявления пернициозной анемии.

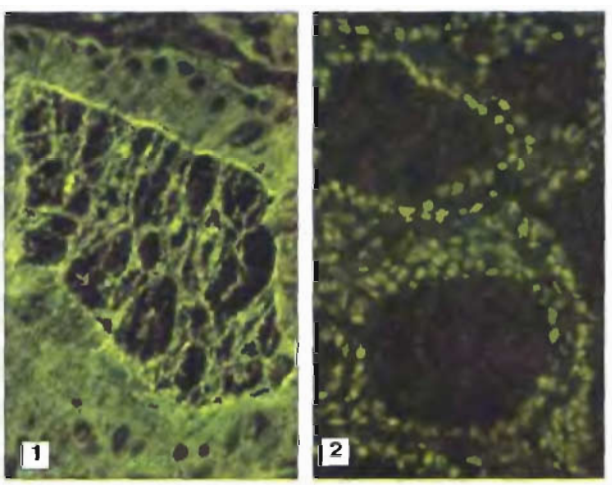


Рис. 28.2
Тиреоидные аутоантитела. Нефиксированные срезы нормальной щитовидной железы человека обрабатывали сывороткой больного, а затем конъюгированными с флуоресцеином кроличьими антителами к Ig человека. Эпителиальные клетки фолликулов окрашены в результате взаимодействия компонентов их цитоплазмы (но не ядра) с антителами от больного тиреоидитом Хасимото (**1**). В отличие от этого сыворотка больного системной красной волчанкой (СКВ) содержит антитела, которые реагируют только с ядрами фолликулярных эпителиальных клеток, оставляя цитоплазму неокрашенной (**2**). (Фото любезно предоставлены г-ном G. Swana.)



Рис. 28.3
Аутоиммунные заболевания можно разделить на органоспецифические и органонеспецифические в зависимости от того, реагируют ли они главным образом с антигенами клеток одного или многих органов.

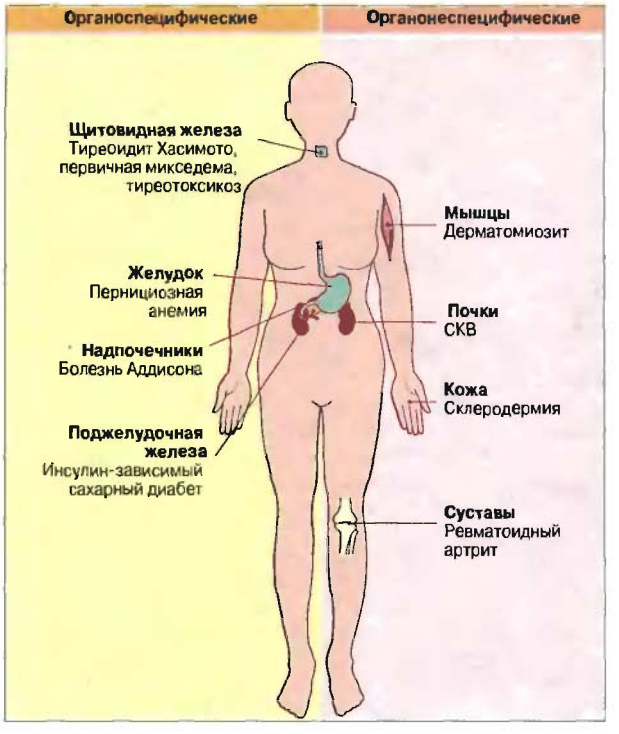


Рис. 28.4
Хотя при органонеспецифических заболеваниях, как правило, имеются симптомы одновременно со стороны кожи, суставов, почек и мышц, все же одна из систем поражается в большей степени, как, например, почки при системной красной волчанке (СКВ) или суставы при ревматоидном артрите.

Занимающие другой край спектра, ревматологические заболевания также сочетаются друг с другом. Например, признаки ревматоидного артрита часто сопутствуют клиническим проявлениям СКВ. При этих заболеваниях имеет место системное отложение иммунных комплексов, наиболее значительное в почках, суставах и коже. Оно приводит к нарушениям в работе многих органов. В то же время болезни, относящиеся к разным краям спектра, сочетаются друг с другом относительно редко (*рис. 28.5*).

Механизмы повреждений тканей при аутоиммунных заболеваниях различны и зависят от места расположения данного заболевания в спектре. В тех случаях, когда антиген локализован в каком-либо одном органе, наибольшее значение имеют гиперчувствительность II типа и клеточные реакции (см. гл. 24 и 26). При органонеспецифических аутоиммунных заболеваниях основную роль играет отложение иммунных комплексов, ведущее так или иначе, в том числе путем активации комплемента и фагоцитоза, к воспалению (см. гл. 25).

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Аутоиммунные заболевания могут быть семейными

Существование семейных случаев аутоиммунных заболеваний – это четко установленный факт, и наглядный пример его приведен на *рис. 28.6*. Результаты исследований на одно- и разнояйцевых близнецах, а также данные об ассоциации тиреоидных аутоантител с Х-хромосомными аберрациями убеждают в том, что в основе семейных случаев лежат именно генетические факторы, а не влияние окружающей среды.

Одновременное присутствие аутоантител

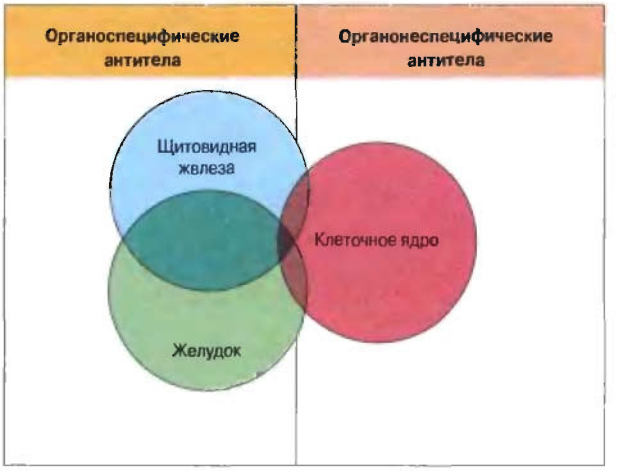


Рис. 28.5
Органоспецифические аутоантитела к компонентам тканей щитовидной железы и желудка часто одновременно присутствуют у одного и того же человека, но редко встречаются вместе с органонеспецифическими антителами (такими, например, как антитела к ДНК и нуклеопротеинам).

Аутоиммунные семейные заболевания

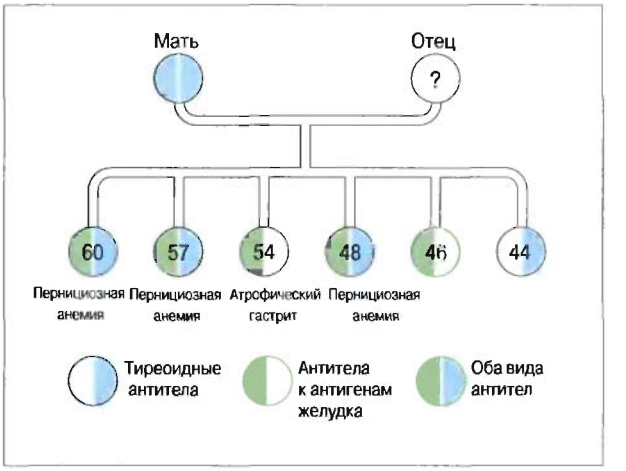


Рис. 28.6
На данной диаграмме приведены данные для семьи, у всех членов которой обнаружены органоспецифические аутоиммунные нарушения в щитовидной железе и желудке. (К моменту обследования отец умер, и были ли у него те или иные антитела, неизвестно.) У всех сибсов наблюдалось аутоиммунное поражение желудка, тогда как мать страдала первичной микседемой. Однако в сыворотке сибсов присутствовали и аутоантитела к щитовидной железе, хотя клинические симптомы ее поражения не были отмечены. С увеличением старшинства членов семьи аутоантитела выявлялись все чаще (указан возраст, в котором были обнаружены аутоантитела).

Семейные аутоиммунные заболевания чаще всего относятся к органоспецифическим. При этом генетические факторы определяют не только общую предрасположенность к появлению органоспецифических антител, но и тот орган, против компонентов ткани которого они преимущественно направлены. Характерно, что у родственников больных тиреоидитом Хасимото или пернициозной анемией частота обнаружения и титры тиреоидных аутоантител выше, чем в норме, а у родственников больных пернициозной анемией гораздо чаще присутствуют аутоантитела к компонентам ткани желудка. Таким образом, существуют генетические факторы, определяющие избирательность поражения желудка при этой группе органоспецифических аутоиммунных заболеваний.

Предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям связана с определенными гаплотипами HLA

Дальнейшим доказательством роли генетических факторов при аутоиммунных заболеваниях служит ассоциация подобных расстройств с определенными гаплотипами HLA (*рис. 28.7*). Так, ревматоидный артрит не ассоциирован с гаплотипами локусов HLA-A и HLA-B, но чаще развивается при наличии общей для DR1 и главных подтипов DR4 нуклеотидной последовательности (кодирующей аминокислотные остатки 70–74 β-цепи DR). Эта последовательность присутствует также в белках теплового шока dnaJ различных бактерий и белке gp110 вируса Эпштейна–Барр, что создает клинически значимую возможность индукции аутоиммунных заболеваний перекрестнореагирующими микробными эпитопами (см. ниже). Более того, молекулы HLA-DR, несущие эту последовательность, могут связывать другой бактериальный белок теплового шока, dnaK, а также его аналог у человека, белок теплового шока hsp73, который направляет отдельные белки в лизосомы, где осуществляется процессинг антигенов. При органоспецифических заболеваниях особенно часто встречается гаплотип B8,DR3, хотя тиреоидит Хасимото чаще ассоциирован с DR5. Следует отметить, что у гетерозигот DQ2/8



Рис. 28.7
Величина относительного риска отражает вероятность развития данного заболевания у лиц, обладающих определенным антигеном HLA, по отношению к вероятности развития того же заболевания у лиц, лишенных этого антигена. Практически все изученные аутоиммунные заболевания ассоциированы с тем или иным гаплотипом HLA. Больший риск возникновения болезни Аддисона у лиц с гаплотипом HLA-DR3 по сравнению с носителями гаплотипа HLA-B8 свидетельствует о том, что гаплотип HLA-DR3 теснее связан с «геном предрасположенности к болезни» или даже идентичен ему. Тот факт, что в данном случае относительный риск у носителей B8 превышает единицу, не должен вызывать удивления, поскольку известно, что в общей популяции B8 встречается вместе с DR3 чаще, чем это могло бы определяться простой случайностью. Такой феномен носит название неравновесия по сцеплению. Сахарный диабет 1-го типа ассоциирован с DQ2 и DQ8, и в случае присутствия генов обеих этих молекул (у гетерозигот DQ2/8) риск диабета резко возрастает, что подтверждает концепцию об аддитивном эффекте многих генетических факторов. Ревматоидный артрит ассоциирован с определенной последовательностью в DR1 и нескольких подтипах DR4, но не с каким-либо аллелем HLA-A или HLA-B.

резко повышен риск развития инсулин-зависимого (тип I) сахарного диабета (*рис. 28.7*). Это подтверждает представление об участии нескольких генетических факторов в развитии аутоиммунных заболеваний: во-первых, генов, определяющих общую предрасположенность к аутоиммунной патологии, органоспецифической или органонеспецифической, а во-вторых, других генов, которые определяют конкретную мишень – антиген или антигены, против которых направлен аутоиммунная реакция.

Подтверждения этих взглядов получены на экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний; такие исследования рассмотрены в следующем разделе.

ПАТОГЕНЕЗ

Аутоиммунные процессы часто приводят к развитию болезни. Обнаружение аутоантител при том или ином заболевании указывает на три возможности:

- аутоантитела служат причиной патологического процесса;
- аутоантитела образуются вследствие повреждения тканей, вызванного тем или иным патологическим процессом;
- существует некий третий фактор, который лежит в основе и повреждения ткани, и появления аутоантител.

Иногда аутоантитела действительно появляются вследствие повреждения ткани (вторая возможность). Например, у лиц, перенесших инфаркт миокарда, в сыворотке могут присутствовать аутоантитела к антигенам сердечной мышцы. Однако простая травма, приводящая к высвобождению аутоантигенов, редко индуцирует образование аутоантител. В большинстве случаев при заболеваниях, сопровождающихся продукцией аутоантител, реализуется первая возможность, т. е. аутоиммунный процесс является причиной тканевых повреждений.

В патогенетической роли аутоиммунных процессов можно убедиться путем экспериментального моделирования

Примеры индуцированных аутоиммунных процессов

Самый простой способ проверки того, служит ли причиной заболевания аутоиммунный процесс, — это попытки воспроизведения данного заболевания у экспериментальных животных путем намеренной индукции у них аутоиммунных процессов. Для этого животным вводят аутоантигены (собственные антигены) в полном адъюванте Фрейнда (см. гл. 17), и это действительно вызывает органоспецифическое поражение некоторых органов. Введение тиреоглобулина, например, может вызвать воспалительное поражение щитовидной железы, а введение основного белка миелиновой оболочки – развитие энцефаломие-

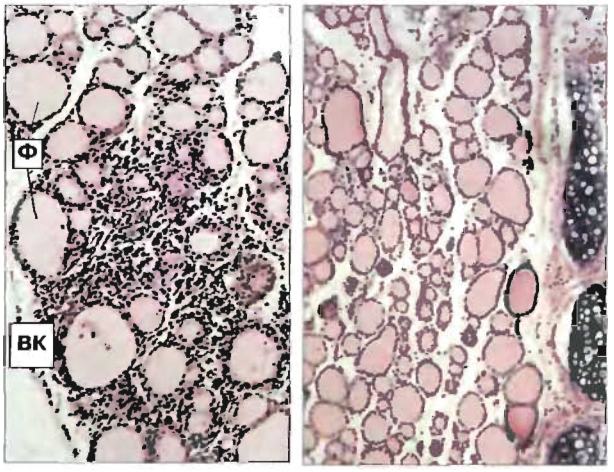


Рис. 28.8
Гистологическая картина экспериментального аутоаллергического тиреоидита. На срезе щитовидной железы животного, которому вводили тиреоглобулин (*слева*), видна деструкция фолликулов и выраженная инфильтрация мононуклеарными воспалительными клетками (ВК). Часть фолликулов (Ф) остается интактной, но в других имеются начальные признаки разрушения . Справа – контрольный срез, на котором видны нормальные тиреоидные фолликулы, заполненные коллоидом. Окраска гематоксилином–эозином. × 200.

лита. После введения тиреоглобулина у животных не только появляются антитиреоидные аутоантитела, но и происходит инфильтрация щитовидной железы мононуклеарными клетками с нарушением структуры органа (*рис. 28.8*). Хотя такие изменения никоим образом нельзя считать тождественными тиреоидиту Хасимото, все же они в целом сходны с теми, какие наблюдаются при этом заболевании у человека.

Возможность экспериментальной индукции аутоиммунного заболевания зависит от линии животных. Например, подверженность крыс и мышей энцефаломиелиту в результате введения основного белка миелиновой оболочки связана с небольшим числом определенных генных локусов, главным образом в области генов MHC класса II. Аутоаллергический энцефаломиелит у животных восприимчивых линий можно вызвать также введением Т-клеток, специфичных к основному белку миелиновой оболочки. Такие Т-хелперные (Тх) клетки принадлежат к субпопуляции CD4/Tx1, причем введение реципиентам антител к CD4 непосредственно перед ожидаемым началом болезни предотвращает ее возникновение, блокируя взаимодействие CD4 на Тх-клетках с молекулами MHC класса II на антигенпрезентирующих клетках (АПК) (см. гл 10). Результаты опытов указывают на значение рестриктированных по молекулам MHC класса II аутореактивных Тх-клеток в развитии таких заболеваний и подчеркивают важнейшую роль MHC.

Примеры спонтанных аутоиммунных процессов

Изучение спонтанных аутоиммунных заболеваний у животных позволяет получить много важных сведений. Одним из классических объектов таких исследований служат куры линии OS (*рис. 28.9*), у которых спонтанно появляются антитиреоидные аутоантитела, а щитовидная железа подвергается прогрессивной деструкции вследствие хронического воспаления. В сыворотке этих птиц присутствуют аутоантитела к тиреоглобулину. Кроме того, сыворотка примерно 15 % кур линии OS взаимодействует и с тканью желудка (поджелудка) здоровых кур. Эти результаты весьма напоминают полученные в аналогичном тесте с сывороткой больных пернициозной анемией, у которых присутствуют аутоантитела, реагирующие с париетальными клетками желудка.



Рис. 28.9
Куры линии OS. У кур этой линии спонтанно развивается аутоиммунный тиреоидит, напоминающий болезнь Хасимото. Такие птицы (справа) гораздо мельче контрольных кур того же возраста; кроме того, у них наблюдаются и другие симптомы гипотиреоза, такие как непереносимость холода (взъерошенные перья), кожные нарушения (длинные щелковистые перья), плохая носкость, жировые отложения под кожей и в брюшной области (отсюда и наэвание линии – Obese strain), повышение уровня липидов в сыворотке и т. д. Все эти симптомы можно предотвратить добавлением к корму цыплят тироксина. (Фото любезно предоставлено проф. G. Wick.)

Таким образом, заболевание у кур линии OS сходно с аутоиммунным заболеванием щитовидной железы у человека не только по характеру нарушений в самой железе и появлению аутоантител к различным компонентам тиреоидной ткани, но и по сочетанию с аутоантителами к тканям желудка. Поэтому существенно важно, что на таких птицах установлена выраженная зависимость исхода заболевания от иммунологического статуса организма. Например, если вскоре после вылупления удалить у цыпленка фабрициеву сумку (где происходит созревание В-клеток), тяжесть тиреоидита значительно уменьшается. Следовательно, в патогенезе заболевания принимают участие В-клетки, которые либо продуцируют антитела, либо презентируют антигены патогенным Т-лимфоцитам. С другой стороны, удаление тимуса у цыплят приводит к более тяжелому течению тиреоидита, что свидетельствует о сдерживающей роли тимуса при данном заболевании (*рис. 28.10*). Парадоксально, но разрушение всей популяции Т-клеток у взрослых кур путем введения больших количеств антисыворотки к Т-клеткам полностью блокирует как продукцию аутоантител, так и поражение щитовидной железы. Таким образом, Т-клеткам при этом заболевании принадлежит, по-видимому, центральная роль в опосредовании и регуляции патологического процесса.

У человека аутоантитела могут непосредственно оказывать патогенное действие

Исследования на человеке для изучения аутоиммунных заболеваний, естественно, гораздо более сложная задача, чем опыты на животных. Тем не менее уже получено множество данных, указывающих на значение аутоантител в патогенезе таких заболеваний и у человека. Рассмотрим основные примеры.

Тиреотоксикоз Причиной ряда патологических состояний может быть действие аутоантител к гормональным рецепторам, имитирующих функцию обычных гормонов. Впервые присутствие подобных антирецепторных антител было установлено при тиреотоксикозе (*рис. 28.11*). Поскольку антитела класса IgG у больной тиреотоксикозом матери проходят через плаценту, феномен неонатального тиреотоксикоза можно изучать как своего рода природную «модель» пас-

Влияние на степень развития тиреоидита у кур линии OS путем неонатальной бурсэктомии и тимэктомии

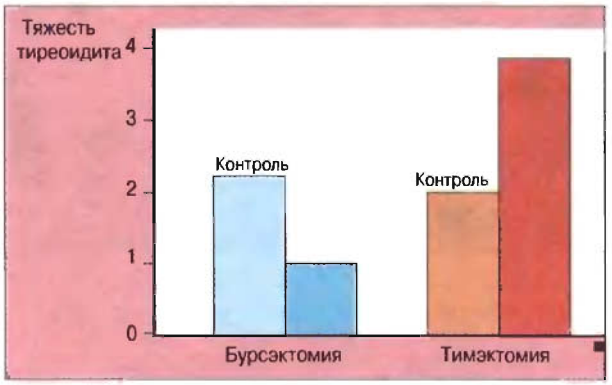


Рис. 28.10
Тяжесть тиреоидита оценивали по выраженности лимфоидной инфильтрации. Удаление фабрициевой сумки в неонатальном возрасте уменьшало тяжесть тиреоидита, что свидетельствует о важной роли антител в его патогенезе. Удаление тимуса в тот же период приводило к более тяжелому течению болезни, из чего можно сделать вывод о сдерживающей роли супрессорных Т-клеток в развитии тиреоидита.

Аутоиммунитет к рецепторам клеточной поверхности

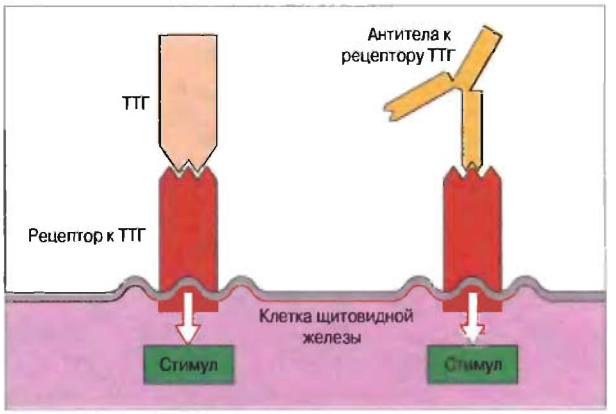


Рис. 28.11
При связывании тиреотропного гормона (ТТГ) с рецептором происходит активация клетки щитовидной железы (*слева*). Антитела к рецептору ТТГ, присутствующие в сыворотке больных тиреотоксикозом (болезнь Грейвса, или базедова болезнь), взаимодействуют с рецептором аналогичным образом, передавая тем самым тиреоидной клетке такой же стимул (*справа*), что приводит к гиперпродукции тиреоидных гормонов.

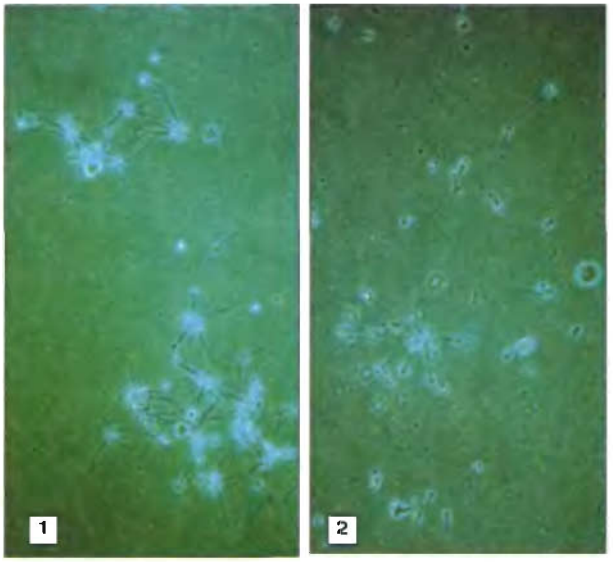


Рис. 28.12
Агглютинация сперматозоидов. Аутоантитела к сперматозоидам вызывают их склеивание головками (**1**) или хвостами (**2**).

сивного переноса антител. Имеются многочисленные описания случаев гиперактивности щитовидной железы у детей, родившихся от больных тиреотоксикозом матерей; через несколько недель, по мере распада полученных от матери антител, ребенок выздоравливает.

Злокачественная миастения Аналогичный феномен отмечен у матерей, страдающих злокачественной миастенией – заболеванием, при котором антитела к рецепторам ацетилхолина попадают через плаценту в плод и вызывают временную мышечную слабость у новорожденных.

Другие рецепторные болезни Несколько реже встречаются случаи с присутствием аутоантител к рецепторам инсулина и β-адренергическим рецепторам; антитела второго вида часто обнаруживаются у больных бронхиальной астмой. Сыворотка больных с синдромом Ламберта–Итона содержит антитела к пресинаптическим кальциевым каналам, и введение ее мышам вызывает у животных нейромышечные нарушения. При синдроме Гийена–Барре в сыворотке присутствуют аутоантитела к натриевым каналам.

Мужское бесплодие Еще одним примером аутоиммунных заболеваний служат редкие случаи мужского бесплодия, в которых именно антитела к сперматозоидам обусловливают их склеивание в сперме головками или хвостами (*рис. 28.12*).

Пернициозная анемия При этом заболевании аутоантитела препятствуют нормальному всасыванию витамина B_{12}. Чтобы произошло всасывание, молекула витамина B_{12} должна предварительно связаться с белком, носящим название внутреннего фактора; в виде комплекса с белком витамин транспортируется через слизистую оболочку стенки кишечника. Ранние исследования пассивного транспорта показали, что сыворотка больных пернициозной анемией препятствует всасыванию витамина у здоровых лиц, если поступает в желудок вместе с комплексом внутренний фактор–витамин B_{12}. В дальнейшем было установлено, что блокируют всасывание витамина присутствующие в сыворотке антитела к внутреннему фактору. К настоящему времени известно, что у больных пернициозной анемией эти антитела секретируются в желудочную полость

Отсутствие всасывания витамина B_{12} при пернициозной анемии

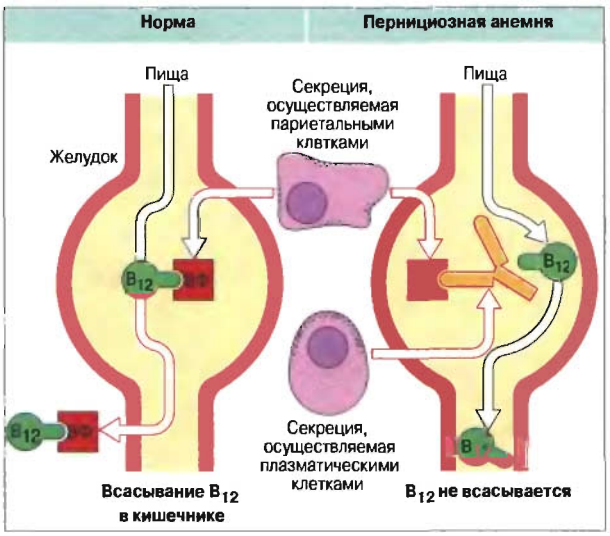


Рис. 28.13
В норме витамин B_{12}, содержащийся в пище, всасывается в тонком кишечнике в виде комплекса с внутренним фактором (ВФ), который синтезируют париетальные клетки слизистой желудка. При пернициозной анемии местно синтезируемые аутоантитела к внутреннему фактору связываются с ним, препятствуя осуществлению его функции в качестве переносчика витамина B_{12}.

плазматическими клетками слизистой желудка (*рис. 28.13*).

Синдром Гудпасчера При синдроме Гудпасчера происходит связывание антител с базальной мембраной капилляров почечных клубочков in vivo (см. *рис. 25.3*). Для доказательства патогенного действия этих антител был проведен опыт с их пассивным переносом. Антитела, элюированные из почки умершего больного с синдромом Гудпасчера, вводили приматам, чьи почечные антигены настолько сходны с человеческими, что введенные антитела взаимодействуют с базальной мембраной клубочковых капилляров. Обезьяны, которым вводили эти антитела, погибали от гломерулонефрита.

Заболевания крови Появление аутоантител к эритроцитам и тромбоцитам обусловливает развитие соответственно аутоиммунной гемолитической анемии и идиопатической тромбоцитопенической пурпуры. Причиной еще одного заболевания крови – первичного антифосфолипидного синдрома, для которого характерны рецидивирующая тромбоэмболия и предрасположенность к выкидышам, служит взаимодействие аутоантител с комплексом кардиолипин–β_2-гликопротеин I.

Патогенное действие при системных аутоиммунных заболеваниях оказывают иммунные комплексы

При СКВ причиной реакций гиперчувствительности III типа, описанных в гл. 25, служат, как установлено, иммунные комплексы, которые состоят из ДНК и антител и откладываются в почках, коже, суставах и сосудистых сплетениях. У лиц с генетическими дефектами в системе активации комплемента по классическому пути выведение иммунных комплексов из крови резко замедлено, и этим обусловлена особая предрасположенность к развитию СКВ.

Существуют и экспериментальные модели СКВ. Так, у гибридных мышей, полученных при скрещивании линий новозеландская черная и новозеландская белая, спонтанно развивается СКВ с проявлениями в виде гломерулонефрита и образования антител к ДНК. Подавление иммунных реакций у этих животных (например, введением антител к CD4) облегчает симптомы заболевания и увеличивает продолжительность жизни, что служит дополнительным доказательством причинной роли аутоиммунных процессов (*рис. 28.14*).

Эрозия хрящей и костей при ревматоидном артрите обусловлена действием макрофагов и фибробластов, стимулированных цитокинами (их продуцируют активированные Т-клетки) и иммунными комплексами, образующимися в результате сильной иммунологической реакции в

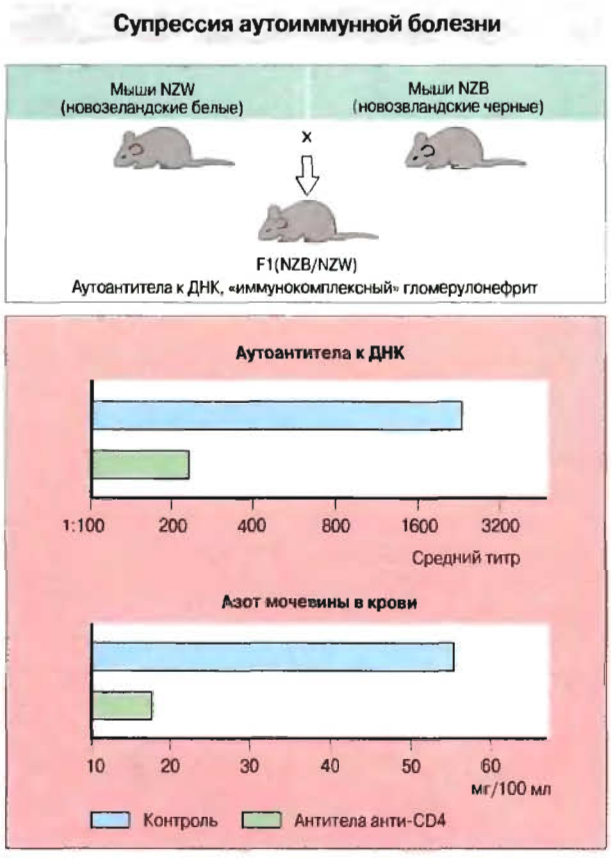


Рис. 28.14
Для мышей линии новозеландская черная (New Zeland Black, NZB) характерно спонтанное развитие аутоиммунной гемолитической анемии. У гибридов этих животных с мышами линии новозеландская белая (New Zeland White, NZW) появляются аутоантитела к ДНК и обусловленный отложением иммунных комплексов гломерулонефрит, аналогичный тому, который наблюдается у больных СКВ. Применение иммуносупрессии с использованием моноклональных антител к CD4 (маркеру Тх-клеток) значительно уменьшает тяжесть гломерулонефрита и снижает титр антител к двухцепочечной ДНК у животных 8-месячного возраста. Судя по этому, причина болезни связана с аутоиммунными процессами (по данным Wofsy et al. 1985. *J. Exp. Med.* **161**: 378.)

синовиальной ткани. К образованию комплексов может приводить связывание между собой молекул ревматоидных факторов класса IgG, специфичных к Fcγ-фрагментам; этот процесс облегчается в случае отсутствия в обеих N-связанных олигосахаридных цепях Fc-фрагмента концевого остатка галактозы. Наличие агалакто-гликоформы IgG в составе иммунных комплексов может способствовать развитию воспалительных процессов, в результате того что она реагирует с маннозосвязывающим белком и ФНО.

ЭТИОЛОГИЯ

Аутореактивные B- и T-клетки присутствуют даже в здоровом организме

Несмотря на существование сложных механизмов селекции, контролирующих при созревании лимфоцитов их аутотолерантность, в организме присутствует большое количество потенциально аутореактивных лимфоцитов. В основном они представлены тимоцитами, которые избегают элиминации, вызываемой взаимодействием с собственными пептидами (аутоэпитопами). В норме присутствующие в тимусе АПК с презентированными на их поверхности аутоэпитопами осуществляют отрицательную селекцию и тем самым вызывают гибель аутореактивных Т-клеток. Однако скрытые аутоэпитопы АПК экспрессируют в относительно низких концентрациях (либо из-за их неэффективного процессинга, либо из-за низкого сродства к аминокислотным остаткам, образующим полость в молекулах MHC, либо из-за того и другого вместе). Поэтому такие аутоэпитопы неспособны обеспечивать элиминацию аутореактивных Т-клеток (*рис. 28.15*).

Многие аутоантигены, вводимые с адъювантами, вызывают образование аутоантител даже у здоровых животных, что свидетельствует о присутствии у них аутореактивных В-клеток. Небольшое количество аутореактивных В-клеток (например, продуцирующих антитела к тиреоглобулину) может исходно присутствовать у здоровых людей. В нормальном организме присутствуют и аутореактивные Т-клетки, судя по тому что стимуляция Т-клеток из крови здоровых людей соответствующим аутоантигеном (например, основным белком миелиновой оболочки) и ИЛ-2 позволяет получить аутореактивные линии таких клеток.

Скрытые аутоэпитопы не обеспечивают отбор Т-клеток по толерантности

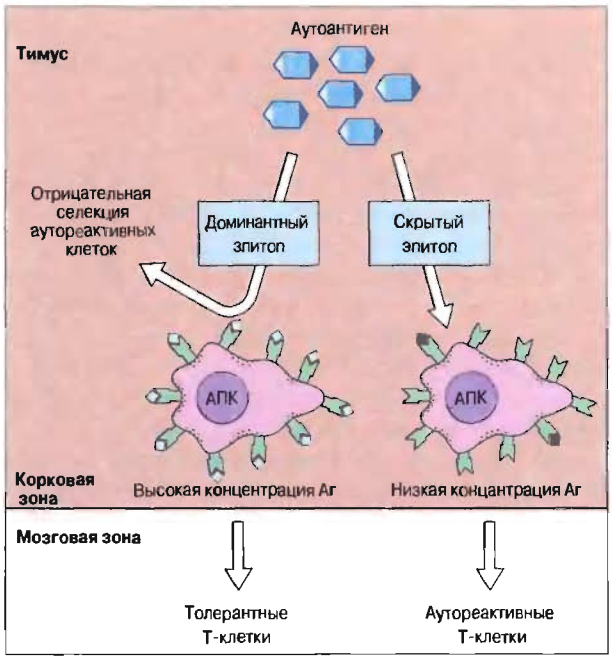


Рис. 28.15
Аутоэпитопы, появляющиеся после процессинга на поверхности АПК в высоких концентрациях и в ассоциации с молекулами MHC, называются доминантными; они служат мощными факторами делеции или анергии развивающихся аутореактивных Т-клеток. Поэтому из тимуса выходят в кровь только толерантные Т-клетки. Другие аутоэпитопы появляются на АПК в очень низких концентрациях; их называют скрытыми, в том смысле что они не обеспечивают делецию аутореактивных Т-клеток и такие клетки могут в результате пополнять периферические популяции зрелых Т-клеток. (Аг – антиген.)

Аутоиммунные процессы стимулируются антигеном

Если аутореактивные В-клетки существуют, то возникает вопрос, что стимулирует их пролиферацию и продукцию аутоантител — взаимодействие с антигеном или какие-то иные факторы наподобие неспецифических поликлональных активаторов или идиотипических взаимодействий (см. *рис. 28.17*). На роль антигена в селекции В-клеток указывает появление высокоаффинных аутоантител: они образуются в результате соматического гипермутирования – процесса, зависящего от влияния аутоантигена и Т-клеток. О значении антигена говорит и то, что аутоантитела

направлены против разных эпитопов одного и того же аутоантигена. Очень трудно представить себе не связанный с самим аутоантигеном механизм, который мог бы обусловить одновременное появление антител к разным эпитопам одной и той же молекулы. Аналогичный аргумент применим и к индукции у отдельного индивида аутоантител к органеллам (например, нуклеосомам и сплайсомам, появляющимся в виде пузырьков на поверхности клеток при апоптозе) или антигенам одного и того же органа (например, тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе).

Наиболее убедительное доказательство роли антигена в стимуляции аутоиммунного процесса было получено при исследовании кур линии OS, для которых характерно, как описано выше, спонтанное развитие аутоиммунного поражения щитовидной железы. Удаление у только что вылупившегося цыпленка щитовидной железы (источник антигена) предотвращает последующее появление антитиреоидных аутоантител (*рис. 28.16*). Кроме того, удаление щитовидной железы даже на фоне уже имеющейся продукции аутоантител приводит к резкому снижению их титра, обычно до уровня, недоступного для определения. Аналогичные эксперименты проведены на мышах линии NOD, подверженной заболеванию диабетом, не сопровождающимся ожирением (это заболевание сходно с аутоиммунным диабетом у человека). Химическое разрушение β-клеток у мышей NOD приводит к снижению титра панкреатических аутоантител. В случае волчанки введение мышам ДНКазы ослабляет проявления болезни, вероятно за счет разрушения потенциально патогенных иммунных комплексов.



Рис. 28.16
Удаление щитовидной железы в неонатальный период предотвращает появление антитиреоидных аутоантител, что указывает на роль тиреоидных аутоантигенов в инициации аутоиммунного процесса. (По данным de Carvalho et al. 1982. *J. Exp. Med.* **155**: 1255.)

Развитие аутоиммунного заболевания облигатно зависит от Т-клеток. Характерная для аутоантител IgG высокая аффинность обусловлена соматическими мутациями, для возникновения которых необходимо кооперативное действие Тх-клеток. На экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний получены прямые доказательства роли Т-клеток (см. стр. 512–513), но при болезнях человека получить такие доказательства гораздо труднее. Тем не менее из щитовидной железы больных тиреотоксикозом удалось выделить клоны Т-клеток, специфичные к тиреоидным антигенам, и, кроме того, установлено, что при ревматоидном артрите (как и при аутоиммунном заболевании у животных, см. *рис. 28.14*) положительное влияние может оказывать введение сыворотки анти-CD4. Кроме того, на роль Т-клеток указывает ассоциация аутоиммунных заболеваний с определенными антигенами MHC (см. *рис. 28.7*), которая может объясняться участием этих антигенов в презентации антигенов Т-клеткам.

Многократно продемонстрировано, что при органоспецифических заболеваниях Т-клетки реагируют на антигены из органов, подвергающихся иммунной атаке. В случае же органонеспецифических аутоиммунных заболеваний неясно, какой антиген распознают Т-клетки. Один из возможных вариантов состоит в том, что Т-клетки узнают не обычный пептидный антиген, а идиотоп антитела (антигенную детерминанту в V-области иммуноглобулина). Это особенно вероятно при развитии аутоиммунной реакции против ДНК. С такой точки зрения, СКВ, например, могла бы представлять собой «болезнь идиотипа», схема которой приведена на *рис. 28.17*. Согласно этой гипотезе, нормальные В-клетки, используя гаметные гены, продуцируют небольшое количество аутоантител. Если такие аутоантитела образуют комплексы с аутоантигеном, эти комплексы могут поглощаться АПК (в том числе и В-клетками), которые презентируют Т-клеткам их компоненты, включая идиотопы антител. Идиотипспецифические Т-клетки могут затем «помогать» В-клеткам, продуцирующим аутоантитела.

Возможность Т-клеточной помощи в результате процессинга иммунных комплексов при развитии аутоиммунного процесса

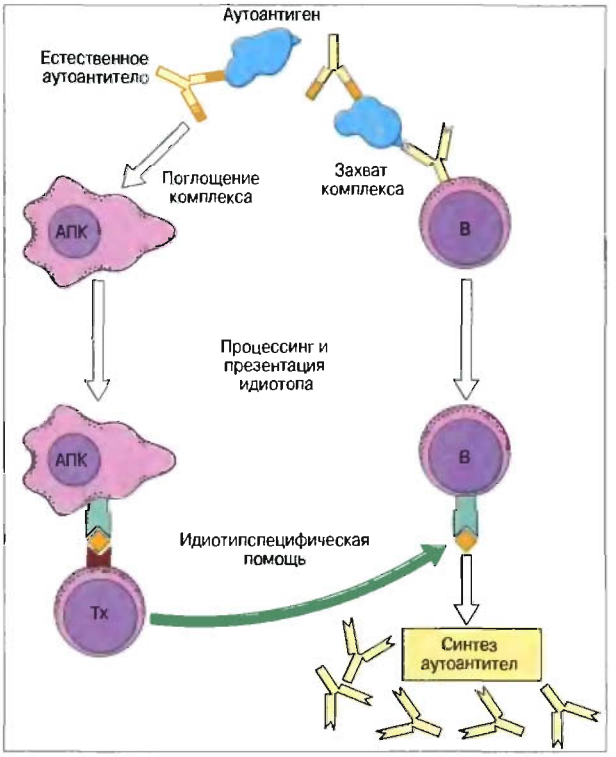


Рис. 28.17
Иммунный комплекс, состоящий из аутоантигена (например, ДНК) и естественных аутоантител (продуктов генов зародышевой линии), поглощается АПК, в которой происходит процессинг идиотипического сегмента (Id) антитела с последующей презентацией его Тх-клеткам. Иммунный комплекс могут также захватывать аутореактивные В-клетки, которые после процессинга Id презентируют его Тх-клеткам и в результате этого получают от них помощь.

Существует ряд путей обхода регуляторных механизмов, препятствующих развитию аутоиммунитета

Перекрестнореагирующие вследствие молекулярной мимикрии микробные антигены могут стимулировать аутореактивные В- и Т-клетки

В нормальных условиях непримированные аутореактивные Т-клетки, способные распознавать скрытые аутоэпитопы, не активируются, поскольку соответствующий антиген присутствует лишь в низких концентрациях на «профессиональных» АПК или презентируется «непрофессиональными» АПК (такими, как островковые β-клетки поджелудочной железы или эпителиальные клетки щитовидной железы), лишенными В7 или других костимулирующих молекул. Однако инфекция, вызванная микробом, который несет перекрестнореагирующие антигены (т. е. имеющие эпитопы, сходные со скрытыми аутоэпитопами), должна привести к появлению на профессиональных АПК такого количества подвергшихся процессингу пептидов, которое окажется достаточным для активации непримированных аутореактивных Т-клеток. В результате стимуляции эти Т-клетки приобретают способность распознавать и реагировать с аутоэпитопами на непрофессиональных АПК, поскольку

Перекрестнореагирующие антигены индуцируют появление аутоиммунных Тх-клеток

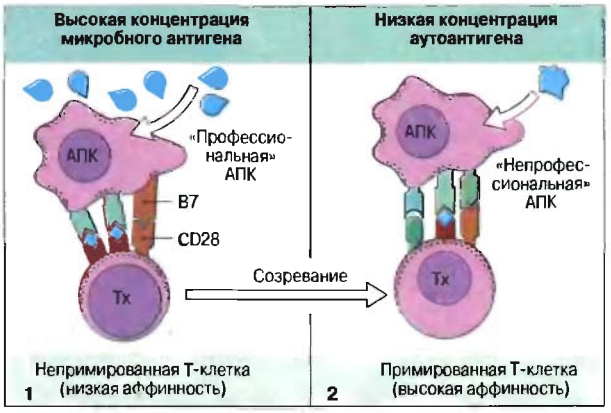


Рис. 28.18
Неспособность непримированных Тх-клеток распознавать аутоантиген на тканевой клетке, обусловлена низкой концентрацией антигена или низкой аффинностью к нему и может быть преодолена в результате связывания этими клетками перекрестнореагирующего микробного антигена. Такое связывание возможно в том случае, если этот антиген появляется на «профессиональных» АПК в большей по сравнению с аутоантигеном концентрации или рецептор Тх-клеток обладает к нему большей «врожденной» аффинностью, а также благодаря участию присутствующих на поверхности «профессиональных» АПК костимулирующих молекул, таких как В7. Это взаимодействие примирует Тх-клетки (**1**). Вследствие усиленной экспрессии вспомогательных молекул (например, LFA-1 и CD2) примированные Тх-клетки приобретают высокую аффинность к аутоантигену и, поскольку больше не требуют костимуляторного сигнала, могут взаимодействовать с аутоантигеном на «непрофессиональных» АПК (таких, как органоспецифические эпителиальные клетки), что приводит к развитию аутоиммунного заболевания (**2**).

больше не нуждаются в костимуляторном сигнале и обладают высокой авидностью к мишени из-за возрастания экспрессии вспомогательных молекул адгезии (*рис. 28.18*).

Перекрестнореагирующие антигены при наличии в их составе детерминант, сходных с аутоэпитопами, распознаваемыми В-клеточными рецепторами, могут нарушать толерантность и другим путем. Многие аутореактивные В-клетки не переходят в активное состояние потому, что необходимые для этого хелперные Т-клетки $CD4^+$ остаются нечувствительными (либо из-за того, что толеризуются более низкими концентрациями аутоантигенов, чем В-клетки, либо из-за того, что распознают только скрытые эпитопы). Однако эти «лишенные помощи» В-клетки могут перейти в активированное состояние, если перекрестнореагирующий антиген несет и один «чужеродный» эпитоп, к которому Т-клетки не толерантны (*рис. 28.19*). Если активированные таким образом В-клетки при участии рецепторов концентрируют на своей поверхности аутоантиген и презентируют его покоящемуся в норме клону аутореактивных Т-хелперов, эти Тх-клетки начинают пролиферировать и действуют как хелперы, вызывая новую волну стимуляции В-клеток; в результате аутоиммунный процесс может продолжаться и после элиминации чужеродного антигена.

Эффект молекулярной мимикрии имеет место при ревматической лихорадке; в этом случае в сыворотке можно обнаружить аутоантитела к антигенам сердечных клапанов. Они появляются у небольшого процента лиц через несколько недель после перенесенной стрептококковой ангины. Углеводные поверхностные антигены стрептококков реагируют перекрестно с антигенами клапанов сердца и поэтому инфекция может привести к преодолению аутотолерантности Т-клеток по отношению к последним. При анкилозирующем спондилите имеет место, по-видимому, перекрестная реактивность между молекулами HLA-B27 и компонентами клеток некоторых штаммов *Klebsiella*, а при ревматоидном артрите бактериальные белки теплового шока реагируют перекрестно с молекулами DR4. Недавно найдены общие В-клеточные эпитопы у *Yersinia enterocolytica* и внеклеточного домена рецептора для ТТГ (тиреотропного гормона).

Индукция синтеза аутоантител перекрестнореагирующими антигенами

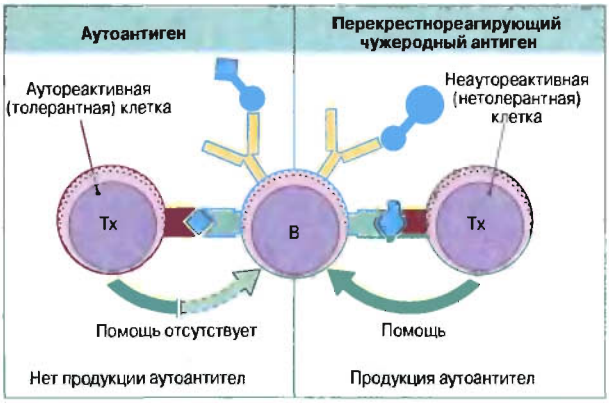


Рис. 28.19
В-клетка распознает такой эпитоп аутоантигена, которым случайно обладает и чужеродный антиген. В норме В-клетка презентирует аутоантиген, но не получает помощи от аутореактивных Тх-клеток, поскольку они функционально делетированы. При встрече с перекрестнореагирующим чужеродным антигеном В-клетка может презентировать его пептиды неаутореактивным Т-клеткам и вследствие этого активироваться для пролиферации, дифференцировки и секреции аутоантител.

В некоторых случаях чужеродный антиген может непосредственно стимулировать аутореактивные клетки

Другой механизм обхода толерантности аутореактивных Тх-клеток – это непосредственная активация аутореактивных эффекторных клеток антигеном или каким-то иным стимулятором. Например, липополисахарид и вирус Эпштейна–Барр непосредственно стимулируют В-клетки и некоторые клоны этих клеток начинают продуцировать аутоантитела, хотя в отсутствие помощи со стороны Т-клеток титр и аффинность этих антител, как правило, остаются низкими.

Аутоиммунный процесс может быть результатом нарушений в цитокиновой сети регуляции, следствием неадекватной экспрессии MHC и недостаточной супрессии

Нарушения в регуляторной цитокиновой сети, очевидно, также могут приводить к активации аутореактивных Т-клеток. Один из подтверждающих это экспериментов состоит во введении трансгена γ-интерферона (ИФγ) в β-клетки островков поджелудочной железы. При полной экспрессии введенного трансгена в этих клетках усиливается транскрипция генов MHC класса II,

Аутоиммунный процесс, обусловленный нарушением в цитокиновой регуляторной сети

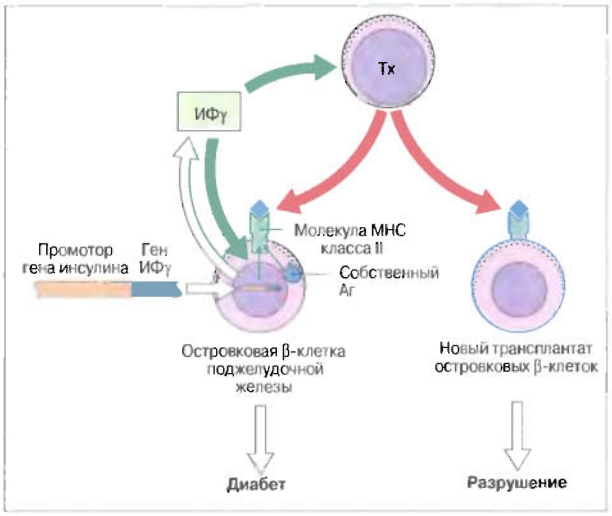


Рис. 28.20
Введение трансгена, состоящего из гена ИФγ и промотора гена инсулина, приводит к интенсивной экспрессии и секреции ИФγ клетками поджелудочной железы. В результате на поверхности этих клеток возрастает количество молекул МНС класса II (повышающая регуляция) и посредством пока невыясненного механизма, но, возможно, с участием «профессиональных» АПК активируются аутореактивные Т-клетки. Примированные Т-клетки инициируют аутоиммунное разрушение β-клеток. О том, что в данном случае действительно имеет место аутоагрессия, свидетельствует быстрое разрушение новых трансплантатов интактных сингенных (генетически идентичных клеткам, не содержащим трансгена) островковых клеток. (Аг – антиген.)

что приводит к аутоиммунной деструкции островковых клеток (*рис. 28.20*). Это не просто результат неспецифической, хаотической воспалительной реакции, индуцируемой ИФγ, поскольку в таких случаях происходит отторжение и тех интактных островков, которые пересажены в другой участок тела, т. е. явно появляется Т-клеточная аутореактивность по отношению к антигенам поджелудочной железы.

Экспрессии молекул МНС класса II на поверхности клеток самой по себе недостаточно для активации непримированных аутореактивных Т-клеток, но она может быть необходимой для того, чтобы клетка стала мишенью для примированных аутореактивных Тх-клеток. Поэтому данные о том, что клетки щитовидной железы при тиреотоксикозе активно синтезируют молекулы МНС класса II (*рис. 28.21*) и тем самым приобретают способность распознаваться Т-клетками $CD4^+$, привлекли большое внимание. Интересно, что у животных ряда предрасположенных к аутоиммунным заболеваниям линий ИФγ легче индуцирует экспрессию молекул МНС класса II на клетках-мишенях, чем у животных невосприимчивых линий.

Дальнейшим подтверждением того, что нарушение баланса цитокинов может служить причиной аутоиммунных реакций, стало неожиданное наблюдение: фактор некроза опухолей (синтезируемый в результате введения животному трансгена ФНО) смягчает проявления аутоиммунного процесса у гибридных мышей NZB/NZW.

Аутотолерантность в норме может быть обусловлена не только «игнорированием» скрытых аутоэпитопов, но и активностью Тс-клеток, а также супрессивным действием гормонов (например, стероидов), цитокинов (например, ТФРβ) и продуктов макрофагов (*рис. 28.22*). При недостаточности любого из этих факторов может возрастать подверженность аутоиммунным заболеваниям. Особый интерес представляет обратная связь между гипофизарно-адреналовой сис-

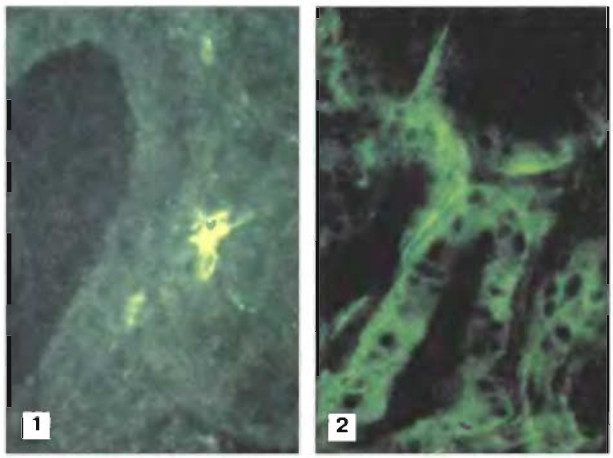


Рис. 28.21
Срезы щитовидной железы человека, окрашенные на молекулы МНС класса II. 1. Нормальная щитовидная железа с неокрашенными фолликулярными клетками и одиночной дендритной клеткой, на которой обильно присутствуют молекулы МНС класса II. **2.** Щитовидная железа больного тиреотоксикозом (болезнь Грейвса) с обильным содержанием молекул МНС класса II в цитоплазме клеток, которое указывает на активный синтез этих молекул.

Регуляторные механизмы «сдерживания» аутоиммунных реакций

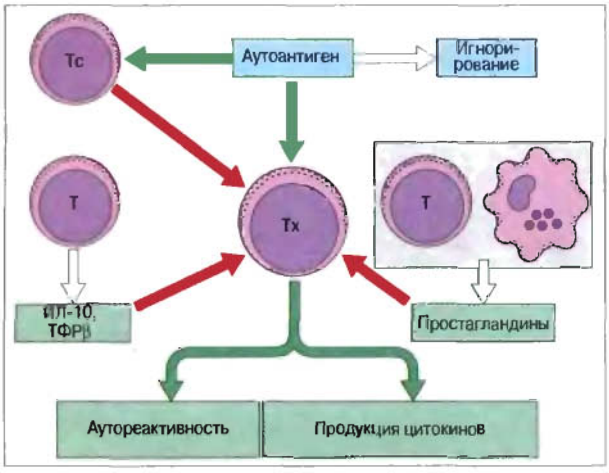


Рис. 28.22
В норме аутореактивные Тх-клетки не стимулируются скрытыми аутоэпитопами («игнорирование»), но все же на случай их активации существует система супрессивного контроля, включающая в частности антигенспецифическую супрессию со стороны Т-клеток, либо прямую (Тс), либо посредством супрессивных цитокинов, таких как ИЛ-10 и ТФРβ. Реактивность Тх-клеток ограничена также неспецифической супрессией (опосредуемой, например, простагландинами). При возрастании реактивности Тх-клеток (например, при повышении количества рецепторов к ИЛ-2), а также при нарушении супрессивных влияний повышается вероятность возникновения аутоиммунных заболеваний.

темой, с одной стороны, и Т-хелперами и макрофагами, с другой, поскольку нарушение различных звеньев этой связи приводит к развитию многих аутоиммунных заболеваний (*рис. 28.23*). У больных ревматоидным артритом, например, снижен уровень кортикостероидов, а после хирургической операции, несмотря на резкое повышение продукции ИЛ-1 и ИЛ-6, ожидаемого выброса АКТГ и кортикостероидов не происходит (из-за нарушения функции паравентрикулярного ядра гипоталамуса). У внешне здоровых родственников больных СКВ (как и у самих больных) нарушено образование неспецифических Тс-клеток, что может играть роль в патогенезе заболевания. Для возникновения аутоиммунной реакции должен быть, вероятно, нарушен не один, а несколько элементов супрессорной сети, и у больных СКВ нарушена также функция либо антиген-, либо идиотипспецифических регуляторных Т-клеток. Субпопуляция регуляторных клеток $CD4^+$, присутствующая у молодых здоровых мышей линии NOD, может предотвращать перенос заболевания при пересадке спленоцитов от животных с диабетом мышам NOD с тяжелым комбинированным иммунодефицитом; у взрослых мышей эта субпопуляция регуляторных клеток исчезает.

Предшествующие нарушения в органах-мишенях могут повышать подверженность аутоиммунным заболеваниям

Как отмечено выше, у животных, предрасположенных к некоторым аутоиммунным заболеваниям, ИФγ особенно легко индуцирует появление молекул MHC класса II на клетках органов-мишеней. Имеются и другие подтверждения того, что вероятность аутоиммунного заболевания повышена в случае дефекта в органе-мишени. Так, у кур линии OS (со спонтанным аутоиммунным поражением щитовидной железы, см.

Нарушения в системе обратной связи между цитокинами и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системой при аутоиммунных болезнях

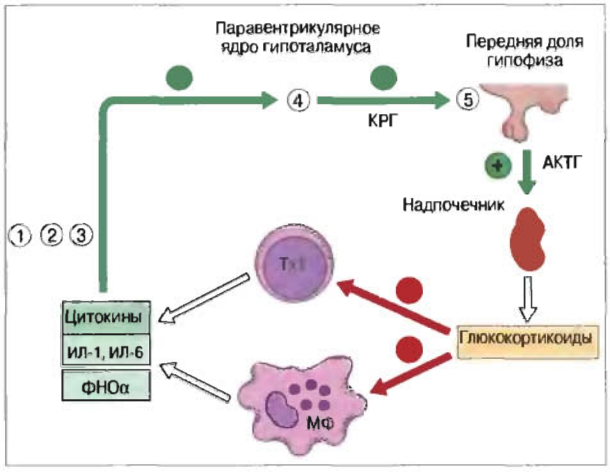


Рис. 28.23
У мышей линии NOD (**1**) и предрасположенных к диабету крыс линии BB (**2**) нарушена продукция ИЛ-1; введением этого цитокина можно ослабить проявления болезни. То же самое имеет место в отношении продукции ФНОα у мышей NZBxW с волчанкой (**3**). У больных ревматоидным артритом ослаблена гипоталамическая реакция на ИЛ-1 и ИЛ-6 (**4**). У кур линии OS и крыс линии Lewis нарушена гипоталамо-гипофизарная ось и при введении адъюванта Фрейнда развивается аутоиммунное заболевание (**5**). (КРГ – кортикотропин-ризилинг-гормон; МФ – макрофаг.)

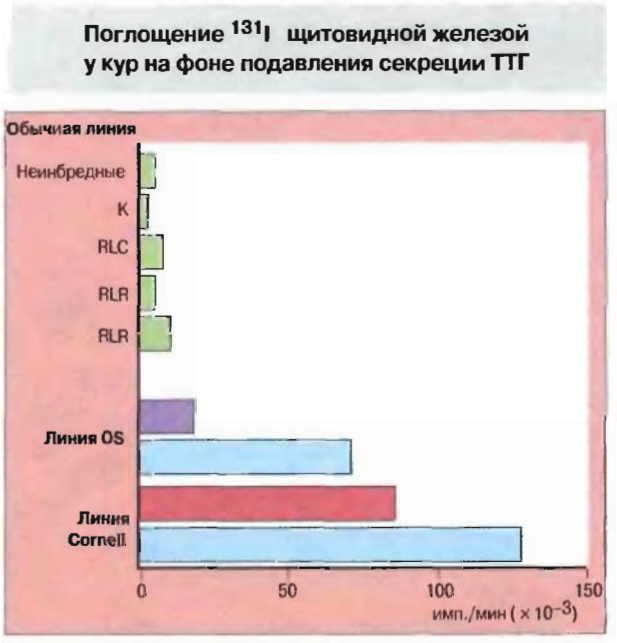


Рис. 28.24
Поглощение ^{131}I щитовидной железой кур линии OS и родственной ей линии Cornell резко повышено по сравнению с уровнем поглощения у кур обычных линий. В данном опыте продукция эндогенного ТТГ (тиреотропный гормон) была подавлена введением тироксина, что позволяло определять независимое от ТТГ поглощение ^{131}I. Гораздо более высокое, чем в норме, поглощение имело место у кур линии OS, для которых характерно спонтанное развитие аутоиммунного поражения щитовидной железы, и еще большее – у кур линии Cornell, родоначальной для линии OS, но не подверженной аутоиммунному заболеванию. О том, что в основе этой аномалии лежат не иммунологические, а иные механизмы, свидетельствует тот факт, что иммуносупрессия (синие полосы) не только не снижала, но даже повышала поглощение ^{131}I щитовидной железой.

стр. 513) поглощение иода щитовидной железой в условиях подавления секреции эндогенного ТТГ тироксином остается гораздо выше, чем у кур обычных линий. Это не связано с какими-либо аутоиммунными механизмами, поскольку иммуносупрессия еще больше повышает поглощение иода (*рис. 28.24*). Примечателен тот факт, что у кур линии Cornell (от которых путем скрещивания получена линия OS) поглощение иода повышено в еще большей степени, но спонтанный тиреоидит у них не развивается. Это указывает на возможность какой-то аномалии в щитовидной железе у кур OS, хотя и недостаточной для индукции аутоиммунного заболевания, но все же играющей определенную роль в предрасположенности к нему. Действительно, путем переноса лимфоидных клеток от взрослых кур линии OS (с поражением щитовидной железы) удавалось воспроизвести тиреоидит у молодых кур той же линии или линии Cornell, но не у птиц других гистосовместимых линий, не имеющих исходного нарушения, с которым связана предрасположенность линий OS и Cornell к аутоиммунному заболеванию. Другими примерами болезней, при которых нарушена продукция аутоантигенов, могут служить диабет (при этом заболевании один из генетических факторов риска связан с микросателлитным маркером внутри гена транскрипционного фактора, контролирующего скорость синтеза инсулина) и ревматоидный артрит (при нем сыворотка в избытке содержит агалакто-гликоформу IgG). Здесь необходимо вновь подчеркнуть, что формирование хронического аутоиммунного процесса зависит от целого ряда факторов.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АУТОАНТИТЕЛ

Какое бы отношение ни имели аутоантитела к патологическому процессу, они часто служат его маркерами, имеющими важное диагностическое значение. Так, определение антимитохондриальных антител используется в диагностике первичного билиарного цирроза печени (*рис. 28.25*). Прежде для установления диагноза этого заболевания приходилось производить пробную лапаротомию, которая, учитывая возраст и состояние больных, была далеко не безопасной.

Как показано на *рис. 28.26*, аутоантитела, в частности к β-клеткам островков поджелудочной железы, могут иметь и прогностическое значение.

ЛЕЧЕНИЕ

Симптомы органоспецифических аутоиммунных заболеваний часто можно устранить путем коррекции метаболизма. Гипотиреоз, например, излечивается введением тироксина, а тиреотоксикоз – антитиреоидными средствами. При пернициозной анемии состояние больного можно нормализовать инъекциями витамина B_{12}, а при злокачественной миастении – введением ингибиторов холинэстеразы. В тех случаях, когда нарушенную функцию не удается компенсировать



Рис. 28.25
Для дифференциальной диагностики этих заболеваний можно использовать наряду с чрескожной биопсией печени и метод определения митохондриальных антител, основанный на непрямой иммунофлуоресценции. Антимитохондриальные антитела присутствуют у большинства больных первичным билиарным циррозом, но менее чем у половины больных криптогенным циррозом или хроническим активным гепатитом; при других заболеваниях эти антитела встречаются редко.

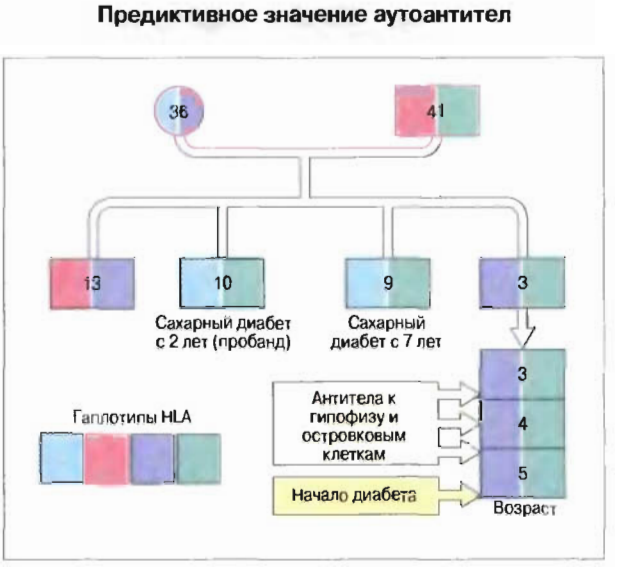


Рис. 28.26
Проспективное исследование семьи с инсулин-зависимым сахарным диабетом (указан возраст каждого члена семьи к началу исследования). У сибса, имеющего общий с пробандом гаплотип HLA и комплемент-фиксирующие антитела к островковым клеткам, диабет развился на 2 года позже.

введением гормонов, например при волчаночном нефрите или хроническом ревматоидном артрите, эффект могут дать трансплантация органа или механические протезы. При трансплантации тканей требуется их защита от иммунологического процесса, вызвавшего необходимость трансплантации.

Иммунную реакцию можно ослабить с помощью обычной иммуносупрессивной терапии антимитотическими средствами, но, учитывая возникающие при этом опасности, такие средства используют только при угрожающих жизни заболеваниях, таких как СКВ и дерматомиозит. Возможности циклоспорина и аналогичных препаратов пока не полностью реализованы, но имеются сообщения о поразительных результатах их применения при сахарном диабете I типа. Для лечения больных ревматоидным артритом, естественно, используют противовоспалительные средства, причем весьма обнадеживающие результаты дает применение на ранних стадиях заболевания в малых дозах стероидов (для коррекции явно нарушенной продукции этих соединений надпочечниками).

С углублением наших знаний о характере нарушений при аутоиммунных заболеваниях и расширением возможностей влияния на иммунологический статус больного могут найти применение и другие, пока менее изученные терапевтические подходы (*рис. 28.27*). Например, при некоторых экспериментальных аутоиммунных заболеваниях толерантность можно индуцировать пероральным введением антигена, ингаляцией аутоантигенных пептидов и их аналогов и «вакцинацией» пептидами, полученными из антигенспецифичных рецепторов аутореактивных Т-клеток. Эти данные позволяют считать перспективным методом лечения аутоиммунных заболеваний стимуляцию нормальных супрессивных функций, в том числе идиотипической сети.

Существующие и возможные в будущем способы лечения аутоиммунных заболеваний

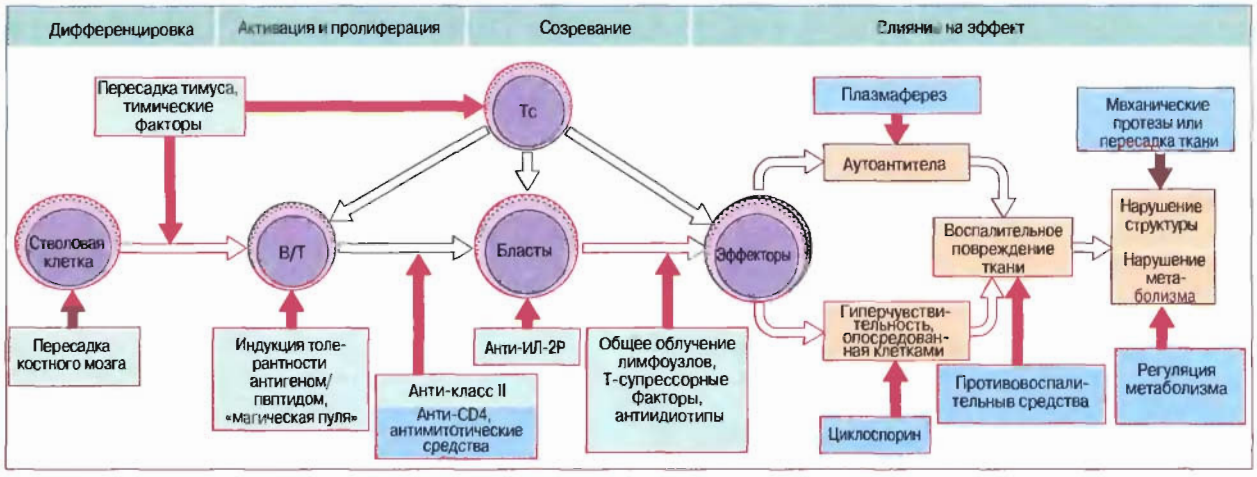


Рис. 28.27
Современные способы блокады патологического процесса при аутоиммунных заболеваниях перечислены на голубом фоне, возможные в будущем – на зеленом. В тяжелых случаях СКВ или хронического активного гепатита используют антимитотические средства, а при ревматоидном артрите широко применяются противовоспалительные препараты. При органоспецифических заболеваниях (например, при первичной микседеме) можно использовать заместительную терапию (например, тиреоидные гормоны). При необходмости трансплантации иммуносупрессивная терапия может защитить пересаженную ткань от разрушения.

Вопросы для размышления

- Почему ДНК не должна быть тимус-зависимым аутоантигеном и какие механизмы могут ее сделать таковой ?
- Какие данные свидетельствуют о патогенном действии аутоантител при болезни ?
- Мышам вводили трансгены 1) гликопротеина вируса лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) под промотором гена инсулина и 2) ТкР клона Т-клеток, цитотоксичных по отношению к клеткам, инфицированным вирусом ЛХМ. Диабет развился только при инфицировании мышей вирусом ЛХМ. О чем это говорит ?
- Каким образом конкретные гаплотипы МНС могут определять предрасположенность к определенным аутоиммунным заболеваниям ?
- Что дало использование в качестве объекта исследования кур линии OS для изучения генеза аутоиммунных заболеваний ?
- Как бы вы попытались воздействовать на Т-клетки с целью лечения аутоиммунного заболевания ?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Albani S., Keystone E.C., Nelson J.L. et al. 1995. Positive selection in autoimmunity: abnormal immune responses to bacterial dnaJ antigenic determinant in patients with early rheumatoid arthritis. *Nat. Med.* **1**: 448–52.

Bach J.-F. (ed). 1996. Symposium on autoimmunity. *J. Autoimmun.* **9**: 205–304.

Brostoff J, Scadding G.K., Male D. et al. 1991. *Clinical Immunology.* London: Gower Medical Publishing.

Chapel H.M., Haeney M. 1992. *Essentials of Clinical Immunology.* 3rd edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Gelfand E.W. (ed.) 1996. Intravenous immune globulin: mechanisms of action and model disease states. *Clin. Exp. Immunol.* **104** (Suppl. 1): 1–97.

Kingsley G., Lanchbury J., Panayi G. 1996. Immunotherapy in rheumatic disease. *Immunol. Today* **17**: 9–12.

Lanzavecchia A. 1993. Identifying strategies for immune intervention. *Science* **260**: 937.

Lokki M.-J., Colten H.R. 1995. Genetic deficiencies of complement. *Ann. Med.* **27**: 451–9.

Lichtenstein L.M., Fauci A.S. (eds.) 1996. *Current Therapy in Allergy*, Immunology and Rheumatology. St Louis, USA: Mosby.

Peter J.B., Shoenfeld Y. (eds.) *Autoantibodies.* Amsterdam: Elsevier.

Rademacher T., Williams P., Dwek R.A. 1994. Agalactosyl glycoforms of IgG autoantibodies are pathogenic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 6123–7.

Rich R.R., Fleisher T.A., Schwartz B.D. et al. (eds). 1996. *Clinical Immunology: Principles and Practice.* Vols I & II. St Louis, USA: Mosby.

Vandenbark A.A., Chou Y.K., Whitham R. et al. 1996. Treatment of multiple sclerosis with T-cell receptor peptides. *Nat. Med.* **2**: 1109–15.

Weiner H.L., Mayer L.F. eds. 1996. Oral tolerance: mechanisms and applications. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **778**: 453.

Wicker L., Wekerle H. (eds). 1995. Autoimmunity. *Curr. Opin. Immunol.* **6**: 783–852. (Several critical essays in each annual volume.)

Иммунологические методы

29

- Многие иммунологические методы основаны на **взаимодействии антигена с антителом;** высокая специфичность антител позволяет идентифицировать, выделять или количественно определять исследуемый антиген.
- **Клеточные популяции можно выявить** и идентифицировать по маркерам клеточной поверхности с помощью иммунофлуоресцентных и иммуногистохимических методов.
- **Выделение популяций клеток,** несущих определенные поверхностные маркеры, можно осуществить различными методами, включая проточную цитофлуориметрию с использованием клеточного сортера, пэннинг и ультрацентрифугирование в градиенте плотности.
- **Основными показателями функциональной активности** лимфоцитов служат продукция антител или цитокинов, пролиферативная реакция на антиген или цитотоксическая активность.

В иммунологии применяется целый ряд экспериментальных методов из других областей биологии. Так, выделение антигенов и антител производят с помощью биохимических методов фракционирования белков, гены иммунологически важных молекул секвенируют обычными молекулярно-генетическими методами. Вместе с тем в иммунологии разработаны и свои специальные методы исследования, основанные на взаимодействии антиген–антитело. Эти иммунологические методы в свою очередь нашли применение в различных областях биологии. В частности, любые молекулы, обладающие антигенными свойствами, можно выявлять в тканях иммуногистохимическими методами. Для количественного определения таких молекул, присутствующих в чрезвычайно низких концентрациях, применяют радиоиммуноанализ (РИА) и ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA, от enzyme-linked immunosorbent assay). В настоящее время существуют сотни разнообразных иммунологических методов; наиболее широко применяемые из них описаны в этой главе.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИГЕН–АНТИТЕЛО

Реакция преципитации

Одним из первых описанных проявлений взаимодействия антиген–антитело было образование преципитата при смешивании обоих реагентов в эквивалентных или близких к эквивалентным количествах. Оно наблюдается при постановке классической реакции преципитации с растворимыми антигенами и антителами (*рис. 29.1*). Если

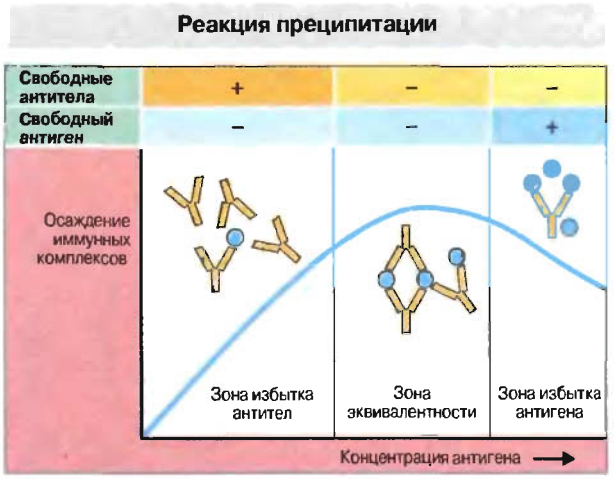


Рис. 29.1
Классический пример взаимодействия антиген–антитело in vitro – это реакция преципитации. Для ее получения антиген в возрастающих концентрациях добавляют к раствору антител. Количество осаждающихся иммунных комплексов вначале возрастает, а затем падает. Таким образом, кривая преципитации имеет три зоны.

Зона избытка антител: количества антигена недостаточно для того, чтобы в реакцию вступили все антитела; в супернатанте определяются свободные антитела.

Зона эквивалентности: количества антигена достаточно для связывания и осаждения всех имеющихся антител; свободные антигены и антитела в супернатанте отсутствуют.

Зона избыткв внтигена: количество антигена превышает необходимое для связывания всех антител, что ведет к снижению содержания антител в преципитате. Это обусловлено солюбилизацией комплексов антиген–антитело вследствие избытка антигена. Выраженность этого феномена варьирует в зависимости от типа антител и вида организма, от которого получены антитела.

проводить эту реакцию в агаровом геле, можно дифференцировать отдельные реакции антиген–антитело, обусловленные различными популяциями антител, присутствующими в сыворотке. Такой метод, названный методом двойной иммунодиффузии, применяется также для проверки сходства между различными антигенами *(рис. 29.2)*.

Однако некоторые смеси антигенов слишком сложны для разделения просто путем диффузии и преципитации, и для анализа таких смесей был разработан метод иммуноэлектрофореза – прежде чем выявлять антигены визуально в реакции преципитации, их разделяют по заряду с помощью этого метода *(рис. 29.3)*.

Методы, основанные на диффузии в геле, позволяют определять антигены и антитела лишь качественно, количественную же оценку реагирующих компонентов проводят разработанным позднее методом простой радиальной иммунодиффузии *(рис. 29.4)*.

Иммунодиффузию в электрическом поле можно производить с одновременным встречным движением антигенов и антител; этот способ назван встречным электрофорезом. Аналогичная модификация простой радиальной иммунодиффузии получила название ракетный электрофорез *(рис. 29.5)*.

Описанные методы используются для определения антигенов и антител в концентрации от 20 мкг/мл до 2 мг/мл.

Реакции гемагглютинации и связывания комплемента

Если антитела присутствуют в столь низких концентрациях, что их не удается обнаружить и количественно определить при помощи встречного и ракетного электрофореза, применяют реакцию гемагглютинации. Она основана на способности антител перекрестно связываться с эритроцитами, взаимодействуя с их поверхностными антигенами (*рис. 29.6*).

Реакция преципитации в геле: двойная иммунодиффузия

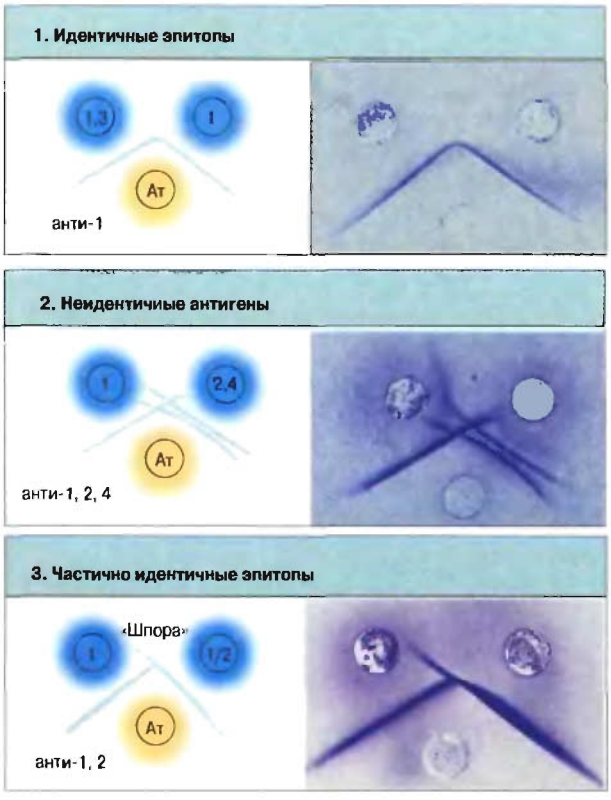


Рис. 29.2
Для проведения двойной иммунодиффузии агаровый гель наливают на предметные стекла, после застывания вырезают в нем лунки и заполняют их исследуемыми растворами антигена (Аг) и антител (Ат). Растворы диффундируют в гель, и на той линии, где происходит взаимодействие Аг и Ат (с перекрестным связыванием и осаждением иммунных комплексов), образуется линия (дуга) преципитации. Ее можно наблюдать визуально, если промыть гель (для удаления растворимых белков) и нанести на него краситель, выявляющий белки, например кумасси синий. Такой метод может быть использован для определения родства между антигенами (синие кружки) и в реакции с данными тест-антителами (желтый кружок). При этом возможны три основных типа результатов (цифры в синих кружках обозначают эпитопы антигена). В реакции (**1**) дуги преципитации, образованные антителами и двумя исследуемыми антигенами, сливаются: это показывает, что антитела взаимодействуют с идентичными эпитопами на двух антигенах (эпитоп 1). Такой результат не означает полную идентичность самих антигенов, но только их идентичность в том смысле, что данные антитела не выявляют различий между ними. В реакции (**2**) антитела выявляют 3 разных антигена, которые образуют независимые дуги преципитации. В реакции (**3**) антигены имеют общий эпитоп 1, однако один из них несет еще эпитоп 2. Этот случай отличается от реакции (**1**) тем, что здесь антитела могут различить антигены, поскольку вступают в реакцию с обоими эпитопами. В результате взаимодействия с антиэпитопом 1 образуется линия идентичности, а там, где антиэпитоп 2 реагирует с эпитопом 2, формируется «шпора», указывающая на лишь частичную идентичность двух антигенов.

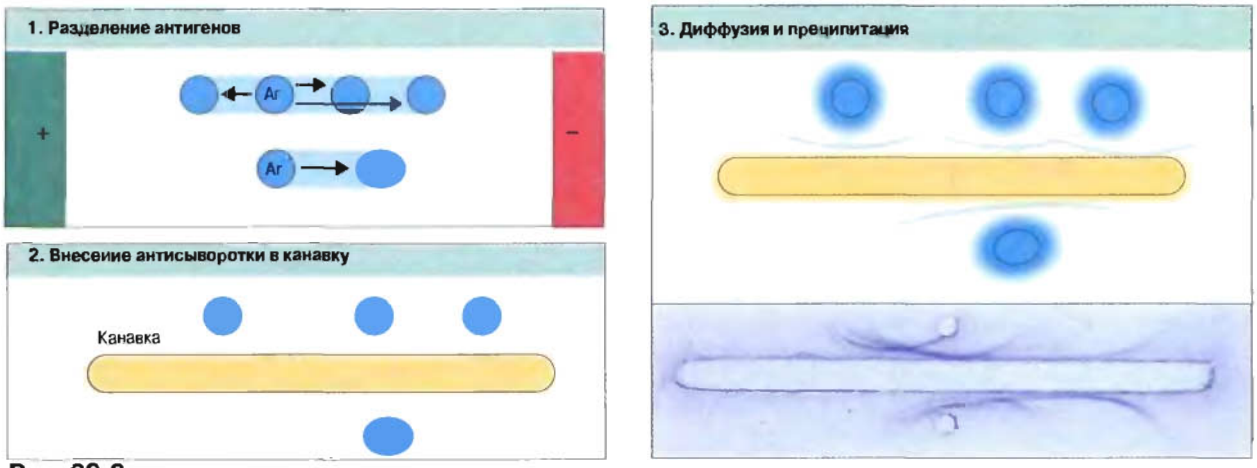


Рис. 29.3
Иммуноэлектрофорез позволяет разделять сложные смеси антигенов, например антигены, содержащиеся в сыворотке крови. **1.** Разделение осуществляют в агаровом геле, помещенном в электрическое поле, причем pH геля устанавливают так, чтобы положительно заряженные белки перемещались к катоду, а отрицательно заряженные – к аноду. **2.** Затем между лунками вырезают канавку, которую заполняют раствором антител, диффундирующих в гель. **3.** Антигены и антитела формируют дуги преципитации.

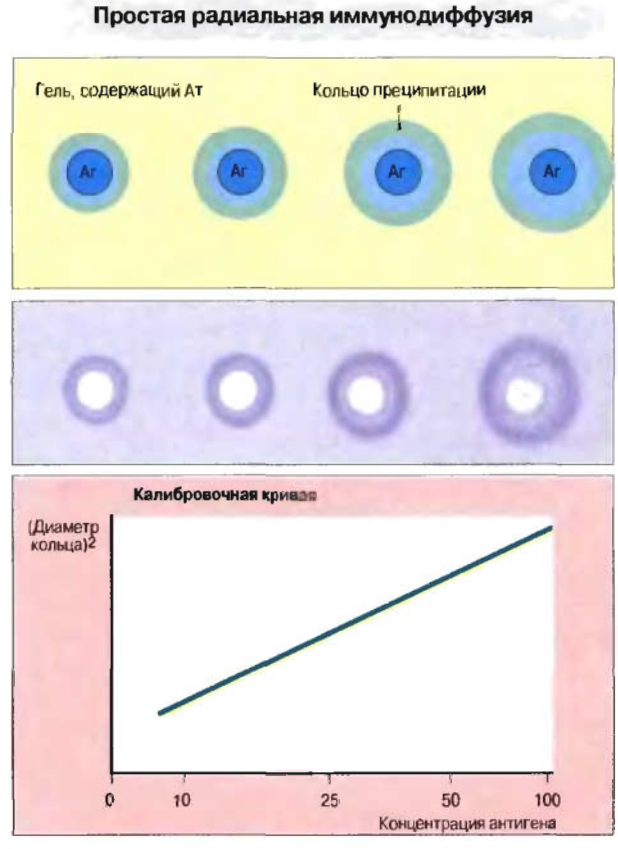


Рис. 29.4
Простая радиальная иммунодиффузия дает возможность количественно определять антигены (Аг). В агаровый гель добавляют антитела (Ат), затем наливают его на предметные стекла и оставляют для застывания. В застывшем геле вырезают лунки и вносят в них стандартный объем различных по концентрации растворов антигена. Стекла оставляют не менее чем на 24 ч. В течение этого времени антиген диффундирует в гель и образует с антителами растворимые комплексы (при избытке антигена). Комплексы продолжают диффундировать, связывая все больше антител, пока не будет достигнута точка эквивалентности и не произойдет осаждение комплексов с образованием кольца. По радиусу зоны, ограниченной кольцом преципитации, определяют ее площадь. Величина площади пропорциональна концентрации антигена, которую вычисляют с помощью калибровочной кривой (график внизу). Для определения концентрации антител применяют тот же метод, но в обратной постановке, т. е. в гель добавляют антиген, а антитела вносят в лунки.

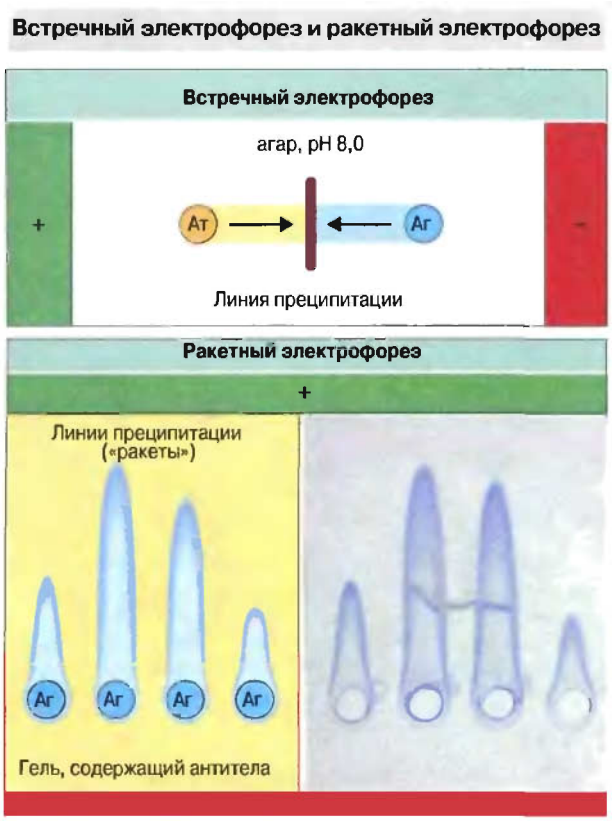


Рис. 29.5
Встречный электрофорез проводят в агаровом геле, pH которого устанавливают так, чтобы антитела (Ат) несли суммарный отрицательный заряд, а исследуемый антиген (Аг) – положительный. В электрическом поле антиген и антитела движутся навстречу друг другу и преципитируют. Принцип метода тот же самый, что и при двойной иммунодиффузии, однако чувствительность выше в 10 – 20 раз. Ракетный электрофорез позволяет количественно определять антиген в антителосодержащем геле, pH которого подбирают с таким расчетом, чтобы движения антител не происходило, а антиген нес суммарный отрицательный заряд. Линия преципитации очерчивает область в виде ракеты, длина которой пропорциональна концентрации антигена. Определить эту концентрацию можно по калибровочной кривой. Внизу справа – фотография окрашенного геля. Оба метода основаны на различии суммарных зарядов антигена и антител при выбранном pH; для большинства антигенов такие различия существуют, так как антитела имеют более высокую изоэлектрическую точку (т. е. несут нейтральный заряд при более высоком значении pH, чем большинство антигенов). Если заряды антигена и антител существенно не различаются, можно химически модифицировать антиген, чтобы сдвинуть изоэлектрическую точку. Ракетный электрофорез проводят и в обратной постановке, если требуется определить концентрацию антител; здесь важно подобрать правильно гель и pH для иммобилизации антигена, чтобы не нарушалась его структура и не возникло препятствий для реакции антиген–антитело. (R – диаметр кольца преципитации.)

Реакция антиген–антитело ведет к образованию иммунных комплексов, которые связывают комплемент при его активации по классическому пути, и на этом основан один из количественных методов определения антигенов и антител *(рис. 29.7)*. С помощью реакций гемагглютинации и связывания комплемента удается выявлять антитела, присутствующие в концентрации <1 мкг/мл.

Прямая и непрямая иммунофлуоресценция

Иммунофлуоресцентные методы широко используются для обнаружения аутоантител и антител к тканевым и клеточным антигенам *(рис. 29.8)*. Хотя эти методы технически более сложны, чем описанные выше, они имеют явное преимущество в тех случаях, когда требуется определить число видов антител. Используя срезы тканей (содержащих большое число антигенов), на одном предметном стекле можно выявить антитела к нескольким разным антигенам, установив при этом их внутритканевое (клеточное) или внутриклеточное распределение.

Кроме того, с помощью иммунофлуоресцентных тестов можно идентифицировать отдельные клетки в клеточной суспензии, т. е. выявлять антигены на поверхности живых клеток. Для этой цели суспензию живых клеток, флуоресцентно окрашенных специфичными реагентами, пропускают через проточный флуоресцентный клеточный сортер – прибор, измеряющий интенсивность свечения каждой клетки в разных областях спектра и затем разделяющий клетки по параметрам свечения. Данный метод позволяет выделять различные клеточные популяции, т. е. разделять клетки, несущие специфические поверхностные антигены и соответственно этому окрашенные различными флуоресцентно меченными антителами *(рис. 29.9)*. В гл. 13 приведены данные о том, как используется этот метод для определения субпопуляций развивающихся тимоцитов (см. *рис. 13.19*).

Иммунологический анализ антигенов и антител с помощью меченых реагентов

Методы этой категории отличаются очень высокой чувствительностью и экономичностью в рас-

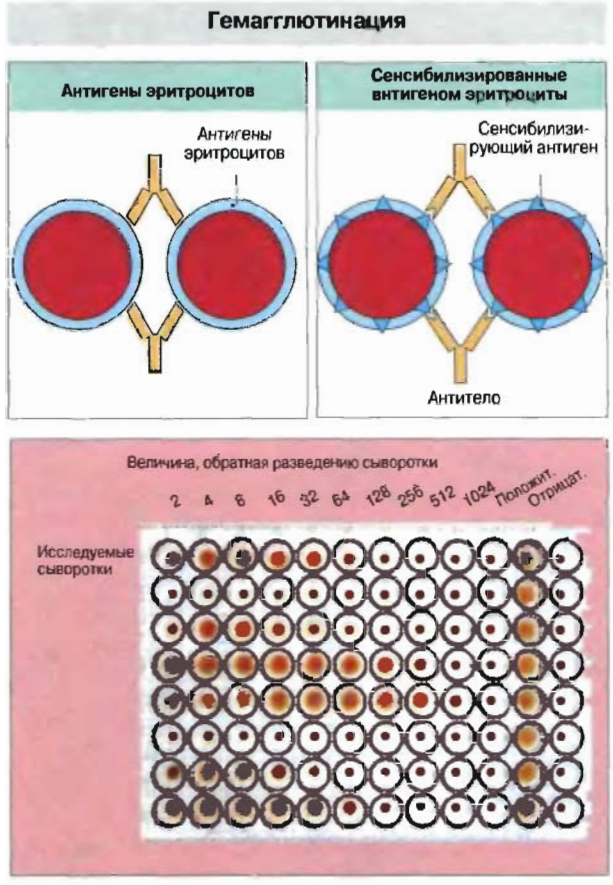


Рис. 29.6
Реакцию активной гемагглютинации (*вверху слева*) используют для выявления антител к антигенам эритроцитов. Сыворотку последовательно разводят (обычно используют двукратные разведения) физиологическим раствором и вносят в лунки планшета (*внизу;* ряды 1 – 10 слева направо). Ряды 11 и 12 служат для положительного и отрицательного контролей. В данном примере исследовано 8 разных антисывороток (А – Н). В каждую лунку вносят суспензию эритроцитов (содержащую особый белок для предотвращения неспецифической агглютинации эритроцитов) до концентрации клеток 1 %. Если количество антител в лунке достаточно для агглютинации (перекрестного связывания) всех эритроцитов, они осаждаются на дно лунки, образуя пятно. Если же антител недостаточно, клетки, скатываясь по стенкам лунки на дно, формируют небольшую плотную «пуговку». Некоторые антитела плохо агглютинируют зритроциты и для их выявления необходимо ставить реакцию непрямой агглютинации: в лунки добавляют другие антитела, которые соединяются с неагглютинирующими антителами, уже связавшимися с эритроцитами. С помощью реакции гемагглютинации можно определять и другие, не зритроцитарные антигены, ковалентно или нековалентно присоединенные к зритроцитам. Для того чтобы связать антиген с поверхностью эритроцитов (сенсибилизировать их), используют хлорид хрома, таннновую кислоту, глутаровый альдегид и ряд других химических агентов.

ходовании реагентов (*рис. 29.10*). Наиболее распространенный из всех иммунологических методов – это, вероятно, иммуносорбентный анализ антител с применением лигандов, меченных радиоизотопами или ферментами (ELISA, рис. 29.11); он позволяет исследовать большое число образцов в относительно короткое время. (Вместо радиоактивных меток теперь все чаще применяют флуоресцентные или хемилюминесцентные маркеры.) Количество антигена можно измерять при помощи метода «двойной антигенной ловушки» или конкурентного иммуноанализа с применением любого маркера для определения (*рис. 29.12*).

Иммуноблоттинг и иммунопреципитация

Описанные выше методы обычно применяют для определения уровня конкретных известных антигенов и антител, однако часто необходимо идентифицировать и охарактеризовать не известные заранее антигены, содержащиеся в многокомпонентной смеси. Для этой цели особенно подходит иммуноблоттинг.

При проведении иммуноблоттинга сложную смесь антигенов вначале подвергают гель-электрофорезу, а затем фракционированные пептиды переносят (блоттинг) на лист нитроцеллюлозы для идентификации индивидуальных антигенов при помощи специфических антисывороток. Производя предварительное разделение в геле с додецилсульфатом натрия или в геле для изоэлектрического фокусирования можно получить данные о размерах и изоэлектрической точке исследуемых антигенов, а также о сходстве между ними (родстве) (*рис. 29.13*).

В некоторых случаях в результате электрофореза в геле и процедуры блоттинга антиген денатурирует так, что некоторые из его эпитопов разрушаются и теряют способность связываться

Реакция связывания комплемента

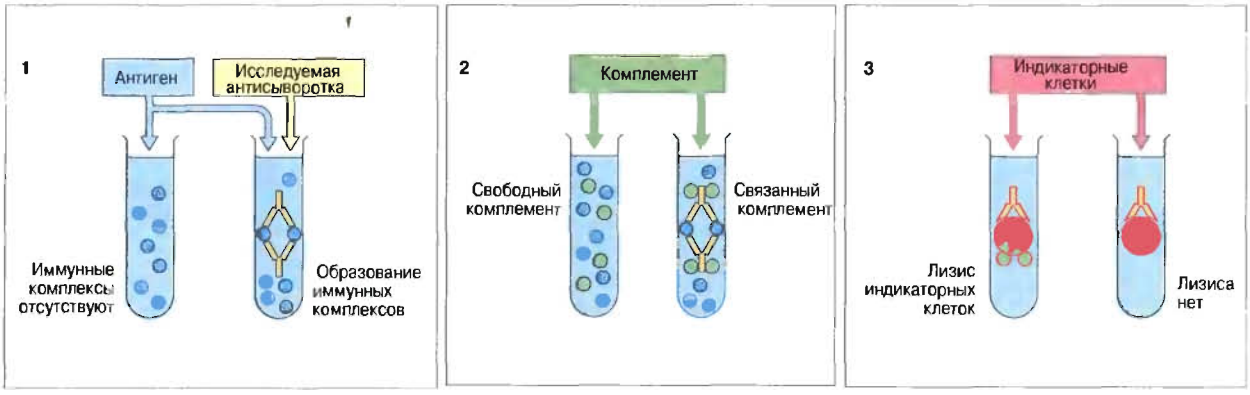


Рис. 29.7
Определение антител на основе реакции связывания комплемента. **1.** Готовят последовательные двукратные разведения исследуемой сыворотки, разливают их по пробиркам (или вносят в лунки) и в каждую добавляют фиксированное количество антигена. Если сыворотка содержит антитела, образуются иммунные комплексы. **2.** К смеси добавляют комплемент. Если комплексы присутствуют, они связывают комплемент и «потребляют» его. **3.** На конечном этапе постановки реакции в смесь вносят индикаторные клетки (эритроциты) вместе с субагглютинирующим количеством антизритроцитарных антител. Если в смеси осталось какое-то количество комплемента, клетки будут лизированы; если же комплемент связан иммунными комплексами на этапе (**2**), его не хватит для лизиса зритроцитов. Применяют такое количество комплемента, которого как раз достаточно, чтобы лизировать индикаторные клетки при отсутствии потребления комплемента иммунными комплексами. Тест часто проводят на пластиковых планшетах. Данную реакцию можно также использовать для определения антигенов, применяя фиксированное количество антител и антиген в различных разведениях. В этом случае особое значение приобретает постановка соответствующих контролей, так как некоторые препараты антител потребляют комплемент еще до того, как добавлен антиген. Например, это может произойти в том случае, если сыворотка уже содержит иммунные комплексы. Некоторые антигены также обладают антикомплементарной активностью. Поэтому необходимы два контроля с внесением только антител и только антигена; ни тот, ни другой реагент не должен сам по себе связывать комплемент.

со специфическими антителами. В такой ситуации вместо блоттинга следует использовать иммунопреципитацию, чтобы установить, какой антиген связывают антитела. Данный метод может быть применен для определения как растворимых, так и мембранных антигенов (*рис. 29.14*).

ПОЛУЧЕНИЕ ЧИСТЫХ АНТИТЕЛ

В иммунологических исследованиях часто возникает необходимость в получении очищенных препаратов антител, т. е. антигенспецифичных либо неспецифичных иммуноглобулинов. Выделение неспецифичных иммуноглобулинов из сыворотки обычно проводят путем последовательного фракционирования белков, которое включает следующие этапы.

- Осаждение гамма-глобулинов в 30–50 % растворе сульфата аммония.
- Гель-фильтрация для получения молекул соответствующих размеров.
- Ионообменная хроматография с целью выделения молекул, несущих суммарный положительный заряд при нейтральном pH.
- Аффинная хроматография с использованием естественных лигандов иммуноглобулинов, например стафилококкового белка А (компонент клеточной стенки стафилококков, связывающийся с областью Cγ2 и Cγ3 большинства подклассов IgG, т. е. IgG1, IgG2 и IgG3).

Выделение антигенспецифичных иммуноглобулинов осуществляют методом аффинной хроматографии. Антиген «пришивают» к частицам сефарозы и связавшиеся с ним «чистые» антитела элюируют с иммуносорбента хаотропными агентами (например, тиоцианатом натрия) или буферным раствором (глицин–HCl или диэтиламина). Метод аффинной хроматографии применяют и для получения очищенных препаратов антигенов *(рис. 29.15)*.

Иммунофлуоресценция: прямой и непрямой методы

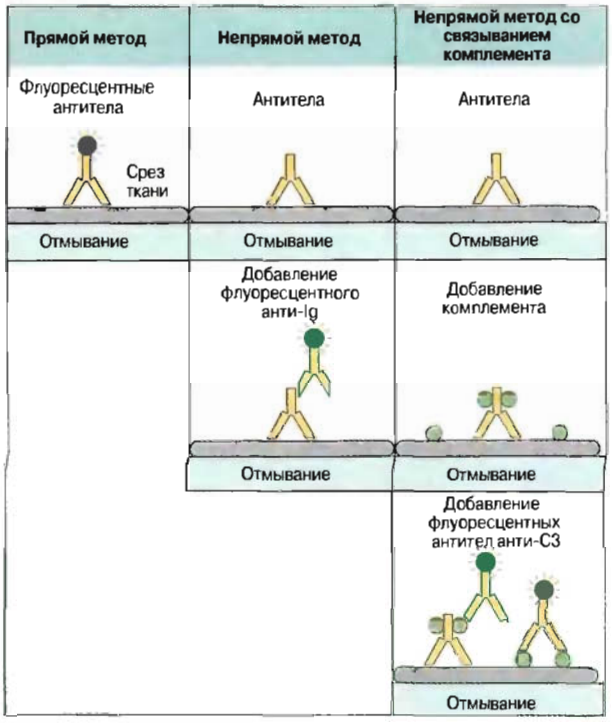


Рис. 29.8
Иммунофлуоресценцию используют с целью определения антигена in situ. Для этого готовят на криостате срезы из блока глубокозамороженной ткани. Такая процедура обеспечивает сохранность лабильных антигенов при воздействии фиксирующих агентов.

Прямой иммунофлуоресцентный метод. Раствор антител, меченных флуоресцентным красителем, наносят на поверхность среза; препарат инкубируют, после чего отмывают от избытка антител. Затем связавшиеся антитела выявляют при помощи флуоресцентного микроскопа. Пучок УФ-лучей, направленный на срез через объектив, позволяет видеть темное поле со светящимися зеленым цветом участками, где локализованы связанные антитела. Распределение флуоресценции на срезе имеет характерный вид для каждого тканевого антигена.

Непрямой иммунофлуоресцентный метод. Раствор немеченных антител наносят на срез, а затем выявляют их при помощи меченных флуорохромом антииммуноглобулиновых антител.

Непрямой иммунофлуоресцентный метод со связыванием комплемента. Этот вариант метода разработан для определения комплемент-связывающих антител *(см. рис. 29.7)*. После обработки среза антителами на него наносят в качестве источника комплемента свежую сыворотку. Комплемент связывается в участках, где фиксированы антитела. В результате эффекта усиления при активации комплемента по классическому пути (см. гл. 5) одна молекула антител может вызвать связывание многих C3b-молекул на срезе; их выявляют, обрабатывая срез флуоресцентно меченными антителами анти-C3b.

Проточный флуоресцентный клеточный сортер

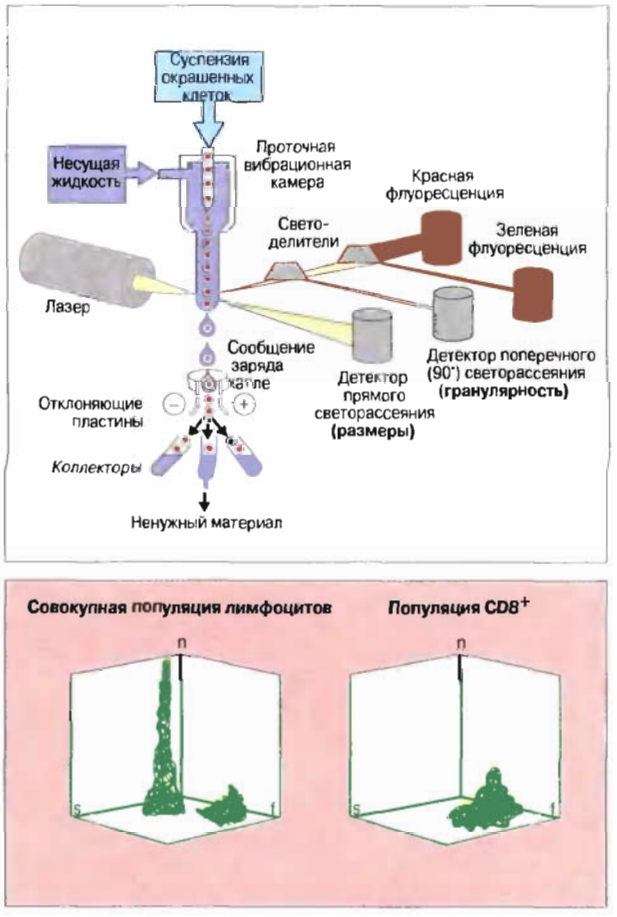


Рис. 29.9
Клетки в исследуемом образце окрашивают специфическими флуоресцентными реагентами для определения поверхностных молекул и вносят в проточную вибрационную камеру прибора. Выходящие из камеры клетки попадают в поток несущего буферного раствора. Клетки проходят через лазерный луч, и с помощью детекторов определяются размеры (детектор светорассеяния) и гранулярность (детектор света, расположенный под прямым углом к лазерному лучу) каждой клетки, а также цвет флуоресценции (красный и зеленый) соответственно двум разным поверхностным маркерам. Под влиянием вибрации поток жидкости, несущей клетки, разбивается на капли; им сообщается заряд, благодаря чему с помощью отклоняющих пластин (под контролем компьютера) можно получить раздельно различные клеточные популяции в соответствии с измеренными параметрами. На трехмерной диаграмме показаны размеры (s), число (n) и флуоресценция (f) лимфоцитов цельной клеточной популяции и популяции $CD8^+$, полученных на клеточном сортере с использованием антител анти-CD8.

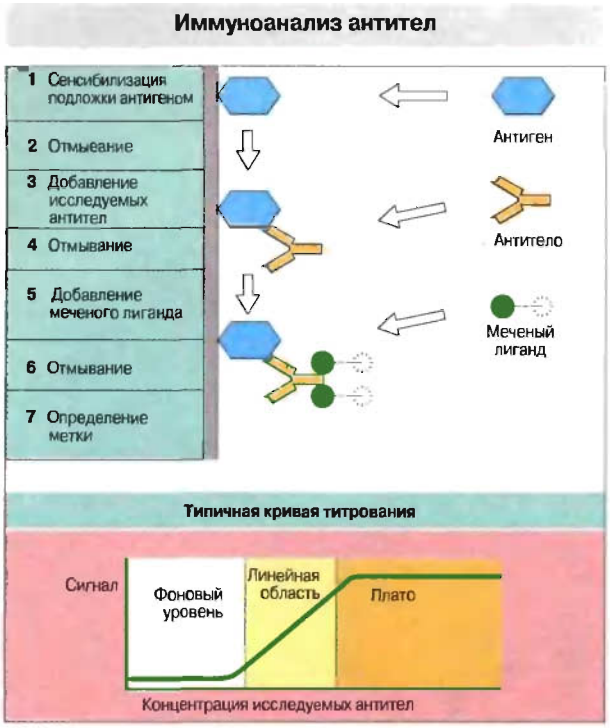


Рис. 29.10
Иммуноанализ антител. **1.** Антиген в солевом растворе инкубируют на пластиковой подложке или в пробирках, в результате чего небольшое его количество адсорбируется на поверхности пластика. **2.** Свободный антиген удаляют путем отмывания. (Подложку затем можно обработать избытком постороннего белка, чтобы предотвратить последующее неспецифическое связывание белков.) **3.** Добавляют исследуемые антитела, которые связываются с антигеном. **4.** Несвязавшиеся белки удаляют отмыванием. **5.** Антитела определяют при помощи меченого лиганда. Лигандом может служить, например, стафилококковый белок А, который связывается с Fc-областью IgG; чаще используют другие антитела, специфичные по отношению к исследуемым антителам. Применяя лиганд, который связывается с антителами определенного класса или подкласса, можно дифференцировать изотипы антител. **6.** Несвязанные антитела удаляют отмыванием. **7.** Определяют связавшуюся метку. Типичная кривая титрования представлена внизу. С повышением количества антител интенсивность сигнала возрастает линейно от фонового значения до уровня плато. Титр антител можно определить правильно лишь в линейной области. Уровень плато, как правило, в 20–100 раз выше фонового. Чувствительность метода обычно составляет приблизительно 1–50 нг специфических антител в 1 мл. Специфичность метода можно проверить, добавив свободный тест-антиген в повышающихся концентрациях к исследуемым антителам на этапе (**3**). Антиген связывается с антителами и блокирует их соединение с антигеном, фиксированным на подложке. Добавление возрастающих количеств свободного антигена снижает интенсивность сигнала.

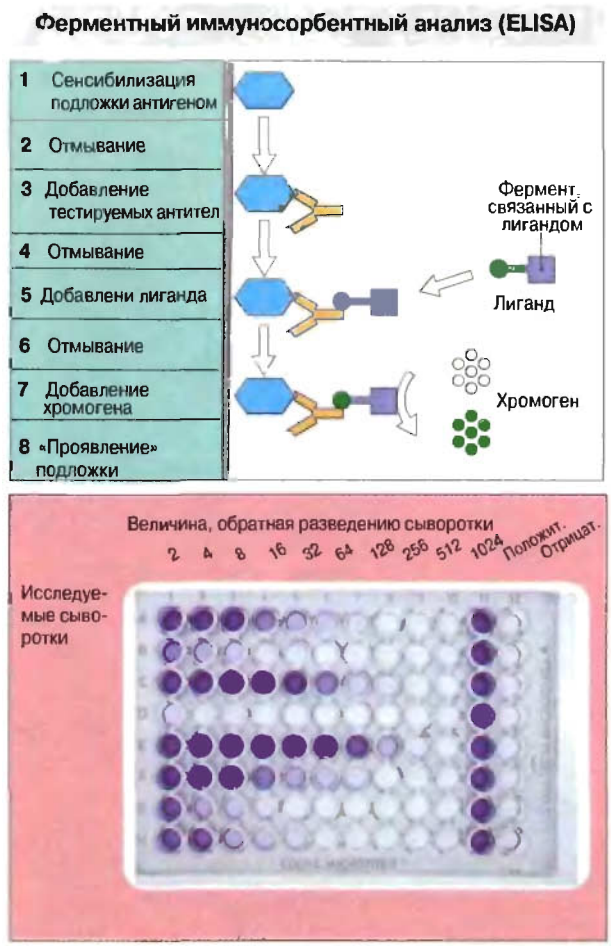


Рис. 29.11
Планшет (подложку) для проведения ELISA готовят точно так же, как для иммуноанализа антител (см. *рис. 29.10*) до этапа **4**. В этой системе лигандом служит молекула, способная выявить антитела и ковалентно связанная с ферментом, например пероксидазой. Лиганд соединяется с тестируемыми антителами, и после предварительного удаления несвязавшегося лиганда отмыванием (**6**) связанный лиганд можно визуализировать путем добавления хромогена (**7**) – бесцветного субстрата, который под влиянием связанного с лигандом фермента превращается в окрашенный продукт реакции. Внизу – фотография «проявленного» планшета (**8**). Количество тестируемых антител определяют по содержанию окрашенного продукта реакции путем сканирования оптической плотности.

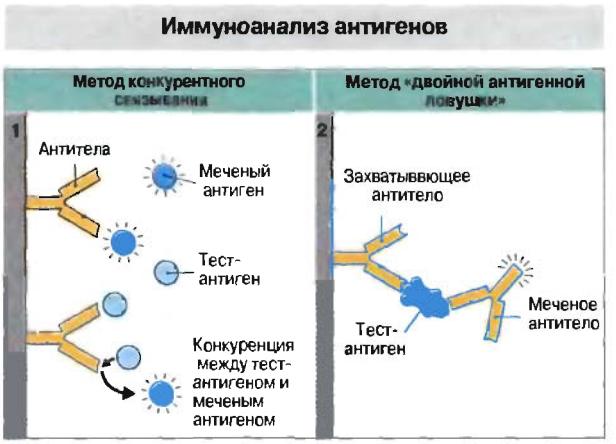


Рис. 29.12
1. Конкурентный иммуноанализ. Исследуемый антиген вместе с меченым антигеном наносят на подложку, покрытую специфическими антителами. Чем больше исследуемого антигена содержит раствор, тем меньше количество связывающегося стандартного меченого антигена. Анализ этого типа часто используют для определения антигенов, присутствующих в относительно высоких концентрациях, или гормонов, которые имеют только один антигенсвязывающий центр. **2.** Метод двойного захвата антигена. На подложку с фиксированными антителами наносят исследуемый раствор, и если в нем присутствует антиген, он захватывается антителами. После отмывания несвязавшегося материала определяют захваченный антиген при помощи меченых антител к другому эпитопу данного антигена. Поскольку антиген определяют с использованием антител двух разных типов, причем вторые добавляют в избытке, метод является высокоспецифичным и чувствительным.

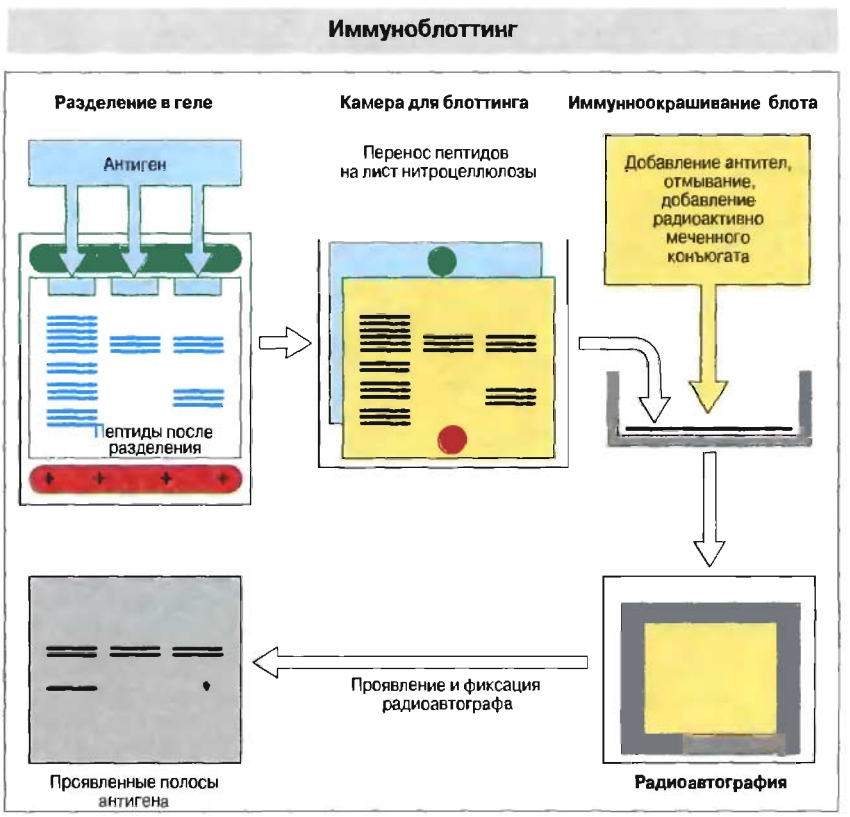


Рис. 29.13
Для проведения иммуноблоттинга исследуемые антигены сначала разделяют методом электрофореза в геле, например в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия или в геле для изоэлектрического фокусирования. Полученные фракции переносят электрофоретически на лист нитроцеллюлозы (блот), помещенный в специальную камеру. Затем блоты обрабатывают антителами к специфическому антигену, отмывают и добавляют радиоактивно меченный конъюгат для определения связавшихся с антигеном антител. Принцип подобен тому, который используется в РИА или ELISA. После повторного отмывания лист нитроцеллюлозы помещают в кассету с рентгеновской пленкой для радиоавтографии; на проявленной пленке видны полосы локализации антигена, связавшего меченые антитела. Метод можно модифицировать, используя хемилюминесцентную метку или конъюгат антител с ферментом (как в ELISA), выявляющий связанный материал при нанесении непосредственно на нитроцеллюлозный лист вместе с хромогеном.

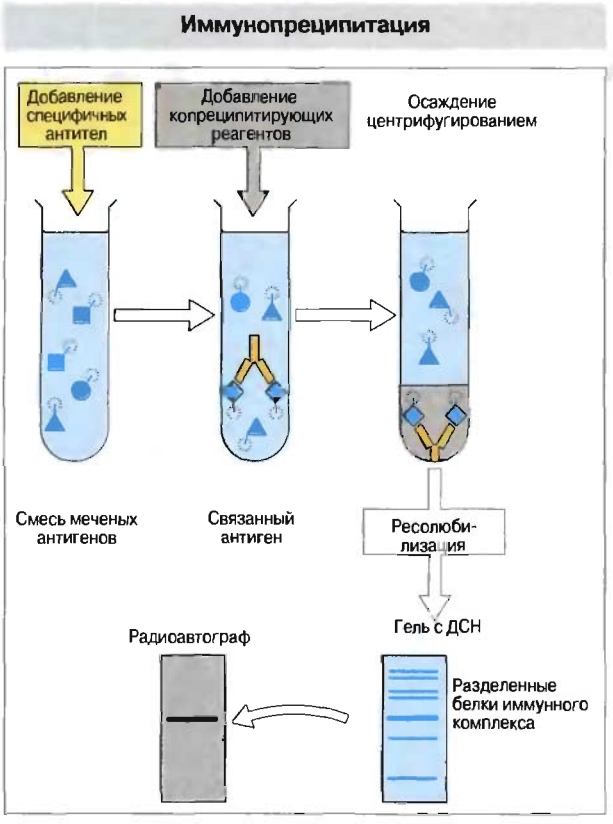


Рис. 29.14
При постановке реакции иммунопреципитации исследуемые антигены метят изотопом ^{131}I и добавляют к ним антитела, связывающиеся только со специфическим антигеном. Комплексы преципитируют путем добавления копреципитирующих агентов, таких как антииммуноглобулиновые антитела или белок А стафилококков. Затем нерастворимые комплексы осаждают центрифугированием и осадок промывают до полного удаления несвязанных меченых антигенов. Преципитат ресолюбилизируют (например, в растворе додецилсульфата натрия) и затем разделяют компоненты методом гель-электрофореза. После промывания производят радиоавтографический анализ гелей для обнаружения специфического меченого антигена. Часто объекты исследования представляют собой поверхностные антигены радиоактивно меченных клеток и их предварительно солюбилизируют с помощью детергентов. Возможно также использовать в качестве метки биотин; определение проводят хроматографически, применяя для этой цели стрептавидин (белок, связывающий биотин), конъюгированный с ферментом, например с пероксидазой (ср. ELISA).
(ДСН – додецилсульфат натрия.)

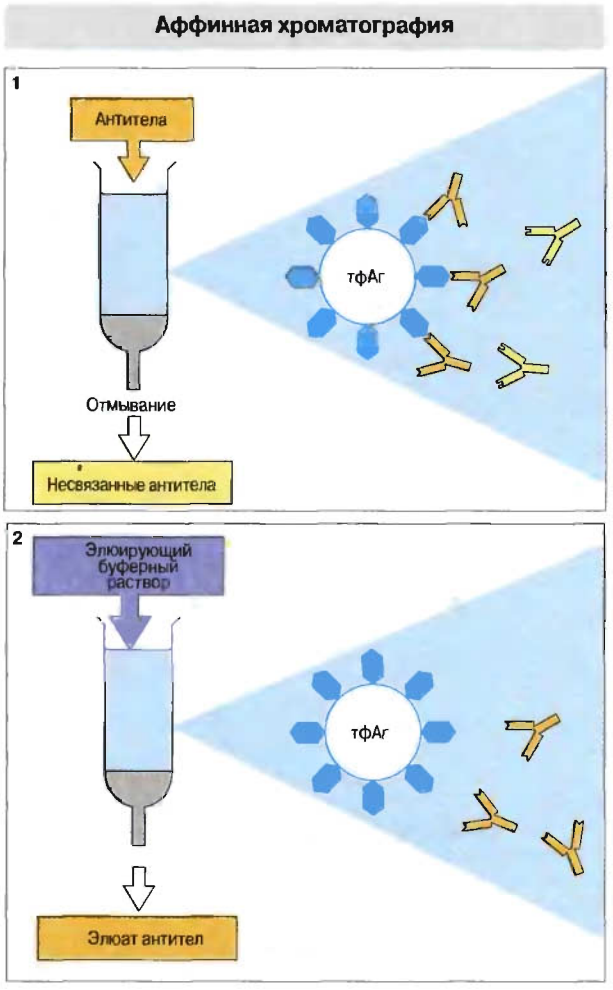


Рис. 29.15
С помощью аффинной хроматографии можно выделить чистую популяцию антител. **1.** Готовят твердофазный иммуносорбент (тфАг), представляющий собой антиген, ковалентно связанный с инертной основой (например, частицами перекрестносшитого декстрана). Иммуносорбентом заполняют колонку, через которую пропускают смесь антител при физиологических условиях. Антитела к данному антигену связываются с иммуносорбентом, тогда как несвязавшиеся белки свободно проходят через колонку. **2.** На следующем этапе связанные антитела элюируют с поверхности сорбента буферным раствором [например, ацетатным буфером (pH 3,0), диэтиламином (pH 11,5) или 3 М гуанидином–HCl], разрушающим связи в комплексе антиген–антитело. Этим методом можно получить и очищенные препараты антигенов, если использовать иммуносорбент, содержащий антитела. Аффинную хроматографию применяют также для выделения молекул других типов. Так, на поверхности частиц с «пришитым» лектином будут сорбироваться все молекулы, имеющие остатки определенных сахаридов; эти молекулы элюируют буферным раствором, содержащим свободные сахара, которые конкурируют с адсорбированными белками за участки связывания лектина.

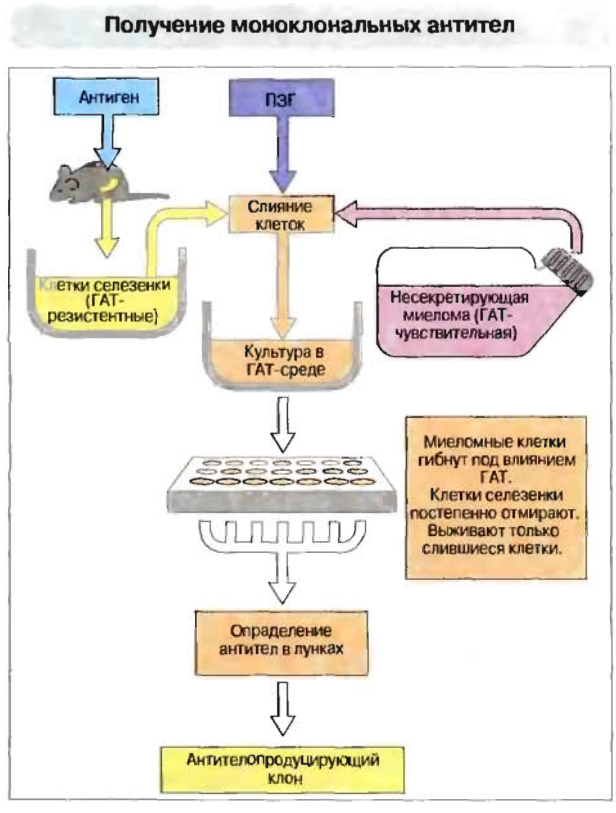


Рис. 29.16
Животных (обычно мышей или крыс) иммунизируют антигеном. Когда продукция антител достигает высокого уровня, из селезенки животных (могут быть использованы и лимфоузлы) готовят суспензию клеток. Затем вызывают слияние спленоцитов с клетками миеломной линии, применяя для этой цели полизтиленгликоль (ПЭГ) — агент, способствующий слиянию клеточных мембран. Процесс проходит успешно лишь у небольшого числа клеток. Клеточную смесь, содержащую слившиеся клетки, культивируют в ГАТ – среде, содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин. Аминоптерин является высокотоксичным агентом, блокирующим один из метаболических путей – синтез пуринов. Клетки могут использовать обходный метаболический путь, если в среде присутствуют его интермедиаты – гипоксантин и тимидин. Спленоциты способны расти в ГАТ-среде, однако миеломные клетки в ней погибают, так как имеют метаболический дефект, не позволяющий использовать обходный путь синтеза пуринов. Клеточная суспензия, вносимая в ГАТ-среду, содержит спленоциты, клетки миеломы и слившиеся клетки. Спленоциты погибают в культуре естественным путем через 1–2 нед, клетки миеломы не выживают в ГАТ, слившиеся же клетки сохраняют жизнеспособность, поскольку сочетают свойства «бессмертной» миеломы и клеток селезенки, использующих обходный метаболический путь. Некоторые из слившихся клеток сохраняют также способность продуцировать антитела, как исходные спленоциты. Культуральную среду из всех лунок планшета, где зарегистрирован рост клеток, исследуют на присутствие антител желаемой специфичности (часто при помощи иммуносорбентного анализа). Культуры, продуцирующие антитела, клонируют, разводя клеточную взвесь при посеве с таким расчетом, чтобы на каждую лунку приходилась только 1 клетка. Эта клетка-предшественник дает начало формированию «бессмертного» клона, продуцирующего моноклональные антитела.

Получение моноклональных антител

Другим способом получения индивидуальных антител определенной специфичности служит гибридомная технология – создание иммортализованной (бессмертной) линии клеток, продуцирующих антитела только одной специфичности, т. е. моноклональные *(рис. 29.16)*. В такой культуре можно поддерживать антителообразование неопределенно долгое время. Моноклональные антитела несравнимо лучше соответствуют целям иммуноанализа, чем гетерогенные сыворотки, получаемые от иммунных животных, и поэтому нашли широкое применение в различных областях биологии в качестве высокоспецифичных зондов.

Эффективно продуцировать моноклональные антитела могут любые В-клетки, необходимо лишь сделать их для этого бессмертными и пролиферирующими. Чаще всего для этой цели получают гибридные клетки – путем слияния мышиных спленоцитов с миеломными В-клетками от мышей той же линии, не секретирующими собственных антител. Возможно также получить межлинейные или межвидовые гибриды, однако они часто нестабильны. Другой метод иммортализации – это трансформация клеток, например в случае В-клеток человека путем инфицирования вирусом Эпштейна–Барр.

Разработан также новый метод получения антител, основанный на использовании бактерио-

Получение Fv-антител с помощью бактериофагов

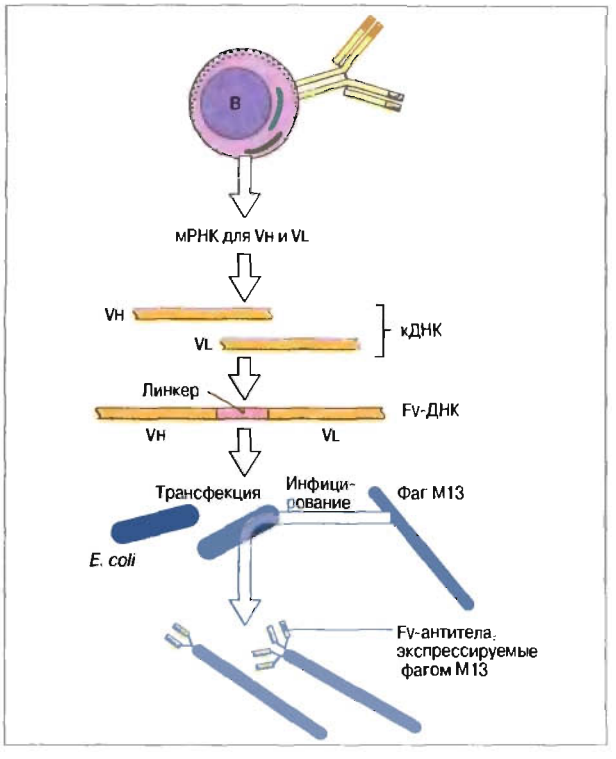
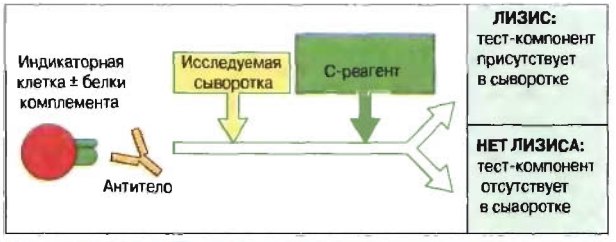


Рис. 29.17
Для получения Fv-фрагментов антител с помощью бактериофага вначале кДНК для V_H- и V_L-областей, синтезированную с использованием В-клеточной мРНК, амплифицируют методом полимеразной цепной реакции. Затем эти гены соединяют линкером, получая ген для Fv-фрагмента. Такой ген трансфицируют в бактерии (*E. coli*), используя фазмидный вектор, содержащий лидерную последовательность и фрагмент гена, кодирующего белок оболочки фага M13. Далее, бактерии инфицируют фагом M13. Фаг реплицируется и экспрессирует на одном из своих полюсов Fv. Фаги нужной специфичности изолируют при помощи пэннинга на покрытых антигеном подложках и амплифицируют. Антигенспецифичные фаги можно использовать для инфицирования штаммов бактерий, обеспечивающих выделение Fv-белка в культуральную среду.

фагов. С помощью этого интересного метода удается получить экспрессию на поверхности нитевидного бактериофага M13 вариабельных областей (V_H и V_L) в виде фрагментов (Fv) антител, связывающих антиген с определенной специфичностью и авидностью. Располагая библиотекой таких экспрессируемых бактериофагом фрагментов, можно производить отбор (на основе взаимодействия со специфическим антиге-

Определение компонентов комплемента



Тест	Индикатор	С-реагент
C1	ЭСАК 4 (морская свинка)	C1-реагент
C4	ЭСА	Сыворотка морской свинки с дефицитом C4
C2	ЭСАК 4 (человек) (антрипол)	C2-реагент
C3	ЭСАК 142-(морская свинка)	C5–9 (обработанная NH_3 сыворотка морской свинки)
C5	ЭСАК 14 окси 23	Сыворотка мыши с дефицитом C5
C6	ЭСАК 143 (человек) (антрипол)	Сыворотка кролика с дефицитом C6
FB	ЭСА +ЭГТА + Mg^{2+}	Сыворотка с дефицитом фактора B (нагревание до 50 °C)
FD	ЭСА + ЭГТА + Mg^{2+}	Сыворотке с дефицитом фактора D (исключение пика на сефадексе G-75)

Рис. 29.18
При помощи этих тестов в исследуемой сыворотке определяют отдельные компоненты комплемента. Определение заключается в том, что к суспензии сенсибилизированных эритроцитов добавляют 1) специфический С-реагент, содержащий все необходимые для лизиса компоненты комплемента, за исключением одного, и 2) исследуемую сыворотку. Например, чтобы определить компонент C4 в исследуемой сыворотке, к сенсибилизированным антителами эритроцитам добавляют сыворотку морской свинки с дефицитом C4 (С-реагент). Если исследуемая сыворотка содержит C4, произойдет гемолиз, и наоборот, в отсутствие C4 гемолиза не будет. В таблице приведены комбинации реагентов, используемых для определения каждого из компонентов комплемента. Сенсибилизацию эритроцитов антителами производят с таким расчетом, чтобы при взаимодействии ЭСА с комплементом получить определенную степень гемолиза. Реагентами могут быть сыворотки, исходно не содержащие один из компонентов комплемента или подвергнутые физико-химической обработке для удаления либо инактивации того или иного компонента. Можно проводить количественное определение компонентов, используя, например, простой радиальный гемолиз или реакцию 50 % гемолиза в пробирках. (ЭСА – эритроциты, сенсибилизированные антигеном; ЭСАК – эритроциты, сенсибилизированные антигеном и комплементом; ЭГ ТА – этиленгликоль-тетраацетат.)

ном) фаговых частиц, продуцирующих тот или иной Fv-фрагмент. Кроме того, если данным бактериофагом инфицировать соответствующие бактерии, они начинают выделять Fv-белок в большом количестве в культуральную среду. Такой подход не требует обязательной иммунизации животных или человека *(рис. 29.17)*.

Моноклональные антитела представляют собой четко определенный реагент, но они не обладают более высокой специфичностью по сравнению с поликлональной антисывороткой, распознающей антиген в результате взаимодействия иммуноглобулинов с его различными эпитопами.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОМПЛЕМЕНТА

Наиболее простой способ измерения активности комплемента состоит в определении концентрации сыворотки, вызывающей гемолиз 50 % клеток в стандартном препарате эритроцитов, сенсибилизированных антигеном (ЭСА). Реакцию проводят в пробирках или на микропланшетах. Для приблизительной оценки активности комплемента более удобен простой радиальный гемолиз. Этот метод сходен с простой радиальной иммунодиффузией, за исключением того что в лунки вносят исследуемую сыворотку, а гель содержит ЭСА. Вокруг лунки, содержащей активный комплемент, образуется зона гемолиза, величина которой пропорциональна количеству комплемента в исследуемой сыворотке. Данный метод позволяет определять общую активность компонентов классического и литического путей активации (C1–C9), однако если в сыворотке обнаружен дефицит комплемента, этим методом невозможно установить, отсутствием какого компонента дефицит обусловлен.

Существуют также методы для определения различных отдельных компонентов комплемента по их содержанию или функциональной активности. Это важное различие, так как компонент может присутствовать в нормальном количестве, но быть функционально неактивным. Содержание (уровень) индивидуальных белков комплемента обычно определяют при помощи радиоиммуноанализа (РИА) или ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA), используя антитела, специфичные к данному белку. Для измерения функциональной активности в суспензию сенсибилизированных эритроцитов вносят все компоненты комплемента, необходимые для лизиса, за исключением исследуемого белка *(рис. 29.18)*.

ВЫДЕЛЕНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ

Для проведения многих иммунологических исследований in vivo и in vitro требуются те или иные популяции лимфоцитов. Их получают от

Выделение лимфоцитов в градиенте плотности фиколл-изопака

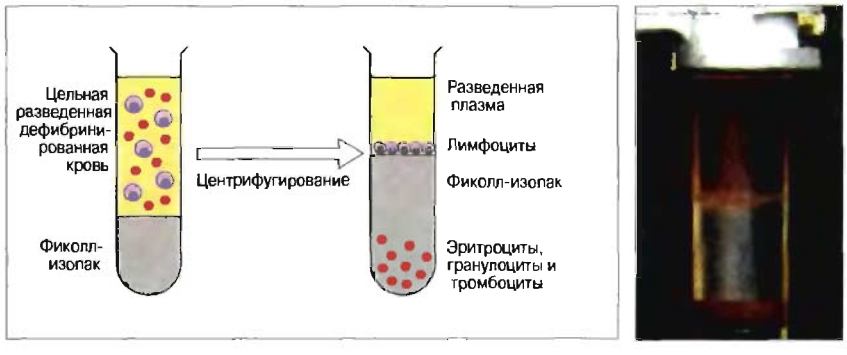


Рис. 29.19
Лимфоциты можно выделить из цельной крови в градиенте плотности фиколла. Для этого кровь дефибринируют путем встряхивания со стеклянными бусами и образовавшийся сгусток удаляют. Затем кровь разводят культуральной средой и наслаивают на раствор фиколла, заполняющий пробирку до половины. Плотность фиколла выше, чем плотность лимфоцитов, но ниже, чем плотность эритроцитов и гранулоцитов (например, нейтрофилов). После центрифугирования эритроциты и полиморфноядерные нейтрофилы (ПЯН), прошедшие через фиколл, образуют на дне пробирки осадок в виде пуговки, тогда как лимфоциты остаются на границе между средой, в которой они взвешены, и фиколлом. Препарат лимфоцитов освобождают затем от макрофагов и оставшихся ПЯН, добавляя в него железные опилки; они фагоцитируются, и поглотившие их фагоциты можно удалить при помощи сильного магнита. Макрофаги могут быть удалены и другим способом: клеточную суспензию помещают в пластиковую чашку; макрофаги прилипают к поверхности пластика и в суспензии остаются только лимфоциты.

экспериментальных животных, в основном из тимуса, селезенки и периферических лимфоузлов. Некоторые специальные исследования требуют выделения клеток из других участков организма, например из пейеровых бляшек. Рециркулирующие клетки можно получить путем канюлирования грудного лимфатического протока и сбора клеток в течение нескольких часов. У человека наиболее легко выделить лимфоциты периферической крови, а хирургическим путем можно получить также клетки селезенки, миндалин и лимфоузлов. Однако хирургически отобранный материал часто содержит инфекционные агенты или опухолевые клетки, в зависимости от заболевания, которое вызвало необходимость хирургического вмешательства. Следует иметь в виду, что клеточные популяции, содержащиеся в перечисленных тканях, совершенно различны как по степени зрелости лимфоцитов, так и по численному соотношению в них клеток разных типов.

Тимус является источником довольно чистой Т-клеточной популяции, однако составляющие ее лимфоциты различаются по степени зрелости. При работе с лимфоцитами из других органов и тканей часто возникает необходимость в выделении отдельных субпопуляций для анализа их особых функций. Применение с этой целью описанного выше проточного флуоресцентного клеточного сортера, позволяющего разделять лимфоциты по их поверхностным маркерам, позволяет получать лишь ограниченное число клеток, поскольку скорость цитометрии с сортировкой весьма низка. Существует, однако, и ряд методов, позволяющих выделять лимфоциты и их отдельные субпопуляции сразу из всего объема исследуемого образца, – центрифугирование в градиенте плотности, розеткообразование, пэннинг и магнитное разделение.

Выделение в градиенте плотности основано на том, что лимфоциты имеют меньшую плотность, чем эритроциты и гранулоциты *(рис. 29.19)*. Этот способ позволяет выделять бóльшую часть лимфоцитов крови. Розеткообразование и пэннинг («просеивание» через подложку) используют для выделения субпопуляций *(рис. 29.20* и *29.21)*. Пэннинг представляет собой разновидность аффинной хроматографии применительно к лимфоцитам. На сходном принципе основан и способ разделения с помощью магнитных гранул, покрытых специфическими антителами (например, анти-CD4). При смешивании с клетками гранулы связывают те из них, которые распознаются фиксированными антителами. Эти клетки можно затем смыть с гранул

Выделение субпопуляций лимфоцитов методом розеткообразования

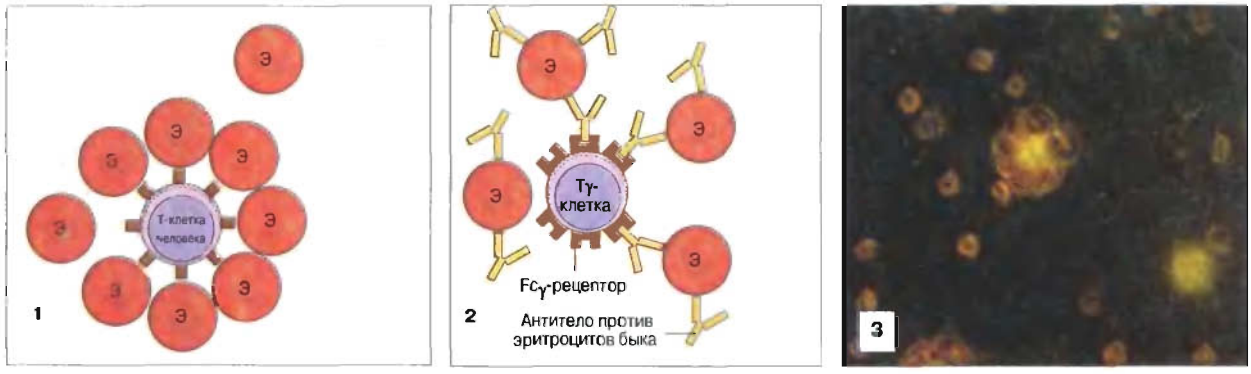


Рис. 29.20
Метод розеткообразования основан на том, что лимфоциты некоторых субпопуляций несут рецепторы, связывающиеся с эритроцитами. Т-клетки человека имеют рецепторы для эритроцитов барана (Э) – молекулы CD2 (**1**). На Т-клетках мыши число таких рецепторов невелико, поэтому Т-лимфоциты мыши изолировать подобным способом невозможно. При смешивании Т-клетки вместе с эритроцитами образуют «розетки», которые могут быть отделены от неспособных к розеткообразованию В-клеток в градиенте плотности фиколла. Существует также модификация этого метода, позволяющая выделять клетки с другими рецепторами (**2**). Например, Тγ-лимфоциты (Т-клетки, несущие рецептор для Fc-фрагмента IgG, Fcγ) можно идентифицировать и выделить методом розеткообразования с эритроцитами быка, сенсибилизированными субагглютинирующим количеством антител к этим эритроцитам. На микрофотографии (**3**) виден лимфоцит, образовавший розетку с эритроцитами. (Фото любезно предоставлено д-ром P. M. Lydyard).

Выделение субпопуляций лимфоцитов методом пэннинга

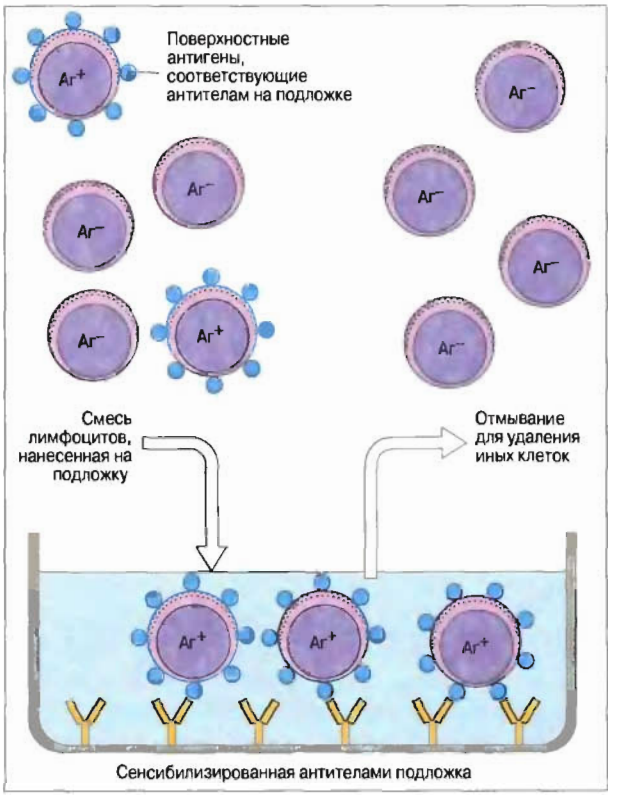


Рис. 29.21
Клеточные популяции можно разделять на подложках, сенсибилизированных антителами. Нанесенные на подложку антитела нековалентно связываются с поверхностью пластика (как при иммуносорбентном анализе), после чего на нее наносят суспензию клеток. Антиген-положительные клетки (Ar+) связываются с антителами, тогда как антиген-отрицательные (Ar⁻) можно удалить осторожным смыванием. Связанные клетки иногда удается отделить от подложки, изменив условия культивирования или обработав клетки ферментами. Часто связывание клеток с иммобилизованным антигеном вызывает в них те или иные изменения; например, при связывании антигена с пластиком могут возникать перекрестные связи между его молекулами, в результате чего он активирует клетки. Данный метод наиболее подходит для удаления субпопуляций, а не для их выделения из общей популяции лимфоцитов. В качестве примеров применения данного метода можно назвать разделение популяций Тх- и Тц-клеток при помощи антител анти-CD4 или анти-CD8 и отделение Т-клеток от В-лимфоцитов с использованием антител анти-Ig (которые связываются с поверхностными антителами В-клеток). При обратной постановке (сенсибилизация подложки антигеном) связывающие антиген клетки можно отделять от несвязывающих,

Получение Т-клеточных линий

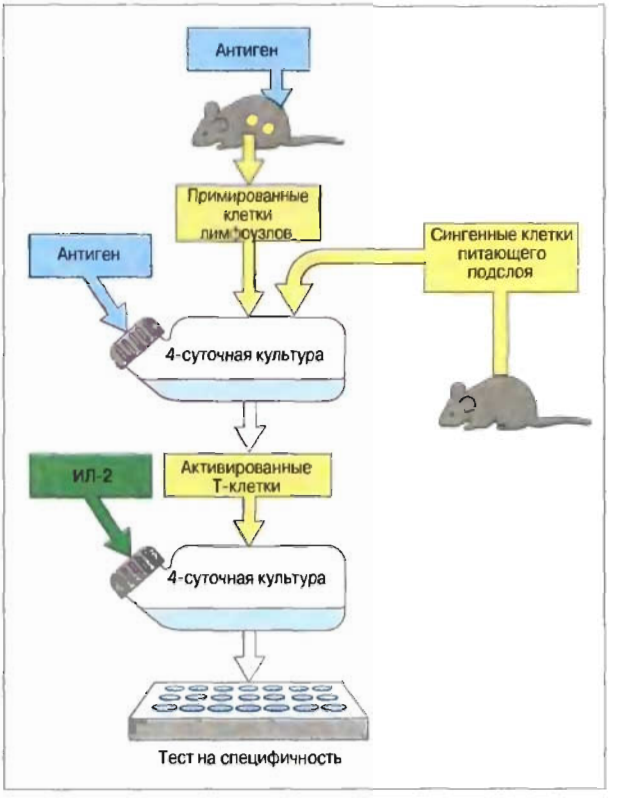


Рис. 29.22
Одна из возможных процедур получения Т-клеточных линий. Мышей примируют антигеном, вводя его обычно под кожу на подошвенной стороне задней лапки. Через неделю у животных удаляют дренирующие эту область лимфоузлы (в данном случае подколенные и паховые), и полученные из них клетки культивируют в присутствии антигена на питающем подслое из сингенных (т. е. от мышей той же инбредной линии) клеток, например нормальных лимфоцитов или спленоцитов. Через 4 сут из культуры выделяют лимфобласты и индуцируют их пролиферацию с помощью ИЛ-2. Когда число клеток достаточно возрастет, проверяют их МНС- и антигенспецифичность в реакции трансформации лимфоцитов. Полученную линию культивируют попеременно на питающем подслое из клеток, стимулированных антигеном, и в ИЛ-2-содержащей среде.

или выделить путем наложения магнитного поля.

Другой способ — он применяется для удаления ненужной клеточной популяции, — основан на использовании антител и комплемента. Если к смеси клеток добавить специфические антитела (например, анти-CD8), а затем комплемент, клетки соответствующей субпопуляции будут ли-

зированы. Конечно, для этого метода пригодны лишь такие антитела, которые связывают комплемент; кроме того, клетки-мишени должны нести на поверхности достаточное количество молекул антигена, чтобы фиксировать литическую дозу комплемента.

Источником определенных популяций лимфоцитов могут служить антигенспецифичные Т-клеточные линии, культивируемые в течение длительного периода *(рис. 29.22)*. Получение таких линий позволяет обойтись без частого выделения первичных культур из органов и тканей животных.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТОК

Разработаны различные методы для определения эффекторных функций лимфоцитов, в частности продукции антител, цитотоксичности и опосредованной Т-клетками помощи и супрессии.

В-клетки, продуцирующие IgM- или IgG-антитела, можно определить при помощи метода локального гемолиза, или реакции бляшкообразования *(рис. 29.23)*. Другим способом выявления антителообразующих клеток служит иммуноферментный тест ELISPOT *(рис. 29.24)*. Он позволяет определять функционально активные Т-клетки, секретирующие те или иные растворимые медиаторы, т. е. цитокины. Определение проводят на подложке с иммобилизованными антителами к специфическому цитокину (например, анти-ИФ). Эти антитела связывают данный цитокин, выделяемый Т-клеткой в окружающую зону, и эффект связывания можно выявить путем соответствующей обработки подложки: вокруг цитокин-выделяющих Т-клеток будут видны окрашенные пятнышки.

Для определения антигенспецифичных Т-клеток часто используют тест стимуляции лимфоцитов – пролиферативный ответ Т-клеток на антиген, выявляемый по включению ими ^{3}H-тимидина *(рис. 29.25)*. Цитотоксическую активность клеточных популяций обычно определяют по их способности лизировать клетки-мишени (например, инфицированные вирусами, опухолевые или аллогенные клетки). Количественно лизис клеток-мишеней определяют при помощи теста с высвобождением меченого хрома *(рис. 29.26)*.

Миграция лимфоцитов

В экспериментах по изучению миграции лимфоцитов in vivo обычно исследуют распределение в тех или иных тканях введенных внутривенно ме-

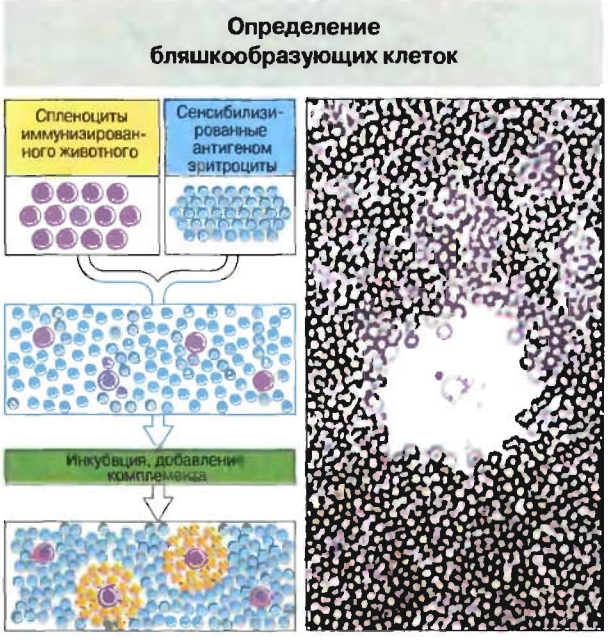


Рис. 29.23
Для определения антителообразующих клеток методом локального гемолиза, или бляшкообразования, к исследуемой клеточной популяции добавляют эритроциты, сенсибилизированные антигеном. При последующей инкубации эритроциты, окружающие антителообразующую клетку, связывают секретируемые ею специфические антитела и в результате лизируются комплементом. Вид образующейся при этом зоны просветления – бляшки – с В-клеткой в центре показан справа. Локальный гемолиз может быть двух типов.

Прямой локальный гемолиз: антигенспецифичные IgM-антитела, продуцируемые антителообразующей клеткой, способны непосредственно вызывать комплемент-зависимый гемолиз, поскольку эти антитела обладают высокой комплемент-связывающей активностью.

Непрямой локальный гемолиз: антигенспецифичные IgG-антитела связывают комплемент не столь эффективно, и чтобы усилить способность IgG-продуцирующих клеток лизировать эритроциты-мишени, требуется добавление антител анти-IgG.

Сочетая тесты прямого и непрямого локального гемолиза, можно раздельно определять число IgM- и IgG-образующих клеток.

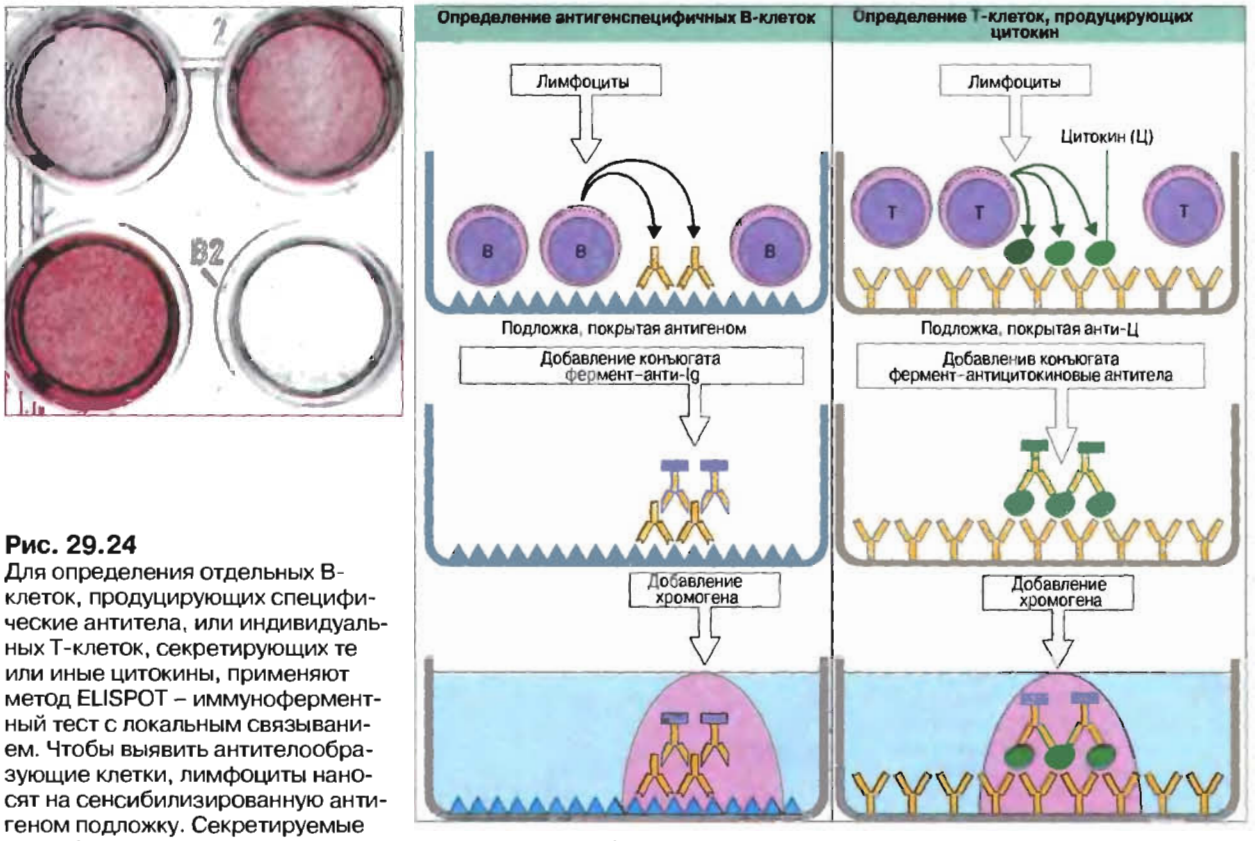


Рис. 29.24
Для определения отдельных В-клеток, продуцирующих специфические антитела, или индивидуальных Т-клеток, секретирующих те или иные цитокины, применяют метод ELISPOT – иммуноферментный тест с локальным связыванием. Чтобы выявить антителообразующие клетки, лимфоциты наносят на сенсибилизированную антигеном подложку. Секретируемые специфические антитела связываются с антигеном в непосредственной близости к продуцирующей их клетке. Места связывания (пятнышки – англ. spots) выявляют хроматографически с использованием конъюгированных с ферментом антител анти-Ig и хромогена. Если нужно идентифицировать клетки, продуцирующие цитокины, на подложке иммобилизуют антицитокиновые антитела и определяют связывание их с цитокином при помощи конъюгированных с ферментом антител к другому эпитопу цитокина. Вид обработанной таким образом подложки показан вверху слева. (Фотография любезно предоставлена P. Hutchings и издательством Blackwell Scientific Publications.)

ченых клеток. Клетки метят либо радиоизотопами, либо стабильными флуорохромами. Радиоактивную метку применяют для количественной оценки клеточной миграции. Локализацию меченых клеток в органе можно установить радиоавтографически или путем флуоресцентной микроскопии.

Определение молекул адгезии, участвующих в миграции лимфоцитов, проводят в большинстве случаев in vitro. В тесте Стэмпера–Вудруфа (Stamper–Woodroofe) определяют непосредственно адгезию лимфоцитов к стенкам венул с высоким эндотелием на срезах лимфоузлов, пейеровых бляшек или других тканей, содержащих такие венулы. Число адгезированных клеток подсчитывают под микроскопом. Если добавление антител против молекул межклеточной адгезии снижает уровень адгезии, это служит доказательством, что они взаимодействуют в участках, близких к активным центрам данных молекул. Другим способом выявления молекул адгезии может быть блокирование in vitro адгезии лимфоцитов к монослою эндотелиальных клеток. В этом случае, чтобы убедиться в присутствии мо-

Тест стимуляции лимфоцитов

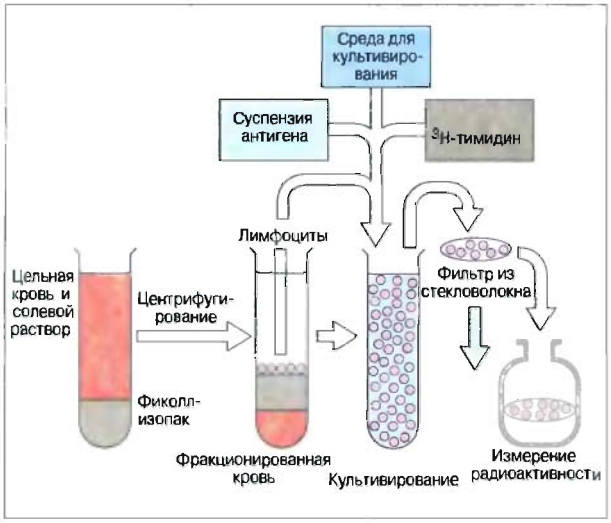


Рис. 29.25
При постановке реакции стимуляции лимфоцитов цельную кровь, разведенную солевым раствором, наслаивают на фиколл-изопак (плотность которого выше, чем у лимфоцитов, но меньше, чем у лейкоцитов) и центрифугируют (400 *g*). Таким образом отделяют лимфоциты от других клеток и компонентов сыворотки (см. *рис. 29.19*). Полученные клетки отмывают от загрязнений (включая антигены) и переносят в тест-пробирки со средой для культивирования, содержащей антиген. За 16 ч до сбора клеток в культуру добавляют ^{3}H-тимидин. Собирают клетки на фильтрах – дисках из стекловолокна – и измеряют радиоактивность на жидкостном сцинтилляционном счетчике. Высокий уровень радиоактивности свидетельствует о том, что клетки пролиферируют, т. е. отвечают на данный антиген. Эту реакцию используют также для анализа клеток лимфоидных тканей.

Цитотоксический тест с высвобождением хрома

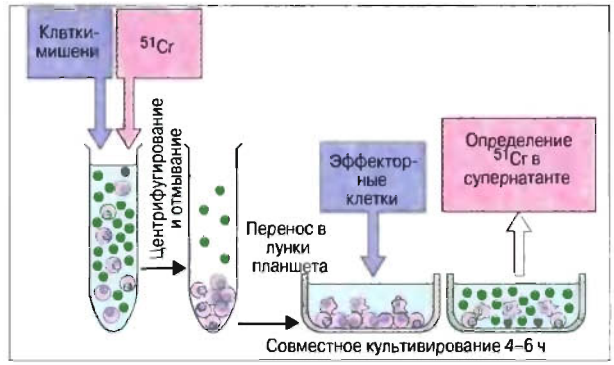


Рис. 29.26
Чтобы определить цитотоксичность эффекторных клеток, инкубируют клетки-мишени с изотопом ^{51}Cr, который проникает внутрь клеток и связывается с белками. По окончании инкубации удаляют свободный ^{51}Cr отмыванием, вносят клетки-мишени в лунки планшета и культивируют совместно с эффекторными клетками в течение 4–16 ч, после чего определяют в культуральной жидкости количество хрома, вышедшего в среду в результате лизирования клеток-мишеней эффекторными клетками.

лекул адгезии, метят лимфоциты или эндотелиальные клетки и используют блокирующие адгезию антитела для иммунопреципитации специфических молекул адгезии.

ТРАНСГЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ И НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА ГЕНОВ

Трансгенные животные

Один из путей для изучения функций той или иной молекулы — это создание трансгенных животных, у которых ген данной молекулы либо делетирован, либо экспрессируется, но на сверхвысоком уровне или с образованием измененного продукта. Оригинальный способ получения трансгенных животных состоит в инъекции примерно ста копий данного гена непосредственно в пронуклеус оплодотворенной яйцеклетки. Яйцеклетку переносят затем в яйцевод ложнобеременной мыши-самки, в матке которой и развивается эмбрион. Потомство таких мышей отличается вариабельностью. У небольшого числа эмбрионов одна или больше копий гена встраивается в одну из хромосом до первого клеточного деления. Эти животные являются гетерозиготами по трансгену. У другой (также малочисленной) части животных включение трансгена происходит после первого деления, и мыши оказываются химерами, у которых наряду с нормальными клетками имеются клетки, содержащие трансген. У большинства мышей трансген не встраивается в хромосому. Статус каждой мыши определяют путем исследования образцов клеток на присутствие гена, для чего применяют саузерн-блоттинг. На основании данных анализа отбирают трансгенных гетерозиготных животных, которых затем используют для скрещивания и получения гомозиготной трансгенной линии.

Обычно включение трансгенов в хромосому происходит случайным образом и в виде блока из

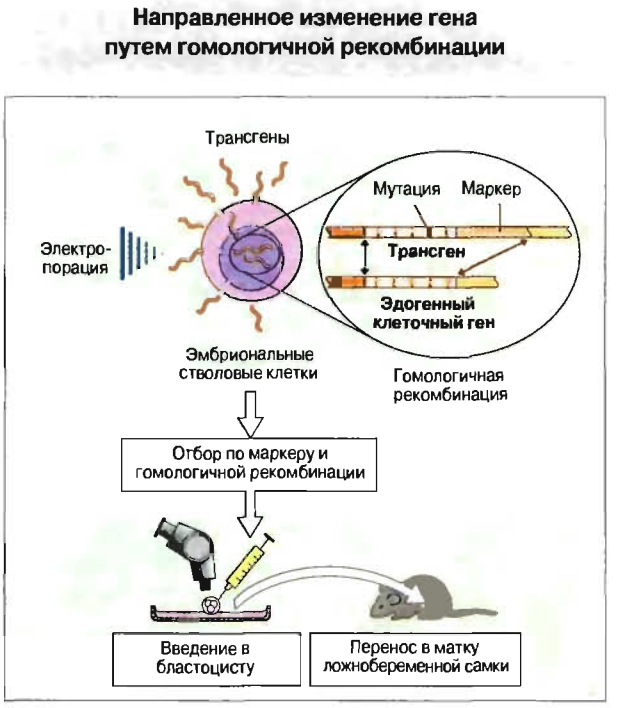


Рис. 29.27
Трансгенных животных можно получать путем направленного изменения гена, происходящего в результате гомологичной рекомбинации. Для этого используют сегмент экзогенного гена (трансген), который содержит 1) последовательность, гомологичную последовательности клеточного гена, но несущую мутацию, и 2) маркерный ген. Путем электропорации трансген вводят в эмбриональные стволовые клетки, а затем, ориентируясь на присутствие маркерного гена, отбирают клетки, в которые включился экзогенный ген. Далее производят отбор клеток с рекомбинацией экзогенного и эндогенного генов. Эти клетки вводят в бластоцисты, которые затем имплантируют в матку ложнобеременных мышей. Потомство таких мышей состоит из нормальных трансгенных животных.

нескольких копий. Важно, что при включении трансгенного блока не образуется разрывов в других, функционально важных генах. Характер экспрессии трансгенов зависит от ряда факторов. Иногда эти гены оказываются под контролем промоторов общего типа и экспрессируются в большинстве тканей. В других случаях они связаны с тканеспецифическими промоторами и их экспрессия ограничена лишь некоторыми тканями и клетками (например, лимфоцитами) или определенными стадиями развития. К интерпретации фенотипа трансгенных животных необходимо подходить с осторожностью, поскольку высокую экспрессию трансгенов в несоответствующих тканях нельзя считать физиологичной.

Направленная доставка гена

Этот более тонкий метод на первом этапе состоит в переносе гена, который взаимодействует или рекомбинирует с исследуемым эндогенным геном и вызывает в результате его изменение. Например, в этом эндогенном гене может произойти делеция (что имеет место у так называемых «нокаутных» мышей), в нем могут возникнуть точковые мутации или выпасть экзон. Такой измененный ген вводят в эмбриональную полипотентную стволовую клетку, где он рекомбинирует с аналогичным эндогенным геном. Эту стволовую клетку переносят затем в бластоцисту или имплантируют описанным выше способом *(рис. 29.27)*.

Вопросы для размышления

- С использованием специально полученных новых моноклональных антител и иммунофлуоресцентного метода вы идентифицировали некую молекулу на поверхности Т-лимфоцитов. Выберите методы, позволяющие получить ответы на следующие вопросы:
- Если культивировать Т-клетки в присутствии митогена конканавалина А и полученных вами антител, взятых в различных концентрациях, будут ли эти антитела снижать способность клеток пролиферировать? Уменьшится ли число Т-клеток, продуцирующих ИЛ-2 ?
- Чему равна молекулярная масса идентифицированной молекулы ?
- Присутствует ли эта молекула на Т-клетках $CD4^+$ и $CD8^+$?
- Чему равна концентрация получаемых антител в культуральной среде антителопродуцирующей гибридомы ?

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Coligan J.E., Kruisbeck A.M., Margulies D.H. et al. (eds.) 1991. *Current Protocols in Immunology*. New York: Greene Publishing Associates & Wileyinterscience, continually updated.

Hudson L., Hay F.C. 1989. *Practical Immunology*. 3rd. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Johnstone A., Thorpe R. 1987. *Immunochemistry in Practice*. 2nd edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Rose N.R. et al. (eds.) 1992. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 4th edn. Washington: American Society of Microbiology.

Weir D.M. 1986. *Handbook of Experimental Immunology*. Vols I & II. 4th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Winter F., Griffith A.D., Hawkins R.E. et al. 1994. Making antibodies by phage display technology. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 433–55.

Приложение I: HLA-специфичности

Аллель	Специфичность
DPA1*0101	–
DPA1*0102	–
DPA1*0103	–
DPA1*0201	–
DPA1*02021	–
DPA1*02022	–
DPA1*0301	–
DPA1*0401	–
DPB1*01011c	DPw1
DPB1*01012	DPw1
DPB1*0201d	DPw2
DPB1*02011	DPw2
DPB1*02012	DPw2
DPB1*0202	DPw2
DPB1*0301	DPw3
DPB1*0401	DPw4
DPB1*0402	DPw4
DPB1*0501	DPw5
DPB1*0601	DPw6
DPB1*0801	–
DPB1*0901	–
DPB1*1001	–
DPB1*1101c	–
DPB1*11012	–
DPB1*1301	–
DPB1*1401	–
DPB1*1501	–
DPB1*1601	–
DPB1*1701	–
DPB1*1801	–
DPB1*1901	–
DPB1*20011c	
DPB1*20012	–
DPB1*2101	–
DPB1*2201	–
DPB1*2301	–
DPB1*2401	–
DPB1*2501	–
DPB1*26011c	–
DPB1*26012	–
DPB1*2701	–
DPB1*2801	–
DPB1*2901	–
DPB1*3001	–
DPB1*3101	–
DPB1*3201	–
DPB1*3301	–
DPB1*3401	–
DPB1*3501	–
DPB1*3601	–
DPB1*3701	–
DPB1*3801	–
DPB1*3901	–
DPB1*4001	–
DPB1*4101	–
DPB1*4401	–
DPB1*4501	–
DPB1*4601	–
DPB1*4701	–
DPB1*4801	–
DPB1*4901	–
DPB1*5001	–
DPB1*5101	–
DPB1*5201	–
DPB1*5301	–
DPB1*5401	–
DPB1*5501	–

Аллель	Специфичность
DQA1*0101	–
DQA1*0102	–
DQA1*0103	–
DQA1*0104	–
DQA1*0201	–
DQA1*03011	–
DQA1*03012	–
DQA1*0302	–
DQA1*0401	–
DQA1*0501e	–
DQA1*05011	–
DQA1*05012	–
DQA1*05013	–
DQA1*0502	–
DQA1*0601	–
DQB1*0501	DQ5(1)
DQB1*0502	DQ5(1)
DQB1*05031	DQ5(1)
DQB1*05032	DQ5(1)
DQB1*0504	–
DQB1*06011c	DQ6(1)
DQB1*06012	DQ6(1)
DQB1*0602	DQ6(1)
DQB1*0603	DQ6(1)
DQB1*0604	DQ6(1)
DQB1*06051c	DQ6(1)
DQB1*06052	DQ6(1)
DQB1*0606	–
DQB1*0607	–
DQB1*0608	–
DQB1*0609	–
DQB1*0201	DQ2
DQB1*0202	DQ2
DQB1*0301	DQ7(3)
DQB1*0302	DQ8(3)
DQB1*03031	DQ9(3)
DQB1*03032	DQ9(3)
DQB1*0304	DQ7(3)
DQB1*0305	–
DQB1*0401	DQ4
DQB1*0402	DQ4

Аллель	Специфичность
DMA*0101	–
DMA*0102	–
DMA*0103	–
DMA*0104	–
DMB*0101	–
DMB*0102	–
DMB*0103	–
DMB*0104	–

Аллель	Специфичность
DRA*0101	–
DRA*0102	–
DRB1*0101	DR1
DRB1*0102	DR1
DRB1*0103	DR103
DRB1*0104	DR1
DRB1*1501	DR15(2)
DRB1*15021c	DR15(2)
DRB1*15022	DR15(2)
DRB1*1503	DR15(2)
DRB1*1504	DR15(2)
DRB1*1601	DR16(2)
DRB1*1602	DR16(2)
DRB1*1603	–
DRB1*1604	DR16(2)
DRB1*1605	–
DRB1*1606	DR2
DRB1*03011c	DR17(3)
DRB1*03012	DR17(3)
DRB1*0302	DR18(3)
DRB1*0303	DR18(3)
DRB1*0304	DR3
DRB1*0401	DR4
DRB1*0402	DR4
DRB1*0403	DR4
DRB1*0404	DR4
DRB1*0405	DR4
DRB1*0406	DR4
DRB1*0407	DR4
DRB1*0408	DR4
DRB1*0409	DR4
DRB1*0410	DR4
DRB1*0411	DR4
DRB1*0412	DR4
DRB1*0413	DR4
DRB1*0414	DR4
DRB1*0415	DR4
DRB1*0416	DR4
DRB1*0417	DR4
DRB1*0418	DR4
DRB1*0419	DR4
DRB1*11011	DR11(5)
DRB1*11012	DR11(5)
DRB1*1102	DR11(5)
DRB1*1103	DR11(5)
DRB1*11041	DR11(5)
DRB1*11042	DR11(5)
DRB1*1105	DR11(5)
DRB1*1106	DR11(5)
DRB1*1107	–
DRB1*11081	DR11(5)
DRB1*11082	DR11(5)
DRB1*1109	DR11(5)
DRB1*1110	–
DRB1*1111	–
DRB1*1112	–
DRB1*1113	–
DRB1*1201	DR12(5)
DRB1*1202	DR12(5)
DRB1*1203	DR12(5)
DRB1*1301	DR12(6)
DRB1*1302	DR13(6)
DRB1*1303	DR13(6)
DRB1*1304	DR13(6)
DRB1*1305	DR13(6)
DRB1*1306	DR13(6)
DRB1*1307	–
DRB1*1308	DR13(6)
DRB1*1309	–
DRB1*1310	DR13(6)
DRB1*1311	DR13(6)
DRB1*1312	–
DRB1*1313	–
DRB1*1401	DR14(6)
DRB1*1402	DR14(6)
DRB1*1403	DR1403
DRB1*1404	DR1404
DRB1*1405	DR14(6)
DRB1*1406	DR14(6)
DRB1*1407	DR14(6)
DRB1*1408	DR14(6)
DRB1*1409	DR14(6)
DRB1*1410	–
DRB1*1411	–
DRB1*1412	–
DRB1*1413	–
DRB1*1414	–
DRB1*1415	–
DRB1*1416	–
DRB1*1417	–
DRB1*0701	DR7
DRB1*0801	DR8
DRB1*08021	DR8
DRB1*08022	DR8
DRB1*08031	DR8
DRB1*08032	DR8
DRB1*08041c	DR8
DRB1*08042	DR8
DRB1*0805	DR8
DRB1*0806	DR8
DRB1*0807	DR8
DRB1*0808	DR8
DRB1*0809	DR8
DRB1*0810	DR8
DRB1*0811	DR8
DRB1*09011	DR9
DRB1*09012	DR9
DRB1*1001	DR10
DRB3*0101	DR52
DRB3*0201	DR52
DRB3*0202	DR52
DRB3*0301	DR52

Приложение I: HLA-специфичности

DRB4*011	DR53
DRB4*01011c	DR53
DRB4*01012N	DR53
DRB4*0102	DR53
DRB4*0103	DR53
DRB5*0101	DR51
DRB5*0102	DR51
DRB5*0201	DR51
DRB5*0202	DR51
DRB5*0203	DR51
DRB6*0101	–
DRB6*0201	–
DRB6*0202	–
DRB7*01011	–
DRB7*01012	–

Аллель	Специфичность
B*0701	B7
B*0702	B7
B*0703	B703
B*0704	B7
B*0801	B8
B*0802	B8
B*1301	B13
B*1302	B13
B*1401	B64(14)
B*1402	B65(14)
B*1501	B62(15)
B*1502	B75(15)
B*1503	B72(70)
B*1504	B62(15)
B*1505	B62(15)
B*1506	B62(15)
B*1507	B62(15)
B*1508	B62(15)
B*1509	B70
B*1510	B7(70)
B*1511	B15
B*1512	B76(15)
B*1513	B77(15)
B*1514	B76(15)
B*1515	B62(15)
B*1516	B63(15)
B*1517	B63(15)
B*1518	–
B*1519	B76(15)
B*1520	B62(15)
B*1801	B18
B*1802	B18
B*2701	B27
B*2702	B27
B*2703	B27
B*2704	B27
B*27051c	B27
B*27052	B27
B*2706	B27
B*2707	B27
B*2708	–
B*3501	B35
B*3502	B35
B*3503	B35
B*3504	B35
B*3505	B35
B*3506	B35
B*3507	B35
B*3508	B35
B*3701	B37
B*3801	B38(16)
B*3802	B38(16)
B*39011c	B3901
B*39013	B3901
B*39021c	B3902
B*39022	B3902
B*3903	B39(16)
B*3904	B39(16)
B*40011c	B60(40)
B*40012	B60(40)
B*4002	B61(40)
B*4003	B40
B*4004	B40
B*4005	B4005
B*4006	B61(40)
B*4101	B41
B*4201	B42
B*4402	B44(12)
B*4403	B44(12)
B*4404	B44(12)
B*4501	B45(12)
B*4601	B46
B*4701	B47
B*4801	B48
B*4802	B48
B*4901	B49(21)
B*5001	B50(21)
B*5101	B51(5)
B*5102	B5102
B*5103	B5103
B*5104	B51(5)
B*5105	B51(5)
B*52011d	B52(5)
B*52012	B52(5)
B*5301	B53
B*5401	B54(22)
B*5501	B55(22)
B*5502	B55(22)
B*5601	B56(22)
B*5602	B56(22)
B*5701	B57(17)
B*5702	B57(17)
B*5801	B58(17)
B*5901	B59
B*6701	B67
B*7301	B73
B*7801	B7801

Аллель	Специфичность
Cw*0101	Cw1
Cw*0102	Cw1
Cw*0201	Cw2
Cw*02021	Cw2
Cw*02022	Cw2
Cw*0301	Cw3
Cw*0302	Cw3
Cw*0303	Cw3
Cw*0304	Cw3
Cw*0401	Cw4
Cw*0402	Cw4
Cw*0501	Cw5
Cw*0601	Cw6
Cw*0602	Cw6
Cw*0701	Cw7
Cw*0702	Cw7
Cw*0703	Cw7
Cw*0801	Cw8
Cw*0802	Cw8
Cw*0803	Cw8
Cw*1201	–
Cw*12021c	–
Cw*12022	–
Cw*1203	–
Cw*1301	–
Cw*1401	–
Cw*1402	–
Cw*1501	–
Cw*1502	–
Cw*1503	–
Cw*1504	–
Cw*1601	–
Cw*1602	–
Cw*1701	–
E*0101	–
E*0102	–
E*0103	–
E*0104	–
G*01011	–
G*01012	–
G*0102	–
G*0103	–

Аллель	Специфичность
A*0101	A1
A*0102	A1
A*0201	A2
A*0202	A2
A*0203	A203
A*0204	A2
A*0205	A2
A*0206	A2
A*0207	A2
A*0208	A2
A*0209	A2
A*0210	A210
A*0211	A2
A*0212	A2
A*0213	A2
A*0301	A3
A*0302	A3
A*1101	A11
A*1102	A11
A*2301	A23(9)
A*2401	A24(9)
A*2402	A24(9)
A*2403	A2403
A*2501	A25(10)
A*2601	A26(10)
A*2602	A26(10)
A*2603	A26(10)
A*2604	A26(10)
A*2901	A29(19)
A*2902	A29(19)
A*3001	A30(19)
A*3002	A30(19)
A*3003	A30(19)
A*31011	A31(19)
A*31012	A31(19)
A*3201	A32(19)
A*3301	A33(19)
A*3302	A33(19)
A*3401	A34(10)
A*3402	A34(10)
A*3601	A36
A*4301	A43
A*6601	A66(10)
A*6602	A66(10)
A*68011c	A68(28)
A*68012	A68(28)
A*6802	A68(28)
A*6901	A69(28)
A*7401	A74(19)
A*8001	–

Аллель	Специфичность
TAP1*0101	–
TAP1*02011	–
TAP1*02012	–
TAP1*0301	–
TAP1*0401	–
TAP2*0101	–
TAP2*0102	–
TAP2*0201	–

В столбце «Специфичность» представлены отдельные антигенные специфичности, идентифицированные серологически. Специфичности HLA-D определяются также в реакции смешанной культуры лимфоцитов. Специфичности, которые еще не определены достаточно точно, обозначены символом "w" (workshop). Указаны также аллельные варианты MHC-генов каждого локуса. (По Bodmer J.G., Marsh S.G.E., Parham P. et al. 1994. Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens* **44**: 1–18.)

Приложение II: CD-маркеры

CD-маркеры				Т-клетки	В-клетки	НК-клетки	Моноциты/ макрофаги	Гранулоциты	Тромбоциты	Дендритные клетки	Другие клетки
CD	Другое наименование; функция	Семейство	Мол. масса, кДа								
CD1a		IgSF	49	Тим							
CD1b	? Презентация липидов	IgSF	45	Тим						КЛ	
CD1c		IgSF	43	Тим						ДК	
CD1d	Презентация антигенов	IgSF	55	Тим							
CD2	Рецептор для LFA-3 (молекула адгезии)	IgSF	50								
CD3	Сигнальный комплекс, связанный с TkP (γ, δ, ε)(ζ, η)	IgSF IgSF	25, 20, 19, 16, 22								
CD4	Рецептор для молекул MHC класса II	IgSF	55								
CD5	Костимулятор (активация)	Scav	67								
CD6	Костимулятор (активация)	Scav	100								
CD7	Передача сигнала	IgSF	40								ЛСК
CD8	Рецептор молекул MHC класса I	IgSF	36, 32								
CD9	Активация тромбоцитов	TM4	24		П			Эо Б			
CD10	Нейтральная эндопептидаза	ZnMP	100	П	П						
CD11a	LFA-1	Intα	180								
CD11b	CR3	Intα	165								
CD11c	CR4	Intα	150								
CDw12			90–120								
CD13	Аминопептидаза N	ZnMP	150								
CD14	Рецептор для ЛПС-связывающего белка		53–55								
CD15	Сиалированный антиген группы крови Lewis X	Carb									
CD16	FcγRIIIA/FcγRIIIB	IgSF	50–65								
CD16b	FcγRIIIB	IgSF	48								
CDw17	Лактозилцерамид	Carb									
CD18	LFA-1/CD3/CR4	Intβ	95								
CD19	Субъединица В-клеточного корецептора	IgSF	95								ФДК
CD20	Образование Ca^{2+}-каналов	TM4	33–37								
CD21	Субъединица В-клеточного корецептора для CR2	CCP	140								ФДК
CD22	Молекула адгезии	IgSF	130–140								
CD23	FcεRII	Clec	45		★		★	Эо			
CD24	Костимулятор (активация)		41, 38								
CD25	Рецептор для ИЛ-2	CytR	55	★	★						
CD26	Дипептидилпептидаза IV		120	★	★						
CD27	Связывается с D70	TNFR	55								
CD28	Связывается с CD80, CD86	IgSF	44		★						
CD29	VLA-1 – VLA-6	Intβ	130								
CD30	Передача сигнала (апоптоз)	TNFR	120	★	★	★					
CD31	PECAM-1	IgSF	140								Энд
CD32	FcγRII	IgSF	40								
CD33	Гемопоэз; ? молекула клеточной адгезии (CAM)	IgSF	67								МСК
CD34	Связывается с L-селектином		105–120								Энд МСК
CD35	CR1	CCP	160–260								ФДК
CD36	Молекула адгезии		88								Энд
CD37	Передача сигнала (активация)	TM4	40–52								

Приложение II: CD-маркеры

CD-маркеры				Т-клетки	В-клетки	НК-клетки	Моноциты/ макрофаги	Гранулоциты	Тромбоциты	Дендритные клетки	Другие клетки
CD	Другое наименование; функция	Семейство	Мол. масса, кДа								
CD38	Передача сигнала (адгезия)		45	★	ПК						ЛСК
CD39	Экто-АТРаза; гидролизует АТР с образованием дифосфата		70–100		★	★					ФДК
CD40	Связывает CD154, костимулятор	TNFR	48								ФДК
CD41	GPIIb, адгезия к матриксу	Intα	120, 25								
CD42a	GPIX; адгезия		23								
CD42b	GPIbα; адгезия		135, 23								
CD42c	GPIbβ; адгезия		22								
CD42d	GPV; адгезия		85								
CD43	Лейкосиалин; связывается с CD54	Muc	95								
CD44	Pgp-1; адгезия к матриксу		80–95								
CD45	Общий лейкоцитарный антиген (LCA)		200								
CD45RA	Изоформа LCA		220								
CD45RB	Изоформа LCA		190–205								
CD45RO	Изоформа LCA		190								
CD46	MCP (мембранный кофакторный белок)	CCP	66, 56								
CD47	CAM; ассоциирована с группой крови Rh; костимуляция Т-клеток		47, 52								
CD48	Связывается с CD2 (у грызунов)	IgSF	41								
CD49a	VLA-1; адгезия к матриксу	Intα	210	★							
CD49b	VLA-2; адгезия к матриксу	Intα	160								
CD49c	VLA-3; адгезия к матриксу	Intα	125								
CD49d	VLA-4; адгезия	Intα	150, 80, 70							КЛ	
CD49e	VLA-5; адгезия к матриксу	Intα	135, 25								
CD49f	VLA-6; адгезия к матриксу	Intα	120, 25								
CD50	ICAM-3	IgSF	124								
CD51	Рецептор для витронектина α	Intα	120, 24								
CD52	Campath-1		21–28								
CD53	OX-44	TM4	32–40								
CD54	ICAM-1	IgSF	75–115								
CD55	DAF (фактор, ускоряющий диссоциацию, ФУД)	CCP	70								
CD56	NCAM (молекула адгезии нервных клеток)	IgSF	220, 135								
CD57	HNK-1		110								
CD58	LFA-3, связывается с CD2	IgSF	40–65								
CD59	Протектин		19								
Cdw60	NeuAC-NeuAc-Ga1	Carb									
CD61	Субъединица рецептора для витронектина	Intβ	105								Энд
CD62E	E-селектин	Clec	115								★ Энд
CD62L	L-селектин	Clec	75–80								
CD62P	P-селектин	Clec	180								★ Энд
CD63		TM4	53						★		
CD64	FcγRI	IgSF	70								
CD65	Церамид-додекасахарид	Carb									
CD66a	BGP-1	IgSF	180–200								
CD66b	Прежнее обозначение – CD67	IgSF	95–100								
CD66c	NCA	IgSF	90–95								
CD66d	CGMI	IgSF	30								

Приложение II: CD-маркеры

CD-маркеры				Т-клетки	В-клетки	НК-клетки	Моноциты/ макрофаги	Гранулоциты	Тромбоциты	Дендритные клетки	Другие клетки
CD	Другое наименование; функция	Семейство	Мол. масса, кДа								
CD66e	Раково-эмбриональный антиген (РЭА)	IgSF	180–200								
CD66f	Специфический гликопротеин беременности	IgSF									
CD68	Макросиалин		110								
CD69	Индукция активации	Clec	32, 28	★	★	★	★				
CD70	Связывается с CD27	TNF	175, 95, 75	★	★		★				
CD71	Рецептор для трансферрина		95	★	★	★	★				★
CD72	CAM: лиганд D5	Clec	43, 39								
CD73	Экто-5′-нуклеотидаза		69								
CD74	Ii (инвариантная цепь MHC-молекул класса II)		41, 35, 33								
CD75	α-2,6-сиалилтрансфераза, связывается с CD22		53								
CDw76	NeuAc α-2,6(GAlβ1,4GlcNac)n	Carb									Энд
CD77	Глоботриаосилцерамид	Carb									
CDw78	Детерминанта MHC-молекул класса II										
CD79a	Igα	IgSF	33								
CD79b	Igβ	IgSF	39								
CD80	B7-1; связывается с CD28 и CD152	IgSF	60								
CD81	TAPA; элемент B-клеточного корецептора	TM4	26								
CD82	Т-клеточная костимуляция, ассоциирует с CD4 или CD8	TM4	60								
CD83	? Презентация антигенов	IgSF	43								
CDw84	? Костимуляция		74								
CD85											
CD86	B7-2; связывается с CD28 и CD152	IgSF	80		★						
CD87	Активатор плазминогена урокиназного типа		35–59								
CD88	C5αR	TM7	43								ТК
CD89	Fc5αR	IgSF	50–70								
CD90	Thy-1	IgSF	25–35	Тим							
CD91	Рецептор для α_2-макроглобулина	LDLR	515, 85								
CDw92			70					Н			Энд
CD93			120					Н			Энд
CD94	Связывается с MHC-молекулами класса I	Clec	70								
CD95	FAS; передача сигнала (апоптоз)	TNFR	43								
CD96	CAM; связывается с CD62E, P	IgSF	160	★							
CD97	Связывается с CD55	EGFR	75–85	★	★						
CD98	Модулирует уровень внутриклеточного Ca^{2+}		80, 45								
CD99			32								
CD100	? Пролиферация		150								
CD101	Активация Т-лимфоцитов дендритными клетками	IgSF	120	★							
CD102	ICAM-2; связывается с LFA-1	IgSF	55, 65								Энд
CD103	αEβ-интегрин	Intα	150, 25								
CD104	β4-интегрины	Intβ	220								Энд

Приложение II: CD-маркеры

CD-маркеры											
CD	Другое наименование; функция	Семейство	Мол. масса, кДа	Т-клетки	В-клетки	НК-клетки	Моноциты/макрофаги	Гранулоциты	Тромбоциты	Дендритные клетки	Другие клетки
CD105	Эндоглин; связывается с ТФРβ		90				★				Энд
CD106	VCAM-1; связывается с VLA-4	IgSF	90–110								★ Энд
CD107a			110	★				★	★		★ Энд
CD107b			120	★				★	★		★ Энд
CDw108			80								
CD109	Фактор активации тромбоцитов		170	★					★		Энд
CD114	Рецептор для Г-КСФ, рецептор для ИЛ-10		110–130								
CD115	Рецептор для М-КСФ	IgSF	150–130								
CD116	α-Цепь рецептора для ГМ-КСФ	CytR	60								
CD117	c-kit; рецептор для фактора стволовых клеток	IgSF	145	Тим							СК
CD118	Рецептор для ИФα, β										
CD119	Рецептор для ИФγ		90–100								
CD120a	Рецептор I для ФНО	TNFR	60								
CD120b	Рецептор II для ФНО	TNFR	75–85								
CD121a	Рецептор I для ИЛ-1	IgSF	80								Энд
CDw121b	Рецептор II для ИЛ-1	IgSF	60–70								
CD122	β-Цепь рецептора для ИЛ-2	CytR	75								
CD123	Рецептор для ИЛ-3	CytR	70								СК
CD124	Рецептор для ИЛ-4	CytR	130–150								
CD125	Рецептор для ИЛ-5	CytR	55–60		★			Эо			
CD126	Рецептор для ИЛ-6	IgSF	80		★						Энд
CD127	Рецептор для ИЛ-7		66–80								ЛСК
CD128	Рецептор для ИЛ-8; хемокиновый рецептор CXCR1	TM7	58								
CD130	Общая субъединица рецепторов для ИЛ-6 и ИЛ-11	IgSF	130		★						
CDw131	Общая субъединица рецепторов для ИЛ-3 и ИЛ-5	CytR	140								СК
CD132	Общая субъединица рецепторов для ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15	CytR	64								
CD134	? Молекула адгезии	TNFR	50	★							
CD135			155, 130		П		П				СК
CDw136	Хемотаксис, фагоцитоз, рост и дифференцировка клеток		180								
CDw137	Костимулятор (активация)	TNFR	30								
CD138	Синдекан; связывается с коллагеном I типа										
CD139			228, 209								
CD140	Рецептор для PDGF (тромбоцитарного фактора роста)		180, 180								Энд
CD141	Тромбомодулин	Clec	105								Энд
CD142	Тканевой фактор, тромбопластин		46								
CD143	ACE (фермент, конвертирующий ангиотензин)	ZnMP	170–180	★		★					Энд
CD144	VE-кадгерин; адгезия		135								Энд
CD145			110, 90, 25								Энд
CD146	? Адгезия	IgSF	130								Энд
CD147	Нейротелин, базигин? Адгезия	IgSF	55–65								Энд
CD148	Контактное ингибирование		250								
CDw149	MEM3										

Приложение II: CD-маркеры

CD-маркеры				Т-клетки	В-клетки	НК-клетки	Моноциты/ макрофаги	Гранулоциты	Тромбоциты	Дендритные клетки	Другие клетки
CD	Другое наименование; функция	Семейство	Мол. масса, кДа								
CDw150	SLAM ? Передача сигнала		75–95								
CD151	PETA3 ? Сигнализация (адгезия)	TM4	32								Энд
CD152	CTLA-4; связывается с CD80 и CD86	IgSF	33	*							
CD153	CD30L; связывается с CD30	TNF	38–40	*			*				
CD154	CD40L; связывается с CD40	TNFR	32–39	*							
CD155	Рецептор вируса полиомиелита	IgSF	80–90	Тим							
CD156	ADAM8		60–70								
CD157	ADP-рибозилциклаза		42–50								ФДК Энд
CD158a	p58.1, p50.1; связывается с MHC-молекулами класса I (KIR)	IgSF	58, 50								
CD158b	p58.2, p50.3; связывается с MHC-молекулами класса I (KIR)	IgSF	58, 50								
CD158c	p58.2, p50.2; активация (цитотоксичность)	IgSF	58, 50								
CD161	NKRP-1; модулирует цитотоксичность	Clec	44								
CD162	PSGL-1; связывается с P-селектином		240								
CD163	M130		130								
CD164	MGC-24; адгезия к стромальным клеткам		80								СК
CD165	AD2; адгезия к эпителию тимуса		37	Тим							
CD166	ALCAM; связывается с CD6	IgSF	100	*	*						

В таблице представлены описанные к настоящему времени CD-маркеры (гемопоэтических клеток) и их распределение. Сокращенные наименования клеток:

Б – базофилы;
ДК – дендритные клетки;
КЛ – клетки Лангерганса;
ЛСК – лимфоидные стволовые клетки;
МСК – миелоидные стволовые клетки;
Н – нейтрофилы;
П – клетки-предшественники;
ПК – плазматические клетки;
СК – стволовые клетки;
Тим – тимоциты;
ТК – тучные клетки;
ФДК – фолликулярные дендритные клетки;
Энд – эндотелиальные клетки;
Эо – эозинофилы.

Сокращенные наименования основных семейств и суперсемейств, к которым относятся CD-маркеры (субъединицы некоторых CD-молекул относятся к разным семействам):

IgSF – суперсемейство иммуноглобулинов;
Scav – суперсемейство скевенджер-рецепторов;
TM4 – семейство трансмембранных белков, четырехкратно пронизывающих мембрану;
TM7 – семейство трансмембранных рецепторных белков, семикратно пронизывающих мембрану и сопряженных с G-белками;
ZnMP – цинк-содержащая металлопротеиназа;
Intα – семейство α-интегринов;
Intβ – семейство β-интегринов;
Carb – углеводы;
CCP – белки, регулирующие активность комплемента;
Clec – белки, содержащие лектиновые домены С-типа;
CytR – семейство рецепторов для гемопоэтических цитокинов;
TNFR – семейство рецепторов для фактора некроза опухолей (ФНО) и фактора роста нервной ткани;
Muc – семейство муцинов;
TNF – ФНО-подобные белки;
CAM – молекула клеточной адгезии.

Символ «w» (workshop) означает, что идентификация CD-маркера носит предварительный характер.

Молекула экспрессирована

Молекулу экспрессирует только субпопуляция

Молекула не экспрессирована или экспрессия пока не определена

* Молекула экспрессирована только на активированных клетках

Более подробная информация о многих CD-маркерах содержится в «CD guides» (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/prow).

Приложение III: основные цитокины

Цитокин	Клетки иммунной системы – продуценты	Другие клетки	Главные клетки-мишени	Основные эффекты
ИЛ-1α ИЛ-1β	Макрофаги, БГЛ, В-клетки	Эндотелий, фибробласты, астроциты и др.	Т-клетки, В-клетки, макрофаги, эндотелий, клетки тканей	Активация лимфоцитов, стимуляция макрофагов, усиление адгезии лейкоцитов/эндотелиальных клеток, гипертермия, продукция белков острой фазы
ИЛ-2	Т-клетки		Т-клетки	Пролиферация и дифференцировка Т-клеток, активация цитотоксических лимфоцитов и макрофагов
ИЛ-3	Т-клетки	Стволовые клетки		Полипотентный колониестимулирующий фактор
ИЛ-4	Т-клетки		В-клетки, Т-клетки	Фактор роста В-клеток, селекция изотипов – стимуляция синтеза IgE и IgG1
ИЛ-5	Т-клетки		В-клетки	Фактор роста и дифференцировки В-клеток, стимуляция синтеза (селекция) IgA
ИЛ-6	Т-клетки, В-клетки	Фибробласты, макрофаги	В-клетки, гепатоциты	Дифференцировка В-клеток, индукция синтеза белков острой фазы
ИЛ-7		Стромальные клетки костного мозга	Пре-В-клетки, Т-клетки	Пролиферация В- и Т-клеток
ИЛ-8	Моноциты	Фибробласты	Нейтрофилы, базофилы, Т-клетки, кератиноциты	Хемотаксис, ангиогенез, выделение супероксидного радикала, дегрануляция
ИЛ-9	Т-клетки			Повышение выживаемости Т-клеток, активация тучных клеток, синергичное действие с эритропоэтином
ИЛ-10	Т-клетки		Тх1-клетки	Ингибирование синтеза цитокинов
ИЛ-11		Стромальные клетки костного мозга	Гемопоэтические предшественники остеокластов	Образование остеокластов, колониестимулирующий фактор, повышение числа тромбоцитов in vivo, подавление продукции провоспалительных цитокинов
ИЛ-12	Моноциты		Т-клетки	Индукция Тх1-клеток
ИЛ-13	Активированные Т-клетки		Моноциты, В-клетки	Рост и дифференцировка В-клеток, подавление продукции провоспалительных цитокинов
ИЛ-14	Т-клетки			Стимулирует пролиферацию активированных В-клеток, ингибирует секрецию Ig
ИЛ-15	Моноциты	Эпителий, мышечные клетки	Т-клетки, активированные В-клетки	Пролиферация
ИЛ-16	Эозинофилы, Т-клетки $CD8^+$		Т-клетки $CD4^+$	Хемотаксис Т-клеток $CD4^+$
ИЛ-17	Т-лимфоциты $CD4^+$		Эпителий, фибробласты, эндотелий	Высвобождение ИЛ-6, ИЛ-8, Г-КСФ, ПГЕ2, повышение уровня ICAM-1, стимуляция способности фибробластов поддерживать рост $CD34^+$-предшественников
ИЛ-18		Гепатоциты	Мононуклеары периферической крови	Индуцирует продукцию ИФγ, повышает активность НК-клеток

Приложение III: основные цитокины

Цитокин	Клетки иммунной системы – продуценты	Другие клетки	Главные клетки-мишени	Основные эффекты
ФНОα	Макрофаги, тучные клетки, лимфоциты		Макрофаги, гранулоциты, клетки тканей	Активация макрофагов, гранулоцитов и цитотоксических клеток, усиление адгезии лейкоцитов/эндотелиальных клеток, кахексия, гипертермия, индукция синтеза белков острой фазы, стимуляция ангиогенеза, повышение продукции MHC-антигенов класса II
ФНОβ (ЛТ)	Лимфоциты			Аналогично ФНОα
ИФα	Лейкоциты	Эпителий, фибробласты	Клетки тканей	Индукция синтеза MHC-антигенов класса I, антивирусный эффект, стимуляция НК-клеток, антипролиферативный эффект, стимуляция продукции ИЛ-12 и функций Тх1-клеток
ИФβ		Фибробласты, эпителий	Клетки тканей, лейкоциты	Индукция синтеза MHC-антигенов класса I, противовирусный и антипролиферативный эффекты
ИФγ	Т-клетки, НК-клетки	Эпителий, фибробласты	Лейкоциты, клетки тканей, Тх2-клетки	Индукция синтеза MHC-антигенов классов I и II, активация макрофагов, адгезия клеток эндотелия/лимфоцитов, синтез цитокинов макрофагами, противовирусный и антипролиферативный (Тх1-клетки) эффекты
М-КСФ	Моноциты	Эндотелий, фибробласты		Пролиферация предшественников макрофагов
Г-КСФ	Макрофаги	Фибробласты	Стволовые клетки	Стимуляция деления и дифференцировки
ГМ-КСФ	Т-клетки, макрофаги	Эндотелий, фибробласты		Активатор пролиферации предшественников гранулоцитов и макрофагов
MIF	Т-клетки		Макрофаги	Торможение миграции
MCP-1	Моноциты	Эпителий	Моноциты, Т-клетки, тучные клетки, базофилы, стволовые клетки	Хемотаксис, адгезия, высвобождение гистамина, подавление колониеобразования
MIP-1α	Т-клетки, моноциты, нейтрофилы	Фибробласты	Моноциты, Т- и В-клетки, НК-клетки, тучные клетки, эозинофилы, дендритные клетки, стволовые клетки	Хемотаксис, вспышка клеточного дыхания, адгезия, подавление колониеобразования
RANTES	Т-клетки		Моноциты, Т-клетки, НК-клетки, эозинофилы, базофилы, дендритные клетки	Хемотаксис, высвобождение гистамина
Эотаксин	Моноциты		Эозинофилы	Хемотаксис
IP-10	Моноциты		Т-клетки, НК-клетки, эндотелиальные клетки	Хемотаксис, цитолитическая активность, подавление ангиогенеза

Сокращения: ИЛ – интерлейкин; ФНО – фактор некроза опухолей; ИФ – интерферон; М-КСФ – макрофагальный колонистимулирующий фактор; Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; MIF – фактор, ингибирующий миграцию макрофагов; MCP – хемотаксический белок макрофагов; MIP – воспалительный белок макрофагов; RANTES, от Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted – хемокин, выделяемый неиммунными Т-клетками при активации.

Словарь терминов

Авидность. Мера прочности связывания антител с антигеном, определяемая как аффинностью взаимодействия между эпитопами и паратопами, так и валентностью антител и антигена.

Адъювант. Вещество, неспецифически стимулирующее иммунный ответ на антиген.

Адъювант Фрейнда. Водно-масляная эмульсия, которую используют для повышения иммуногенности вносимого в нее антигена. Полный а.Ф., в отличие от неполного, дополнительно содержит убитые клетки туберкулезных микобактерий.

Активные метаболиты кислорода и азота. Бактерицидные метаболиты, образуемые фагоцитирующими клетками. К ним относятся супероксидный радикал, пероксид водорода, гипогалогениты и оксид азота NO.

Аллельное исключение. Феномен экспрессии только одного аллеля гена – из отцовской или материнской хромосомы. Характерен для генов иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора.

Аллерген. Агент (например, цветочная пыльца, пыль, перхоть животных), вызывающий опосредованные IgE-антителами реакции гиперчувствительности.

Аллергия. Первоначально этим термином называли измененную форму реакции организма при повторном контакте с антигеном. В настоящее время его применяют для обозначения реакций гиперчувствительности I типа.

Аллотипы. Аллельные варианты белков, различающиеся по антигенной специфичности у разных особей одного и того же вида.

Альтернативный путь активации комплемента. Процесс активации системы комплемента с участием компонента C3 и факторов B, D, P, H и I, взаимодействующих в непосредственной близости к активирующей поверхности с образованием C3-конвертазы альтернативного пути.

Анафилаксия. Антигенспецифическая иммунная реакция, опосредованная главным образом IgE-антителами. Проявляется в расширении сосудов и сокращении гладких мышц. Возникающее вследствие этого сужение бронхов может вызвать гибель животного.

Анафилатоксины. Пептидные фрагменты компонентов комплемента (C3a и C5a), вызывающие дегрануляцию тучных клеток и сокращение гладкой мускулатуры.

Антивирусные белки. Белки, синтез которых индуцируют интерфероны. Активируются при инфицировании клетки вирусом и ограничивают его размножение.

Антигенная детерминанта. См. Эпитоп.

Антигенные пептиды. Связываемые молекулами MHC пептидные фрагменты белков, активирующие Т-клетки.

Антигенпрезентирующие клетки (АПК). Разнообразные типы клеток, представляющих на своей поверхности процессированный антиген.

Антигены. Вещества, взаимодействующие со специфическими рецепторами Т- и В-клеток.

Антигены групп крови. Серии аллотипически вариабельных молекул, экспрессируемых на поверхности эритроцитов (иногда и клеток тканей), которые могут быть антигенами-мишенями при трансфузионных реакциях.

Антигены Т-зависимые/Т-независимые. Для иммунного ответа на Т-зависимые антигены необходимо их распознавание как Т-, так и В-клетками. Т-независимые антигены могут индуцировать синтез антител, действуя непосредственно на В-клетки.

Ly-Антигены. Группа поверхностных клеточных маркеров, обнаруженных на Т-клетках мыши и позволяющих дифференцировать Т-клеточные субпопуляции. В настоящее время многие из них классифицированы как CD-маркеры.

Антитела. Молекулы, продуцируемые организмом в ответ на воздействие антигена и специфически связывающиеся с этим антигеном.

Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность (АЗКЦ). Цитотоксическая реакция, основанная на распознавании клеток-мишеней киллерными клетками, несущими Fc-рецептор, при участии специфических антител.

АОК (антителообразующая клетка). Плазматическая клетка, секретирующая антитела.

Артюса реакция. Воспаление, развивающееся в коже спустя несколько часов после введения антигена,– реакция гиперчувствительности III типа.

Атопия. Клинические симптомы реакций гиперчувствительности I типа, включая экзему, астму и ринит.

Аутоиммунитет. Состояние, при котором иммунная система приобретает способность распознавать собственные антигены организма и реагировать на них.

Аутокринный. Определение, относящееся к действию цитокина на продуцирующие его клетки.

Аффинность. Степень прочности связи антигенной детерминанты (эпитопа) со связывающим участком антитела (паратопом).

Белая пульпа. Лимфоидный компонент селезенки, состоящий из образованных лимфоцитами и антигенпрезентирующими клетками периартериолярных муфт.

Белки острой фазы (острофазные белки). Сывороточные белки, уровень которых повышается при инфекциях или воспалительных процессах.

Белок А и белок G. Компоненты клеточной стенки некоторых штаммов стафилококков, связывающиеся с Fc-фрагментом большинства изотипов IgG.

Бляшкообразующая клетка. Антителопродуцирующая клетка, выявляемая in vitro по способности лизировать сенсибилизированные антигеном эритроциты.

Большие гранулярные лимфоциты (БГЛ). Лимфоциты определенного морфологического типа, обладающие большинством активностей К- и НК-клеток. Имеют маркеры как лимфоцитов, так и моноцитов/макрофагов.

Брадикинин. Вазоактивный нонапептид – наиболее важный медиатор в кининовой системе.

БЦЖ (от BCG – бацилла Кальметта–Герена). Аттенуированный штамм *Mycobacterium tuberculosis*, применяемый в качестве вакцины; используется также как адъювант или модификатор биологических реакций.

Вазоактивные амины. Секретируемые базофилами, тучными клетками и тромбоцитами продукты, например гистамин и 5-гидрокситриптамин; действуют на эндотелий и локально на сосуды гладкой мускулатуры.

Венулы с высоким эндотелием. Область венулы, откуда лимфоциты мигрируют в лимфатические узлы.

Вирус Эпштейна—Барр (ЭБВ). Возбудитель лимфомы Беркитта и инфекционного мононуклеоза. Обладает способностью трансформировать В-клетки человека таким образом, что они образуют стабильные клеточные линии.

Воспаление. Совокупность процессов, вызывающих миграцию клеток и приток молекул иммунной системы в очаг инфекции или повреждения. Проявляется усилением кровоснабжения, повышением сосудистой проницаемости и усиленной миграцией лейкоцитов через эндотелий.

Вспышка клеточного дыхания. Резкое усиление окислительных метаболических процессов в фагоцитах после поглощения опсонизированных частиц.

Вторичный иммунный ответ. Иммунная реакция, возникающая после повторного или многократного воздействия данного антигена.

Гаплотип. Набор генетических детерминант (аллелей) в одной хромосоме.

Гаптен. Небольшая молекула, которая может действовать как эпитоп, но сама по себе неспособна вызвать образование антител.

Генетическая ассоциация. Связь определенного генотипа с каким-либо процессом, например с тем или иным заболеванием.

Генетическая рестрикция. См. Рестрикция по антигенам MHC классов I/II.

Геном. Вся совокупность генетического материала (генов) клетки.

Генотип. Генетический материал, унаследованный особью от родителей; не всегда экспрессируется в полном объеме.

Гены иммунного ответа (Ir-гены). Гены, влияющие на уровень иммунного ответа. В регуляции иммунных реакций на специфические антигены весьма существенную роль играют MHC-гены класса II.

Гены RAG-1 и RAG-2 (recombination activating genes). Гены, активирующие рекомбинацию и необходимые для перестройки генных сегментов V, D и J при образовании функционально активных генов антигенных рецепторов.

С-Гены. Генные сегменты, кодирующие константную часть тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов, а также α-, β-, γ- и δ-цепей Т-клеточного рецептора.

D-Гены. Генные сегменты, расположенные между V- и J-сегментами генов тяжелых цепей иммуноглобулинов и генов β- и δ-цепей Т-клеточного рецептора; рекомбинируются с V- и J-генами в онтогенезе.

J-Гены. Группы генных сегментов, входящие в состав генов тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов и цепей Т-клеточного рецептора. При перестройке ДНК во время дифференцировки лимфоцитов J-гены соединяются с другими сегментами генов, кодирующих вариабельные домены.

Гетерологичный. Термин, обозначающий межвидовые антигенные различия.

Гетероядерная РНК (гяРНК). Фракция ядерной РНК; представляет собой первичные, не прошедшие процессинг предшественники цитоплазматических мРНК.

Гибридома. Гибридная клеточная линия, полученная in vitro путем слияния клеток двух типов, обычно лимфоцитов и клеток опухоли.

Гигантские клетки. Крупные многоядерные клетки, иногда обнаруживаемые при гранулематозных реакциях. Предположительно образуются путем слияния макрофагов.

5-Гидрокситриптамин. Вазоактивный амин, содержащийся в тромбоцитах; основной медиатор воспаления у грызунов.

Гипервариабельная область. Три наиболее вариабельных района V-доменов иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов. Эти районы расположены в непосредственной близости друг от друга в дистальной части V-домена и формируют антигенсвязывающий центр.

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). Этим термином обозначают замедленные кожные реакции при гиперчувствительности IV типа.

Гистамин. Основной вазоактивный амин, высвобождающийся из гранул тучных клеток и базофилов.

Гистосовместимость. Возможность приживления трансплантированных органов или тканей, определяемая идентичностью тканевых антигенов донора и реципиента.

Главный комплекс гистосовместимости (MHC, от англ. major histocompatibility complex). Имеющийся у всех млекопитающих комплекс генов, продукты которых в первую очередь ответственны за отторжение аллогенных трансплантатов и взаимодействие лимфоцитов с антигенпрезентирующими клетками.

Голые, или бестимусные, мыши. Мыши с врожденным отсутствием тимуса, несущие также тесно сцепленный с этим признаком ген, обусловливающий отсутствие шерстного покрова.

Гомологичные факторы рестрикции. Компоненты комплемента, ограничивающие действие лизирующего комплекса на клетки организма-хозяина.

Гранзимы. Ферменты, содержащиеся в гранулах цитотоксических Т-клеток и больших гранулярных лимфоцитов.

Гранулематозная реакция. Хронический воспалительный процесс (часто проявление гиперчувствительности IV типа), обусловленный длительной персистенцией антигена в тканях.

Гранулоциты. Нейтрофилы, эозинофилы и базофилы.

Гуморальный. Относящийся к внеклеточным жидкостям, включая сыворотку крови и лимфу.

Дендритные (ветвистые) клетки. Присутствующие в тканях клетки, которые захватывают антигены и мигрируют в лимфатические узлы и селезенку, где особенно активны как АПК.

Дефензины. Группа продуцируемых нейтрофилами низкомолекулярных белков, обладающих антибактериальной активностью.

Домен. Область пептида, имеющая когерентную третичную структуру. Домены имеются в молекулах иммуноглобулинов и MHC классов I и II.

С-Домены. Константные домены антител и Т-клеточных рецепторов. Эти домены не формируют антигенсвязывающий центр и весьма сходны у различных TkP, т.е. незначительно влияют на их вариабельность.

CCP-Домены (домены белков, регулирующих активацию комплемента) (CCP – complement control protein) (называемые также короткими консенсусными повторами). Домены, обнаруженные во многих компонентах классического и альтернативного путей активации комплемента, некоторых рецепторах комплемента и регуляторных белках.

V-Домены. N-концевые домены тяжелых и легких цепей Ig и α-, β-, γ- и δ-цепей Т-клеточного рецептора. Кодирующие их V-гены рекомбинируются с соответствующими D- и J-генами в процессе дифференцировки лимфоцитов.

Доминантные идиотипы. Индивидуальные идиотипы, которые преобладают среди идиотипов антител, образующихся при иммунном ответе на данный антиген.

Зародышевая линия. Набор превращающихся в гаметы клеток, генетический материал которых еще не подвергся модификации в результате соматической рекомбинации или созревания.

Идиотип. Антигенная характеристика V-области антител, определяемая набором идиотопов.

Идиотоп. Отдельная антигенная детерминанта, расположенная в V-области молекулы Ig.

Изотипы. Генетические варианты в пределах того или иного семейства белков или пептидов. В геноме каждой особи данного вида представлен каждый изотип семейства (например, классы иммуноглобулинов).

Иккосомы. Иммунные комплексы, обнаруживаемые в виде мелких включений в фолликулярных дендритных клетках.

Иммунногенность. Свойство вызывать иммунные реакции, опосредованные B- и/или Т-клетками.

Иммунное усиление. Продление срока выживаемости трансплантированных органов или тканей при введении антител к аллоантигенам трансплантата.

Иммунный комплекс. Продукт реакции антиген—антитело, который может также содержать в своем составе компоненты системы комплемента.

Иммуноблоттинг (вестерн-блоттинг). Метод идентификации белков и определения их свойств с использованием антител.

Иммуноглобулины. Сывороточные антитела, подразделяемые на классы IgG, IgM, IgA, IgE и IgD.

Иммунофлуоресценция. Метод микроскопической идентификации антигенов в тканях или на клетках с использованием конъюгатов специфических антител с флуоресцентным красителем.

Интегрины. Обширное семейство молекул адгезии, присутствующих на клеточной поверхности. Некоторые из них взаимодействуют с молекулами клеточной адгезии, другие с фрагментами комплемента, третьи с компонентами внеклеточного матрикса.

Интерлейкины (ИЛ-1 – ИЛ-18). Группа молекул, участвующих в передаче сигналов между клетками иммунной системы.

Интерфероны (ИФ). Группа молекул, посредством которых клетки иммунной системы обмениваются информацией (сигналами), а также обеспечивают защиту организма от вирусных инфекций.

Интрон. Генный сегмент, расположенный между экзонами и представляющий собой, как правило, некодирующую последовательность.

Инъекционная проба. Внутрикожное введение незначительного количества антигена для пробы на гиперчувствительность I типа.

Кариотип. Хромосомный набор соматических клеток, который может варьировать среди особей данного вида в зависимости от состава половых хромосом, а также от транслокаций между участками различных хромосом.

Каркасные сегменты. Фрагменты V-областей антител, расположенные между гипервариабельными районами.

Кинины. Группа вазоактивных медиаторов, образующихся при повреждении тканей.

Классический путь активации комплемента. Активация комлемента комплексами антиген–антитело с участием компонентов C1, C2 и C4 и образованием C3-конвертазы классического пути.

Клетки иммунологической памяти. Долгоживущие лимфоциты, примированные соответствующим антигеном, но не прошедшие конечную дифференцировку в эффекторные клетки. При повторной стимуляции тем же антигеном реагируют быстрее, чем непримированные лимфоциты.

Клетки Купфера. Фагоцитарные клетки, выстилающие кровеносные синусоиды печени.

Клетки Лангерганса. Антигенпрезентирующие клетки кожи, которые мигрируют в регионарные лимфатические узлы, где превращаются в дендритные клетки; активны в презентации антигенов Т-клеткам.

Клетки миелоидного ряда. Фагоциты костномозгового происхождения, в том числе нейтрофилы, эозинофилы и моноциты.

Клетки-«пассажиры». Лейкоциты, содержащиеся в трансплантате донора и способные сенсибилизировать реципиента к антигенам трансплантата.

В-Клетки. Лимфоциты, образующиеся в костном мозге взрослого организма и продуцирующие антитела.

К-Клетки. Популяция лимфоцитов, способных лизировать клетки-мишени в реакции антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности. Обладают Fc-рецепторами.

Т-Клетки. Лимфоциты, дифференцировка которых происходит главным образом в тимусе. Выполняют ключевые функции в развитии и регуляции иммунного ответа.

γ/δ-Т-Клетки. Минорная субпопуляция Т-клеток, экспрессирующих γ/δ-Т-клеточный рецептор.

Клеточноопосредованный (клеточный) иммунитет. Иммунные реакции, опосредуемые клетками, а не антителами или другими гуморальными факторами.

Клеточный цикл. Процесс клеточного деления, состоящий из 4 фаз: G1, S, G2 и M. Репликация ДНК происходит во время S-фазы, а деление клеток – в M-фазе (фаза митоза).

В-Клеточный корецепторный комплекс. Группа молекул клеточной поверхности, состоящая из рецептора комплемента 2 типа (CD21), молекул CD81 и CD19. Действует как костимулирующий рецептор зрелых В-клеток.

В-Клеточный рецепторный комплекс. Поверхностный иммуноглобулин В-клеток и связанные с ним сигнальные молекулы CD79a и CD97b.

Т-Клеточный рецептор (ТкР). Антигенный рецептор Т-клеток, представляющий собой димер из α- и β-цепей (ТкР-2) или γ- и δ-цепей (ТкР-1) в ассоциации с молекулярным комплексом CD3.

Клональная селекция. Один из основных постулатов иммунологии, согласно которому данный антиген вызывает избирательную активацию, деление и дифференцировку только тех клеток, которые экспресируют рецепторы, способные связываться с этим антигеном.

Коллектины. Группа высокомолекулярных белков, включающая конглютинин и маннан-связывающий лектин (МСЛ), которые могут опсонизировать микробные клетки.

Колониестимулирующие факторы (КСФ). Группа цитокинов, регулирующих дифференцировку гемопоэтических клеток.

Комплемент. Система сывороточных белков, принимающая участие в регуляции воспалительных процессов, активации фагоцитоза и литическом действии на клеточные мембраны. Активация комплемента происходит в результате взаимодействия его компонентов с иммунными комплексами (классический путь активации).

Конгенные животные. Специально выведенные линии животных, имеющие идентичные генотипы,

за исключением одного определенного локуса.

C3-Конвертазы. Ферментные комплексы $\overline{C3bBb}$ и $\overline{C4b2a}$, расщепляющие компонент C3 комплемента.

Конканавалин А (КонА). Т-клеточный митоген.

Контактная гиперчувствительность. Замедленная воспалительная кожная реакция при гиперчувствительности IV типа.

Константная область. Относительно инвариантная область легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов, а также α-, β-, γ- и δ-цепей Т-клеточного рецептора.

Конъюгат. Реагент, состоящий из двух ковалентно связанных молекул, например флуоресцеина и иммуноглобулина.

Костимуляция. Сигналы, необходимые для активации лимфоцитов в дополнение к антигенспецифическому сигналу, опосредованному антигенным рецептором. Важной костимулирующей молекулой Т-клеток является CD28, В-клеток — CD40.

Ксеногенный. Определение, относящееся к межвидовым антигенным различиям.

Кэппинг. Процесс агрегации молекул клеточной поверхности (обычно вызываемый антителами).

Лейкотриены. Фармакологически высокоактивные метаболиты арахидоновой кислоты.

Лейкоцитарные функциональные антигены (LFA). Группа молекул лейкоцитарной поверхности, опосредующих антиген-неспецифическую межклеточную адгезию лейкоцитов и других клеток. LFA-1 представляет собой антиген CD11a/CD18, LFA-2 – CD2 и LFA-3 – CD58.

Лектин-зависимый путь. Путь активации комплемента, инициируемый маннан-связывающим лектином (МСЛ) и пересекающийся с классическим путем активации.

Лиганд. Соединяющая (связывающая) молекула.

Лизирующий (атакующий) мембрану комплекс (ЛМК). Комплекс, состоящий из терминальных компонентов C5b–C9 комплемента (см. Литический путь активации комплемента); внедряется в клеточные мембраны.

Лизис свидетеля. Опосредованный комплементом лизис клеток, находящихся в непосредственной близости к району активации комплемента, но не ответственных за его активацию.

Лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником. Скопления лимфоидных клеток в стенках желудочно-кишечного тракта.

Лимфоидная ткань слизистых оболочек (ЛТС). Собирательное название для лимфоидных образований в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, бронхов и других органов.

Лимфокин-активированные клетки-киллеры (ЛАК-клетки). Цитотоксические клетки, образующиеся ex vivo под влиянием стимуляции ИЛ-2 и, возможно, другими цитокинами.

Лимфокины. Собирательное название для не относящихся к иммуноглобулинам молекул, продуцируемых лимфоцитами и выполняющих функцию передачи сигналов между клетками иммунной системы (ср. Интерлейкины).

Линия. Клеточная популяция, образовавшаяся в результате непрерывного роста культуры клеток in vitro. Обычно содержит ряд индивидуальных клонов.

Липополисахарид (ЛПС). Компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, который может действовать как В-клеточный митоген.

Литический путь активации комплемента. Осуществляется компонентами C5–C9 и ведет к лизису плазматической мембраны клеток.

CD-Маркеры. Поверхностные молекулы клеточной мембраны лейкоцитов и тромбоцитов, определяемые при помощи моноклональных антител. Могут служить маркерами различных клеточных популяций.

Миелома. Лимфома, образующаяся из лимфоцитов В-клеточной линии.

β_2–Микроглобулин. Полипептид в составе некоторых белков клеточной мембраны, в частности молекул MHC класса I.

Митоген лаконоса. В- и Т-клеточный митоген.

Митогены. Вещества, вызывающие деление клеток, в частности лимфоцитов.

Молекулы клеточной адгезии. Группа белков, относящихся к суперсемейству иммуноглобулинов и участвующих в межклеточной адгезии; включает ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102), ICAM-3 (CD50), VCAM-1, MAdCAM-1 и PECAM. Молекулы клеточной поверхности разнообразных лейкоцитов и негемопоэтических клеток, взаимодействующие с LFA-1.

DM-Молекулы. Молекулы, родственные MHC-антигенам класса II. Необходимы для образования комплекса антигенного пептида с молекулой MHC класса II.

MHC-Молекулы (антигены) классов I, II и III. Молекулы трех классов, кодируемые генами MHC. Молекулы класса I состоят из кодируемого MHC пептида, связанного с β_2-микроглобулином; молекулы класса II представляют собой димеры из нековалентно связанных пептидных цепей (обе – продукты генов-MHC; молекулы класса III составляют гетерогенную группу белков, включая компоненты комплемента.

Мотив, активируемый антигенным рецептором (ARAM, от англ. antigen receptor activation

motif). Аминокислотные последовательности (структурные мотивы) внутриклеточных доменов молекул CD79 и CD3, фосфорилируемые при активации лимфоцитов, вызванной взаимодействием рецептора с антигеном.

Мыши Biozzi (Биоцци). Линии мышей, характеризующиеся высоким или низким уровнем иммунного ответа (продукции антител) на различные антигены (первоначально отбор и скрещивание производились по признаку силы иммунного ответа на эритроциты барана).

НК-клетки. Нормальные (естественные) киллерные клетки. Популяция лимфоцитов, обладающих природным свойством распознавать и разрушать некоторые инфицированные вирусами и опухолевые клетки.

Неравновесие по сцеплению. Одновременное присутствие в популяции двух генов с частотой, которая превышает ожидаемую, т.е. вычисленую путем перемножения частот встречаемости каждого гена.

Нокаутные животные. Животные, у которых в результате применения метода генного нокаута ген определенного белка либо делетирован, либо несет мутацию, делающую его нефункциональным.

Носитель. Иммуногенная молекула или часть молекулы, распознаваемая Т-клетками при гуморальном иммунном ответе.

N-Области. Генные сегменты, присутствующие в перестроенных генах антигенного рецептора, которых нет в гаметной ДНК.

«Обучение» Т-клеток. Процессы положительной и отрицательной селекции развивающихся тимоцитов. Положительный отбор проходят незрелые Т-клетки, способные отвечать на антигенные пептиды, ассоциированные с собственными молекулами MHC. Отрицательному отбору с последующей гибелью подвергаются Т-клетки, которые отвечают на собственные антигены MHC.

Опсонизация. Процесс, облегчающий фагоцитоз. Обусловлен связыванием опсонинов (антител и компонента C3b комплемента) с поверхностными антигенами бактерий.

Очень поздние антигены (VLA-1 – VLA-6, от англ. very late antigens). Набор интегринов, имеющих общую β_1-цепь (CD29).

Паракринный механизм. Определение, относящееся к действию цитокина на клетки, расположенные на расстоянии от продуцирующих его клеток.

Пассивная кожная анафилаксия. Метод определения антигенспецифичных IgE путем внутривенного введения антигена и красителя подопытным животным, кожа которых предварительно сенсибилизирована антителами .

Патогенный организм. Возбудитель заболевания.

Пейеровы бляшки. Скопления лимфоидных клеток в стенке кишечника, образующие вторичную лимфоидную ткань.

Пептиды-антагонисты. Аналоги антигенных пептидов, связывающиеся с молекулами MHC и блокирующие активацию специфических Т-клеточных клонов.

Первичные лимфоидные ткани. Ткани лимфоидных органов, в которых лимфоциты проходят начальные стадии созревания. К этим органам относятся эмбриональная печень, костный мозг взрослого организма, тимус, а также фабрициева сумка у птиц.

Первичный иммунный ответ. Иммунная реакция (клеточная или гуморальная), развивающаяся после первого контакта с антигеном.

Переключение изотипа (класса) иммуноглобулинов. Переход отдельных В-клеток (в результате рекомбинации С-генов тяжелых цепей иммуноглобулинов с V-геном) на синтез антител другого класса, но той же специфичности. По мере развития иммунного ответа этот процесс приобретает общий характер.

Перекрестная реактивность. Способность двух разных антигенов вызывать одинаковую реакцию за счет имеющихся у них общих или сходных детерминант.

Периартериолярные лимфатические муфты. Скопления лимфоидной ткани, составляющие белую пульпу селезенки.

Перфорин. Белок гранул цитотоксических клеток, гомологичный компоненту C9 комплемента. Образует поры в мембране клеток-мишеней.

Петля усиления. Механизм усиления (положительная обратная связь) при активации комплемента по альтернативному пути: расщепление C3 вблизи активирующей поверхности.

Плазматическая клетка. Антителопродуцирующая В-клетка на конечной стадии дифференцировки.

Презентация антигена. Представление (экспрессия) антигена в форме, доступной для распознавания лимфоцитами, на поверхности (антигенпрезентирующих) клеток.

Примирование. Первичная сенсибилизация клетки под действием антигена.

Простагландины. Фармакологически активные производные арахидоновой кислоты. Способны

модулировать подвижность клеток и их иммунный ответ.

Протеазомы. Органеллы клетки, в которых происходит разрушение внутриклеточных белков, помеченных для этого убиквитином.

Проточная цитометрия. Метод анализа клеточных популяций в суспензии, основанный на выявлении различий между клетками по маркерам поверхности.

Процессинг антигена. Процесс превращения антигена в доступную для распознавания лимфоцитами форму.

Псевдоаллели. Гены, проявляющиеся как истинные аллели в тестах на аллелизм, но разделяющиеся в процессе кроссинговера; не занимают гомологичной позиции в хромосоме (например, C4).

Псевдогены. Гены, структурно сходные с обычными генами, но неспособные экспрессироваться с образованием функционально активных продуктов (например, *Jk3* у мыши).

Радиоиммуноанализ (РИА). Ряд высокочувствительных методов для определения титра антигена или антител с использованием радиоактивно меченных реагентов.

Реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Процесс, развивающийся в результате иммунной реакции аллогенных лимфоцитов донора против тканей реципиента, неспособного к иммунному ответу на антигены донорских клеток.

Рекомбинация. Перераспределение генетического материала в процессе мейоза. Р. происходит также при соматической перестройке ДНК с образованием генов, кодирующих молекулы антител и Т-клеточных антигенных рецепторов.

Рестрикция по MHC-антигенам классов I/II. Феномен, состоящий в том, что эффективная кооперация иммунокомпетентных клеток при многих иммунных реакциях возможна лишь в том случае, если эти клетки имеют общий MHC-гаплотип (локусов класса I или II).

Ретикулоэндотелиальная система. Диффузная система фагоцитарных клеток, происходящих из стволовых клеток костного мозга; имеет тесную связь с соединительной тканью печени, селезенки, лимфоузлов и других серозных полостей. В настоящее время это устаревший и редко используемый термин; предпочтительнее название система мононуклеарных фагоцитов (см.)

Рецептор. Молекула клеточной мембраны, специфически связывающая определенные внеклеточные молекулы.

Рецепторы комплемента (CR1—CR4 и C1qR). Первые 4 молекулы – поверхностные рецепторы фрагментов компонента C3 комплемента. Молекулы CR1 и CR2 имеют многочисленные CCP-домены, тогда как CR3 и CR4 относятся к интегринам. Рецептор C1qR связывает C1q.

Fc-Рецепторы. Молекулы поверхности разнообразных клеток, связывающиеся с Fc-фрагментом иммуноглобулинов. Специфичны к определенному классу антител, избирательны по изотипу.

«Рецидивирующий» идиотип. Идиотип, выявляемый при иммунном ответе различных животных (или животных разных линий) на данный антиген.

Розеткообразование. Метод, используемый для идентификации или выделения клеток определенного типа; исследуемые клетки смешивают с частицами или клетками, которые они связывают (например, Т-лимфоциты человека с эритроцитами барана). Розетка представляет собой клеточный агрегат, состоящий из центральной клетки и окружающих ее связанных клеток.

Секреторный компонент. Полипептид, продуцируемый клетками секреторного эпителия некоторых типов. Облегчает транспорт IgA через эпителий и защищает этот иммуноглобулин от действия пищеварительных ферментов желудочно-кишечного тракта.

Селезенка. Главный вторичный лимфоидный орган, расположенный в брюшной полости вблизи желудка.

Селектины. Три молекулы адгезии: P-селектин (CD62P), E-селектин (CD62E) и L-селектин (CD62L). Участвуют в остановке лейкоцитов для их миграции через эндотелий венул.

Сингенные животные. Животные инбредной линии, полученной путем близкородственного скрещивания. Все особи данной линии отличаются высоким уровнем генетической гомозиготности (идентичность каждой пары аутосом).

Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Прогрессирующая иммунная недостаточность, вызываемая вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) в результате разрушения им Т-клеток $CD4^+$.

Синергизм. Кооперативное воздействие.

Система мононуклеарных фагоцитов. Система фиксированных и подвижных долгоживущих фагоцитарных клеток, родственных моноцитам крови и тканевым макрофагам.

HLA-Система (система лейкоцитарных антигенов человека – Human Leukocyte Antigen). Главный комплекс гистосовместимости у человека.

Системная красная волчанка (СКВ). Аутоиммунное заболевание человека, при котором обычно образуются антиядерные антитела.

Скарификационная проба (на аллерген). Аппли-

кация антигена на ограниченный участок кожи путем скарификации; тест на гиперчувствительность IV типа.

Смешанная культура лимфоцитов (СКЛ), или реакция смешанной культуры лимфоцитов (РСКЛ). Тест-система, позволяющая определять распознавание аллоантигенов Т-лимфоцитами по клеточной пролиферации в присутствии стимулирующих клеток.

Созревание аффинности. Повышение средней аффинности антител, часто наблюдаемое при вторичном иммунном ответе.

Соматическое (гипер)мутирование (соматический мутагенез). Процесс, имеющий место при созревании В-клеток и затрагивающий ту область в генах Ig, от которой зависит повышение специфичности антител.

Суперантигены. Антигены, стимулирующие клоны Т-клеток с различной антигенной специфичностью, но с одними и теми же V-генами TkP.

Суперсемейство иммуноглобулинов. Молекулы, имеющий домены, гомологичные доменам иммуноглобулинов. Членами С.и. являются молекулы MHC классов I и II, Т-клеточный рецептор, молекулы CD2, CD3, DC4, CD8, ICAM, VCAM и некоторые Fc-рецепторы.

Супрессорные Т-клетки (Тц). Функционально особые популяции Т-клеток, подавляющие иммунный ответ других Т- или В-клеток или же направляющие ответ по другому пути (переключение типа ответа).

Сцепление. Близкое соседство двух генов в одной хромосоме и их совместное наследование.

Теория сети. Впервые сформулированная Ерне (Jerne) и позднее получившая дальнейшее развитие теория, согласно которой Т- и В-клетки взаимно регулируют активность друг друга, распознавая идиотипы антигенных рецепторов.

Тимус. Первичный лимфоидный орган, расположенный в полости грудной клетки выше сердца.

Тканевое типирование. Определение аллотипических вариантов молекул MHC у данной особи.

Толерантность. Состояние специфической иммунологической ареактивности.

Трансгенные животные. Животные, в геном которых включены один или несколько чужеродных генов (трансгенов). Часто трансгены соединяют со специфическими промоторами, чтобы они экспрессировались лишь определенными тканями в течение ограниченного срока.

Трансформация. Морфологические изменения в лимфоцитарных клетках, связанные с началом клеточного деления. Этот термин обозначает также изменения, характерные для состояния автономного деления опухолевой клетки.

Трансформирующий фактор роста (ТФР). Это название объединяет группу цитокинов, определяемых по их способности стимулировать рост фибробластов. Обычно оказывают также иммуносупрессивное действие.

Тучные клетки. Клетки, присутствующие в большинстве тканей вблизи кровеносных сосудов. Заполнены гранулами, содержащими медиаторы воспаления.

Участки комплементарности (CDRs – complementary determining regions). Часть V-области молекул антител и Т-клеточных рецепторов, ответственная за связывание антигена или комплекса антиген–MHC.

Фабрициева сумка. Лимфоэпителиальный орган у птиц, в котором созревают В-лимфоциты; расположен в области соединения задней кишки и клоаки.

Фагоцитоз. Процесс поглощения клеткой различных частиц и заключения их в цитоплазматическую вакуоль (фагосому).

Фактор, активирующий тромбоциты. Фактор, секретируемый базофилами и вызывающий агрегацию тромбоцитов.

Фактор стволовых клеток. Цитокин, называемый также фактором Стила (Steel factor); необходим для самых ранних стадий развития лейкоцитов в костном мозге.

Фактор торможения миграции. Группа пептидов, образуемых лимфоцитами и способных ингибировать миграцию макрофагов.

Факторы некроза опухолей (ФНО). Группа провоспалительных цитокинов, кодируемых генами MHC.

Факторы B, P, D и I. Компоненты альтернативного пути активации комплемента.

Фенотип. Экспрессируемые индивидом признаки (ср. Генотип).

Фитогемагглютинин (ФГА). Т-клеточный митоген.

Флуоресцентный клеточный сортер. Прибор для анализа клеток методом проточной цитометрии, позволяющий разделять их по определенным признакам и выделять различные клеточные популяции.

Фолликулярные дендритные клетки. Антигенпрезентирующие клетки, локализованные в В-зависимых областях лимфоидной ткани. Длительное время сохраняют антиген.

Фосфорилхолин (ФХ). Широко применяемый гаптен, присутствующий также на поверхности клеток ряда микроорганизмов.

Fab-Фрагмент. Часть молекулы антитела, содержащая антигенсвязывающий центр. Состоит из одной легкой цепи и сегмента тяжелой цепи. Мо-

жет быть получен путем ферментативного расщепления молекулы антитела.

Fc-Фрагмент. Часть молекулы антитела, ответственная за связь с рецептором антител на клетках и с компонентом Cq1 комплемента.

Хелперные Т-клетки (Тх). Т-клетки, которые оказывают «помощь» при развитии цитотоксических Т-лимфоцитов и продукции антител В-клеткам. Распознают антиген, ассоциированный с молекулами-МНС класса II.

Хемокинез. Повышенная миграционная активность клеток, характеризующаяся отсутствием определенного направления миграции.

Хемотаксис. Усиленная однонаправленная миграция клеток, в частности по градиенту концентрации некоторых хемотаксических факторов.

Химеризм. Сосуществование клеток генетически различных особей в одном организме.

Центры размножения. Области вторичной лимфоидной ткани, где происходит дифференцировка В-клеток и переключение синтеза классов антител.

J-Цепь. Мономорфный полипептид в составе полимерных молекул IgA и IgM; важный элемент их структуры

κ-Цепи. Один из двух изотипов легких цепей иммуноглобулинов.

λ-Цепи. Один из двух изотипов легких цепей иммуноглобулинов.

Циклоспорин А. Антибиотик, используемый в качестве Т-клеточного иммунодепрессанта и особенно пригодный для подавления реакции отторжения трансплантата.

Циклофосфамид. Цитотоксический агент, часто используемый для иммуносупрессии.

Цитокины. Собирательное название для секретируемых лейкоцитами и иногда другими клетками молекул, опосредующих межклеточные взаимодействия при иммунном ответе.

Цитотоксические Т-клетки. Т-лимфоциты, способные лизировать инфицированные вирусом клетки-мишени, экспрессирующие антигенные пептиды в комплексе с молекулами МНС класса I.

Шарнирный участок. Область молекулы тяжелых цепей иммуноглобулинов, расположенная между Fc- и Fab-фрагментами. Обеспечивает гибкость молекулы и дает возможность независимого функционирования двух антигенсвязывающих центров антитела. Обычно кодируется отдельным экзоном.

Эйкозаноиды. Продукты метаболизирования арахидоновой кислоты, в том числе простагландины, лейкотриены и тромбоксаны.

Экзон. Сегмент гена, кодирующий белок.

Эндотелий. Клетки, выстилающие изнутри стенки кровеносных и лимфатических сосудов.

Эндотоксин. Липополисахарид в составе наружной мембраны грамотрицательных бактерий; активирует В-клетки и макрофаги.

Эндоцитоз. Поглощение клеткой внеклеточного материала, осуществляемое путем фагоцитоза или пиноцитоза.

Эпитоп. Часть молекулы антигена, взаимодействующая с антигенсвязывающим центром антител или Т-клеточного рецептора.

Эффекторные клетки. Лимфоциты и фагоциты, которые после завершения дифференцировки могут осуществлять свои конечные функции.

Якорные аминокислотные остатки. Аминокислотные остатки в составе антигенных пептидов, необходимые для их взаимодействия с участками связывания в полости молекулы МНС.

B7-1 (CD81) и B7-2 (CD86). Молекулы поверхности антигенпрезентирующих клеток; связываясь с антигеном CD28 Т-клеток, оказывают сильный костимулирующий эффект.

Bcl-2. Антиапоптотическая молекула , кратковременно экспрессируемая на поверхности активированных В-клеток, избегающих апоптоза.

C1–C9. Компоненты классического и литического путей активации комплемента, ответственные за развитие воспалительных реакций, опсонизацию частиц и лизис клеточных мембран.

c-Kit (CD117). Рецептор фактора стволовых клеток, необходимый на ранней стадии развития лейкоцитов.

CTLA-4 (CD152). Молекула Т-клеток, вызывающая эффект понижающей регуляции. Конкурирует с CD28 за связывание с молекулой B7 на поверхности антигенпрезентирующих клеток.

Fas (CD95). Экспрессируемая разнообразными клетками молекула, которая взаимодействует со своим лигандом FasL, экспрессированным на поверхности цитотоксических лимфоцитов.

H-2. Главный комплекс гистосовместимости у мыши.

T15. Идиотип, ассоциированный с антителами против фосфорилхолина. Получил наименование по прототипной последовательности миеломы TEPC15.

Предметный указатель

Авидность TkP и селекция тимоцитов 263
– антител 152, 153
Агаммаглобулинемия Х-сцепленная 394
Агглютинины у беспозвоночных 280, 281
Адгезия лейкоцитов 87–89
– – генетические факторы 248, 403
– – недостаточность 91, 178, 248, 403
Аденовирусы 311, 313
Аденозиндезаминаза, недостаточность 398
Адоптивный перенос вирус-специфичных Т-клеток 310
– – Т-лимфоцитов 243, 244
– – устойчивости к трансплантату 503
Адреналин 246
β-Адренергические рецепторы, антитела 515
Адрессины (MAdCAM) 57, 87, 89
Адъювант Фрейнда 321
Адъюванты 321, 372, 373
– повышение аффинности антител 156, 157
Азатиоприн, иммуносупрессивные эффекты 407
– при трансплантации 501
Азот, высокореакционноспособные метаболиты. *См.* Оксид азота
АКТГ 247
Активация Т- и В-клеток 29–32, 195
Акулы 140, 285, 291
Аллерген(ы) 417, 419, 424, 430–432, 475
– амброзии 424
– гельминтов 439
– генетическая регуляция ответа 422-425
– клеща домашней пыли 238, 430, 431
– контактная гиперчувствительность 473, 475
– плевела 424
Аллергический ринит 417
Аллергия 418–439. *См. также* Контактная гиперчувствительность
– ассоциация с гаплотипом HLA 424
– генетика 422-425
– гипотеза аллергичесекого прорыва 437
– десенсибилизация как метод лечения 437, 438
– и тучные клетки 425-435
– индукция и эффекторные механизмы 418–420
– кожные реакции 430, 431
– реакции бронхов 431–435
– – поздней фазы 430, 431, 472
– роль IgG 419–422
– факторы, определяющие развитие 435–437
Аллоиммунитет у амфибий 302
Аллотипы 105, 132
Аллотрансплантат 489
Альвеолит аллергический экзогенный 456
Алюминия соли как адъюванты 372
Амебоциты 276
Амебы 335-338
Анатоксины 364, 365
Анафилаксия 75
– фактор, вызывающий замедленную реакцию 40
Анафилактический шок 359
Анафилатоксины 74, 75. *См. также* Комплемент, C3a; C5a
– активация тучных клеток 428
– в патогенезе заболеваний 79–81
– и гиперчувствительность III типа 456
Ангионевротический отек 400–402
Ангиотензинпревращающий фермент 486
Анемия аутоиммунная гемолитическая 448
– пернициозная 515, 523
– при малярии 359
Анергия В-клеток 202, 271
– – и аутотолерантность 265
– – индукция in vitro 271
– клональная 198
– Т-клеток 198, 264, 265
– – и периферическая аутотолерантность 267
– – индукция in vitro 270
– – при саркоидозе 485
– определение 265
Анкилозирующий спондилит 520
Анкилостомоз 336, 337
Анкилостомы 335
Антиген(ы) 10–14. *См. также* Аллергены; Пептиды
– активация лимфоцитов 29
– ассоциированные с меланомой (AAM) 384
– ауто-, В-клеточная толерантность 267–270
– – Т-клеточная толерантность 224-226, 261, 520
– – аутоиммунные процессы 517
– в вакцинах 361–367
– введение в аэрозоле 238, 273
– вдыхаемые 456
– взаимодействие с антителами 152-154. *См. также* Антитела
– – – – реакции преципитации 527–530
– вируса гриппа 312
– внутриклеточные, антитела к 454
– высвобождаемые паразитами 356, 357
– гистосовместимости 490. *См. также* Главный комплекс гистосовместимости
– группы крови Гербич 446
– – – Даффи 338, 445
– – – Келл 445, 446
– – – Кромер 446
– – – лютеран 446
– – – Льюис X 42, 89
– – – резус (Rh) 445, 446
– – – ABO 445, 446, 497
– – – Fg 446
– – – Ii 449
– – – Ina/Inh 446
– – – MN 445, 446
– – – Ss 446
– Т-зависимые 203
– и переключение изотипа 233
– идентификация 530–532, 535, 536
– иммунодоминантные эпитопы 158, 159
– индукция толерантности 238, 273
– мембраносвязанные 268
– методы обнаружения 527–530
– минорные лимфоцитарные стимулирующие (Mls) 180, 181, 251, 252
– Т-независимые 203, 233
– опухолеассоциированные 377–382, 384
– паразитарные, иммуносупрессивное действие 356–358
– пероральное введение 238, 273
– плазмоцитарный (плазматических клеток) (PCA-1) 32, 229
– презентация 161–166
– – взаимодействие молекул клеточной поверхности 196–198
– – Т-В-клеточное взаимодействие 195
– – влияние на иммунный ответ 198, 199
– – Т-клеткам 194-199
– – Тх-клеткам 178
– – опухолевых антигенов 384
– – при контактной гиперчувствительности 473
– – роль комплемента 79
– процессинг 159–161, 194
– раково-эмбриональные 384
– распознавание 114, 149–166, 159. *См. также* Распознавание антигена
– растворимые 237, 268, 272, 356
– регуляция иммунного ответа 237–239, 273
– рецепторы. *См.* Антитела; Т-Клеточный рецептор
– связанные АПК 195
– способы введения как фактор иммунорегуляции 238
– структура 158
– тесты 527–530, 534-536
– Томсена-Фриденрайха 381
– урушиола 474
– функциональные лимфоцитов (LFA) 198, 226
– экзогенные 162, 165
– эндогенные 162
– эпитопы 155, 158
– эффект дозы и индукция толерантности 238
– I-A, I-E 26, 253
– VLA 6, 87, 88, 91
Антигенная изменчивость 310, 311, 352, 355
Антигенные детерминанты. *См.* Эпитопы
Антигенный дрейф 311, 312, 314
– шифт 311, 312
Антигенпрезентирующие клетки (АПК) 35–38, 195–197
– – активированные 198
– – дифференцировка 30
– – и тип иммунного ответа 239
– – локализация 36, 37, 49, 50, 195
– – миграция 83, 84
– – непрофессиональные 197, 239
– – непрямой антиглобулиновый тест (Кумбса) 446
– – образование 219
– – при активации Т-клеток 195

– – при контактной гиперчувствительности 473
– – при отторжениии трансплантата 494
– – при селекции тимоцитов 263
– – происхождение 217
– – процессинг антигена 159–161
– – развитие функции в онтогенезе 220
– – свойства и функции 195, 196
– – типы 195–197
– – фенотипические маркеры 37
Антигенсвязывающий центр антител 101, 110, 150–152, 155
Антигистаминные препараты 429, 465
Антиидиотипические антитела 245, 246, 273, 274
– вакцины 367
Антиидиотипический ответ 273, 274
Антикоагулянт волчаночный 451
Антилимфоцитарная сыворотка 503
Антимикробные белки у беспозвоночных 281
– – у позвоночных 293
Антимитохондриальные антитела 523
Антисыворотка, перекрестная реактивность 154
– специфичность 153, 155, 156
Антитела 8–10, 97–112. *См. также* Аутоантитела; Иммуноглобулины
– авидность 152
– активация комплемента 106, 319, 348
– – комплементом 106, 107, 111
– антигенсвязывающий центр 101. 110, 150–152
– анти-ДНК 359, 454, 467, 468
– анти-CD3 504
– анти-CD4 272, 308, 309
– – при отторжении трансплантата 272
– – супрессия аутоиммунитета 242, 244, 516
– анти-CD8 272, 308, 309
– анти-IgD 273
– анти-IgM 270
– анти-RhD 240, 449
– антидонорские 505, 506
– анти-ФНОα, реакция Артюса 460
– аффинность. *См.* Аффинность антител
– блокирующий эффект 240, 241
– естественные (нормальные) 27
– и иммунный ответ, вторичный 211
– – – – генетические факторы 248
– – – – клеточная кооперация 199–204
– – – – модуляция идиотипической сети 245
– – – – первичный 211
– – – – регуляция 240–242
– – – – in vivo 210–214
– иммуноанализ 534
– к Т-клеточным рецепторам 149
– к опухолевым антигенам 380
– к островковым клеткам 453
– к рецептору инсулина 515
– к сперме 359
– каркасные участки молекул 133
– механизмы обхода 351, 352
– моноклональные. *См.* Моноклональные антитела
– нейтрализация бактерий 321
– – вирусов 308
– – возбудителей 12
– – паразитами 356, 357
– – паразитов 348
– нормальные (естественные) 27
– образование, кооперация клеток 200
– – в ответ на Т-независимые антигены 203
– пассивное введение 240, 241, 373
– перекрестная реактивность 153, 154
– получение очищенных препаратов 532
– – с помощью бактериофага 389, 390
– при отторжении трансплантата 272
– разнообразие 131–133, 231–234
– – источники 129–145
– – – у позвоночных 140, 141, 288, 289
– распределение по аффинности 157
– регуляция иммунного ответа 240–242
– рецепторы 107–109
– связывание антигена 150–153
– – – кинетика 152, 153
– – – нековалентные связи 150
– – – поливалентное 152
– – – полифункциональное 155, 156
– специфичность 153-155
– терапевтическое применение 460
– тесты 527–535
– титр 211
– формирование репертуара 231–233
– фрагменты 109, 110
– эффекторные функции 98, 106, 107
– – – при бактериальной инфекции 321–323
– – – при вирусной инфекции 308, 309, 311
– – – при инфекции 14
– – – при паразитарной инвазии 348, 349
– – – структурно-функциональный анализ 111, 112
Антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ) 29, 179, 181
– – – при вирусной инфекции 309
– – – при гиперчувствительности II типа 418, 441–443
– – – при паразитарной инвазии 340, 349, 351
– – – у низших позвоночных 291
Антителообразующие клетки (АОК) 97
– – индукция толерантности 271
– – тест 542, 543
– – цитокины, влияющие на дифференцировку 202
Антифосфолипидный синдром 451, 516
Апоптоз 199, 224
– генетические нарушения 256
– дифференцировка В-клеток 213, 214
– индуцированный Тц-клетками 183
– периферический (внетимусный) 199
– плазматические клетки 31
– тимоциты 224
Аппарат (комплекс) Гольджи 165
Арахидоновая кислота, производные-медиаторы 75, 93, 94, 428
Артюса реакция 457, 459, 460
Аскаридоз 337
Аскариды 335-337
Аспергиллы 333
Астма 418, 431–435
– баланс Тх1/Тх2 436
– генетический маркер 424
– и тучные клетки 431–435
– факторы, определяющие развитие 435-437
Атаксия-телеангиэктазия 399
Атакующий мембрану комплекс. *См.* Лизирующий мембрану комплекс
Атопия 418, 419
– генетические факторы 422–425
– Т-клеточная недостаточность 435, 436
Аттацины 281
Аутоантигены 224-226, 261, 520, 522, 524
Аутоантитела в репертуаре антител плода 448
– значение для прогноза 523
– к десмоглеину 3 451
– к эритроцитам 244, 359, 516
– как патогенный фактор 453, 514, 517, 518, 525
– механизм индукции 517–519
– определение in situ 530–532
– при повреждении тканей 512
– тепловые 449
– холодовые 448
Аутоиммунопатология 508
– спонтанная 513, 514
Аутоиммунные заболевания 508–525
– – антиген-зависимый характер 16, 517–519
– – ассоциации 522
– – болезни иммунных комплексов 457, 459, 516
– – генетические факторы 256, 510–512
– – гиперчувствительность II типа 448–454
– – лечение 523-525
– – органоспецифические 509, 523
– – патогенез 38, 512–517
– – при паразитарных инвазиях 359
– – прогностическое значение аутоантител 523
– – роль Т- и В-лимфоцитов 517–520
– – – микробных антигенов 519
– – спектр 509
– – МНС-сцепленная предрасположенность 511, 512
– – экспериментальные модели 512, 513
– – этиология 517–523
Аутореактивность 258, 508
Аутотолерантность. *См.* Толерантность
Аутотрансплантат 489
Аффинность антител 152
– биологическое значение 155, 156
– гетерогенность популяций антител 157
– и авидность 152
– и пассивное введение IgG 241
– определение 156, 157
– созревание 210, 212–214
– – путем селекции клеток 212–214
– – участок 213, 214
Азуроцидин 326
Ацетилхолин, аутоантитела к рецепторам 452
– при миастении 452

Бабочки 281
Базальная мембрана клубочковых капилляров, аутоантитела 451, 456, 516
– – отложение иммунных комплексов 451, 466, 467
Базофилы 40
– морфология 40, 41

– при аллергии 428
– при болезни иммунных комплексов 456, 457
– при воспалении 95
– развитие 218
– Fc-рецепторы 107
– функциональные маркеры 42
Бактерии 316–334
– адъювантные эффекты 321
– активация комплемента 319, 320
– антителозависимый иммунитет 321–324
– барьеры для проникновения/инфекции 317, 318
– белки теплового шока 331, 332
– внутриклеточно локализованные 328, 329
– и Т-клетки γ/δ 329
– иммунопатологические эффекты 329, 330
– клеточные стенки 316, 317
– комплемент-зависимое разрушение 319, 320
– механизмы врожденного иммунитета 318, 319
– – патогенности 316–318
– независимое от лимфоцитов распознавание и ответ 318–321
– обход иммунного ответа 322, 323, 328, 329
– связывание с фагоцитами 322
– суперантигены 330, 331
– уничтожение фагоцитами 323, 328
Бактериофаги, применение для получения антител 390
Бактерицидные механизмы 324-327
Белок(ки). См. также Пептиды
– антигенные , иммунный ответ 238
– воспалительный макрофагов, 1α (MIP-1α) 173
– – – 1β (MIP-1β) 92
– главный основный 40, 342, 434
– катионный эозинофилов 40
– острофазные 7
– С-реактивный (CRP) 7
– связывающий ЛПС 33
– сывороточные 7, 98
– теплового шока 286
– – – бактериальные 331, 332
– хемотаксический для макрофагов (MCP-1) 92, 177
– шапероны 164
– λ5 144, 228
– G 74–75, 173
– S 72, 74
– Stat 171, 172, 190
Бербековы гранулы 36, 473
Бесплодие у мужчин 515
Беспозвоночные 275-285
– гуморальные защитные факторы 280–282
– заживление ран 279
– клетки крови 276–278
– межклеточная кооперация 281
– механизмы защиты хозяина 278–281
– отторжение трансплантата 283, 284
– переносчики болезней 282, 283
– распознающие молекулы 284, 285
– цитокины 283
Бестимусные мыши. *См.* Мыши голые
Бильгарциоз 336
Бласттрансформация 229, 481
Бляшкообразующие клетки, метод определения 542
Болезнь Аддисона 512
– Грейвса (тиреотоксикоз) 514
– иммунных комплексов 455–469. *См. также* Иммунные комплексы
– – – экспериментальные модели 457–460
– – – роль комплемента 462, 463
– Крейцфельдта–Якоба 306
– Крона 482, 486
– легкое голубевода 456
– – фермера 456
– Хасимото 508, 509, 511, 513
– Чагаса 336, 371
Большие гранулярные лимфоциты (БГЛ) 6, 19, 20
– – – развитие 217
Брадикинин 93, 94
Бронхиальная гиперреактивность 432
Бронхиальные аллергические реакции 431–435
Бронхо-ассоциированная лимфоидная ткань 45
БЦЖ 362, 366, 397
– как векторная вакцина 366
– применение для неспецифической иммунотерапии 374, 387, 388
– противотуберкулезная вакцинация 362, 370

Вазоактивные амины 456, 457, 465
– – антагонисты 429, 465
Вазоактивный интестинальный пептид (ВИП) 246
Вакцина против бешенства 362, 364, 370
– – ветряной оспы/опоясывающего лишая 362, 363, 370
– – гепатита А 363, 370
– – гепатита В 362, 365, 370
– – гриппа 362, 364
– – дифтерии 369
– – инфекции *Haemophilus influenzae* 369
– – коклюша 364, 369
– – кори 363, 369
– – краснухи 362, 363, 369
– – пневмококковой инфекции 362, 370
– – столбняка 362, 369
– – стрептококковой инфекции 365
– – тифа 362, 364, 370
– – туберкулеза 363
– – эпидемического паротита 363
Вакцинация 61, 363, 364
– адъюванты 372, 373
– при аутоиммунных болезнях 524
Вакцины, антигенные препараты 362–367
– антиидиотипические 367
– аттенуированные 362–364
– безвредность 368, 369
– в противоопухолевой терапии 374, 387
– векторные 366
– живые 362–364
– на основе токсинов 364, 365
– против паразитарных инвазий 370, 371
– рекомбинантные 365-367
– современные 369–372
– убитые 364, 365
– эффективность 367, 368
Вальдейера кольцо 53
Вариабельная (V) область антител. *См также* Иммуноглобулины
– – – формирование из генных сегментов 133–138
– – Т-клеточного рецептора 116, 145
– – соматический мутагенез (гипермутирование) 138–140
Вейбеля–Палада тельца 57
Венулы, миграция лейкоцитов 86
– с высоким эндотелием 46, 55-57
– – – – миграция лейкоцитов 86, 89–91
– – – – молекулы адгезии 86, 89
Вещество Р 246
Взрывообразующая единица (ВОЕ) 218
Вироиды 305
Вирус висны 314
– гепатита В 312, 377
– – – и опухоли 379
– герпеса 306
– человека 8 (HHV8) 377, 413
– гриппа 312
– – антигенная изменчивость 311, 312
– денге 78, 312, 371
– Западного Нила 78
– иммунодефицита человека (ВИЧ) 411
– – – инфекция 314, 412–415
– – – инфицирование лимфоцитов и макрофагов 313, 411
– Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1) 314, 378, 388
– кори 78, 314
– коровьей оспы 313, 329, 361, 366
– лейкоза мыши (MuLV) 238, 379
– лимфоцитарного хориоменингита (ВЛХМ, или LCMV) 249, 250, 259, 306, 312, 314
– – – индукция толерантности 238
– миксомы 313
– опухоли молочной железы мыши (MMTV) 252
– папилломы человека 379
– полиомы 378
– ротавирусы 362
– саймири 314
– Тейлера 315
– фибромы 313
– флавивирусы 78
– цитомегалии мыши 313
– Эпштейна–Барр (ВЭБ, или EBV) 377–379
– – – и опухоли 377–379
– – – иммортализация В-клеток человека 537
– – – иммунотерапия опухолей 388
– – – обход иммунного ответа 311, 313, 314
– – – при аутоиммунных процессах 520
– – – рецепторы 73, 74, 78
– ящура 310
Вирусы, активация комплемента 308, 309
– защитные механизмы 308–310
– и аутоиммунные процессы 314
– иммунологический надзор 376–378
– иммунопатологические эффекты 312–315
– В-клеточный ответ 308, 309
– Т-клеточный ответ 309, 310
– латентность 306
– нейтрализация антителами/комплементом

308, 309
– неспецифический ответ 306–308
– НК-активность 308
– обход иммунного ответа 310–312
– онкогенные 377–379
– – иммунизация против 388
– персистенция 306
– процессинг и презентация белков 309
– рецепторы на клетках хозяина 306
– типы инфекции 305-307
Витамин А, недостаточность 410
– B_6, недостаточность 410
– B_{12} 515
– D_3 187, 328, 486
Витронектин (S-белок) 72, 74
Власоглав 336
Внутриэпителиальные лимфоциты 25, 54
Воспаление 13, 84, 93–95
– медиаторы 93
– миграция лейкоцитов в очаг 13, 84, 86
– проявления 84
– регуляция 94
– роль комплемента 61, 62, 75-77, 94
– участвующие клетки 6, 8, 95
– хроническое 84
Врожденный иммунитет 2, 61
– – и система комплемента 62
– – антивирусный 306–308
Вспомогательные клетки 4, 6
– – при воспалении 6, 7, 95
Вторые посредники 29
Вуалевидные клетки 35

Гаптены 473, 474, 477
Гельминтозы 336, 337. *См. также* Паразитарные инвазии
Гельминты 335-337. *См. также* Паразитарные инвазии
– Тх1/Тх2–ответ 345-348
– функции IgE 54, 260, 317
– эозинофильный ответ 340, 342
Гемагглютинации реакция 528–531
Гемагглютинин (ГА) вируса гриппа 312
Гемозоин 356
Гемокатерез 48
Гемокинин 283
Гемолизины 280
Гемолин 281
Гемолитическая анемия 448
– болезнь новорожденных 446, 447
Гемопоэз 216
Геморрагическая лихорадка 312
Гемотрансфузионный эффект 505
Гемотрансфузия. *См.* Переливание крови
Ген(ы), доставка 545
– иммуноглобулинов 133–143
– – вариабельность 131–133, 138
– – легких цепей 134–138, 141–143
– – плода 135, 136
– – рекомбинация 133–138, 232
– – соматический мутагенез 138–141
– – тяжелых цепей 134–138, 142, 143
– – – – регуляция 136, 137
– – – – у низших позвоночных 289–291
– β_2–интегрина 248
– направленное изменение 545
– рекомбиназы, связь с ТКИД 248
– рекомбинации-активации (RAG-1/RAG-2) 136, 137, 223
– Т-клеточного рецептора 145, 146
– *Bcg* 255
– *bcl*-2 152
– *btk* 394
– *cim* 254
– *gld* 256
– *Idd* 256
– *Lsh/Ity/Bcg* 255
– *M* 124
– *Mx* 307
– *NRAMP* 255
– *Qa* 124
– *Tla* 124
– *Ts*-1/Ts-2 252
Генетические факторы аллергической реакции 422–425
– – аутоиммунных заболеваний 253–256
– – иммунного ответа 247–256
– – Т-клеточной аутотолерантности 267
Генная конверсия 131, 141
Генотерапия 398
Гепатит А, вакцина 363, 370
– В 312, 377
– – вакцина 362, 365, 370
– – и опухоли 377, 379
– – хронический 313, 525
Гигантские клетки 188, 479
1-α-Гидроксилаза 187, 328
5-Гидрокситриптамин 93, 456
Гингипаин-1 76
Гипервариабельные области Т-клеточных рецепторов 116
– – иммуноглобулинов 110, 133
Гипермутирование 138, 213, 214, 229
Гиперчувствительность, типы 417, 418
– I типа 417–439. *См. также* Аллергия
– II типа 444–454
– – – лекарственные реакции 449
– – – реакции против клеток крови и тромбоцитов 444–451
– – – механизмы повреждений 441–444
– – – реакции против тканевых антигенов 451–454
– III типа (болезнь иммунных комплексов) 455–469. *См. также* Иммунные комплексы
– – – механизмы 456, 457
– – – отложение комплексов в тканях 458, 459, 465–467
– – – персистенция комплексов 460
– – – типы 455, 456
– – – экспериментальные модели 457–460
– IV (замедленного) типа, ГЗТ 267, 472–486
– – – варианты 472
– – – кожные реакции 478, 479
– – – контактная 473–478
– гранулематозная 479, 480, 482–486
– Джонса-Моута реакция 472
– клеточные реакции 480–482
– кожная реакция 478
Гипогаммаглобулинемия транзиторная детского возраста 397
Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая система, при аутоиммунных процессах 522
Гистамин 93, 428, 456, 465
Главный комплекс гистосовместимости (MHC) 118–127. *См. также* Область H-2; Область HLA
– – – гаплотипы, и аллерген-специфический ответ 424
– – – – и аутоиммунные заболевания 511, 512
– – – – и иммунный ответ 248
– – – – и общий вариабельный иммунодефицит 396
– – – – и чувствительность к инфекциям 253
– – – – наследуемость 490, 491
– – – гены 118, 119, 123
– – – – и ответ на инфекции 253
– – – – класса I 118, 123, 124
– – – – класса II 118, 124–126
– – – – класса III 118
– – – – локусы Qa, Tla, M 124
– – – – при процессинге/презентации антигена 194–199
– – – – регуляция иммунного ответа 248, 249
– – – значение при трансплантации 490, 91
– – – молекулы (антигены) 118, 119
– – – – класса I 119
– – – – – – антигенсвязывающая полость 120, 121, 161–164
– – – – – – вирус-индуцированное подавление экспрессии 308
– – – – – – внеклеточные домены 120–122
– – – – – – внутриклеточное перемещение 164
– – – – – – ингибирование активности НК-клеток 28, 180
– – – – – – комплекс с β_2-микроглобулином
– – – – – – опухолевые клетки 385
– – – – – – полиморфизм 121, 126
– – – – – – связывание пептидов 120, 161–164
– – – – класса II 121
– – – – – – антигенсвязывающая полость 122,123, 161–165
– – – – – – АПК 35–38
– – – – – – внутриклеточное перемещение 165
– – – – – – дефицит 399
– – – – – – и молекулы класса I 121, 122
– – – – – – В-клетки 230
– – – – – – миелоидные клетки 217
– – – – – – моноциты/макрофаги 219
– – – – – – полиморфизм 126
– – – – – – связывание пептидов 161–164
– – – – неклассические 124
– – – полиморфизм 121, 123, 126
– – – при отторжении трансплантата 490
– – – рестрикция по 159, 249
– – – – – и вакцинация 368
– – – – – развитие 224
– – – связывание пептидов 120, 161–164
– – – эволюция 285–287
Главный основной белок эозинофилов (MBP) 342
Гликозилирование, опухолевые антигены 381
Гликофорин А 446
– В 446
Глюкокортикоидные гормоны 174, 246, 405. *См. также* Кортикостероиды

Гнотобиотические условия 233
Голла тельце 20
Грамотрицательные бактерии 316. *См. также* Липополисахарид
Грамположительные бактерии 316
Гранзимы 182
Гранулематоз хронический 402, 403, 482
Гранулематозная гиперчувствительность 478–486
Гранулемы 187, 188, 478–486
– при шистосомозе 188, 358
Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) 218
– – – при гемопоэзе 218
– – – при контактной гиперчувствительности 434, 474, 475
Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) 218
Гранулоциты 6, 38. *См. также* Базофилы; Эозинофилы; Нейтрофилы
– дифференцировка 216–219
– маркеры 42
Гранулярные (гемостатические) клетки 278
Грибы 332, 333
Грипп, вакцина 362, 364
– вирус 312
Группы крови. *См.* Антигены групп крови
Гуморальный иммунный ответ 168, 194–214. *См. также* Антитела
– – – вторичный 210, 211
– – – динамика продукции антител 211
– – – зависимость от антигена 237
– – – клональная селекция лимфоцитов 11, 213, 214
– – – на Т-зависимые антигены 203
– – – на Т-независимые антигены 203
– – – первичный 211
– – – переключение изотипа 211, 212
– – – при паразитарной инвазии 350
– – – созревание 203
– – – – аффинности 212–214
– – – in vivo 210–214

Дегидроэпиандростерон 174
Декстран 203
Дендритные клетки. *См. также* Фолликулярные дендритные клетки; Интердигитатные дендритные клетки
– – индукция иммунного ответа 239, 240
– – миграция 83
– – образование 219
– – презентация антигена 195, 196
– – при отрицательной селекции 264
Дендритные эпидермальные клетки 117
Дерматомиозит 524
Десенсибилизация как метод терапии 437
Дети, искусственное вскармливание как фактор аллергии 435, 436
– транзиторная гипогаммаглобулинемия 397
Дефензины 326, 333
Джонса–Моута реакция 479
Дженнер, Эдвард 361
Диабет аутоиммунный 518
– сахарный инсулин-зависимый 523, 524
– – – антитела к островковым клеткам 453, 523, 524
– – – генетические факторы 253, 254, 256
Диапедез 14, 38
Диацилглицерол 30
Дизельные выхлопы 436
Динитрохлорбензол 473
Дифтерия, анатоксин 15, 364
– вакцина 364
– вид иммунитета 331
– генетический фактор чувствительности 248
– токсин 15, 317, 318, 321
Дифференцировочные антигены, опухоли 381
ДНК-вакцины 365–367
Дрожжеподобные грибы *Candida parapsilosis* 333
– – *Candida albicans* 332, 333
– – – – CR2/CR3-подобные молекулы 78
– – – – при ТКИД 397

Железо, недостаточность 410
– при антибактериальном иммунитете 321, 322
Желтая лихорадка 363, 370

Загрязнение воздуха 436
– окружающей среды 436
Зидовудин 415

Игнорирование 264, 265
Идиотипическая сеть 245
– иммунорегуляция 245
– при аутоиммунных болезнях 518, 519
Идиотипы 245
Идиотопы 245
Изопреналин 429, 430
Изотипы *См.* Иммуноглобулины, классы
Изотрансплантат 489
Иккосомы 35
Иммунизация активная. *См.* Вакцинация
– пассивная 373
Иммунитет врожденный 2, 61. *См. также* Врожденный иммунитет
– гуморальный. *См.* Гуморальный иммунный ответ
– клеточный. *См.* Клеточный иммунитет
– приобретенный 2, 61, 94
– – у беспозвоночных 276–285
Иммунная система, клетки 18–42
– – развитие в онтогенезе 216–235
– – растворимые медиаторы 7–10
– – у беспозвоночных 276–278
– – эволюция 276–303
Иммунное отвлечение 356
– отклонение 243, 264, 267, 273. *См. также* Хелперные Т-клетки, Тх1/Тх2-баланс
Иммунные комплексы, патогенез болезни 312, 456–467. *См. также* Гиперчувствительность III типа
– – активация комплемента 456
– – в крови 459
– – воспаление 456, 457
– – иммунорегуляторные эффекты 241, 242
– – методы обнаружения 467–469
– – отложение в тканях 458, 459, 465–467
– – – – – органная специфичность 466
– – персистенция 460–465
– – при паразитарных инвазиях 338, 339, 358
– – процессинг, роль антител 464
– – – – комплемента 461–463
– – – – эритроцитов 462
Иммунный ответ 10
– – адаптивный. *См.* Приобретенный иммунитет
– – влияние АПК 239
– – – иммунных комплексов 241, 242
– – – Т-клеток 242–244
– – – суперантигенов 251
– – врожденный. *См.* Врожденный иммунитет
– – генетическая регуляция 247–256
– – гуморальный. *См.* Гуморальный иммунный ответ
– – зависимость от MHC 252–254
– – Т-зависимый 177–179
– – клеточный. *См.* Клеточный иммунный ответ
– – нейроэндокринные влияния 246
– – обход бактериями 322, 323, 328, 329
– – – вирусами 310–31
– – – паразитами 349–358
– – при остром воспалении 94
– – регуляция цитокинами 174, 175
– – созревание 142
– – Тх1/Тх2-типов 174, 175
Иммуноблоттинг 531, 535
Иммуноглобулины 97, 98. *См. также* Антитела
– аллотипы 105, 132
– аномалии в углеводных компонентах 464, 465
– антигенсвязывающий центр 101, 110
– вариабельность 97, 98, 110, 131–133
– – N-региональная. *См.* Нуклеотиды
– гены. *См.* Гены иммуноглобулинов
– гипервариабельные последовательности 110
– идиотипические варианты 105, 132
– изотипические различия 105
– классы (изотипы) 9, 98, 132
– – переключение. *См.* Переключение изотипа
– – при болезни иммунных комплексов 467–469
– – при созревании В-клеток 232–234
– легкие цепи. *См.* Легкие цепи иммуноглобулинов
– мембраносвязанные (поверхностные) 143–145
– – потеря 229, 230
– – продукция 228, 229
– область Fab 102
– – Fc 102
– перестройка генов при дифференцировке В-клеток 134–138, 228, 229, 231
– подклассы 98
– продукция 231–234
– пул у человека 374
– разнообразие. *См.* Антитела, разнообразие
– регуляция синтеза 144, 145
– рецепторы 107–109
– секретируемые 104, 143–146. *См. также* Антитела
– структура 98–105
– структурно-функциональный анализ 109–112
– суперсемейство 87
– – эволюция 288–291

- тяжелые цепи. *См.* Тяжелые цепи иммуноглобулинов
- у плода/новорожденного
- функции 98–100
- J-цепь 104
- шарнирная область 102, 103
- эволюция 284, 285
- экспрессия при дифференцировке В-клеток 228–234
- эффекторные функции 98, 106, 107
- Igα/β (CD79α/β) 204
- - внутриклеточная сигнализация 205, 206
- - развитие В-клеток 228
- IgA 100, 104, 229
- - недостаточность 201, 394, 395
- - переключение на синтез 212, 233
- - перенос через эпителий слизистой 58
- - подклассы 104
- - рецепторы 107
- - секреторные 100, 104
- - - антибактериальные эффекты 321
- - у новорожденных 234
- - у позвоночных 288
- IgD 100, 104, 230
- IgE 100, 105
- - и аллергия 419, 422
- - переключение на синтез 234
- - перекрестное связывание 428, 429
- - при паразитарных инвазиях 340, 342, 349
- - продукция 234
- - - влияние загрязнений 436
- - - регуляция 234
- - рецепторы 107–109
- - связывание клетками иммунной системы 427–429
- - супрессия ответа 437
- - уровень в сыворотке и гаплотип HLA 255, 424
- - - - при аллергии 419, 420
- IgG 99–103, 229
- - агалактозильные 464, 465
- - активация комплемента 106
- - дефицит 201, 395
- - замедленная продукция у детей 234, 397
- - иммунорегуляторные эффекты 240, 241
- - пассивное введение 240
- - переключение на синтез 212, 213. 234
- - подклассы 102, 103
- - при болезни иммунных комплексов 468, 469
- - при гемолитической болезни новорожденных 446
- - при паразитарной инвазии 340
- - продукция 234
- - рецепторы 107, 108, 111
- - у плода/новорожденного 100, 234
- - ферментативно получаемые фрагменты 109, 110
- IgM 100, 103, 104
- - иммунодефицит с гиперпродукцией 201, 396
- - крабовидная конфигурация 103
- - пассивное введение 240
- - поверхностный (sIgM) 228, 229
- - понижающая регуляция 268
- - при гуморальном ответе 212, 213, 240
- - при паразитарных инвазиях 348
- - продукция 142–144
- - у новорожденных 234
- - у позвоночных 289
- IgR 288
- IgY 288, 289
- IgX 288, 289

Иммунодефицит; *см. также* Иммуносупрессия
- и онковирусы 377
- В-клетки 394–397
- Т-клетки 397–400
- комплемент 400–403
- общий вариабельный 396
- тяжелый комбинированный (ТКИД). *См.* Тяжелый комбинированный иммунодефицит

Иммунодиагностика опухолей 385, 386
Иммунодиффузия двойная 528, 529
- простая радиальная 528, 529

Иммунологическая недостаточность 393–415
- - вторичная 405–415
- - лекарственная 405–408
- - первичная 393–403
- память. *См.* Память иммунологическая

Иммунологические методы 527–545
Иммунологический надзор 376–378
Иммунопатология 16
Иммунопреципитация 531, 532
Иммуностимулирующие комплексы (ISCOM) 373
Иммуносупрессивная обработка 500
Иммуносупрессия 260, 264
- вызванная паразитами 356–359
- и грибковые инфекции 333
- и опухоли 242–384
- лекарственная 333. 405–408, 500–503
- при аутоиммунных заболеваниях 523
- при трансплантации 500–506

Иммуносцинтиграфия 385
Иммунотерапия активная, опухоли 385–387
- аллерген-специфическая 438
- неспецифическая 374
- - при опухолях 387
- пассивная, опухоли 388–391

Иммунофилины 408
Иммунофлуоресцентные зонды 23, 25
- при определении иммунных комплексов 467

Иммунофлуоресценция прямая и непрямая 530, 533
Иммуноэлектрофорез 528, 529
Инвариантные полипептиды 165, 166
Ингибиторные рецепторы К- и НК-клеток (РИК, или KIR) 28, 179, 180
- - CTLA-4 197, 198
Ингибитор(ы) обратной транскриптазы 415
- протеаз 415
Индекс Шаннона 158
Инозитол-1,4,5-трифосфат (IP3) 30
Интегрины 74, 87, 88
- $\alpha_4\beta_7$ 57
- $\alpha D\beta_2$ 23, 34
- β_1 23, 87, 88
- β_2 (лейкоцитарные) 23, 87, 88
- β_3 (цитоадгезины) 87, 88

Интердигитатные дендритные клетки 35, 36, 195, 196
- - - активация Т-клеток 197, 198
- - - лимфоузлы 195
- - - тимус 46

Интерлейкин(ы) (ИЛ) 8, 169, 283, 292, 293
- ИЛ-1 209, 226
- - активация Т-клеток 209
- - антагонисты 374
- - избыточное выделение 330
- - нейроэндокринное влияние 247
- - при воспалении 95
- - при гемопоэзе 216, 218
- - при контактной гиперчувствительности 474
- - при паразитарной инвазии 340
- - при реакции Шварцмана 329
- - при Т–В-взаимодействии 202
- - рецептор (ИЛ-1Р) 230
- ИЛ-2 28
- - активация гена 205
- - нокаутные мыши 190
- - обращение Т-клеточной гибели 266
- - при активации В-клеток 202
- - - - Т-клеток 207, 208
- - при отторжении трансплантата 495
- - при паразитарных инвазиях 340
- - при развитии Т-клеток 226
- - регуляция синтеза костимулирующими молекулами 266
- - рецептор (ИЛ-2Р) 170, 207, 230
- - - активация гена 205
- - - высокоаффинный 171
- - - клеточное распределение 32, 35, 230
- - - передача сигнала 173
- - - α-цепь. *См.* Маркеры, CD25
- - - β-цепь (CD122) 28, 170
- - - γ-цепь (CD134) 28, 171, 173
- - - - нокаутные мыши 190
- - - - при тяжелом комбинированном иммунодефиците 398
- - терапевтическое применение 374
- - эффекты 208
- ИЛ-3 при активации Т-клеток 209
- - при аллергии 419, 420, 434
- - при гемопоэзе 216, 218
- - при контактной гиперчувствительности 474
- - при паразитарных инвазиях 343
- - при созревании Т- и В-клеток 226, 230
- - рецептор (ИЛ-3Р) 32, 230
- ИЛ-4 208, 209
- - кластер генов 424
- - нокаутные мыши 190
- - при активации В-клеток 202, 209
- - при аллергии 419, 420
- - при воспалении 95
- - при лейшманиозе 345
- - при отторжении трансплантата 495, 496
- - при переключении изотипа 212, 234
- - при Т–В-взаимодействии 202
- - Т-клеточные эффекты 173, 174, 208
- - дезактивация макрофагов 187
- - рецептор (ИЛ-4Р) 31, 171, 173, 230
- ИЛ-5 230
- - активация В-клеток 202, 209
- - при аллергии 420, 434
- - при гемопоэзе 216, 218

– – при отторжении трансплантата 495, 496
– – при паразитарных инвазиях 343, 346
– – при переключении изотипа 234
– – рецептор (ИЛ-5Р) 230
– ИЛ-6 170, 174
– – и нейроэндокринная регуляция 247
– – и образование АОК 209
– – при активации Т-клеток 174, 209
– – при Т–В-взаимодействии 202
– – при ВИЧ-инфекции 314
– – при воспалении 95
– – при гемопоэзе 216, 218
– – при контактной гиперчувствительности 474
– – при отторжении трансплантата 495
– – рецептор (ИЛ-6Р) 32, 171, 230
– – – β-цепь (gp 130) 171
– – эффекты 170, 202, 209, 210, 226, 420
– ИЛ-7 208
– – Т-клеточные эффекты 208
– – нокаутные мыши 190
– – при развитии В-клеток 230
– – рецептор (ИЛ-7Р) 230
– ИЛ-8 92, 93
– ИЛ-9 173
– ИЛ-10 174, 202
– – вирусный гомолог 311
– – нокаутные мыши 190
– – передача сигнала 173
– – подавление Тх1 209, 210, 243
– – при контактной гиперчувствительности 476
– – при лейшманиозе 346
– – стимуляция Тх2-ответа 209, 210
– ИЛ-11 171, 210
– ИЛ-12 174
– – активация Т-клеток 209
– – Тх1-дифференцировка 210
– – на ранней стадии иммунного ответа 176
– – нокаутные мыши 190
– – при гиперчувствительности IV типа 481
– – при паразитарных инвазиях 341, 344, 346
– – регуляция Тх1-ответа 173
– – рецептор (ИЛ-12Р) 243
– – эффекты 208, 329
– ИЛ-13 174, 202, 209
– ИЛ-15 208, 209
Интерферон(ы) (ИФ) 7, 8, 169
– антивирусная активность 307
– у низших позвоночных 292
– ИФα 7, 169
– – иммунорегуляторные эффекты 210
– – передача сигнала 172
– – при вирусных инфекциях 307
– – при выборе Тх1/Тх2 243
– – при паразитарных инвазиях 340
– – терапевтическое применение 374, 388, 391
– ИФβ 7, 210, 307, 388
– ИФγ 7, 210
– – активация макрофагов 184–186, 328, 340
– – в качестве адъюванта 156
– – и аутоиммунные процессы 522
– – иммунорегуляторные эффекты 243
– – как Тх1-цитокин 210
– – нокаутные мыши 190
– – подавление Тх2 267
– – при аллергии 422
– – при бактериальных инфекциях 320, 324, 328, 329
– – при вирусных инфекциях 307
– – при гиперчувствительности IV типа 481, 482
– – при дифференцировке Тх1 174, 210
– – – Тц1 173, 174
– – при клеточноопосредованной цитотоксической реакции 184–186
– – при отторжении трансплантата 495, 496
– – при паразитарных инвазиях 341–348
– – при переключении изотипа 234
– – рецептор 35, 190
– – терапевтическое применение 374, 388, 391
Инфекция(и) 1, 2. *См. также* Бактерии; Вирусы; Грибы; Микроорганизмы; Паразитарные инвазии
– – типы 305, 306
– генетические факторы 253, 255
– оппортунистические 413
– персистентная 455
– повторяющиеся гнойные 393
– при недостаточности комплемента 77, 255

Кальнексин 164
Кальцинейрин 204, 205
Кальцитриол (1,25-дигидроксихолекальциферол) 187
Кандидоз 332, 333, 397, 415
Кардиолипин, антитела к 451
Катепсин G 326
Катехоламины 246
Квейма реакция 480
Кератиноциты 474, 477
Киллерная активность 179–184
Киназа(ы) Янус (Jak) 171–173, 190
– p56 (lok) 122
– Ras/MAP 173
– src 204, 205
Киназный (MAP) путь сигнализации 173
Кинины 94
Кислород, реакционноспособные метаболиты 184, 185, 324, 326
– – – защита от 356
– – – при гиперчувствительности II типа 442, 443
– – – при паразитарной инвазии 341, 342, 358
– – – при хроническом гранулематозе 402
Клетки. *См. также* по типам
– вспомогательные. *См.* Вспомогательные клетки
– гемопоэтические стволовые 216
– гемостатические (гранулярные) 278
– гигантские многоядерные 479
– иммунной системы 4, 18–42
– иммунологической памяти 12, 30, 200
– киллеры 181, 134. *См. также* К-Клетки; ЛАК-клетки; Нормальные клетки-киллеры
– Ланганса. *См.* Ланганса клетки
– Лангерганса. *См.* Лангерганса клетки
– миграция. *См.* Миграция клеток
– стромальные 227
– RAJT 469
А-Клетки синовиальные 4
В-Клетки 2, 5, 19, 25–27
– активация 29–32, 202, 206
– – в центрах размножения 213, 214
– – и взаимодействие с Т-клетками 202
– – маркеры 32
– – Т-независимые антигены 203, 204
– – поликлональная 203
– – сигнал 29, 205
– анергия 202
– аутореактивные, отрицательная селекция 268
– при аутоиммунных болезнях 517
– бласты 230, 235
– взаимодействие с Т-клетками 199–204, 213, 214
– – с ФДК 235
– дифференцировка 30, 202, 213, 214, 226–233
– – в лимфоузлах 213, 214, 234
– иммунологической памяти 12, 30, 200, 213, 214, 234, 235
– инфицированные вирусом 314
– как АПК 196, 197, 213, 214
– клональная селекция 11, 213, 271
– клональное абортирование 271
– – игнорирование 271
– корецепторный комплекс 205, 206
– маркеры поверхности 25–27, 228–231
– – – при дифференцировке 228–230
– миграция 214, 230
– морфологические типы 20, 22
– недостаточность 393, 394
– образование высокоаффинных клонов 213
– определение функций 542, 543
– переключение изотипа Ig 203, 229, 232–234
– перестройка генов Ig 231–233
– покоящиеся 20
– при вирусной инфекции 314
– пролиферация 213, 214
– развитие 46, 213, 214
– распознавание антигена 199, 200. *См. также* Иммуноглобулины
– рецепторы антигенов. *См.* Иммуноглобулины
– – для фактора роста 230
– селезенки 47, 48
– селекция 213, 214, 228
– созревание в онтогенезе 226–235
– субпопуляции 26, 27
– толерантность, индукция in vivo 272
– – – in vitro 270–22
– – к аутоантигенам 267–270
– трансформированные вирусом Эпштейна–Барр 537
– у птиц 46, 230, 231
– фактор активации/дифференцировки. См. Интерлейкин-4
– – дифференцировки 209. *См также* Интерлейкин-6
– формирование репертуара Ig 231–233
– эволюция 288–291
– экспрессия рецепторов 230
– – Ig 231–234
– эффекты цитокинов 202, 209, 210
– B-1 27, 204
– B-2 27

– $CD1^+$ 222, 478
– $CD5^+$ 230, 232
К-Клетки (клетки-киллеры) 181, 344, 443. См. *также* ЛАК-клетки
М-Клетки 53, 54
Т-Клетки 2, 5, 20, 23–25. *См. также* Супрессорные Т-клетки; Хелперные Т-клетки; Цитотоксические Т-клетки
– активация 29, 195, 206
– – второй сигнал 195
– – маркеры 32
– – митогеном 206
– – передача сигнала 29, 198
– – подавление стероидами 406
– – поликлональная 357, 359
– – роль поверхностных молекул 196–198
– – суперантигенами 206
– анергия 198, 264, 265
– антивирусный ответ 309, 310
– аутореактивные 513, 514
– – делеция в тимусе 224, 251, 265–267
– – периферическая толерантность 265–267
– – при аутоиммунных болезнях 517–520
– бласты 30
– «братоубийство» 266
– в гуморальном ответе 194–214
– в клеточноопосредованном иммунитете 168–192
– в лимфоузлах 195
– взаимодействие с АПК 195
– – с В-клетками 195, 199–204
– выделение субпопуляций 539–542
– действие цитокинов 207–209
– дифференцировка 18, 173, 174, 222, 223
– иммунологической памяти 474
– иммуномодулирующие эффекты 242–244
– клональная селекция 260. *См. также* Отрицательная селекция; Положительная селекция
– маркеры 23, 24, 222
– миграция 8, 84
– морфологические типы 20
– определение активности 542, 544
– отрицательная селекция 225, 251, 261–267
– первичный дефицит 397–400
– переключении изотипа 211, 212, 233
– периферическая гибель 264–267
– покоящиеся крови 20
– положительная селекция 224, 250, 261, 262
– при атопии 435, 436
– при гиперчувствительности IV типа 474, 475, 481
– при микозах 332, 333
– при недостаточном питании 409, 410
– при отторжении трансплантата 488, 492–494
– при паразитарных инвазиях 342–348
– пролиферация 207–209
– противоопухолевый ответ 383, 384
– развитие 220–226
– распознавание антигена 117, 118, 199, 224
– MHC-рестрикция 224, 261
– рецептор. См. Т-Клеточный рецептор
– селезенки 47
– селекция 224–226, 250, 251, 261–267
– созревание в тимусе 45, 220–226, 260–264
– – вне тимуса 226
– субпопуляции 5, 24, 25. *См. также* Т-Клетки $CD4^+$; Т-Клетки $CD8^+$; Супрессорные Т-клетки; Хелперные Т-клетки; Цитотоксические Т-клетки
– супрессорные. См. Супрессорные Т-клетки
– толерантность 198, 242, 260–267, 270, 272
– у новорожденных 226
– факторы роста 293
– хелперные. См. Хелперные Т-клетки
– цитотоксические. См. Цитотоксические Т-клетки
– эволюция 285–288, 298–302
– α/β 23–25, 226
– – анатомическое распределение 117
– – морфология 20
– – при IV типе гиперчувствительности 481
– – функциональные субпопуляции 24
– – экспрессия CD4 и CD8 24, 261
– γ/δ 25, 222, 226
– – анатомическое распределение 117
– – локализация 25
– – морфология 20
– – при антибактериальном иммунитете 329
– – распознавание антигена 117
– – экспрессия CD8 25
– $CD4^+$ 24. См. *также* Хелперные Т-клетки
– – в гранулемах 188
– – дифференцировка 173, 223, 224
– – и аутоиммунные процессы 518
– – иммунологической памяти 474, 475, 481
– – иммунорегуляция 242–244
– – презентация антигена 201
– – при антивирусном иммунитете 309, 310
– – при ВИЧ-инфекции 313, 412, 413
– – при дефицитности по MHC класс II 399
– – при гиперчувствительности IV типа 475, 477, 478
– – при паразитарных инвазиях 343, 344
– – при хроническом воспалении 84
– – субпопуляции. См. Хелперные Т-клетки Tx0; Tx1; Tx2
– – цитотоксические (Тц) 182, 183
– $CD4^-$ $CD8^-$ (дважды отрицательные) 225
– $CD4^+$ $CD8^+$ (дважды положительные) 222, 225
– – время коммитирования 263
– – положительная и отрицательная селекция 224–226
– $CD8^+$ 24, 179. *См. также* Цитотоксические Т-клетки (Тц)
– – дифференцировка 173–175, 222, 223
– – и антивирусный иммунитет 308–310
– – иммуномодуляторные эффекты 243, 244
– – презентация антигена 198
– – при паразитарных инвазиях 343, 344
– – субпопуляции 175
– – γ/δ 25
Клеточные маркеры 23
Клеточный иммунитет 168–192. См. *также* Макрофаги; Нормальные клетки-киллеры; Т-Клетки
– – в онтогенезе амфибий 302, 303
– – иммунопатология 189
– – при микозах 332
– иммунный ответ, выбор механизма 178
– – – зависимость от антигена 237
– – – Т-зависимый 176–179
– – – Т-независимый 175–177
– – – роль макрофагов 184–187
– – – цитотоксическая активность 179–184
– – – Tx1/Tx2-типы 174, 175, 187, 210
– сортер 529, 533
Т-Клеточный рецептор (ТкР) 5, 114–118
– – антагонисты 262
– – антигенраспознающий центр 115
– – аффинность, и селекция тимоцитов 224–226
– – в сравнении с антителами 149
– – взаимодействие с суперантигеном 251
– – гены 145–147, 223
– – ингибирование 266
– – костимулирующие сигналы 197, 200
– – передача сигнала 198, 204–206
– – при отторжении трансплантата 493
– – разнообразие 145–147, 223
– – распознавание антигена 117, 118, 196, 224
– – структура 115–117
– – типы 114
– – эволюция 287
– – α/β 114, 117, 222, 223
– – γ/δ 114, 117, 222
– рецепторный комплекс (ТкР–CD3) 114–117
Клещ домашней пыли 431
Клональная делеция. *См. также* Отрицательная селекция
– – аутореактивных В-клеток 228, 268, 269, 271
– – аутореактивных Т-клеток 224–226, 251, 261, 264
– селекция 11
Клонально-селекционная теория 130, 259
Клональное истощение 273
Коагуляция у беспозвоночных 279
Кожа, аллергические реакции 430, 431
– пересадка 259, 497, 499
– реакции 430, 431, 459, 490, 472
Коллаген, рецепторы (VLA-2, VLA-3) 91
Колит экспериментальный 176, 244
Колицины 318
Коллективный иммунитет 363
Коллектины 63, 75
Колониеобразующая единица (КОЕ) 216, 218
– – КОЕ-ГМ 216–219
– – КОЕ-ГЭММ 216, 218, 219
Колониестимулирующие факторы (КСФ) 8, 216, 340, 341
– – гранулоцитарный (Г-КСФ) 226, 341, 342, 374
– – макрофагальный (М-КСФ) 218
– – терапевтическое применение 374
Комплекс GpIIb/IIIa 42
– гаптен-носитель, иммунный ответ на 473, 474
CD3-Комплекс 114, 115
Комплемент 7, 59–82
– активация 61–72
– – активаторы 63
– – альтернативный путь 62, 66–70
– – иммунными комплексами 63

– – иммуноглобулинами. См. Антитела, активация комплемента
– – ингибирование микроорганизмами 78
– – классический путь 62–66, 68
– – лектиновый путь 63, 64, 68
– – микроорганизмами 61–63, 67
– – образование ЛМК 70, 71
– – регуляторные белки 65, 69
– биологические эффекты 7, 61, 62, 75
– – – индукция иммунного ответа 78, 79
– – – обход микроорганизмами 77, 78
– – – патогенез заболеваний 79–81, 400
– – – повреждающие 75
– – – полезные 75
– – – при бактериальных инфекциях 319, 321, 322
– – – при вирусной инфекции 309
– – – при воспалении 61, 62, 75–77, 94
– – – при гиперчувствительности II типа 442
– – – процессинг иммунных комплексов 79
– – – устойчивость паразитов 350
– компоненты, классификация 60
– – недостаточность 77
– – образование в онтогенезе 219, 220
– – тесты 538
– лизирующий мембрану комплекс 71, 72, 77, 78
– – – – методы определения 538, 539
– – – – недостаточность 477
– номенклатура 60
– петля усиления 69
– рецепторы, номенклатура 72, 73. *См. также* Рецепторы комплемента
– тест на фиксацию 530, 532
– тесты 538
– факторы 60, 65–70
– эволюция 280, 292
– C1 63, 64, 441
– – ингибитор 65
– – – недостаточность 400–402
– C1q 61, 63, 64, 68
– – связывание с IgM 111
– – недостаточность 400
– – и тест на иммунные комплексы 469
– C2 65, 66
– – недостаточность 400
– C2-кинин 401
– C3 65–71
– – недостаточность 400
– – и процессинг иммунных комплексов 79
– – рецепторы. См. Рецепторы комплемента
– – спонтанный гидролиз 66, 67
– C3a 75, 76, 93, 319, 320
– – при аллергии 428
– – при гиперчувствительности IV типа 456
– C3b 61–63, 65–71, 80
– – образование 67–70, 77
– – рецепторы. См. Рецепторы комплемента
– – связывание с защитной поверхностью 67, 69
– – функции 76, 77, 321
– C3i 67
– C3-конвертаза 62, 65
– – альтернативный путь 67
– – классический путь 65
– C4 64, 65, 68
– – недостаточность 400
– – связывающий белок (C4-bp) 60, 66
– C4b 64, 65, 71, 80
– – мембраносвязанный 65, 76
– – нестабильный (C4b*) 64, 65
– C5 71, 456
– – недостаточность 309
– C5b-9-комплекс 71, 72. *См. также* Лизирующий мембрану комплекс
– C5a 71, 75
– – период полужизни 76
– – при бактериальной инфекции 319, 320
– – при хемотаксисе 75, 93
– – эффекты 75, 76, 320, 428, 456
– C5-конвертаза 63, 71
– C6–9 71. *См. также* Лизирующий мембрану комплекс
Конглютинин 63
Конканавалин А 428
Контактная гиперчувствительность 473–478
Кортизол 174
Кортикостероиды. *См. также* Стероиды
– и атрофия тимуса 46
– иммуносупрессивные эффекты 246, 247, 427
– при выборе Tx1/Tx2 174
– при ревматоидном артрите 524
– применение при астме 431
– – при трансплантации 501, 502
Кортикотропин-рилизинг-гормон 247
Корь, вакцина 363, 369
– вирус 78, 314
Костимулирующие молекулы 197, 200–202
Костимуляция, активация лимфоцитов 197
– взаимодействие Т- и В-клеток 197
– и презентация опухолевых антигенов 384, 385
– отсутствие, и толерантность 198, 365
– презентация антигена 196–198
– регуляция аутореактивных Т-клеток 265, 266
Костный мозг 44–46
– – дифференцировка АПК 35
– – – В-клеток 46
– – очистка от опухолевых клеток 390
– – стволовые клетки 46
– – стромальные клетки 136
– – трансплантация 500
– – – при ТКИД 397
– – – реакция трансплантат против хозяина 491, 492
– – эволюция 294, 298
Коха феномен 330
Краевое стояние 38, 89
Крапивница 428, 429
Кровеносные сосуды, отложение иммунных комплексов 457, 465
– – при отторжении трансплантата 499
– – проницаемость 84, 94, 457, 465
Кровоснабжение при воспалении 13, 84
Кролик 141
Кромогликат натрия 427, 431
Крупный рогатый скот 141, 359
Крысы BB 522
– Lewis 247
Ксенотрансплантат 489
Купфера клетки 3, 33, 197
– – удаление иммунных комплексов 464
Курение 437
Куры OS 513, 514, 522, 523

ЛАК-клетки 181
Лактоферрин 13, 326
Ламинин 91
Ланганса клетки 479
Лангерганса клетки 35–37, 197
– – как АПК 197
– – миграция 83
– – при гиперчувствительности IV типа 473, 474, 477
– – рециркулирующие 35
– – связывание IgE 428
Леван 203
Легкие цепи Ig 100, 101
– – вариабельность 132
– – гены 134
– – – рекомбинация 133–138, 229, 230
– – при дифференцировке В-клеток 228, 229
– – соматический мутагенез 138–140
– – суррогатные, или псевдо 229
– – κ 100
– – λ 100
Легкое голубевода 456, 457
– фермера 456, 457
Лейкоз, индуцированный вирусом 378, 379
– хронический лимфолейкоз 136
– CALLA (CD10) 81, 382
Лейкотриен B4 (LTB4) 93
– D4 (LTD4) 93
Лейкотриены 94
– при астме 429
– у низших позвоночных 292
Лейкоцитарные антигены человека. См. Область HLA
Лейкоцитарный функциональный антиген-1 (LFA-1) (CD11a/CD18) 74, 88
– – – недостаточность 77, 403
– – – при миграции лейкоцитов 88, 90
– – – при презентации антигена 196, 200, 201
– – – при связывании бактерий 324
– – – экспрессия 34, 42
– – – 3 (LFA-3) 196–198, 200, 201
Лейкоциты 2–7, 61. *См. также* по типам
– адгезия 87–90. *См. также* Адгезия лейкоцитов
– миграция. *См.* Миграция клеток
– «пассажиры», при трансплантации 494, 495, 505
– при воспалении 61, 83, 93–95
– у беспозвоночных 276, 277
– хемотаксические факторы 91–93
– циркулирующие, эффект стероидов 405, 406
Лейкоэнцефалопатия 415
Лейшмании 335–338
– антителозависимый ответ 348, 350
– защита от иммунного ответа 350, 351, 357
– клеточный иммунитет 341, 350
– NO-механизм иммунитета 340
– наследственная чувствительность 253, 255, 338
– Tx1/Tx2-ответ 321, 345, 346
– уничтожение макрофагами 186, 341

Лейшманиоз 336, 357, 358
– вакцины 371
Лектины 29, 324, 428
– коллагеновые 63
– С-типа 23, 180
Лизирующий (атакующий) мембрану комплекс (ЛМК) 71, 72
– – – в патогенезе заболеваний 81
– – – недостаточность 77, 400
– – – механизмы обхода микробами 78
– – – при вирусной инфекции 309
– – – функции 77
Лизис комплемент-зависимый 61, 71, 72
– пути обхода 78
Лизосомные ферменты 76, 326, 358
– – защита от 353
– – у беспозвоночных 280
– – экзоцитоз 443, 457
Лизоцим 326
– взаимодействие с антителами 151, 154
– у беспозвоночных 280
Лимулюс-тест 318, 319
Лимфатическая железа у личинок амфибий 297, 298
– система 49
Лимфатические сосуды 47, 55
– узлы 49–52
– – АПК 35, 49, 50
– – миграция В-клеток к 230
– – циркуляция лимфоцитов 55–57, 83, 84
– – эволюция 289, 297, 298
Т-Лимфобласты 30
Лимфоидная система 44–54
– ткань, ассоциированная с кишечником 47
– – – – – у низших позвоночных 294, 298
– – слизистых оболочек (ЛТС) 47, 52–54, 57, 58
– – – – АПК 35
– – – – циркуляция лимфоцитов 57, 58
Лимфоидные клетки 19
– – развитие 220–231
– – у амфибий 301
– органы/ткани 44
– – вторичные 19, 44, 46–54
– – первичные 19, 45–46
– – при недостаточном питании 409
– фолликулы 35, 47, 48
– – вторичные 47, 48
Лимфокин-активированные киллерные клетки (ЛАКК) 181
Лимфокины, активация макрофагов 327
– при отторжении трансплантата 495, 496
Лимфома В-клеточная Беркитта 377, 379
Лимфомиелоидные ткани 294–298
– узлы 297
Лимфопролиферативное заболевание 256, 266
Лимфотоксин. См. Фактор некроза опухолей β
Лимфоцитопения 406
Лимфоциты 4. См. *также* В-Клетки; Т-Клетки; Нормальные киллерные клетки
– активация 29–32
– – маркеры 23, 32
– – митогенами 206
– – передача сигнала 29, 204–207
– большие гранулярные (БГЛ). См. Большие гранулярные лимфоциты
– в гранулемах 479, 480
– взаимодействие с внеклеточным матриксом 91
– – с фагоцитами 3
– внутриэпителиальные 54
– иммунорегуляторные эффекты 242–244
– инфильтрат опухоли 382, 384, 390
– инфицированные вирусом 314
– В-лимфоциты. См. В-Клетки
– Т-лимфоциты. См. Т-Клетки
– маркеры поверхности 23
– методы выделения 539–544
– миграция 54–57, 83–95
– – методы определения 542–544
– морфологические типы 19
– при воспалении 13
– привлечение 84
– приобретенный иммунитет 2
– пролиферация 11
– – тест 481, 484, 542, 544
– пэннинг 540, 541
– развитие 220–231
– реакции гиперчувствительности II типа на 441–444
– розеткообразование 540
– слизистых оболочек 53, 57, 58
– собственной пластинки слизистой 52, 57
– субпопуляции, методы выделения 539–542
– терапия онкозаболеваний 390
– функции 6
– циркуляция 54–57
– эволюция 278
Липополисахарид (ЛПС; эндотоксин), активация комплемента 175
– – лимфоцитов 29
– болезнь иммунных комплексов 466, 467
– и реакция Шварцмана 329
– индухция выделения цитокинов 176
– механизм реакции 319
– при аутоиммунных процессах 520
– реакция на 319
– связывающий белок 33
– шоковый синдром 329
Липосомы 372
Липофосфогликановая оболочка лейшманий 351, 356
Лихорадка Q 371

Магайнины 293
Макрофаги 2, 4, 32, 33
– активация 61, 184–187
– – положительная/отрицательная регуляция 187
– – при бактериальной инфекции 327
– – при паразитарной инвазии 340
– – роль кальцитриола 187
– – цитокинами 184, 185, 210
– альвеолярные 33
– в гранулемах 478, 479
– в лимфоузлах 49
– воспалительный белок (MIP-1α/β) 475
– генетическая регуляция активности 255
– гетерогенность популяции 185
– дифференциация эпителиоидных клеток 482
– защита от действия 351, 353
– инфильтрирующие опухоль 382
– инфицированные вирусом 313
– краевой зоны 50, 195
– маркеры поверхности 37
– образование 216–219
– презентация антигена 195
– при бактериальной инфекции 327
– при вирусной инфекции 309
– при гиперчувствительности II типа 441
– – – III типа 457
– – – IV типа 475–477, 482
– при грибковой инфекции 332
– при паразитарных инвазиях 340, 341
– разнообразие по свойствам 185–187
– регуляция функций 187
– IgE-рецепторы 428
– селезенки 33, 47, 48
– серозные 33
– тимуса 46
– у рыб 291, 292
– удаление иммунных комплексов 461, 462
– функция в иммунном ответе 184–187
– хемотаксические молекулы 92
– человека/мыши 327
Малярийные паразиты 335–341, 344, 345
– – антигенная изменчивость 337, 352
– – механизмы обхода иммунного ответа 352, 356
Малярия 336, 337
– анемия 359
– вакцина 359, 371, 372
– генетическая чувствительность 253, 338
– иммунопатологические эффекты 338, 339, 358, 359
– иммунный ответ 340, 348, 350–352
– Т-клеточный ответ 343–345
– Тх1/Тх2-клетки 345
Маннан-связывающий(е) лектин (МСЛ) 64, 68, 75
– лектин-ассоциированные сериновые протеиназы (МАСП) 63, 64, 68
Маннозил-фукозильные рецепторы 33
Мантия 51
Маркер(ы) моноцитов и макрофагов 33
– B7 197, 198, 201, 265
– – гибель аутореактивных Т-клеток 266
– – трансфекция гена 387
– B7-1 (CD80) 197, 198, 201
– B7-2 (CD86) 197, 198, 201
– CALLA. См. Маркер CD10
– CD 22. См. *также* приложение II
– – CD1 22, 223
– – CD2 23, 25
– – – взаимодействие Т- и В-клеток 197, 198
– – – внутриклеточная сигнализация 206
– – – презентация антигена 198
– – CD3 25, 114, 115, 222, 223. См. *также* Т-Клеточный рецепторный комплекс (ТкР–CD3)
– – – γ-цепь 114, 115, 223
– – – δ-цепь 114, 115, 223
– – – ε-цепь 114, 115, 223
– – – ζ-цепь 114, 115, 223
– – – η-цепь 114, 115, 223
– – CD4 23, 223, 225, 226
– – – внутриклеточная сигнализация 206

– – – взаимодействие с ВИЧ 313, 411
– – – при дифференцировке Т-клеток 222, 223
– – – связывание с молекулами МНС класса II 195
– – CD5 220, 230
– – CD7 221
– – CD8 23, 222, 223, 225, 226
– – CD10 (CALLA) 229
– – – при лейкозе 381, 382
– – CD11 217
– – CD11a/CD18. *См.* Лейкоцитарный функциональный антиген-1
– – CD11b/CD18 74. *См. также* Рецепторы комплемента, CR3
– – – недостаточность 77, 403
– – – при связывании бактерий 322
– – CD11c/CD18 (p150,95) 34, 74
– – CD13 34, 35, 217, 218
– – CD14 33, 35, 217, 218
– – – мембранный (CD14) 319
– – – рвстворимый (sCD14) 319
– – CD15 34, 35, 42, 217, 218
– – CD16 35, 42, 217. *См. также* Рецепторы, FcγRIII.
– – CD17 42
– – CD18 74, 217
– – CD19 27, 229, 230
– – CD20 27, 229, 230
– – CD21 230. *См. также* Рецепторы комплемента, CR2
– – CD22 27, 229
– – CD23 23, 42, 229, 230. *См.также* Рецепторы, FcεRII
– – CD25 22, 35, 222, 223, 230
– – CD28 23, 24, 266
– – – взаимодействие Т- и В-клеток 197, 198, 201
– – – нокаутные мыши 197
– – – презентация антигена 197
– – – передача сигнала 204
– – – опухоли 385
– – CD29 23, 34, 217
– – CD30 174, 183
– – CD32 42. *См. также* Рецепторы, FcγRII
– – CD33 218
– – CD34 218, 219
– – CD35 34. *См. также* Рецепторы комплемента, CR1
– – CD38 32
– – – В-клетки 229
– – – Т-клетки 217, 223
– – – миелоидные клетки 217
– – CD40 27, 37. 183, 230
– – – дифференцировка В-клеток 201
– – – лиганд (CD40L), активированные Т-клетки 32
– – – мутации 396
– – – при В-клеточной активации 201
– – – – – дифференцировке 230
– – – при переключении изотипа 212
– – CD41 42
– – CD44 23, 45, 222
– – – дифференцировка Т-клеток 45, 223
– – CD45 24, 26, 226, 303
– – CD46 (мембранный кофакторный белок) 60, 66, 69, 70
– – CD49d 34, 217
– – CD51 42
– – CD55. См. Фактор ускорения диссоциации
– – CD56 27
– – CD57 27
– – CD59 72
– – CD64. *См.* Рецепторы, FcγRI
– – CD68 34
– – CD69 32
– – CD71 (рецептор трансферрина) 32, 223
– – CD72 25, 27, 229
– – CD78 27
– – CD79a 228. *См. также* Иммуноглобулины, Igα/β
– – CD79b. *См.* Иммуноглобулины, Igα/β
– – CD80 (B7-1). *См.* Маркер B7-1
– – CD81 205, 206
– – CD86 (B7-2). *См.* Маркер B7-2
– – CD94 180
– – CD95 (Fas) 183, 256, 265–267
– – – лиганд (FasL) 183, 256
– – CD103 (HML-1) 54
– – CD122 (β-цепь ИЛ-2Р) 32, 171
– – CD134 (γ-цепь ИЛ-2Р). См. Интерлейкины
– – CD158a/b 180
– p150,95. *См.* Маркер CD11c/CD18
– Mac-1. *См.* Рецепторы комплемента, CR3
Мегакариоциты 41, 216
Медиаторы иммунитета 7
Медь, недостаточность 410
Мезангий 33
Мезангиальные клетки 33
Мембранный кофакторный белок 60, 66, 69
Менингококковая инфекция 329, 331, 400
– вакцины 365
α-Метилдофа 449
Метисергид 465, 466
Методы иммуноанализа 527–545
Метотрексат 407, 408
Миастения (myasthenia gravis) 452, 515, 523
Миграция клеток, и хемотаксис 13
– – методы определения 542
– – механизмы 89–93
– – при воспалении 13, 83, 84, 90. 91
– – пути 85, 86
– – регуляция 86
– – этапы 89
Миелобласты 217
Миелоидные клетки 18, 216
– – механизмы цитотоксичности 183, 184
– – развитие 216–219
Миелопероксидаза 325
Миелоциты 216–219
Микозы 332, 333
Микофенолат-мофетил 407
Микробы-комменсалы 189, 318
Микроглия 33, 197
Микроглобулин β_2 119
– ассоциация с антигенами МНС класса I 119, 164
– ген 132
– гомологи у беспозвоночных 285
– при дифференцировке в тимусе 221
Микроокружение 216
Микроорганизмы. *См. также* по типам
– активация комплемента 61–63, 67
– защитные механизмы у беспозвоночных 278, 282, 283
– индукция выделения цитокинов 176
– использование комплемента 77, 78
– комменсалы 318
– комплемент-опосредуемый лизис 319, 321, 322
– молекулярная мимикрия 332, 519, 520
– обход действия комплемента 77, 78
– патогенные, локализация 3
– хемотаксис 175
Микседема 508
Минорные антигены гистосовместимости 490
– лимфоцитарные стимулирующие антигены (Mls) 251, 252
Миоидные клетки 295
Митогены 29, 206
Мицуды реакция 480
Модуляторы биологических реакций 388
Молекулы адгезии, венулы с высоким эндотелием 57
– – изменение экспрессии 87, 177
– – методы определения 543
– – опухолевые клетки 384
– – при миграции лейкоцитов 57, 87–89
– – при отторжении трансплантата 496
– – при развитии Т-клеток 226
– клеточной поверхности 23, 196
– – – презентация антигена 196–198, 200, 201
– – – регуляция активации комплемента 70
– – – связывание комплемента 65
– – – семейства 23
– маркеры. *См.* Маркеры
– межклеточной адгезии 87, 89, 91, 92, 226
– – – презентация антигена 196, 197, 200, 201
– – – при гиперчувствительности IV типа 475, 478
– CD 22. *См. также* Маркеры
– МНС. См. Главный комплекс гистосовместимости
Монобласты 219
Моноклональные антитела (мАт), анализ типов опухолевых клеток 382
– – иммуногенность 389
– – иммунотерапия опухолей 388–390
– – CD-маркеры 22
– – методы получения 537–539
– – при пассивной иммунизации 373, 374
– – применение для выявления микрометастазов 385, 386
– – рекомбинантные 154, 389
Мононуклеарные фагоциты 32–35, 196. *См. также* Макрофаги; Моноциты
– – Fc-рецепторы 107
– – миграция в очаг воспаления 84
– – удаление иммунных комплексов 459, 460, 464
– – функции 32
Моноцитопения, стероид-зависимая 406
Моноциты 5, 19
– антибактериальные эффекты 327
– как антигенпрезентирующие клетки 35, 197
– миграция 83
– морфология 32

– образование 219
– при воспалении 13
– при гиперчувствительности IV типа 479
– при микозах 333
– развитие 216–220
– цитотоксичность 181, 184
Моноциты/макрофаги 19, 33–35
– – гетерогенность 185
– – поверхностные маркеры 33–35, 217, 218
– – презентация антигена 196
Мутагенез, сайт-направленный 111
– соматический (гипермутирование) 130, 138–141
Мыши голые, бестимусные 50, 140, 343, 492, 521
– мутантные бежевые 308
– Biozzi 255
– NOD 256, 518, 522
– NZB/NZW 254
– – болезнь иммунных комплексов 467, 469, 516
– – ФНОα при волчаночном нефрите 254

Насекомые-переносчики, иммунореактивность 282, 283
Наследственный ангионевротический отек 400–402
Нейраминидаза 312
Нейротоксин 434
Нейро-эндокринно-иммунные взаимодействия 246, 247
Нейтропения 402
Нейтрофилия, индуцированная стероидами 406
Нейтрофилы 38, 39
– адгезия 90
– комплемент-зависимая активация 61
– миграция 13, 84, 90
– морфология 38
– образование 216–219
– при болезни иммунных комплексов 456
– при гиперчувствительности II типа 441, 442, 443
– при грибковых инфекциях 332
– при паразитарных инвазиях 340, 341
– привлечение 38, 84
– развитие 218
– реакции против 450, 451
– Fc-рецепторы 107
– фагоцитоз 13
– функциональные маркеры 218
– хемотаксические молекулы 38, 91, 92
– цитотоксичность 181
Некроз ткани 80, 329, 330
Нематоды 335, 336, 352
Непрямой антиглобулиновый тест Кумбса 446, 448
Неспецифическая эстераза 37
Нефрит 254, 312
– гетерологичные антитела 451
– мембранный 80
– при синдроме Гудпасчера 451
– Хейманна 451
Новорожденные, антитела 100, 234
– – антиидиотипические 245
– гемолитическая болезнь 446, 447
– иммунные реакции 240
– индукция толерантности 259, 503, 504
– Т-клетки 226
– тимэктомия 421, 493, 514
– транзиторное аутоиммунное заболевание 514, 515
Новый антигенный рецептор (NAR) 289
Нокардии 327
Нокаутные мыши 190, 480
Норадреналин 247
Нормальные киллерные клетки (НК) 19, 27–29, 179–184
– – – активация цитокинами 210
– – – антибактериальное действие 320
– – – антивирусное действие 308, 311
– – – ингибирование молекулами МНС класса II 180
– – – морфология 21
– – – подавление активности 180
– – – при паразитарных инвазиях 344
– – – развитие 18, 217
– – – распознавание клеток-мишеней 181
– – – реакция на опухоли 384
– – – фенотипические маркеры 27
– – – функции 28
– – – эволюция 291
– – – эффекторные механизмы 181, 182
Нуклеотиды, вставка 99, 131, 137, 146, 290

Область HLA 118, 490
– – гаплотипы 121–123
– – гены классов I и II 124–126
– – специфичности. См. приложение I
– H-2 123, 490
– – гаплотипы 123–125
– – гены 123, 124
Облучение УФ-светом 478
– общее лимфоидной ткани 504
Обучение в тимусе. См. Отрицательная селекция; Положительная селекция
Общий вариабельный иммунодефицит 396
Овальбумин 238
Овца 34, 141
Оксид азота NO, при астме 433
– – – при бактериальной инфекции 324, 325
– – – при грибковой инфекции 333
– – – при паразитарных инвазиях 340, 341
Оксидаза NADP•H 402, 403, 442
Олеиновая кислота 288
Онкостатин М 171, 337
Онхоцеркоз 336. См. *также Onchocerca volvulus*
Опиатные пептиды 283
Оппортунистические инфекции 413
Опсонизация 9, 61, 322
– опосредованная комплементом 61, 75, 78, 320
Опсонины 7, 292, 322
Опухолеассоциированные трансплантационные антигены (Т-антигены) 378
Опухолеспецифические трансплантационные антигены 378
Опухоли 376–391
– антигены вирусного происхождения 377–379
– – презентация 384
– – распознаваемые антителами 377, 378, 380–382
– – – клетками иммунной системы 377–379
– – специфические 378, 379
– вакцины 374
– иммунодиагностика 385, 386
– иммунологический надзор 376–378
– иммуносупрессия при 384, 385
– иммунотерапия 385, 387–391
– иммунный ответ 382–384
– как тканевые трансплантаты 376
– лимфоидные инфильтраты 382, 383
– обход иммунного ответа 384
Основный белок миелиновой оболочки 238
Отрицательная селекция 225
– – В-клетки 213, 14, 268, 269
– – Т-клетки 225, 251, 253, 261–267
– – – внетимусная 264–267
– – – генетический контроль 252
– – – гипотезы 225
– – – сигнал гибели 265, 266
– – – суперантигенами 251
– – – у *Xenopus* 301, 302
Отторжение аллотрансплантата острое 174, 175, 446
– трансплантата, роль Т-клеток 492–496
– – динамика 496–499
– – молекулярный механизм 493, 494
– – острое 497
– – предотвращение 499–506
– – роль лимфокинов 495
– – – Тх 494
– – хроническое 498, 499

Память иммунологическая 15, 210
– – клетки 30, 32
– – – развитие 234, 235
– – – маркеры 230
– – – индукция толерантности 272
Папилломавирусы 377
Паразитарные инвазии 335–359
– – антитела 348, 349, 351, 352
– – вакцины 359
– – генетические различия по устойчивости 338
– – иммунитет 338–349
– – иммунопатологические эффекты 348, 358
– – обход иммунного ответа 349–358
– – Т-опосредованный иммунитет 342–349
– – реакции тучных клеток 342
– – характеристики 336–338
– – хроническое течение 338
– – эффекторные механизмы при 338–342
Паразитические простейшие. См. Простейшие
Паратоп 150
Пастер, Луи 361
Пейеровы бляшки 45, 53, 57
Пептид(ы), ассоциированный с молекулами МНС класса II (CLIP) 165, 166
– в вакцинах 365
– Т-клеточные антигенные 159, 160
– процессированные антигенные 160
– – – экзогенного происхождения 165
– – – эндогенно синтезированные 162
– связанный с геном кальцитонина 187
– связываемые МНС-молекулами 161–166
– – – антагонисты 263

– – – аффинность TkP и селекция тимоцитов 261–263
– синтетические антигенные 160
– чужеродные, при трансплантации 494
– якорные остатки 161, 162
– f-Met-Leu-Phe 92, 323
Переключение изотипа (класса) Ig 142, 143, 210
– – – и Т-независимые антигены 203, 233
– – – и тип антигена 233, 234
– – – при иммунодефиците с гиперпродукцией IgM 394
– – – роль Т-клеток 211, 212
Перекрестная реактивность 153, 154
Переливание крови 16, 444–446
– – проба на совместимость 445
– – реакции при пересадке 504–506
– – сверхострое отторжение трансплантата 446, 504
Пернициозная анемия 509, 515, 523
Пероксидаза 434
Перфорин 182
Печень как лимфомиелоидный орган 226, 227
– плода, развитие В-клеток 226, 227
– удаление иммунных комплексов 463
Пигментные клетки у беспозвоночных 278
Пикорнавирус мыши 315
Пиронинофильные клетки 231
Питание, и иммунореактивность 408–411
– чрезмерное 410
– белково-калорическая недостаточность 409, 410
Питающие клетки у беспозвоночных 278
Пищевая аллергия 418
Плазматические клетки 30, 31, 53–55
– – апоптотическая гибель 31, 230
Плацентарный перенос иммуноглобулинов 100
Плод, иммуноглобулины в сыворотке 234
Поверхность защитная 67
– молекулы. См. Молекулы клеточной поверхности
– своя/не-своя 62
Позвоночные 140, 141, 285–303
– врожденный иммунитет 291–294
– В клетки/иммуноглобулины 288–291
– Т-клетки 285–288
– лимфомиелоидные ткани 294–299
– MHC 286, 287
Поликлональная активация 203, 357, 359
Поли-D-аминокислоты 203
Полиморфноядерные гранулоциты 19, 38
– нейтрофилы (ПМН, или PMN) 5, 38. *См.также* Нейтрофилы
– – при болезни иммунных комплексов 457
Полиомиелитная вакцина 362–364, 368, 369
Полисахаридные бактериальные антигены 203, 237, 365, 367
Положительная селекция В-клеток 213, 214, 268
– – Т-клеток 224, 250, 253, 261–264
– – – генетическая регуляция 250–253
– – – у *Xenopus* 301, 302
Порообразующие молекулы 71, 72
Почки как лимфомивлоидный орган 294, 298
– отложение иммунных комплексов 466, 467
– трансплантация 377
Пре-В-клетки 227, 228
– и индукция толерантности 270, 271
– продукция Ig 144
Предковые клетки 201
Приобретенный иммунитет 2, 276
– – и вакцинация 361
– – и система комплемента 61, 62
Прионы 305, 306
Проба кожная 478
– на совместимость 445
Про-В-клетки 229
Проказа (лепра) 482–485. *См. также Mycobacterium leprae*
Промиелоциты 217
Промоноциты 219
Пропердин 69
– недостаточность 400
Простагландин Е 93, 434, 475
Простагландины 75, 356
– паразитарного происхождения 356
– при астме 431
– при гиперчувствительности I типа 428
– – – IV типа 476, 477
Простейшие 335–349
– обход иммунного ответа 349–359
Протеазомы 163
Протеинкиназа С 30
Протеогликаны клеточной поверхности 23
Профенолоксидазная система 279–281
Псеедогены, иммуноглобулиновые локусы 135, 141
Псевдоглобулины 59
Псориаз 188
Птицы 140, 141, 290
– развитие В-клеток 230
– – Т-клеток 221
Пузырчатка 451
Пуриннуклеозидфосфорилаза, недостаточность 398

Радиоиммуноанализ 530, 531
Раздражающие вещества, контактная гиперчувствительность 475
Раково-эмбриональные антигены (РЭА) 381, 385
Рапамицин 408, 502
Распознавание антигена 10. *См. также* Антитела; Т-Клеточный рецептор
– – Т-клетками 159
– клеток-мишеней 179, 180
– микроорганизмов 321
– независимое от лимфоцитов 318
– свое/не-свое 62, 70. *См. также* Аутотолерантность; Отторжение
– – комплемент 62, 70
Рассеянный склероз 188
С-Реактивный белок 7
Реакция гемагглютинации 528–530
– преципитации 527, 528
– с образованием волдыря 418, 430
– смешанной культуры лейкоцитов (РСКЛ) 500
– трансплантат против хозяина 491
– хозяин против трансплантата 491
Ревматическая лихорадка 520
Ревматоидные факторы 256, 467, 517
Ревматоидный артрит 188, 516, 517
– – HLA-ассоциация 254, 511, 512
– – гормональные нарушения 522, 523
– – лечение 524
– – отложение иммунных комплексов 465, 466, 517
Резус-антигены 444, 445
Резус-несовместимость 446–448
Рекомбинирующие сигнальные последовательности (RSS) 136
Ретикулоэндотелиальная система 5, 32
Рецептор(ы), активирующие киллерную активность 28, 181
– N-ацетилглюкозамина 33
– G-белков 74, 75
– ингибирующие киллерную активность (РИК, или KIR) 28, 180
– к антигенам эритроцитов барана 34
– к тиреотропному гормону 514, 520
– к факторам роста нервов, семейство 23
– комплемента, CR1 (CD35) 60, 66, 69, 72, 73, 77
– – – при удалении иммунных комплексов 460, 461
– – – регуляция активации комплемента 66
– – – у не-приматов 458, 460, 461
– – – функции 73
– – – экспрессия клетками 26, 27, 34, 35, 37, 42, 79
– – CR2 (CD21) 26, 27
– – – в В-клеточном корецепторном комплексе 205
– – – взаимодействие с иммунными комплексами 242
– – – дифференцирующиеся В-клетки 229, 230
– – – функции 73, 74
– – – экспрессия клетками 26, 27, 34, 37, 79
– – CR3 (Mac-1; CD11b/CD18) 34, 35, 42, 74, 77
– – – недостаточность 77, 403
– – – при миграции лейкоцитов 74
– – – связывание бактерий 74
– – – экспрессия клетками 74, 79
– – p150,95 (CD11c/CD18; CR4) 34, 74, 77
– трансмембранные, семейство 74, 75
– фактора некроза опухолей 23, 182
– – роста В-клеток (BCGFR) 230
– цитокинов 169–173
– Fas 183
– FasL 182
– Fc 107, 108
– FcεRI 108, 109, 428
– – IgE-связывающий центр 108, 109
– – клеточное распределение 41, 42, 109
– FcεRII (CD23) 42, 108, 109, 428
– – В-клетки 229, 230
– – клеточное распределение 32, 42, 109
– FcγRI (CD64) 34, 37, 107, 108
– FcγRII (CD32) 34, 37, 42, 107, 108
– – клеточное распределение 107
– FcγRIII (CD16) 107, 108
– – клеточное распределение 42, 107
– FcμR 107
– FcRn 111
Риккетсии 255

Родопсиновое семейство рецепторов, связывающих G-белки 74
Розеткообразование, метод 540
Рыбы, иммуноглобулины 288, 289
– комплемент 292
– лимфомиелоидные ткани 294
– НК-клетки 291
– фагоциты 291, 292
– МНС и Т-клетки 287

Сальмонеллы 255
– как векторные вакцины 366
Санарелли–Шварцмана реакция 329
Саркоидоз 480, 482, 483, 485
Саркома Капоши 413, 414
Секреторный компонент 100, 104
Селезенка 45, 47–49
– антигенпрезентирующие клетки 35
– миграция В-клеток 230
– – лимфоцитов 56
– при болезни иммунных комплексов 460, 463
Селектин Е 478
Селектины 88, 89
Селекция клеток 212–214, 225, 253. *См. также* по типам
Селен, недостаточность 410
Сенная лихорадка 418
Сериновые протеиназы, ассоциированные с МСЛ (МАСП/МАСП2) 64, 68
Серотонин (5-гидрокситриптамин) 93, 456
Сигнал активации 29, 204–206
– гибели 264
Сигнальные иммунорецепторные тирозинкиназы, структурные мотивы (ITAM) 204
Сигналы внутриклеточные 204–207
Синдром Вискотта–Олдрича 399, 400
– Ламберта–Итона 452, 515
– Гийена–Барре 515
– Гудпасчерв 451, 516
– Ди Джорджи 399
– с гиперпродукцией IgM 201, 396
– токсического шока 206, 329
– Чедиака-Хигаши 308
Синтаза оксида азота 324, 325, 433
Система свертывания крови 94
– сердце–легкие 80
Системная красная волчанка (СКВ) 450
– – – аутоантитела 450
– – – баланс Тх1/Тх2 175
– – – болезнь иммунных комплексов 467
– – – животные модели 459, 467, 516. *См. также* Мыши NZB/NZW
– – – лечение 524
– – – нефрит 459, 467, 516
Системы групп крови 444–446
Скваламин 294
Смешанная культура лимфоцитов/опухолевых клеток 383
Соматическая рекомбинация генов Ig 131–138
Соматический мутагенез (соматическое гипермутирование) генов ТкР 145, 146, 223, 225
– – – Ig 130, 138–141
– – и созревание аффинности 213, 214
– – у овцы и коровы 141
Сортировка флуоресцентно меченных клеток. *См.* Клеточный сортер
Сосудистая проницаемость при болезни иммунных комплексов 457, 465
– – при воспалительной реакции 84, 94
Специфичности. *См. также* приложение I
– фетальный репертуар 136
– Тц- и Тх-клеток 383
СПИД 411–415. *См. также* Вирус иммунодефицита человека
– и токсоплазмоз 415
– нарушение иммунных функций 411, 412
– оппортунистические инфекции 413–415
Стафилококки 331
Стафилококковые энтеротоксины 206, 251, 331
Стафилококковый белок А 106, 112
Стволовые клетки 18, 216, 217
Стемпера–Вудруфа метод 543
Стероиды 247, 294, 405, 406, 501, 524. *См. также* Кортикостероиды
Стрептококки 331, 520
– группы А 321
– реакция Шварцмана 329
Стресс 174, 247
Суперантигены 206, 251, 252
– влияние на иммунный ответ 251
– микроорганизмов 330, 331
Супероксиддисмутаза 351
Супероксидный анион-радикал 324, 330
Супрессорные Т-клетки (Тс) 25, 178, 243
– – и десенсибилизация 438
– – и приживление трансплантата 505
– – при атопии 435, 436
– – при аутоиммунном процессе 521
– – регуляция синтеза IgE 422, 423
Сывороточная болезнь 457–459

Такролимус (FK506) 292, 408, 502
Температура, эффекты у гомойотермных животных 288, 292, 294
Теофиллин 427
Терминальная дезоксинуклеотидил-трансфераза (TdT, или ТдТ) 138, 222, 228, 229
Тест стимуляции лимфоцитов 542, 544
– с высвобождением хрома 542, 544
– с тетразолиевым нитросиним 402
– ферментный иммуносорбентный (ELISA) 531, 534
– ELISPOT 542
Тетрагидробиоптерин 186, 325
Тимоциты 45, 223
– отрицательная селекция 225, 262–264
– стадии развития 223, 261
Тимус 45, 46, 221
– антигенпрезентирующие клетки 35
– возрастная инволюция 46
– выделение лимфоцитов 540
– клетки-«няни» 221
– при недостаточном питании 409
– при ТКИД 397
– развитие 46
– – аутотолерантности 261–264, 302
– – Т-клеток 221–226
– – у амфибий 299–302
– селекция Т-клеток. *См.* Положительная селекция; Отрицательная селекция
– трансплантация у амфибий 301
– эволюция 294, 295
Тимэктомия 421, 422, 493, 514
– у амфибий 299
Типирование тканей 499–501
Тиреоглобулин 242–244, 508, 512
Тиреоидит, спонтанный у кур 513, 514
– экспериментальный аллергический 244
– Хасимото 508, 509, 511, 513
Тиреоидные аутоантитела 513
– – у кур линии OS 513, 514
– фолликулярные клетки 197
Тиреотоксикоз 514, 518
Тирозиназа 384
Тирозинкиназы 171, 204, 205
Тканевые клетки 4
Токсины бактериальные 316, 317, 329, 331, 364
– – инактивированные 364
Токсоплазмоз 336, 344
– защитные механизмы возбудителей 353, 354, 358
– иммунный ответ 342, 344
– при СПИДе 344, 415
Толерантность 258–274
– ауто 260–270, 508, 521
– – В-клетки 267–270
– – периферическая 226, 264–267, 493
– – центральная тимическая 260–264, 493
– и способ введения антигена 273
– игнорирование антигенов 264, 265
– индукция 260–264, 270–274
– – неонатальная 273
– индуцируемая паразитами 356–358
– В-клеточная. *См.* В-Клетки, толерантность
– Т-клеточная. *См.* Т-Клетки, толерантность
– роль АПК 239
– терапевтические возможности 274
– у амфибий 302
– эффект дозы антигена 271, 272
Трансгенные животные 544
– – аутоиммунные процессы 267
– – специфическая цепь в ТкР 250–252
– – толерантность 252, 253, 260
Трансплантат, выживаемость 504, 505
– отторжение 491–496. *См. также* Отторжение
Трансплантация, генетические барьеры 489
– законы 491, 492
– и молекулы МНС 490–494
– индукция толерантности 493
– у беспозвоночных 283, 284
– у позвоночных 302
Трансформирующий фактор роста β (ТФРβ) 210, 216, 385
– – – – дезактивация макрофагов 187
– – – – и дифференцировка Тх1 173
– – – – иммунорегуляторное действие 210, 212, 273
– – – – нокаутные мыши 190
– – – – при контактной гиперчувствительности 476

– – – – при отторжении трансплантата 498, 499
– – – – при паразитарной инвазии 340
– – – – при переключении изотипа 212
Трематоды 335, 336
Трипаносомоз 336, 355
– вакцинация 371
Трипаносомы
– антигенная изменчивость 352, 355, 356, 372
– гуморальный ответ 348, 350
– защита от иммунного ответа 350–352
– иммунопатологические эффекты 358
– Т-клеточный ответ 344
Триптаза 425, 427
Трихинеллез, генетическая устойчивость 252
– иммунный ответ 349, 358
Трихинеллы 335, 336
– защита от иммунного ответа 356, 358
Трихуриоз 336, 337
– иммунитет 348
Тромбоцитопеническая пурпура 449, 451, 516
Тромбоциты 7, 41
– аутоантитела к 442, 449, 450
– в селезенке 48
– IgE-опосредованная сенсибилизация 427
– при болезни иммунных комплексов 457
– при воспалении 95
– при паразитарных инвазиях 340, 342
– развитие 216, 217
Тромбоэмболия 516
Туберкулез 482. См. *также Mycobacterium tuberculosis*
– вакцинация 363, 370
– образование гранулем 485
– продукция кальцитриола 187
Туберкулиновая кожная проба 478
Тучные клетки 6, 40, 42, 425–430
– – активация 428
– – в слизистых оболочках 425
– – дегрануляция 428–430
– – и аллергия 419, 425–430
– – классификация 425
– – маркеры 42
– – медиаторы 428–430
– – мишень терапевтического воздействия 427
– – при астме и сенной лихорадке 427
– – при воспалении 95
– – при паразитарных инвазиях 342, 358
– – развитие 217
– – Fc-рецепторы 109
– – триптаза-содержащие 425–427
– – химаза-содержащие 425–427
Тяжелая μ-цепь
– – ассоциация с суррогатной легкой цепью 144, 228
– – регуляция синтеза иммуноглобулинов 103–104
– – синтез 102, 103
Тяжелые цепи иммуноглобулинов
– – – вариабельная область (Vн) 100, 101
– – – вариабельность 131–133, 138
– – – гены 142
– – – переключение изотипа 232–234
– – – рекомбинация 134–138, 229, 231, 232
– – – соматический мутагенез 138–140
– – – гипервариабельные участки (CDR) 133
– – – домены 101, 102
– – – изотипическая изменчивость 105
– – – константная область (Cн) 100, 101
– – – сплайсинг мРНК 142, 143
– – – экспрессия 231–234
Тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД) 248, 397, 398
– – – у мыши 244

Углеводный компонент Ig, роль в удалении иммунных комплексов 464, 465

Фабрициева сумка 46, 230
Фаголизосомы 13, 39, 324, 325
Фагосома 13, 39
Фагоцитоз 12, 13, 175
– иммунопатология 441–444, 457
– при паразитарных инвазиях 350
– роль комплемента 76, 77, 175
Фагоциты 2, 5
– взаимодействие с лимфоцитами 3
– миграция 83
– мононуклеарные 4
– наследственные дефекты 402, 403
– при воспалении 13
– при гиперчувствительности II типа 442–444
– связывание бактерий 323
– у беспозвоночных 277, 280
– у рыб 291–292
– уничтожение бактерий 324–328
– устойчивость микробов 328, 329
– функции 2, 3, 8, 9
– хемотаксис 7, 175
Фактор(ы) активации тромбоцитов 93, 434
– активирующий макрофаги 495, 496
– гомологической рестрикции 72
– дезактивирующий макрофаги 187
– комплемента 60, 65–70
– морской звезды 283
– некроза опухолей (ФНО) 169
– – – антагонисты 374
– – – и аутоиммунитет 521
– – – при бактериальной инфекции 320
– – – при вирусной инфекции 310
– – – при ВИЧ-инфекции 314
– – – при гранулематозной реакции 482
– – – рецепторы 183
– – – сверхпродукция 329, 359
– – – α (ФНОα) 8
– – – – активация макрофагов 186, 340
– – – – в привлечении лейкоцитов 177
– – – – в раннем иммунном ответе 176
– – – – гибель Т-клеток 265
– – – – и волчаночный нефрит 254
– – – – и реакция Шварцмана 329
– – – – и толерантность 265
– – – – и экспрессия молекул адгезии 91
– – – – нокаутные мыши 190
– – – – при активации В-клеток 220
– – – – при аллергии 434
– – – – при гиперчувствительности IV типа 474, 478, 481, 482
– – – – при клеточноопосредованной цитотоксической реакции 183
– – – – при паразитарных инвазиях 340–342
– – – – терапевтическое применение 388, 391
– – – β (ФНОβ, лимфотоксин) 190
– – – – нокаутные мыши 190
– – – – при активации В-клеток 202
– – – – при гиперчувствительности IV типа 478
– – – – при клеточноопосредованной цитотоксической реакции 183
– – – – при отторжении трансплантата 495, 496
– роста В-клеток (BCGF) 230
– стимулирующий гепатоциты. См. Интерлейкин-6
– ускоряющий диссоциацию (ФУД; CD55) 60, 66
Фенолоксидаза 279–281
α-Фетопротеин 381, 385
Фибринопептиды/фибрин 93
Фибробласты 480
Фибронектин, рецепторы 91
Фиколл 203
Филярии 336, 337
Фитогемагглютинин 29, 206
Флавивирусы 78
Флагеллин 203
Фолат, недостаточность 410
Фолликулы 30, 47, 48, 50–53
Фолликулярные дендритные клетки 35, 36, 197
– – – активация В-клеток 205, 213, 214
– – – взаимодействие с центроцитами 234
– – – как АПК 195, 197
– – – локализация 47, 51
– – – происхождение 219
Фосфатидилинозитол 29
Фосфолипаза С 204
Фрагмент(ы) Fab 109
– $F(ab')_2$ 109
– Fc 109
– Fc′ 109

Хагемана фактор 94
Хелперные Т-клетки (Тх). См. *также* Т-Клетки $CD4^+$, $CD8^+$
– – в гуморальном ответе 242–244
– – в клеточноопосредованном ответе 178, 179
– – выбор механизма ответа 178, 179
– – и продукция IgE 421
– – морфология 20
– – презентация антигена 201
– – при аутоиммунных болезнях 174, 175, 267
– – при отторжении трансплантата 174, 175
– – противоопухолевый ответ 277, 278
– – MHC-рестрикция 159
– – субпопуляции 173–175. См. *также* ниже Тх1, Тх2
– – цитокиновый профиль 173–175
– – Тх0 24
– – Тх1 173–175, 476
– – – активация В-клеток 201
– – – дифференцировка 174
– – – при аутоиммунных болезнях 267

– – – при паразитарных инвазиях 344–346
– – – регуляция продукции IgE 422
– – – цитокины 267
– – Tx1/Tx2-баланс, генетическая регуляция
– – – и аутотолерантность 267
– – – и десенсибилизация как лечение 427
– – – и доза антигена 238
– – – и механизм ответа 243
– – – и переключение изотипа 234
– – – и продукция Ig 242–244, 267
– – – и тип АПК 239, 240
– – – индукция эффекторных механизмов 174
– – – при астме 175, 432, 436
– – – при отторжении трансплантата 364
– – – при паразитарных инвазиях 345–348
– – – регуляция кальцитриолом 187
– – Tx2 173–175
– – активация В-клеток 201
– – дифференцировка 174
– – при паразитарных инвазиях 345–348
– – регуляция иммунного ответа 244, 267
– – цитокины 267
Хемокинез 92
Хемокины 92, 94
Хемотаксис 13, 92
– при бактериальной инфекции 320
– и миграция клеток 91, 93
Хемотаксические факторы 91, 93
– – тучные клетки 428, 429
Хемотаксический фактор для нейтрофилов 93
Химаза 427
Химеризм, и толерантность 272
– у *Xenopus* 301, 303
Хламидии 327, 329
Холера 317, 331, 332
– вакцина 362, 364, 370
– токсин 364
Хоминг, молекулы 57
Хромомикоз 332

Цекропины 281, 293
Центробласты 50, 235
Центроциты 30, 50, 235
Центры размножения 47, 50, 51, 234, 235
– – развитие В-клеток 213, 214, 234, 235
Цестоды 335, 336, 352, 356
Циклоспорин 408, 501, 502, 524
Циклофилины 406, 407
Циклофосфамид 294
Цинк, дефицит 410
Цирроз 510, 524
Цитоадгезины (β_3-интегрины) 88
Цитокератин 386
Цитокины 7, 95, 169–175
– активация В-клеток 202, 209
– – Т-клеток 198, 207, 208
– – макрофагов 327
– антагонисты 191
– влияние на Tx1/Tx2 24, 174
– децепторы 191
– дифференцировка Т-клеток 226
– и клеточная цитотоксичность 183, 184
– и контактная гиперчувствительность 474
– и стероидная терапия 406
– и экспрессия MHC 354
– избыточное выделение 189, 329
– иммунорегуляция 209, 210
– ингибиторы активности, терапия 374
– индукция молекул адгезии 66
– индуцируемое микробами выделение 176
– как адъюванты 372, 373
– нейроэндокринные влияния 246, 247
– нокаутные мыши 190
– передача сигнала 171–173
– при аллергии 418–420
– при аутоиммунных процессах 520–522
– при бактериальной инфекции 176
– при взаимодействии Т- и В-клеток 201, 202
– при воспалении 95
– при гиперчувствительности IV типа 481, 482
– при отторжениии трансплантата 357–359
– при паразитарных инвазиях 342–348
– при переключении изотипа 233, 234
– при презентации антигена 197, 198
– привлечение лейкоцитов 176
– противоопухолевое действие 391
– рецепторы 169–171, 191
– сетевые взаимодействия 189–192
– терапевтическое применение 388, 390, 391
– трансфекция гена, опухоли 387
– фактор, ингибирующий синтез. *См.* Интерлейкин-10
– эволюция 392–293
Цитомегаловирус 415
– иммунный ответ 308
– обход иммунного ответа 314
Цитотоксические клетки 6. *См. также* Цитотоксические Т-клетки; Клетки-киллеры; Нормальные клетки-киллеры
– – иммунопатологические эффекты 188
– – тесты 542–544
– – у низших позвоночных 291
– – эффекторные механизмы 328, 329
– Т-клетки (Тц) 5. *См. также* Т-Клетки $CD8^+$
– – $CD4^+$ 179, 182
– – антивирусный иммунитет 310
– – иммунотерапия опухолей 390
– – индукция ответа дендритными клетками 240
– – мишени 179, 180
– – морфология 20
– – опухолеспецифичные 383–385
– – презентация антигена 162–164, 179, 180
– – MHC-рестрикция 180, 249
– – субпопуляции 24, 175
– – у позвоночных 285, 286
– – эффекторные механизмы 181–183
– – Тц1, Тц2 175
– реакции 179–184
Цитотоксичность антителозависимая клеточная. *См.* Антителозависимая клеточная цитотоксичность

Чувствительность к бериллию 479
– к цирконию 479

Шварцмана реакция 329
Шистосомоз 336, 337, 349, 372, 482, 485, 486
– образование гранулем 188, 482
Шистосомы 188, 335–342
– иммунопатологические эффекты 188, 358
– механизмы ухода от иммунного ответа 352, 353, 356–358
– уничтожение эозинофилами 342
– эффекторные механизмы иммунного ответа 340–342, 347, 349
Шоковые синдромы 321
– – анафилактический 359
– – эндотоксический (септицемический) 80, 329, 331
Шпорцевая лягушка *Xenopus*, иммуноглобулины 289
– – – комплемент 292
– – – лимфомиелоидные ткани 294–299, 303
– – – модель для изучения иммунных реакций 299–303
– – – цитокины 292
– – – цитотоксические клетки 211
– – – MHC 286–287

Эйкозаноиды 75, 292
Экзема атопическая 418
– контактная 473
Электрофорез
Элефантиаз 358
Эндокардит бактериальный 80
Эндоплазматический ретикулум (ЭР) 144, 165
Эндорфины 246, 247
Эндосомы/лизосомы 165, 166
Эндотелиальные клетки. *См. также* Венулы с высоким эндотелием
– – и отторжение трансплантата
– – миграция клеток 83–85, 89–93
– – – лейкоцитов 90
– – молекулы адгезии 86–89
– – поверхностные маркеры 57
– – презентация антигена 197
– – при воспалении 90, 94
– – при гиперчувствительности IV типа 476
Эндотоксин. *См.* Липополисахарид
Энкефалины 246, 247
Энтероциты 54
Энцефаломиелит экспериментальный аллергический 238, 273, 512
Эозинофилия 422
Эозинофилы 6, 39
– IgE-сенсибилизация 427, 428
– генетическая регуляция активности 255, 256
– дегрануляция 434
– морфология 39, 40
– при астме 432–434
– при гиперчувствительности II типа 442
– при паразитарных инвазиях 340, 342
– развитие 217
– функциональные маркеры 42
– хемоаттрактанты 39
– цитотоксическая активность 181
Эпидермис 25
Эпителий, ассоциированный с фоликулами 53, 54
Эпителиоидные клетки 479, 480, 483
Эпитопы 155, 158

– ауто 517
Эритроидные клетки 216
Эритроциты, антигены групп крови 444–446
– аутоантитела 244, 359, 516
– в селезенке 48
– комплемент-зависимый лизис 72
– при болезни иммунных комплексов 462, 463
Эрлих, Пауль 259, 376
Эуглобулины 59
Эффект носителя 199
– подавления свидетеля 244, 273
Эффекторные механизмы 12
Эхинококк 335, 358, 359

Янус-киназы (Jaks) 171, 190

blk 205
CD 22
CD28 197, 204, 266
CTLA-4 197, 198
F480 34
Fas 256, 265–267
FasL 182, 256, 265–267
fyn 204, 205
gp130 (β-цепь ИЛ-6Р) 171
Gp63 354
H-2 123
HLA 118
ISCOMs 373
ITAMs 204
LAG-3 174
lck (p56ck) 122, 204, 205
LFA-1 197
LFA-3 197, 198, 200
LMP2 164
LMP7 164
Ly1 (CD5) 26, 27
Ly49 180
Lyb-2 27
Lyb-5 27
lyn 204, 205
MAdCAM-1 87
MIIC 165
NADP•H 402, 403
NFIL-6 173
NFκB 173, 204
RAG-1/RAG-2 136, 137, 223
RANTES 92, 173
Sgp-200 89
Stats 171, 172, 190
Syk 205
TAP 163, 164, 254
TAPA-1 205
Thy-1 25
Tyk 171, 172
XLA (MHC у *Хелопus*) 286
ZAP-70 204, 205

Указатель латинских названий организмов

Ancylostoma duodenale 336
Ascaris 337
– *lumbricoides* 336
Aspergillus fumigatus 333

Brugia malayi 336

Campylobacter 415
Candida albicans 78, 332, 333, 397, 451
– *parapsilosis* 333
Chlamidia 329
– *psittaci* 327
– *trachomatis* 327
Clostridium 365
Corynebacterium diphteria 248, 331
Cryptococcus neoformans 333, 415
Cryptosporidium 415

Dupelatonema perstans 336

Entamoeba hystolytica 336, 352
Escherichia coli 279, 327, 365

Giardia lamblia 336

Haemophilus 329
– *influenzae* 365, 369, 393

Legionella 185
– обход иммунного ответа 353, 354, 356
– NO-ответ 340
– *pneumophila* 327
Leishmania 188, 335, 336
– антителозависимый ответ 348, 350
– вакцина 371
– механизмы обхода иммунного ответа 350, 351, 353, 354, 356, 358
– уничтожение макрофагами 186, 340, 341
– *donovani* 350, 357, 478
– – генетическая чувствительность 253, 255, 338
– – механизмы обхода иммунного ответа 350
– *major*, клеточный иммунитет 179, 343
– – генетическая чувствительность 255
– – обход иммунного ответа 321, 350, 354
– – NO-ответ 341
– – Tx1/Tx2-ответ 321, 345, 346
– *mexicana* 354
– *tropica* 350, 478
Listeria monocytogenes 185, 188, 328

Mycobacterium bovis 255
– *intracellulare* 255
– *leprae* 331, 479, 483–485
– – и гиперчувствительность IV типа 188, 478, 480, 483–485
– – обход ответа 328, 329
– *lepraemurium* 255
– *tuberculosis* 185, 188, 321, 327, 331, 414
– – генетическая чувствительность 255
– – гранулематозная реакция 479
– – обход иммунного ответа 329
– – очищенные белки 185
– – туберкулиновая проба 478
– – феномен Коха 330, 478, 479
Mycoplasma pneumoniae 449

Necator americanus 336
Neisseria gonorrhoeae 365, 400
– *meningitidis* 77, 331, 400
Nippostrongylus brasiliensis 343, 344, 348

Onchocerca volvulus 336, 348
– – иммунопатологические эффекты 359
– – обход ответа 352, 356

Plasmodium 335, 336, 348, 350–352
– *berghei* 344, 352
– *chabaudi* 341
– *falciparum* 336, 341, 352
– – и гаплотипы HLA 253
– – обход ответа 356
– *knowlesi* 352
– *malariae* 336
– *ovale* 336
– *vivax* 336, 338
– *yoelii* 343, 344
Pneumocystis carinii 397, 414
Porphyromonas gingivalis 76

Rickettsia 329
– *tsutsugamushi* 255

Salmonella 329, 415
– *typhimurium* 255, 339
Schistosoma 353
– *haematobium* 336
– *japonicum* 336
– *mansoni* 336, 350
– – иммунопатологические эффекты 358
– – обход ответа 357, 358
– – уничтожение эозинофилами 342
– – эффекторные механизмы ответа 339, 342, 346–349
Shigella 329
Staphylococcus aureus 331, 393
Streptococcus pneumoniae 393

Toxocara canis 356
Toxoplasma gondii 335, 336, 344, 345
– – иммунный ответ 340, 342, 351
– – обход ответа 351, 353, 354, 358
– – при СПИДе 344, 415
Trichinella spiralis 335, 336
– – генетическая чувствительность 252
– – иммунный ответ 339, 341, 342, 349, 351, 358
– – обход ответа 352, 356, 358
Trichuris trichura 336, 348
Trypanosoma 336, 351
– вакцина 371
– иммунный ответ 340, 344, 345, 348–351
– иммунопатологические эффекты 359
– обход ответа 352, 353, 355, 357, 358
– *brucei* 283, 350, 355, 358
– *cruzi* 335, 336, 340, 342, 348, 349, 353, 358
– *gambiense* 336
– *rhodesiense* 283, 336

Vibrio cholera 331

Wuchereria bancrofti 336, 358

Xenopus. См. предметный указатель: Шпорцевая лягушка *Xenopus*

Yersinia enterocolytica 520
– *pseudotuberculosis* 324