

Глава 6

Т-ЛИМФОЦИТЫ

Основная задача Т-лимфоцитов — распознавание чужеродных или измененных собственных антигенов в составе комплекса с молекулами МНС. Если на поверхности своих клеток будут представлены чужеродные или измененные свои молекулы, Т-лимфоцит запускает их уничтожение.

- ▶ В отличие от В-лимфоцитов, Т-лимфоциты не продуцируют растворимых форм антигенраспознающих молекул. Более того, большинство Т-лимфоцитов не способны распознавать и связывать растворимые антигены.
- ▶ Для того чтобы Т-лимфоцит «обратил свое внимание» на антиген, другие клетки должны «пропустить» антиген через себя и выставить его на своей мембране в комплексе с МНС-I или МНС-II. Это и есть феномен презентации антигена Т-лимфоциту. Распознавание такого комплекса Т-лимфоцитом — двойное распознавание, или МНС-рестрикция Т-лимфоцитов.

АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЙ РЕЦЕПТОР Т-ЛИМФОЦИТОВ

Антигенраспознающие рецепторы Т-клеток — TCR — состоят из цепей, принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов (см. рис. 5-1). Выступающий над поверхностью клетки антигенраспознающий участок TCR — гетеродимер, т.е. состоит из двух разных полипептидных цепей. Известны два варианта TCR, обозначаемые как $\alpha\beta$ TCR и $\gamma\delta$ TCR. Эти варианты различаются составом полипептидных цепей антигенраспознающего участка. Каждый Т-лимфоцит экспрессирует только 1 вариант рецептора. $\alpha\beta$ Т-клетки были открыты раньше и изучены подробнее, чем $\gamma\delta$ Т-лимфоциты. В связи с этим строение антигенраспознающего рецептора Т-лимфоцитов удобнее описывать на примере $\alpha\beta$ TCR. Трансмембранно расположенный комплекс TCR состоит из 8 полипептидных цепей (гетеродимера α - и β -цепей соб-

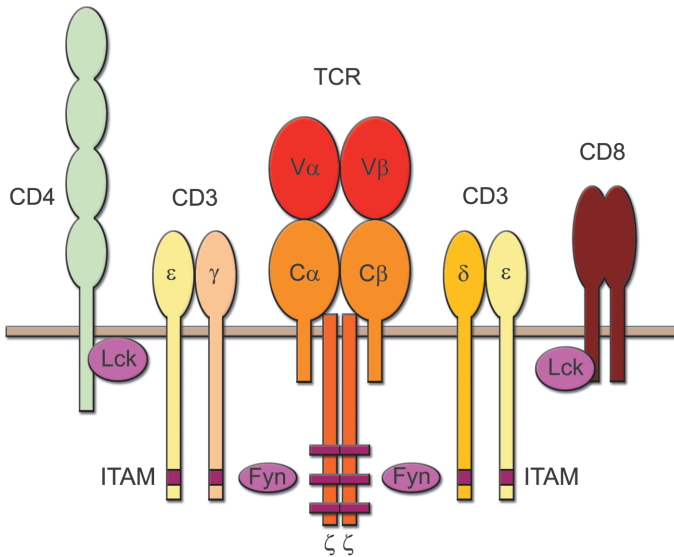


Рис. 6-1. Схема Т-клеточного рецептора и связанных с ним молекул

ственно TCR, двух вспомогательных цепей ζ , а также по одному гетеродимеру ε/δ - и ε/γ -цепей молекулы CD3 — рис. 6-1.

- ▶ Трансмембранные цепи α и β TCR. Это 2 примерно одинаковые по размеру полипептидные цепи — α (молекулярная масса 40–60 кДа, кислый гликопротеин) и β (молекулярная масса 40–50 кДа, нейтральный гликопротеин). Каждая из этих цепей содержит по 2 гликозилированных домена во внеклеточной части рецептора, гидрофобную (положительно заряженную за счет остатков лизина и аргинина) трансмембранную часть и короткий (из 5–12 остатков аминокислот) цитоплазматический участок. Внеклеточные части обеих цепей соединены одной дисульфидной связью.
- **V-область.** Наружные внеклеточные (дистальные) домены обеих цепей имеют вариабельный аминокислотный состав. Они гомологичны V-области молекул иммуноглобулинов и составляют V-область TCR. Именно V-области α - и β -цепей вступают в связь с комплексом МНС–пептид.
- **C-область.** Проксимальные домены обеих цепей гомологичны константным областям иммуноглобулинов; это C-области TCR.

- Короткий цитоплазматический участок (как α -, так и β -цепи) не может самостоятельно обеспечить проведение сигнала внутрь клетки. Для этого служат 6 дополнительных полипептидных цепей: γ , δ , 2 ϵ и 2 ζ .
- ▶ **Комплекс CD3.** Цепи γ , δ , ϵ между собой образуют гетеродимеры $\gamma\epsilon$ и $\delta\epsilon$ (вместе их называют комплекс CD3). Этот комплекс необходим для экспрессии α - и β -цепей, их стабилизации и проведения сигнала внутрь клетки. Этот комплекс состоит из внеклеточной, трансмембранной (отрицательно заряженной и потому электростатически связанной с трансмембранными участками α - и β -цепей) и цитоплазматической частей. Важно не путать цепи комплекса CD3 с $\gamma\delta$ -цепями димера TCR.
- ▶ **ζ -Цепи** соединены между собой дисульфидным мостиком. Большая часть этих цепей расположена в цитоплазме. ζ -Цепи осуществляют проведение сигнала внутрь клетки.
- ▶ **ITAM-последовательности.** Цитоплазматические участки полипептидных цепей γ , δ , ϵ и ζ содержат 10 последовательностей ITAM (1 последовательность в каждой γ -, ϵ - и δ -цепях и 3 — в каждой ζ -цепи), взаимодействующих с Fyn — тирозинкиназой цитозоля, активация которой инициирует начало биохимических реакций по проведению сигнала (см. рис. 6-1).

В связывании антигена участвуют ионные, водородные, ван-дер-ваальсовы и гидрофобные силы; конформация рецептора при этом существенно изменяется. Теоретически каждый TCR способен связывать порядка 10^5 разных антигенов, причем не только родственных по строению (перекрестно реагирующих), но и негомологичных по структуре. Однако в реальности полиспецифичность TCR ограничивается распознаванием всего лишь нескольких структурно схожих антигенных пептидов. Структурной основой этого феномена является особенность одновременного распознавания TCR комплекса МНС—пептид.

Корецепторные молекулы CD4 и CD8

Помимо самого TCR, каждый зрелый Т-лимфоцит экспрессирует одну из так называемых корецепторных молекул — CD4 или CD8, которые также взаимодействуют с молекулами МНС на АПК или клетках-мишенях. Каждая из них имеет цитоплазматический участок, постоянно связанный с тирозинкиназой Lck, и вносит свой вклад в проведение сигнала внутрь клетки при распознавании антигена.

При связывании комплекса пептид — МНС корцепторные молекулы кластеризуются вместе с TCR и LCK фосфорилирует ITAM-последовательности CD3. Только фосфорилированные ITAM-последовательности способны рекрутировать другие тирозинкиназы и запускать проведение сигнала с TCR.

- ▶ **CD4** связывается с инвариантной частью ($\alpha 2$ - и $\beta 2$ -доменами) молекулы МНС-II (принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, см. рис. 5-1, б). CD4 имеет молекулярную массу 55 кДа и 4 домена во внеклеточной части. Более низкая экспрессия CD4 также отмечается на некоторых мононуклеарных фагоцитах и ДК. CD4 является одним из основных рецепторов, с помощью которого происходит проникновение вируса ВИЧ внутрь экспрессирующих его клеток.
- ▶ **CD8** связывается с инвариантной частью ($\alpha 3$ -доменом) молекулы МНС-I (принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, см. рис. 5-1, а). CD8 — гетеродимер цепей α и β , соединенных дисульфидной связью. В некоторых случаях обнаруживают гомодимер из двух α -цепей, который также может взаимодействовать с МНС-I. Во внеклеточной части каждая из цепей имеет по одному иммуноглобулиноподобному домену.

Гены Т-клеточного рецептора

Гены α -, β -, γ - и δ -цепей (рис. 6-2 и см. рис. 5-4) гомологичны генам иммуноглобулинов и претерпевают при дифференцировке Т-лимфоцитов рекомбинацию ДНК, что теоретически обеспечивает генерацию порядка 10^{16} – 10^{18} вариантов антигенсвязывающих рецепторов (реально это разнообразие ограничено числом лимфоцитов в организме до 10^9).

- ▶ Гены α -цепи человека имеют 54 (45–47 функционирующих) V-сегмента, 61 J- и 1 C-сегмент.
- ▶ Гены β -цепи содержат ~65 (39–46 функционирующих) V-сегментов, 2 D-сегмента, 13 J-сегментов и 2 C-сегмента.
- ▶ Гены δ -цепи. Между V- и J-сегментами α -цепи расположены гены D-(3), J-(4) и C-(1) сегментов δ -цепи $\gamma\delta$ TCR. 3 V-сегмента δ -цепи «вкраплены» среди V-сегментов α -цепи.
- ▶ Гены γ -цепи $\gamma\delta$ TCR имеют 2 C-сегмента, 3 J-сегмента перед первым C-сегментом и 2 J-сегмента перед вторым C-сегментом, 12–15 V-сегментов.

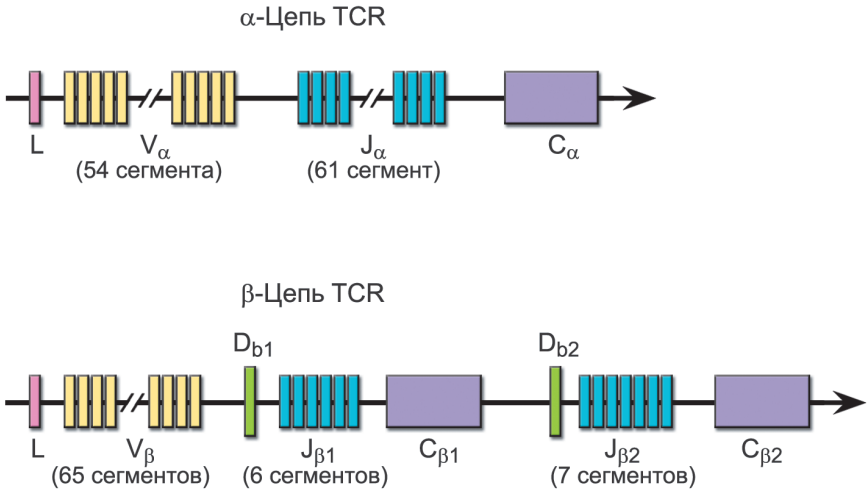


Рис. 6-2. Гены α - и β -цепей антигенраспознающего рецептора Т-лимфоцитов человека

Перестройка генов

- ▶ Рекомбинация ДНК происходит при объединении V-, D- и J-сегментов и катализируется тем же комплексом рекомбиназ, что и при дифференцировке В-лимфоцитов.
- ▶ После перестройки VJ в генах α -цепи и VDJ в генах β -цепи, а также после присоединения некодируемых N- и P-нуклеотидов с ДНК транскрибируется РНК. Объединение с С-сегментом и удаление лишних (неиспользуемых) J-сегментов происходит при сплайсинге первичного транскрипта.
- ▶ Гены α -цепи могут перестраиваться неоднократно при уже правильно перестроенных и экспрессированных генах β -цепи. Именно поэтому есть некоторая вероятность того, что одна клетка может нести более одного варианта TCR.
- ▶ Соматическому гипермутагенезу гены TCR не подвергаются.

ПРОВЕДЕНИЕ СИГНАЛА С АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ ЛИМФОЦИТОВ

TCR и BCR имеют ряд общих закономерностей регистрации и проведения в клетку активационных сигналов (см. рис. 5-11).

- ▶ **Кластеризация рецепторов.** Для активации лимфоцита необходима кластеризация антигенраспознающих рецепторов и корецепторов, т.е. «сшивка» нескольких рецепторов одним антигеном.
- ▶ **Тирозинкиназы.** В проведении сигнала играют значительную роль процессы фосфорилирования/дефосфорилирования белков по остатку тирозина под действием тирозинкиназ и тирозинфосфатаз, ведущие к активации или инактивации этих белков. Эти процессы легко обратимы и «удобны» для быстрых и гибких реакций клетки на внешние сигналы.
- ▶ **Киназы Src.** Богатые тирозином ITAM-последовательности цитоплазматических участков иммунорецепторов подвергаются фосфорилированию под действием нерцепторных (цитоплазматических) тирозинкиназ семейства Src (Fyn, Blk, Lyn в В-лимфоцитах, Lck и Fyn — в Т-лимфоцитах).
- ▶ **Киназы ZAP-70** (в Т-лимфоцитах) или **Syk** (в В-лимфоцитах), связываясь с фосфорилированными аминокислотными остатками тирозина ITAM-последовательностей, активируются и начинают фосфорилировать адапторные белки: LAT (*Linker for Activation of T cells*) (киназой ZAP-70), SLP-76 (киназой ZAP-70) или SLP-65 (киназой Syk).
- ▶ Адапторные белки рекрутируют **фосфоинозитид-3-киназу** (PI3K). Эта киназа, в свою очередь, активирует серин-треониновую протеинкиназу Akt, вызывая усиление белкового биосинтеза, что способствует ускоренному росту клеток.
- ▶ **Фосфолипаза C γ** (см. рис. 4-8). Киназы семейства Tec (Btk в В-лимфоцитах, Itk — в Т-лимфоцитах) связывают адапторные белки и активируют фосфолипазу C γ (PLC γ).
 - PLC γ расщепляет фосфатидилинозитдифосфат (PIP $_2$) клеточной мембраны на инозит-1,4,5-трифосфат (IP $_3$) и диацилглицерин (DAG).
 - DAG остается в мембране и активирует протеинкиназу C (PKC) — серин-треониновую киназу, которая активирует эволюционно «древний» фактор транскрипции NF- κ B.
 - IP $_3$ связывается со своим рецептором в эндоплазматическом ретикулуме и высвобождает ионы кальция из депо в цитозоль.
 - Свободный кальций активирует кальцийсвязывающие белки — кальмодулин, регулирующий активность ряда других белков, и кальциневрин, дефосфорилирующий и тем самым активирующий ядерный фактор активированных Т-лимфоцитов NFAT (*Nuclear Factor of Activated T cells*).

- ▶ **Ras и другие малые G-белки** в неактивном состоянии связаны с ГДФ, но адапторные белки заменяют последний на ГТФ, чем переводят Ras в активное состояние.
 - Ras обладает собственной ГТФазной активностью и быстро отщепляет третий фосфат, чем возвращает себя в неактивное состояние (самоинактивируется).
 - В состоянии кратковременной активации Ras успевает активировать очередной каскад киназ, называемых MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), которые в итоге активируют фактор транскрипции AP-1 в ядре клетки.

На рис. 6-3 схематично представлены основные пути передачи сигналов с TCR. Активационный сигнал включается при связывании TCR с лигандом (комплексом молекула МНС–пептид) при участии корецептора (CD4 или CD8) и костимулирующей молекулы CD28. Все эти молекулы собираются в единый кластер, контактирующий с соот-

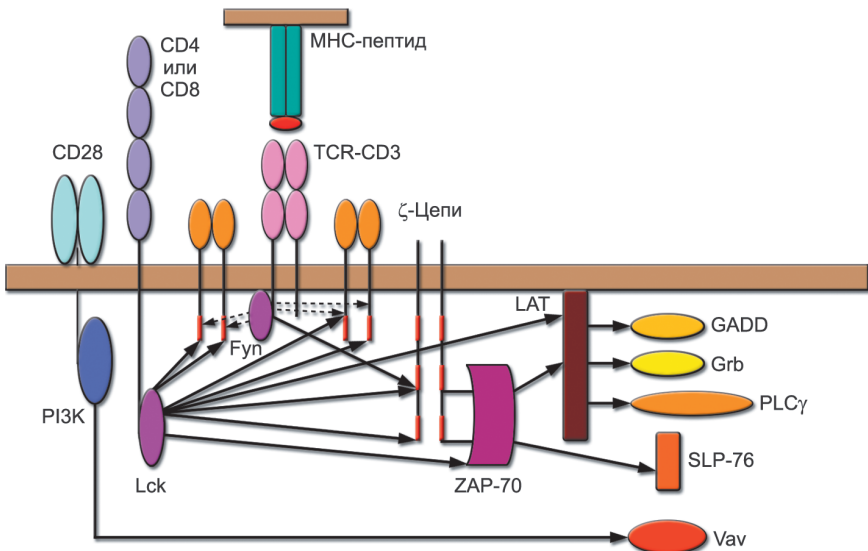


Рис. 6-3. Источники и направление пусковых активационных сигналов при стимуляции Т-лимфоцитов. Обозначения: ZAP-70 (*ζ-associated protein kinase*, мол. масса 70 кДа) — протеинкиназа р70, связанная с ζ-цепью; PLCγ (*Phospholipase Cγ*) — фосфолипаза C, isoформа γ; PI3K (*Phosphatidylinositol 3-kinase*) — фосфатидилинозитол-3-киназа; Lck, Fyn — тирозинкиназы; LAT, SLP-76, Grb, GADD — адапторные белки; Vav — фактор обмена гуанин-нуклеотида

ветствующими лигандами на АПК, и формируется иммунный синапс (см. гл. 7). Это приводит к активации киназ Fyn и Lck. Красным цветом отмечены участки ITAM в цитоплазматических частях полипептидных цепей CD3. Отражена роль Src-киназ, связанных с рецептором, в фосфорилировании белков: как рецепторных, так и сигнальных. Обращает на себя внимание чрезвычайно широкий спектр эффектов киназы Lck, связанной с корецепторами; роль киназы Fyn установлена с меньшей определенностью (отражено в прерывистом характере линий). Ключевую роль в посредничестве между рецепторными киназами и адапторными молекулами и ферментами играет тирозинкиназа ZAP-70. Она активирует (через фосфорилирование) адапторные молекулы SLP-76 и LAT, а последняя передает активационный сигнал другим адапторным белкам GADD, GRB и активирует γ -изоформу фосфолипазы C (PLC γ). До этого этапа в передачу сигнала вовлекаются исключительно факторы, связанные с клеточной мембраной. Важный вклад во включение сигнальных путей вносит костимулирующая молекула CD28, реализующая свое действие через связанную с ней липидную киназу PI3K (*Phosphatidyl Inositol 3-kinase*). Основной мишенью киназы PI3K служит фактор Vav, связанный с цитоскелетом.

В результате формирования сигнала и передачи его от рецептора Т-клетки к ядру образуются 3 транскрипционных фактора — NFAT, AP-1 и NF- κ B, индуцирующих экспрессию генов, контролирующих процесс активации Т-лимфоцитов (рис. 6-4). К образованию NFAT приводит сигнальный путь, не зависящий от костимуляции, который включается благодаря активации фосфолипазы C и реализуется с участием ионов Ca²⁺. Этот путь вызывает активацию кальциневрина, который, обладая активностью фосфатазы, дефосфорилирует цитозольный фактор NFAT-P. Благодаря этому NFAT-P приобретает способность мигрировать в ядро и связываться с промоторами активационных генов. Фактор AP-1 формируется как гетеродимер из белков c-Fos и c-Jun, образование которых индуцируется благодаря активации соответствующих генов под влиянием факторов, образующихся в результате реализации трех компонентов MAP-каскада. Эти пути включаются при участии коротких ГТФ-связывающих белков Ras и Rac. Значительный вклад в реализацию MAP-каскада вносят сигналы, зависящие от костимуляции через молекулу CD28. Третий транскрипционный фактор, NF- κ B, известен как основной транскрипционный фактор клеток врожденного иммунитета. Он активируется в результате расщепления блокирующей субъединицы I κ B киназой IKK, которая в Т-клетках ак-

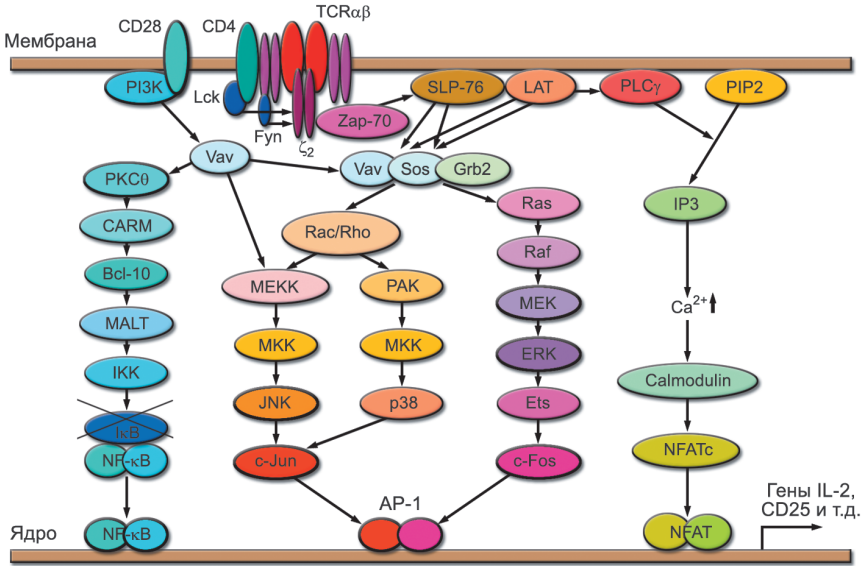


Рис. 6-4. Схема сигнальных путей при активации Т-клеток. NFAT (*Nuclear factor of activated T cells*), AP-1 (*Activation protein-1*), NF-κB (*Nuclear factor of κ-gene of B cells*) — факторы транскрипции

тивируется в ходе передачи сигнала, зависимо от изоформы θ протеинкиназы С (PKCθ). Основной вклад во включение этого сигнального пути вносят костимулирующие сигналы от CD28. Сформировавшиеся транскрипционные факторы, связавшись с промоторными участками генов, индуцируют их экспрессию. Для начальных этапов реакции Т-клеток на стимуляцию особенно важна экспрессия генов *IL2* и *IL2R*, что обуславливает выработку ростового фактора Т-клеток ИЛ-2 и экспрессию его высокоаффинного рецептора на Т-лимфоцитах. В результате ИЛ-2 выступает как аутокринный ростовой фактор, обуславливающий пролиферативную экспансию Т-клеток клонов, вовлеченных в реакцию на антиген.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-ЛИМФОЦИТОВ

В основе выделения этапов развития Т-лимфоцитов лежит состояние рецепторных V-генов и экспрессии TCR, а также корецепторов

и других мембранных молекул. Схема дифференцировки Т-лимфоцитов (рис. 6-5) аналогична приведенной выше схеме развития В-лимфоцитов (см. рис. 5-13). Приведены ключевые характеристики фенотипа и ростовых факторов развивающихся Т-клеток. Принятые обозначения стадий развития Т-клеток определяются экспрессией корцепторов: DN (*Double-Negative*) — двойные отрицательные ($CD4^-CD8^-$), DP (*Double-Positive*) — двойные положительные ($CD4^+CD8^+$), SP (*Single Positive*) — одинарно положительные ($CD4^+CD8^-$ и $CD4^-CD8^+$). Деление DN-timoцитов на стадии DN1, DN2, DN3 и DN4 основывается на характере экспрессии молекул CD44 и CD25. Другие условные обозначения: SCF (от *Stem Cell Factor*) — фактор стволовых клеток, lo (*low*; метка индекса) — низкий уровень экспрессии. Стадии перестройки генов: D–J — предварительный этап, соединение сегментов D и J (только в генах β - и δ -цепей TCR, см. рис. 6-2), V–DJ — завершающий этап, соединение зародышевого V-гена с объединенным сегментом DJ.

- ▶ Тимоциты дифференцируются из общей клетки-предшественника, которая еще вне тимуса экспрессирует такие мембранные маркеры как CD7, CD2, CD34 и цитоплазматическую форму CD3.
- ▶ Коммитированные к дифференцировке в Т-лимфоциты клетки-предшественники мигрируют из костного мозга в субкапсулярную зону коры тимуса, где примерно в течение 1 нед медленно проли-



Гены V β	Не перестроены	Перестройка D-J	Перестройка V-DJ	Перестроены β -селекция			
Гены V α	Не перестроены	Не перестроены	Не перестроены	Перестройка	Перестроены		
RAG1/2 TdT		+/-	+	+			
Рецептор				mPreTCR	TCR-CD3 ^{lo}	TCR-CD3 ^{hi}	TCR-CD3 ^{hi}
Корцепторы	CD4 ^{lo/-}	-	-	-	CD4, CD8	CD4	CD8
CD44/CD25-фенотип	CD44 ⁺ CD25 ⁻	CD44 ⁺ CD25 ⁺	CD44 ⁻ CD25 ⁺	CD44 ⁻ CD25 ⁻	CD44 ⁻ CD25 ⁻	CD44 ^{+/+} CD25 ^{+/+}	CD44 ^{+/+} CD25 ^{+/+}
Ростовые факторы	SCF, IL-7	IL-7, SCF	IL-7	IL-7	?	IL-2, IL-7	IL-2, IL-7

Рис. 6-5. Развитие Т-лимфоцитов

ферируют. На тимоцитах появляются новые мембранные молекулы CD44 и CD25.

- ▶ Затем клетки перемещаются вглубь коры тимуса, молекулы CD44 и CD25 исчезают с их мембраны. В этой стадии начинается перестройка генов β -, γ - и δ -цепей TCR. Если гены γ - и δ -цепей успевают продуктивно, т.е. без сдвига рамки считывания, перестроиться раньше, чем гены β -цепи, то лимфоцит дифференцируется далее как $\gamma\delta$ T. В противном случае происходит экспрессия β -цепи на мембране в комплексе с ρ T α (инвариантной суррогатной цепью, заменяющей на этом этапе настоящую α -цепь) и CD3. Это служит сигналом к прекращению перестройки генов γ - и δ -цепей. Клетки начинают пролиферировать и экспрессировать одновременно CD4 и CD8 — **дважды позитивные** тимоциты. При этом накапливается масса клеток с уже готовой β -цепью, но с еще не перестроенными генами α -цепи, что вносит свой вклад в разнообразие $\alpha\beta$ -гетеродимеров.
- ▶ На следующем этапе клетки перестают делиться и начинают перестраивать V α -гены, причем несколько раз в течение 3–4 сут. Перестройка генов α -цепи приводит к необратимой делеции δ -локуса, расположенного между сегментами генов α -цепи.
- ▶ Происходит экспрессия TCR с каждым новым вариантом α -цепи и отбор (селекция) тимоцитов по силе связывания с комплексом МНС–аутопептид, представленным на мембранах определенных типов эпителиальных клеток тимуса. Тимоциты вступают в контакт с этими клетками в процессе миграции через различные зоны тимуса.
 - **Позитивная селекция:** погибают **дважды позитивные** тимоциты, не связавшие ни одного из доступных комплексов МНС–аутопептид, представляемых на поверхности эпителиальных клеток коры тимуса (сTECs), также называемых «клетками-няньками». В результате позитивной селекции в тимусе погибает около 90% тимоцитов (*death by neglect* — смерть без внимания).
 - В корковом слое тимуса начинается первый этап **негативной селекции**. **Дважды позитивные** тимоциты, которые реагируют с высокой аффинностью к пептидам, представляемым тимическими ДК, также гибнут.
 - В результате на тимоцитах экспрессируется только одна из молекул-корцепторов: тимоциты, распознавшие аутопептид в комплексе с МНС-I, экспрессируют корцептор CD8, а с МНС-II —

- корцептор CD4. После этого тимоциты под воздействием хемокинов мигрируют в медуллу тимуса.
- Более широкий спектр аутопептидов представлен на поверхности медуллярных эпителиальных клеток тимуса (mTECs). Эти клетки экспрессируют большой набор белков, многие из которых обычно присущи только специализированным тканям. В результате продолжающейся **негативной селекции** уничтожаются клоны еще недостаточно зрелых тимоцитов, связывающих комплексы МНС—аутопептид со слишком высокой аффинностью. Негативная селекция элиминирует от 10 до 70% клеток, прошедших позитивную селекцию. Таким образом поддерживается состояние толерантности к собственным антигенам.
 - Тимоциты, связавшие какой-либо из комплексов МНС—пептид с правильной, т.е. с низкой по силе аффинностью, получают сигнал к выживанию и продолжают дифференцировку. Таким образом в тимусе образуются Т-лимфоциты, специфичные к аутопептидам, но с низкой аффинностью, что не приводит к их активации. На периферии эти же клетки будут способны случайным образом распознавать чужеродные антигены, но уже с более высокой аффинностью, что будет способствовать их активации и запуску иммунного ответа.
- ▶ На периферию выходят (в соотношении около 2:1) Т-лимфоциты двух типов: CD8⁺ и CD4⁺, функции которых в предстоящих иммунных ответах различны.
- **CD8⁺ Т-клетки** играют роль цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) — они распознают и непосредственно убивают клетки, модифицированные вирусом, опухолевые и другие «измененные» клетки (рис. 6-6).
 - **CD4⁺ Т-клетки.** Функциональная специализация CD4⁺ Т-лимфоцитов более разнообразна. Значительная часть CD4⁺ Т-лимфоцитов в процессе развития иммунного ответа становится **Т-хелперами** (помощниками), взаимодействующими с В-лимфоцитами, Т-лимфоцитами и другими клетками при прямом контакте или через растворимые факторы (цитокины). В определенных случаях из них могут развиваться **CD4⁺ ЦТЛ**: в частности, такие Т-лимфоциты обнаружены в значительных количествах в коже больных с синдромом Лайелла. Также образуются **CD4⁺-регуляторы**, подавляющие активность других клеток и предотвращающие развитие аутоиммунных реакций.

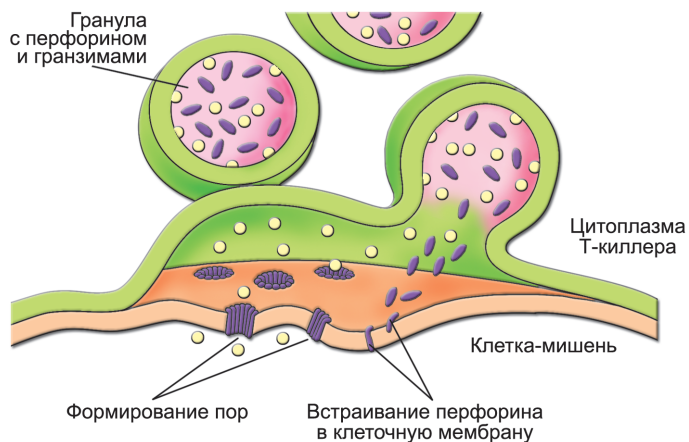


Рис. 6-6. Механизм воздействия цитотоксического Т-лимфоцита на клетку-мишень. В Т-киллере в ответ на увеличение концентрации Ca^{2+} гранулы с перфорином (фиолетовые овалы) и гранзимами (желтые кружочки) сливаются с клеточной мембраной. Освободившийся перфорин встраивается в мембрану клетки-мишени с последующим образованием пор, проницаемых для гранзимов. После попадания в цитоплазму гранзимы запускают апоптоз клетки-мишени

Субпопуляции Т-хелперов

С конца 1980-х годов было принято выделять 2 субпопуляции Т-хелперов (в зависимости от того, какой набор цитокинов они продуцируют) — Th1 и Th2. В последние годы спектр субпопуляций CD4^+ Т-клеток продолжает расширяться. Обнаружены такие субпопуляции как Th9, Th17, Th22, Т-регуляторы, Tr1, Th3 и Tfh. Эта классификация во многом базируется на секреции определенной субпопуляцией сигнатурного цитокина и экспрессии доминантного транскрипционного фактора. Однако следует отметить, что в этой системе существует определенная гибкость, и секреция определенного цитокина не является такой уж и стабильной. Кроме того, большинство Т-хелперов способны при определенных условиях превращаться в Th1 и секретировать их «фирменный» цитокин ИФН γ .

Основные субпопуляции CD4^+ Т-клеток

- ▶ **Th0** — CD4^+ Т-лимфоциты на ранних стадиях развития иммунного ответа, они продуцируют только ИЛ-2 (митоген для всех лимфоцитов).

- ▶ **Th1** — дифференцированная субпопуляция CD4⁺ Т-лимфоцитов, специализирующаяся на продукции ИФН γ , LT α и ИЛ-2. Эта субпопуляция осуществляет регуляцию многих реакций клеточного иммунитета, включая гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) и активацию ЦТЛ. Кроме того, Th1 стимулируют продукцию В-лимфоцитами опсонизирующих антител класса IgG, запускающих каскад активации комплемента. Развитие избыточного воспаления с последующим повреждением тканей напрямую связано с активностью Th1-субпопуляции.
- ▶ **Th2** — дифференцированная субпопуляция CD4⁺ Т-лимфоцитов, специализирующаяся на выработке ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-13. Эта субпопуляция участвует в активации В-лимфоцитов и способствует секреции ими больших количеств антител разных классов, особенно IgE. Кроме того, Th2-субпопуляция участвует в активации эозинофилов и развитии аллергических реакций и астмы, а также в развитии воспаления, вызванного патологической ролью гуморального иммунитета (например, при системной красной волчанке). Парадоксально, но Th2-клетки обладают противовоспалительным действием за счет подавления ими функций Th1-субпопуляции. Дифференцировка и функционирование Th2-клеток большей частью проходят в близости к эпителиальным барьерам ЖКТ и легких и регулируются клетками врожденного иммунитета и эпителиоцитами.
- ▶ **Th9** — продуценты ИЛ-9. По-видимому, это Th2, переключившиеся на секрецию ИЛ-9, способного вызывать пролиферацию Т-хелперных клеток при отсутствии антигенной стимуляции, а также усиливать секрецию В-лимфоцитами IgM, IgG и IgE. Кроме того, ИЛ-9 оказывает поддерживающее действие на Т-регуляторы (см. ниже), что усиливает их иммуносупрессивные свойства. В случае некоторых аутоиммунных заболеваний ИЛ-9 приводит к накоплению тучных клеток, а при астме Th9 также продуцируют ИЛ-10.
- ▶ **Th17** — субпопуляция CD4⁺ Т-лимфоцитов, специализирующаяся на секреции ИЛ-17. Эти клетки осуществляют противогрибковую и антимикробную защиту эпителиальных и слизистых барьеров, а также играют ключевую роль в патологии аутоиммунных заболеваний. ИЛ-17 вызывает рекрутирование и активацию клеток врожденного иммунитета, индукцию секреции других противовоспалительных цитокинов (ФНО, GM-CSF и ИЛ-1 β), хемокинов, противомикробных пептидов и простагландинов.

- ▶ **Th22** — продуценты ИЛ-22, являются отдельной субпопуляцией, обладающей своим собственным транскрипционным профилем. ИЛ-22 (который также продуцируется и Th17-клетками) играет важную роль в патогенезе различных аутоиммунных заболеваний (псориаз, системная красная волчанка, ревматоидный артрит, множественный склероз и др.). В норме ИЛ-22 необходим для поддержания гомеостаза микробиоты кишечника. В случае острого воспаления ИЛ-22 обладает защитным действием на гепатоциты, а при системном воспалении, вызванном ЛПС, он индуцирует экспрессию LBP.
- ▶ **Т-регуляторы** — $CD4^+$ Т-лимфоциты, подавляющие активность других клеток иммунной системы посредством секреции иммуносупрессорных цитокинов — ИЛ-10 (ингибитора активности макрофагов и Th1-клеток) и ТФР β — ингибитора пролиферации лимфоцитов. Ингибиторный эффект может также достигаться при непосредственном межклеточном взаимодействии, поскольку на мембране некоторых Т-регуляторов экспрессированы индукторы апоптоза активированных и «отработавших» лимфоцитов — FasL (Fas-лиганд). Существует несколько популяций $CD4^+$ регуляторных Т-лимфоцитов: естественные (Treg), созревающие в тимусе ($CD4^+CD25^+$, экспрессируют фактор транскрипции Foxp3), и индуцированные — локализованные преимущественно в слизистых оболочках пищеварительного тракта и переключившиеся на образование ТФР β (Th3) или ИЛ-10 (Tr1). Нормальное функционирование Т-регуляторов необходимо для поддержания гомеостаза иммунной системы и предотвращения развития аутоиммунных заболеваний.
- ▶ **Tfh** (от англ. *follicular helper* — фолликулярный хелпер). Эта популяция $CD4^+$ Т-лимфоцитов преимущественно расположена в лимфоидных фолликулах и осуществляет хелперную функцию для В-лимфоцитов зародышевых центров посредством продукции ИЛ-21, вызывая их созревание и терминальную дифференцировку в плазматические клетки. Кроме ИЛ-21, Tfh могут также продуцировать ИЛ-4 и ИЛ-10, необходимые для регуляции дифференцировки В-лимфоцитов. Нарушение функций этой популяции приводит к развитию аутоиммунных заболеваний или иммунодефицитов.

Основные субпопуляции Т-хелперов представлены на рис. 6-7.

На рисунке суммированы современные представления об адаптивных субпопуляциях $CD4^+$ Т-клеток, т.е. субпопуляциях, формирую-

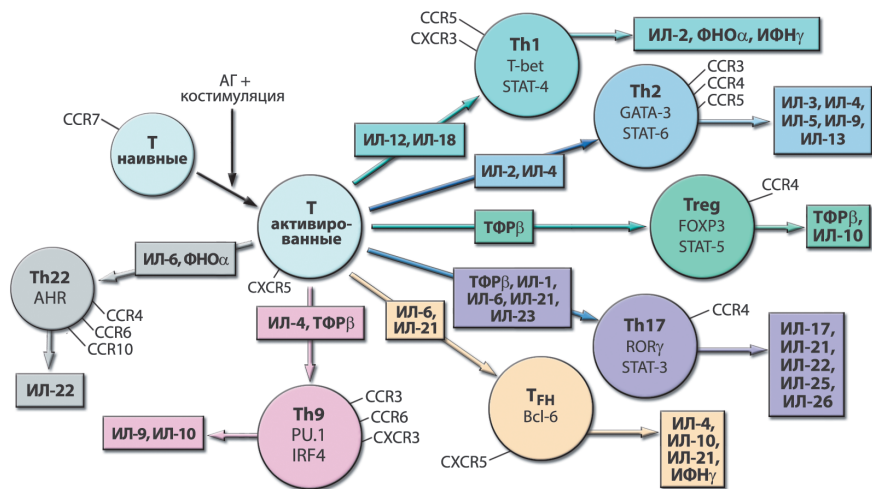


Рис. 6-7. Адаптивные субпопуляции CD4⁺ Т-клеток (цитокины, дифференцировочные факторы, хемокиновые рецепторы)

щихся при иммунном ответе, а не в ходе естественного развития клеток. Для всех разновидностей Т-хелперов указаны цитокины-индукторы (на стрелках, ведущих к кружкам, символизирующим клетки), транскрипционные факторы (внутри кружков), хемокиновые рецепторы, направляющие миграцию (около линий, отходящих от поверхности клетки), и продуцируемые цитокины (в прямоугольниках, на которые направлены стрелки, отходящие от кружков).

Расширение семейства адаптивных субпопуляций CD4⁺ Т-клеток потребовало решения вопроса о природе клеток, с которыми взаимодействуют эти субпопуляции (кому они оказывают «помощь» в соответствии со своей функцией хелперов). Эти представления отражены на рис. 6-8. Здесь же представлен уточненный взгляд на функции этих субпопуляций (участие в защите от определенных групп патогенов), а также на патологические последствия несбалансированного усиления активности этих клеток.

γδТ-лимфоциты

Подавляющее большинство (99%) Т-лимфоцитов, проходящих лимфопозз в тимусе, составляют αβТ-клетки; менее 1% — γδТ-клетки.

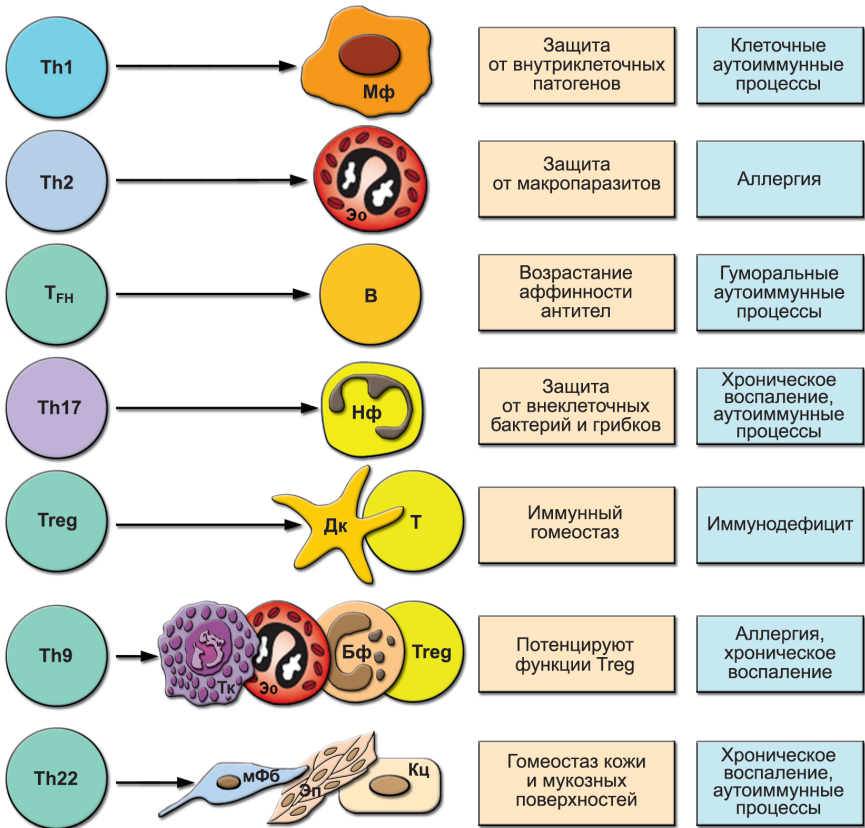


Рис. 6-8. Адаптивные субпопуляции Т-клеток (клетки-партнеры, физиологические и патологические эффекты). Обозначения: Мф — макрофаг; Эо — эозинофил; Нф — нейтрофил; Дк — дендритная клетка; Тк — тучная клетка; Бф — базофил; Кц — кератиноцит; МФб — миофибробласт, Эп — эпителий

Последние в большинстве дифференцируются вне тимуса, в первую очередь в слизистых оболочках пищеварительного тракта. В коже, легких, пищеварительном и репродуктивном трактах они являются доминирующей субпопуляцией внутриэпителиальных лимфоцитов, составляя более 50%. В эмбриогенезе $\gamma\delta$ Т-клетки появляются раньше $\alpha\beta$ Т-клеток. Функции $\gamma\delta$ Т-клеток еще до конца не изучены, хотя становится преобладающим мнение, что они служат одним из связующих компонентов между врожденным и приобретенным иммунитетом и являются одним

из первых барьеров на пути патогенов. Кроме того, эти клетки, секретируя цитокины, играют важную иммунорегуляторную роль и способны дифференцироваться в ЦТЛ.

- ▶ **$\gamma\delta$ Т-клетки не экспрессируют CD4.** Молекула CD8 экспрессирована на части $\gamma\delta$ Т-клеток, но не в виде $\alpha\beta$ -гетеродимера, как на CD8⁺ $\alpha\beta$ Т-клетках, а в виде гомодимера из двух α -цепей.
- ▶ **Антигенраспознающие свойства:** $\gamma\delta$ TCR в большей степени напоминают иммуноглобулины, чем $\alpha\beta$ TCR, т.е. способны связывать нативные антигены независимо от классических молекул МНС — для $\gamma\delta$ Т-клеток не обязателен или вовсе не нужен предварительный процессинг антигена АПК, т.е. они не рестриктированы по МНС.
- ▶ **Разнообразие $\gamma\delta$ TCR** меньше, чем $\alpha\beta$ TCR или иммуноглобулинов, хотя в целом $\gamma\delta$ Т-клетки способны распознавать широкий спектр антигенов (в основном это фосфолипидные антигены микобактерий, углеводы, белки теплового шока). В периферической крови человека существует субпопуляция $\gamma\delta$ Т-клеток с инвариантными цепями V γ 9 и V δ 2. Они распознают микробный метаболит НМВ-РР, который отсутствует в организме человека. Таким образом, они могут распознавать разнообразные бактерии (возбудителей туберкулеза, бруцеллеза, сальмонеллеза и др.) и презентировать их антигены $\alpha\beta$ Т-клеткам.
- ▶ **$\gamma\delta$ Т-клетки** экспрессируют некоторые маркёры, свойственные НК-клеткам (NKG2D), а также АПК — CD16 и TLR.

НКТ-лимфоциты

Естественные киллерные Т-клетки (НКТ-клетки) представляют особую субпопуляцию лимфоцитов, занимающую промежуточное положение между клетками врожденного и адаптивного иммунитета. Они составляют всего лишь 0,1% от общего количества Т-лимфоцитов периферической крови. Эти клетки имеют черты как НК-, так и Т-лимфоцитов. НКТ-клетки экспрессируют $\alpha\beta$ TCR и характерный для НК-клеток рецептор NK1.1 (у мыши), принадлежащий к суперсемье лектиновых гликопротеинов С-типа, или CD56 (у человека). В отличие от TCR обычных Т-лимфоцитов, который обычно узнает единственный эпитоп (или очень ограниченную группу эпитопов), TCR НКТ-клеток может взаимодействовать с широким спектром как чужеродных, так и собственных антигенов. Они также отличаются и от TCR «обычных» Т-клеток, которые способны распознавать только пептидные антигены и только в комплексе с МНС I или II класса

(т.е. являются рестрицированными по МНС I или II класса). Вместо этого NKT-клетки распознают липиды и гликолипиды в комплексе с CD1d, молекулой, подобной МНС I класса, т.е. являются рестрицированными по молекуле CD1d. Именно эта особенность, в отличие от неравномерной экспрессии маркёров NK-клеток, и является основополагающей чертой NKT-клеток.

По свойствам TCR NKT-клетки подразделяются на 2 субпопуляции. У NKT-клеток I типа (iNKT) TCR-рецептор является инвариантным. У мышей большинство NKT-клеток экспрессирует инвариантный V-домен α -цепи, состоящий из сегментов V α 14–J α 18. У человека V-домен α -цепи состоит из сегментов V α 24–J α 18. У мышей α -цепь инвариантного TCR преимущественно комплексируется с V β 8.2, 7 или 2, а у человека — с V β 11. iNKT-клетки распознают гликолипиды как микробов, так и собственного происхождения. Гликолипид α -галактозилцерамид (изолированный из морских губок) также является эффективным активатором iNKT и используется в качестве иммуностимулятора. TCR у минорной субпопуляции NKT-клеток II типа не является инвариантным, не распознает α -галактозилцерамид, но распознает спектр гликолипидов, отличных от iNKT, и также рестрицирован по CD1d. Эта субпопуляция NKT-клеток пока мало изучена, но известно, что она способна подавлять противоопухолевый иммунный ответ.

NKT-клетки играют важную роль в регуляции иммунитета. Они могут обладать как иммуностимулирующими, так и иммуносупрессорными свойствами, секретируя как Th1-, так и Th2-цитокины: ИФН γ , GM-CSF, а также ИЛ-2, -4, -10, -13, -17, -21, -22 и ФНО. У мышей и у людей с различными аутоиммунными процессами функциональная активность NKT-клеток сильно нарушена. Полной картины значимости таких нарушений в патогенезе аутоиммунных процессов нет. При некоторых аутоиммунных процессах NKT-клетки могут играть супрессорную роль.

Помимо контроля аутоиммунных и аллергических реакций, NKT-клетки участвуют в иммунном надзоре, вызывая при повышении функциональной активности отторжение опухолей. Велика их роль в противомикробной защите, особенно на ранних этапах развития инфекционного процесса. NKT-клетки вовлекаются в различные воспалительные инфекционные процессы, особенно при вирусных поражениях печени. В целом NKT-клетки — многофункциональная популяция лимфоцитов, несущая еще много научных загадок.

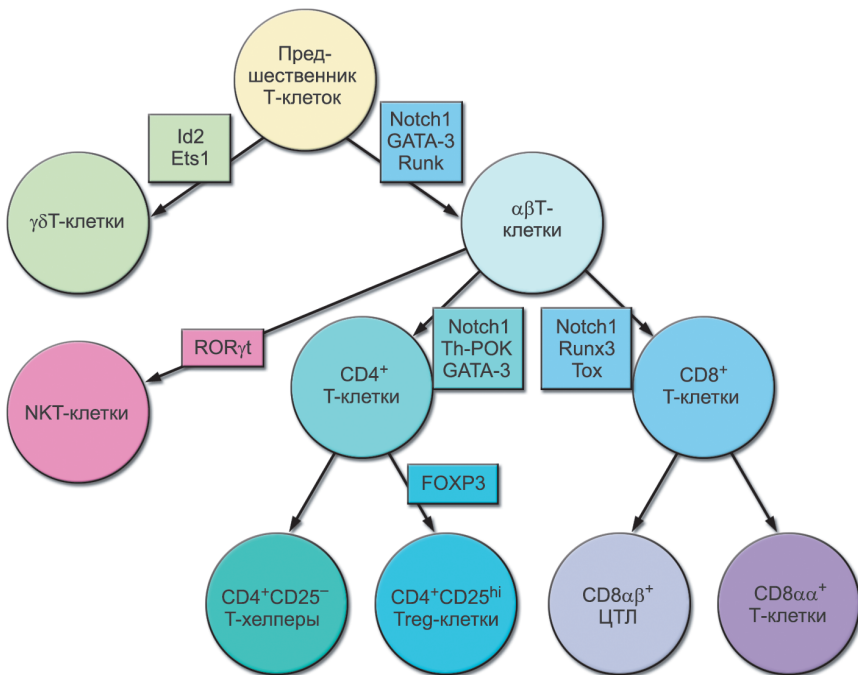


Рис. 6-9. Естественные субпопуляции Т-лимфоцитов и их дифференцировочные факторы

На рис. 6-9 обобщены данные о дифференцировке Т-лимфоцитов на функциональные субпопуляции. Представлено несколько уровней бифуркации: $\gamma\delta$ Т/ $\alpha\beta$ Т, далее для $\alpha\beta$ Т-клеток — NKT/остальные Т-лимфоциты, для последних — $CD4^+$ / $CD8^+$, для $CD4^+$ Т-клеток — Th/Treg, для $CD8^+$ Т-лимфоцитов — $CD8\alpha\beta$ / $CD8\alpha\alpha$. Показаны также дифференцировочные транскрипционные факторы, ответственные за все линии развития.