

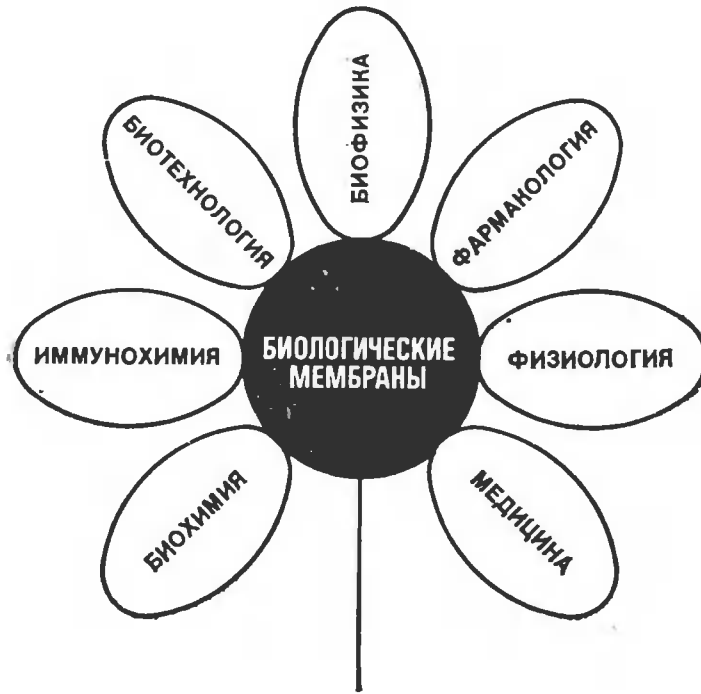
# БИОХИМИЯ МЕМБРАН

Р.В. ПЕТРОВ

Р.И. АТАУЛЛАХАНОВ

## Клеточные мембраны и иммунитет





# **БИОХИМИЯ МЕМБРАН**

Под редакцией  
А.А. Болдырева

**Книга 9**

**Р.В. ПЕТРОВ  
Р.И. АТАУЛЛАХАНОВ**

# **Клеточные мембраны и иммунитет**

Допущено  
Государственным комитетом СССР  
по народному образованию  
в качестве учебного пособия  
для студентов биологических  
и медицинских специальностей  
высших учебных заведений



**МОСКВА  
«ВЫСШАЯ ШКОЛА» 1991**

ББК 28.05

Б63

УДК 577.1

**Рецензенты:**

кафедра биофизики Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (зав. кафедрой проф. В. А. Твердислов); д-р мед. наук В. Г. Нестеренко (Ин-т эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР)

**Б63 Биохимия мембран. Кн. 9. Клеточные мембраны и иммунитет: Учеб. пособ. / Р. В. Петров, Р. И. Атауллаханов. Под ред. А. А. Болдырева. — М.: Высш. шк., 1991. — 144 с.: ил.**

**ISBN 5-06-000647-6**

Книга продолжает серию, посвященную изложению современного состояния биохимии мембран. В ней представлены сведения о структурных и функциональных свойствах мембран клеток иммунной системы. Особое внимание уделено молекулам клеточной поверхности, участвующим в иммунном распознавании "чужого" и "своего". Описаны молекулы, узнающие и узнаваемые. Проанализированы биохимические механизмы передачи сигнала с рецептора в цитоплазму и инициации ответа иммунокомпетентной клетки антигеном. Рассмотрено участие клеточных мембран в контактных и опосредованных гуморальными факторами взаимодействиях клеток при развитии иммунной реакции и в эффекторных механизмах иммунитета.

**Б 1903010000(4309000000) — 403**  
**001(01) — 91 14 — 92**

**ББК 28.05**  
**57.04**

*Учебное издание*

**Петров Рэм Викторович, Атауллаханов Равшан Иноятович**

**КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ И ИММУНИТЕТ**

Зав. редакцией *Т. А. Рыкова*. Редактор *А. С. Орлова*. Мл. редакторы *В. А. Лизунова, Г. А. Каленова*. Художник *В. Н. Хомяков*. Художественный редактор *Т. А. Коленкова*. Технический редактор *Г. А. Виноградова*.  
Корректор *О. М. Пахомова*.

**ИБ № 8182**

Изд. № X/E-41. Сдано в набор 25.03.91. Подп. в печать 30.08.91. Формат 60 х 88/16. Бум. офс. № 2. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Объем 8,82 усл. печ. л. 9,07 усл. кр.-отт. 8,97 уч.-изд. л. Тираж 4000 экз. Заказ №1067. Цена 90 коп.

Издательство "Высшая школа", 101430, Москва, ГСП-4, Неглинная ул., д. 29/14.

Московская типография № 8 Министерства печати и массовой информации РСФСР, 101898, Москва, Центр, Хохловский пер., 7.

**ISBN 5-06-000647-6**

**©Р. В. Петров, Р. И. Атауллаханов, 1991**

---

# Список принятых сокращений

---

АДЕПТ	— энзимная терапия, зависящая от антител (antibody-dependent enzyme- potentiated therapy)
АПК	— антигенпрезентирующая клетка
АСК	— антителосекретирующая клетка
Да	— дальтон
ИЛ	— интерлейкин
КСФ	— колониестимулирующие факторы
МАФ	— фактор активации макрофагов
МИФ	— фактор ингибирования миграции макрофагов
МФ	— макрофаг
ПТК	— предшественники Т-киллеров
ПТС	— предшественники Т-супрессоров
ТК	— Т-киллеры
ТР	— рецептор Т-клеток
ФДВК	— фактор дифференцировки В-клеток
ФДТК	— фактор дифференцировки Т-клеток
ФНО	— фактор некроза опухоли
ФРВК	— фактор роста В-клеток
ФРТК	— фактор роста Т-клеток
ФС	— фактор супрессии
ФХ	— фактор хемотаксиса
цАМФ	— циклический 3',5'-аденозинмонофосфат
цГМФ	— циклический 3',5'-гуанозинмонофосфат
С-домен	— константный домен
Fab-фрагмент	— фрагмент молекулы иммуноглобулина, связывающийся с антигеном (fragment antigen binding)
Fc-фрагмент	— константный фрагмент молекулы иммуноглобулина (fragment constant, fragment cristallizable)
Н-цепь	— тяжелая цепь (молекулы иммуноглобулина)
Ig	— иммуноглобулин
Ig-гены	— гены иммунной реактивности (immune response gene)
К-клетка	— клетка-киллер
Л-цепь	— легкая цепь (иммуноглобулина)
МНС	— главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex)
V-домен	— переменный домен

---

# Предисловие

---

Цель данной книги — рассмотрение механизмов иммунитета с особым вниманием к процессам, происходящим на уровне плазматической мембраны клеток иммунной системы. Многие ключевые события иммунного реагирования локализованы на клеточной мембране и определяются функционированием представленных в ней молекул. Рассмотрение каждого события в отдельности создает лишь отрывочную картину системы иммунитета. Поэтому мы предлагаем упрощенное описание иммунного механизма как целого, с более подробным анализом тех процессов в клеточной мембране, которые являются деталями этого механизма.

В гл. 1 приведены общие сведения о структуре иммунной системы, ее предназначении, принципах функционирования, об основных типах иммунных реакций и, наконец, о природе и свойствах клеток, осуществляющих эти реакции. Это создает информационную основу для анализа ключевых событий на уровне клеточной мембраны.

“Узнавание” антигенов с помощью мембранных рецепторов (гл. 2) — первый шаг в цепи последовательных событий иммунного ответа. Далее мембрана сигнализирует внутрь клетки о связывании на ее поверхности антигена. Именно мембранные сигналы запускают биохимические изменения в клетке, которые в конечном счете приводят к преобразованию ранее “молчавшей” клетки в активно функционирующую. При этом в дополнение к антигенному сигналу клетка подвергается влиянию других клеток — партнеров по иммунной реакции.

Взаимное влияние клеток осуществляется при активном участии их мембран (гл. 3). Функция созревших клеток, ориентированных на элиминацию антигена из организма, также связана с плазматической мембраной (гл. 4, 5).

Успешно развившуюся иммунную реакцию необходимо остановить (гл. 7), а вторгавшийся антиген — запомнить (гл. 6). Оба процесса в той или иной мере определяются молекулярными событиями на уровне мембран клеток, вовлеченных в реакцию. Наконец,

картина иммунитета будет неправильной, если реагирующие и взаимодействующие клетки рассматривать статично. Напротив, их неотъемлемыми свойствами являются постоянная циркуляция с током крови и лимфы, управляемая миграция из одного органа в другой, а также направленные передвижения внутри органов и тканей. Во всех этих процессах клеточным мембранам отведена важнейшая роль (гл. 8).

Мы не стремились привести исчерпывающую информацию о деталях структуры и функции иммунитета. Тем более что в большинстве случаев это невозможно. Даже за время между написанием и выходом книги в свет многие представления будут дополнены, так как в настоящее время скорость накопления наукой новых фактических сведений об иммунитете очень велика. Именно по этой причине основное внимание в данном пособии уделено принципиальным аспектам устройства и функционирования иммунной системы. Кроме того, по ходу изложения мы преднамеренно обращали внимание читателя на пробелы в современных знаниях о механизмах иммунитета, констатируя: “неизвестно”, “неясно”, “не установлено”. Это должно избавить изучающего данный курс от иллюзии, что в иммунологии уже все установлено и понятно. Заостренные вопросы и выявленные “белые пятна” могут оказаться полезными для тех, кто посвятит себя исследованию системы иммунитета.

*Авторы*

# Иммунная система (принципы организации и функционирования)

# 1

В сложном многоклеточном организме наряду с пищеварительной, выделительной, нервной, двигательной, гормональной, репродуктивной и другими существует и система самообороны — *иммунитет*. Не рассматривая специально эволюции системы иммунитета, отметим, что лимфоидный аппарат как основа специфического распознавания появляется уже у круглоротых. Млекопитающие, и в частности человек, обладают высокоразвитой, динамичной и эффективной системой иммунитета. Здесь и далее, анализируя устройство иммунной системы и роль клеточных мембран в механизмах ее функционирования, мы будем оперировать лишь данными об иммунитете у человека и мыши. К настоящему времени иммунная система у этих двух видов изучена несравненно лучше, чем у любых других биологических объектов.

## 1.1. Общие понятия

*Предназначение иммунной системы* — сохранение антигенного постоянства клеток и тканей многоклеточного организма в течение его жизни. Основные задачи иммунитета заключаются в защите от: 1) мутантных или состарившихся “своих” клеток; 2) вторжения генетически чужеродных клеток, способных самостоятельно размножаться в организме, в частности от микроорганизмов, простейших, дрожжей, грибов, а также продуктов их жизнедеятельности; 3) многоклеточных “аггессоров”, например гельминтов, и клеток или тканей любых других организмов; 4) внутриклеточных паразитов, вирусов, риккетсий, лептоспир.

*Основной принцип функционирования иммунной системы* подобен принципу функционирования полицейского надзора в условиях тоталитарного государства — это повсеместный, “поголовный” контроль и уничтожение всего того, что не соответствует предпи-

санным нормам. В научной литературе распространен термин “иммунологический надзор” (immunological surveillance).

*Функциональные элементы иммунной системы* многочисленны и вездесущи. Они проникают практически в любой участок организма, буквально “ощупывают” каждую клетку с помощью специальных узнающих рецепторных структур и способны реагировать не только на чужие клетки или скопления клеток, но и на чужеродные молекулы и даже относительно небольшие химические группировки, если таковые не являются обычной составляющей данного организма. Что же расценивается иммунной системой как “чужое”? Чужеродные (или измененные “свои”) структуры, против которых развивается реакция иммунной системы, называются *антигенами*.

Чаще всего антигенами являются чуждые организму биополимеры — белки или полисахариды, включенные в состав чужеродных клеток или отделившиеся от них. Иммунная система анализирует трехмерную структуру каждого биополимера, проверяя небольшие участки на поверхности молекулы. Размеры этих участков соответствуют нескольким остаткам аминокислот или сахаров. Иммунная система способна реагировать и на более мелкие структуры — *гаптены* (например, тринитрофенильная группа; азобензоларсенат и т. п.), если они ассоциированы с более крупными молекулами. В этом случае не обязательно, чтобы гаптен был присоединен к чуждому биополимеру. Он может быть связан и с достаточно крупной молекулой данного организма, которая сама по себе не вызывает реакции иммунной системы, т. е. является “своей”.

## 1.2. Структурная организация иммунной системы

Система иммунитета образована специализированными клетками и органами. *Клетки иммунной системы* представлены лимфоцитами, фагоцитами, гранулярными лейкоцитами, тучными клетками, а также несколькими типами эпителиальных и ретикулярных клеток; *органы иммунной системы* — костным мозгом, тимусом, селезенкой, лимфатическими узлами, пейеровыми бляшками, окологлоточными миндалинами и другими скоплениями лимфоидных клеток. Иммунная система состоит из огромного количества клеток. Часть их сосредоточена в упомянутых органах. Другие разрознены, самостоятельно “передвигаются” по всему телу.

В целом иммунную систему удобно рассматривать, условно разделяя ее на несколько компартментов: а) *органы производства клеток иммунитета* (костный мозг и тимус); б) *органы контроля жидких сред организма* (лимфатические узлы и селезенка); в) “отряд патрульной службы” — огромное количество лимфоидных клеток, рециркулирующих между кровью и лимфой; г) “отряд пе-

*редового базирования*“ — многослойный вал лимфоидных клеток, который располагается непосредственно под эпителиальными покровами тела (кожа, слизистая кишечника, эпителий дыхательных путей), т. е. в тех пограничных тканях, где имеют место постоянные попытки вторжения чужеродных веществ и организмов из окружающей среды.

**Костный мозг.** Костный мозг можно назвать фабрикой по производству клеток для иммунной системы. Собственно иммунные реакции на антиген в пределах костного мозга не развиваются. Здесь из *родоначальных (стволовых) кроветворных клеток* образуются *клетки-предшественники* для лимфоцитов и фагоцитов, а также *нейтрофилы, базофилы и эозинофилы* — три типа лейкоцитов, активно участвующих в иммунных реакциях.

У млекопитающих значительная популяция лимфоидных клеток (так называемые *B-лимфоциты*) приобретает функциональную полноценность тут же, в костном мозгу. У птиц эти клетки созревают в специальном лимфоидном органе — *сумке Фабрициуса*.

**Тимус (вилочковая железа).** Это крупный лимфоидный орган, расположенный непосредственно за грудиной. В тимусе происходит созревание костно-мозговых клеток-предшественников, их превращение в самую многочисленную популяцию функционально полноценных лимфоцитов. Созревшие клетки из тимуса переселяются в кровь, лимфу, лимфатические узлы, селезенку и другие ткани. Лимфоциты, прошедшие этап созревания в тимусе, принято называть *T-лимфоцитами*. Доказано, что созревание лимфоцитов в тимусе определяется влиянием на них эпителиальных и дендритных клеток, содержащихся в ткани этого органа (подробнее см. в гл. 8).

Структурно тимус представлен крупными долями, покрытыми соединительнотканной оболочкой — капсулой. От капсулы внутрь органа отходят плоские перегородки, разделяющие ткань тимуса на мелкие дольки размером 1—2 мм. Каждая долька — элементарная структурная единица тимуса. На периферии дольки, непосредственно под капсулой и рядом с перегородками, концентрируется основная масса лимфоцитов тимуса. Это — *корковая зона*. Ближе к центру дольки плотность упаковки лимфоцитов меньше, здесь — *мозговая зона*.

В ткани дольки находится большое количество эпителиальных клеток, которые соединены своими отростками и образуют сеть. Промежутки между эпителиальными клетками заполнены лимфоидными клетками. Крупные лимфоидные клетки-предшественники (*лимфобласты и средние лимфоциты*), пришедшие с током крови из костного мозга, локализуются на периферии дольки тимуса. Они активно делятся, образуя множество *малых лимфоцитов*. Последние располагаются ближе к центру дольки. Созревая, лимфоциты продвигаются сквозь промежутки, образованные сетью эпителиальных клеток, попадая, наконец, в мозговое вещество. Отсюда

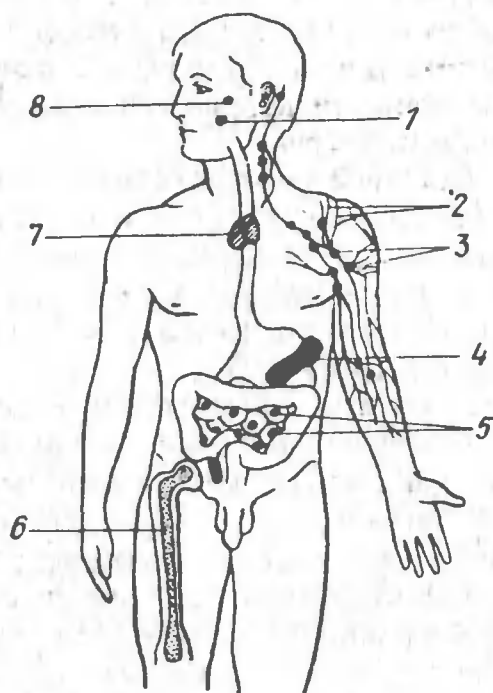
зрелые Т-клетки проникают в мелкие венозные сосуды и разносятся с током крови по всему организму.

### Лимфатические узлы.

Лимфатические узлы — многочисленные плотные органы бобовидной формы, построенные по принципу фильтра. Каждый участок тела имеет региональные лимфатические узлы (рис. 1). Сквозь них фильтруется тканевая жидкость (лимфа) из тканей данного региона.

Рис. 1. Лимфоидная система человека (по Б. Албертсу и др., 1987):

1 — миндалины, 2 — лимфатические сосуды, 3 — лимфатические узлы, 4 — селезенка, 5 — пейеровы бляшки в тонком кишечнике, 6 — костный мозг, 7 — тимус, 8 — аденоиды



В организме непрерывно функционирует механизм промывания тканей (рис. 2). Некоторая часть жидкости из крови фильтруется сквозь стенки капилляров в ткань, омывает все без исключения ее структурные элементы и переходит в лимфатический капилляр. По лимфатическому сосуду тканевая жидкость попадает в региональный лимфатический узел, а затем возвращается в кровь. Такой промывающий ткани ток жидкости по маршруту “кровь — ткань — лимфа — кровь” позволяет вести непрерывный контроль за антигенным составом тканевых смывов. Этим занимаются клетки иммунной системы, размещенные в лимфатических узлах.

Каждый лимфатический узел покрыт соединительнотканной капсулой, от которой отходят множественные отростки, образующие мелкоячеистую трехмерную сеть. Внутреннее пространство сети заполнено лимфоидными клетками. Элементарная структурная единица лимфатического узла — фолликул (рис. 3). Лимфатические фолликулы являются местом размножения лимфоцитов; они располагаются по периферии узла, образуя корковое вещество. Мозговое вещество образовано тяжами соединительной ткани, между которыми располагаются лимфоциты разной степени зрелости. Разветвленная соединительнотканная строма узла содержит большое количество отростчатых клеток, которые называют дендритными ретикулярными клетками. Они соединены друг с другом в сети, способны захватывать антигены, которые попадают в лимфатический узел с током лимфы. Кроме того, в лимфатическом

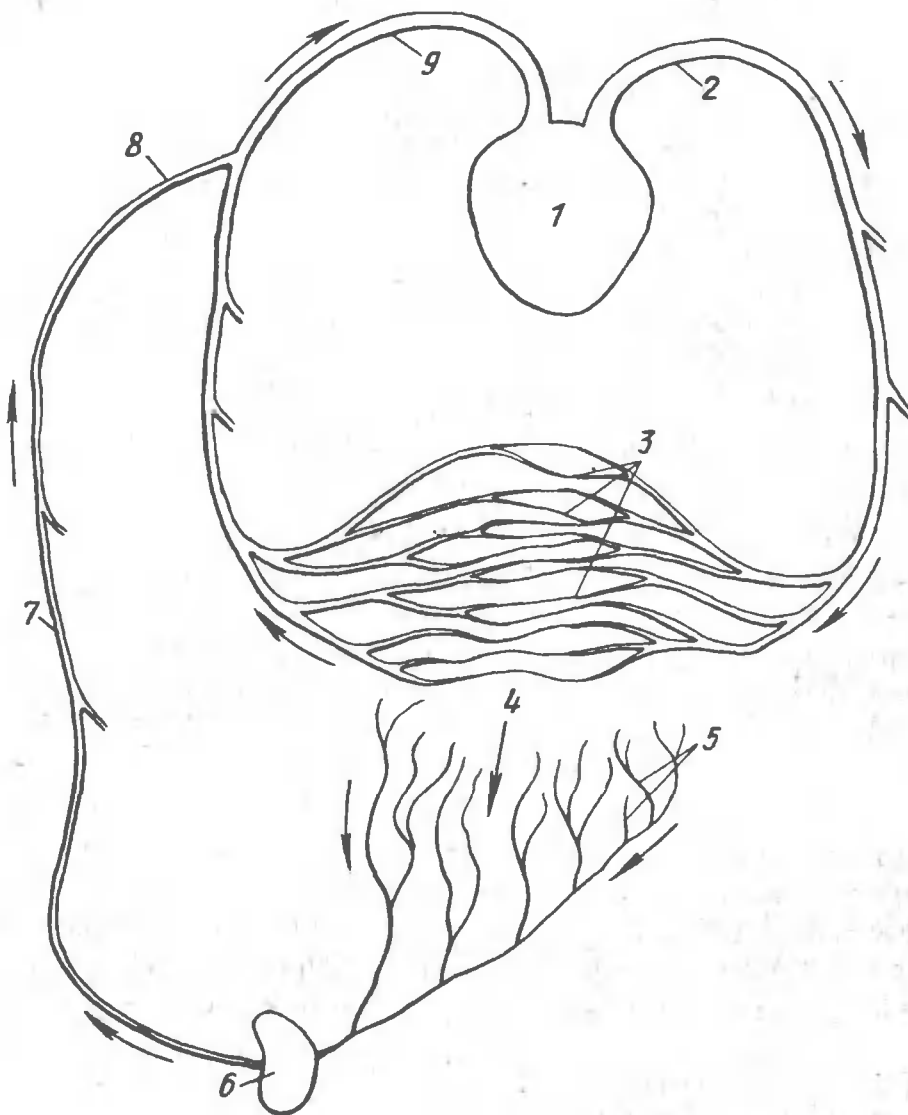


Рис. 2. Циркуляция крови и лимфы в организме:

1 — сердце, 2 — артерия, 3 — кровеносные капилляры, 4 — тканевая жидкость, 5 — лимфатические капилляры, 6 — лимфатический узел, 7 — лимфатические сосуды, 8 — грудной лимфатический проток, 9 — вена; стрелками показано направление крово- и лимфотока

узле немало *макрофагов*, тоже способных захватывать и перерабатывать антигены.

Лимфа поступает в корковое вещество узла по приносящим лимфатическим сосудам, а оттекает из мозговой ткани узла по уносящим лимфатическим сосудам. Фильтрующий (дренажный) лимфатический узел способен обнаружить и захватить чужеродный антиген. Более того, лимфатический узел осуществляет специфическую по отношению к данному антигену иммунную реакцию. Конечная цель этой реакции — обезвредить вторгшийся антиген, причем не только в пределах данного лимфатического узла, но и в

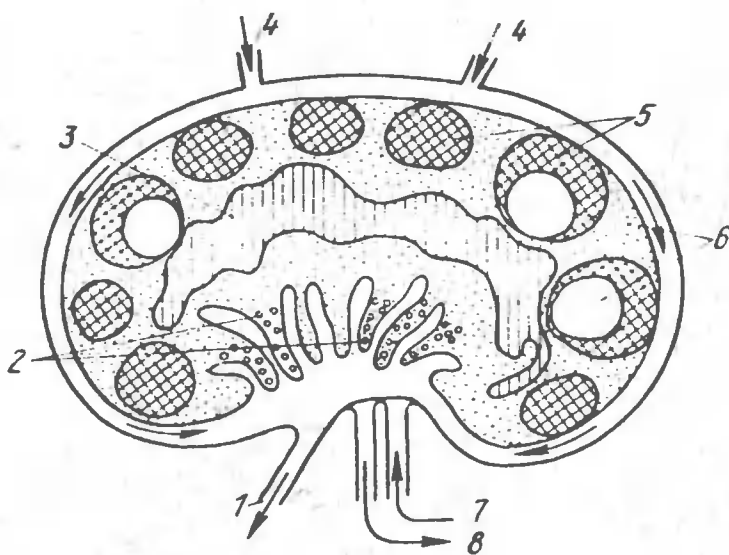


Рис. 3. Строение лимфатического узла (по Б. Албертсу и др., 1987):

1 — выносящий лимфатический сосуд, 2 — медullные шнуры, 3 — паракортикальная зона (Т-клетки), 4 — приносящие лимфатические сосуды, 5 — лимфатические фолликулы (В-клеточная зона), 6 — зародышевые центры фолликулов, 7 — артерия, 8 — вена

любой другой части тела, куда этот антиген мог быть перенесен с током крови или иным путем.

**Селезенка.** Этот орган — мощный фильтр, сквозь который пергоняется вся кровь организма. Здесь “отлавливаются” и уничтожаются чужеродные антигены, а также состарившиеся “свои” эритроциты.

Структура селезенки соответствует наилучшему выполнению ее фильтрационной и контрольной функций (рис. 4). Селезенка покрыта капсулой, состоящей из коллагеновых и эластических волокон. В области “ворот” селезенки (место соединения с крупными артериями и

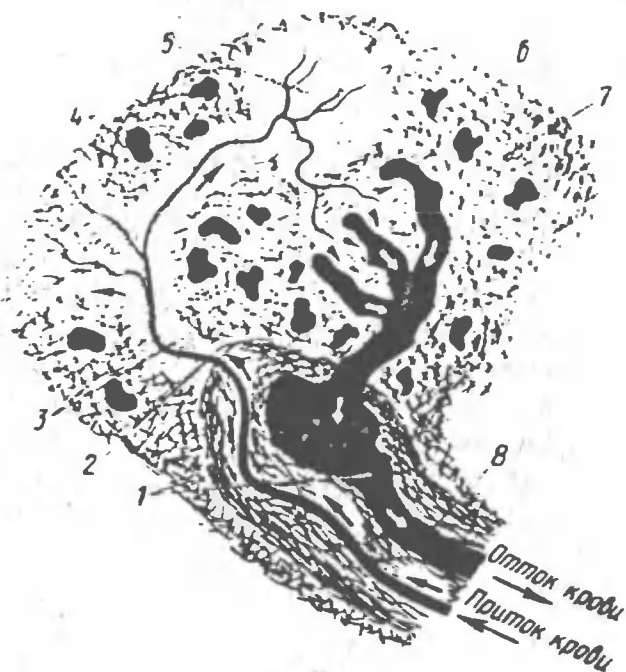


Рис. 4. Элементарная структурная единица (фрагмент) ткани селезенки (по А. Хэму, Д. Кормаку, 1983):

1 — трабекула, 2 — артериола, 3 — периаптериолярная муфта, 4, 6 — синусоиды (поперечный и продольный срезы), 5 — лимфоидный фолликул, 7 — красная пульпа, 8 — вена

венами) капсула особенно утолщена. Именно в этом месте от нее ответвляются в глубь селезенки пластинчатые перегородки. В толще каждой перегородки проходят артерия и вена. Капсула и отходящие от нее перегородки составляют грубый остов органа. Он заполнен более нежным каркасом в виде мелкочаистой сети из ретикулиновых волокон. Полости этого каркаса заполнены клетками: эритроцитами, лейкоцитами, лимфоцитами и макрофагами. Все вместе они составляют ткань селезенки.

На срезе органа легко рассмотреть, что большая часть ткани заполнена преимущественно красными кровяными клетками — это *красная пульпа*. *Белая пульпа* представлена множеством мелких (размером около 1 мм) плотных узелков серого цвета, разбросанных по всему органу. Это лимфатические фолликулы. Кроме того, лимфоидная ткань локализуется у стенок артерий и артериол, выходящих из толщи перегородок в пульпу. Лимфатические фолликулы являются местами преимущественного скопления В-лимфоцитов, а периваскулярные пространства — Т-лимфоцитов.

В толще пульпы артериола, подходящая к лимфатическому фолликулу, многократно разветвляется, образуя мельчайшие ветви. Кровь из этих ветвей выходит в красную пульпу, а отсюда попадает в просвет множества небольших синусоидов. На этом этапе форменные элементы крови должны проникнуть в микроскопические щели между эндотелиальными клетками, выстилающими стенки синусоидов. Именно здесь выбраковываются состарившиеся или поврежденные эритроциты, не способные поддерживать уменьшенный клеточный объем и дисковидную форму. Они задерживаются и поглощаются макрофагами, расположенными рядом со щелями, между эндотелиальными клетками синусоидов.

Кроме макрофагов в ткани селезенки существует целая сеть соединенных между собой *ретикулярных дендритных клеток*, которые тоже способны захватывать антигены. Проникнув сквозь ткань селезенки, кровь из синусоидов уходит в селезеночные вены, соединенные с большим кругом кровообращения.

Утилизация погибших старых клеток крови требует постоянной напряженной работы фагоцитирующих клеток селезенки. Вместе с этой функцией селезенка выполняет роль важнейшего лимфоидного органа. Ее белые клетки эффективно осуществляют функцию узнавания чужеродных антигенов, оказавшихся в крови, а также развивают иммунную реакцию против распознанных антигенов. Суть реакции — выработка средств, эффективно обезвреживающих именно эти антигены. Какие же это средства? Какими видами “оружия” располагает иммунная система?

### 1.3. Эффекторные средства иммунной защиты

Антитела. Против растворимых молекул чужеродных антигенов иммунная система вырабатывает избыток растворимых антимоле-

кул — *антител*, которые, по сути, представляют собой высокоспецифические ловушки для антигена. Причем эти ловушки могут проникнуть повсюду и связать каждую молекулу антигена, даже если они успели распространиться с током крови или лимфы по всему организму.

Антитела используются системой иммунитета для борьбы не только с растворимыми антигенами, но и с чужими клетками. При этом в помощь антителам привлекается система сывороточных белков, которую называют *комплемента* (подробнее см. гл. 4). Однако главным оружием иммунитета в борьбе с чужими клетками являются не антитела, а *клетки-убийцы (киллеры)*.

**Клетки-киллеры.** Эту роль могут выполнять лимфоциты, макрофаги и эозинофилы. Из названных наиболее сильным и направленным действием обладают Т-лимфоциты-киллеры. Они селективно прикрепляются к поверхности чужих клеток, несущих антиген(ы), и убивают их.

Полное удаление чужих молекул и клеток, атакованных антителами или клетками-киллерами, осуществляется клетками-“мусорщиками”, *фагоцитами*. Они “заглатывают” комплексы антиген — антитело или фрагменты разрушенных клеток и переваривают их до элементарных “кирпичиков” (аминокислот, сахаров), которые не только безопасны для организма, но могут быть использованы им для построения собственных биополимеров.

Помимо антител и клеток-киллеров иммунная система использует еще один метод борьбы с вторгшимся антигеном. Она умеет “выставлять оцепление” вокруг очага вторжения и предотвращать распространение антигена за его пределы. Есть два варианта такого ограничения — быстрый и медленный.

**Реакции повышенной чувствительности.** Быстрый вариант реакции реализуется в течение нескольких минут, он называется *гиперчувствительностью немедленного типа*. В этом случае иммунная система перекрывает отток крови из очага и вызывает местный отек. Первое из двух событий резко уменьшает возможность распространения антигена, второе — в какой-то мере снижает реальную концентрацию чужеродных веществ (например, токсинов) в очаге за счет их разбавления избытком тканевой жидкости.

Немедленная гиперчувствительность запускается комплексом антиген — антитело, реализуется с помощью веществ, секретируемых тучными клетками и базофильными лейкоцитами. Продукты этих клеток (гистамин, серотин, брадикинин и др.) влияют на сократимость гладких мышечных волокон в стенке кровеносных сосудов, а также на проницаемость сосудистых стенок для жидкостей. Поэтому эти вещества принято называть *вазоактивными кининами*.

*Гиперчувствительность замедленного типа* состоит в создании мощного “вала” вокруг очага, где сосредоточен антиген. Вал

представлен многослойным "оцеплением" из миллионов клеток иммунной системы (преимущественно из лимфоцитов), способных не допустить распространения антигена за пределы очага. Такая реакция развивается, когда иммунная система долго не может избавиться от внедрившегося агрессора. Это бывает в различных ситуациях. Например, если антиген плохо растворяется в водных средах и не может быть просто поглощен фагоцитами (масляные эмульсии белкового антигена) или если длительно сохраняется местное скопление устойчивого, но медленно размножающегося микроба (туберкулезная бацилла в небольшом локусе легочной ткани, так называемый *первичный туберкулезный очаг*), или, наконец, когда в организме живет чужая ткань (опухоль; тканевой трансплантат).

#### 1.4. Особенности иммунного реагирования

**Лат-фаза.** Иммунная реакция в подавляющем большинстве случаев реализуется не сразу, а с определенным запаздыванием. Между моментом вторжения антигена в организм и накоплением эффективных количеств защитных средств иммунитета (антител или клеток-киллеров), направленных против данного антигена, как правило, проходит несколько суток. Например, выработка антител обычно начинается не ранее чем через 3—4 сут после введения антигена и достигает максимума к 4—8 сут или позднее. Причина такого запаздывания состоит в том, что в момент вторжения антигена организм не содержит достаточного количества готовых эффекторных клеток. Они должны образоваться из соответствующих предшественников, пройдя этапы клеточных делений и цитодифференцировки.

Функционирование иммунитета с запаздыванием определяется необходимостью реагировать на миллионы самых разных чужеродных антигенов. Иметь готовый набор средств защиты против всех возможных антигенов в достаточном количестве просто невозможно. Зато можно иметь полное "меню" таких средств, изготавливая их "по заказу", лишь при необходимости и в количестве, адекватном вторгшемуся антигену. Процесс наработки достаточного количества соответствующего средства требует нескольких суток.

**Иммунная память.** Встретившись с антигеном однажды, иммунная система запоминает его и при повторной встрече реагирует значительно быстрее, сильнее и эффективнее. Это свойство принято называть *иммунной памятью*. Именно оно позволяет подготовить (обучить) организм к борьбе с каким-либо конкретным возбудителем инфекции. Для этого заблаговременно в организм вводят либо антигены, выделенные из возбудителя, либо его варианты, не способные вызывать заболевание. Такие препараты называют *вак-*

динами, а процедуру — *вакцинацией*. Индивидуумы, получившие вакцину, спустя некоторое время могут не опасаться данной инфекции. В случае заражения их иммунная система расправится с возбудителем быстро и без серьезных последствий.

Иммунная память может сохраняться в течение месяцев, лет или даже всей жизни. Механизмы длительной памяти пока еще не вполне ясны.

**Высокая точность реакции (специфичность).** Характерной особенностью иммунной реакции является ее *узкая специфичность*, точная конкретная направленность в отношении данного антигена. На чужих клетках и молекулах иммунная система контролирует и распознает множество мельчайших участков размером примерно 1—3 нм. Это позволяет ей дискриминировать два белка, различающихся всего одним аминокислотным остатком в полипептидной цепи. Иммунные механизмы способны реагировать даже на такие тонкие различия, как между 2,4-динитрофенильной и 2,4,6-тринитрофенильной группами.

## 1.5. Клетки иммунной системы

При описании строения лимфоидных органов уже были упомянуты клетки, участвующие в иммунитете. Сюда относятся около десяти клеточных типов, различающихся происхождением, структурой и функцией. Центральное место в иммунных механизмах отведено *лимфоцитам*. Однако немало значительных функций выполняют и нелимфоидные клетки.

### 1.5.1. Лимфоциты

*Лимфоциты* — небольшие округлые клетки диаметром 5—10 мкм. От всех других клеток организма их отличает огромное по масштабам клетка ядро, которое занимает почти весь внутренний объем клетки, оставляя лишь тонкий ободок цитоплазмы. Несмотря на это, в цитоплазме содержатся все обычные для клеток организмы — митохондрии, рибосомы, комплекс Гольджи и др.

В принципе лимфоциты “умеют” немного: активно передвигаться, размножаться и синтезировать определенные белковые молекулы “на экспорт” (т. е. выделять эти молекулы в околоклеточное пространство). Тем не менее этих свойств вполне достаточно, чтобы лимфоциты могли выполнять многие важные задачи, осуществляя как эффекторные, так и регуляторные функции в иммунитете. Многофункциональность их определяется тем, что популяция лимфоцитов очень неоднородна. Сохраняя внешнее подобие, эти клетки различаются спектром мембранных и секретируемых молекул, которые они умеют вырабатывать. Как следствие такого био-

химического разнообразия, популяция лимфоидных клеток распадается на *субпопуляции*, специализированные по функции.

Каждый лимфоцит ориентирован на узнавание единственного антигена. Миллиардная популяция лимфоцитов организма состоит из миллионов небольших семейств — *клонов*. Каждый клон представлен потомками одной клетки и специфичен к одной антигенной детерминанте. Обычно клоны содержат приблизительно 100—1000 клеток.

Независимо от антигенной специфичности лимфоциты входят в большие субпопуляции, специализированные по характеру выполняемой ими работы — производители антител, убийцы, индукторы, помощники, усилители, супрессоры.

**В-лимфоциты.** Это — непосредственные предшественники клеток, производящих антитела (так называемые *антителосекретирующие клетки*, АСК). Превращение В-лимфоцита в АСК начинается под влиянием антигена, к которому данная клетка специфична. Процесс превращения (*цитодифференцировка*) продолжается несколько дней. В-Клетка постепенно изменяется, чтобы все более и более интенсифицировать выработку антитела. При этом В-лимфоцит неоднократно делится, образуя дочерние клетки. В процессе каждого цикла деления лимфоцит увеличивается в размерах до 22—25 мкм (*лимфобласт*), а затем делится на две дочерние клетки. В следующем цикле каждая из дочерних клеток делится еще на две и т. д. Процесс последовательных делений клеток в научной литературе принято называть *пролиферацией*.

В каждый данный момент в популяции лимфоцитов имеются клетки, находящиеся в различных фазах цикла деления, поэтому по клеточным размерам популяция выглядит неоднородной (малые, средние и большие лимфоциты, лимфобласты). Превращаясь в АСК, клетки приобретают способность синтезировать антитела независимо от своего размера, так что популяция АСК тоже выглядит гетерогенной.

Характерным морфологическим изменением, происходящим при превращении В-лимфоцитов в АСК, является некоторое увеличение объема цитоплазмы и накопление в ней большого числа рибосом. Наиболее мощные продуценты антител выглядят как крупные клетки (20—22 мкм) с асимметрично расположенным ядром и значительным объемом цитоплазмы. В их цитоплазме содержится огромное количество рибосом, и развиты те органеллы, которые необходимы для обеспечения интенсивной продукции белка: ретикулум, аппарат Гольджи, митохондрии. Такие АСК выделяют в особую группу, называя их *плазматическими клетками*.

**Клетки-киллеры.** Отдельная субпопуляция Т-лимфоцитов представлена предшественниками клеток-убийц, потенциальными киллерами. Встретившись с изменившейся клеткой организма, которая приобрела “чужие” свойства, потенциальный киллер активируется,

размножается и в течение нескольких дней приобретает свойства реальной клетки-убийцы. Зрелый Т-киллер, вновь встретившись с "нужной" клеткой, убивает ее. Этот механизм иммунного реагирования направлен главным образом против клеток, в которых размножается вирус, а также против опухолевых клеток.

В определенных ситуациях функцию клеток-убийц могут осуществлять активированные макрофаги. Они особенно эффективны против клеток опухоли.

Наконец, в ряду киллеров имеется еще один тип клеток. Это лимфоциты, которые умеют убивать клетки некоторых опухолей без предшествующей активации. Их принято называть *естественными киллерами*. Эти клетки не относятся к классу Т-лимфоцитов, они узнают и убивают свою жертву иначе, чем Т-киллеры.

**Т-клетки-активаторы.** Это самая многочисленная субпопуляция Т-лимфоцитов. Их задача состоит в активации других типов клеток. Сюда входят уже упомянутые Т-помощники (их еще называют Т — В-хелперами), Т-индукторы, Т — Т-хелперы (или Т-усилители).

Т-активаторы умеют вырабатывать вещества, стимулирующие деление, созревание и функциональную активность других лимфоцитов (предшественники АСК, предшественники клеток-киллеров, предшественники клеток-супрессоров, предшественники клеток-хелперов), а также макрофагов и эозинофилов.

**Т-клетки-супрессоры.** В лимфоидных органах содержится многочисленная субпопуляция клеток, которые, получив определенные сигналы, созревают и приобретают способность тормозить развитие иммунной реакции. Не будь у иммунной системы механизма торможения, каждая конкретная реакция в результате размножения реагирующих лимфоцитов довольно скоро заполняла бы организм несметным количеством этих клеток. Превращаясь в некоторое подобие злокачественного новообразования, эта исходно полезная популяция лимфоидных клеток в конце концов убивала бы собственный организм. Клетки-супрессоры выполняют функцию важнейшего регуляторного звена иммунной системы. Их действие может быть специфическим, направленным на торможение реакции против конкретного антигена, или неспецифическим, направленным против любой иммунной реакции, которая происходит в данный момент в данной ткани. Клетки-супрессоры представлены главным образом Т-лимфоцитами.

### 1.5.2. Нелимфоидные клетки

Эти клетки, как уже отмечалось выше, выполняют целый ряд существенных функций. Они захватывают антиген, перерабатывают его и представляют в таком виде, какой необходим для Т-клеток. Кроме того, различные типы нелимфоидных клеток осуществ-

ляют обучение незрелых лимфоцитов, корректируют пути их миграции в организме, реализуют реакции гиперчувствительности и даже сами убивают чужеродные клетки.

**Фагоциты.** Фагоциты — клетки, способные “пожирать” меньшие по размеру частицы. Это первые клетки, защитная функция которых была обнаружена. *Фагоцитоз* открыл более 100 лет назад русский ученый И. И. Мечников. Способностью фагоцитировать частицы обладают различные клетки. Особенно активны в этом отношении *макрофаги*, которые образуются из моноцитов крови. Блуждающие макрофаги находятся в крови, лимфоидных органах, рыхлой соединительной ткани и практически во всех других тканях. Кроме них в некоторых тканях имеются “оседлые” фагоцитирующие клетки. Так, *клетки Купфера* в печени эффективно захватывают частицы из кровотока. *Альвеолярные макрофаги*, выстилающие поверхность альвеолярных пузырьков легкого, захватывают любые частицы (пыль, микробы), попавшие с вдыхаемым воздухом в просвет альвеол.

В крови в большом количестве содержатся фагоцитирующие клетки небольшого размера — *микрофаги*. Это нейтрофильные гранулярные лейкоциты. *Нейтрофилы* — главные участники воспалительной реакции против большинства микробов. Они активно поглощают патоген, при этом погибают сами, высвобождая губительные для микробов вещества.

Кроме захвата и “переваривания” чужеродных частиц, фагоциты выполняют роль вспомогательных клеток в иммунных реакциях лимфоцитов. Переработав антиген, они представляют его фрагменты на своей поверхности в таком виде, какой необходим Т-лимфоцитам. Вместе с функцией *переработки и представления антигена* макрофаги играют роль *активаторов иммунной реакции*. Они выделяют в среду вещества, способствующие реагированию лимфоидных клеток на антиген.

Существует несколько типов клеток, не способных к полноценному фагоцитозу, но выполняющих функцию представления антигена для Т-лимфоцитов. Этой способностью обладают дендритные ретикулярные клетки лимфатических узлов и селезенки, “вуалевые” клетки лимфы, а также клетки Лангерганса и клетки Гренштейна в эпидермисе кожи. Имеется немало данных, что функцию представления антигена для Т-лимфоцитов с успехом могут выполнять В-клетки.

**Эозинофилы.** Один из вариантов гранулярных лейкоцитов крови представлен эозинофилами. Эти клетки в большом числе содержатся в рыхлой соединительной ткани подслизистой кишечника. Они накапливаются в очагах местных воспалений, вызванных гельминтами или связанных с аллергической реакцией. Долгое время функция этих клеток оставалась неизвестной. Однако в последние несколько лет в исследовании этого вопроса произошел замет-

ный сдвиг. Он объясняется разработкой методов выделения и культивирования чистых субпопуляций эозинофилов. Эти исследования вполне отчетливо показали, что эозинофилы могут выполнять функцию киллеров, направленных против клеток гельминтов.

**Базофилы и тучные клетки.** Базофилы представляют собой гранулярные лейкоциты крови, тучные клетки являются клетками рыхлой соединительной ткани. Однако и те, и другие встречаются практически в любых тканях. Оба типа клеток содержат в цитоплазме большое количество мембранных пузырьков (гранул), в которые упакованы вазоактивные вещества: гистамин, серотонин, брадикинин, а также гепарин. При воздействии на клетку комплекса антиген — антитело гранулы секретируются. Высвобождение перечисленных веществ в ткань приводит к развитию местного воспаления (стаз крови, отек ткани).

**Эпителиальные клетки тимуса.** Крупные эпителиальные клетки регулируют один из этапов созревания лимфоцитов в корковом веществе тимуса. Эти огромные клетки обволакивают своей мембраной мелкие лимфоциты (поэтому их называют “клетками-няньками”), воздействуя на них как контактным путем, так и с помощью растворимых веществ. Последние представляют собой группу пептидных соединений, называемых *гормонами тимуса*. Пептидные гормоны тимуса индуцируют дифференцировку претимических предшественников, приобретение ими некоторых характерных свойств Т-лимфоцитов.

Следующий этап созревания лимфоциты тимуса проходят в мозговом веществе. Здесь на них воздействуют дендритные клетки и макрофаги. Кроме приобретения свойств Т-клеток, лимфоциты в тимусе обучаются узнавать специальные белковые молекулы, которыми помечены собственные клетки организма.

Пройдя стадии созревания в тимусе, Т-клетки переселяются в периферические лимфоидные органы и другие ткани. Многие Т-клетки, покинув тимус, все же нуждаются в дополнительной дифференцировке. Они завершают свое обучение на периферии. В связи с этим важно отметить, что в ткани кожи, куда приходит множество Т-клеток, имеются аналоги эпителиальных клеток тимуса. Это — кератиноциты.

**Кератиноциты.** Это — основной клеточный компонент эпидермиса. Кератиноциты морфологически и биохимически схожи с эпителиальными клетками тимуса. Мало того, они вырабатывают для Т-клеток факторы дифференцировки, подобные гормонам тимуса. Наконец, кератиноциты выделяют еще один важный белковый фактор — *интерлейкин-1* (ИЛ1), который активизирует функцию Т-хелперов.

Вообще ткань кожи, являясь граничным покровом организма, наделена всеми необходимыми клеточными элементами, чтобы обеспечить эффективное развитие иммунных реакций при вторже-

нии антигена. По-видимому, полный комплекс элементов для иммунного реагирования содержится во всех пограничных оболочках тела, в частности в слизистой пищеварительного тракта, а также в эпителии дыхательных путей.

## 1.6. Функциональные взаимодействия клеток в иммунных реакциях

В предшествующих разделах были описаны типы клеток, участвующих в иммунитете, рассмотрены структурные образования (лимфатические узлы, селезенка, тимус и др.), в которых они локализуются. Функционирование клеток в иммунных реакциях в значительной мере зависит от их взаимного влияния, поэтому ниже будут более подробно рассмотрены функциональные взаимодействия клеток на разных стадиях иммунитета.

### 1.6.1. Межклеточные взаимодействия в реакции антителообразования

Первыми клетками, захватившими антиген, практически всегда являются макрофаги. Они его “переваривают” и представляют Т-лимфоцитам. В-клетки умеют сами улавливать антиген из среды. Но в подавляющем большинстве случаев этого не достаточно, чтобы В-клетки начали пролиферировать и превращаться в АСК. Им необходима помощь Т-лимфоцитов.

Долгое время считали, что антигены бывают двух типов. На одни антигены В-клетки реагируют самостоятельно, на другие — только при содействии Т-клеток. К первым относили полисахариды, липополисахариды, агрегированные белки. Эти антигены называли *тимуснезависимыми*. Ко вторым причисляли растворимые белки, гаптены, вирусные антигены, чужеродные клетки, тканевые трансплантаты, опухоли. Эти антигены называли *тимусзависимыми*.

В последние несколько лет стало ясно, что такое “полярное” разграничение не соответствует реальности. Реакция на антигены, ранее считавшиеся тимуснезависимыми, тоже требует участия Т-лимфоцитов. В некоторых случаях они могут влиять лишь на интенсивность реакции В-клеток, а в ряде ситуаций даже обеспечивают запуск реакции.

Установлено, что существуют две большие субпопуляции В-лимфоцитов, различающиеся как ориентацией в отношении разных типов антигенных молекул, так и механизмом взаимодействия с Т-хелперами. Эти субпопуляции В-клеток дискриминируют по маркерному белку Lyb5 на их внешней мембране. Одни В-клетки имеют такой белок, их обозначают Lyb5<sup>+</sup>. Другие — лишены этого

маркера, их обозначают  $Lyb5^+$ . Оказалось, что  $(Lyb5^+)$ -В-лимфоциты реагируют на растворимые полисахариды. Они получают помощь от Т-хелперов на расстоянии в виде растворимых факторов. Напротив  $(Lyb5^-)$ -В-лимфоциты нуждаются в контактном взаимодействии с Т-хелперами и реагируют на все прочие типы антигенов (белки, клетки, липополисахариды из микробной стенки и т. д.).

### 1.6.2. Медиаторные факторы Т-хелперов

Активированные Т-лимфоциты-хелперы вырабатывают спектр веществ, влияющих как на В-лимфоциты, так и на другие типы клеток иммунной системы.

Во-первых, это *фактор ауторегуляции*, стимулирующий деление самих Т-хелперов и всех других типов Т-клеток. Его называют *фактором роста Т-клеток* (ФРТК), или *интерлейкином-2* (ИЛ2)<sup>1</sup>.

Для совершения полного цикла деления покаяющаяся лимфоидная клетка должна получить не менее двух последовательных сигналов. Первый сигнал, иницирующий, выводит клетку из покоя в фазу G1. В этой фазе (она длится 15—20 ч) активируется ряд метаболических процессов, подготавливающих удвоение (репликацию) ДНК. Для начала синтеза новой ДНК (фаза синтеза ДНК обозначается как S-фаза) клетка должна в G1-фазе получить еще один сигнал активации. Интерлейкин-2 выполняет функцию второго сигнала для активированных Т-лимфоцитов.

Интерлейкин-2. Этот медиатор Т-хелперов — белок с молекулярной массой около 15 кДа (у человека) или около 35 кДа (у мыши) — получен и исследован в очищенном виде, ресинтезирован методами генной инженерии. Синтез ИЛ2 у человека кодируется одним геном хромосомы 4q.

В ряде случаев повышение концентрации ИЛ2 может активировать рост не только Т-лимфоцитов, но и В-клеток. Однако эту функцию в отношении В-лимфоцитов предназначен выполнять другой медиатор, выделяемый Т-хелперами, — *фактор роста В-клеток* (ФРВК), белок с молекулярной массой около 20 кДа. Он стимулирует размножение В-лимфоцитов, уже получивших первый сигнал активации — антиген (начальный сигнал кроме антигена могут индуцировать и другие вещества; см. гл. 3). По-видимому, первый сигнал индуцирует переход В-лимфоцита из G0 в раннюю G1-фазу, а включение синтеза ДНК (S-фаза) запускает еще один

---

<sup>1</sup> По современной номенклатуре любые регуляторные вещества, обеспечивающие связи белых клеток крови между собой, называют интерлейкинами. Таких факторов, структура молекул которых расшифрована, к концу 1988 г. было зарегистрировано шесть.

медиатор — ИЛ1. Последний выделяется активированными макрофагами, а также многими другими типами нелимфоидных клеток.

**Интерлейкин-1.** Это — белок с молекулярной массой около 17 кДа (подробнее см. гл. 3). Обладает свойствами фермента карбоксипептидазы, однако, каким образом эта ферментативная активность связана с механизмом действия ИЛ1 на чувствительные к нему клетки, пока не понятно.

Интерлейкин-1 оказывает множество разных эффектов. Он активирует переход в S-фазу деления В-лимфоцитов, получивших ФРВК, и Т-лимфоцитов, получивших ФРТК. Кроме того, он активирует пролиферацию малых тимических лимфоцитов, эпителиальных клеток и фибробластов. Индуцирует дифференцировку предшественников В-клеток в зрелые В-лимфоциты, способные уз-

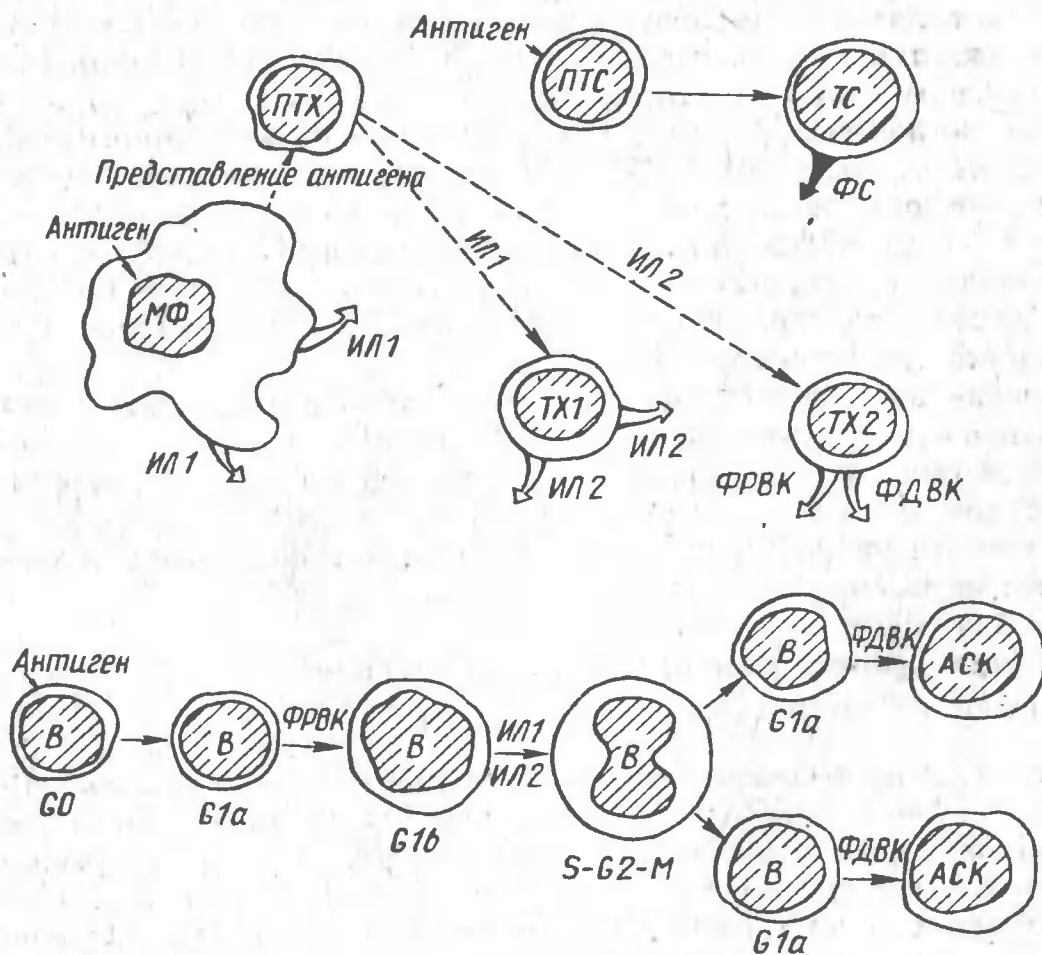


Рис. 5. Кооперативные взаимодействия клеток в ходе реакции антителообразования: G0, G1a, G1b, S, G2, M — фазы цикла клеточных делений, ИЛ — интерлейкины, ФДВК — фактор дифференцировки В-клеток, ФРВК — фактор роста В-клеток, ФС — фактор супрессии; типы взаимодействующих клеток: АСК — антителосекретирующая клетка, МФ — макрофаг, ПТС — предшественник Т-супрессора, ПТХ — предшественник Т-хелперов, В — В-клетка, ТС — Т-супрессор, ТХ1 и ТХ2 — Т-хелперы 1-го и 2-го классов

навать антиген. Интенсифицирует секрецию антител АСК и секрецию ИЛ2 Т-клетками.

**Фактор созревания АСК.** В-лимфоциты, активированные антигеном и факторами роста, пролиферируют, но не превращаются в АСК. Процессом цитодифференцировки В-лимфоцитов в АСК управляют специализированные медиаторы, также секретируемые Т-хелперами. Они называются *дифференцировочными факторами для В-клеток (ФДВК)*. Это — семейство родственных молекул, одна из которых получена в очищенном виде и реклонирована методами генной инженерии. По универсальной номенклатуре ее назвали *интерлейкином-4 (ИЛ4)*.

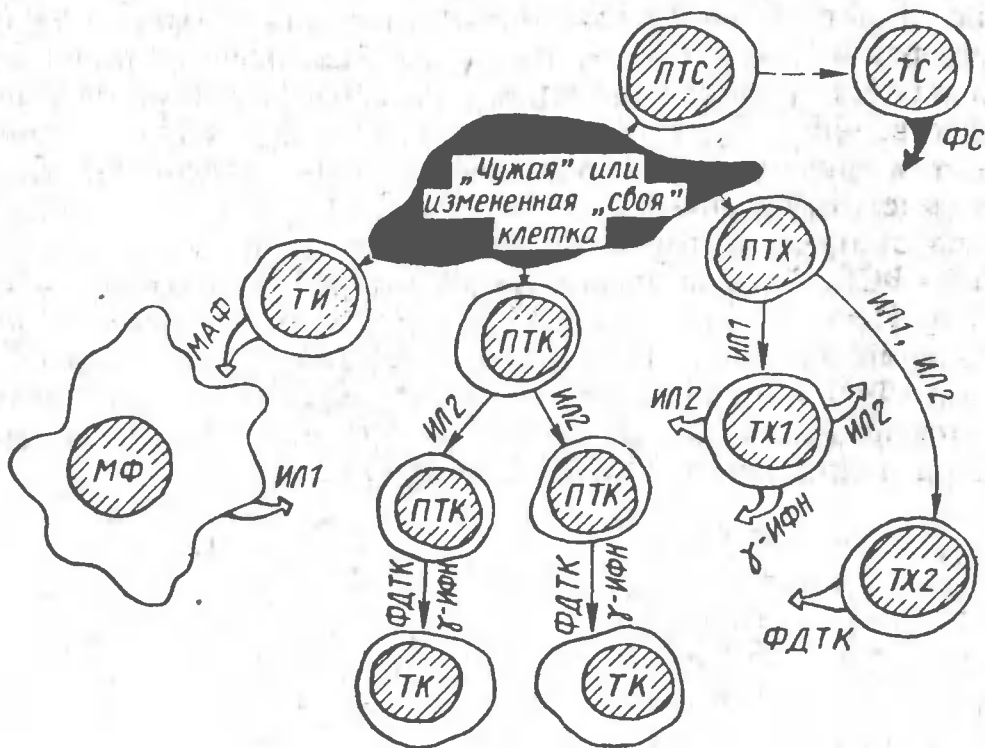
Интерлейкин-4 имеет молекулярную массу 20 кДа, действует только на активированные В-лимфоциты, превращая их в клетки, секретирующие антитела изотипа IgG (пояснение понятия “изотип” см. гл. 4). Для выработки других изотипов антител (IgM, IgA, IgE) Т-клетки, по-видимому, секретируют ФДВК, специальные для каждого изотипа. Существуют данные, что каждый вариант ФДВК вырабатывается отдельной субпопуляцией Т-лимфоцитов. Установлено, что ФРВК и ФДВК продуцируются разными Т-клетками, которые по этому признаку разделяют на  $(T - V)_1$ - и  $(T - V)_2$ -хелперы. В определенных экспериментах удавалось воздействовать на активированные В-клетки только ФДВК в отсутствие ФРВК. Это приводило к появлению антителосекретирующих клеток без клеточной пролиферации.

Описанная информация о клетках и их медиаторах позволяет составить схему функционального взаимодействия клеток в антителогенезе (рис. 5). Стержневыми процессами являются пролиферация В-лимфоцитов и их дифференцировка в АСК. Эти процессы управляются макрофагами, Т-хелперами и Т-супрессорами, а также растворимыми продуктами этих клеток.

### 1.6.3. Межклеточные взаимодействия в реакции образования Т-киллеров

Как уже отмечалось, формирование лимфоцитов-киллеров является одним из наиболее действенных механизмов *защиты от вирусов и опухолей*. В основе этой реакции лежит процесс превращения Т-лимфоцитов — предшественников киллеров (ПТК) в зрелые Т-киллеры (ТК), способные найти и убить клетку-мишень. Как и в случае созревания АСК, процесс превращения ПТК в ТК является цитодифференцировкой. Т-киллеры приобретают способность синтезировать специальные белки, с помощью которых они и убивают клетку-мишень (подробнее о механизме см. в гл. 4). Дифференцировка ПТК — ТК протекает одновременно с клеточной пролиферацией. Дифференцировку и деление клеток регулируют разные факторы. Описано два фактора дифференцировки Т-килле-

пока не сг.:



γ-ИФН — интерферон, МАФ — фактор, активирующий макрофаги, ПТК (предшественник Тк), Тн — Т-клетка-индуктор, ФДТК — фактор дифференцировки Т-клеток; остальные обозначения те же, что на рис. 5

Функцию ростового фактора для ПТК и ТК выполняет ИЛ2

Его секретируют активированные Т-клетки, которые в этом случае называют либо *Т — Т-хелперами*, либо *Т-усилителями*. Доказано, что ФДТК и ИЛ2 секретируются не идентичными клетками. Большое значение для активации Т — Т-хелперов имеет их взаимодействие с макрофагами или другим типом клеток, представляющих антиген. При этом неактивный предшественник Т — Т-хелперов получает не менее двух сигналов — антигенный и ИЛ1. В свою очередь, активность макрофагов усиливается за счет позитивного влияния на них Т-клеток, которые называют *Т-индукторами*. Различия между Т-хелперами и Т-индукторами до конца не выяснены. В целом картина межклеточных взаимодействий при индукции Т-киллеров в упрощенном виде может быть представлена, как на рис. 6.

#### 1.6.4. Межклеточные взаимодействия при активации Т-супрессоров

Механизм вовлечения ингибиторного звена при иммунном ответе не так прост, как это может показаться из схем, приведенных на рис. 5 и 6. В начальный момент иммунной реакции готовых супрессоров нет. И это не удивительно, ведь иначе реакция бы не возникла. На антиген, представленный макрофагами, реагируют предшественники Т-супрессоров первого порядка (ПТС1). Они созревают в функционально активную форму, приобретая способность выделять белковый *фактор супрессии* (ФС1). Этот медиатор активирует процесс созревания супрессоров второго порядка, а их фактор (ФС2), в свою очередь, — созревание супрессоров третьего порядка. И только последние выделяют белковый фактор (ФС3), угнетающий функцию Т-хелперов (рис. 7). По сути, первые два фактора (ФС1 и ФС2) вовсе не супрессорные, так как они активируют превращения других клеток. Поэтому правильнее называть первые два типа клеток Т-индукторами супрессии.

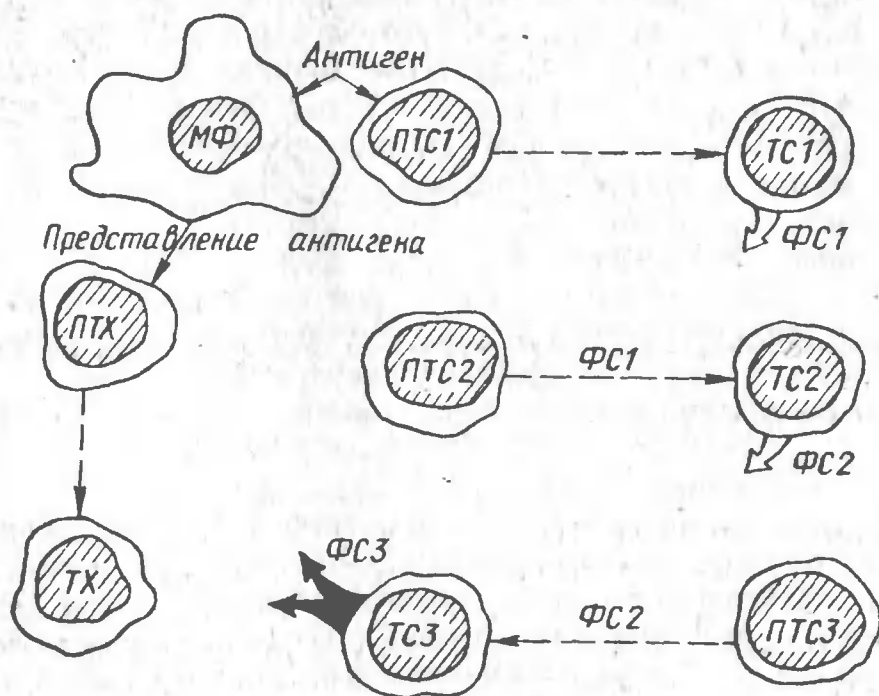


Рис. 7. Супрессорный каскад:

типы взаимодействующих клеток обозначены, как на рис. 5 и 6; ФС1, ФС2, ФС3 — супрессорные факторы

Основной механизм супрессии — нарушение делений Т-клеток, являющихся положительными регуляторами иммунной реакции. Молекулярные детали действия факторов Т-супрессии пока не рас-

шифрованы. По-видимому, в ряде случаев супрессия может быть направлена непосредственно против В-клеток.

#### 1.6.5. Межклеточные взаимодействия при индукции гиперчувствительности замедленного типа

В ответ на персистирующие формы антигенов иммунная система сосредоточивает вокруг очага большое количество клеток-бойцов: макрофагов и лимфоцитов. Рассмотрим, как это происходит.

Небольшое число макрофагов, переработав минимальные порции антигена, представляет его Т-лимфоцитам. В тех случаях, когда антигеном являются измененные "свои" клетки, лимфоциты могут активироваться, встречаясь с ними. Активированные лимфоциты как Т-, так и В-типа секретируют серию белковых веществ для макрофагов. Это — *фактор хемотаксиса (ФХ)*, *факторы активации макрофагов (МАФ)* и *фактор ингибирования миграции макрофагов (МИФ)*.

Фактор хемотаксиса действует в очень малых концентрациях. Макрофагальные клетки перемещаются в направлении увеличения концентрации ФХ в среде, тем самым ФХ привлекает к очагу фагоциты из окружающих тканей. Оказавшись в очаге, макрофаги активируются под влиянием МАФ: повышаются их бактерицидные свойства, фагоцитарная активность и антиопухолевый (киллерный) эффект. Под влиянием МИФ они теряют способность к миграции и приобретают повышенные адгезивные свойства. По некоторым данным активностью МИФ и МАФ могут обладать одни и те же белки. Интересно, что, в отличие от замедленных при острых воспалительных процессах лимфоциты секретируют факторы хемотаксиса для нейтрофилов и базофилов, а также факторов, ингибирующих миграцию нейтрофилов.

#### 1.6.6. Взаимодействие клеток при активации эозинофилов

Длительный период времени ученые не знали, какова функция эозинофилов в организме. Отмечали лишь корреляцию нарастания их количества с аллергией или инвазией гельминтами. Несколько лет назад завеса таинственности стала приоткрываться. Исследователи научились выделять в чистом виде субпопуляцию эозинофилов и культивировать ее вне организма, *in vitro*.

Оказалось, что существуют две четко различаемые стадии развития эозинофилов — покоящиеся и активированные. Вторые отличаются от первых накоплением в цитоплазме больших количеств белка(ов), специфического для этих клеток. Этот белок упакован в гранулы. Как структурное образование он был отмечен достаточно давно и назывался морфологами "кристаллоидное включение".

Сейчас появилась возможность изучения свойств очищенного белка. Стало ясно, что именно с ним связана функция зрелых эозинофилов.

В прямых экспериментах показано, что эозинофилы, плотно наполненные гранулами белка, могут убивать клетки гельминтов и простейших, т. е. также являются своеобразными киллерами. *Реакция эозинофилов* состоит в превращении неактивных, лишенных белка эозинофилов в активные, “нафаршированные” этим белком клетки. Это превращение управляется Т-лимфоцитами. Последние, в свою очередь, должны быть активированы антигеном, который представляется им макрофагами. Активированные Т-клетки секретируют растворимое вещество-посредник, “включающее” процесс превращения незрелых эозинофилов в функционально полноценные эозинофилы-киллеры. По всей видимости, процесс созревания сопровождается размножением эозинофилов или их более ранних предшественников, так как количество этих клеток в крови существенно нарастает. К тому же имеется специальный механизм привлечения эозинофилов к тем участкам ткани, где сосредоточен антиген. Процесс направленной миграции регулирует специальный фактор хемотаксиса эозинофилов, который выделяют активированные лимфоциты.

#### 1.6.7. Взаимодействие клеток при развитии местных иммунных реакций в коже

Одно из замечательных достижений иммунологии 80-х годов состоит в открытии и расшифровке *иммунного механизма, существующего в ткани кожи*. Кожа выполняет пограничную функцию, защищая организм от внешних воздействий. Во-первых, это чисто механическая защита — покров, способный самостоятельно ликвидировать возникающие в нем повреждения. Во-вторых, этот покров защищен химически. Он наделен сальными и потовыми железами, продукты которых обладают выраженной бактерицидной активностью. В-третьих, оказалось, что кожа снабжена эффективным аппаратом для местного иммунного реагирования. Конечно, этот аппарат тесно связан со всей системой иммунитета, однако он достаточно самостоятелен при выполнении каждой конкретной реакции.

Внешний слой кожи, *эпидермис*, образован эпителиальными клетками — *кератиноцитами*. Эти клетки, размножаясь, образуют несколько слоев (рис. 8). Погибающие старые кератиноциты сосредоточиваются на внешней поверхности кожи, образуя ее *роговой слой*. Отсюда и название (от лат. *ceratos* — рог). Молодые размножающиеся кератиноциты образуют самый глубинный слой эпидермиса. Здесь же локализуются *меланоциты* — клетки, содержащие гранулы пигмента меланина, которым определяется цвет кожи. В толще слоев кератиноцитов встречаются дендритные клетки двух



типов: Лангерганса и Грэнштейна. Слои эпидермиса располагаются на мощном слое рыхлой соединительной ткани (*дерма*), в котором разветвляются кровеносные, лимфатические сосуды и нервные волокна. Здесь же локализуются потовые и сальные железы. В ткани дермы и эпидермиса встречаются лимфоциты. Количество их невелико в обычной ситуации, но может резко возрастать при ряде заболеваний, и в частности при внедрении антигена.

*Реакция на вторгшийся антиген* развивается по всем законам межклеточных взаимодействий (рис. 9). Клетки Лангерганса и Грэнштейна выполняют функцию макрофагов, перерабатывают антиген и представляют его лимфоцитам. Эти два типа клеток очень схожи (внешне), но не идентичны по функции. *Клетки Лангерганса* представляют антиген Т-хелперам, а *клетки Грэнштейна* — Т-супрессорам. Причем клетки Грэнштейна резистентны к ультрафиолетовому облучению, а клетки Лангерганса погибают от коротковолнового света. Именно поэтому в определенных случаях ультрафиолетовое облучение кожи приводит к угнетению иммунной реакции на антиген.

Описанными клеточными взаимодействиями не ограничивается разнообразие иммунных функций кожи. Здесь продолжается дифференцировка незрелых Т-лимфоцитов. Эпителиальные клетки — кератиноциты, как и эпителиальные клетки тимуса, вырабатывают *тимопоэтин* — гормон(ы), необходимый для созревания Т-лимфоцитов. Кроме того, кератиноциты вырабатывают ИЛ1, который стимулирует и секреторные, и пролиферативные свойства лимфоцитов. Очень важно и то, что с помощью ИЛ1 кератиноциты усиливают способность клеток Лангерганса к переработке антигенов.

#### 1.6.8. Общие закономерности функционального взаимодействия клеток иммунной системы

Описанные выше варианты функциональной кооперации клеток не исчерпывают имеющихся данных о межклеточных взаимодействиях. Здесь были рассмотрены лишь самые значительные из них. Этого уже вполне достаточно, чтобы составить представление о распространенности данного явления в рамках системы иммунного реагирования и о степени его сложности. Кроме того, приведенные сведения вскрывают некоторые общие черты кооперативных взаимодействий клеток при иммунных реакциях.

Увязывание клеточных элементов в динамичный процесс всякой иммунной реакции имеет как оригинальные черты, так и универсальные принципы. Независимо от варианта иммунной реакции (синтез антител, образование клеток-киллеров или эффекторов гиперчувствительности) *стержневым элементом реакции* является процесс превращения неактивного предшественника в активную

эффекторную клетку. В-лимфоциты дифференцируются в АСК, предшественники Т-киллеров — в зрелые Т-киллеры, соответствующие Т-лимфоциты-предшественники превращаются в Т-эффекторы гиперчувствительности замедленного типа, предшественники Т-хелперов — в активно секретирующие Т-хелперы, предшественники супрессорных клеток — в зрелые активные Т-супрессоры, неактивный эозинофил становится зрелым эозинофилом-киллером и т. д.

Во всех без исключения случаях зрелая клетка отличается от предшественника способностью вырабатывать в большом количестве конкретный белок: АСК вырабатывает антитело; Т-киллеры — перфорин; Т-эффекторы гиперчувствительности — ФХ, МАФ и МИФ; Т-хелперы — ИЛ2; Т-супрессоры — ФС; эозинофилы — белок гранул. Созревание соответствующих клеток-предшественников состоит в приобретении мощного аппарата синтеза определенного белка, на продукцию которого запрограммирована данная клетка.

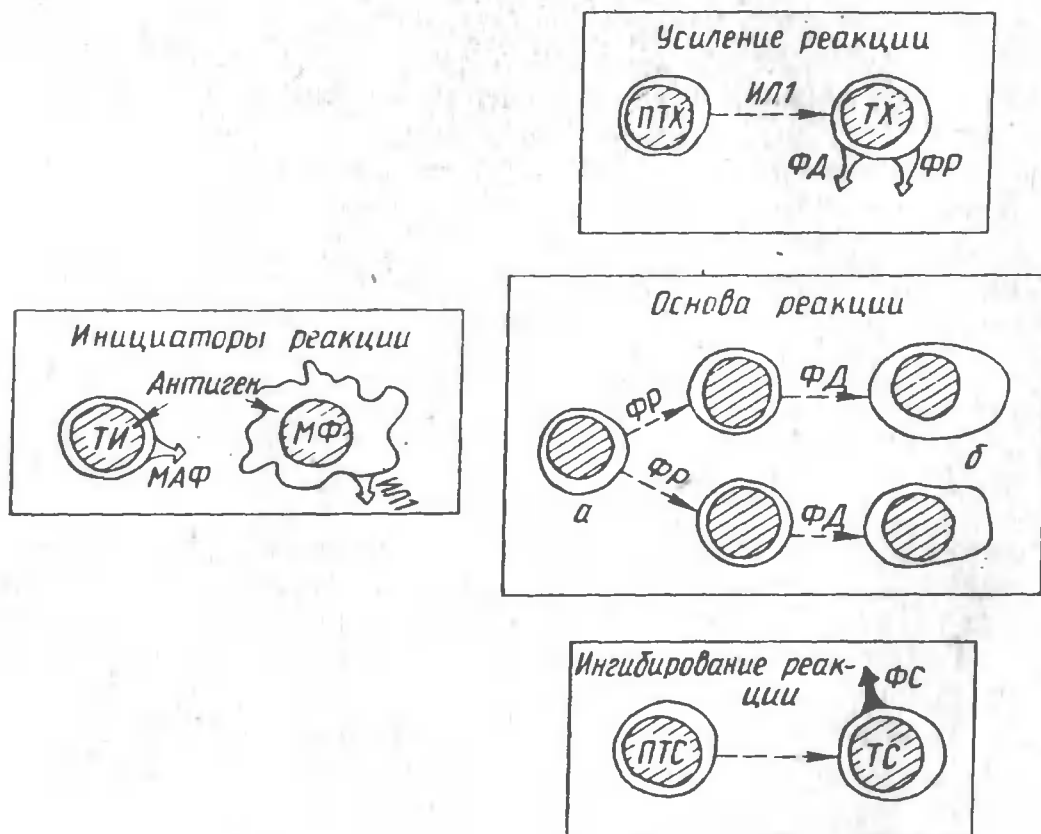


Рис. 10. Принципиальная схема регулирования иммунной реакции:

а — предшественник эффекторных клеток, б — зрелые продуценты эффекторного белка; взаимодействующие клетки обозначены так же, как на рис. 5, 6; растворимые вещества, опосредующие взаимодействия между клетками: ИЛ1, МАФ; ФР — факторы роста, ФД — факторы дифференцировки, ФС — факторы супрессии

Основной клеточный процесс иммунной реакции — дифференцировка предшественника в эффекторную клетку — достраивается необходимыми регуляторными элементами. Ими служат другие клетки иммунного механизма, выполняющие функцию инициаторов, усилителей или ингибиторов основного процесса. При этом регуляторные клетки в ряде случаев также должны созреть до того, как начнут выполнять свою функцию (рис. 10).

## 1.7. Система иммунитета — клеточная машина

Таким образом, иммунная система включает в себя более десяти различных типов клеток лимфоидного и нелимфоидного происхождения. Общее количество этих клеток огромно. Часть из них “закреплена” за определенными органами и тканями (тимус, селезенка, лимфатические узлы, кожа, печень, легкие и др.). Другие ведут “бродячий образ жизни”, непрестанно мигрируют, оказываясь то в крови, то в лимфе, то в пределах какой-либо ткани. Разделение клеток иммунной системы на блуждающие и оседлые не абсолютно. Во многих случаях оседлые клетки пускаются в циркуляцию, спустя некоторое время вновь переходят к “оседлой жизни” в том же или другом органе. Процессы миграции и рециркуляции не бесконтрольны, они, несомненно, управляются. Далеко не все “нити” этого управления изучены, хотя некоторые уже известны (подробнее см. гл. 8).

Клеточные элементы иммунитета непрерывно возобновляются. Состарившиеся клетки погибают, их заменяют новые. Этот процесс подобен регулярному возобновлению пула эритроцитов или эпителиальных клеток различных покровов (кожа, слизистая кишечника, эпителий дыхательных путей). Клетки иммунной системы возникают из предшественников: кроветворных, соединительнотканых или эпителиальных. В каждый данный момент в популяции клеток иммунной системы имеются клетки разной степени зрелости, от самых незрелых родоначальных форм (например, стволовая кроветворная клетка) до предельно специализированных зрелых (например, антителосекретирующая). Созревание клетки на последнем этапе принято называть *терминальной (окончательной) дифференцировкой*, как бы подчеркивая, что данная клетка уже не совершит больше никаких превращений. Как правило, время жизни зрелых клеток невелико. В частности, АСК живет и функционирует не дольше 1—3 сут. Следовательно, терминальная дифференцировка — в полном смысле конечная (фатальная) для клетки стадия.

Различные типы клеток иммунной системы объединены в “функциональные кооперативы”, специализирующиеся на конкретном варианте иммунной реакции. Взаимные кооперативные влияния

клеток осуществляются через вещества-посредники, а также путем прямого физического контактирования клеток между собой. Всякое функциональное сообщество клеток включает в себя не только реальных исполнителей той или иной иммунной реакции, но и регуляторный аппарат (клетки-усилители, клетки-супрессоры и др.).

Одним из важнейших способов, используемых для интенсификации почти любой реакции в иммунном процессе, является *размножение тех или иных клеток*. Следовательно, дифференцируясь, взаимодействуя и нарабатывая регуляторные или эффекторные вещества, клетки иммунной системы находятся на разных стадиях цикла митотического деления.

Картина еще более усложняется из-за того, что появление увеличенного количества каких-либо клеток (например, Т-киллеров, которые специфичны к клеткам-мишеням, несущим конкретный антиген X) или белков (например, антител к антигену X) "рассматривается" другими компонентами иммунной системы как появление нового антигена. Поэтому начинается иммунная реакция, направленная на их удаление. Продукты этой, второй, реакции, в свою очередь, вызывают третью реакцию. Возникает цепь связанных между собой реакций, растянутых во времени. Эти цепи называют *сетевыми взаимодействиями*. Как они "затухают", не вполне ясно. Возможно, на какой-то стадии количество вновь возникших элементов оказывается меньше порогового, необходимого для возбуждения следующего звена сети.

В целом иммунная "машина" сложна и многокомпонентна, но очень динамична и точна в реагировании. Ее реагирование направлено на восстановление в организме исходной (до внедрения антигена) ситуации, т. е. на его полное удаление, а также удаление всех последствий вторжения (погибшие клетки, их продукты и т. п.). Лишь одно изменение в организме допускает иммунная система и делает это преднамеренно: она формирует "память" о данном антигене, чтобы в следующий раз избавиться от него быстрее и с меньшими потерями.

Таким образом, составив общее представление о системе иммунной защиты, принципах ее организации и реагирования, можно перейти к рассмотрению молекулярных деталей этого механизма. Оказывается, большинство важнейших молекулярных событий, из которых складывается иммунная реакция, происходит на внешней мембране клеток, участвующих в ней.

## Узнавание антигенов лимфоцитами

Для постоянного надзора за антигенным составом клеток и жидких сред организма иммунная система должна уметь различать “чужое” и “свое”. Этой способностью наделены *лимфоидные клетки*. Их поверхность снабжена “датчиками” (*рецепторами*), которые специфически связывают чужие антигены. При этом на каждой клетке представлено много одинаковых рецепторов, ориентированных на узнавание одного-единственного антигена.

*Рецепторы В-лимфоцитов* имеют специфичность к любым чужим антигенам; *рецепторы Т-лимфоцитов* специализируются на узнавании “своих” белков индивидуальности, измененных чужими антигенами. *Белки индивидуальности* — особый тип молекул, представленный на поверхности каждой клетки. Они обладают уникальным для данного индивида “узором” антигенности, неповторимым, так же как отпечатки пальцев. Узнавание измененных “своих” белков индивидуальности позволяет Т-лимфоцитам обнаруживать свои клетки, в которые внедрился вирус, а также в некоторых случаях “свои” клетки, которые приобрели способность к неограниченному росту, т. е. клетки злокачественной опухоли.

### 2.1. Рецепция антигенов В-лимфоцитами

Рецепторными молекулами для антигенов на поверхности В-лимфоцитов служат *иммуноглобулины*. Это белки иммунной системы, которые содержатся в большом количестве в сыворотке крови, вырабатываются клетками лимфоидной ткани и функционируют в организме в качестве антител.

Еще в XIX столетии, когда, по существу, ничего не было известно ни о рецепторах клеточной мембраны, ни о природе антител, П. Эрлих предложил теорию образования антител, согласно которой поверхность антителопродуцирующей клетки снабжена рецепторными антителами. Антиген, связываясь со специфическими ре-

цепторами, вызывает их “слущивание” в окологлеточную среду. Взамен потерянных рецепторов клетка нарабатывает новые, которые опять “слущиваются”.

Современные представления о продукции антител значительно отличаются от теории П. Эрлиха. Но его замечательное предвидение рецепторной функции антител полностью подтвердилось. Действительно, антитела и антигенузнающие рецепторы В-клеток представляют собой одни и те же молекулы — иммуноглобулины (Ig).

### 2.1.1. Структура рецепторных Ig

Строение Ig детально описано в любом современном учебнике иммунологии, поэтому здесь будут отмечены лишь наиболее существенные свойства этих молекул. Каждая молекула рецепторного Ig состоит из двух пар полипептидных цепей: пары длинных (тяжелых) *H-цепей* и пары коротких (легких) *L-цепей* (рис. 11). Протяженность L-цепи составляет около 215 аминокислотных остатков, H-цепи — в среднем от 400 до 600 аминокислотных остатков. L- и H-цепи соединены в общую молекулу ковалентными дисульфидными связями: обычно две H-цепи соединены между собой одной или двумя дисульфидными связями и к каждой H-цепи с помощью одной дисульфидной связи прикреплено по одной L-цепи.

Иммуноглобулины — глобулярные белки, имеющие доменную организацию. Каждая полипептидная цепь, находясь в растворе, обладает характерной пространственной “упаковкой”, в которой более компактные клубки (домены) чередуются с расплетенными участками. H-цепи образуют четыре или пять до-

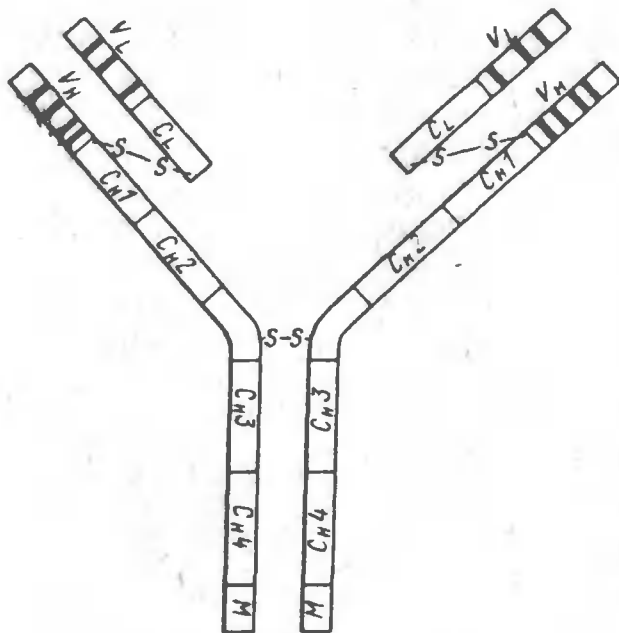


Рис. 11. Структура мембранного иммуноглобулина (антигенузнающий рецептор в мембране В-лимфоцитов):

$C_L$  и  $C_H$  — константные области легкой и тяжелой цепей,  $V_L$  и  $V_H$  — переменные области легкой и тяжелой цепей,  $M$  — фрагмент, погруженный в клеточную мембрану,  $-S-S-$  — дисульфидные связи между полипептидными цепями

менов, L-цепи — два (рис. 12). Структура каждого домена стабилизируется внутренней дисульфидной связью.

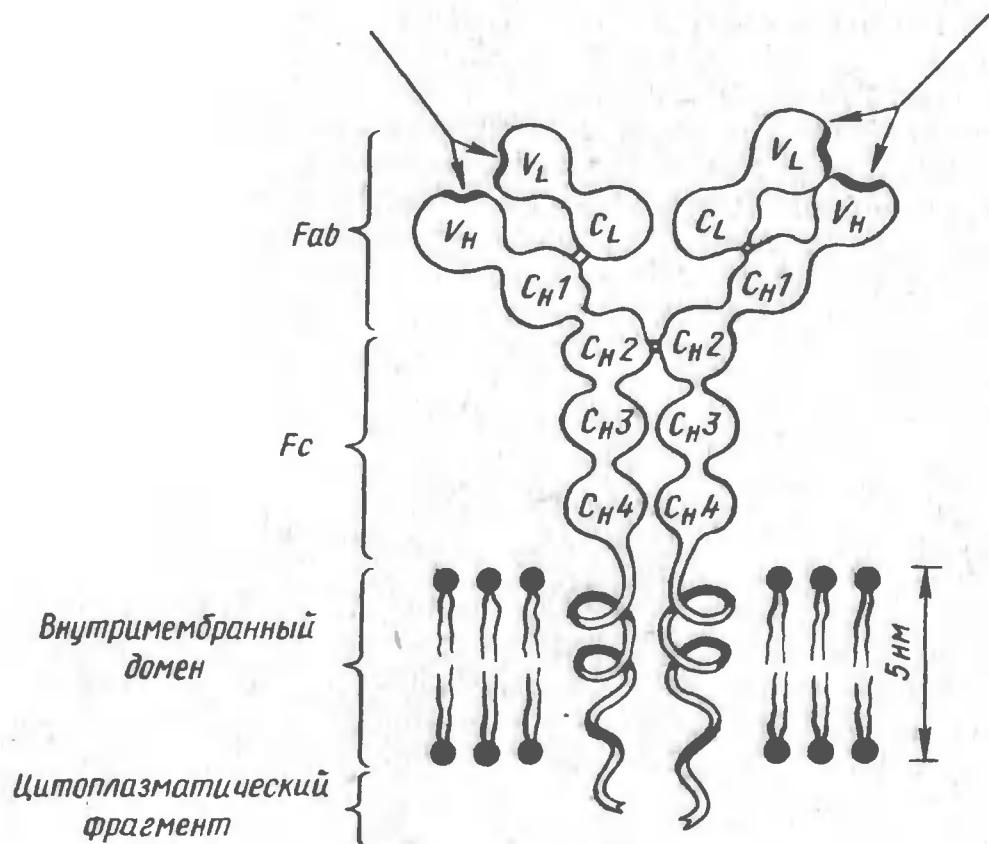


Рис. 12. Домённая организация Ig-рецептора (по Н. Metzger, 1984):

Fab — фрагмент, связывающий антиген, Fc — константный фрагмент, образующий кристаллы; стрелками указаны участки связывания антигена; остальные обозначения, как на рис. 11

### 2.1.2. Антигенузнающий центр молекулы Ig

Антигенузнающий центр молекулы Ig представлен небольшой полостью, образованной между L- и H-цепями (рис. 13). Полость “выстлана” несколькими аминокислотными остатками L-цепи и несколькими аминокислотными остатками H-цепи. Следовательно, каждая молекула Ig имеет две такие полости, т. е. два антигенсвязывающих участка.

Молекулы антител (рецепторов), специфичные к разным антигенам, обладают сходной общей структурой, но различаются строением антигенузнающей полости. Такое свойство антител обеспечено достаточным постоянством последовательности аминокислот в H- и L-цепях разных антител. Лишь небольшие фрагменты этой цепи подвержены сильным вариациям.

В основном изменчивость затрагивает N-концевые домены обеих цепей. Эти домены названы *вариабельными* (V-домены). В противоположность им остальные домены цепей именуются *константными* (C-домены). В участке H-цепи, образующей V-домен, на-

ходится четыре небольших гипервариабельных сегмента. В V-доме-не L-цепи — три гипервариабельных сегмента. Эти очень изменчи-вые сегменты участвуют в образовании антигенсвязывающего цен-тра. Примечательно, что все прочие сегменты V-домена (около 85% аминокислотных остатков V-домена) практически не подвер-жены вариациям. Они обеспечивают единообразное пространствен-ное расположение гипервариабельных сегментов в антигенузнаю-щем центре молекулы. Так, при общем подобии структуры V-до-менов создается уникальное разнообразие форм их внутренней по-лости (рис. 13).

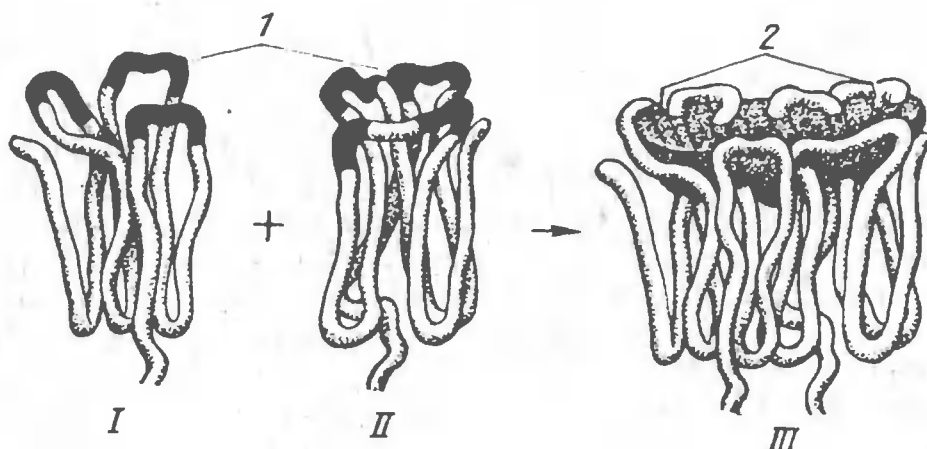


Рис. 13. Образование антигенсвязывающей полости при ассоциации  $V_H$ - и  $V_L$ -доме-нов иммуноглобулина:

*I* — V-домён легкой цепи, *II* — V-домён тяжелой цепи, *III* — V-домён Fab-фрагмента иммуноглобули-на; 1 — гипервариабельные участки, 2 — антигенсвязывающий участок (полость)

Многообразие антигенсвязывающих специфичностей в популя-ции Ig одного индивидуума достигает  $10^6$ , что обеспечивается со-ответствующим разнообразием последовательностей аминокислот в гипервариабельных сегментах H- и L-цепей, а также их комбина-торикой.

Если N-концевые домены Ig-рецептора ответственны за связы-вание с антигеном, то C-концевые сегменты обеспечивают связь молекулы с мембраной В-лимфоцитов. Около 40 остатков гидро-фобных аминокислот на C-конце тяжелых цепей пронизывают ли-пидный бислой, прочно удерживая Ig в клеточной мембране. При этом молекулы рецепторных Ig ориентированы во внеклеточную среду (см. рис. 12).

На поверхности одной В-клетки определено около  $10^5$  молекул Ig, идентичных по антигенной специфичности. Они равномерно распределены по клеточной поверхности, могут перемещаться в

плоскости бислоя, не меняя при этом своей пространственной ориентации относительно липидного бислоя мембраны.

Во всей популяции лимфоцитов существует около 1 млн. клонов В-клеток. Каждый клон специфичен к одному конкретному антигену. Обладая одной антигенной специфичностью, рецепторы одиночной В-клетки часто бывают представлены двумя разными изотипами (подробнее о различиях между изотипами см. гл. 4). Зрелые В-клетки до активации антигеном имеют рецепторы IgM- и IgD-изотипов. После активации, теряя IgD, клетка приобретает IgG-рецепторы и становится (IgM + IgG). Значительная часть активированных В-клеток теряет IgM и сохраняет только IgG-рецепторы.

### 2.1.3. Структура антигенных детерминант

Размеры полости, предназначенной в молекуле Ig для взаимодействия с антигеном, определяют размеры узнаваемого участка на чужеродном материале. Эти участки называются *антигенными детерминантами*. Как и узнающая полость Ig, они имеют размер в среднем около  $3,0 \times 1,5 \times 0,7$  нм (рис. 14).

Небольшие молекулы антигенов — *гаптены* (например, динитрофенильная группа, фосфорилхоллин) взаимодействуют в полости активного центра Ig лишь с ее участком размером около  $1,1 \times 0,9 \times 0,6$  нм, т. е. занимают примерно  $\frac{1}{3}$  полости. Более крупные гаптены (например, п-оксилированная форма витамина K<sub>1</sub>), входя в полость, могут занимать ее почти полностью. И все же прочность связывания большинства гаптенных с антителами относительно невелика, константа ассоциации ( $K$ ) составляет в среднем от  $10^4$  до  $10^5$  л/моль.

Взаимодействуя с молекулой антигена, являющейся биополимером, антитело связывается лишь с ее фрагментом, антигенной детерминантой. На молекуле полисахаридного антигена детерминанта, которую узнает рецептор В-клетки, соответствует 5—6 остаткам моносахаридов. Сходным образом на молекуле глобулярных белков-антигенов В-клетки узнают детерминанты размером в несколь-

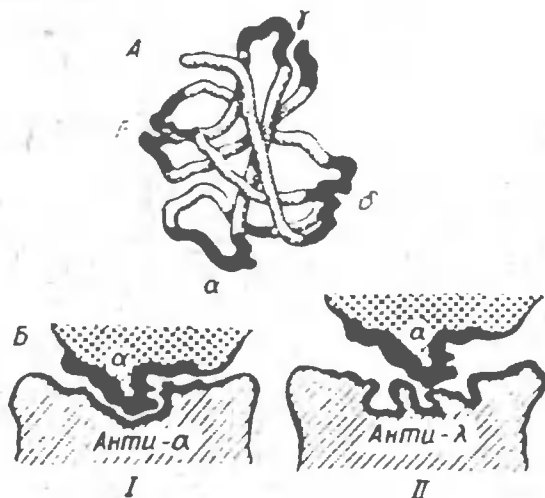


Рис. 14. Схематическое представление строения антигенных детерминант (α, β, γ, δ) условной белковой молекулы (А) и взаимодействие антигенной детерминанты с различными антителами (Б):

I — высокоаффинное, II — низкоаффинное

ко (обычно 4—6) аминокислотных остатков. Причем в подавляющем большинстве случаев детерминанты являются *конформационными* (топографическими), а не линейными. Если активный центр антитела связывает четыре аминокислотных остатка, то чаще всего они являются разрозненными, а не последовательными звеньями полипептидной цепи. Сочетанное узнавание антителом этих аминокислотных остатков определяется их пространственной близостью на поверхности белковой молекулы.

Таким образом, полость антитела взаимодействует с выпуклостью молекулы антигена, как слепок и матрица, как замок и ключ. Чем больше пространственное соответствие (*комплементарность*) активного центра Ig и антигенной детерминанты, тем прочнее связывание антитела с антигеном.

Популяция Ig-рецепторов состоит из миллионов вариантов специфичностей, поэтому для каждого конкретного антигена всегда существует не единственный клон В-лимфоцитов, способный связать его. Обычно число таких клонов, связывающих антиген, насчитывает около 100, их рецепторы в широких пределах различаются по степени сродства к данному антигену (рис. 14). Число клонов, связывающих малые гаптены (например, ДНФ), может быть значительно больше 100. Напротив, вариантов Ig-рецепторов и антител, реагирующих с полисахаридом декстраном, по-видимому, не более 10.

## 2.2. Рецепция антигенов Т-лимфоцитами

Т-лимфоциты не могут узнавать в чистом виде подавляющее большинство чужеродных молекул. По меньшей мере это утверждение справедливо для Т-киллеров и Т-хелперов. Антигенузнающий рецептор этих клеток ориентирован на узнавание уникального сочетания *комплекса данного антигена с молекулами на поверхности "своих" клеток.*

### 2.2.1. Структура антигенузнающего рецептора Т-клеток (ТР)

Исследование структуры ТР оказалось одной из самых трудных задач в иммунологии за последние 20 лет. Затруднения были предопределены главным образом отсутствием прямого связывания антигена с ТР. Это обстоятельство сделало неприемлемым традиционный путь выделения рецептора по его сродству к лиганду.

Результативными оказались два других подхода: сравнение библиотеки генов зрелых Т- и В-клеток и получение моноклональных антител, селективно препятствующих антигензависимой функции Т-клеток. В конечном счете сочетание обоих подходов дало основа-

ние утверждать, что антигенузнающими рецепторами Т-клеток являются *белковые молекулы, отличающиеся от Ig*. Структура этих молекул уже в значительной мере расшифрована.

Рецептор Т-клеток состоит из двух полипептидных цепей —  $\alpha$  и  $\beta$ . С ними нековалентно связаны еще три полипептида —  $T3_\gamma$ ,  $T3_\delta$ ,  $T3_\epsilon$  (рис. 15).

Полипептидные  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи ТР близки между собой по размеру, имеют протяженность около 300 аминокислотных остатков. Обе цепи гликозилированы. Структура  $\beta$ -цепей существенно различается у разных клонов Т-клеток одного и того же индивида. Напротив,  $\alpha$ -цепь зна-

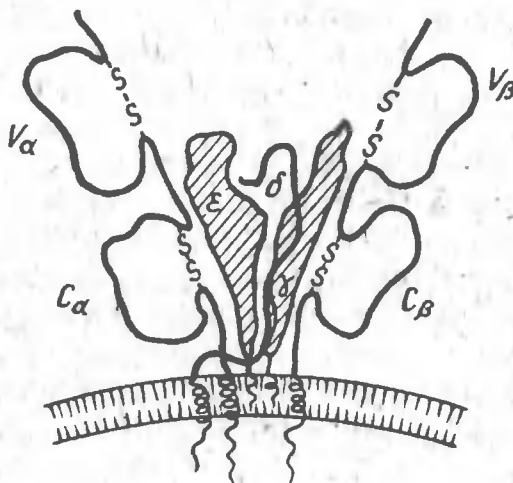


Рис. 15. Антигенузнающий рецептор Т-лимфоцита в клеточной мембране:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  — полипептидные цепи,  $C_\alpha$  и  $C_\beta$  — константные домены,  $V_\alpha$  и  $V_\beta$  — вариабельные домены

чительно более консервативна. Как и полипептидные цепи Ig,  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи ТР имеют константные и вариабельные домены ( $V_\alpha$ ,  $C_\alpha$ ,  $V_\beta$ ,  $C_\beta$ ). Вариабельности подвержены N-концевые домены. Обе цепи пронизывают клеточную мембрану. В непосредственной близости от мембраны  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи соединены дисульфидной связью.

Каждый из трех полипептидов Т3 имеет молекулярную массу около 20 кДа. Одна из трех цепей,  $T3_\delta$ , пронизывает клеточную мембрану, оставляя с внешней стороны клетки фрагмент протяженностью около 80 аминокислотных остатков, а внутри — около 40 аминокислотных остатков.

Очевидно, что  $\alpha/\beta$  — гетеродимер ТР и все три цепи Т3 ассоциированы структурно и функционально. Однако детали их взаимодействия, а также функция каждой цепи до конца не выяснены.

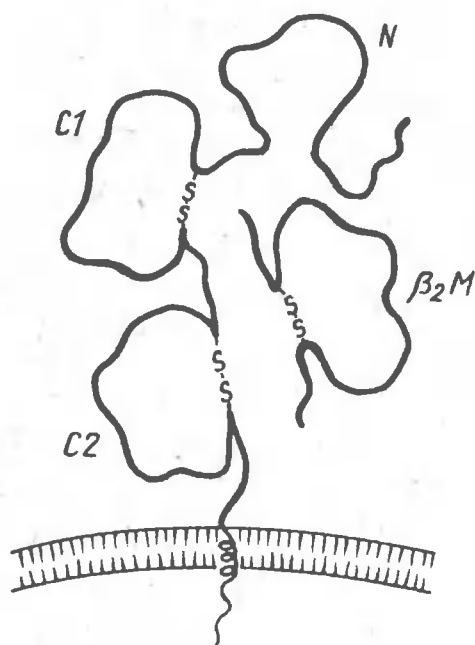
Выше уже отмечалось, что ТР не связывает антиген, а ориентирован на узнавание комплекса антигена с молекулами индивидуальности. Поэтому для детализации представлений о Т-клеточном распознавании необходимо ознакомиться с этими молекулами.

### 2.2.2. Молекулы главного комплекса гистосовместимости

Еще в конце 50-х годов был обнаружен комплекс генов, с которыми оказалась связанной реакция отторжения пересаженной ткани. Этот комплекс был назван *главным комплексом гистосов-*

*местимости* — МНС (от англ. major histocompatibility complex). Впоследствии были установлены продукты этих генов, белки МНС. Эти молекулы экспрессируются на клеточных мембранах. Узнав “чужие” МНС на клеточной поверхности генетически неидентичных клеток, лимфоциты пролиферируют и выделяют факторы роста и дифференцировки (Т—В-хелперы, Т—Т-хелперы) или превращаются в убийц (Т-киллеры). Оказалось, что Т-киллеры и Т-хелперы ориентированы на узнавание двух разных типов молекул: МНС-белков I и II классов соответственно. Эти белки кодируются различными генами МНС, отличаются как структурой, так и экспрессией на клеточных популяциях.

**Белки МНС-I класса.** Это несколько видов мембранных молекул, имеющих подобную структуру и функцию. Каждая из них построена из двух полипептидных цепей — тяжелой (H) и легкой (L). H-цепь (около 350 аминокислотных остатков) погружена С-концом в клеточную мембрану, имеет три внеклеточных домена, ориентированных в околоклеточное пространство. Начиная от N-конца цепи они именуются как N-, C1- и C2-домены (рис. 16).



L-цепь представлена  $\beta_2$ -микроглобулином (около 100 аминокислотных остатков), свернутым в самостоятельный домен; H- и L-цепи ассоциированы за счет нековалентных связей. Белки МНС-I имеются на мембране практически всех типов клеток.

На каждой клетке представлено сразу два или три варианта белков, кодируемых самостоятельными генами МНС-I класса. Эти белки похожи, но

Рис. 16. Структура белка МНС-I: N, C1, C2 — домены тяжелой цепи;  $\beta_2M$  —  $\beta_2$ -микроглобулин (легкая цепь)

не идентичны. Они различаются между собой 10—20% аминокислотных остатков. Сочетание белков МНС-I уникально для данного индивида. Аллельное разнообразие мозаики МНС-I (с учетом комбинаторики двух или трех белков) приближается к  $10^4$ . За счет нередких спонтанных мутаций в генах МНС-I оно может быть значительно выше. С полным основанием белки МНС-I называют *белками индивидуальности*.

Аллогенные белки МНС-I, представленные на “чужих” клетках, индуцируют образование Т-киллеров, специфически убивающих именно эти аллогенные клетки. Похожая реакция Т-киллеров развивается против “своих” клеток, у которых белки МНС-I изменены химически (например, ковалентно присоединены гаптенные группы) или ассоциированы с чужой детерминантой (например, вирусный антиген или опухолевый антиген).

**Белки МНС-II класса.** Два варианта (А и Е) белковых молекул МНС-II класса кодируются самостоятельными генами, но имеют подобную структуру и свойства. Каждая молекула состоит из двух цепей —  $\alpha$  и  $\beta$  — и представлена гетеродимером ( $\alpha + \beta$ ). Несмотря на идентичность принятых обозначений цепей МНС-I, МНС-II и ТР, важно помнить, что это — различные молекулы.

$\alpha$ -Цепь МНС-II (около 230 аминокислотных остатков) имеет два внеклеточных домена. Причем структура N-концевого домена ( $V$ ) не стабилизирована внутренней дисульфидной связью.  $\beta$ -Цепь (220 аминокислотных остатков) тоже имеет два внеклеточных домена (оба стабилизированы дисульфидными связями). Каждая из двух цепей белка МНС-II пронизывает клеточную мембрану С-концевой частью полипептидной цепи (рис. 17). Аллельное разнообразие МНС-II достигает нескольких сотен в пределах биологического вида. Белки МНС-II могут появляться в мембране клеток, причастных к иммунитету: макрофагов, дендритных ретикулярных клеток, эпителиальных клеток тимуса и кожи, а также на Т- и В-лимфоцитах. Экспрессия этих белков на клеточной поверхности очень лабильна. Она связана с изменением функциональной активности клетки.

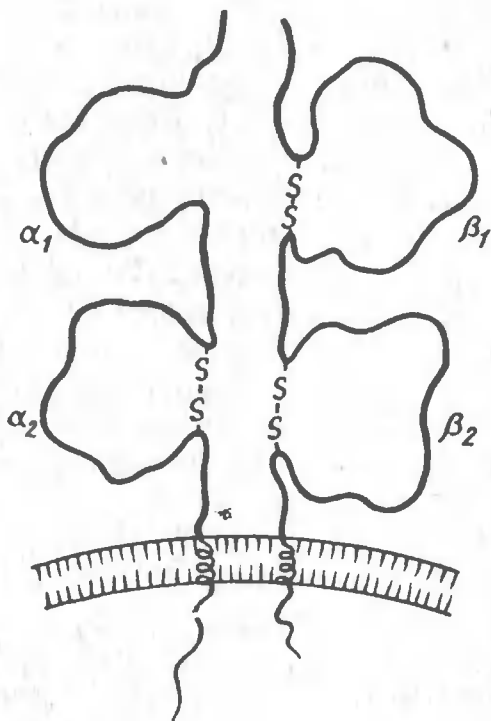


Рис. 17. Структура белка МНС-II: домены  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей имеют порядковую нумерацию, начиная от N-конца

### 2.2.3. Что узнает Т-клетка с помощью ТР

Выше было показано, что В-клетка с помощью рецепторных антител чаще всего узнает топографические детерминанты на поверх-

ности чужеродного биополимера, например антигена белковой природы. Что же узнает Т-клеточный рецептор?

Т-Клеточный рецептор ориентирован на узнавание измененных "своих" белков МНС. Причем рецептор Т-киллеров специализирован для узнавания белков МНС-I, а рецептор Т-хелперов — для узнавания белков МНС-II. В обоих случаях в качестве измененного "своего" узнается комплекс МНС-белка с антигеном. Как и в случае В-клеток, ТР взаимодействует лишь с небольшой частью молекулы белкового антигена. Однако детерминанты, узнаваемые ТР (так называемые Т-детерминанты), принципиально отличаются от В-детерминант, даже если Т- и В-клетки реагируют на один и тот же белковый антиген.

Т-Хелперы узнают линейную последовательность из семи-восьми аминокислот, находящихся внутри белковой глобулы. Как правило, этот участок молекулы антигена состоит в основном из гидрофобных аминокислот, упакованных в ф-спираль.

Здесь уместно отметить, что частичный протеолиз антигена или его денатурация в мягких условиях практически полностью разрушают детерминанты, узнаваемые В-клетками на неповрежденных молекулах. В этих же условиях детерминанты для Т-клеток-хелперов сохраняются.

Для Т-клеточного узнавания важна последовательность аминокислотных остатков, образующих Т-детерминанту. Особенно критичны один-два аминокислотных остатка, замена которых полностью нарушает узнавание. При этом некоторые другие остатки могут варьировать, существенно не влияя на взаимодействие ТР и антигена (в комплексе с МНС-белком).

Т-Хелперы данного организма реагируют лишь на одну или малое число внутренних (не представленных на поверхности молекулы) детерминант данного конкретного белка-антигена. В этом отношении Т-клеточное узнавание принципиально отличается от В-клеточного. С поверхностью данного конкретного белка-антигена в данном организме связываются сотни разных антител, которые узнают соседние или перекрывающиеся участки молекулярной поверхности антигена.

Т-Клетки-хелперы у разных индивидов реагируют на различные Т-детерминанты одного и того же белка-антигена. В пределах вида всегда встречается некоторое количество особей, Т-клетки которых не реагируют (или слабо реагируют) на данный конкретный белковый антиген. Эта особенность не является следствием какого-либо дефекта или болезни, поскольку те же особи могут реагировать на множество других белковых антигенов. Отсутствие реакции Т-клеток-хелперов на данный антиген детерминируется аллелем гена МНС-II. Именно поэтому гены МНС-II называют *генами иммунной реактивности*, *Ir-генами* (от англ. immune response).

По-видимому, рецептор Т-хелпера не способен к прямому взаимодействию с антигенной детерминантой. Необходимо взаимодействие ТР с комплексом Т-детерминанты и белка МНС-II. При этом ТР находится в мембране Т-клетки, а комплекс Т-детерминанты и МНС-белка—в мембране антигенпрезентирующей клетки (АПК). В роли АПК могут выступать блуждающие и оседлые макрофаги, ретикулярные дендритные клетки лимфоидных органов, клетки Лангерганса, а также В-лимфоциты. Все перечисленные типы клеток способны экспрессировать на своей поверхности белки МНС-II и, следовательно, представлять антиген для Т-хелперов (рис. 18).

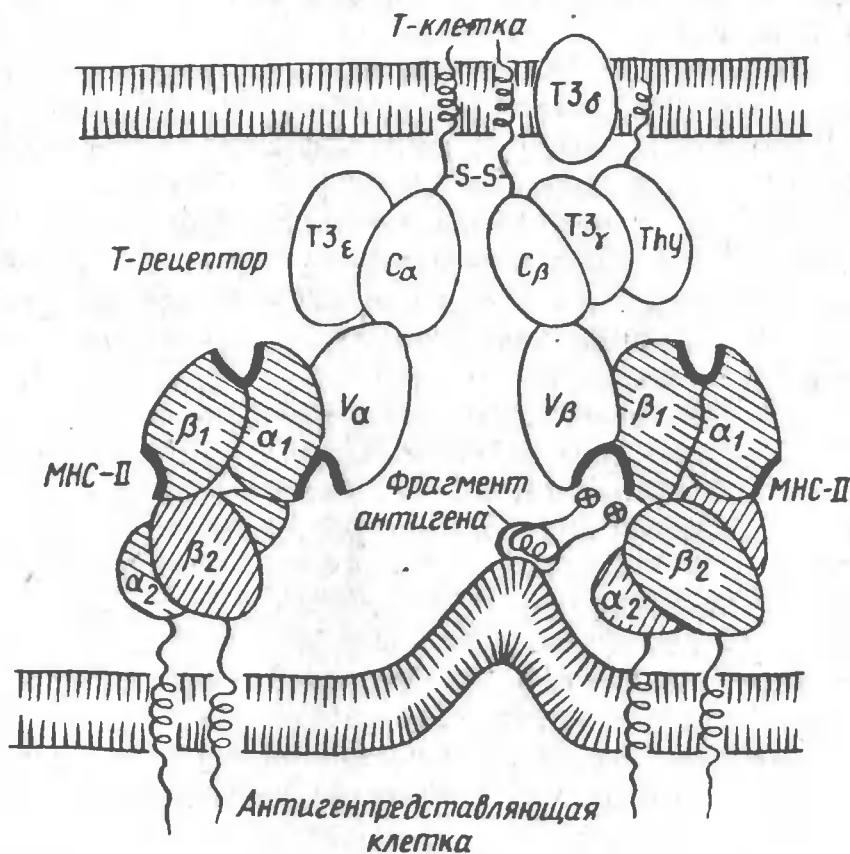


Рис. 18. Взаимодействие антигенузнающего рецептора Т-лимфоцита с комплексом МНС-II + антиген на поверхности антигенпредставляющей клетки (по М. Norcross, 1984):

$C_\alpha$  и  $C_\beta$  — константные домены Т-рецептора,  $V_\alpha$  и  $V_\beta$  — переменные домены Т-рецептора,  $T3_\epsilon$  и  $T3_\gamma$  — внеклеточные домены Т3-цепи,  $T3_\delta$  — мембранный домен Т3, Thy — белок в мембране Т-клетки, функционально ассоциированный с Т-рецептором; остальные обозначения те же, что на рис. 17

У данного индивида Т—В- и Т—Т-хелперы узнают неодинаковые детерминанты в молекуле одного и того же белкового антигена. Более того, эти неперекрещивающиеся пептидные детерминанты узнаются Т—В- и Т—Т-клетками в сочетании с двумя различными белками МНС-II.

Рецептор Т-киллеров ориентирован на узнавание тонких конформационных особенностей "своей" молекулы МНС-I. Он регистрирует мельчайшие изменения этой молекулы, происходящие при ее модификации гаптенами, белками вируса или мембранными антигенами опухоли.

Любые типы клеток организма могут играть роль АПК для предшественников Т-киллеров, так как в мембране каждой клетки экспрессированы белки МНС-I. Тем не менее в специальной иммунологической литературе термином АПК называют лишь клетки (макрофаги и их аналоги), представляющие антиген совместно с белками МНС-II. В этом есть резон, ибо без участия Т-хелперов не бывает и продукции Т-киллеров.

Узнавание характерных черт белка МНС-I с помощью рецептора Т-киллеров отличается от узнавания того же белка антителами. Специально полученные моноклональные антитела к разным доменам белка МНС-I взаимодействуют не с теми участками, которые узнают Т-киллеры, специфичные к тому же МНС-I. Одни мутантные варианты МНС-I теряют места связывания антител, но узнаются Т-киллерами. Другие мутантные варианты белка МНС-I, теряя способность взаимодействовать со специфичным Т-киллером, сохраняют детерминанты для антител.

Рецептор Т-киллерных клеток и их предшественников не взаимодействует с молекулами антигена, будь то гаптен, вирусный белок или опухолевый антиген; ТР физически ассоциируется с комплексом (МНС-I + антиген) и специфичен именно к этому комплексу.

Рецепторы Т-супрессоров и Т-индукторов существенно отличаются от ТР киллеров и хелперов. Рецептор Т-супрессоров и Т-индукторов узнает и связывается с поверхностными детерминантами белковых антигенов, с гаптенами и антигенными детерминантами полисахаридов. Для этого не требуется ассоциации антигенов с белками МНС. По своей специфичности активные центры ТР супрессоров и индукторов подобны антителам.

Иллюстрацией этим сведениям может служить узнавание N-концевых детерминант белка лизоцима антителами, Т-хелперами и Т-супрессорами. Специфические Т-супрессоры и антитела связывали с N-концевым трипептидом *Lys—Val—Phe* молекулы лизоцима курицы. Напротив, они не взаимодействовали с N-концевым фрагментом лизоцима фазана, в котором заменен лишь один аминокислотный остаток в третьем положении. Т-хелперы, специфичные к лизоциму курицы, распознавали последовательность аминокислот между 10-м и 18-м N-концевыми остатками. Причем рецептор Т-хелперов узнавал одинаково хорошо лизоцим курицы и фазана, но только в сочетании со "своими" молекулами МНС-II.

Что же известно о формировании комплекса антигена с МНС-

белками I и II классов? Очень немногое. Не существует даже полной уверенности, что такой комплекс во всех случаях образуется. И все же большинство накопленных данных свидетельствует о необходимости прямого взаимодействия антигена или его фрагмента с белком МНС. С некоторыми пептидными антигенами проведены прямые измерения прочности связывания антигена с молекулой МНС-II. Эта прочность достаточно велика (константы ассоциации порядка  $10^7$ — $10^8$  л/моль, что характерно для высокоспецифического взаимодействия).

Важно отметить, что в комплексе с МНС-II пептидный антиген не обнаруживается специфическими антителами. В то же время известно, что одни остатки аминокислот в Т-детерминанте ответственны за ее связывание с молекулой МНС-II, а другие — критичны для взаимодействия комплекса этой детерминанты и молекулы МНС-II с соответствующим Т-рецептором. Несмотря на это, строгого доказательства физического контакта аминокислотных остатков антигенной детерминанты с Т-рецептором пока нет.

Рецепторы Т-киллеров узнают молекулы МНС-I в сочетании с каким-либо антигеном. Это могут быть гаптены, присоединенные к молекулам МНС-I химическим путем, белки вируса, реплицирующегося в данной клетке, или мембранные опухолевые антигены. Последние два варианта естественны и требуют определенного механизма ассоциации МНС-I и антигена.

Ассоциация мембранного белка МНС-I происходит только с антигеном, погруженным в ту же самую мембрану. При этом с успехом удастся создать комплекс (МНС-I + антиген), внедрив оба типа молекул в искусственную модель клеточной мембраны — липосому. Такой комплекс в липосоме узнается рецептором специфического Т-киллера. В отдельности не узнается ни одна из двух компонент комплекса. В отличие от комплекса пептидной детерминанты с МНС-II в комплексе с МНС-I вирусный антиген можно легко обнаружить соответствующим антителом.

#### 2.2.4. Взаимодействие ТР с комплексом (антиген + МНС)

Процесс узнавания Т-клеткой антигена, ассоциированного с МНС-белком, расшифрован не полностью. Многие важнейшие детали находятся в стадии изучения. И все же по некоторым фактическим данным можно составить модельное представление об этом ключевом моменте в иммунной реакции.

Белковые антигены, подвергнутые частичному гидролизу (например, в макрофагах), в виде пептидных детерминант ассоциируются с белками МНС-II на поверхности АПК. Этот комплекс узнается рецепторами Т-клеток-хелперов. Узнавание происходит при контакте Т-клетки с АПК. Время, в течение которого продолжается контакт, составляет около 1 ч или более (эти данные получены

*in vitro*). Взаимодействие ТР с комплексом (антиген + МНС-II) можно блокировать антителами к МНС-II, антителами к ТР, но не антителами к антигену. Важно отметить, что данный ТР не узнает комплекс "чужого" МНС-II с тем же антигеном. Это явление называют *рестрикцией по МНС-II*.

Вирусные белки, синтезируясь на рибосомах зараженной клетки, в составе транспортных везикул достигают внешней клеточной мембраны. Здесь они "дожидаются" момента сборки вириона, когда все белковые компоненты вируса вместе с фрагментом клеточной мембраны объединятся вокруг вирусной нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК) и отпочкуются от клетки. Часть вирусных белков, не включившись в состав вирионов, ассоциируется с белками МНС-I, "плавающими" тут же в липидном бислое клеточной мембраны. Образовавшийся комплекс (вирусный антиген + МНС-I) узнается рецепторами предшественников Т-киллеров и зрелыми Т-киллерами. Это требует прямого контакта Т-лимфоцита с клеткой, зараженной вирусом. Рецептор Т-клетки узнает два домена молекулы МНС-I (N и C1, т. е. наиболее удаленные домены от места прикрепления молекулы МНС-I к мембране; см. рис. 16).

Нарушить это узнавание можно, блокируя с помощью моноклональных антител не только эти домены, но и домен C2. В отличие от взаимодействия ТР с комплексом (антиген + МНС-II) в случае взаимодействия ТР с комплексом (антиген + МНС-I) антитела к антигену нарушают процесс узнавания. Наконец, антитела к самому ТР тоже блокируют взаимодействие Т-киллера с клеткой-мишенью.

Примечательно еще одно различие — ТР киллерных клеток может взаимодействовать с генетически отличным белком МНС-I. Если получены Т-киллеры, специфичные к комплексу "своего" МНС-I и какого-нибудь антигена (гаптен, вирусный протеин, онкобелок), то среди множества "чужих" клеток-мишеней от аллогенных (по МНС-I) животных всегда можно найти такие, которые будут убиты данными киллерами. Следовательно, ТР, специфичный к комплексу (антиген + "свой" МНС-I), является рецептором против "чужого" МНС-I.

# Активация делений и дифференцировки лимфоцитов

3

Связывание антигенов с узнающими рецепторами не всегда приводит к активации лимфоцитов, их пролиферации и созреванию в эффекторные варианты клеток (АСК, киллер и др.). Чем определяется “включение” ответа лимфоидных клеток, точно не установлено. Достоверно не определены и все звенья механизма активации. Сегодня мы лишь располагаем обширным набором самых разных фактов, по-видимому, имеющих отношение к активации. Их значение как элементов естественного механизма активации не выяснено. Многие из этих факторов могут оказаться искусственными, имеющими место лишь *in vitro*, но не *in vivo*. Другие — могут не иметь прямого отношения к механизму активации, а являются ее следствием.

## 3.1. Сигнал активации формируется в плазматической мембране

В том случае, когда антиген оказался способным активизировать соответствующую лимфоидную клетку, она переходит из состояния покоя в начальную фазу (G1) цикла митотического деления. В этой фазе происходит изменение спектра активных генов. Начинают функционировать гены, ранее “молчавшие”. В первые десятки минут синтезируются новые матричные РНК, в первые часы вырабатываются новые белки. Клетка готовится к удвоению генетического материала ДНК. В конечном счете ей необходимо удвоить все цитоплазматические органеллы, чтобы поделиться на две дочерние клетки.

Для выполнения деления лимфоидная клетка нуждается в *трех последовательных сигналах*. Первый сигнал необходим для вывода клетки из состояния покоя (переход G0→G1a); второй сигнал — для успешного завершения G1-фазы (переход G1a→G1b); третий сигнал выполняет функцию включения репликации ДНК

(переход  $G1b \rightarrow S$ ). Создав копии ДНК, клетка (без каких-либо дополнительных сигналов) быстро распределяет их между двумя вновь образованными ядрами (*кариокинез*) и разделяется на две дочерние клетки (*цитокинез*).

Антиген выполняет роль первого сигнала при активации делений лимфоцитов. Это действие антигена удастся имитировать с помощью антител к Ig-рецепторам на В-клетке и к ТР на Т-клетке. Для активации лимфоцита нет необходимости в проникновении лиганда (антигена или антитела, специфичного к рецептору) или комплекса лиганд — рецептор внутрь клетки, активация осуществляется на внешней клеточной мембране. Ее с успехом можно вызвать с помощью лигандов, ковалентно присоединенных к твердой фазе. Примером могут служить конъюгаты антигенов или антител с шариками сефарозы, сефадекса или волокнами целлюлозы.

Следовательно, антигенузнающие рецепторы лимфоцита должны быть не только селективными ловушками антигена. Им необходимо выполнять и функцию датчиков, способных передавать информационный сигнал внутрь клетки. Точных сведений о том, каким образом рецепторы антигена выполняют функцию датчиков, пока нет. Несмотря на это, ясно, что первый сигнал образуется в самой мембране. Известно, что в мембране происходит множество перестроек, приводящих к образованию сигнальных веществ-посредников. Какие из этих перестроек и каким образом связаны с рецепторами, не понятно.

## 3.2. Сигнальные устройства в мембране лимфоцита

По оснащенности системами, передающими сигналы с внешней мембраны в цитоплазму, лимфоцит мало чем отличается от большинства других клеток организма. Рассмотрим, каковы наиболее вероятные претенденты на роль передатчика сигнала с антигенного рецептора.

### 3.2.1. Система циклаз

В мембране многих клеток функционирует специальный аппарат, который генерирует медиаторные молекулы, срабатывающие внутри клетки. Аппарат представлен несколькими белками, функционально объединенными в общую систему. Сюда входят три фермента: *аденилатциклаза*, *гуанилатциклаза* и *фосфодиэстераза*, ассоциированные с внутренней (цитоплазматической) стороной мембран. Кроме того, в систему вовлечены внутримембранные G-белки. Аденилатциклаза преобразует АТФ в циклический 3',5'-аденозинмонофосфат (цАМФ). Гуанилатциклаза преобразует ГТФ в циклический 3',5'-гуанозинмонофосфат (цГМФ). Фосфодиэстераза

расщепляет циклические нуклеотиды до 5'-АМФ и 5'-ГМФ. Все вместе эти ферменты управляют концентрацией цАМФ и цГМФ в цитозоле. G-Белки участвуют в передаче сигнала от рецептора к циклазному ферменту, т. е. с внешней поверхности мембраны на цитоплазматическую.

Циклические нуклеотиды, в свою очередь, регулируют активность специализированных белков — протеинкиназ в цитозоле. Протеинкиназы фосфорилируют целый спектр белков клетки, модифицируя их функцию. На каждой ступени биохимического каскада происходит усиление сигнала. В результате даже небольшое число молекул лиганда может существенно изменить метаболизм клетки.

С активацией циклаз могут быть связаны активация энергетического метаболизма, синтеза и секреции белков, а также другие эффекты. В связи с активацией лимфоцита наиболее интересным результатом следует признать активацию гуанилатциклазы. Описано две группы фактов. Во-первых, при активации делений лимфоцитов митогенными лектинами уже в первую минуту в цитозоле значительно нарастает концентрация цГМФ. Во-вторых, искусственное повышение внутриклеточного содержания этого вещества приводит к инициации делений лимфоцитов *in vitro*.

К сожалению, реакция циклазного аппарата при активации лимфоцитов антигеном остается неизученной, хотя работы в этом плане публикуются уже более 10 лет. Основным недостатком имеющихся работ является очень малое содержание (около  $10^{-4}$ — $10^{-6}$ ) клеток, специфичных к данному антигену, в общей массе исследованных лимфоцитов. В последние годы стали широко применять методы выращивания антигенспецифических клонов нормальных лимфоцитов. В связи с этим уже в ближайшее время следует ожидать существенного прогресса знаний о состоянии циклазной системы и других биохимических перестроек лимфоидной клетки при ее активации антигеном.

### 3.2.2. Система ионного транспорта

Содержание ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  (и некоторых других) внутри клетки сильно отличается от их уровня во внеклеточной среде. В частности,  $K^+$  в клетке в 30 раз больше, чем в среде, а  $Ca^{2+}$  — в 100—1000 раз меньше. Отличие ионного состава клетки от среды имеет важнейшее значение для жизнеобеспечения клетки. Эта ионная гетерогенность создается и удерживается специальным аппаратом, работа которого требует от клетки значительных энергетических затрат. Мембранные системы ионного транспорта представлены сложно организованными белками. Они пронизывают липидный бислой и обеспечивают как пассивный транспорт, т. е.

перенос ионов в направлении их диффузионного потока, так и *активный транспорт* против диффузионного потока.

Белковые структуры, через которые осуществляется селективный пассивный перенос иона, называют *ионными каналами*. В частности, в мембране лимфоцитов обнаружены каналы для  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ .

Системы белков, которые осуществляют активный транспорт ионов, расходуя энергию АТФ, называют *ионтранспортирующими АТФазами*. В лимфоцитах описаны  $Na^+$ -,  $K^+$ -транспортирующая АТФаза и  $Ca^{2+}$ -транспортирующая АТФаза.

Многие исследователи зарегистрировали быструю активацию тех или иных ионтранспортных процессов в мембране лимфоидных клеток уже в первые минуты после воздействия митогенного лектина, антител к ТР или к Ig-рецепторам. Особенное внимание в последние годы привлекают данные о быстром увеличении потоков  $Ca^{2+}$  в клетку и нарастании концентрации этого иона в цитозоле. Одной из причин особого отношения к транспорту  $Ca^{2+}$  являются данные об активации *in vitro* первого шага ( $G_0 \rightarrow G_1$ ) делений лимфоцитов с помощью ионофора, переносящего  $Ca^{2+}$  через клеточную мембрану и увеличивающего внутриклеточное содержание  $Ca^{2+}$ .

### 3.2.3. Система регуляции липидной матрицы мембраны

С клеточной мембраной ассоциирован целый набор ферментов, которые осуществляют химические превращения липидов, ее составляющих. Среди этих ферментов следует отметить различные *фосфолипазы*. С их активностью связано образование вторичных сигнальных молекул, появление которых в цитозоле может преобразовывать метаболическую активность клетки.

При активации лимфоцитов митогенным лектином или антителом к антигенузнающему рецептору уже в первую минуту происходит значительная *модификация метаболизма фосфолипидов*. Достаточно упомянуть лишь три группы фактов по этому поводу.

1. Быстрая и значительная активация метилирования производных фосфатидилэтаноламина с их превращением в фосфатидилхоллин. Реакцию осуществляет фермент *метилтрансфераза*. Следствием такого превращения фосфолипидов, как считают, может быть появление в бислой ионпроводящих структур, т. е. повышение проницаемости мембраны для ионов.

2. Самый важный эффект связан с *активацией фосфолипазы*. Она "разрезает" молекулу инозитолфосфатида на две части: инозиттрифосфат и диацилглицерин. Оба вещества могут служить посредниками сигнала между мембраной и цитозолем. Диацилглицерин активирует одну из важнейших для клетки протеинкиназ (С-киназу), что, по-видимому, необходимо для деления клетки. Ино-

зиттрифосфат индуцирует выброс  $\text{Ca}^{2+}$  из внутриклеточных депо (митохондрий, ретикулума), т.е. выступает в роли *индуктора кальцевого сигнала*.

3. С активностью фосфолипазы  $\text{A}_2$  связано отщепление от фосфолипидов ненасыщенных жирных кислот, и в частности *арахидоновой кислоты*. При этом вторым продуктом реакции чаще всего является лизоформа фосфатидилхолина. Жирные кислоты могут повышать проницаемость бислоя для ионов. К тому же арахидонаты способны через серию реакций превращаться в очень активные эффекторы: простагландины, лейкотриены, тромбоксаны. Лизофосфатидилхолин по некоторым данным активизирует гуанилатциклазу, т.е. может выступать в роли индуктора цГМФ-сигнала.

Перечисленные сведения следует дополнить данными о возможности активации лимфоцитов путем искусственного изменения липидного состава их мембраны. Известны сильные липидные активаторы лимфоцитов: липид А из клеточной стенки грамотрицательных бактерий, гликолипиды, выделенные из других клеточных мембран, а также липопротеины.

В целом очевидно, что продукты превращений компонентов липидной мембраны вполне могут обеспечить передачу сигнала от рецептора в цитоплазму.

Пока нельзя отдать преимущество одной из трех описанных выше сигнальных систем мембраны в механизме активации ответа лимфоидной клетки на лиганд. К тому же эти системы тесно сцеплены между собой. Почти невозможно изменить что-либо только в одной из них. Как правило, за этим следуют значительные перестройки в двух других системах. Для иллюстрации к уже упомянутым фактам достаточно добавить еще три. Даже очень небольшие потоки  $\text{Ca}^{2+}$  активируют мембранные фосфолипазы. Циклические нуклеотиды влияют на проводящие свойства некоторых Са-каналов. Наконец, многие известные биологические эффекты циклических нуклеотидов реализуются только в сочетании с  $\text{Ca}^{2+}$ .

По современным представлениям наибольшее значение для активации делений лимфоцитов могут иметь  $\text{Ca}^{2+}$ , цГМФ и *диацилглицерин*. Легко заметить, что это продукты описанных выше сигнальных систем. Даже если допустить, что именно эти вещества служат передатчиком сигнала от мембраны к цитоплазме, остается неясным, как их появление связано с фактом взаимодействия антигена с рецептором.

По этому поводу существует лишь одна конструктивная гипотеза. Она еще строго не исследована, однако в пользу нее косвенно свидетельствует немало фактов. Речь идет о предположении *прямой связи между агрегацией рецепторов и появлением ионного тока*.

### 3.3. О возможной роли процесса агрегации рецепторов как пускового звена в механизме активации

Довольно давно были высказаны предположения о связи активации лимфоцитов с *кэппингом* Ig-рецепторов. Кэппинг (от англ. cap — колпак) — это процесс перемещения в плоскости мембраны комплексов антитело — рецептор и постепенного их слияния в один гигантский комплекс — “колпачок”. Действительно, если В-клетки обработать меченым антителом, специфически связывающимся с поверхностными Ig, то в начальный момент метка будет распределена равномерно по всей мембране. Затем меченое антитело, точнее комплексы антитела с Ig-рецепторами, постепенно перераспределятся в небольшие “зерна”. Спустя 20—40 мин при 37°C эти “зерна” соберутся в один крупный “колпачок”, который будет или поглощен клеткой, или сброшен с ее поверхности в среду.

Замечена прямая корреляция между фактом кэппинга рецепторов и активацией лимфоцитов. Так, оба процесса удается индуцировать лишь бивалентными антителами, но не моновалентными Fab-фрагментами этих же антител. Другие лиганды — активаторы клеточных делений — тоже индуцируют процесс кэппинга рецепторов, с которыми они связываются. В частности, этим свойством обладают антитела к антигенному рецептору Т-лимфоцитов, антитела к ТЗ-субъединице ТР, антитела к белку Т11 на Т-лимфоцитах, а также митогенные лектины (фитогемагглютинин, конканавалин А и др.).

Во всех случаях оба эффекта — кэппинг и активацию делений — индуцировали лишь би- или тетравалентные (конканавалин А) лиганды. Моновалентные субъединицы (фрагменты), выделенные из них же, связывались с рецепторами, но не оказывали ни того, ни другого действия. Этот перечень совпадений дополнили исследования с линейными полимерами-иммуностимуляторами.

Заряженные молекулы линейных водорастворимых полимеров (поликислоты, полиоснования) активируют лимфоциты и, в частности, переход  $G_0 \rightarrow G_1$ . Действие этих веществ не зависит от строения звеньев полимерной цепи, но критически связано с наличием множества заряженных групп. Взаимодействие с клеткой прежде всего определяется электростатическим взаимодействием полииона с комплементарно заряженными молекулами плазматической мембраны. При этом каждая молекула полииона взаимодействует с двумя или большим числом белковых молекул мембраны. Происходит образование микроагрегатов мембранных белков. Это событие совпадает с неселективным увеличением проницаемости мембраны для ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ . Все успевает произойти в

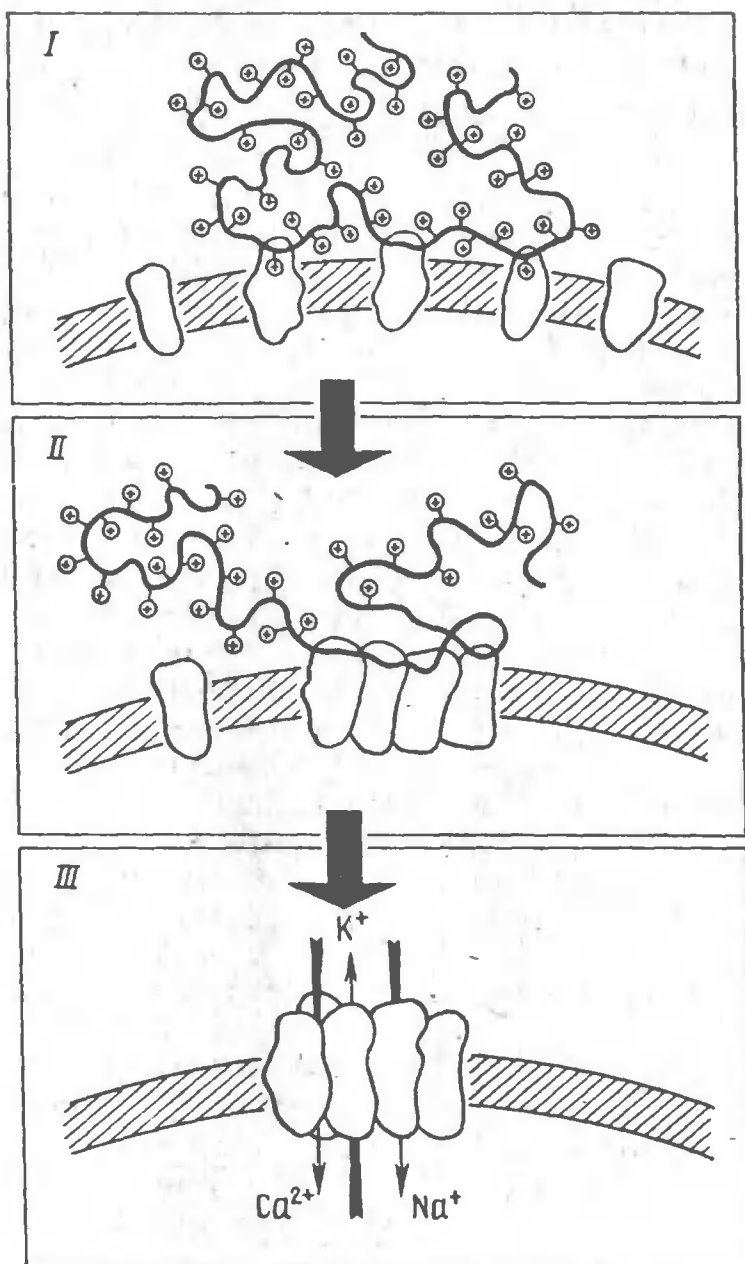


Рис. 19. Гипотетический механизм повышения проницаемости клеточной мембраны под влиянием экзогенного полииона (по Р. И. Атауллаханову, 1983)

Многоточечное электростатическое взаимодействие (I) полииона с белками клеточной поверхности приводит к перераспределению (II) интегральных мембранных белков в микроагрегаты; кластеры белков служат в качестве ионепроводящих структур (III)

первые 2—3 мин, когда еще никакого кэппинга нет. Поэтому полученные данные послужили основой для гипотезы о ионепроводящих свойствах небольших агрегатов, состоящих из 10—15 внутримембранных белков. Было высказано предположение, что неселективные поры, проницаемые для воды и небольших ионов, возникают на стыках агрегированных белковых молекул (рис. 19, 20).

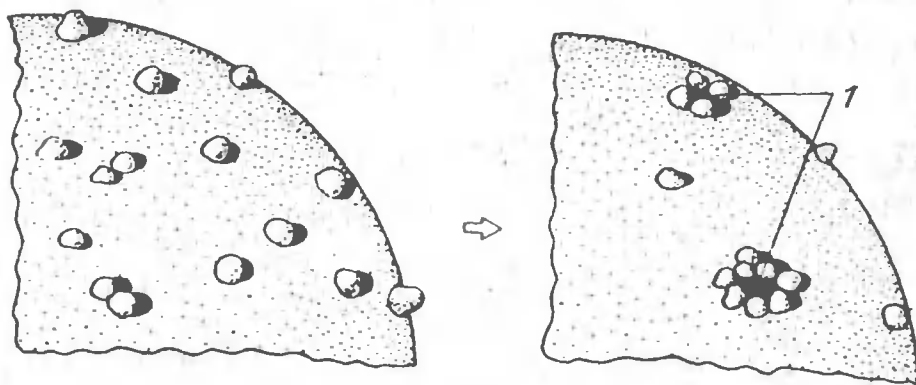


Рис. 20. Формирование ионпроводящей поры (1) в структуре белковых кластеров

Частным вариантом этой идеи стала гипотеза о формировании ионного канала ТЗ-доменами ТР при агрегации ТР антителами или при взаимодействии Т-клетки с АПК (рис. 21).

Представленную идею трудно проверить в прямых экспериментах. Для этого необходимо исследовать ионпроводящие свойства агрегата рецепторных молекул в мембране лимфоидной клетки, распознающей ан-

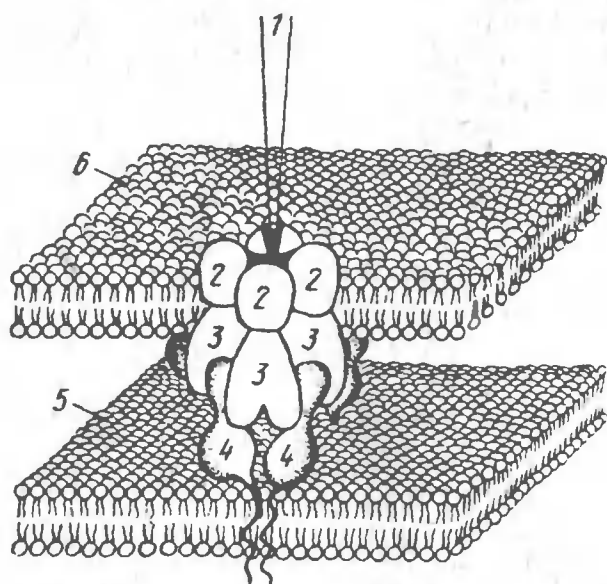


Рис. 21. Гипотетический механизм образования ионного канала (1) в мембране Т-лимфоцита (6) при его взаимодействии с мембраной антигенпредставляющей клетки (5)

Ионный канал (1) образуется внутримембранными доменами (2) Т-клеточного рецептора (3); 4 – МНС-белок

тиген. И все же такие работы в настоящее время ведутся даже на одиночных лимфоцитах.

Понятно, что легко адаптировать идею агрегат→ионный ток ко всем упомянутым выше случаям активации лимфоцитов би- или тетравалентными лигандами. Более того, подобный механизм может использоваться природой не только на лимфоцитах, но и на других клетках при воздействии иными лигандами.

Здесь следует подчеркнуть, что согласно идее именно микроагрегаты являются сигнальными структурами. Их последующая сборка (кэппинг) в один гигантский агрегат есть лишь способ удаления агрегированных белков, способ самозащиты клетки. Он на-

правлен на восстановление исходных свойств клеточной мембраны, в том числе проницаемости для воды и ионов.

### **3.4. Преобразование мембранного сигнала внутри клетки**

Первичные события и формирование сигнала в мембране клетки в какой-то мере уже изучены, однако путь сигнала внутри клетки, от мембраны до генома, совершенно неизведан. Это, пожалуй, самое большое “белое пятно” в современной иммунологии, причем данная область незнания не ограничивается лишь случаем активации лимфоцита антигеном. В такой же мере неисследованными остаются механизмы передачи сигнала при рецепции активаторов и ингибиторов, участвующих в естественной регуляции лимфоцитов, например, ростовых, дифференцировочных, супрессорных и других факторов.

По существу, наши знания обрываются на втором звене цепи. Первое звено — мембранные преобразования и мембранозависимый посредник (например,  $\text{Ca}^{2+}$ , цГМФ или диацилглицерин); второе звено — та или иная протеинкиназа или их набор; далее — ничего определенного: спектр фосфорилированных белков с неизведанной функцией. Сколько еще звеньев цепи до генов, активность которых изменяется, какие это звенья — не известно.

### **3.5. Перестройка активности генома — конечный адресат сигнала**

Последнее звено цепи, конечный адресат сигнала — *геном клетки*. Как в геноме записана программа клеточного деления и программа клеточной дифференцировки? Как эти программы реализуются? Какими механизмами они управляются? Все это вопросы исключительной важности. Но, к сожалению, ответов на них пока нет. Возможно, в предстоящее последнее десятилетие XX в. эти процессы удастся расшифровать совместными усилиями ученых, работающих в клеточной биологии, молекулярной биологии, онкологии и иммунологии. Пока что выявлено лишь несколько генов (и их продукты), активация которых коррелирует с нормальным делением клеток или их бесконтрольным ростом. Ясно, что это первые шаги, и даже нет уверенности, что в нужном направлении.

### **3.6. Дополнительные сигналы активации — ростовые и дифференцировочные факторы для лимфоцитов**

Итак, под влиянием антигена (митогена) лимфоидная клетка проходит часть G1-фазы, называемую G1a. Для завершения мито-

тического цикла, а также для дифференцировки в эффекторную клетку лимфоциту необходимы *дополнительные сигналы*. Этими сигналами служат белки, секретируемые соседними клетками (лимфоцитами, макрофагами и др.). Структура белковых факторов, управляющих дифференцировкой и ростом лимфоцитов, их свойства, а также структура и свойства клеточных рецепторов для этих факторов являются предметами активных исследований. В этой области за последние несколько лет имеются несомненные достижения. Однако даже для обнаруженных факторов многие детали еще продолжают выясняться и уточняться. Несомненно, будут выявляться и новые, ранее не известные, белки-интерлейкины. Поэтому, не претендуя на полноту информации, приведем лишь некоторые сведения об известных факторах роста и дифференцировки.

### 3.6.1. Интерлейкин-1

Интерлейкин-1 — белковый фактор, вырабатываемый моноцитами и макрофагами после их активации, например белковыми антигенами или липополисахаридными продуктами микробов. Известны две формы ИЛ1 —  $\alpha$  и  $\beta$ , причем каждая форма обнаруживается в виде полипептида-предшественника и зрелого ИЛ1.

ИЛ1 $\alpha$  и ИЛ1 $\beta$  заметно различаются по аминокислотной последовательности, но практически неотличимы по функции. Полипептиды-предшественники имеют почти вдвое более длинную цепь (около 30 кДа), чем зрелые ИЛ1 (17 кДа), т.е. при выработке клеткой ИЛ1 происходит посттрансляционный процессинг цепей. Биологической активностью обладают ИЛ1 $\alpha$  (30 кДа), ИЛ1 $\alpha$  (17 кДа) и ИЛ1 $\beta$  (17 кДа).

Рецептор для ИЛ1. Рецептор для ИЛ1 представляет собой белок плазматической мембраны. Он содержит полипептид (80 кДа), с которым функционально ассоциирован другой полипептид (42 кДа). Одни и те же рецепторные молекулы связывают ИЛ1 $\alpha$  и ИЛ1 $\beta$ . Аффинность связывания высока  $10^9$ — $10^{10}$   $M^{-1}$ . Константы скоростей ассоциации ( $3 \times 10^8$   $M^{-1}$  мин $^{-1}$ ) и диссоциации ( $2 \times 10^{-2}$   $M^{-1}$  мин $^{-1}$ ) характерны для связывания пептидных гормонов со специфическими рецепторами. Экспрессия мембранных рецепторов ИЛ1 регулируется на уровне транскрипции генов. Рецепторы для ИЛ1 представлены на В- и Т-лимфоцитах, а также на некоторых других типах клеток. Обычно на поверхности одной клетки содержится от 200 до 5000 рецепторных молекул. Число рецепторов для ИЛ1 нарастает в первые часы после активации лимфоидной клетки.

Интерлейкин-1 обладает разнообразными эффектами, что будет специально рассмотрено в одном из последующих разделов. Здесь же следует отметить два эффекта — *активацию делений лимфоцитов и их дифференцировки*.

Лимфоциты Т- и В-субпопуляций, начавшие цикл делений (G1-фаза), продвигаются благодаря ИЛ1 в фазу синтеза ДНК. Это действие ИЛ1 синергично с ИЛ2. Пока не ясно, действуют оба активатора одновременно или последовательно. Кроме того, ИЛ1 выполняет роль дифференцировочного фактора, стимулирует превращение активированных В-лимфоцитов в клетки, секретирующие иммуноглобулины.

Наконец, ИЛ1 вовлекает в иммунную реакцию дополнительные В-клетки, способствуя превращению незрелых пре-В-клеток, лишенных Ig-рецепторов, в зрелые В-лимфоциты, экспрессирующие на своей поверхности Ig. В пре-В-клетках происходит синтез H-цепей Ig, но нет синтеза L-цепей, без которых невозможна экспрессия молекулы Ig на клеточной мембране. Следовательно, дифференцировка пре-В-клеток в зрелые В-лимфоциты состоит по меньшей мере в активации структурного гена L-цепи Ig.

Молекулярный механизм действия ИЛ1 на клетку, имеющую специфический для него рецептор, не известен. Из самых ранних работ с ИЛ1 известно, что этот белок обладает активностью карбоксипептидазы. Каталитическая активность ИЛ1 блокируется ингибиторами карбоксипептидазы —  $\text{Cd}^{2+}$  и фенантролином. Однако эти сведения не проясняют механизма действия ИЛ1 на клетку. В настоящее время нельзя даже утверждать, что сигнал активации формируется на клеточной мембране. Комплексы ИЛ1 с рецептором эндоцитируются, и значительное количество индивидуальных молекул ИЛ1 оказывается в ядре клетки, так что нельзя даже исключить прямое действие ИЛ1 на транскрипцию генов.

### 3.6.2. Интерлейкин-2

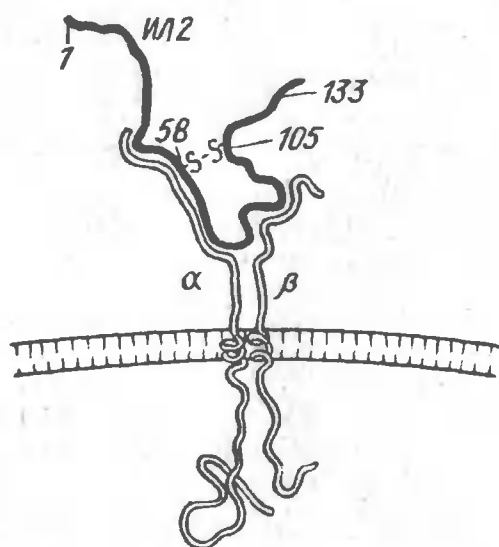
Интерлейкин-2 — один из самых “популярных” белковых факторов, регулирующих лимфоциты. Первоначально он был описан как *ростовый фактор для Т-клеток*. В последнее время стало ясно, что диапазон его эффектов шире и не ограничен только Т-клетками.

Интерлейкин-2 человека — белок с молекулярной массой около 15 кДа — представлен одной полипептидной цепью (133 остатка аминокислот). Степень гликозилирования этой цепи может варьировать, но активность гликопротеина, по-видимому, от этого не зависит. Полипептидная цепь ИЛ2 замкнута в петлю одной внутренней дисульфидной связью между двумя остатками цистеина в положениях 58 и 105.

Синтез ИЛ2 осуществляют Т-клетки вполне определенной субпопуляции ( $T_1$ -хелперы, их называют также Т—Т-хелперами или Т-усилителями). Активация синтеза и секреции ИЛ2 этими клетками требует перекрестного связывания ТР (либо ТЗ-доменов ТР),

присутствия в среде ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , а также дополнительного сигнала от макрофагов в виде ИЛ1.

**Рецепторы для ИЛ2.** Эти рецепторы экспрессируются как на тех же Т-клетках, которые синтезируют ИЛ2, так и на других Т- и В-лимфоцитах. Существует два типа рецепторов для ИЛ2. Оба варианта представлены на мембране одной и той же клетки. Около 90% всех рецепторных молекул состоит из одной полипептидной цепи (55 кДа); связывание ИЛ2 происходит с относительно низкой аффинностью ( $K_d \sim 10^{-8}$  М). Таких низкоаффинных рецепторов на клетке может насчитываться от  $10^4$  до  $10^6$  молекул. Примерно 10% среди всех рецепторных молекул имеют высокое сродство к ИЛ2 ( $K_d \sim 10^{-11}$  М). Высокоаффинный рецептор, по-видимому, представлен димером, который состоит из цепи 55 кДа и полипептида — 75 кДа. Обе цепи погружены в мембрану и нековалентно ассоциированы друг с другом (рис. 22). Интересно, что хотя каждая из цепей способна связывать ИЛ2 ( $K_d$  для цепи 75 кДа  $\sim 10^{-9}$  М), однако связывающая активность димера по сравнению с ними в 100—1000 раз выше.



Рецепторы ИЛ2 у разных биологических видов различаются последовательностью аминокислот в полипептидной цепи. Вместе с тем существует очень высокая консервативность первичной структуры двух доменов — трансмембранного (21 остаток аминокислот) и цитоплазматиче-

Рис. 22. Структура рецептора для ИЛ2 (по К. Smith, 1987):

$\alpha$  и  $\beta$  — полипептидные цепи рецептора ( $\alpha$  — 75 кДа,  $\beta$  — 55 кДа); цифрами в полипептидной цепи ИЛ2 (показана черным цветом) обозначены положение и порядковые номера (начиная от N-конца) аминокислотных остатков

ского (не менее 13 остатков аминокислот). Возможно, это отражает связь между структурой рецептора и механизмом передачи сигнала внутрь клетки.

Молекулярный механизм действия ИЛ2 на клетку не установлен. По аналогии с другими ростовыми факторами (эпидермальным, тромбоцитарным, фактором роста нейробластов и др.) предполагают, что цитоплазматическая часть рецептора ИЛ2 обладает активностью протеинкиназы. Достоверных сведений в пользу такой гипотезы пока нет.

Связываясь с мембранными рецепторами, ИЛ2 в конечном счете активирует репликацию ДНК и весь последующий цикл деления лимфоцитов. Наиболее выражено его действие на Т-клетки. Эффект насыщения (по действию) достигается при концентрации ИЛ2  $10^{-10}$  моль/л. Для активации делений В-клеток необходимы значительно более высокие концентрации ИЛ2. Имеется достаточно оснований предполагать, что во многих случаях высокие локальные концентрации ИЛ2 создаются при контакте Т-хелпера с соответствующей В-клеткой, несущей комплекс (МНС-II + антиген).

### 3.6.3. $\gamma$ -Интерферон

$\gamma$ -Интерферон продуцируется активированной Т-клеткой, поэтому его часто называют “иммунным интерфероном”. Первоначально термином “интерфероны” были названы белки, вырабатываемые клеткой в качестве средства самозащиты при заражении ее вирусом. Действительно, эти белки препятствовали (интерферировали) репликации вируса. Один из них —  $\alpha$ -интерферон — продуцируется лейкоцитами крови, другой —  $\beta$ -интерферон — фибробластами, клетками соединительной ткани. Непонятно, в какой мере  $\gamma$ -интерферон позволяет Т-клетке защититься от вируса. Во всяком случае вирус СПИД реплицируется именно в активированных Т-лимфоцитах, в конце концов убивая их. Несмотря на это,  $\gamma$ -интерферон является мощным оружием иммунной системы в борьбе против вирусной инфекции. Этот фактор, вырабатываемый Т-клетками, участвует в очень многих процессах, способствуя активации различных механизмов иммунной защиты.

$\gamma$ -Интерферон — полипептид, состоящий примерно из 150 остатков аминокислот; продуцируется Т-лимфоцитами только после их активации антигеном (или антителом к ТР, или митогенным лектином) и дополнительной стимуляции ИЛ2. Кроме Т-лимфоцитов продуцентами  $\gamma$ -интерферона являются естественные киллеры.

Действие  $\gamma$ -интерферона на клетки опосредуется специальными мембранными белками-рецепторами: причем  $\alpha$ - и  $\beta$ -интерфероны связываются с одними и теми же рецепторами,  $\gamma$ -интерферон — только со своими специфическими рецепторными молекулами. На одной клетке может быть представлено от  $10^3$  до  $10^4$  рецепторов для  $\gamma$ -интерферона ( $K_d \sim 10^8 \text{ M}^{-1}$ ).

Механизм действия  $\gamma$ -интерферона на клетку не установлен. Известно, что комплекс этого эффектора с мембранным рецептором быстро эндоцитируется. Это событие индуцирует синтез новых мРНК и синтез *de novo* более десятка полипептидных цепей.

Действуя на активированные лимфоциты,  $\gamma$ -интерферон способствует их пролиферации и дифференцировке в зрелую эффекторную форму (например, киллер).

Наиболее сильное влияние  $\gamma$ -интерферон оказывает на клетки моноцитарно-макрофагального ряда. Он индуцирует дифференцировку миеломоноцитарных клеток-предшественников в моноциты, макрофаги и гранулярные лейкоциты, активирует экспрессию на этих и некоторых других типах клеток белков МНС-II класса. Совместно с  $\alpha$ - и  $\beta$ -интерферонами  $\gamma$ -интерферон индуцирует экспрессию молекул МНС-I.

Действуя на макрофаги,  $\gamma$ -интерферон вызывает образование активных форм кислорода, сильно увеличивает способность макрофагов убивать клетки простейших (например, клетки токсоплазм, лейшманий). Под влиянием  $\gamma$ -интерферона на макрофагах в десятки раз возрастает количество рецепторных молекул для Fc-фрагментов Ig. Этот эффект лежит в основе приобретения макрофагами способности убивать опухолевые клетки, поверхность которых "мечена" антителами.

$\gamma$ -Интерферон активирует кислородный метаболизм гранулярных лейкоцитов, провоцирует высвобождение из этих клеток гранул с протеолитическими ферментами, значительно увеличивает противомикробную активность лейкоцитов.

В-клетки, активированные антителами к Ig-рецепторам, т.е. находящиеся в G1-фазе, под влиянием  $\gamma$ -интерферона пролиферируют. Кроме того, этот Т-клеточный фактор стимулирует продукцию антителосекретирующими клетками IgG2a и угнетает продукцию IgG1 и IgG3. Последнее связано с отменой эффекта ИЛ4.

Существует еще один очень важный факт: практически все эффекты ИЛ1 и ИЛ2 существенно усиливаются  $\gamma$ -интерфероном.

#### 3.6.4. Интерлейкин-4

Интерлейкин-4 — белок, продуцирующийся активированными Т-хелперами. Он выполняет функции ростового и дифференцировочного фактора для В-клеток. Кроме того, существуют данные о стимулирующем влиянии ИЛ4 на рост Т-лимфоцитов, а также на пополнение популяции макрофагов и тучных клеток.

Кратко перечислим эффекты ИЛ4.

1. Вместе с антителами к Ig-рецепторам стимулирует деление В-лимфоцитов.

2. Индуцирует экспрессию на внешней мембране В-лимфоцитов молекул МНС-II, а также рецепторов для Fc-фрагмента Ig.

3. Стимулирует секрецию антителопродуцентами IgG1 и IgE.

4. Активирует пролиферацию Т-лимфоцитов, моноцитов и тучных клеток.

#### 3.6.5. Интерлейкин-5

Интерлейкин-5 — белковый фактор, продуцируемый Т-лимфоцитами; активирует как пролиферацию, так и терминальную диф-

ференцировку иммунокомпетентных клеток. Индукция дифференцировки В-клеток в антителосекретирующие — наиболее значительный из эффектов ИЛ5. Именно поэтому этот белок долгое время считали дифференцировочным фактором для В-клеток.

Здесь следует рассмотреть, в чем существо дифференцировки В-лимфоцита в антителосекретирующую клетку. Секреторный вариант антитела точно соответствует мембранному Ig-рецептору той же клетки. Различие состоит лишь в том, что у секреторного варианта отсутствует небольшой фрагмент (около 25 остатков гидрофобных аминокислот) тяжелой цепи, а именно та ее часть, которая в рецепторном варианте Ig пронизывает липидный бислой клеточной мембраны (рис. 23).

Структурный ген тяжелой цепи Ig устроен так, что по нему могут синтезироваться оба варианта — мембранный и секреторный. Экзон С-концевого домена (СН4) содержит с 3'-стороны участок полиаденилирования. За ним в направлении 3'-конца располагаются экзоны мембранного фрагмента и еще один (второй) участок полиаденилирования. В случае синтеза секреторной цепи транскрипция мРНК останавливается на первом центре полиаденилирования; при образовании мРНК для мембранного варианта транскрипция завершается на втором центре полиаденилирования.

Следовательно, при дифференцировке В-лимфоцита в АСК должен измениться либо сплайсинг<sup>1</sup> мРНК, либо полиаденилирование. Как и по какому варианту управляется этот процесс, точно не известно, хотя в последнее время многие специалисты отдают предпочтение альтернативному сплайсингу одного и того же первичного транскрипта.

Кроме реорганизации транскрипции или сплайсинга мРНК структурных генов тяжелых цепей Ig, для превращения В-клетки в АСК необходимы многочисленные перестройки разных генов. Конечная цель этих перестроек — создание в клетке мощного аппарата синтеза и секреции белка.

Таким образом, иницируя дифференцировку В-клетка → АСК, регуляторный фактор ИЛ5 должен запускать все указанные перестройки. Как это делается, не известно. Пока можем лишь перечислить физиологические последствия действия ИЛ5 на клетки системы иммунитета.

1. Индукция секреции IgM, IgG и IgA В-лимфоцитами, предварительно активированными антигеном, антирецепторным антителом или митогеном.

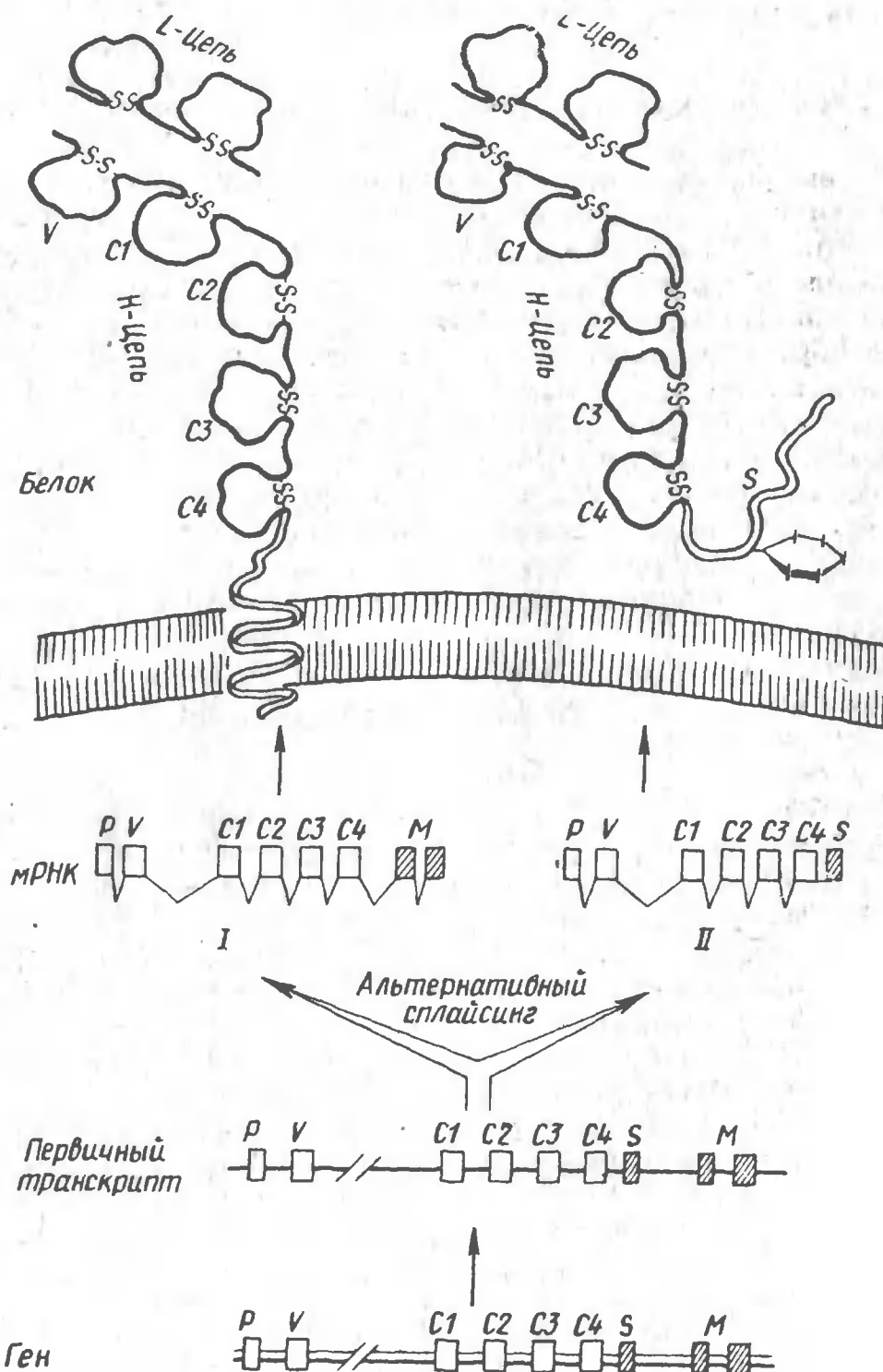
---

<sup>1</sup> Сплайсинг — процесс созревания информационной РНК (мРНК), в ходе которого участки РНК, соответствующие интронам, удаляются, а участки, соответствующие экзонам, соединяются в единую последовательность зрелой мРНК, готовую для участия в синтезе соответствующего белка.

2. Активация синтеза ДНК и пролиферации лимфоцитов, предварительно выведенных из G0 в G1 с помощью какого-либо из вышеуказанных воздействий.

3. Индукция дифференцировки тимоцитов в Т-киллеры.

4. Активация делений и дифференцировки костно-мозговых предшественников в эозинофильные гранулярные лейкоциты.



Кроме описанных еще несколько факторов претендуют на роль ростовых и дифференцировочных для лимфоидных клеток. Например, ИЛ6; низкомолекулярный (12 кДа) и высокомолекулярный (~60 кДа) ростовые факторы В-клеток; два фактора дифференцировки Т-киллеров (17 кДа и 30 кДа). Однако об этих веществах пока известно слишком мало. Мы упоминаем о них, чтобы еще раз подчеркнуть многообразие семейства белков-интерлейкинов. Каждый из факторов будет детально изучен (это дело техники и времени). Однако предстоит решение гораздо более важной задачи — понять, как организм управляет поведением сообщества многих типов клеток, взаимодействующих и путем контакта, и с помощью довольно большого числа растворимых факторов. К тому же систему значительно усложняет *интерференция факторов*. В частности, ИЛ1 сильно активизирует выработку ИЛ2 и усиливает его эффекты.  $\gamma$ -Интерферон синергичен с ИЛ1 и ИЛ2, но отменяет эффекты ИЛ4.

Этот перечень можно продолжить. Реальная картина клеточных взаимодействий еще сложнее, но к этому вопросу мы вернемся в других главах, после того как познакомимся с целым рядом дополнительных фактических сведений.

Рис. 23. Механизм переключения синтеза иммуноглобулина с рецепторной формы на секретируемую в активированной В-клетке (по E. Vitetta et al.; 1987)

Путь реализации генетической информации (ген  $\rightarrow$  про-мРНК  $\rightarrow$  мРНК  $\rightarrow$  белок) на схеме представлен снизу вверх. При созревании активированного В-лимфоцита в антителосекретирующую клетку принципиальная структура генов тяжелой цепи иммуноглобулина не изменяется. Переключение затрагивает лишь механизм "созревания" про-мРНК. Один вариант сплайсинга (I) первичного транскрипта приводит к образованию мРНК для синтеза рецепторного IgM (это происходит в В-клетке до ее активации). Другой вариант сплайсинга (II) того же самого первичного транскрипта (про-мРНК) приводит к образованию мРНК для секретируемого IgM (в антителосекретирующей клетке). Обозначения доменов тяжелой цепи IgM и соответствующих им экзонов: V — переменный (N-концевой); C1, C2, C3, C4 — константные; М-домен — С-концевой фрагмент, определяющий "погружение" рецепторного IgM в бислойную мембрану; Р — экзон лидерного пептида; S-домен — С-концевой фрагмент секретируемого варианта IgM.

## Защитная функция созревших лимфоидных клеток

Пройдя стадии узнавания “чужого” и формирования первичного сигнала, лимфоидная клетка как бы делает выбор между покоем и активной ответной реакцией. Выбрав второе, при условии, что она снабжена всеми необходимыми факторами помощи со стороны клеток-партнеров, она превращается в *эффекторную клетку*. Следовательно, появляется клетка, которая выполнит (или начнет выполнение) основную функцию иммунитета — уничтожение “чужого”. В-лимфоцит превращается в клетку, секретирующую миллиарды молекул антител, Т-лимфоцит — в клетку-убийцу. Рассмотрим подробнее, как эти эффекторные средства иммунитета выполняют свою функцию.

### 4.1. Эффекторные функции антител

Антителосекретирующая клетка представляет собой типичную клетку, которая активно продуцирует белок и секретирует его. Основные морфологические признаки такой клетки — это огромное количество рибосом, развитый эндоплазматический ретикулум, активированный комплекс Гольджи. По интенсивности продукции антител отдельные АСК могут сильно различаться между собой. Наиболее активные продуценты (морфологически их можно отнести к плазматическим клеткам) могут секретировать огромное количество молекул антител. Для иллюстрации достаточно сказать, что помещенная в гель одиночная АСК за 2—3 ч насыщает белком-антителом вокруг себя объем, в  $10^5$ — $10^6$  раз больший собственного объема. Число АСК в организме, бурно реагирующем на антиген, может достигать  $10^6$ — $10^7$  и более. Каждая клетка, продуцирующая антитела, живет недолго, не более 2—3 сут. Но все вместе эти клетки успевают выбросить в кровоток несметное число молекул антител, специфичных к данному антигену. Содержание антител в сыворотке крови может достигать 10 мг/мл и более.

### 4.1.1. Изотипы антител

Антитела представлены молекулами иммуноглобулинов. Имея одну и ту же специфичность (строение V-доменов легкой и тяжелой цепей), Ig могут различаться четвертичной структурой. Известно пять классов (изотипов) Ig — M, G, A, E и D; некоторые из них делятся на подклассы: IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4 и др.

Структура молекулы IgG подобна рецепторной молекуле на В-клетке (рис. 24, 25). Молекулы этого класса сывороточных антител

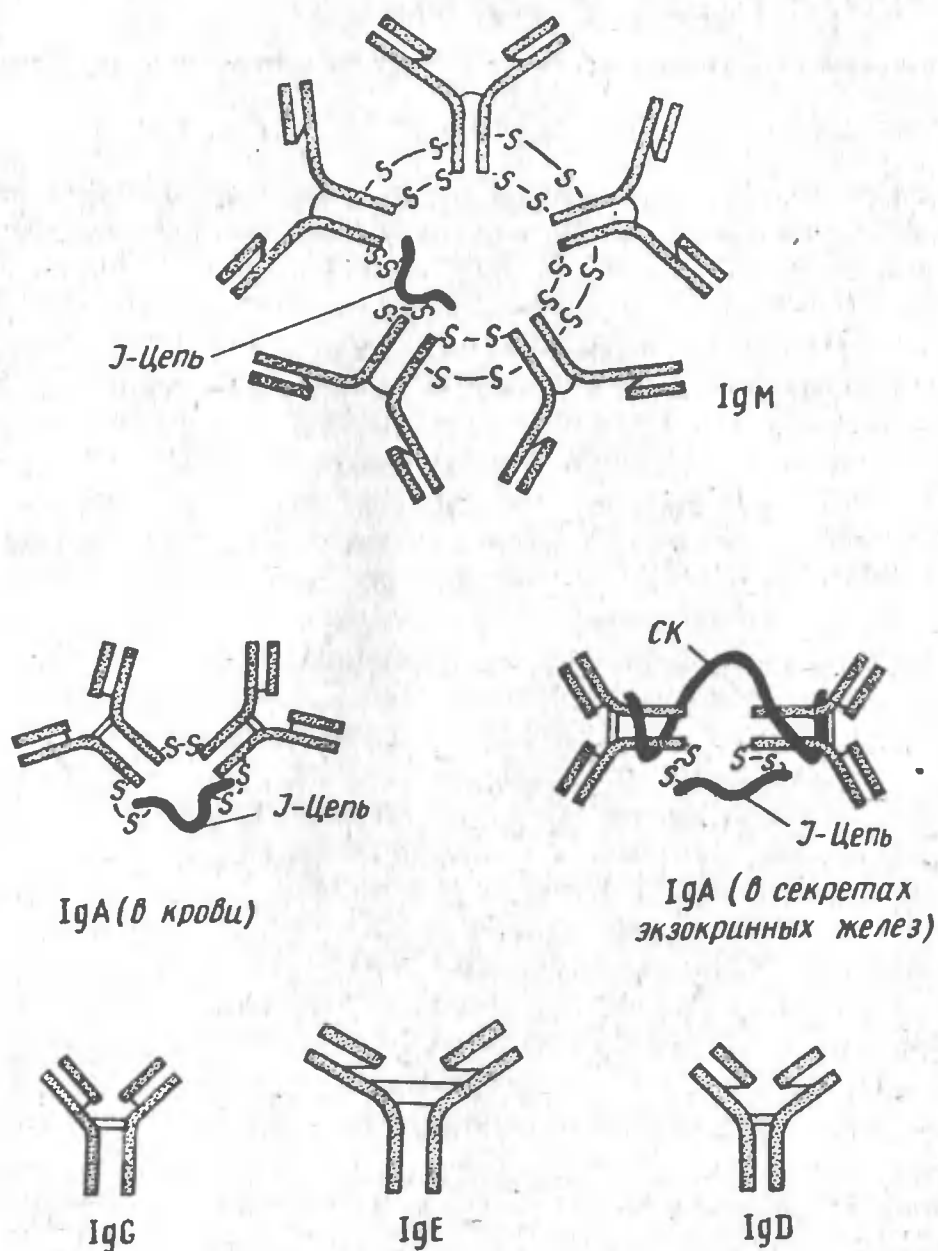


Рис. 24. Строение изотипов иммуноглобулинов:  
СК — секреторный компонент

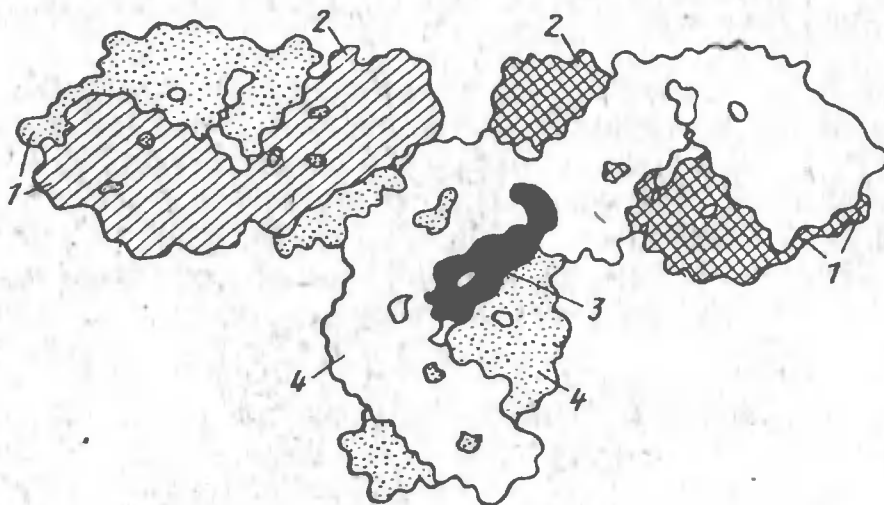


Рис. 25. Трехмерная структура IgG (по E. Silvertown et al.; 1977):

1 — участок связывания антигена, 2 — L-цепь, 3 — углеводная цепь, 4 — H-цепь

состоят из четырех полипептидных цепей ( $2H + 2L$ ), имеют два центра связывания антигена. Такая тетрамерная структура является элементарной единицей Ig любого изотипа. Фрагмент молекулы Ig, взаимодействующий с антигеном, обозначают Fab (от англ. fragment antigen binding), остальную часть молекулы — Fc (от англ. fragment constant, fragment crystallizable). Иммуноглобулины изотипа IgG составляют основную массу сывороточных антител.

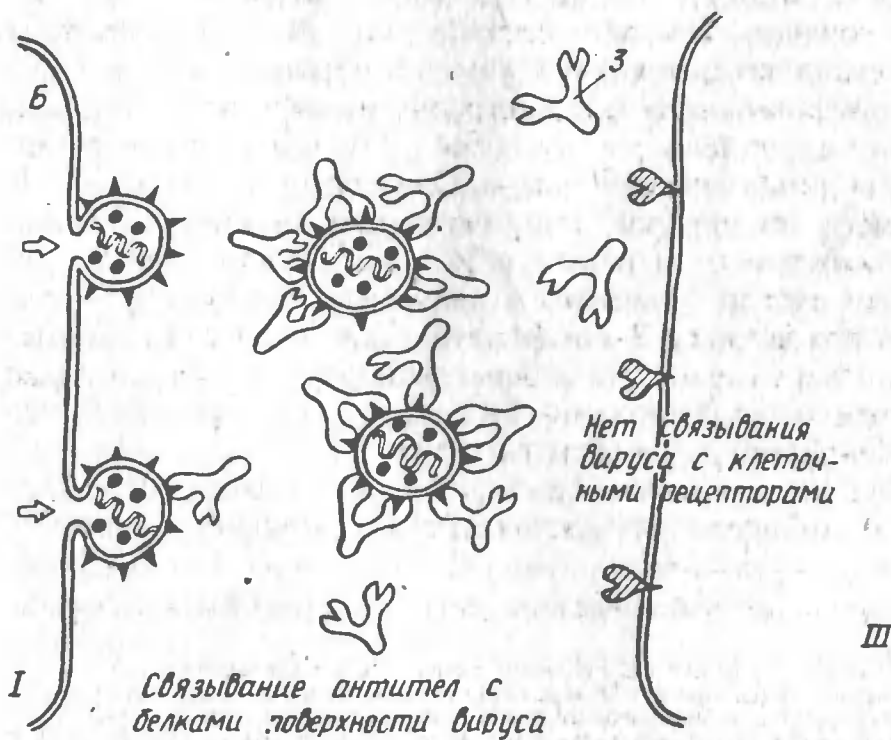
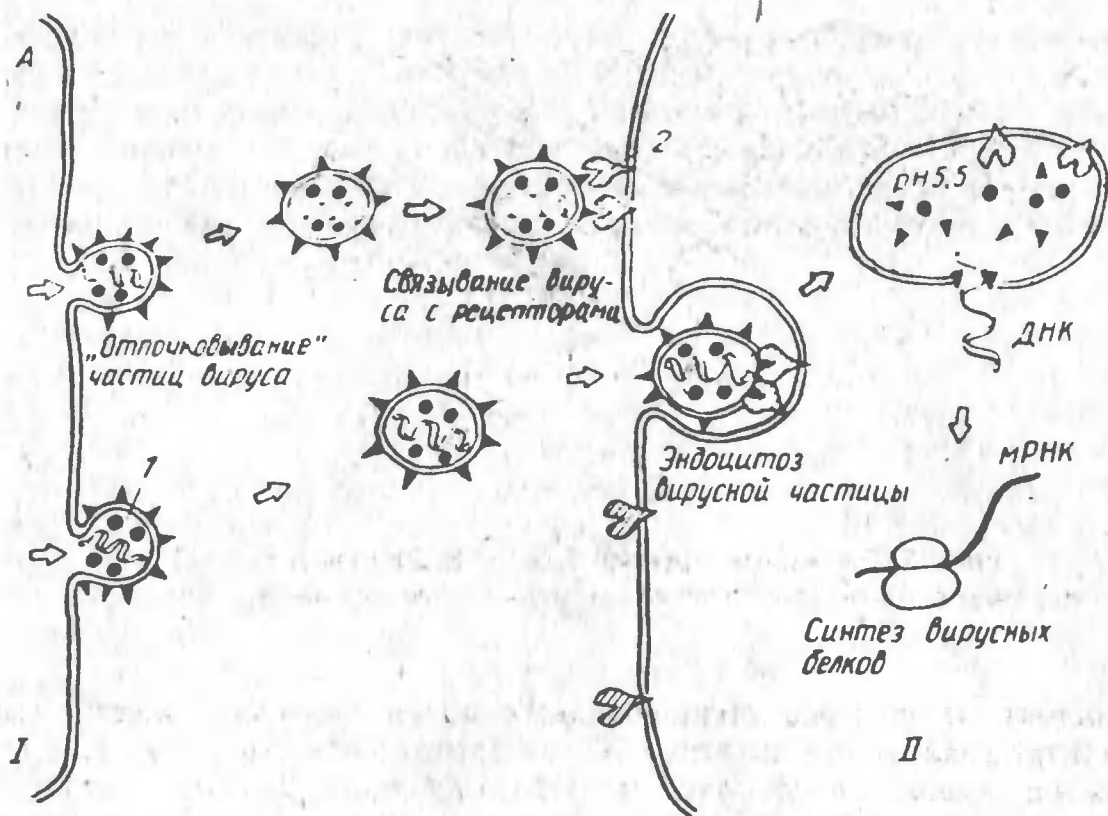
Молекула сывороточного IgM построена из пяти элементарных субъединиц. Они скреплены между собой дисульфидными связями и специальной полипептидной J-цепью. Следовательно, каждая молекула IgM имеет 10 центров для связывания антигена. Именно IgM-антитела появляются первыми в ходе иммунной реакции на антиген. Этот же изотип Ig первым появляется в онтогенезе В-клеток. Рецепторы покоящихся В-лимфоцитов, как правило, представлены IgM, но не пентамерной, а мономерной формой. Рецепторные IgM очень схожи с рецепторными IgG, различия касаются лишь некоторых особенностей структуры тяжелых цепей.

Молекула IgA состоит из двух элементарных субъединиц, соединенных J-цепью. Антитела этого изотипа главным образом секрети-

Рис. 26. Один из возможных механизмов блокирования вирусной инфекции антителами:

А — от зараженной клетки (I) отделяются новые вирусные частицы (1), которые взаимодействуют с комплементарными молекулами (рецепторами — 2) на поверхности незараженной клетки. Сорбированные на клеточной мембране вирусные частицы эндоситируются. В кислой эндосоме вирус "раздевается", его нуклеиновая кислота проникает в цитоплазму и служит информационной основой для синтеза новых вирусных частиц. Так происходит заражение ранее незараженных клеток (II). Этот процесс необходим для поддержания вируса в организме и для развития инфекционного заболевания;

Б — антитела (3), специфичные к белкам поверхности вируса, препятствуют его сорбции на клеточных рецепторах и, как следствие, предотвращают заражение новых клеток (III) и развитие вирусной инфекции в организме



руются на поверхности слизистых оболочек кишечника, дыхательных путей и других органов. Небольшое количество IgA выделяется в кровь. Синтез и секреция IgA в тканевую жидкость осуществляются АСК. Но секреция его через слизистые оболочки является функцией эпителиальных клеток. В этих клетках к IgA прикрепляется специальная полипептидная цепь (так называемый секретор-

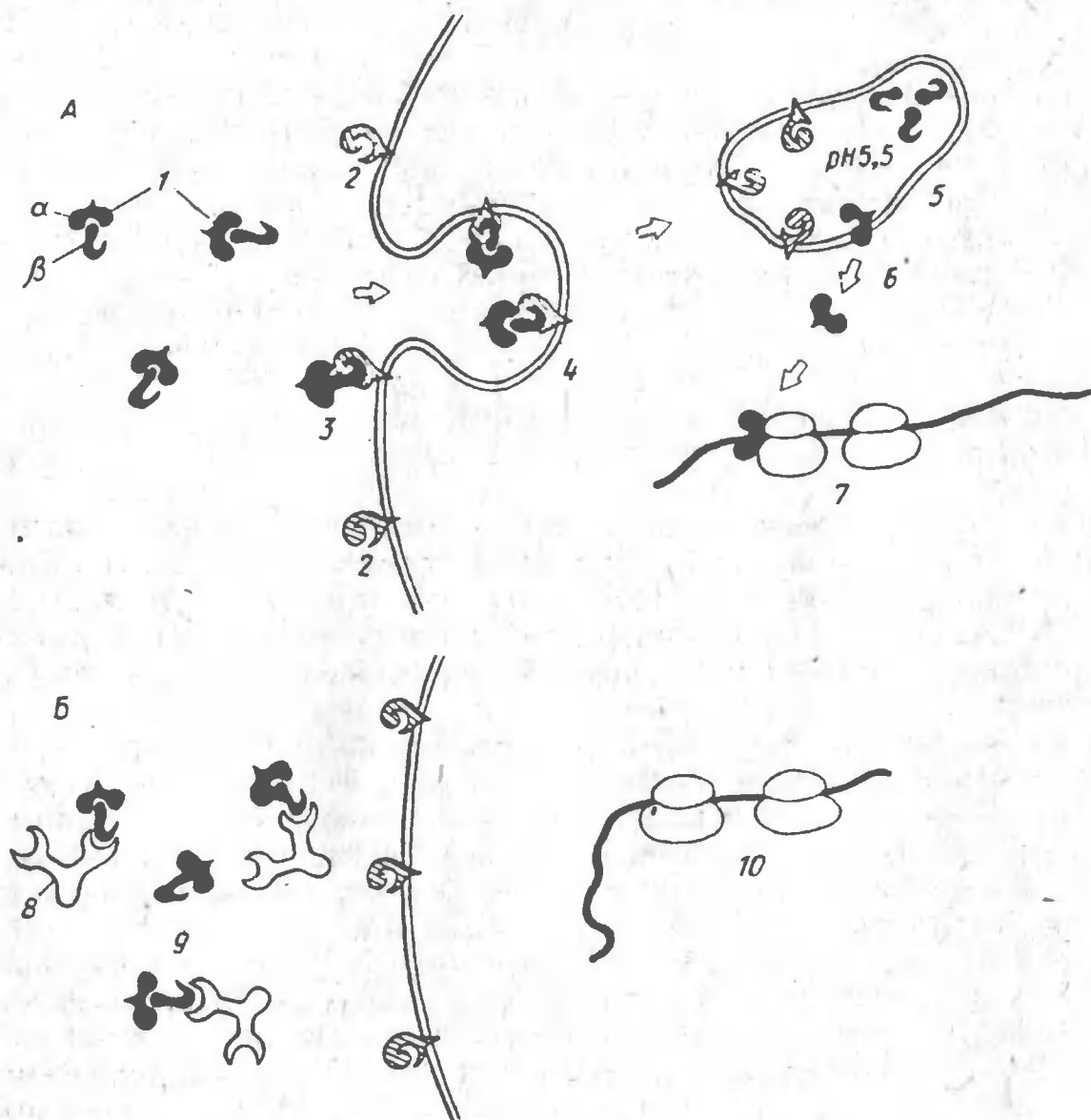


Рис. 27. Блокирование антителами действия токсина на клетки-мишени:

А — молекулы токсина (1) состоят из двух субъединиц: β-цепь (β) обеспечивает взаимодействие с клеточной поверхностью, α-цепь (α) — ингибирование метаболизма клетки. “поглотившей” токсин; Б — антитела (8), специфичные к β-цепи, препятствуют ее взаимодействию с соответствующим рецептором на клеточной мембране. Как следствие, молекулы токсина не сорбируются на клеточной поверхности, не поглощаются клеткой и не могут оказать токсического влияния на нее; 2 — рецептор токсина, 3 — связывание токсина с рецептором, 4 — эндоцитоз комплексов рецептор+токсин, 5 — кислая эндосома, 6 — выход α-цепи токсина в цитоплазму, 7 — ингибирование метаболизма (токсический эффект), 9 — связывание молекул антител с молекулами токсина, 10 — нет ингибирования метаболизма клетки

ный компонент), которая увеличивает устойчивость IgA к расщеплению протеазами.

Изотипы IgE и IgD вырабатываются в очень малых количествах. Физиологическая функция их не ясна. Известно, что IgD наряду с IgM представлен в качестве мембранного рецептора на покоеющихся лимфоцитах. Антитела класса IgE связываются специальными рецепторами на поверхности тучных клеток и базофилов. Их взаимодействие со специфическим антигеном на поверхности указанных клеток приводит к быстрому развитию аллергических реакций. Какую защитную (а не патологическую) функцию могут выполнять IgE, установить пока не удалось. Есть предположение, что они способны участвовать в защитной реакции против паразитов (простейших, гельминтов), индуцируют выброс тучными клетками факторов хемотаксиса для эозинофилов. Последние, придя в очаг заражения, выступают в роли киллеров.

Каким же образом антитела изотипов G, M и A участвуют в уничтожении “чужого”?

#### 4.1.2. Инактивация биологически активных центров антигена

Связываясь с детерминантами антигена, антитела могут блокировать вредное для организма действие чужеродного агента. Например, циркулируя в крови, лимфе и тканевой жидкости, антитела, специфичные к детерминантам поверхности вириона, нарушают переселение вирусных частиц из зараженной клетки в здоровую (рис. 26).

Связываясь с продуктами жизнедеятельности микробов, например с белковыми или углеводными токсинами, антитела блокируют их вредоносное влияние на организм. Легко представить, как антитело “закрывает” на молекуле токсина тот фрагмент, который обладает ферментативной активностью, либо ответствен за связывание с клеточным рецептором (рис. 27).

Для выполнения функции простого блокирования детерминант антигена, пожалуй, самым важным свойством продуцирующихся антител является их *аффинность* (степень сродства) к антигену. Еще одно свойство антител очень важно для такой функции — их направленность, *специфичность*, так как эффект блокирования может сказаться только при связывании антитела с функционально значимым участком патогена.

#### 4.1.3. Агрегация растворимых антигенов антителами

При достаточной концентрации антител могут образовываться стабильные комплексы, состоящие из множества молекул антигена и множества молекул антитела (рис. 28, Г). Возникновение таких

комплексов иногда наблюдается *in vitro*. При смешивании истинных растворов антигена и антитела может образоваться нерастворимый осадок (преципитат).

**Преципитация** (агрегация) антигена антителами происходит не всегда, даже если сам факт высокоаффинного связывания имеет место. Агрегация требует соблюдения нескольких условий. Во-первых, и антитело, и антиген должны быть, как минимум, **бивалентными** (т. е. каждая молекула антигена должна иметь не менее двух идентичных детерминант, а каждая молекула антитела не менее двух активных центров, специфичных к этим детерминантам). На рис. 28 легко увидеть, что моновалентность любого из двух партнеров запрещает образование мультимолекулярных комплексов.

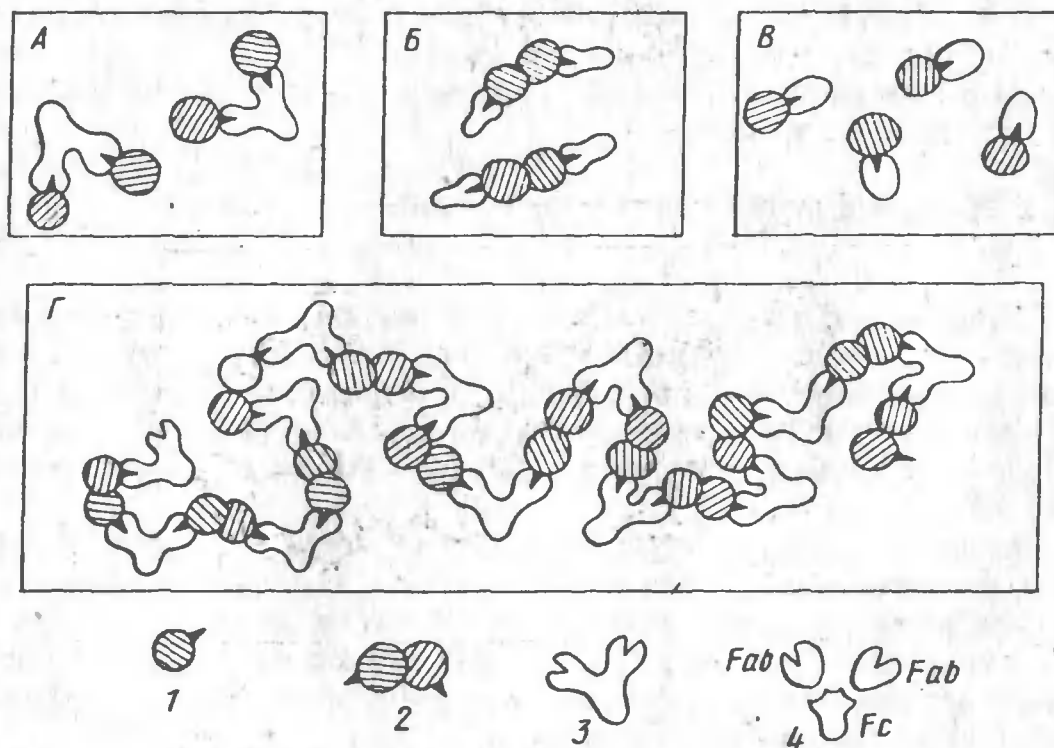


Рис. 28. Для агрегации антигена антителом требуется бивалентность антитела и бивалентность антигена:

1 — моновалентный антиген, 2 — бивалентный антиген, 3 — антитело, специфичное к антигену 1 и 2, 4 — фрагменты антитела.

При смешивании антитела (или его Fab-фрагментов) с антигеном мультимолекулярные комплексы антиген — антитело образуются лишь при использовании бивалентных антител и бивалентного антигена (Г). Мультимолекулярные комплексы не образуются, если антитело бивалентно, но моновалентен антиген (А), или антитело моновалентно (Fab), но бивалентен антиген (Б), или антитело и антиген моновалентны (В)

Во-вторых, для образования стабильных комплексов антиген — антитело очень важна **гибкость** обеих молекул. За счет подвижности “шарнирного” участка молекула антитела может несколько изменять взаимное расположение двух Fab-фрагментов.

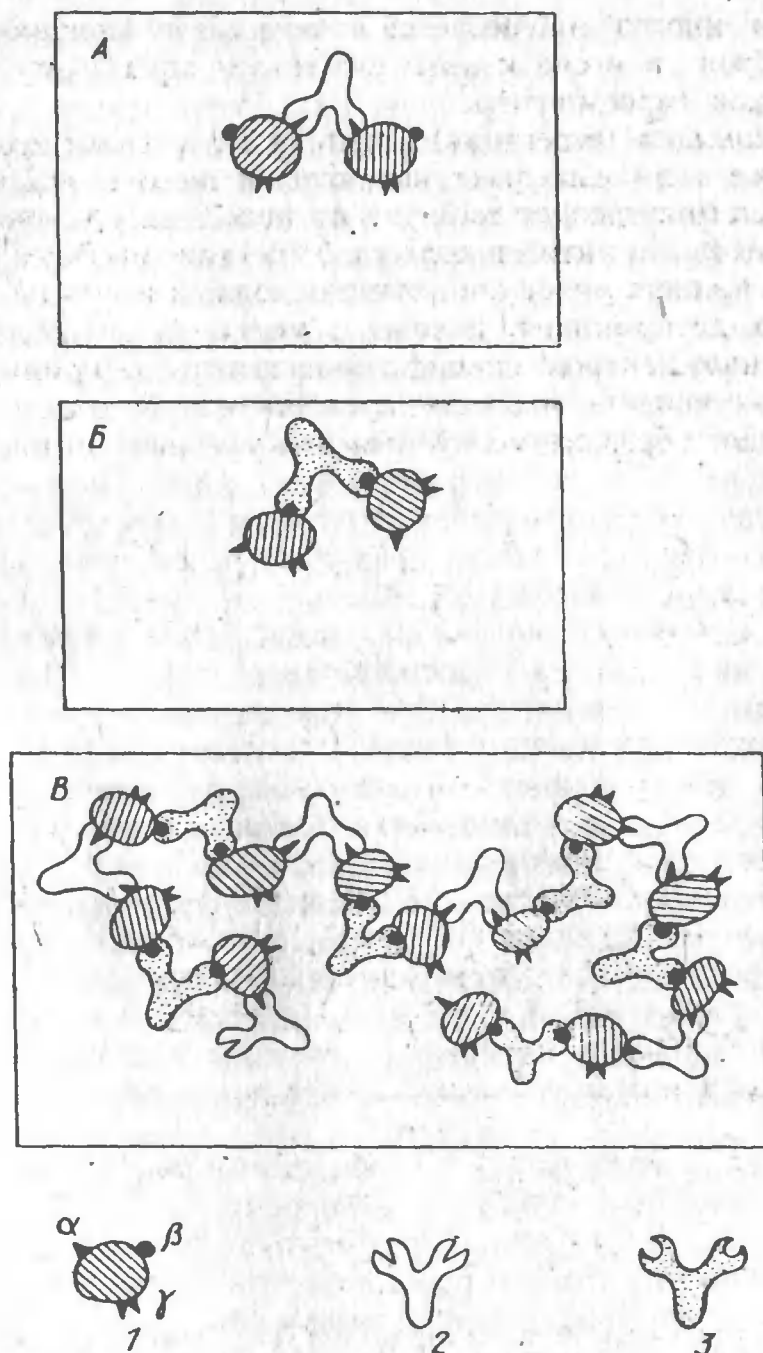


Рис. 29. Агрегация антигена (1) двумя моноклональными антителами (2, 3)

Многие белковые антигены имеют несколько неповторяющихся антигенных детерминант ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ). Взаимодействие такого антигена с моноклональным антителом — анти- $\alpha$  (А) или анти- $\beta$  (Б) не приводит к образованию агрегатов. В этом случае антиген моновалентен. Если тот же антиген смешать сразу с двумя антителами — анти- $\alpha$  и анти- $\beta$  одновременно (В), то образуются мультимолекулярные агрегаты антиген — антитело; 2 — анти- $\alpha$ , 3 — анти- $\beta$

Однако в специальных исследованиях показано, что эта гибкость молекулы Ig мало используется при образовании преципитатов. Большее значение имеет гибкость тех фрагментов молекулы антигена (белка), где расположена детерминанта. Достижение максимальных комплементарных взаимодействий между антителом и ан-

тигеном происходит чаще всего из-за изменения конформации антигена.

Молекула простого глобулярного белка-антигена (альбумина, миоглобина, лизоцима и др.), как правило, имеет на поверхности всего несколько участков (детерминант), доступных для антител. К ним преимущественно и вырабатываются антитела. Причем все эти детерминанты разные, повторов нет. В этом случае антиген моновалентен и, соединяясь с молекулами антител одной специфичности, не образует мультимолекулярного комплекса. Такая ситуация часто воспроизводится в экспериментальной иммунологии. Большинство моноклональных (синтезированных клетками одного клона) антител к белковым антигенам не обладает преципитирующей активностью. Если же смешивать два моноклональных антитела, которые узнают разные детерминанты на одной и той же молекуле белкового антигена, тогда образуется преципитат, состоящий из трех молекул-партнеров (рис. 29).

В организме практически на любой белковый антиген вырабатывается спектр антител, специфичных не к одной, а к двум или нескольким детерминантам. При этом на каждую детерминанту реагирует не один клон лимфоцитов, а несколько клонов или даже несколько десятков клонов, различающихся строением активного центра Ig-рецептора и степенью сродства к антигену. Такая поликлональность реакции синтеза антител обеспечивает надежную агрегацию антигена. Вместе с тем решается проблема поиска и блокировки функционально значимой детерминанты патогена, поскольку продуцируется спектр антител, перекрывающий практически все сколько-нибудь оригинальные участки молекулярной поверхности белкового антигена. Иммунная система "выстреливает по антигену" не пулей, а дробью, что повышает вероятность попадания.

Агрегация антигена — это необходимый шаг в процессе его удаления из организма, полного уничтожения антигена. Здесь важно отметить, что для выполнения защитной функции антител важна их способность не столько преципитировать антиген, сколько образовывать *мультимолекулярные комплексы*. Зачастую эти комплексы сохраняют растворимость, но сам факт их образования уже включает механизм элиминации антигена. В этот механизм вовлечены нелимфоидные клетки, о чем пойдет речь в следующей главе. Здесь же проведем анализ эффекторной функции антител против антигенов, представленных на поверхности живых клеток.

#### 4.1.4. Опсонизация "чужих" клеток

Антитела служат эффективным инструментом защиты не только против растворимых "чужих" молекул-антигенов, но и против клеток, несущих на своей поверхности "чужие" антигены. Связи-

ваясь с поверхностными структурами клеток, они “помечают”, где находятся “чужие” клетки. Такая маркировка очень селективна и повсеместна. Почти нигде в организме не удастся “укрыться” даже одиночным чужим клеткам, антитела находят каждую и отмечают ее. Причем антитела при этом играют двойную роль — и *метки*, и *зацепки*. Именно через молекулы прилипших к чужой клетке антител быстро присоединяются следующие звенья иммунного механизма защиты — инструменты для повреждения клеточной мембраны, т. е. орудия для убийства чужой клетки. Ими служат либо специальные молекулы, либо специальные клетки иммунной системы.

#### 4.1.5. Активация системы комплемента.

##### Лизис чужой клетки

В сыворотке крови, в лимфе и тканевой жидкости циркулируют белки, функционально объединенные в систему, названную *комплементом*. Эта система представлена ферментами, которые могут последовательно активировать друг друга. Такой каскадный механизм позволяет значительно усиливать сигнал, осуществлять заметную реакцию на исходно небольшое возмущение.

По принципу организации и функционирования система комплемента сходна с системой свертывания крови. И в той, и в другой системах имеется инициативный механизм. Биохимический каскад свертывающей системы запускается при повреждении клеток, например, эндотелия сосудов. Каскадный механизм комплемента активизируется вследствие агрегации антител. Конечный результат активации первой системы — формирование тромба, второй — образование “дыр” в мембране той клетки, на поверхности которой сформировался агрегат антиген — антитело.

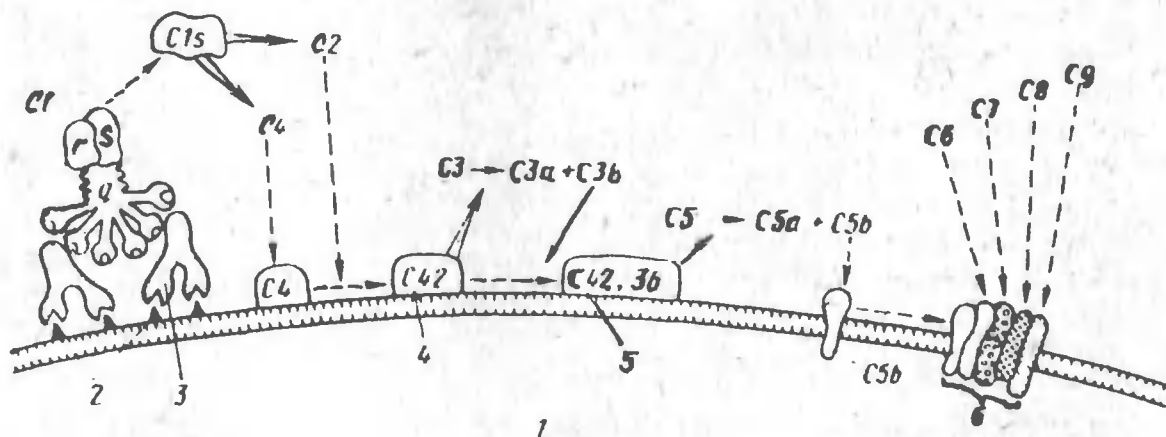


Рис. 30. Каскад реакций при активации системы комплемента на клеточной мембране:

1 — клетка, 2 — антиген, 3 — антитело, 4 — конвертаза C3, 5 — конвертаза C5, 6 — формирование пор; остальные пояснения см. в тексте

Именно агрегированные антитела служат активатором каскадного механизма комплемента. Молекулярные детали этой первой ступени биохимического каскада до конца не расшифрованы, но многое уже известно. Белок C1, один из составных элементов системы комплемента, первым вовлекается в реакцию. Происходит связывание C1 с Fc-фрагментами агрегированных антител изотипов IgG или IgM.

Белок C1 состоит из трех субъединиц: q, r, s. За связывание с Fc-фрагментами Ig ответствен C1q. Взаимодействуя с агрегированным Ig, белок C1 расщепляется на субъединицы. При этом C1r и C1s проявляют активность протеолитического фермента (C1-эстераза). Далее следует каскад превращений, в которых участвует еще восемь белковых компонентов системы комплемента: C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9 (рис. 30).

Начиная с C1-эстеразы, последовательно активируются C2, C3, C4. Их активация происходит также путем протеолитического расщепления на фрагменты, которые, в свою очередь, участвуют в следующей ступени каскада. Последним расщепляется C5; эту реакцию выполняет ферментный комплекс, состоящий из C2, C3 и фрагментов C4. В результате реакции из C5 образуется фрагмент C5b.

С этого момента цепь ферментативных реакций обрывается. В липидный бислой клеточной мембраны внедряется C5b, соединенный с C6. С этого начинается формирование поры, состоящей из C5b, C6, C7, C8 и более десятка молекул C9 (рис. 31). Пора про-

ницаема для молекул размером 10—20 нм; через нее проходят ионы, вода, аминокислоты, сахара и многие другие вещества. Образование значительного количества таких пор приводит к гибели клетки. Главной причи-

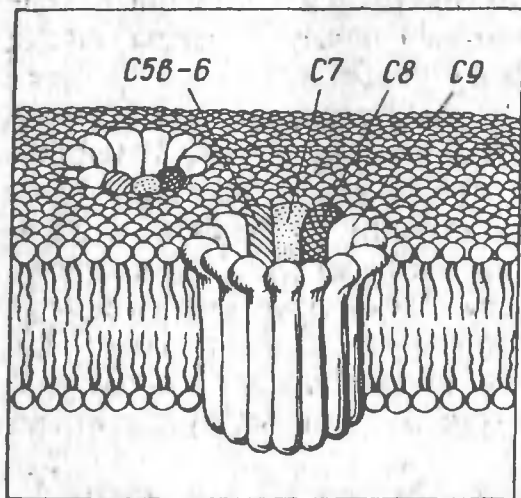


Рис. 31. Структура сквозной поры, образующейся в мембране на заключительной стадии каскада реакций в системе комплемента (по Дж. Дин-Е. Юн, Ж. А. Кон, 1988)

Пояснения см. в тексте

ной гибели является переполнение клетки водой (как следствие, более высокой концентрации биополимеров внутри клетки по сравнению с внеклеточной средой); происходит ее “разбухание”, которое завершается разрывом внешней мембраны, лизисом клетки.

Для опосредованного комплементом лизиса чужих клеток, меченных антителами, необходимы *большая плотность молекул антител* на единицу поверхности клетки-мишени и *агрегированность* этих молекул. Только агрегаты Fc-фрагментов Ig активируют C1. Только при достаточной плотности посадки антител создаются достаточные для образования поры локальные концентрации активных компонентов комплемента. Наконец, только при достаточно большом количестве пор клетка не может защититься и погибает.

## 4.2. Эффекторная функция лимфоцитов-киллеров

Иммунная система располагает вторым, независимым от антител, инструментом убийства чужих клеток — это *лимфоциты-киллеры*. Главным образом они представлены специализированными Т-клетками, которые проактивировались в ответ на антиген и прошли дифференцировку. Существует и другой тип лимфоидных клеток — *естественные киллеры*. Они всегда (без предварительной подготовки) готовы оказать литическое действие на клетку-мишень. Правда, и эти лимфоциты могут существенно усиливать свой смертоносный потенциал под влиянием определенных факторов.

### 4.2.1. Т-Киллеры

Определенная субпопуляция Т-лимфоцитов, узнав чужой антиген на поверхности любых клеток, активируется. Получив в ходе реагирования все необходимые вспомогательные факторы (ИЛ2, ИЛ1,  $\gamma$ -интерферон, факторы дифференцировки и т. д.), клетки становятся зрелыми убийцами. Они готовы расправиться с любой клеткой, лишь бы образовался прочный контакт с ней. Именно в этом механизме особенно отчетливо проявляется *смысл двойного узнавания* Т-клетками антигена в сочетании со “своим” белком МНС на мембране клетки-мишени: процесс убийства строго локализован на поверхности клетки-мишени. Механизм точного и жестко ограниченного срабатывания клетки-киллера на сочетание мембранных структур клетки-мишени предотвращает ошибочный лизис нормальных клеток как путем контакта, так и через выделение в среду литических продуктов.

Все начинается с установления *плотного контакта* между Т-киллером и клеткой-мишенью. Сам факт установления контакта служит сигналом для киллера. Происходит полярное перераспределение внутриклеточных органелл киллера. В цитоплазме зрелого Т-киллера содержится множество пузырьков (гранул) со смертельной начинкой. Эти гранулы перемещаются в направлении клетки-мишени. В ту же сторону переориентируется аппарат Гольджи, из

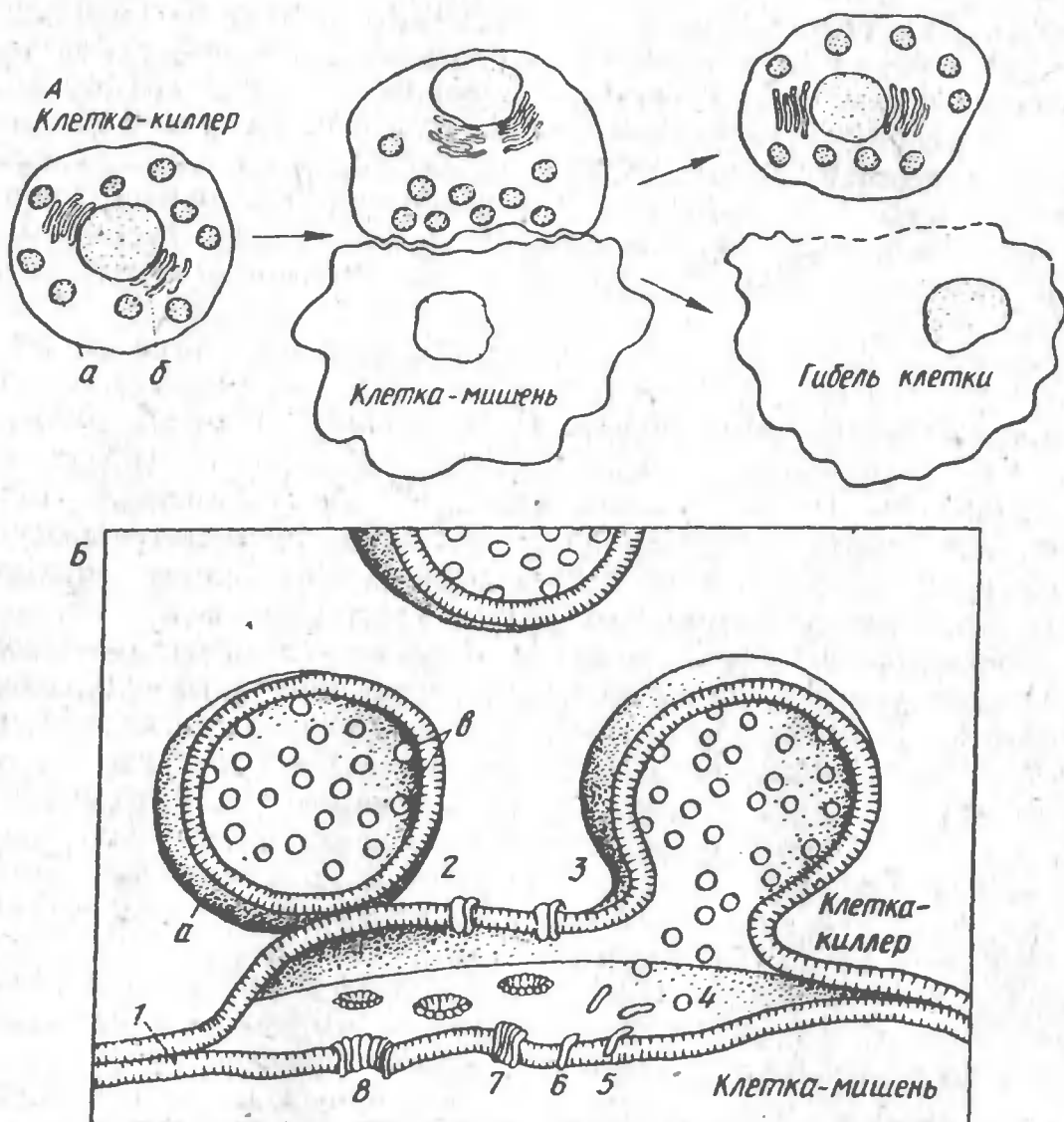


Рис. 32. Механизм поражения клетки-мишени клеткой-киллером (по Дж. Дин-Е. Юн, Ж. А. Кон, 1988):

**А** — стадии киллинга. Между киллером и мишенью образуется прочный контакт. Этот этап называют *конъюгацией* клеток. В ходе конъюгации видимых изменений в клетке-мишени не происходит. В это же время в киллерной клетке наблюдается переориентация гранул (**а**) с перфорином и комплекса Гольджи (**б**) в ту часть цитозоля, которая прилежит к зоне контакта. На следующем этапе клетка-киллер отсоединяется от клетки-мишени. Оставшиеся в киллере гранулы с перфорином распределяются равномерно по всей клетке. В то же время в клетке-мишени начинают прогрессивно нарастать видимые в микроскоп признаки гибели. **Б** — этапы процесса выброса (**1–8**) перфорины (**в**) из гранул (**а**) в синапс (узкий просвет между контактирующими мембранами двух клеток): связывание рецепторов киллерной клетки с поверхностью клетки-мишени (**1**) сопровождается повышением концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в цитозоле киллера. Это активирует экзоцитоз: слияние гранул с клеточной мембраной (**2**) и опорожнение их содержимого наружу (**3**). Находящийся в гранулах перфорины оказывается в небольшом пространстве (синапс) между клетками. Присутствующие там ионы  $Ca^{2+}$  вызывают изменение конформации одиночных молекул перфорины (**4**), после чего они связываются с мембраной клетки-мишени (**5**) и встраиваются в нее (**6**). В мембране эти молекулы полимеризуются (**7**) и формируют поры (**8**). Поры пропускают воду и соли, и клетка-мишень погибает.

мембран которого и формируется мембрана гранул. Наконец, летальные гранулы высвобождают свое содержимое в зону контакта. Это происходит путем экзоцитоза. Сливаясь с внешней мембраной, гранула открывается во внеклеточное пространство (рис. 32), точнее, в синаптическое пространство между двумя клетками. Таким способом киллер выбрасывает на мембрану клетки-мишени специальный белок *перфорин*, образующий сквозные поры, очень похожие на "дыры", образуемые в клеточной мембране компонентом (см. рис. 31).

Между моментом выброса перфорины и гибелью клетки-мишени проходит определенный отрезок времени (десятки минут). За этот период киллер отсоединяется от своей "жертвы" и может присоединиться к другой клетке. Один Т-киллер способен последовательно лизировать несколько клеток-мишеней. Если к Т-киллеру, установившему контакт с мишенью, искусственно прикрепить вторую мишень, то убийца поразит только первую. Это связано с *полярной локализацией* внутриклеточного аппарата убийства.

Один и тот же Т-киллер может убить несколько клеток-мишеней, следовательно, сам он в процессе летального удара не повреждается. Каким образом киллерная клетка избегает гибели от перфорины, высвобождаемого ею же? Это загадка, на которую еще не получено ответа. Существует предположение, что в мембране самого киллера содержится белок *протектин*, препятствующий формированию пор из перфорины. Проведенные эксперименты не привели к однозначному ответу, но подтвердили, что в ряде случаев Т-киллеры действительно резистентны к перфоруину.

Изучение механизма самозащиты киллеров от лизиса продолжается. Вместе с тем для размышления на эту тему полезно знать следующие факты, установленные в строгих экспериментах.

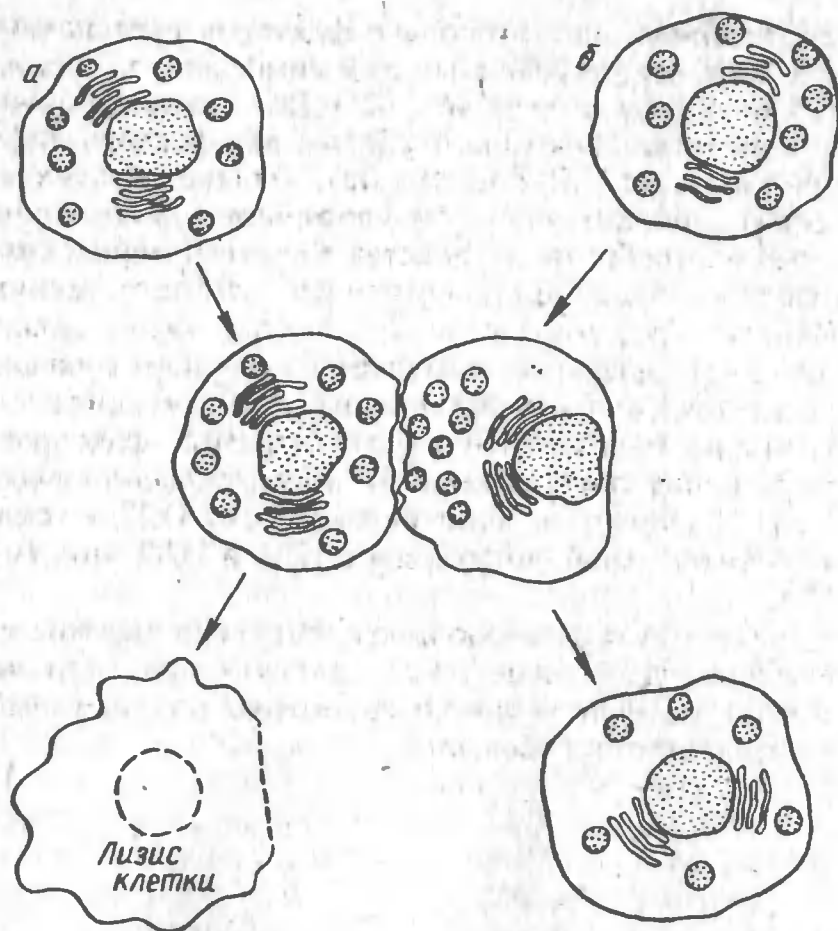
1. Т-Киллер (первый) может служить мишенью для другого Т-киллера (второго), специфичного к антигенам поверхности первого. В этом случае установление контакта приводит к векторным изменениям. Переориентация внутриклеточных органелл происходит только во втором киллере, а гибнет только первый (рис. 33).

2. Встречается два типа клонов Т-киллеров — резистентные и чувствительные к летальному воздействию со стороны других Т-киллеров.

3. Резистентность Т-киллера к действию перфорины не сопровождается резистентностью к лизису белками компонента.

4. Образование перфориновых "дыр" — не единственный механизм действия Т-киллеров. Некоторые клоны, обладающие литическим аппаратом, были совершенно лишены перфорины. При этом клетки, лишенные перфорины, содержали в гранулах медленно действующие медиаторы, лизирующие клетку-мишень только через несколько часов.

В дополнение к этим фактам стоит обратить внимание на то,



**Рис. 33. Убийство киллера киллером**

При контакте двух клеток-киллеров, одна из которых несет рецепторы, распознающие белки МНС-I в мембране другой, погибает лишь та клетка, чьи антигены распознаются как "чужие"; а — Т-киллер 1 (генотип x, специфичность анти-z); б — Т-киллер 2 (генотип y, специфичность анти-x)

что внутриклеточная мембрана, из которой образуются гранулы, устойчива к своему содержимому.

Рассматривая проблему киллинга в целом, следует подчеркнуть, что это — одна из самых успешно развивающихся областей иммунологии. Здесь имеется несомненный прогресс, расшифрованы сложные, изящные механизмы. И все же помимо прочих неразгаданных вопросов остался еще один: какова молекулярная природа сигнала, запускающего выброс Т-клеткой гранул с перфорином? Этот вопрос сводится к тому, каким образом информация о связывании молекул ТР в мембране Т-киллера с измененными молекулами МНС-1 в мембране клетки-мишени преобразуется в сигнал, идущий от мембраны киллера в его цитоплазму.

По аналогии с активацией Т-клеток в начальной фазе иммунного ответа можно предположить, что и на стадии осуществления заключительного эффекта Т-киллера процесс убийства клетки-мишени начинается с агрегации ТР в мембране Т-клетки. Сквозь аг-

регат ТР проходит ионный ток, что и служит реальным сигналом к перераспределению гранул, перемещению комплекса Гольджи и к последующему экзоцитозу. Здесь следует упомянуть, что инициация выброса летальных гранул требует обязательного присутствия ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . В то же время вещества-ионофоры, переносящие  $\text{Ca}^{2+}$  через клеточную мембрану, в целом ряде случаев активируют выброс гранул секреторными клетками, экзоцитоз и дегрануляцию.

С позиции гипотезы о ионпроводящих свойствах агрегата внутримембранных белков интересны сведения о векторном взаимодействии двух киллеров. Образование в этом случае кластера ТР в мембране одной клетки (киллера) означает обязательную агрегацию МНС-1 в мембране второй клетки (мишени). Однако эта, вторая клетка оставалась пассивной мишенью, хотя и располагала полноценным аппаратом убийства. Следовательно, агрегат МНС-1 не является сигнальной структурой. Значит, не всякий белковый агрегат в мембране может проводить ионный ток (или индуцировать любое другое сигнальное изменение), преобразовывая информацию о связывании лиганда в сигнал активации ответа клетки. Такой вывод не удивителен. Ведь известно, что структуру ионного канала составляют те или иные специализированные белки, хорошо "подогнанные" друг к другу. То же самое справедливо для более крупнокалиберных "дыр", сформированных белками комплекта или перфорином.

#### 4.2.2. Естественные киллеры

Кроме Т-клеток-убийц иммунная система располагает еще одним типом лимфоцитов-киллеров. Это большие гранулярные лимфоциты, способные лизировать опухолевые клетки. Смертельный удар они могут наносить без предварительной подготовки, поэтому такие лимфоциты называют *естественными киллерами*.

Способ убийства клетки-мишени у этих киллеров не идентичен действию Т-киллеров. В целом свойства и механизм реализации смертельного потенциала естественных киллеров изучены значительно меньше, чем у Т-киллеров. Не вдаваясь в детали, которые в настоящее время находятся в стадии изучения, отметим лишь принципиальные моменты.

Естественные киллеры не обладают рецепторным аппаратом для узнавания антигена. До сих пор неясно, каким образом они выбирают мишень. Есть основания предполагать, что естественные киллеры реагируют на опухолевые клетки-мишени, несущие много мембранных рецепторов для трансферрина. В таком случае трудно объяснить, почему же естественные киллеры не убивают любую делящуюся клетку. Ведь рецепторы для трансферрина (белка, переносящего ионы  $\text{Fe}$ ) обязательно экспрессируют все пролиферирующие клетки.

Естественные киллеры могут убивать далеко не каждый вид опухолевых клеток. Лишь избранные штаммы опухолей чувствительны к их литическому действию.

В связи с отмеченными особенностями остается невыясненным, против чего направлено действие этих клеток и каковы их физиологические функции. Несмотря на это, не следует преуменьшать потенциальную мощь цитотоксического действия естественных киллеров, тем более что они активируются и размножаются под влиянием ИЛ2 и  $\gamma$ -интерферона.

Нанося смертельный удар по чужим клеткам с помощью антител и комплемента, а также лимфоцитов-киллеров, связывая все растворимые молекулы антигенов с помощью антител, иммунная система "решает" две важнейшие задачи: выявляет и обезвреживает "чужое". Однако это еще не все. Надо восстановить статус-кво, убрать все чуждое из организма. Надо убрать и останки собственных клеток, погибших в результате агрессии микробов, вирусов, токсинов. Наконец, необходимо "залечить раны", восстановить поврежденные структуры или хотя бы заполнить места повреждений соединительной тканью, т. е. рубцами. Осуществить все перечисленное только с помощью лимфоцитов невозможно. Для этого привлекаются другие клетки, и не только клетки иммунной системы. Здесь происходит переплетение, стирание граней между физиологическими механизмами иммунитета, воспаления и регенерации.

# Вовлечение нелимфоидных клеток в защитные механизмы иммунитета

# 5

Вместе с лимфоцитами эффекторную функцию иммунитета активно осуществляют моноциты и гранулярные лейкоциты крови, макрофаги, тучные клетки и фибробласты тканей, а также клетки эндотелия сосудов.

## 5.1. Макрофаги

Участие макрофагов в качестве регуляторных клеток на стадии активации лимфоцитов в начальной фазе иммунного ответа уже рассматривалось в гл. 1, 2. Не менее значительна роль этих клеток и в эффекторной фазе иммунных реакций.

### 5.1.1. Макрофаги-“мусорщики”

По определению, *макрофаги* — это клетки, способные “заглатывать” и “переваривать” частицы. Процесс фагоцитоза неплохо изучен. Макрофаг поглощает частицу вместе с фрагментом своей мембраны (рис. 34). Оказавшийся внутри клетки пузырек содержит в своей полости частицу и называется *фагосомой*. Он перемещается в глубь клетки и сливается с *лизосомой* — другим мембранным пузырьком, заполненным разнообразными ферментами. Так образуется *фаголизосома*. В ней, как в котле, гидролитические ферменты расщепляют (“переваривают”) все, что могут расщепить. Частицы биологического происхождения (например, микробные клетки) расщепляются в фаголизосоме до элементарных молекул — аминокислот, простых сахаров и т. п.

Не всегда понятно, каким образом макрофаг выбирает свою жертву из множества окружающих его частиц (клеток). Как он отличает частичку красителя или “чужой” эритроцит от “своего” эритроцита? Но, по меньшей мере, один вариант узнавания известен. В эффекторной фазе иммунного ответа особенно важно найти

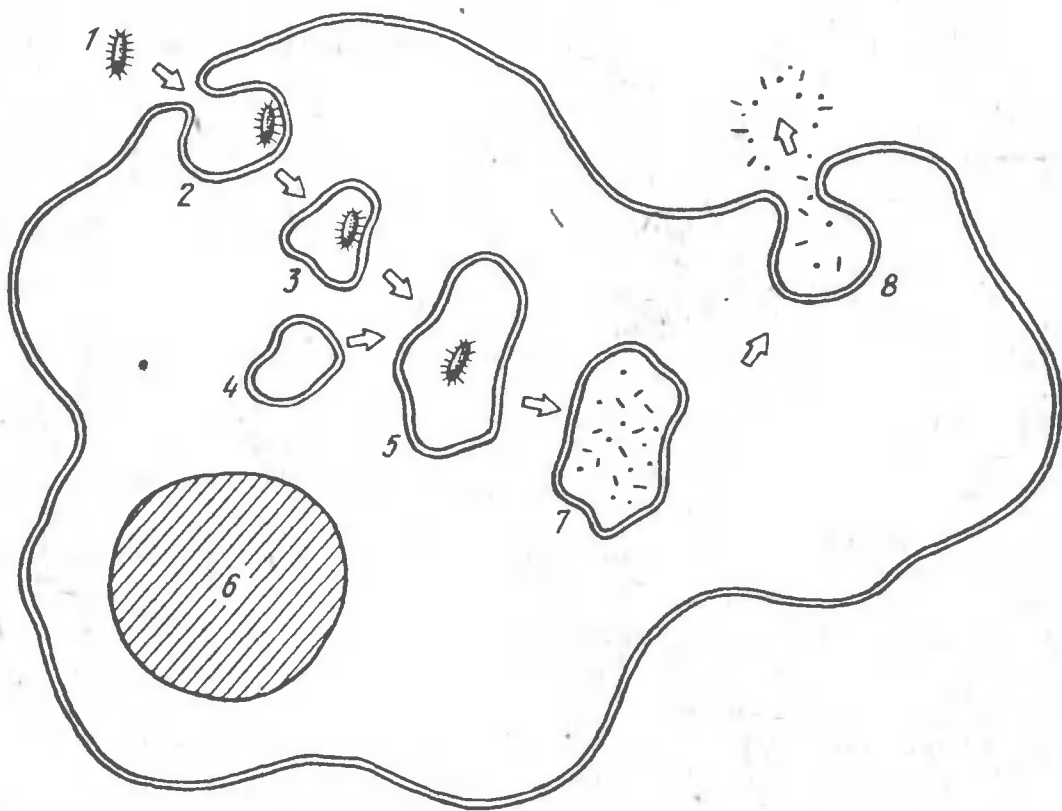


Рис. 34. Последовательные стадии фагоцитоза:

1 — микробная частица, 2 — начальная стадия фагоцитоза, 3 — фагосома, 4 — лизосома, 5 — фаголизосома, 6 — ядро, 7 — переваривание микробной частицы, 8 — экзоцитоз непереваренных фрагментов

и уничтожить все, что помечено антителами. Для этой функции макрофаги снабжены специальными рецепторами, ориентированными на связывание Fc-фрагментов Ig.

**Рецептор (FcR) для Fc-фрагмента Ig.** Именно благодаря FcR макрофаг узнает и прикрепляется к опсонизированным клеткам, “чужим” клеткам, помеченным антителами (рис. 35). Описано три варианта FcR на макрофагах — I, II, III. Все они экспрессируются на мембранах одних и тех же клеток и имеют специфичность к C3-домену различных субклассов IgG.

**FcRI** — сильно гликозилированный белок (72 кДа), который избирательно связывает IgG2a. Взаимодействие FcRI с мономерным Fc-фрагментом Ig характеризуется  $K \sim 10^8 - 10^9 \text{ M}^{-1}$ . На мембране каждого моноцита представлено около  $10^4$  FcRI.

**FcRII** (~40 кДа) экспрессируется на моноцитах, макрофагах, гранулярных лейкоцитах, В-лимфоцитах и тромбоцитах. Предпочтительно связывает Fc-фрагмент IgG1, IgG2b и IgG3.

**FcRIII** (~60 кДа) экспрессируется на макрофагах (но не моноцитах), нейтрофилах, эозинофилах, естественных киллерах, В- и Т-лимфоцитах, тромбоцитах. Связывает Fc-фрагмент IgG1.

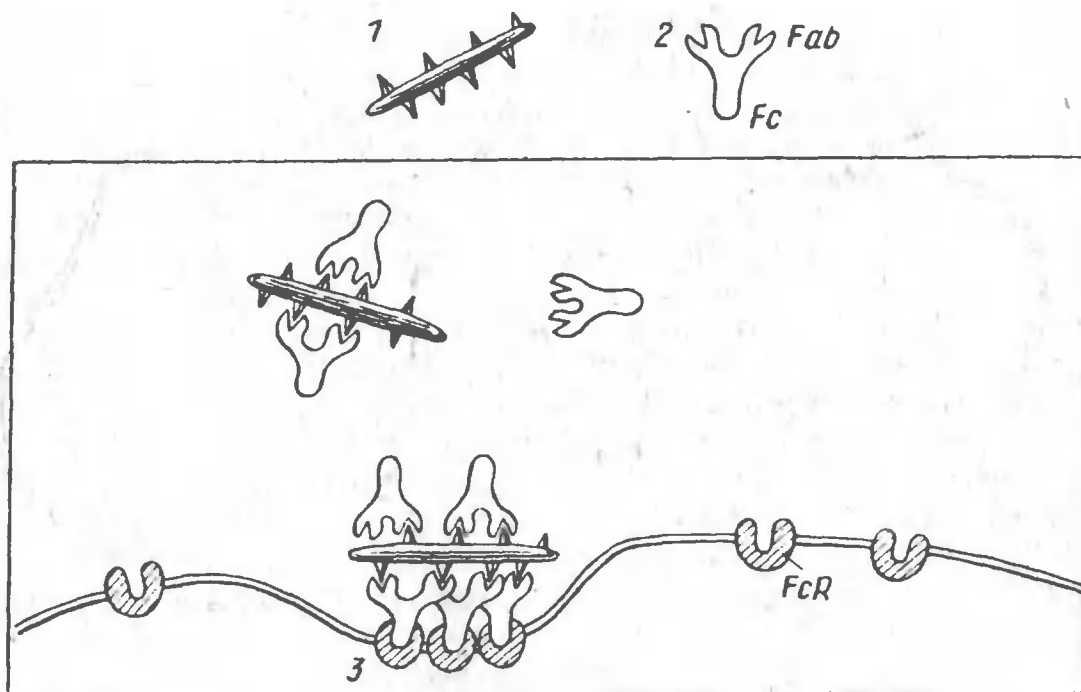


Рис. 35. Эндоцитоз комплексов антиген—антитело, осуществляющийся с помощью мембранных рецепторов (FcR), специфичных к Fc-фрагменту антител:  
1 — микроб, 2 — антитело, 3 — макрофаг

Структура FcR для IgG исследована недостаточно. Значительно лучше изучены FcR для IgE (см. разд. 5.4).

Рецепторы для Fc-фрагментов антител позволяют макрофагам узнать чужую клетку, помеченную антителами, и если эта клетка невелика (например, микроб), то фагоцитировать ее. С помощью FcR макрофаги тканей (печени, селезенки и др.) “вылавливают” из кровотока агрегаты антиген — антитело, эндоцитируют их и переваривают. Так макрофаги осуществляют уничтожение мелких частиц и комплексов антиген — антитело. Но эти же клетки могут убивать крупную клетку-мишень, которую не способны поглощать.

### 5.1.2. Макрофаги-киллеры

Киллерные свойства макрофагов отчетливо проявляются против клеток опухоли. Эта способность макрофагов резко возрастает при их активации  $\gamma$ -интерфероном и различными веществами — продуктами жизнедеятельности микробов, паразитов или опухолевых клеток.

Для убийства клеток опухоли макрофаги располагают большим арсеналом средств. Они выделяют пероксид водорода и другие активные окислители; инъецируют в клетку-мишень содержимое сво-

их лизосом; секретируют аргиназу, нейтральную сериновую протеазу и другие ферменты, токсичные для клетки-мишени; наконец, секретируют белок, избирательно убивающий опухолевые клетки. Этот белок так и называют — *фактор некроза опухоли*.

**Фактор некроза опухоли (ФНО).** Этот белок представляет собой полипептидную цепь из 157 аминокислотных остатков. В условиях эксперимента *in vitro* ФНО убивает клетки самых разных опухолей. Из множества исследованных опухолевых штаммов приблизительно одна треть оказалась чувствительной к ФНО. Другая треть штаммов под действием ФНО перестает делиться, следовательно, ФНО блокирует рост этих опухолевых клеток. Оставшаяся треть вариантов опухолей совершенно не чувствительна к ФНО.

Введение ФНО в область опухоли, растущей в организме, вызывает быстрое появление боли именно в опухоли. Затем уже через несколько часов разрушаются кровеносные сосуды, питающие опухоль, происходят кровоизлияния в ткань опухоли и гибель опухолевых клеток (геморрагический некроз опухоли). Интересно отметить, что активированные Т-клетки выделяют фактор, родственный ФНО. Его называют *лимфотоксином*, или  $\beta$ -ФНО.

Молекулярный механизм действия ФНО не расшифрован. Это одна из самых злободневных задач иммунологии. Имеется лишь множество данных описательного характера о действии ФНО на разные клетки и процессы. В целом эти сведения позволяют заключить, что ФНО — физиологический регулятор, участвующий в процессах роста и в реакциях воспаления. Для иллюстрации достаточно привести несколько примеров.

1. ФНО — физиологический активатор роста кровеносных сосудов. Действие фактора реализуется через активацию делений клеток эндотелия и фибробластов. Здесь же уместно подчеркнуть, что ФНО убивает трансформированные (опухолевые) клетки, произошедшие из эндотелия или фибробластов.

2. ФНО стимулирует выработку  $\beta$ -интерферона в фибробластах. ФНО и ИЛ1 активируют деление В- и Т-лимфоцитов, вызывают секрецию ИЛ6 и факторов кроветворения. ФНО сильно активирует противомикробные свойства гранулярных лейкоцитов.

3. С действием ФНО связаны некоторые классические симптомы воспалительного процесса. Так, ФНО индуцирует выработку клетками печени "белков острой фазы" воспаления. ФНО совместно с ИЛ1 вызывает лихорадку, оказывая влияние на центры терморегуляции в головном мозгу. При длительном воспалении или опухолевом росте чрезмерная продукция ФНО, ИЛ1 и интерферонов вызывает истощение жировых запасов организма и дистрофию мышц.

Таким образом, участие макрофагов в эффекторной фазе иммунной реакции определяется несколькими функциями этих клеток. Они осуществляют эндоцитоз комплексов антиген — антитело;

фагоцитоз частиц, меченных антителами; убивают чужие клетки или блокируют их рост; наконец, активируют другие типы клеток — лейкоциты, эндотелиальные клетки, фибробласты, вовлекая их в реакцию против патогена.

## 5.2. Нейтрофильные гранулярные лейкоциты

Функция нейтрофильных гранулярных лейкоцитов во многом подобна функции макрофагов. Нейтрофилы осуществляют фагоцитоз частиц. Это главные “бойцы” против микробов. На их мембране находятся FcR, так что все частицы и клетки, меченные антителами, очень “привлекательны” для нейтрофилов. ФНО активирует способность нейтрофилов убивать микробные клетки. При этом усиливается продукция цитотоксических радикалов кислорода, выбрасываются гранулы с ферментами. Даже разрушаясь, нейтрофилы высвобождают вещества, токсичные для микробов. В свою очередь, продукты распада клеток и молекул (например, короткие пептиды) служат мощными хемоаттрактантами для нейтрофилов, т. е. вызывают направленный хемотаксис этих клеток из ближайших тканей.

Молекулярный механизм хемотаксиса нейтрофилов из соседних тканей пока не установлен. Напротив, о механизме привлечения *нейтрофилов и эозинофилов из кровотока* недавно опубликованы новые сведения. Цепь событий такова. Макрофаги, активированные в очаге поражения, вырабатывают ФНО. Этот фактор индуцирует два процесса. Во-первых, клетки эндотелия сосудов начинают синтезировать молекулы адгезии для лейкоцитов. Нейтрофилы и эозинофилы прикрепляются при посредстве этих молекул к эндотелию сосудов в непосредственной близости от очага поражения. Во-вторых, ФНО влияет на прикрепившиеся к эндотелию лейкоциты, индуцирует их проникновение сквозь стенку сосуда и миграцию в очаг поражения.

## 5.3. Эозинофильные гранулярные лейкоциты

Привлеченные в очаг поражения продуктами распада клеток и молекул (для эозинофилов тоже известны пептиды хемотаксиса), а также факторами макрофагов и эндотелиальных клеток, эозинофилы выполняют функцию киллеров. Эти клетки-киллеры участвуют в иммунной защите преимущественно против простейших и гельминтов. Помимо активирующего влияния макрофагов эозинофилы получают помощь от Т-лимфоцитов в виде ИЛ5, который способствует накоплению в их цитоплазме гранул со смертоносным содержанием.

## 5.4. Базофильные гранулярные лейкоциты и тучные клетки

Тот факт, что базофилы и тучные клетки вовлечены в иммунные реакции, подтверждается многочисленными данными и не вызывает сомнения. Особенно хорошо исследовано участие этих клеток в *аллергии* — патологически повышенной чувствительности немедленного типа. Эффекты обоих видов клеток связаны с секрецией гранул, в которых содержатся вазоактивные вещества: гистамин, брадикинин, серотонин и др. Секреция провоцируется комплексами антиген — антитело. Ключевыми событиями при этом являются связывание иммунных комплексов с мембранными рецепторами и повышение проницаемости мембраны для ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Примечательно, что выброс гранул из тучных клеток и базофилов можно индуцировать, добавляя во внеклеточную среду ионофор  $\text{Ca}^{2+}$ . Чувствительность этих клеток к комплексам антиген — антитело определяется наличием в их мембране рецептора к Fc-фрагменту IgE ( $\text{Fc}\epsilon\text{R}$ ). В некоторых случаях эффекты опосредуются рецепторами к Fc-фрагменту IgG1 или IgG4.

Описано два типа  $\text{Fc}\epsilon\text{R}$ .  $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$  — белок, состоящий из четырех полипептидных цепей:  $\alpha$ -цепей (45 кДа),  $\beta$ -цепи (33 кДа) и двух  $\gamma$ -цепей (10 кДа; рис. 36). Этот вид рецептора обладает высокой аффинностью ( $\sim 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ) к мономерному Fc-фрагменту IgE. В мембране базофилов число молекул  $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$  достигает  $3 \cdot 10^5$  на одну клетку.  $\text{Fc}\epsilon\text{RII}$  — низкоаффинный рецептор ( $\sim 10^7 \text{ M}^{-1}$ ); он построен из трех полипептидов (50 кДа, 23 кДа, 15 кДа), экспрессирован в мембране эозинофилов и макрофагов в количестве около  $10^5$  молекул на одну клетку.

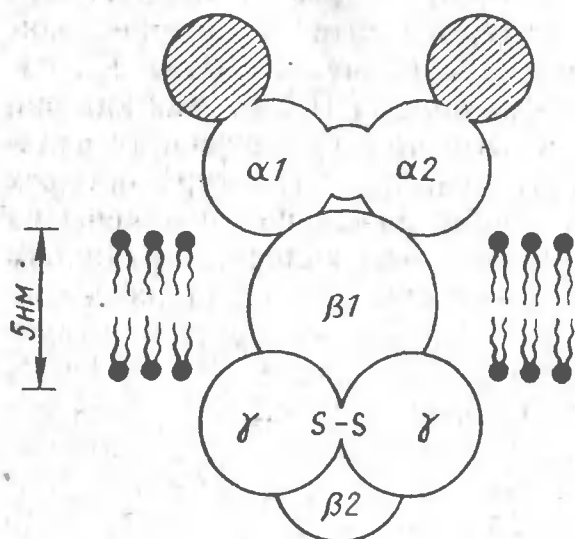


Рис. 36. Строение рецептора для Fc-фрагмента IgE (по Н. Metzger et al., 1983):

$\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  — полипептидные субъединицы

Связывание мономерного IgE с  $\text{Fc}\epsilon\text{R}$  не ведет к дегрануляции базофилов и тучных клеток. Только перекрестное сшивание (агрегация)  $\text{Fc}\epsilon\text{R}$  в клеточной мембране инициирует высвобождение содержимого гранул. Этого эффекта можно достичь с помощью мультимолекулярных агрегатов, образованных антителами класса IgE и антигеном. В качестве дегранулирующих лигандов эффективны и химически агрегированные IgE, а также бивалентные антитела против  $\text{Fc}\epsilon\text{R}$ , но не их моновалентные Fab-фрагменты. Причем бивалентные

антитела против IgE вызывают дегрануляцию тучных клеток и базофилов, предварительно сенсибилизированных (обработанных) IgE.

Таким образом, роль тучных клеток и базофилов в аллергических реакциях ясна, однако их участие в нормальной (непатологической) иммунной реакции не вполне понятно. Предполагают, что эти клетки с помощью вазоактивных веществ ограничивают кровоснабжение очага в начальной фазе иммунитета и с помощью хемотактических веществ привлекают другие клетки, в частности эозинофилы, для участия в последующих фазах реакции.

## 5.5. Вовлечение резервов путем активации кроветворения

В битве с патогеном погибает немало эффекторных клеток: лимфоцитов, макрофагов, лейкоцитов. Их ряды надо пополнять по ходу сражения. Такой механизм существует и активно функционирует.

Сразу несколько типов клеток посылают в костный мозг “заказ” на продукцию новых клеток крови — лейкоцитов и моноцитов. Главными “заказчиками” являются *активированные макрофаги*. Одновременно с ними эту функцию в той или иной мере выполняют *активированные Т-лимфоциты, фибробласты и клетки эндотелия сосудов*.

Макрофаги, стимулированные продуктами жизнедеятельности микробов (например, липополисахарид из клеточной стенки грамотрицательных бактерий), вырабатывают не менее трех различных белковых факторов, которые активируют рост и дифференцировку клеток крови. Четвертый фактор секретируют активированные Т-клетки. Все четыре фактора — белковые молекулы. Их называют *колониестимулирующими факторами (КСФ)*, так как они были идентифицированы в эксперименте по активирующему влиянию на рост колоний кроветворных клеток. Структура четырех КСФ уже установлена; методами генной инженерии получены их искусственные копии. Несмотря на это, молекулярный механизм рецепции и действия КСФ на клетки-мишени все еще не известен.

**Полипотентный КСФ (ИЛ3).** Этот белок секретируется активированными Т-лимфоцитами, той же субпопуляцией (Т<sub>2</sub>-хелперы), что продуцирует ИЛ4 и ИЛ5, но не вырабатывает ИЛ2 и γ-интерферон. ИЛ3 активирует размножение и дифференцировку клеток-предшественников моноцитов и макрофагов, гранулярных лейкоцитов и тучных клеток, а также мегакариоцитов (из них образуются тромбоциты).

Три другие КСФ обладают более ограниченной потенцией. Их действие направлено на активацию одного или двух ростков кро-

ветворения: М-КСФ — стимулятор роста и созревания моноцитов и макрофагов; Г-КСФ — стимулятор роста и созревания гранулярных лейкоцитов; ГМ-КСФ — активатор роста и созревания гранулоцитов, моноцитов и макрофагов.

Активированные макрофаги продуцируют Г-КСФ, М-КСФ и ГМ-КСФ. Эти же три фактора выделяют фибробласты и эндотелиальные клетки, активированные ИЛ1 и ФНО. Т-лимфоциты синтезируют ИЛ3 и ГМ-КСФ.

## 5.6. О единстве реакций иммунитета, воспаления и репарации

Построить полную картину межклеточных взаимодействий, определяющих реакцию организма на вторжение патогена, очень трудно. Приведенные выше сведения — это далеко не полный перечень клеток, медиаторов, их взаимных влияний и дифференцировок, реальных механизмов уничтожения патогена и, наконец, восстановления поврежденных структур. Но даже этого вполне достаточно, чтобы представить степень сложности системы.

Упрощенно цепь событий выглядит так. Первые же порции продуктов агрессора, а также продукты распада поврежденных клеток организма активируют находящиеся рядом макрофаги и выступают в роли факторов хемотаксиса для лейкоцитов. Последние выходят из кровеносного русла в ткань и вместе с макрофагами начинают битву с патогеном. С самых начальных фаз реакции участок пораженной ткани блокируется, чтобы уменьшить распространение вредоносных веществ. Внешние проявления этого процесса хорошо известны — это классические признаки воспаления (отек, покраснение, повышение температуры, боль).

Теперь известны и молекулярные механизмы этих реакций. Не последнюю роль в них играют ИЛ1 и ФНО, секретируемые макрофагами. Эти же клетки запускают реакцию лимфоцитов, представляя им антиген. Кроме того, макрофаги с помощью ИЛ1 способствуют размножению лимфоидных клеток, распознавших антиген. В свою очередь, Т-лимфоциты выделяют  $\gamma$ -интерферон, который резко стимулирует все важнейшие функции макрофагов. Совместное действие ИЛ1 и ФНО на клетки эндотелия сосудов и фибробласты заставляет последние секретировать КСФ. Более того, клетки эндотелия экспрессируют рецепторы для адгезии лейкоцитов. Т-лимфоциты продуцируют ИЛ3, а макрофаги — три других варианта КСФ. Факторы кроветворения (ИЛ3, Г-КСФ, М-КСФ и ГМ-КСФ) обеспечивают выработку новых моноцитов и гранулярных лейкоцитов. Эндотелиальные клетки сосудов с помощью приобретенных рецепторов адгезии “вылавливают” новые порции лейкоцитов из кровотока, ФНО активирует их миграцию в очаг поражения.

В это же время идут процессы роста и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов с участием многих факторов (ИЛ1, ИЛ2, ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6,  $\gamma$ -интерферона и др.). Образуются эффекторные клетки-продуценты антител и киллеры. Антитела отыскивают растворимые молекулы чужеродных антигенов, связывают их в мультимолекулярные комплексы. Эти комплексы эндоцитируются тканевыми макрофагами печени, селезенки и других тканей ретикулоэндотелиальной системы. Кроме того, антитела отыскивают и помечают все чужеродные частицы. Эти метки существенно облегчают захват частиц фагоцитами. Живые клетки, помеченные антителами, подвергаются лизису сразу несколькими смертоносными механизмами (комplement, макрофаги-киллеры, К-клетки). «Свои» клетки, измененные вирусом, эффективно лизируются Т-киллерами. Против клеток опухоли особенно эффективны такие факторы макрофагов, как ФНО, ИЛ1 и  $\gamma$ -интерферон. Клетки простейших и гельминтов лизируются эозинофилами-киллерами.

Останки чужих и своих клеток, образовавшиеся в результате этого побоища, полностью удаляются и перевариваются макрофагами до элементарных молекул. Одновременно с удалением поврежденных структур решаются проблемы их восстановления или замены (например, соединительной тканью, рубцом). Эту функцию выполняют фибробласты и клетки эндотелия сосудов, рост и направленную миграцию которых стимулируют ФНО и ИЛ1. Кроме того, ФНО индуцирует выработку фибробластами полимерных молекул (коллагены, протеогликаны), составляющих основу межклеточного матрикса вновь образованной ткани.

Итак, иммунная реакция против “чужого” закончена. Патоген уничтожен, последствия вторжения ликвидированы, установлено новое равновесие между организмом и окружающей средой. Однако это еще не все. Иммунная система обязана запомнить данного врага, чтобы в случае повторного вторжения справиться с ним быстрее и с меньшими потерями.

## Иммунная память

Начиная эту небольшую, но важную главу, следует признать, что до настоящего времени не удалось расшифровать в деталях, каким образом иммунная система запоминает антиген. Собственно, факт существования иммунной памяти не вызывает сомнений, он подтвержден многочисленными исследованиями. О механизмах же, на которых основывается иммунное запоминание, высказываются лишь догадки и предположения. Точных, обоснованных фактами представлений пока нет.

### 6.1. Различия между первичной и вторичной реакциями на один и тот же антиген

Повторное вторжение антигена в организм, как правило, индуцирует значительно более интенсивную иммунную реакцию, чем реакция на первое вторжение этого антигена. В ходе *вторичного иммунного ответа* вырабатывается в 10—100 раз больше антителосекретирующих и киллерных клеток. Более того, продукция антител и Т-клеток-эффекторов начинается и достигает максимума при вторичном ответе несколько раньше, чем при первичном.

Вторичная реакция антителообразования отличается от первичной не только быстротой и интенсивностью, но и изотипом вырабатывающихся антител. Дело в том, что в процессе любой реакции антителообразования вырабатываются различные изотипы иммуноглобулинов, специфичных к данному антигену.

Первыми вырабатываются IgM-антитела, несколько позднее — IgG, IgA и другие изотипы. Это явление называется *переключением изотипов*. В основе процесса “переключения” лежат перестройки, происходящие в структурных генах Ig одной и той же антителопродуцирующей клетки. Один и тот же V-ген тяжелой цепи сначала соединен с C<sub>μ</sub>-геном тяжелой цепи IgM (вместе оба гена (V и C<sub>μ</sub>) составляют единый *транскодон*, т. е. последовательно

считываются на одну мРНК). Затем происходит отсоединение V-гена от С-гена и присоединение его к С-гену тяжелой цепи IgG. Образуется новый транскодон. Подобные перестройки происходят в геноме и при переключении синтеза на IgA или IgE.

Что изменяется на уровне структурных генов Ig, установлено в деталях. Как и чем этот процесс управляется — не ясно. Известно, что “переключение” активируют интерлейкины, которые вырабатываются Т-хелперами. Но даже в отсутствие Т-клеточной помощи у начавших деления В-клеток происходит переключение синтеза с IgM на другие изотипы. В этом случае количество синтезируемых изотипов убывает в следующем порядке: IgM, IgG3, IgG1, IgG2b, IgG2a. Это точно соответствует последовательности СН-генов для соответствующих изотипов в направлении от 5′ к 3′-концу хромосомы. Следовательно, в отсутствие влияния Т-хелперов СН-гены Ig переключаются в порядке их расположения относительно V-генов. При воздействии на В-клетки хелперных факторов происходит “внеочередное” переключение. Например, ИЛ4 активирует переключение на IgG1 или IgE, а ИЛ5 — на IgA или IgG2.

Итак, по спектру продуцируемых изотипов антител вторичный иммунный ответ существенно отличается от первичного. Так, в ответ на первую иммунизацию продуцируется в основном IgM, других изотипов образуется значительно меньше. Повторное введение антигена индуцирует выработку главным образом IgG-антител, IgM при этом, напротив, вырабатывается очень мало. В тех или иных случаях могут вырабатываться заметные количества IgA или IgE. Но все же основной продукт — это IgG1, 2a, 2b и 3.

Следует упомянуть еще об одном отличии вторичного и первичного ответов: в ходе вторичной реакции вырабатываются антитела с более высоким сродством (аффинностью) к антигену.

## 6.2. Продолжительность иммунной памяти

Память об антигене остается не всегда. В некоторых случаях иммунная память или очень слаба, или вовсе не формируется. Так происходит при введении антигена в ослабленный организм или при иммунизации здорового индивида определенными антигенами, например полисахаридами. Видимо, в первом случае отсутствие памяти связано с отсутствием иммунной реакции, а во втором — с независимостью синтеза антител от Т-клеток.

На большинство антигенов, и в подавляющем большинстве случаев, иммунная реакция завершается *формированием памяти, специфической к данному антигену*. Иммунная память может сохраняться непродолжительно (1—2 мес) или, наоборот, длительно (несколько лет) и даже в течение всей жизни. Точно не установлено, чем определяется длительность иммунитета. Предполагают, что

это связано с длительным сохранением антигена, например инфекционного агента.

Так, считают, что инкапсулированный очаг туберкулезного поражения в легком поддерживает иммунитет к туберкулезу в течение всей жизни. Аналогично сохранение персистирующего (непатогенного) варианта вируса у переболевших обеспечивает их пожизненный иммунитет к этой конкретной инфекции. Это наблюдается у людей, переболевших корью, ветряной или натуральной оспой и другими вирусными инфекциями. Однако строгих доказательств прямой связи между вирусоносительством и сохранением иммунной памяти пока недостаточно.

Во многих случаях запоминание может происходить без какой-либо персистенции живого антигена. Например, при введении "убитых" форм инфекционных антигенов, в частности белков, формируется иммунная память. Она может сохраняться даже несколько лет. Каким образом? — Наиболее популярное объяснение приведено ниже.

### 6.3. Гипотетический механизм иммунной памяти

Известно, что в ходе иммунной реакции не все Т- и В-клетки, отвечающие на антиген, совершают терминальную дифференцировку. Часть реагирующих лимфоцитов пролиферирует, но не дифференцируется в эффекторные формы (АСК, киллеры). Закончив деление, эти клетки остаются в виде малых покоящихся лимфоцитов, несущих на поверхности рецепторы к тому же самому антигену. Их называют *Т- и В-клетками памяти*. Об этих клетках известно очень немного, но есть основания предполагать, что клетки памяти живут долго, возможно, несколько лет. Встретившись с антигенами повторно, они пролиферируют. При этом на путь дифференцировки вновь вступает лишь часть клеток, другие остаются как элементы памяти. С каждым разом возрастает число клеток, несущих рецепторы к данному антигену. Возможно, поэтому путем многократных иммунизаций удается индуцировать очень сильную иммунную реакцию.

В-Клетки памяти уже в ходе первого иммунного ответа производят "переключение" изотипа, только не секреторного, а мембранного Ig. Они в большинстве случаев несут мембранные IgG-рецепторы, гораздо реже IgA-рецепторы. Именно поэтому вторичная реакция сразу начинается с продукции IgG-антител и этот изотип является доминирующим.

Описанные выше представления позволяют легко объяснить, почему при вторичном ответе продуцируются высокоаффинные антитела. При первой иммунизации происходит селекция клеток с наибольшим сродством к антигену. Они получают преимущество в

пролиферативной реакции. Следовательно, популяция клеток памяти отобрана по признаку высокой аффинности рецепторов к антигену, и, как следствие, при повторной реакции она будет производить более аффинные антитела. По той же причине для индукции вторичного ответа можно использовать значительно меньшие дозы антигена, чем для индукции первой реакции.

## 6.4. Проблемы иммунной памяти

Даже если считать, что механизм иммунной памяти основывается на сохранении повышенного количества Т- и В-клеток, несущих рецептор к данному антигену, то остается целый ряд ключевых вопросов, требующих анализа. По меньшей мере следует ответить еще на два важных вопроса: отличается ли клетка памяти от первичных клеток данного клона? происходят ли неравнозначные деления лимфоцитов в ходе иммунного ответа?

Можно предположить, что клетки памяти отличаются некоторыми важными свойствами от своих предшественников, например, что у них *снижен порог возбуждения*. Эта идея проводит аналогию между механизмами иммунной и нейронной памяти. Ее можно проверить в прямых экспериментах с В- и Т-клетками памяти.

Одним из самых важных отличительных свойств клеток памяти, возможно, является *продолжительность их жизни*. Это свойство необходимо детально изучить. Пока же о времени жизни клеток памяти, а также о корреляции между этим признаком и временем сохранения иммунной памяти достоверных сведений почти нет.

Вопрос о неравнозначном клеточном делении возникает из того факта, что одна часть реагирующих лимфоцитов вступает на путь терминальной дифференцировки (например, В-клетка → АСК), а другая — не дифференцируется в эффекторные клетки (В-клетка → В-клетка памяти). Вполне возможно, что такая дихотомия происходит на уровне двух потомков одной и той же клетки. Во всяком случае фактических данных, позволяющих категорически отвергнуть такую возможность, пока нет. Правда, судьба каждой из дочерних клеток может решаться не в митозе и независимо от него. Некоторое время спустя после завершения деления, когда обе вновь образовавшиеся клетки становятся самостоятельными, одна из них может оказаться в сфере влияния фактора дифференцировки, а другая — нет. Такое объяснение разной судьбы двух дочерних клеток проще и понятнее, чем неравнозначное деление. Однако для выбора между двумя возможными механизмами фактического материала пока явно недостаточно. Требуется проведение специальных исследований, причем следует помнить, что вопрос о различной дифференцировке двух потомков одной и той же клетки не ограничен только лимфоцитами, реагирующими на антиген. По-

добное событие происходит и в процессе дифференцировки любой полипотентной (бипотентной) стволовой клетки, которая дает начало нескольким росткам кроветворения: лейкоцитам, эритроидным клеткам, лимфоцитам, моноцитам.

Рассмотренные здесь два вопроса — об отличительных свойствах клеток памяти и о возможности неравнозначных делений при образовании клеток памяти — не отражают всех проблем иммунной памяти. Не пытаясь решить все назревшие вопросы, касающиеся запоминающей функции иммунитета, остановимся лишь еще на одном. Принципиальное значение для понимания механизмов памяти могут иметь прямые количественные измерения числа лимфоидных клеток, специфичных к данному антигену, на различных стадиях иммунного ответа. Эти измерения необходимо провести после первой, второй и третьей иммунизаций. При этом обязательно исследовать динамику специфической к антигену субпопуляции клеток в течение длительного периода (месяцы, годы) после иммунизации, сопоставляя полученные результаты с данными о сохранении иммунной памяти (по уровню ответа на антиген).

Только точные сведения о количестве антигенспецифических клеток на всех стадиях иммунной памяти в сочетании с математическими вычислениями прогрессии этих клеток во время реакции на каждую инъекцию антигена позволят корректно оценить, в какой мере иммунная память зависит от увеличения числа реагирующих клеток.

## Регуляция иммунитета

---

Иммунная реакция, начавшись под влиянием антигена, прогрессивно нарастает обычно в течение 1—2 нед. За этот период образуется большое количество эффекторных средств иммунитета (антитела, клетки-киллеры), создается увеличенный фонд клеток памяти. Необходимо остановить реакцию, иначе вследствие геометрической прогрессии реагирующих клеток и их продуктов в организме могут возникнуть серьезные диспропорции. Неограниченно размножающаяся популяция клеток, вовлеченных в реакцию, может уподобиться злокачественной опухоли.

Более четверти века ученые предпринимают попытки исследовать механизм ограничения иммунного ответа. Поначалу казалось, что его можно представить как механизм отрицательной обратной связи, функционирующий во многих других биологических системах. Действительно, в условиях эксперимента было показано, что высокими концентрациями антител можно подавить продукцию таких же антител.

На следующей ступени познания появились догадка и подтверждающие ее факты, что в иммунной системе имеются специализированные клетки, ответственные за прекращение иммунной реакции, *клетки-супрессоры*. Но и этот элемент оказался лишь одной из многих деталей регуляторного механизма.

### 7.1. Современные представления о механизмах регуляции иммунитета

Сегодняшние представления о регуляции иммунитета характеризуются осознанием следующих моментов. 1. Процессы торможения нельзя рассматривать в отрыве от процессов активации. 2. Существуют сложные сети взаимно влияющих клеток, в которых функционирует не один десяток молекул-активаторов и молекул-супрессоров. 3. Обилие накопленных фактических сведений по воп-

росам регуляции иммунных реакций пока не поддается строгому количественному описанию ни в одной из предложенных теоретических моделей.

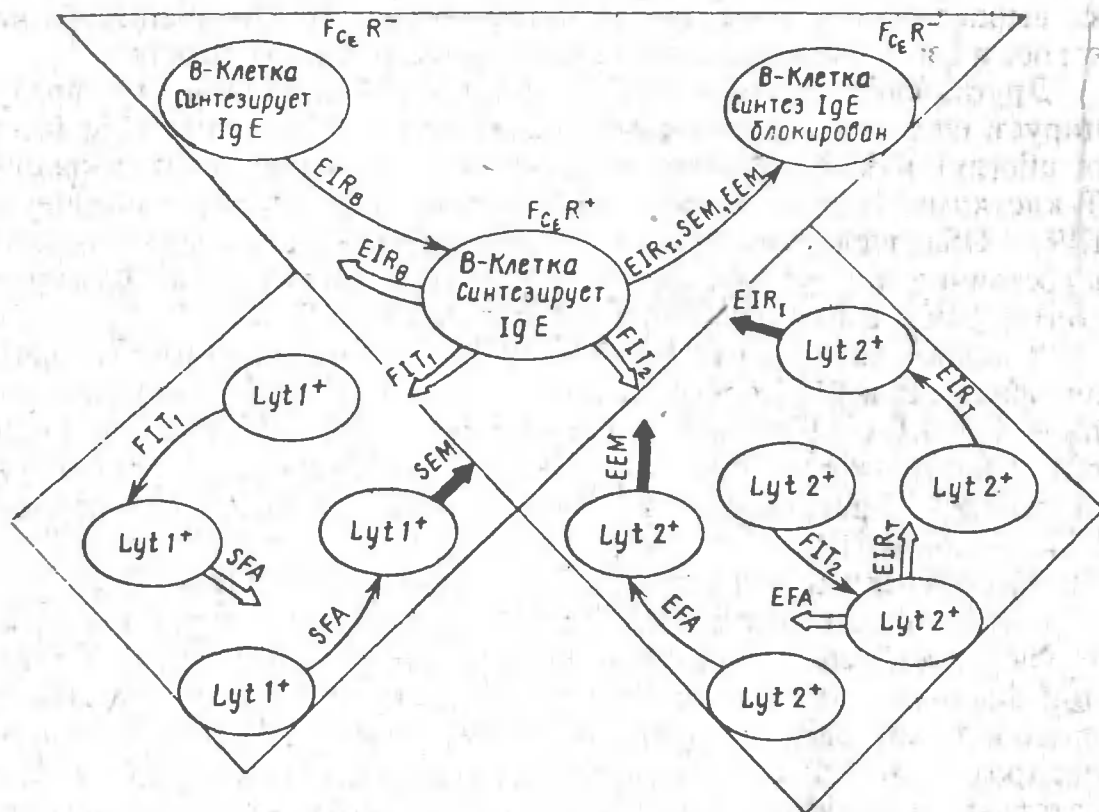


Рис. 37, Регуляторные межклеточные взаимодействия, ограничивающие секрецию IgE после повышения его уровня в среде  
Пояснения см. в тексте

Для иллюстрации современного этапа изучения регуляторных процессов в иммунитете можно привести некоторые сведения о регуляции синтеза антител изотипа IgE (рис. 37). Предложенная схема преднамеренно упрощена. Рассмотрено лишь несколько типов лимфоидных клеток, взаимодействующих на заключительных стадиях продукции IgE. Каскад клеточных взаимодействий запускают повышенные концентрации IgE. Антитела этого изотипа действуют на В-лимфоциты, продуцирующие IgE. Их действие опосредуется мембранными рецепторами для Fc-фрагмента IgE ( $Fc_\epsilon R$ ). Под влиянием IgE В-клетки, несущие  $Fc_\epsilon R$ , начинают вырабатывать три регуляторных медиатора —  $EIR_B$ ,  $FIT_1$  и  $FIT_2$  (сохранены англоязычные названия факторов и соответствующие аббревиатуры).

$EIR_B$  (от англ. IgE-induced regulator) индуцирует экспрессию  $Fc_\epsilon R$  на других В-клетках, т. е. делает эти клетки чувствительными к уровню IgE-антител.  $FIT_1$  (от англ. factor-inducer of T-cells)

индуцирует выработку Т-лимфоцитами фактора SFA (suppressive factor of allergy). Причем на  $FIT_1$  реагируют только Т-клетки, имеющие на поверхности белок  $Lyt1$ . Под влиянием SFA  $Lyt1^+$  Т-клетки вырабатывают вещество SEM (suppressive effector molecule), которое, в свою очередь, прекращает синтез IgE в В-клетках.

Другая субпопуляция  $Lyt2^+$  Т-клеток под влиянием  $FIT_2$  продуцирует еще два регуляторных медиатора — EFA (enhancing factor of allergy) и  $EIR_T$ . Каждое из этих веществ индуцирует секрецию Т-клетками соответственно EEM (enhancing effector molecule) и  $EIR_I$ . Оба последних отменяют действие  $EIR_B$ , переводя В-клетки в состояние, не чувствительное к IgE. В частности, EEM блокирует синтез  $EIR_B$ , а  $EIR_I$  ингибирует экспрессию  $Fc_\epsilon R$ .

В целом, если судить по синтезу В-клетками IgE-антител, регуляторная цепь  $FIT_1 \rightarrow SFA \rightarrow SEM$  выглядит как супрессорная, а цепи  $FIT_2 \rightarrow EFA \rightarrow EEM$  и  $FIT_2 \rightarrow EIR_T \rightarrow EIR_I$  как хелперные. В действительности каждая цепь состоит из нескольких последовательных активаций, завершающихся выработкой ингибиторных веществ SEM, EEM и  $EIR_I$ .

Рассмотренный каскад касается лишь экспрессии на В-клетках  $Fc_\epsilon R$  и синтеза ими антител IgE. Он отражает лишь часть регуляторных процессов, влияющих на продукцию IgE. Система регуляции значительно сложнее. В подтверждение достаточно упомянуть лишь о некоторых дополнительных сведениях. Во-первых, при гиперпродукции IgE на Т-лимфоцитах тоже появляются  $Fc_\epsilon R$ . Следовательно, продукция Т-клетками всех упомянутых выше факторов (SFA, SEM, EFA, EEM,  $EIR_T$ ,  $EIR_I$ ) тоже может зависеть от уровня IgE. Во-вторых, экспрессия  $Fc_\epsilon R$  на клетках подвержена регуляторному влиянию интерферонов, а секреция IgE — регуляторному влиянию интерлейкинов. В-третьих, уровень продукции IgE зависит не только от секреторной активности антителопродуцентов, но и от их количества, которое, в свою очередь, определяется интенсивностью пролиферации и дифференцировки соответствующих В-лимфоцитов. Следовательно, все рассмотренные в предшествующих главах факторы, влияющие на деление и дифференцировку лимфоцитов, так или иначе будут вовлечены в регуляцию синтеза IgE-антител.

Не проще выглядят современные представления о регуляции синтеза других изотипов антител. В такой же мере сложны и каскады взаимодействующих клеток при рассмотрении регуляции клеточного иммунного ответа, например реакции образования антигенспецифических Т-киллеров.

Итак, регуляция по механизму отрицательной обратной связи через  $Fc$ -рецепторы, через клетки-хелперы и клетки-супрессоры, через изменение синтеза рецепторных молекул или секрецию медиаторных белков переплетена с регуляцией делений и дифференцировки любых типов клеток, вовлеченных в каскад. Наряду с пе-

речисленными существует еще один очень важный вариант регуляции иммунитета. Это так называемые *идиотипические сети*.

*Идиотипом* называют антигенную детерминанту в области активного центра антитела (см. разд. 4.1.1). Как и всякая белковая молекула, антитело, являющееся белком-иммуноглобулином, может служить “мишенью” для другого антитела, т. е. выступать в роли антигена. На поверхности молекулы иммуноглобулина находится несколько участков (детерминант), против которых преимущественно вырабатываются *анти-антитела*.

Некоторые из этих детерминант отражают принадлежность Ig к тому или иному биологическому виду. Другие детерминанты являются признаками различий между продуктами аллельных вариантов генов Ig в пределах биологического вида. Третий тип детерминант локализован в участках, строением которых различаются изотипы IgM, IgG, IgA, IgD, IgE. Наконец, четвертый тип антигенных детерминант на поверхности молекулы Ig отражает разнообразие структуры вариабельного домена. Даже у одного индивида в пределах одного изотипа всегда существует много вариантов вариабельного домена. Эти детерминанты называются *идиотипическими*, их разнообразие почти так же велико, как разнообразие антигенсвязывающих центров антител.

Наращение концентрации любого антитела можно рассматривать как появление нового антигена-идиотипа. Против идиотипа вырабатываются *антиидиотипические антитела* (рис. 38). Они, в свою очередь, обладая уникальной структурой V-домена, индуцируют образование антител третьего порядка — *анти-антиидиотипических*. Цепь последовательной индукции первыми антителами всех последующих антител не замкнута. В эксперименте зафиксирована продукция антител четвертого порядка.

Подобно антителам, антигенузнающие рецепторы Т-клеток, а также некоторые растворимые белковые факторы Т-клеточной природы обладают идиотипическими

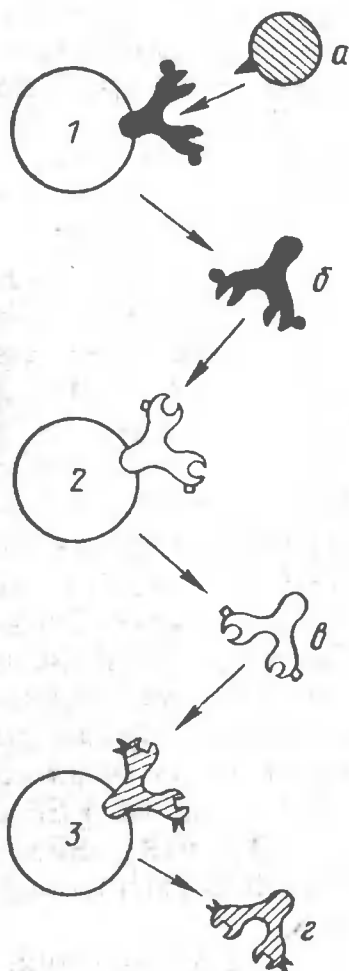


Рис. 38. Идиотип-антиидиотипическая цепь:

цифрами обозначены лимфоидные клетки, продуцирующие антитела соответствующего порядка; *a* — антиген, *b* — антитело первого порядка (идиотип), *a* — антитело второго порядка (антиидиотип), *g* — антитело третьего порядка; остальные пояснения см. в тексте

детерминантами. Против идиотипов могут реагировать не только В-клетки (синтез антител), но и Т-лимфоциты. Влияние антиидиотипа (антитело или Т-клетка) на идиотипнесущую клетку может быть двояким: либо активирующим, либо угнетающим. Увеличение числа идиотипопозитивных клеток или молекул в ходе иммунной реакции может вызвать затухающую волну последовательной продукции антиидиотипических клеток и молекул второго, третьего или большего порядков. Такие цепи клеток и молекул, в которых появление каждого последующего звена индуцируется идиотипом предыдущего звена и специфически ориентировано против него, называют *идиотипическими сетями*.

В принципе любую из рассмотренных выше схем межклеточных взаимодействий в иммунной реакции, и в частности схему регуляции синтеза IgE-антител, следует усложнить адекватной идиотипической сетью.

## 7.2. Центральная проблема регуляции иммунной реакции

Представления о регуляторных звеньях и сетях, кратко описанные выше, позволяют составить впечатление о степени сложности системы иммунитета. Эти же сведения в какой-то мере отражают, каким багажом фактов располагают исследователи в настоящее время. Наконец, эти данные создают впечатление неоправданно большой, чрезмерной усложненности механизма иммунной реакции. Если к описанному в данной главе добавить сведения из предыдущих глав, то возникает картина почти хаотическая. Десятки вариантов клеток (различные субпопуляции лимфоцитов, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, тучные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки, ретикулярные, дендритные клетки и др.) выделяют еще большее число растворимых факторов (антитела, антиидиотипы, факторы супрессии типа SEM, EIR<sub>1</sub> и EEM, факторы активации типа FIT, EIR<sub>T</sub>, EIR<sub>B</sub>, SFA и EFA, интерлейкины, интерфероны, фактор некроза опухоли, колониестимулирующие факторы и т. д., и т. п.).

Каждый фактор, как правило, действует на несколько типов клеток: Напротив, на одну и ту же клетку оказывает влияние несколько разных факторов, зачастую приводя к идентичным ответам клетки. В довершение ко всему реакции разных типов клеток "иммунного кооператива" распределены во времени (1—2 нед и более). Некоторые процессы идут параллельно, некоторые — последовательно. Здесь со всей очевидностью возникает центральный вопрос регуляции иммунной реакции: *каким образом иммунная система (организм) управляет сложным динамическим сообществом перечисленных типов клеток и процессов?*

Скорее всего, хаотичность и чрезмерная усложненность — кажущиеся. Такое впечатление отражает наше непонимание принципов управления этой системой. Деталей системы много, много и взаимодействий между ними. В то же время, как и во всякой сложной системе, должны быть ключевые события, “узкие места”, от которых и зависит работа всей системы. На современном уровне центральная проблема состоит в построении полной количественной модели иммунной реакции и ее управления. Только таким путем удастся осмыслить значимость накопленных фактов, оценить вклад каждого отдельного процесса в работу всей машины. Эта же работа позволит обратить внимание на недостающие звенья, что, возможно, приведет к обнаружению новых деталей, установлению новых фактов.

Наконец, осмысление накопленных фактических данных, построение логических схем позволят понять еще не понятые принципы устройства и функционирования иммунитета.

### 7.3. Надежность иммунного механизма

В гл. 2 были рассмотрены основные принципы функционирования иммунной системы: 1) всеобъемлющий контроль антигенного состава организма; 2) полное уничтожение “чужого”; 3) высокая точность реагирования в отношении выявленного антигена. В данной главе мы коснулись еще одного очень важного принципа иммунитета — *надежности выполнения защитной функции*.

Действительно, практически каждое звено в иммунных цепях, каждое сочленение двух взаимодействующих звеньев так или иначе дублированы. Внешне это создает впечатление избыточности и даже бессмысленности. К примеру, кажется странным, что активация делений и дифференцировки В-лимфоцитов может происходить под влиянием нескольких растворимых факторов ИЛ4, ИЛ5, ИЛ1, ИЛ2, ИЛ6, а также ФНО и  $\gamma$ -интерферона. При этом ИЛ4 и ИЛ5 продуцируют одни Т-клетки; ИЛ2 и  $\gamma$ -интерферон — другие Т-клетки; ИЛ1, ИЛ6 и ФНО — макрофаги; ИЛ1 и ИЛ6 — фибробласты и клетки эндотелия сосудов.

Другой пример — иммунная система использует сразу несколько эффекторных механизмов для убийства опухолевых клеток: Т-киллеры, активированные макрофаги, естественные киллеры, так называемые К-клетки, срабатывающие в присутствии антител и, наконец, литический механизм системы комплемента.

Третий пример, на который мы уже обращали внимание в одной из предшествующих глав: против единственной антигенной детерминанты реагируют десятки, а иногда и сотни клонов лимфоцитов; вырабатываются соответственно сотни разных (по структуре

активного центра) антител, связывающих эту детерминанту с разной степенью сродства.

Во всех упомянутых случаях, казалось бы, достаточно одного или двух факторов, или типов клеток-убийц, или вариантов антител к данной детерминанте. Однако иммунная система вырабатывает не один, не два, а много вариантов аналогичных по функции факторов, клеток, антител. Несомненно, это предопределяет очень высокую надежность срабатывания иммунного механизма. Каждое элементарное событие в иммунном каскаде подобно выстрелу горстью дробинок, а не одной-единственной пулей. Так обеспечено надежное достижение конечной цели иммунной реакции — уничтожение “чужого”.

## Движение клеток иммунной системы

Рассматривая иммунитет как сложную динамическую систему, мы почти не обращали внимания на перемещение кооперирующихся клеток в масштабах участка ткани, органа, всего организма. Между тем *способность клеток иммунной системы к миграциям* — одно из важнейших и обязательных условий функционирования иммунитета. К тому же ключевые события, регулирующие движение клеток иммунной системы, происходят на уровне плазматической мембраны и при ее активном участии.

### 8.1. Рециркуляция лимфоцитов

Огромная популяция лимфоцитов организма условно может быть поделена на *оседлые* и *блуждающие* лимфоидные клетки. Большая часть лимфоцитов циркулирует в организме с током крови и лимфы. В то же время значительное количество лимфоидных клеток локализуется в органах, являясь компонентом лимфатических узлов, селезенки, пейеровых бляшек, неинкапсулированных лимфоидных фолликулов (в рыхлой соединительной ткани слизистых оболочек и кожи). Разделение множества лимфоцитов на оседлые и блуждающие не абсолютно. Между этими двумя популяциями происходит постоянное перераспределение.

Пути циркуляции лимфоидных клеток определяются током крови и лимфы (см. рис. 2). В сердце и артериях эти две жидкие ткани объединены и перемешаны. Разделение происходит в тканевых капиллярах. Часть жидкости уносится с кровью в вены, другая, просочившись сквозь ткань, попадает в лимфатические капилляры. Отсюда она собирается в более крупные лимфатические сосуды и поступает через лимфатический проток в самые крупные вены в непосредственной близости от сердца.

Большинство блуждающих лимфоцитов циркулирует с током крови. Но и лимфа очень богата лимфоидными клетками, причем

популяция лимфоцитов в лимфе непрерывно обменивается. С одной стороны, эти клетки постоянно удаляются из лимфатической системы, попадая с током лимфы через грудной проток в кровь. С другой стороны, эта потеря постоянно компенсируется переходом лимфоцитов из крови в лимфу. Местом этого перехода являются *лимфатические узлы*. Здесь в самых малых венах (так называемые *посткапиллярные венулы*) лимфоциты проходят сквозь стенку сосуда и оказываются в ткани лимфатического узла. Вместе с лимфой, которая фильтруется сквозь эту ткань, лимфоидные клетки уходят из лимфатического узла в лимфатический сосуд и далее, в лимфатический проток и венозную кровь. Круг замыкается. Перемещение лимфоцитов по пути — кровь → посткапиллярная венула лимфатического узла → ткань лимфатического узла → лимфа → кровь — принято называть *рециркуляцией лимфоцитов*.

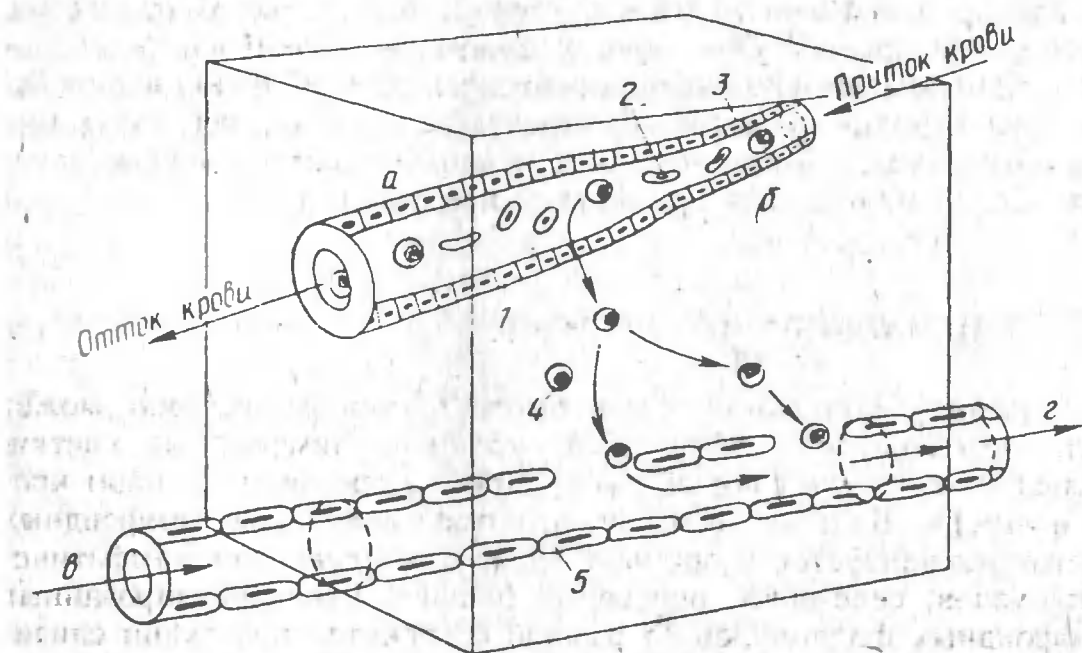


Рис. 39. Переход в лимфатических узлах лимфоцитов из кровотока в лимфоток:

1—5 — типы клеток: 1 — клетки высокого эндотелия посткапиллярной венулы, 2 — эритроцит, 3 — клетки эндотелия кровеносного капилляра, 4 — лимфоцит, 5 — клетки эндотелия, выстилающие подкапсульный синус лимфатического узла; а — посткапиллярная венула, б — кровеносный капилляр, в, г — приносящий и выносящий лимфатические сосуды; фрагмент ткани лимфатического узла изображен в виде куба

Ключевым моментом в рециркуляции лимфоцитов между кровью и лимфой является *проникновение клеток через стенку венулы* (рис. 39). Здесь все определяется *высокоспецифическим взаимодействием двух клеточных мембран*: лимфоцита и клетки эндотелия. Посткапиллярные венулы лимфатических узлов выстланы слоем особых эндотелиальных клеток, который по морфологическим признакам назван *высоким эндотелием*. Клетки высокого

эндотелия экспрессируют на своей поверхности особые молекулы адгезии, через посредство которых лимфоцит прикрепляется к стенке сосуда. В свою очередь, мембрана циркулирующих лимфоцитов снабжена специальными рецепторами для связывания с молекулами адгезии на эндотелиальных клетках.

Структура взаимодействующих молекул находится в стадии изучения. Еще предстоит расшифровать, каким образом прикрепившийся лимфоцит проходит сквозь слой эндотелиальных клеток и через базальную (соединительнотканную) мембрану, на которой располагается эндотелий. Сведения об этом процессе, накопленные к настоящему времени, позволяют предполагать, что лимфоцит "протискивается" между двумя соседними клетками высокого эндотелия. При этом характерно, что целостность эндотелиального слоя не нарушается. Например, эритроциты не могут пройти вместе с лимфоцитами сквозь стенку венулы.

Посткапиллярные венулы лимфатических узлов не уникальны в своей способности задерживать и пропускать сквозь свою стенку лимфоидные клетки. Нечто подобное происходит в венулах пейеровых бляшек. Интересно, что тонкая специфичность молекул адгезии на эндотелии лимфатических узлов и пейеровых бляшек различна. В популяции блуждающих лимфоцитов одни клетки предпочтительно задерживаются на эндотелии венул лимфатических узлов, другие — на эндотелии венул пейеровых бляшек. В то же время и те, и другие лимфоциты адгезируют на высоком эндотелии брыжеечных лимфатических узлов, переходя из крови в ткань этих лимфоидных образований. Видимо, селективная способность "отлавливать" ту или иную субпопуляцию лимфоидных клеток из кровотока и определяет своеобразие клеточного состава различных лимфоидных органов. Например, большинство периферических лимфатических узлов содержит около 70—80% Т-лимфоцитов и всего 20—25% В-клеток. Напротив, в пейеровых бляшках в основном сосредоточены В-клетки, их содержание достигает 70% и более. В то же время Т-клеток в пейеровых бляшках всего 10—20%.

В связи с высокоспецифической адгезией определенных типов лимфоидных клеток на вполне конкретных типах эндотелиальных клеток следует вспомнить еще о двух родственных фактах.

Как было показано в гл. 5, в непосредственной близости от очага вторжения патогена под влиянием продуктов (ИЛ1 и ФНО) активированных макрофагов клетки эндотелия кровеносных сосудов экспрессируют на своей поверхности молекулы для адгезии гранулярных лейкоцитов. Именно в этом участке эндотелия гранулоциты проникают сквозь стенку сосуда в ткань и устремляются в очаг.

Другой факт касается селективного "отлавливания" из кровотока опухолевых клеток или десилированных эритроцитов. Этот процесс осуществляется в кровеносных синусах печени. Клетки эн-

дотелия и макрофаги (купферовские клетки), выстилающие кровеносный синус, содержат в плазматической мембране специальные рецепторные молекулы. Рецепторы, видимо, представлены белком (30 кДа), специфически связывающим концевые остатки D-галактозы и N-ацетил-D-галактозамина. Любые частицы, несущие на поверхности гликоконъюгаты с концевыми остатками галактозы, удаляются из печеночного кровотока с помощью указанных рецепторов. В роли таких частиц могут оказаться опухолевые клетки или фрагменты состарившихся эритроцитов, поврежденных в контролирующих фильтрах селезенки.

Упомянутые факты в сочетании с информацией о проникновении лимфоцитов сквозь стенку эндотелия посткапиллярных венул наводят на следующее предположение. Механизм селективного вылавливания из кровотока тех или иных циркулирующих клеток универсален в своей принципиальной части. В нужном месте и в нужное время на клетках, выстилающих сосуд, экспрессируются рецепторы, которые селективно "выхватывают" из кровотока нужный тип клеток. В каждом конкретном случае различаются лишь детали этого механизма: *структура и тонкая специфичность адгезионных рецепторов, время и место их экспрессии*. Именно этими деталями и определяются пути миграции циркулирующих клеток иммунной системы. В то же время особенности передвижения тех же клеток в тканях, куда они вышли из кровотока, связаны с какими-то дополнительными механизмами.

## 8.2. Движение и расселение лимфоидных клеток в тканях

Т- и В-лимфоциты циркулируют в крови совместно. Из кровотока эти клетки выходят, проникая сквозь стенку венул в одном и том же участке: через высокий эндотелий посткапиллярных венул. Однако в ткани они локализуются изолированно друг от друга. Изоляция не абсолютна, но очень ярко выражена. Во всех лимфоидных и нелимфоидных тканях, где постоянно присутствует существенное количество Т- и В-лимфоцитов, эти две клеточные популяции расселены в самостоятельных зонах.

Так, В-клеточные зоны в лимфатических узлах располагаются в самых периферических (подкапсульных) областях коркового вещества. Они представлены большими округлыми колониями В-лимфоцитов и называются *первичными фолликулами*. Т-клетки расселены во внутренней (диффузной) части коркового вещества (см. рис. 3). Здесь же в диффузной части проходят посткапиллярные вены.

В ходе иммунной реакции в лимфатическом фолликуле, в той части В-зоны, которая вплотную прилегает к Т-зоне, образуется

зародышевый центр, где локализуются делящиеся и дифференцирующиеся В-клетки. Здесь же появляется небольшое количество Т-хелперов. Клетки, превратившиеся в антителосекретирующие (плазматические), перемещаются из зародышевого центра к воротам лимфатического узла; накапливаясь там, они образуют *мякотные шнуры*.

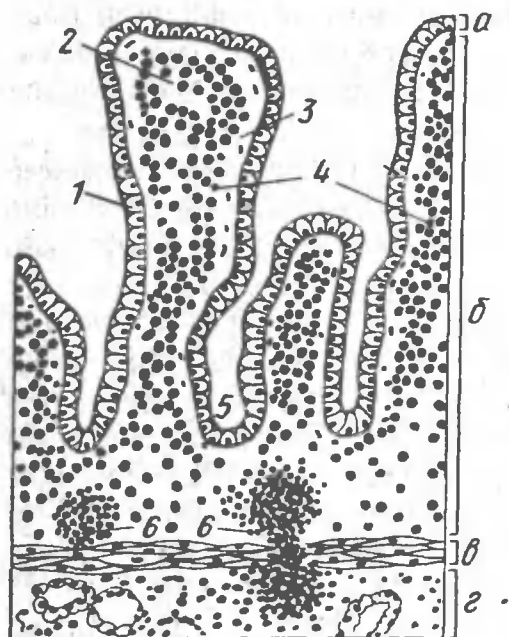


Рис. 40. Схематическое изображение поперечного среза слизистой оболочки кишечника:

а-г — послойное строение; 1-6 — основные типы клеток: а — цилиндрический эпителий, б — собственная пластинка слизистой (рыхлая соединительная ткань), в — мышечная пластинка, г — подслизистая основа; 1 — бокаловидный эпителий, 2 — ворсинка, 3 — базальная соединительнотканная пластинка, 4 — вал Т-лимфоцитов, 5 — либеркюнова крипта, 6 — лимфоидный фолликул (В-клетки)

роцитов в селезеночной ткани. Придя вместе, В- и Т-лимфоциты поселяются в самостоятельных зонах. В-клетки формируют фолликулы, а Т-клетки оккупируют периартериоларные муфты.

В пограничной ткани кожи, слизистых оболочек и эпителиальных покрытий содержится очень большое количество лимфоидных клеток. И даже здесь Т- и В-клетки располагаются в своих зонах. В качестве иллюстрации достаточно рассмотреть расселение В- и Т-клеток в слизистой оболочке кишечника (рис. 40). Основу слизистой составляет слой рыхлой соединительной ткани — так называемая собственная пластинка. На ней базируется слой эпители-

Механизмы, управляющие перемещениями Т- и В-клеток в ткани лимфатического узла, неизвестны. Неизвестно также, какими молекулярными процессами определяются раздельное поселение покоящихся Т- и В-клеток, миграция Т-хелперов в В-зону при антигенной активации, миграция созревающих В-клеток из подкапсульной ткани в мозговую, в область мякотных шнуров и ворот лимфатического узла.

Принципиально такие же процессы дискретного поселения и миграции Т- и В-клеток характерны для селезенки, пейеровых бляшек, брыжеечных лимфатических узлов, окологлоточных миндалин и практически любых лимфоидных образований, даже не оформленных в виде органа, диффузных.

Например, в селезенку Т- и В-клетки приносятся кровью в маргинальную зону. Им не нужно проникать сквозь стенку кровеносного сосуда, так как артериальные капилляры открываются в ткань селезенки. Подтверждением этому служит большое количество эритро-

альных клеток кишечника, под ней — тонкий слой гладкомышечных волокон — мышечная пластинка. Кровеносные капилляры разветвляются в каждой ворсинке кишечника в толще собственной пластинки.

Ткань слизистой оболочки буквально нафарширована лимфоцитами. Т-клетки локализуются вплотную к эпителиальным клеткам, образуя многослойный лимфоидный вал, В-клетки располагаются в виде фолликулов на границе между собственной и мышечной пластинками. Часто крупные фолликулы пронизывают мышечную пластинку, размещаясь одновременно и в слизистой, и в подслизистой.

Слившиеся между собой фолликулы, достигающие размеров 2—3 мм, принято называть *солитарными фолликулами*. Еще более крупные лимфоидные образования в подслизистом слое — *пейеровы бляшки*.

При антигенной активации В-клеточные лимфатические фолликулы (одинокые или включенные в структуру солитарного фолликула или пейеровой бляшки) образуют *зародышевый центр*. Здесь при участии небольшого числа Т-хелперов происходит размножение и созревание В-клеток. В конечном счете зрелые АСК перемещаются в ткань собственной пластинки, где располагаются в непосредственной близости от клеток эпителия.

Примечательно, что новые В-лимфоциты, рождающиеся в пейеровых бляшках, мигрируют с током лимфы в кровь. Они направляются во многие ткани тела, но предпочитают поселяться в ткани собственной пластинки вдоль всего кишечника. Уже спустя 1—2 сут после начала своего путешествия эти лимфоциты оседают в собственной пластинке кишечника, где быстро превращаются в *плазматические клетки*.

Интересно, что лимфоциты, активированные в аналогичных лимфоидных образованиях кожи, мигрируя, предпочитают возвращаться в ткань кожи, а лимфоциты подэпителиального слоя дыхательных путей — обратно в “свою” ткань. Существуют предварительные данные, что в каждом случае тропизм клеток к той или иной ткани детерминирован экспрессией соответствующих молекул адгезии на поверхности лимфоцитов, с одной стороны, и на поверхности определенных клеток ткани — с другой. Работы по выяснению структуры и свойств таких молекул находятся на самом начальном этапе.

Если избирательную задержку циркулирующих клеток в той или другой конкретной ткани еще удастся как-то объяснить, то механизмы дискретного расселения и направленной миграции лимфоцитов внутри тканей пока остаются совершенно неизведанными. В этой проблеме представляются важными три аспекта: механизм движения клетки по субстрату, направленное движение клетки по градиенту концентрации какого-либо химического агента и взаимо-

действие движущейся или неподвижной клетки с тканевым матриксом.

### 8.2.1. Механизм движения клетки по субстрату

Многие типы клеток многоклеточного организма способны к активному передвижению. Однако лишь сперматозоиды могут двигаться в жидкой фазе благодаря наличию жгутика. Другие клетки, видимо, способны активно перемещаться только на твердом субстрате. Субстратом для движущейся клетки служат поверхность других клеток или полимерные волокна, из которых построено межклеточное вещество — *тканевой матрикс*.

Механизм движения клетки по субстрату изучают многие годы. Уже накоплено немало интересных сведений об этом процессе, но общепринятых устоявшихся представлений пока нет. Не вызывает сомнений, что движение клетки определяется согласованной работой мембраны и цитоскелета. Ясно и то, что процесс движения клетки тесно связан с процессами эндоцитоза и экзоцитоза.

Среди предложенных механизмов клеточного движения наиболее обоснованной представляется модель английского исследователя М. Аберкромби. Главные постулаты модели таковы. Эндоцитоз, экзоцитоз и движение — единый процесс. Векторное движение определяется векторным экзоцитозом. Эндоцитоз фрагментов мембраны происходит по всей поверхности клетки, а экзоцитоз — преимущественно на переднем крае движущейся клетки. В результате такого векторного переноса мембранных пузырьков происходит непрерывное наращивание мембраны в области переднего (ведущего) фронта клетки (рис. 41, А).

Каждая новая порция пузырьков, встраиваясь в мембрану ведущего фронта, отодвигает ранее лидировавшие участки мембраны назад. “Удлинение” мембраны на переднем крае сопровождается перетеканием липида мембраны в обратном направлении. Клетка движется вперед, при этом существует постоянный поток мембранного липида назад.

Наглядной схемой происходящих процессов может служить игра с конечным числом последовательно составленных элементов (рис. 41, Б). Если элементы с одного конца “стопки” переставлять на другой конец, то происходят два события: 1) вся “стопка” элементов передвигается в направлении производимых перестановок; 2) внутри “стопки” элементы смещаются в обратном направлении (первый элемент движется на последнее место). Если цепь элементов замкнута, то она становится подобной четкам или гусеничному механизму танка.

Поток липида в мембране движущейся клетки можно визуализировать, например, пометив погруженные в липид белки. Именно

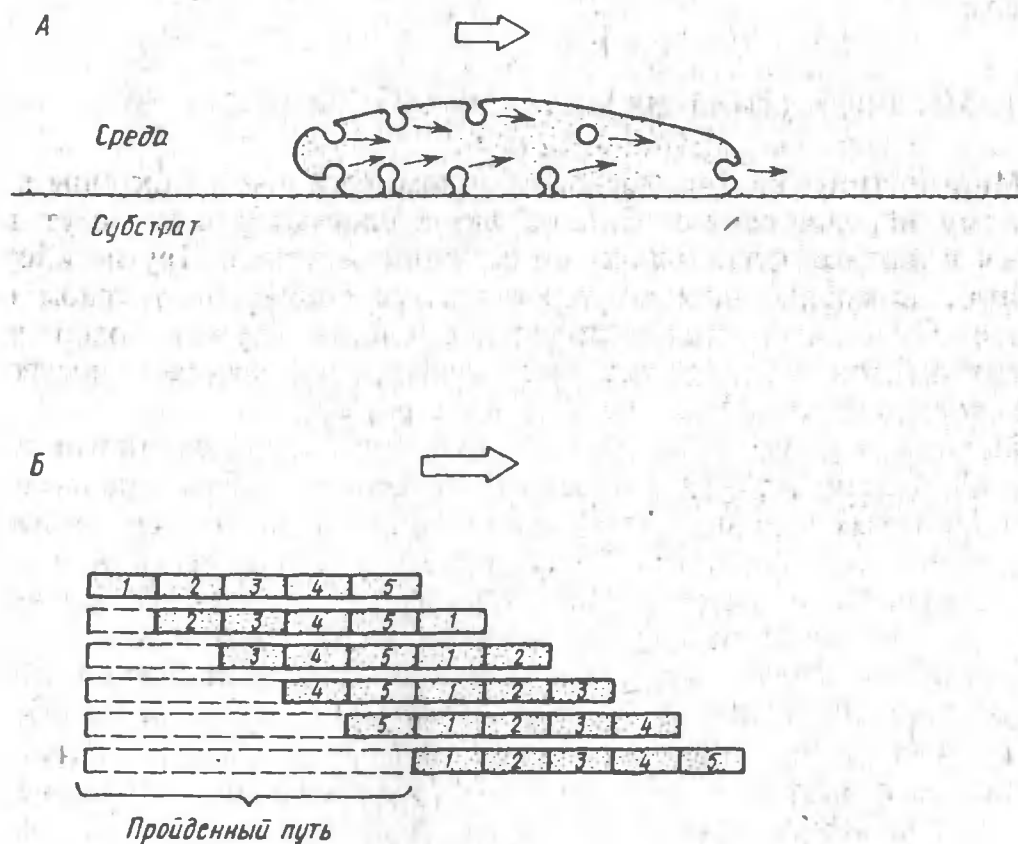


Рис. 41. Модель движения клетки по субстрату (по М. А. Аберкромби и др., 1970):

**А** — связь между эндоцитозом, экзоцитозом и движением клетки. Практически по всей клеточной поверхности происходит эндоцитоз мембраны в области "окаймленных ямок". В виде "окаймленных пузырьков" эндоцитированный материал мембраны транспортируется внутри клетки по направлению к ее переднему (ведущему) краю. Здесь пузырьки сливаются с мембраной переднего края. В результате клетка как бы удлиняет свой передний край, вливая в него все новые и новые порции мембранных пузырьков; **Б** — перенос порций липида с хвостового конца клетки на ее передний край приводит к возникновению потока липида в плоскости клеточной мембраны в направлении от переднего края к хвостовому концу клетки. Так, в цепочке, состоящей из пяти последовательных элементов (1, 2, 3, 4, 5), условимся, что 1 — хвостовой, а 5 — головной. Несколько последовательных актов перестановки хвостового элемента на головной конец цепи сопровождаются сдвигом головных элементов в обратном направлении. Например, исходно липидовавшее звено 5 после четырех актов перестановки других элементов (1, 2, 3 и 4) становится хвостовым; стрелками обозначено направление движения

этим потоком обусловлен кэппинг (см. гл. 3) мембранных белков, если они агрегированы лигандом: антителом, лектином и т. п.

Обычно клетка движется по субстрату со скоростью порядка  $\frac{1}{100}$  своего продольного размера за 1 мин. Для крупной клетки (например, фибробласта) размером 100 мкм это составит 1 мкм/мин. Соответственно макрофаг (20—30 мкм) может перемещаться по субстрату со скоростью 0,2—0,3 мкм/мин, а лимфоцит — около 0,1 мкм/мин.

Для движения клетки принципиально важными являются два момента: прикрепление к субстрату и выбор направления движения. Прикрепление клетки к субстрату осуществляется с помощью специальных мембранных рецепторов. Они прочно и специфически

связываются с компонентами тканевого матрикса. Молекулы адгезии хорошо изучены у движущихся фибробластов и клеток печени. В частности, оба названных типа клеток имеют в клеточной мембране *рецепторы (140 кДа) для фибронектина*.

**Фибронектин** — белок, опосредующий взаимодействие клетки с матриксом. Это крупная молекула, состоящая из двух полипептидных цепей (по 250 кДа каждая), соединенных дисульфидными связями. Каждая цепь представляет собой несколько доменов, один из которых предназначен для взаимодействия с волокнами коллагена (фибрилярный белок матрикса), а другой — для взаимодействия с рецептором (140 кДа) в клеточной мембране (рис. 42). К сожалению, пока не известно, какими молекулами опосредуется взаимодействие с субстратом движущихся лимфоцитов, лейкоцитов и макрофагов. Возможно, и эти клетки используют рецепторы для фибронектина.

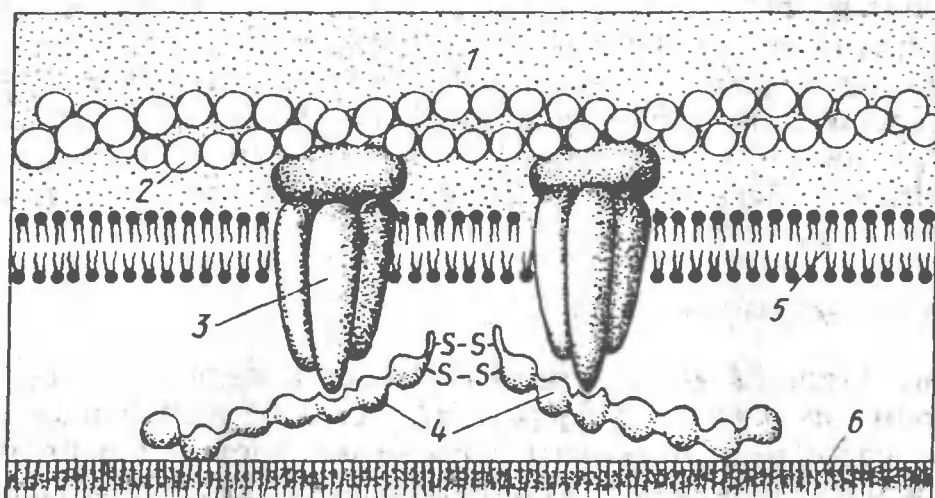


Рис. 42. Фибронектин обеспечивает адгезию клеток на межклеточном матриксе тканей (по Р. Хайнсу, 1986)

Одним концом молекулы фибронектин прикрепляется к волокнам коллагена, или фибрина, или к протеогликанам матрикса, другим — к специальному рецептору (140 кДа) в клеточной мембране;

1 — клетка, 2 — актин, 3 — рецепторный комплекс, 4 — фибронектин, 5 — мембрана, 6 — коллаген

Прикрепление к субстрату необходимо, но недостаточно для передвижения клетки. Нужно еще выбрать направление движения. В противном случае клетка совершает активные попытки двинуться сразу в разные стороны, а в итоге остается на месте. Очевидно, для передвижения по субстрату в клетке должна произойти векторная переориентация элементов цитоскелета и, в частности, микрофиламентов и промежуточных филаментов. Те и другие филаменты построены из белков, способных полимеризоваться и деполимеризоваться.

Похоже, что процессы сборки и разборки белков филаментов могут управляться через изменение локальных концентраций ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле. Так, белок микрофиламент — *актин* — собирается в полимерные фибриллы в присутствии микромолярных концентраций  $\text{Ca}^{2+}$ , но деполимеризуется при миллимолярных концентрациях этого иона. Микрофиламенты и промежуточные филаменты образуют каркас клетки — *цитоскелет*. Кроме того, они участвуют в движениях плазматической мембраны, а также внутриклеточных мембранных структур, в частности, эндоцитозных, экзоцитозных и других мембранных пузырьков.

Вероятно, в движущейся клетке филаменты цитоскелета ориентированы в определенном направлении. При этом актиновые филаменты соединены с адгезионными рецепторами (например, рецептор 140 кДа, специфичный к фибронектину), а промежуточные филаменты “направляют” движение внутриклеточных мембранных пузырьков. Молекулярные детали этих процессов только начинают изучать. Вместе с тем уже теперь ясно, что именно *ориентацией цитоскелета определяется направленное движение клетки*.

Видимо, в каких-то случаях направление движения может быть избрано клеткой спонтанно. Однако более характерным является движение клетки по градиенту концентрации какого-либо вещества. Хемотаксис разных клеток, а также одной и той же клетки, может быть ориентирован на разные вещества. Часто такими индукторами хемотаксиса для различных клеток, и в частности для клеток иммунной системы, являются продукты других, разрушенных клеток. Особенно известны в этом отношении короткие пептиды, причем одни пептидные последовательности индуцируют хемотаксис макрофагов, другие — эозинофилов, третьи — нейтрофилов.

Молекулярный механизм действия на клетку индукторов хемотаксиса еще не расшифрован. В рамках модели Аберкромби можно предположить, что индуктор изменяет локальную проницаемость клеточной мембраны для  $\text{Ca}^{2+}$ . В направлении к этому участку мембраны переориентируются филаменты цитоскелета. Вдоль полярно ориентированных филаментов, как по рельсам, перемещаются эндоцитозные пузырьки. Эта направленность и определяет их экзоцитоз в участке мембраны, куда подействовал индуктор движения. Как следствие, клетка будет передвигаться в направлении градиента концентрации индуктора.

### 8.2.2. Межклеточный матрикс как фактор регуляции движения клеток в ткани

Попав из крови в ткань, клетка иммунной системы оказывается в гелеобразной среде сложного состава, в так называемом *межклеточном веществе*, или *матриксе*. Состав матрикса разных тканей различен. Он может варьировать даже в пределах одной ткани

(органа). Тканевый матрикс представлен сложной сетью волокон, построенных из биополимеров. Главные компоненты матрикса — фибриллярные белки (коллагены, эластин), линейный полисахарид гиалуроновая кислота и протеогликаны (гепарансульфат-протеогликан, хондроитинсульфат-протеогликан, дерматансульфат-протеогликан, кератансульфат-протеогликан).

Каркас межклеточного вещества иммунокомпетентных тканей представлен главным образом ретикулиновыми волокнами. Эти тонкие (поперечный размер около 1 мкм) разветвленные волокна

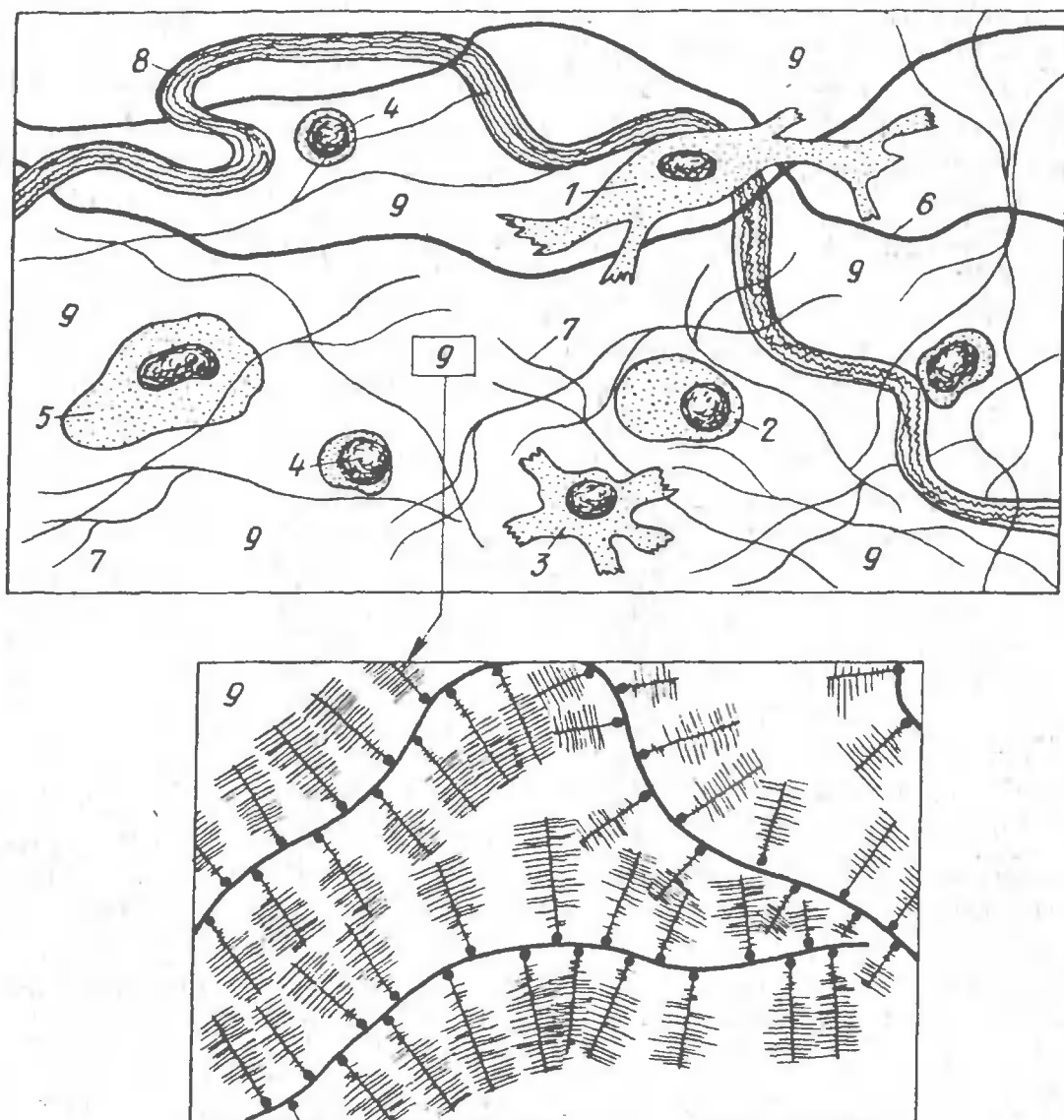


Рис. 43. Различные типы клеток в тканевом матриксе:

1 — фибробласт, 2 — плазматическая клетка, 3 — дендритная клетка, 4 — лимфоцит, 5 — макрофаг. Клетки располагаются в полужидком геле (9), состоящем из протеогликанов. Кроме того, они находятся в ячейках волокнистой сети, образованной эластическими (6), ретикулиновыми (7) и коллагеновыми (8) волокнами

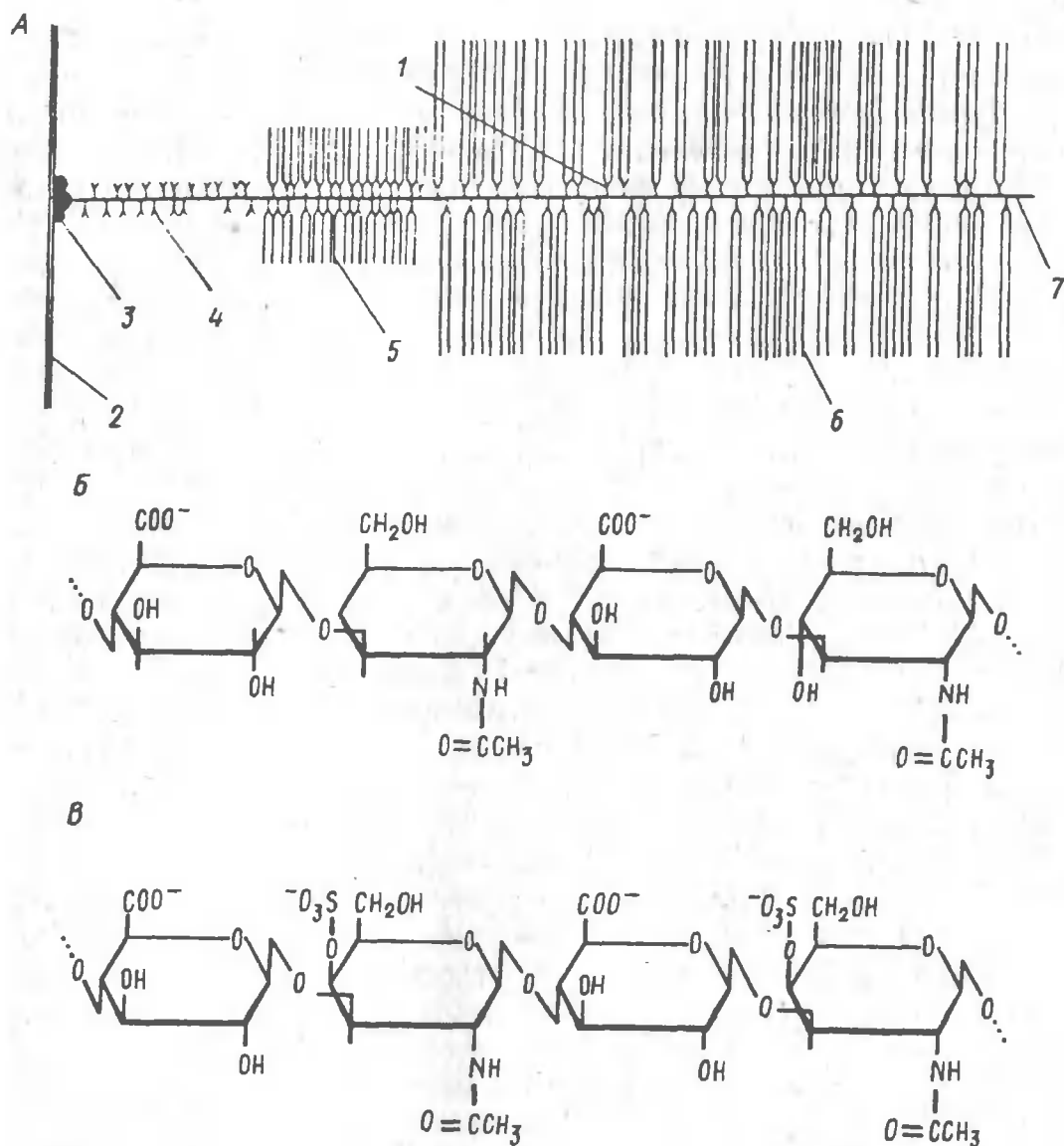


Рис. 44. Структура протеогликанов, образующих полужидкий гель тканевого матрикса. А — формирование протеогликана из полисахаридных и белковых субъединиц; Б — повторяющийся дисахарид в гиалуроновой кислоте; В — повторяющийся дисахарид в хондроитинсульфатах:

1 — О-связанный олигосахарид, 2 — гиалуроновая кислота, 3 — связывающий белок, 4 — N-связанный олигосахарид, 5 — кератансульфат, 6 — хондроитинсульфат, 7 — центральный белок

построены из молекул *коллагена*. Они образуют нежную *волокнистую сеть*, которая занимает свободные пространства другой, более крупной *клеточной сети*. Последняя образована *ретикулярными клетками*, соединенными между собой посредством дендритных отростков.

Клеточная и волокнистая сети погружены в так называемое основное вещество — *вязкий полужидкий гель* (рис. 43). Он образован гиалуроновой кислотой и протеогликанами и, по существу, представляет собой сложную молекулярную сеть, в микроскопических каналах которой содержится тканевая жидкость (рис. 43, 44).

В составе матрикса наряду с ретикулиновыми могут содержаться эластические и коллагеновые волокна. Эластические волокна разветвлены, построены из белка эластина, имеют толщину в среднем около 0,5 мкм. По-видимому, они продуцируются гладкомышечными клетками кровеносных сосудов. Коллагеновые волокна, как и ретикулиновые, построены из коллагена, но имеют значительно больший поперечный размер (до 10 мкм) и не ветвятся. Коллагеновые волокна вырабатываются фибробластами. Особенно богаты коллагеновыми и эластическими волокнами участки матрикса вблизи кровеносных и лимфатических сосудов, нервов, соединительнотканной капсулы и перегородок (трабекулы, септы), которые она образует, т. е. в тех местах, где рыхлая соединительная ткань переходит в плотную оформленную соединительную ткань.

В целом каркас ткани (матрикс) образован сетью стромальных клеток (ретикулярные клетки, местами фибробласты), промежутки этой клеточной сети пронизаны сетью волокон (коллагеновые, эластические, ретикулиновые), наконец, все свободные пространства этой клеточно-волоконистой сети заполнены полужидким гелем, являющимся молекулярной сетью, построенной из полисахаридов и протеогликанов.

Состав клеточно-волоконистой сети и геля, который ее заполняет, сильно варьирует в разных органах и даже в разных участках одной и той же ткани.

В масштабах всей иммунной системы можно видеть четкие различия в строении матрикса Т- и В-зон: клеточно-волоконистое окружение, которое предпочитают Т-клетки, существенно отличается от микроокружения, в котором обитают В-лимфоциты. Например, периартериоллярные муфты селезенки (Т-зоны) богаты сетью коллагеновых и эластических волокон; сюда же присоединяются ретикулиновые волокна пульпы. Здесь и локализуются Т-клетки. Скопления В-клеток в виде фолликулов располагаются в области разветвления мельчайших артериол на капилляры. Здесь практически нет коллагеновых и эластических волокон и практически нет Т-лимфоцитов. Матрикс белой пульпы (Т-зоны и В-зоны) селезенки отличается от матрикса красной пульпы. Тканевая основа красной пульпы представлена сетью ретикулярных дендритных клеток и ретикулиновых волокон. В ячейках этой сети встречаются эритроциты, лейкоциты, макрофаги, сюда же мигрируют из лимфатического фолликула созревшие антителопродуцирующие клетки.

В лимфатическом узле сеть ретикулиновых волокон образует нежную строму. Эти волокна связаны с капсулой и соединительнотканными перегородками (трабекулами) посредством большого числа коллагеновых волокон. В области В-клеточных фолликулов сеть ретикулиновых волокон очень редкая, почти отсутствует. Напротив, в Т-клеточной зоне и в мягкотных шнурах сеть волокон более густая.

Ретикулярные клетки Т- и В-областей значительно отличаются друг от друга. Это характерно как для лимфатических узлов, так и для селезенки. В частности, в области В-клеточных фолликулов локализуются дендритные клетки с большим количеством отростков. Отростки соседних клеток образуют характерные соединения — десмосомы. Сами клетки имеют ряд отличительных признаков. Они экспрессируют на поверхности молекулы МНС-II, могут представлять антигены лимфоцитам, хотя и не способны к фагоцитозу. На их внешней мембране хорошо определяется фермент 5'-нуклеотидаза, а в цитоплазме — неспецифическая эстераза.

В Т-клеточных зонах лимфатических узлов и селезенки клеточный ретикулум образуют другие клетки. Они отличаются особой формой сплетающихся пальцевидных отростков и полиморфным ядром. На клеточной поверхности гистохимически определяется повышенное содержание АТФазы, а в цитозоле (в участках аппарата Гольджи) — значительные количества кислой фосфатазы.

Понятно, что разные клетки стромы образуют вокруг себя разный по составу и свойствам межклеточный матрикс. В свою очередь, структура матрикса может детерминировать природу клеток-мигрантов, которые локализуются в нем. Во всяком случае, кроме клеток ретикулярной стромы и полимеров межклеточного матрикса, по-видимому, не остается ничего другого, чем могли бы различаться для Т- и В-лимфоцитов соответствующие участки ткани.

К сожалению, систематических исследований влияния тканевого матрикса на лимфоидные клетки пока нет. Накопленные сведения не позволяют даже утверждать, что такое влияние имеет место в условиях организма. Большинство фактов получено в культуре клеток *in vitro*, поэтому их физиологическое значение непонятно. Вместе с тем этих фактов вполне достаточно для предположения о важнейшей регуляторной роли элементов тканевого матрикса по отношению к оказавшимся в нем лимфоидным клеткам. Одинаково важными могут оказаться взаимодействия лимфоцитов как с клетками стромы, так и с полимерными молекулами межклеточного вещества. Лимфоциты способны контактировать с элементами стромы и через специфическое связывание, опосредованное рецепторными молекулами мембраны, и через неспецифические взаимодействия поверхностных структур лимфоцита с электрическими зарядами полианионов матрикса. Наконец, влияние тканевого матрикса на клетки иммунной системы может модифицировать не только их миграционные свойства, но и функциональную активность.

В подтверждение возможной регуляторной роли элементов матрикса на клетки, оказавшиеся в нем, приведем несколько экспериментально установленных фактов.

1. Сульфатированные полисахариды, выделенные из тканевого матрикса, а также другие полианионы активируют деление покоя-

щихся клеток (например, лимфоцитов) и угнетают пролиферацию делящихся клеток (клеток лимфомы, печени) в условиях культуры *in vitro*.

2. Полианионы, в том числе сульфатированные полисахариды, при совместном введении с антигеном значительно усиливают реакцию антителообразования.

3. Лимфоциты, помещенные *in vitro* вместе с клетками стромы, реагируют на антиген по-разному в зависимости от природы стромальных клеток (А. Я. Фриденштейн и др., 1978). Наиболее интенсивная реакция антителообразования развивается при совместном культивировании лимфоцитов с клетками стромы селезенки и тимуса. В присутствии клеток стромы, полученных из костного мозга, лимфоциты не реагируют на антиген.

4. Активированные Т-лимфоциты вырабатывают *in vitro* хондроитинсульфат-протеогликан. Это вещество стимулирует антигензависимую дифференцировку В-клеток и действует синергично с интерлейкинами, которые вырабатываются Т-хелперами.

5. Адсорбция лимфоцитов Т- и В-субклассов на заряженных полимерных волокнах существенно различается и зависит от электростатического заряда клеточной поверхности. Так, зрелые периферические Т-лимфоциты имеют большую плотность концевых остатков N-ацетилнейраминовой кислоты на внешней мембране. Этим определяется высокий отрицательный заряд их поверхности. На идентично заряженных матрицах, например на специально подготовленных волокнах нейлоновой ваты, эти клетки не сорбируются. Напротив, мембрана В-лимфоцитов практически лишена концевых сиаловых групп. Поверхность этих клеток заряжена слабо отрицательно. Вследствие этого в отличие от зрелых Т-лимфоцитов В-клетки адсорбируются на волокнах нейлоновой ваты.

По интенсивности отрицательного заряда поверхности и по способности к адгезии на нейлоновой вате В-клеткам идентичны незрелые Т-лимфоциты из тимуса, макрофаги, а также периферические Т-клетки, предварительно обработанные нейраминидазой.

6. Полимеры тканевого матрикса могут индуцировать цитодифференцировку и, в частности, созревание клеток печени (А. С. Глейberman, Г. И. Абелев; 1987—1988). Так, в экспериментах *in vitro* при культивировании гепатоцитов (эпителиальных клеток печени) происходит их обратная дифференцировка. Клетки как бы "дичают". Они теряют ряд характерных признаков зрелых гепатоцитов и приобретают некоторые свойства эмбриональных клеток. В частности, в нормальной ткани печени гепатоциты не делятся, соединены между собой высокопроницаемыми контактами.

Кроме того, внешняя мембрана каждого гепатоцита асимметрична: со стороны желчного капилляра в ней представлены белковые молекулы одного типа, а со стороны кровяного синусоида — другого. При культивировании *in vitro* гепатоциты начинают

активно пролиферировать, не образуют каких-либо характерных для печеночной ткани морфологических структур, не формируют высокопроницаемых контактов. Размножаясь, они образуют беспорядочный слой клеток, наползают друг на друга, начинают синтезировать несвойственные для нормальных клеток печени белки (альфа-фетопротейн, виментин). Наконец, у гепатоцитов *in vitro* утеряна асимметрия внешней мембраны. Мембранные белки распределены равномерно по всей поверхности клетки.

Весьма интересно, что, добавляя в культуральную среду сульфатированные полисахариды (сульфат декстрана, каррагинан), можно в какой-то мере вызвать дифференцировку "одичавших" *in vitro* гепатоцитов. В частности, при этом происходит торможение клеточных делений, блокируется синтез эмбрионального белка альфа-фетопротейна.

Еще лучше "имитировать" тканевое микроокружение в условиях *in vitro* удастся с помощью коллагена. Если гепатоциты поселить на слой коллагенового геля, а затем поверх клеток нанести еще слой такого же геля, то клетки в культуре приобретают свойства клеток нормальной ткани печени. Они не делятся; образуют между собой проницаемые контакты; выстраиваются в линейные структуры, называемые печеночными балками; вырабатывают обычный для клеток печени белок альбумин, но не синтезируют альфа-фетопротейн и виментин. Наконец, их мембранам становится присуща характерная асимметрия мембранных белков.

Приведенный выше перечень фактов не исчерпывает всех данных о влиянии элементов матрикса на те или иные клетки и клеточные процессы. Однако этих сведений вполне достаточно, чтобы оценить возможное значение матрикса как регулятора биохимии и физиологии клеток, находящихся в нем. Вместе с тем еще раз стоит подчеркнуть, что в этой области значительно больше непонимания и незнания, чем достоверных знаний.

Возвращаясь к проблеме движения клеток иммунной системы в матриксе различных тканей, по материалам данного раздела можно заключить следующее. Проникнув сквозь стенку кровеносного сосуда в ткань, лимфоцит (лейкоцит, макрофаг) оказывается в лабиринтах клеточной сети, образованной ретикулярными клетками, и сети из волокон различного строения и состава. Более того, находясь в ячейках клеточно-волокнутой сети, клетки иммунной системы оказываются погруженными в довольно вязкую среду мягкого геля, в своего рода молекулярную сеть, заполненную тканевой жидкостью. Как клеткам удастся перемещаться внутри такой ткани, совершенно непонятно.

Здесь стоит вспомнить о довольно давно проведенных экспериментах. Каплю водной среды инъецировали в матрикс рыхлой соединительной ткани. В капле содержались подвижные клетки (парамеции или микробные клетки). Введенная жидкость относительно

долго оставалась в виде капли. Содержащиеся в ней клетки активно передвигались, но только в пределах инъецированной капли. Они не могли покинуть каплю и проникнуть в ткань. Если же в каплю вместе с клетками добавляли фермент гиалуронидазу (расщепляет гиалуроновую кислоту), то названные клетки легко вторгались в ткань и быстро распространялись в ней.

Как движутся в такой же ткани клетки иммунной системы? Например, как лимфоцитам удастся мигрировать в рыхлой соединительной ткани собственной пластинки кишечника? Может быть, для движения в толще тканевого матрикса клетки-мигранты должны уметь "расплавлять" гель. Ведь для этого достаточно секретировать в среду ферменты, гидролизующие компоненты матрикса. Ответа на сформулированные вопросы пока нет. Но проведение исследований в этом плане кажется целесообразным.

Активное движение клеток иммунной системы по субстрату, как отмечалось выше, может происходить с небольшими скоростями. Вряд ли клетки способны перемещаться по субстрату со скоростью больше одного собственного диаметра за 1 ч. Несмотря на это, значение активных движений по субстрату для клеток иммунной системы, по-видимому, очень велико. Они преодолевают огромные расстояния с током крови и лимфы. Возможно, даже внутри тканей они движутся "по течению" тканевой жидкости. Но окончательная "доводка", определяющая точность попадания, требует собственной активной подвижности, не зависящей от направления потока тканевой жидкости.

В этом варианте движения решающее значение приобретают взаимодействия мембраны движущейся клетки с полимерами межклеточного матрикса и с поверхностью клеток, составляющих данную ткань.

В целом приведенные в настоящей главе сведения позволяют внести существенное дополнение в картину иммунного механизма, представленную во всех предшествующих главах. Иммунитет показан сложной динамичной системой клеток, взаимодействующих между собой путем прямого контакта или с помощью растворимых веществ-посредников. В иммунном кооперативе согласованно работает не менее десятка клеточных типов, различающихся свойствами и функциональной специализацией. Практически каждый вариант взаимодействующих клеток в ходе иммунной реакции претерпевает существенные перестройки. Они могут выражаться в активации секреции и синтеза определенных специфических продуктов, чаще всего белков. В ряде случаев для этого в клетке должны произойти перестройки на уровне генома. Наконец, многие клетки иммунитета в процессе реагирования размножаются. Все взаимодействия между клетками и преобразования самих клеток растянуты во времени и обычно протекают в течение 1—2 нед. Мало того, возможность кооперирования клеток иммунной системы критиче-

ски зависит от их перемещений в пределах организма, органа и даже участков одной и той же ткани.

Мы рассмотрели немало фактических примеров, подтверждающих представление об иммунной системе как о сложном динамическом механизме, детали которого кооперированы структурно и функционально, организованы во времени и пространстве. И все же в заключительной части данной главы предлагаем обратиться еще к одному очень интересному примеру, который вскрывает новый фрагмент иммунного механизма. Речь идет о *процессе “обучения” Т-лимфоцитов в тимусе*. Здесь, как в фокусе объектива, собраны различные события: миграция клеток из одного органа в другой; движение клеток в пределах ткани одного и того же органа; взаимодействие одних клеток с мембраной других клеток ткани; межклеточные взаимодействия, опосредованные растворимыми факторами, а также клеточное деление и дифференцировка.

### 8.3. Миграция и кооперация клеток при созревании Т-лимфоцитов в тимусе

#### 8.3.1. Необходимость миграции клеток между органами

Т-Лимфоциты образуются в тимусе из особых клеток-предшественников, мигрирующих с током крови из костного мозга. Эти клетки найдены только в костном мозгу, тимусе и в небольшом количестве в селезенке. В лимфатических узлах их не удастся обнаружить. Как известно, любые клетки крови могут попадать в пульпу селезеночной ткани вследствие особой “открытости” для них ее системы кровоснабжения. В тимусе нет открытых кровеносных сосудов. Следовательно, “отлавливание” клеток-предшественников Т-лимфоцитов в тимусе должно происходить с помощью какого-то специального механизма. Пока еще такой механизм не известен. Можно лишь предположить, что он подобен молекулярным устройствам, регулирующим селективную миграцию лимфоцитов из кровотока в лимфатические узлы, пейеровы бляшки или другие ткани.

Пройдя полный курс “обучения” в тимусе, вновь образованные зрелые Т-лимфоциты покидают эту железу и с током крови устремляются во все органы и ткани, где присутствуют лимфоидные клетки. Отсюда следует, что для обеспечения органов и тканей Т-клетками необходима бесперебойная миграция лимфоидных клеток. Во-первых, нужно, чтобы клетки-предшественники систематически поступали из костного мозга в тимус. Во-вторых, созревающие Т-лимфоциты должны непрерывно переселяться из тимуса в периферические органы иммунной системы, а также в нелимфоидные ткани, богатые лимфоцитами.

### 8.3.2. Чему “обучаются” лимфоциты в тимусе?

Внутри тимуса костно-мозговые клетки-предшественники претерпевают несколько последовательных этапов дифференцировки. Каждый этап реализуется в своем отсеке тимуса, так что созревающая клетка должна проделать непростой и строго определенный путь.

В тимусе происходит несколько важнейших для иммунитета событий.

1. Костно-мозговые предшественники приобретают биохимические свойства Т-лимфоцитов и, как следствие этого, функциональную полноценность. В частности, они становятся способными реагировать на антигены пролиферацией, выработкой ИЛ2 или превращением в Т-киллеры.

2. Формируется рецепторный репертуар Т-лимфоцитов. Уничтожаются те варианты Т-клеток, которые оказались агрессивными в отношении “своих” белков МНС-I, — *негативная селекция*. Сохраняются Т-лимфоциты, специфичные в отношении “чужих” белков МНС-I, — *позитивная селекция*.

3. Создается жесткое ограничение тонкой специфичности Т-клеток. В тимусе они обучаются узнавать микробные, вирусные, опухолевые и другие антигены в комплексе исключительно со “своими” белками МНС. Это явление принято называть *рестрикцией по МНС*.

В качестве иллюстрации к этим важнейшим событиям перечислим лишь некоторые интересные факты:

— введение какого-либо антигена непосредственно в ткань тимуса может привести к состоянию неответимости (толерантности) конкретно к этому антигену при полном сохранении ответимости ко всем другим антигенам;

— огромное количество вновь образующихся в тимусе лимфоцитов тут же и погибает. Предполагают, что это явление связано с негативной селекцией;

— роль тимуса в формировании рестрикции по МНС иллюстрируют изящные эксперименты американского ученого Р. Цинкернагеля. Опыты проводили с мышами двух конгенных линий: а и b (обозначения условные), которые различались только по генам МНС. Кроме того, использовали гибриды первого поколения (ахb)F<sub>1</sub> от скрещивания партнеров-представителей этих линий. Клетки организма мышей (ахb)F<sub>1</sub> несут на плазматической мембране оба варианта родительских МНС (МНС<sub>а</sub> и МНС<sub>б</sub>). Гибриды F<sub>1</sub> заражали вирусом. Это приводило к формированию в их организме Т-киллеров, лизирующих клетки-мишени, модифицированные антигенами использованного вируса. Причем образующиеся Т-киллеры были способны распознавать вирусный антиген только в сочета-

нии с МНС<sub>а</sub> или МНС<sub>б</sub>, т.е. вирус на клетках-мишенях гибрида или клетках родительских линий.

В аналогичных экспериментах у гибридов хирургическим путем удаляли тимус. После операции животных подвергали действию радиации в дозах, убивающих оставшиеся в организме лимфоциты. Затем им пересаживали тимус от нормальных мышей линии b и в качестве источника клеток-предшественников вводили в кровь клетки костного мозга, взятые от мышей линии b. У таких химер через некоторое время образовывались функционально полноценные Т-клетки. Эти клетки могли узнавать вирусный антиген только в сочетании с белком МНС<sub>б</sub>, но не МНС<sub>а</sub>. При этом следует подчеркнуть, что на всех собственных клетках организма мышей-химер были представлены как МНС<sub>а</sub>, так и МНС<sub>б</sub>. Только в тимусе вновь образующиеся Т-клетки встречались с МНС<sub>б</sub>, но не с МНС<sub>а</sub>. Важно и то, что потенции клеток костного мозга генотипа b не были ограничены. Пересадка костно-мозговых клеток линии b совместно с двумя тимусами генотипов a и b приводила к формированию зрелых Т-клеток, ориентированных на узнавание вирусного антигена в сочетании с белками МНС или МНС<sub>б</sub>.

Опыты Р. Цинкернагеля доказывают, что, созревая в тимусе, Т-лимфоциты обучаются распознавать чужеродные антигены только в сочетании с теми МНС-белками, которые представлены на клетках стромы тимуса.

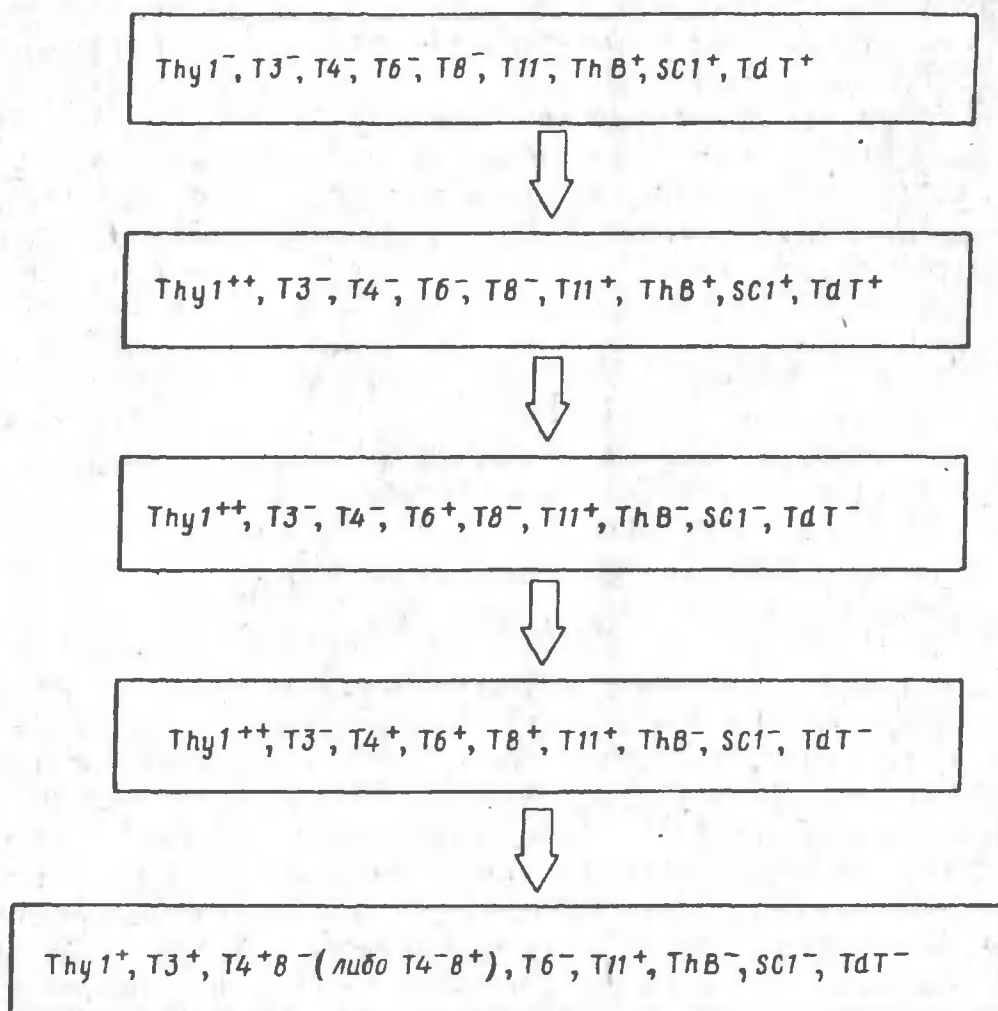
### 8.3.3. Стадии созревания лимфоцитов в тимусе

Познакомившись с основными конечными результатами "обучения" лимфоцитов в тимусе, перейдем к более детальному рассмотрению событий, происходящих в процессе "обучения". Чтобы различать лимфоциты на разных этапах созревания в тимусе, принято характеризовать их по синтезу нескольких стадиоспецифических белков. В основном это мембранные белки. Их часто называют маркерами, так как функция большинства из них неизвестна.

Клетки-предшественники, принесенные кровью из костного мозга, выходят из кровотока в ткань тимуса на границе коркового и мозгового вещества. На их поверхности еще сохранены белки, характерные для более ранних предшественников. В частности, белок SC-1 — маркер стволовых кроветворных клеток и белок ThB — маркер общих предшественников для Т- и В-лимфоцитов. Далее, по мере созревания и приобретения способности синтезировать новые белки лимфоциты тимуса прекращают синтезировать белки SC-1 и ThB. Кроме того, уникальна для тимических клеток и их непосредственных костно-мозговых предшественников продукция фермента TdT — терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы.

Первыми из белков, присущих Т-клеткам, начинают синтезироваться мембранные молекулы  $\text{Thy1}$  и  $\text{T11}$ . На последующих стадиях созревания тимических лимфоцитов включается продукция целого ряда мембранных белков, и в частности  $\text{T6}$ ,  $\text{T4}$ ,  $\text{T8}$ ,  $\text{T3}$ .

Динамика синтеза новых белков неодинакова. Одни белки (например,  $\text{T11}$ ) появляются на лимфоцитах тимуса, и экспрессия их неуклонно возрастает в процессе созревания этих клеток. Экспрессия других белков (например,  $\text{Thy1}$ ) сначала значительно нарастает, а затем по мере созревания лимфоцитов существенно уменьшается, хотя и поддерживается в течение всей жизни зрелой Т-клетки. Третьи (например,  $\text{T6}$ ) появляются на этапах дифференцировки, но затем их синтез прекращается. Четвертые ( $\text{TdT}$ ,  $\text{SC1}$ ,  $\text{ThB}$ ) вырабатываются в клетках-предшественниках, но в созревающих тимоцитах их синтез прекращается.



Наконец, особо стоит отметить динамику появления белков  $\text{T4}$  и  $\text{T8}$ . На ранних стадиях созревания клеток они еще не вырабаты-

ваются. Затем оба белка синтезируются совместно и экспрессируются в мембране одной и той же клетки. На поздних стадиях созревания в тимусе происходит дивергенция лимфоцитов по продукции этих белков. Одна часть всех возникающих клеток сохраняет Т4 и теряет Т8, другая — теряет Т4, но сохраняет Т8. Причем первые главным образом выполняют функции Т-хелперов (усилителей), а вторые — в основном функцию Т-киллеров или Т-супрессоров. Именно поэтому принято считать белок Т4 маркером хелперов, а Т8 — маркером киллеров и супрессоров.

Используя перечисленные выше белки как маркеры, можно обозначить несколько стадий дифференцировки лимфоцитов в тимусе (см. схему на с. 124).

Динамика спектра синтезируемых белков отражает последовательные перестройки в геноме созревающей клетки. По-видимому, программа биохимических перестроек костно-мозговых предшественников в зрелые Т-клетки predetermined. Но реализуется она шаг за шагом под влиянием последовательных сигналов, предоставляемых тканью тимуса.

Несмотря на то, что многие детали процесса “обучения” лимфоцитов в тимусе пока еще не известны, в целом ясны по меньшей мере следующие закономерности. Биохимические преобразования в лимфоцитах индуцируют *растворимые факторы*, которые вырабатываются эпителиальными клетками тимуса. Процессы положительной и отрицательной селекции, а также рестрикция по МНС критически зависят от *контактных взаимодействий тимического лимфоцита с разными клетками стромы* этого органа. Важнейшим условием нормального созревания и “обучения” является *строго детерминированная миграция лимфоцитов* из одного отсека тимуса в другой, а затем — в третий.

#### 8.3.4. Что известно о молекулярных и клеточных механизмах созревания лимфоцитов в тимусе

Костно-мозговые клетки-предшественники выходят из кровотока в ткань тимуса в пограничной области между корковым и мозговым веществами. Отсюда они мигрируют в самую внешнюю зону коркового вещества — в подкапсульную зону. К этому моменту тимические лимфоциты уже синтезируют мембранный белок Т11. Именно в подкапсульной зоне тимуса происходит очень интересный и необычный процесс контактного взаимодействия лимфоцитов с эпителиальными клетками тимусной стромы. Во время контакта крупная эпителиальная клетка обволакивает своей внешней мембраной лимфоидную клетку. При этом лимфоцит (тимоцит), охваченный со всех сторон мембраной эпителиальной клетки, находится в мембранной полости, которую принято называть *кавеолой* (рис. 45). Эпителиальная клетка, как правило, взаимодействует та-

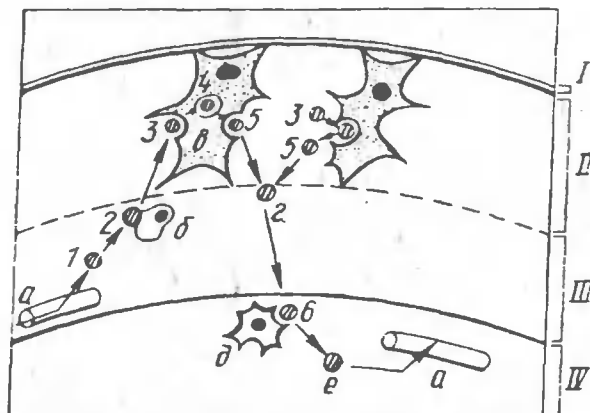


Рис. 45. Миграция и взаимодействие клеток в ткани тимуса при созревании Т-лимфоцитов

Клетка-предшественник, принесенная током крови из костного мозга, проникает сквозь стенку кровеносного сосуда (а) на границе коркового и мозгового веществ тимуса (стадия I). Она мигрирует в подкапсульную зону тимуса, взаимодействуя по пути с макрофагами (б) внутреннего коркового вещества (стадия 2). В подкапсульной зоне тимические лимфоциты проходят этапы созревания, зависящие от контактного и гуморального влияний клетки-няньки (в; стадии 3—5). После этого тимоцит (е), приобретя некоторые свойства Т-клетки, мигрирует в мозговое вещество тимуса, где вступает в контактное взаимодействие с дендритными клетками (д; стадия 6), превращается в функционально полноценную Т-клетку (е), которая проникает в просвет кровеносного сосуда и с током крови уносится в периферические лимфоидные органы:

I — капсула, II — внешнее корковое вещество, III — внутреннее корковое вещество, IV — мозговое вещество

пиллярные аркады“. Последние, образуя петли во внешнем корковом веществе, переходят в мельчайшие вены мозгового вещества. В корковом веществе тимуса стенка капилляров удвоена. Она состоит, как обычно, из слоя эндотелиальных клеток, размещенных на базальной пластинке из плотной соединительной ткани. Кроме того, капилляр окутан плотным непрерывным слоем эпителиальных клеток. Между двумя слоями содержится рыхлая соединительная ткань, в которой размещено большое количество макрофагов. Очевидно, что через такой заслон из кровотока в ткань тимуса не могут проникнуть ни клетки, ни антигены.

Предполагают, что созревающие в корковом веществе тимуса лимфоциты на какой-то стадии дифференцировки особенно подвержены негативной селекции под влиянием антигенов. В это время необходимо ограничить спектр элиминирующихся клонов только теми клетками, которые агрессивны (специфичны) к “своим“ антигенам. Одновременно стоит задача сохранить как можно более ши-

ким образом сразу с 20—40 (и более) лимфоидными клетками. Такие комплексы называют клетками-“няньками“.

Внутри “няньки“ лимфоциты делятся, имеют фенотип  $Thy1^{++}$ ,  $T4^{+}$ ,  $T8^{+}$ . Находясь внутри кавеолы, они полностью изолированы от среды, окружающей клетку-няньку. Показано, что в кавеолы не могут проникнуть ни антигены, ни антитела, ни красители. По-видимому, такая изоляция лимфоцитов от веществ, приносимых током крови, очень важна на этапах созревания в корковом веществе тимуса.

Следует отметить, что даже в структурных особенностях кровоснабжения тимуса природой предусмотрена жесткая изоляция корковой зоны от проникновения веществ, а тем более клеток, приносимых током крови. Войдя во внутреннюю корковую зону на границе с мозговым веществом, мелкие артерии разветвляются на “ка-

рокий (по антигенной специфичности) спектр клеток против чужих антигенов. Именно поэтому в корковом веществе ткани тимуса создается строгая изоляция лимфоцитов от антигенов, приносимых кровью. Она реализуется двумя путями: созданием особой двойной стенки кровеносных капилляров (так называемый *гематотимический барьер*) и помещением лимфоцитов в герметичную кавеоль.

Изоляция лимфоцитов в кавеоли — явно не единственное значение такого непростого взаимодействия между лимфоцитами и эпителиальной клеткой. Существенную роль могут играть еще, по крайней мере, два фактора. Во-первых, в кавеоли могут создаваться высокие локальные концентрации пептидных факторов (гормонов), которые синтезируются эпителиальной клеткой и предназначены для активации дифференцировки Т-лимфоцита. Во-вторых, контакт мембраны лимфоцита с мембраной эпителиальной клетки может приводить к формированию дополнительного сигнала активации в мембране лимфоидной клетки.

О *гормонах тимуса* существует много данных, но еще больше о них предстоит узнать. Неплохо изучена химическая природа самих веществ-регуляторов дифференцировки Т-клеток. Они представлены семейством полипептидных цепей протяженностью от 25 до 50 аминокислотных остатков. Активность каждого полипептида, как правило, определяется небольшим фрагментом, размеры которого составляют 5—9 остатков аминокислот.

Пептидные гормоны тимуса синтезируются эпителиальными клетками. Их действие на созревающие Т-лимфоциты находится в процессе изучения. Для большинства пептидов еще не удалось точно установить, какое изменение в лимфоидной клетке они вызывают и каков молекулярный механизм действия гормона на клетку. Пока лишь известно, что некоторые пептиды тимуса могут индуцировать в лимфоидной клетке синтез тех или иных присущих Т-лимфоцитам белков (например, Thy1, TdT или T4). Есть основания считать, что эта функция пептидов осуществляется через активацию мембранного фермента аденилатциклазы, т. е. через сигнальный механизм, который используется в эндокринной системе при запуске реакций различных клеток на самые разные пептидные гормоны (соматотропный, адренокортикотропный, пептиды гипоталамуса и др.).

Молекулярные аспекты контактного взаимодействия эпителиальной клетки и тимического лимфоцита исследованы еще меньше, чем взаимодействия, опосредованные гормонами. И все-таки кое-что уже известно. В начальной фазе установление контакта критически зависит от возможности взаимодействия четырех типов мембранных белков: T4 и T8 — в мембране лимфоцита; MHC-I и MHC-II — в мембране эпителиальной клетки. Антитела к указанным белкам ингибируют или полностью блокируют образование

контакта. Особенно эффективны в этом отношении попарные сочетания анти-Т4 с анти-МНС-I или анти-Т8 с анти-МНС-II. Эти данные позволяют предположить, что белок Т4 взаимодействует с МНС-II, а белок Т8 — с МНС-I (рис. 46).

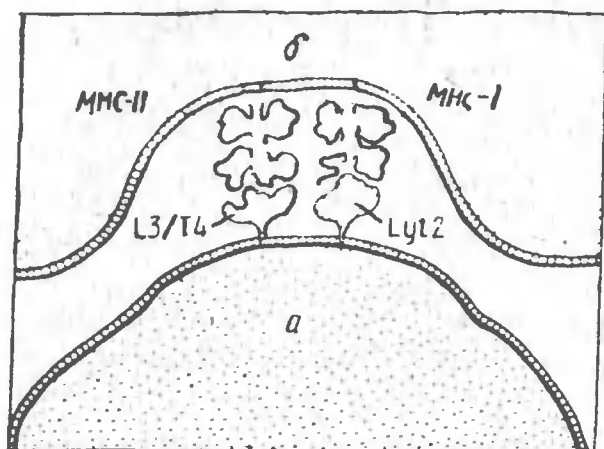


Рис. 46. Мембранные молекулы, обеспечивающие контакт тимического лимфоцита (а) с эпителиальной клеткой-нянькой (б) в тимусе:

МНС-I, МНС-II, L3/T4, Lyt2 — белки

Интересно, что в области контакта тимоцита и эпителиальной клетки происходит *кэппинг антигенузнающего Т-клеточного рецептора*. Что именно в мембране эпителиальной клетки узнает ТР созревающего лимфоцита — непонятно. Ведь у зрелых Т-клеток он ориентирован на узнавание комплекса "чужого" антигена со "своим" белком МНС. Здесь же, в корковом веществе тимуса, присутствие "чужих" антигенов исключено. К тому же доказано, что клетка-"нянька" не способна процессировать и представлять антиген.

И все-таки независимо от того, с чем именно взаимодействует ТР, сам факт кэппинга этого белка еще раз наводит на мысль о *сигнальном характере контакта*. В связи с этим важно, что ТР появляется на лимфоцитах либо незадолго до контакта, либо непосредственно внутри кавеолы.

Выйдя из кавеолы, лимфоциты уже приобретают функциональные свойства Т-клеток. Они становятся способными реагировать на антигены пролиферацией, секретировать ИЛ2, превращаться в соответствующих условиях в Т-киллеры. Однако на этой стадии тимические клетки еще не разделяются на хелперы и супрессоры/киллеры. Это происходит в мозговой ткани тимуса, куда мигрируют лимфоциты, выходящие из кавеолы эпителиальной клетки. В мозговом веществе тимуса Т-лимфоциты вступают в контактное взаимодействие с дендритными клетками. В отличие от эпителиальных клеток дендритные клетки-партнеры могут эффективно процессировать и представлять антигены в комплексе с МНС-II. Какое это имеет значение для "обучения" взаимодействующих с ними тимических лимфоцитов, не ясно.

В мозговом веществе Т-клетки разделяются на две функционально специализированные субпопуляции — хелперы и киллеры/супрессоры. Наконец, созревшие Т-клетки из мозгового вещества тимуса выходят в кровоток. Детали этого процесса тоже неизвестны. Вполне возможно, что вхождение в ткань тимуса, мигра-

ция в пределах этого органа и выход из него в кровоток регулируются через взаимодействие с углеводсвязывающими лектиноподобными рецепторами клеток эндотелия и стромы.

В связи с этим интересно, что на клеточной поверхности приходящих в тимус костно-мозговых предшественников "оголены" остатки галактозы (это можно выявить по связыванию с ними молекул лектина из арахиса). В ходе созревания лимфоцитов в корковом веществе тимуса концентрация галактозных остатков на их клеточной мембране нарастает. В частности, внутри кавеолы эпителиальной клетки содержатся лимфоциты с большим количеством мест связывания для лектина арахиса. На заключительной стадии созревания в мозговом веществе Т-лимфоциты синтезируют углеводные цепочки, завершающиеся не D-галактозой, а N-ацетилглюкозаминовой кислотой. "Оголенных" остатков галактозы на их поверхности практически не остается. Такие клетки выходят из тимуса в кровоток.

В целом, как видно из описанных выше данных, фактических сведений о процессе дифференцировки лимфоцитов в тимусе известно уже довольно много. Вместе с тем предстоит узнать значительно больше, чтобы создать полную картину созревания Т-клеток в тимусе. Несмотря на неполноту знаний, уже сейчас можно утверждать, что в механизме формирования зрелых Т-клеток очень важная роль отведена процессам направленной миграции клеток из костного мозга в кровь, из крови в ткань тимуса, между компартментами ткани внутри тимуса, из ткани тимуса в кровоток.

Процесс созревания и "обучения" Т-клеток в тимусе, несомненно, занимает одно из центральных мест в иммунной системе. Подобные события могут иметь место и в других органах при созревании В-лимфоцитов, гранулярных лейкоцитов, макрофагов и других клеток иммунитета. Так, в селезенке обнаружены комплексы дендритных фолликулярных клеток с В-лимфоцитами, очень похожие на клетки-"няньки" тимуса.

---

## Заключение

---

Значение мембранных процессов в механизме иммунитета огромно. Именно на уровне клеточных мембран идет восприятие первичного возмущающего сигнала — антигена. Мембранные события оказываются решающими в управлении дифференцировкой и размножением клеток, реагирующих на антиген, а также в осуществлении этими клетками защитной функции, суть которой — полное удаление антигена. Вместе с тем не следует абсолютизировать “мембранный подход” при анализе устройства и функционирования иммунной системы. Необходимо рассматривать биохимические преобразования, пытаясь увязать в единые цепи изменения в мембране с изменениями в цитозоле и ядре клетки. Более того, эти преобразования адекватны и согласованы с изменениями в околоклеточной среде, что отражает взаимное влияние клеток в ткани, органе, организме. Следовательно, современная наука об иммунитете органически совмещает в себе подходы и представления многих наук о молекулах, биомембранах, клетках, тканях. Деятельность современного иммунолога характеризуется не методами и подходами, которыми он владеет, а объектами и целями, которые его интересуют. Изучая непознанное в иммунной системе, надо во главу угла ставить вопрос (задачу) и использовать различные подходы для ее решения.

Несмотря на всю условность вычленения одного из уровней, рассмотрение мембранных процессов позволило нам описать в деталях многие ключевые события в иммунном механизме. Эта информация, в свою очередь, явилась материалом, из которого в данной книге мы попытались извлечь общие принципы организации и функционирования иммунной системы. При этом, анализируя иммунитет с позиции цитомембранологии, мы преднамеренно уделяли внимание еще непознанным деталям и принципам его структуры и функционирования. Это поможет читателям реально оценивать степень несовершенства современных представлений об иммунитете и, возможно, окажется полезным для новых исследований.

---

## Вместо послесловия

---

Углубление представлений о строении и функционировании системы иммунитета, конечно, прежде всего удовлетворяет любознательность людей. Вместе с тем уровень знаний об иммунитете возрос настолько, что в последние 10—15 лет стало реальным применение этих знаний для решения многих практических задач в самых разных сферах человеческой деятельности.

Даже поверхностное описание использования достижений иммунологии в практике невозможно уместить в рамках данного учебного пособия. Об этом следует писать в отдельной книге, и, может быть, не в одной. В порядке иллюстрации к сказанному приведем некоторую информацию о двух направлениях внедрения новейших знаний и методов иммунологии: *технология получения особо чистых веществ* из смесей сложного состава с помощью моноклональных антител и сорбентов на их основе, а также *разработка способов направленной доставки лекарств в организм*.

**Моноклональные антитела.** По определению, антитело — это высокоспецифический лиганд, связывающий конкретное вещество (антиген). Спектр специфичностей антител, по существу, безграничен. Следовательно, для любого вещества можно выработать специфическое антитело, способное среди тысячи других веществ находить и связывать только это вещество. Таким образом, антитело представляет собой уникальный инструмент для “вылавливания” нужного вещества из сколь угодно сложных смесей. При этом, так как комплекс антитело — антиген легко диссоциирует, например при изменении рН среды, искомое вещество (антиген) может быть получено из смеси веществ в очень чистом виде.

Практическая реализация этой идеальной технологии была сильно затруднена в течение многих десятилетий. Во-первых, сложно было накапливать нужные антитела в достаточном количестве. Во-вторых, получаемые антитела были гетерогенными по составу и свойствам, так как являлись продуктами различных клонов лимфоидных клеток, реагирующих на данный антиген (так назы-

ваемые поликлональные антитела). В-третьих, далеко не на всякое вещество (антиген) удавалось индуцировать интенсивную реакцию антителообразования, так как традиционные методы получения поликлональных антител основывались на многократных иммунизациях донора (чаще — животного, в редких случаях — человека) с последующим выделением антител из сыворотки крови.

Ситуация резко изменилась благодаря изобретению Б. Кёлера и К. Милстайна (1975). Ученые создали метод выращивания сколь угодно большого клона из единственной антителопродуцирующей клетки. Как следствие, появилась возможность накапливать любые количества идентичных молекул одного варианта антител, специфичных к данному антигену. Такие антитела, продукты одного клона, принято называть *моноклональными*.

В основе метода лежит замечательная идея: сделать бессмертную антителопродуцирующую клетку, которую затем можно было бы бесконечно размножать, собирая “урожай” в виде ее белкового секрета — антитела. Идея реализована путем слияния антителообразующей клетки с опухолевой клеткой. Гибридная клетка приобретает от одного из родителей способность к секреции единственного варианта антитела, от другого родителя — способность к бесконечному размножению. Таким образом, достигается не истинное бессмертие антителосекретирующей гибридной клетки, а бессмертие в потомках. Клетки-потомки являются точными копиями материнской гибридной клетки, скорость их размножения огромна (время удвоения порядка 10 ч), количество клеток нарастает в геометрической прогрессии. Следовательно, появляется реальная возможность индустриального накопления их продукта — антитела.

Клоны гибридных, бесконечно размножающихся антителопродуцирующих клеток (так называемые *гибридомы*) можно растить как *in vitro*, так и *in vivo*. Реально получаемые количества индивидуального антитела таковы, что его можно использовать в промышленных биотехнологических процессах, например для промышленного получения очень чистых веществ: гормонов, ферментов, наркотиков, лекарств. Области применения моноклональных антител в практике, по существу, неограничены: медицина и ветеринария, фармацевтическая и многие другие виды химической промышленности, сельское хозяйство, пищевая и микробиологическая промышленность, криминалистика, таможенный контроль и допинг-контроль в спорте.

Наряду с огромной практической полезностью моноклональные антитела являются уникальными высокоспецифичными инструментами при проведении научных исследований в любых отраслях биологии, медицины, сельскохозяйственной науки, а также в некоторых областях химии и физики.

Направленный транспорт лекарств в организме. Практически любое современное лекарственное средство наряду с полезным (ле-

чебным) действием вызывает в организме целый ряд нежелательных (побочных) эффектов. Это определяется недостаточно точной нацеленностью каждого конкретного лекарства в отношении тех клеток организма, которые нуждаются в его лечебном влиянии. Зачастую наличие побочных эффектов на другие клетки и ткани не позволяет повысить концентрацию лекарства в организме и достичь желаемого лечебного результата. Как же сделать действие лекарства селективным в отношении тех или иных клеток организма?

Впервые идея направленного транспорта лекарства в организме была высказана великим П. Эрлихом еще в прошлом столетии. Он считал, что клетки любой ткани содержат на своей поверхности уникальные рецепторы, отличающие эту ткань от другой. Поэтому эмпирическим путем можно найти вещества, которые будут преимущественно связываться с клетками одной ткани, не связываясь с клетками других тканей организма. Среди отобранных могут оказаться вещества с необходимым лечебным потенциалом в отношении клеток, с которыми они связываются.

Таким образом, по П. Эрлиху, лекарство должно обладать одновременно двумя свойствами: *способностью селективно сорбироваться на нужных клетках и способностью нужным образом модифицировать жизнедеятельность клеток* (активировать или угнетать какую-либо функцию клеток, активировать или угнетать деление клеток, убивать клетку и т. п.). Конечно, подобрать новое лекарственное средство, соответствующее указанным требованиям, чисто эмпирическим путем — дело очень долгое. Однако именно скрининг многих тысяч веществ с целью отыскания одного лекарства и по сей день составляет основу лекарственной индустрии.

В последние два десятилетия возникло новое направление, принципиально отличающееся от эмпирического поиска лекарств. Идея этого направления состоит в конструировании нового лекарства из двух известных начал, одно из которых обеспечивает селективное связывание с плазматической мембраной нужных клеток, а второе — модификацию их метаболизма. То есть новое лекарство должно содержать два соединенных между собой фрагмента. Первый выполняет функцию адреса, а второй — эффектора.

Сконструированные подобным образом лекарства называют *бифункциональными*, а собственно научный подход — *направленным транспортом лекарств*. Указанный принцип конструирования точно нацеленных лекарств весьма привлекателен и, по-видимому, перспективен. В этом направлении ведется упорная работа, хотя она и находится еще в самой начальной стадии. Однако уже существуют первые успешные примеры, о которых стоит коротко рассказать.

Примечательно, что в этой деятельности очень полезными оказались достижения иммунологии. Действительно, система иммуни-

тета располагает уникальными инструментами точного распознавания — это антитела и подобные им антигенраспознающие рецепторы в мембране Т-клеток. Такие молекулы вполне пригодны в качестве фрагмента, отвечающего за селективное связывание с нужными клетками, если последние имеют на своей поверхности хотя бы один отличительный антиген. Имея точный “адрес” (антитело), можно с его помощью доставлять избранным клеткам эффектор (активатор, ингибитор, токсин).

**Иммунотоксины.** Среди наиболее активно изучающихся бифункциональных лекарственных средств, построенных по указанному выше принципу, следует отметить *иммунотоксины*. Это молекулярные конструкции, построенные из антитела и токсина. Антитело специфично в отношении конкретного антигена на поверхности определенных клеток, а токсин способен убивать эти клетки. Следовательно, иммунотоксин — средство для селективного “выбивания” какого-то типа клеток при полной неприкосновенности других клеток организма. В иммунотоксине антитело выполняет функцию адреса, токсин — эффектора. В идеальном случае токсин, включенный в состав иммунотоксина, не должен влиять ни на какие другие клетки, кроме тех, с которыми взаимодействует антитело. Оказалось, что этого добиться непросто. В очень небольших количествах иммунотоксин все же связывается различными клетками за счет сродства мембранных структур к самому токсину. Принципиально такая же проблема возникает при построении лекарств направленной доставки, содержащих не токсин, а другое физиологически активное вещество. Собственная тропность эффектора к мембранам различных клеток в той или иной мере нарушает избирательность, обеспечиваемую антителом.

Как преодолеть это затруднение? Сложно переоценить важность решения возникшей проблемы. Если удастся избавиться от неспецифической сорбции иммунотоксина на различных клетках, то реальным станет создание иммунотоксинов, нацеленных на элиминацию конкретных опухолей. Не менее заманчивы и перспективы направленной доставки к клеткам физиологически активных веществ, других лечебных средств из современного арсенала фармакологии.

**Респекрины.** Недавно предложен новый подход, который возможно позволит преодолеть трудности, связанные с тропностью эффекторов к клеточным мембранам. Подход состоит в создании молекулярных конструкций — *респекринов* (Р. В. Петров, В. А. Кабанов, Е. С. Северин и др., 1987—1989).

Респекрин построен из “адреса”, эффектора и экранирующего антитела. Последнее закрывает те участки эффектора, которые определяют его тропность к клеткам. Разэкранирование должно протекать только на поверхности клеток, с которыми связывается адресный фрагмент. Здесь, на поверхности “нужных” клеток, происходит конкуренция за связывание с эффектором между клеточны-

ми рецепторами к эффектору и экранирующим антителом. Некоторые молекулы эффектора, расторгнув связь (комплекс) с экранирующим антителом, вступают во взаимодействие с клеточными рецепторами и таким образом окажут физиологический эффект на клетку. В этом случае под влиянием эффектора должны оказаться только те клетки, с которыми связался адресный фрагмент. Следует отметить, что идея рескринов получила некоторые экспериментальные подтверждения. И все же пока сделаны лишь первые шаги в этом направлении. Требуется продолжение исследований прежде, чем рескрины станут реальными лекарственными комплексами.

В стадии исследований находится еще один интересный класс бифункциональных лекарств направленного действия, так называемый АДЕПТ.

**АДЕПТ против опухоли.** Название АДЕПТ происходит от аббревиатуры ADEPT (от англ. antibody-dependent enzyme-potentiated therapy) — понятия, в котором и состоит суть подхода — *энзимная терапия, зависящая от антител*.

Лондонские ученые, разработавшие первый вариант АДЕПТа, присоединили к “адресу” фермент карбоксипептидазу С. В качестве адреса использовали антитело против специфического антигена конкретной опухоли. Сама по себе такая молекулярная конструкция (антитело — фермент), хотя и присоединяется избирательно к поверхности опухолевых клеток, не влияет на их жизнеспособность. Но затем в организм вводят цитотоксическое лекарство в неактивной форме. Оно циркулирует в организме, не оказывая эффекта на здоровые клетки. У поверхности опухолевых клеток это лекарство под влиянием карбоксипептидазы теряет карбоксильную группу, превращается в активную форму, проникает внутрь опухолевых клеток и убивает их.

**“Натасканные” киллеры.** В качестве эффектора в составе лекарств направленного действия могут служить не только молекулы, но и живые клетки, например зрелые Т-киллеры.

В гл. 4, анализируя механизмы функционирования Т-киллеров, мы отмечали, что их антигенузнающий рецептор (ТР) выполняет две функции: узнает измененную МНС-молекулу на поверхности клетки-мишени и одновременно участвует в формировании командного сигнала о выбросе гранул с перфорином. Оказалось, что у готовых к атаке зрелых Т-киллеров, специфичных в отношении определенного “чужого” МНС, можно модифицировать специфичность и тем самым направить их литическую активность на другие клетки-мишени. Для этого достаточно предварительно обработать Т-киллеры специальными антителами. Их называют *гетерологичными перекрестно-сшитыми антителами* (от англ. heterocross-linked antibodies).

Это гибридные молекулы, в которых искусственно соединены

два (иногда больше) варианта антител, имеющих совершенно разную специфичность к антигену. Причем для обработки Т-киллеров с целью их переориентации используют гибридные антитела, имеющие специфичность к ТР, с одной стороны, и к новой клетке-мишени (например, к антигену поверхности раковых клеток) — с другой. При обработке Т-киллеров такие гетероантитела присоединяются одним своим антигенсвязывающим концом к ТР, тогда как другой конец, специфичный к новой клетке-мишени, остается свободным. Таким образом удастся изменить в нужную сторону специфичность ТР и, следовательно, “натаскать” Т-киллеры против конкретных клеток-мишеней.

Приготовленные указанным методом Т-киллеры отлично срабатывают в культуре клеток *in vitro*. Насколько они эффективны против опухоли *in vivo*, еще не вполне ясно, исследования продолжаются. Вместе с тем уже сейчас достаточно оснований считать конструирование “натасканных” эффекторных клеток интересным и перспективным направлением в деле создания бифункциональных лекарств направленного действия.

Иммунотоксины, респекрины и “натасканные” Т-киллеры находятся сейчас в стадии экспериментальных исследований, поэтому, естественно, возникает вопрос о реальности их применения в клинической практике. Ответом на этот вопрос могут послужить замечательные и весьма успешные клинические результаты по применению родственного класса бифункциональных лекарств, радиоантигенов.

**Радиоактивные антигены.** В ряде случаев система иммунитета совершает серьезную ошибку: начинает реагировать против “своих” антигенов и клеток, вырабатывая специфические антитела, Т-киллеры и другие эффекторные средства. Реакцию иммунитета против “своих” антигенов называют *аутоиммунной*. Такие аутоиммунные реакции лежат в основе целого ряда заболеваний, поэтому уже достаточно давно у ученых возникла идея “выбить” аутореактивные клоны лимфоцитов. Возникла идея использовать для этой цели очищенные аутоантигены, “нагруженные” высокоактивной радиоизотопной меткой. Лимфоциты, специфичные в отношении “своих” антигенов, свяжут радиоактивные антигены, эндоцитируют их и погибнут. По сути, в этом случае антиген служит вектором (“адресом”), а радиоизотоп — токсином. Сами радиоантигены подобны иммунотоксинам.

В последние несколько лет было сообщено об успешном применении радиоантигена в клинике для лечения тяжелого аутоиммунного заболевания, называемого миастенией. *Миастения гравис* — болезнь, сопровождающаяся выраженным расслаблением и дистрофией скелетной мускулатуры. Оказалось, что причина кроется в появлении циркулирующих аутоантител к белку-рецептору ацетилхолина, которые и нарушают нормальное взаимодействие

ацетилхолина с соответствующим рецептором в нервно-мышечных синапсах.

Идея лечения состояла в попытке элиминировать клоны лимфоидных клеток, специфичные к ацетилхолиновому рецептору, ведь именно из этих клеток образуются антителопродуценты, секретирующие соответствующие антитела. Был выделен и очищен в значительных количествах рецепторный белок. Затем его "нагрузили" относительно короткоживущим радиоизотопом и стали вводить в организм больных людей. Результаты превзошли все ожидания: после применения радиоантигена наступала длительная ремиссия заболевания, мышечный тонус восстанавливался, существенно уменьшались все клинические проявления миастении. Результаты лечения миастении радиоантигеном доказывают, что бифункциональные лекарства, содержащие адресный и эффекторный фрагменты, могут с успехом применяться в клинической практике.

Легко заметить, что все рассмотренные выше варианты бифункциональных лекарственных конструкций (иммунотоксины, радиоантигены, "натасканные" Т-киллеры) предназначены для угнетения (элиминации) клеток-мишеней. Может возникнуть впечатление, что сфера применения таких терапевтических средств ограничена лишь угнетающими эффектами на те или иные клетки организма. Но это не так. Вполне успешно удастся конструировать бифункциональные активаторы направленного действия. Мы имеем собственный опыт работ в этом направлении.

**Бифункциональные иммуностимуляторы направленного действия.** В противоположность радиоантигенам в целом ряде случаев возникает необходимость не элиминировать клоны лимфоцитов, а, наоборот, активировать их деление и дифференцировку в антителопродуценты, киллеры, клетки памяти, специфичные в отношении вполне конкретных антигенов. Типичными являются случаи, когда с профилактической целью необходимо создать в организме напряженную иммунную память в отношении определенной инфекции. Этой цели служат *вакцины*. Но далеко не против каждой инфекции удастся создать вакцину, ибо не на каждый антиген данный организм способен реагировать интенсивной иммунной реакцией (хотя в арсенале иммунной системы, как известно, существуют лимфоидные клетки с рецепторами любой специфичности). По существу, эффективная вакцина не просто содержит антигены из возбудителя инфекции (вирус, микроб и т. п.), но и способна индуцировать ответ лимфоцитов, имеющих рецепторы к данным антигенам.

На основании такого представления о вакцине была предложена универсальная схема конструирования искусственных вакцин путем химического соединения антигена и иммуностимулятора полимерной природы (Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, В. А. Кабанов и др., 1977). Антиген служит здесь вектором ("адресом"), определяющим

взаимодействие искусственной вакцины с лимфоцитами соответствующей специфичности. Функцией иммуностимулирующего фрагмента является активация ответа этих, и только этих, лимфоцитов. По указанной схеме создан и успешно апробирован широкий ряд иммуногенных конструкций, и в том числе конструкций, способных создать выраженный иммунитет против конкретных инфекций, т. е. вакцин. Некоторые из самых удачных бифункциональных вакцин, созданных таким образом, продемонстрировали высокую активность в эксперименте и в настоящее время проходят клинические испытания.

\* \* \*

В порядке иллюстрации практического использования современных знаний о системе иммунитета мы кратко описали несколько примеров из области конструирования новых лекарств направленного действия для медицины и ветеринарии. Не менее впечатляющие возможности применения достижений иммунологии и в других областях человеческой деятельности, в таких, как биотехнология, сельскохозяйственное производство, пищевая промышленность, экология и др.

#### РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Биохимия мембран*/Под ред. А. А. Болдырева. Р. Н. Глебов. Эндоцитоз и экзоцитоз. М., 1987.
- Биохимия мембран*/Под ред. А. А. Болдырева. А. Я. Кульберг. Рецепторы клеточных мембран. М., 1987.
- Брондз Б. Д. Т-Лимфоциты и их рецепторы. М., 1987.
- Галактионов В. Г. Графические модели в иммунологии. М., 1986.
- Козн А. Р. Свое, чужое и аутоиммунитет//В мире науки. 1988. № 6. С. 14—23.
- Молекулярная биология клетки*/Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис и др. Т. 5. М., 1987.
- Петров Р. В. Иммунология. М., 1987.
- Хэм А., Кормак Д. Гистология. Т. 2. М., 1983.
- Эдельсон Р. Л., Финк Дж. М. Иммунологическая функция кожи//В мире науки. 1985. № 8. С. 16—25.
- Юн Дж. Д.-Е., Кон Ж. А. Как клетки-убийцы убивают//В мире науки. 1988. № 3. С. 14—21.
- Cell Behaviour: Shape, Adhesion and Motility*//Journal of Cell Science. Suppl. 8. Comp. Biologists Ltd, Cambridge, 1987.
- Lewis G. P. Mediators of Inflammation. Wright, Bristol, 1986.
- Immunophysiology*/Eds. J. Oppenheim, E. Shevach, N. Y., 1990.

## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- АДЕПТ 135**  
 Аллергические реакции 71  
 Аллергия 88  
 Антиген(ы) 9, 131  
   — агрегация 71, 79\*  
   — блокирование активных центров антителами 70\*, 71  
   — переработка 20  
   — представление 20  
   — радиоактивные 136  
   — тимусзависимые 22  
   — тимуснезависимые 22  
 Антиген — МНС комплекс 45\* — 47  
 Антигенные детерминанты 39, 100  
 Антигенпрезентирующая клетка 45, 46  
 Анти-антитела 100 \  
 Антитела 14, 32, 131  
   — антиидиотипические 100  
   — аффинность к антигену 71  
   — изотипы 25, 39, 67, 71, 92  
   — — строение 67\*  
   — механизм блокирования вирусной инфекции 68\*  
   — моноклональные 131  
   — мультимолекулярные комплексы с антигеном 74  
   — поликлональные 132  
   — преципитация антигена 72  
   — регуляция синтеза 98\*  
   — специфичность 71  
   — эффекторные функции 66  
 Антителообразования реакция 22, 24\*  
 Антителосекретирующие клетки 18, 25, 32, 66  
 АТФазы ионтранспортирующие 52  
 Аутоиммунная реакция 136  
  
 Базофилы 10, 15  
 Белки индивидуальности 35, 42  
 G-Белки 49, 50  
  
 Вакцинация 17  
 Вакцины 137  
 Воспаления реакции 90  
  
 Гаптены 9, 39  
 Гематотимический барьер 127  
 Геном клетки 57  
 Ig-Гены 44  
 Гибридомы 132  
  
 Гиперчувствительность замедленного типа 15, 28  
   — немедленного типа 15  
 Главный комплекс гистосовместимости 41  
 Гранулоциты 9, 106  
  
 Движение клетки по субстрату, модель Аберкромби 110, 111\*, 113  
 Деление лимфоидной клетки 24\*  
   — — — активация 49, 58  
 Детерминанты антигенные 39, 100  
   — — идиотипические 100  
 В-Детерминанты 44  
 Т-Детерминанты 44  
 Дифференцировка лимфоцитов 58  
   — терминальная 33  
 Дифференцировочные факторы для В-клеток 25  
   — — — Т-киллеров 64  
   — — — Т-клеток 25  
  
 Идиотип 100  
 Идиотипические цепи 100, 101  
 Иммуитет 8, 66, 97  
 Иммунная (ый, ое, ые) защита 14  
   — интерферон 61  
   — ответ вторичный 92, 93  
   — — механизм ограничения 97  
   — — первичный 92  
   — память 16  
   — — механизмы 94  
   — — продолжительность 93  
   — реактивности гены 44  
   — реакция 16  
   — — активация 20  
   — — кооперативные взаимодействия клеток 31, 32\*  
   — — лаг-фаза 16  
   — — основной клеточный процесс 33  
   — — специфичность 17  
   — система клетки 9, 17  
   — — компартменты 9  
   — — органы 9  
   — — основные принципы функционирования 8, 102  
   — — предназначение 8  
   — — структура 9  
   — — функциональные элементы 9  
 Иммуноглобулин(ы) 35, 67  
   — антигенсвязывающие участки 37, 38\*

\* Звездочкой отмечены страницы, на которых помещены рисунки.

- переменные домены 37, 38\*
- постоянные домены 37
- структура 36, 37\*, 67, 68, 70
- “Иммунологический надзор” 9
- Иммунотоксины 134
- Иммуностимуляторы бифункциональные 137
- линейные полимеры 54
- Т-Индукторы 19, 26, 27
- Интерлейкин(ы) 23
- Интерлейкин-1 21, 24, 58, 86, 90, 102, 106
- Интерлейкин-2 23, 26, 32, 59, 82, 89, 102, 122
- Интерлейкин-3 89, 90
- Интерлейкин-4 25, 62, 89, 93, 102
- Интерлейкин-5 62, 87, 89, 93, 102
- индукция дифференцировки В-клеток в антителосекретирующие клетки 63
- физиологические последствия действия 63
- Интерлейкин-6 65, 86, 102
- $\alpha$ -Интерферон 61
- $\beta$ -Интерферон 61
- $\gamma$ -Интерферон 61, 77, 82, 85, 89, 90, 102

- Каналы ионные 51
- — формирования гипотеза 56\*
- Кариокинез 50
- Кератиноциты 21, 29, 30\*
- Киллеры 15, 18
- естественные 19, 81
- механизм поражения мишени 78\*
- “натасканные” 135
- Т-Киллеры 32, 40, 77
- защита от вирусов и опухолей 25
- образование 25, 26\*
- самозащита 79
- Клетки-“мусорщики” 15
- Клетки-“няньки” 21, 126
- Т-Клетки-активаторы 19
- Кинины вазоактивные 15
- Клоны 18
- Коллаген(ы) 114—116
- Колонистимулирующие факторы 89, 90
- Комплементная система 15, 75
- — активация 75\*, 76
- — компоненты 76
- Комплементарность 40
- Конъюгация клеток 77\*
- Костный мозг 9—11\*
- Кроветворные стволовые клетки 10
- Купферовские клетки 107
- Кэппинг 54

- Лангерганса клетки 30\*, 31
- Лейкотриены 53
- Лейкоциты 9, 10, 20, 21, 28, 83, 88
- факторы хемотаксиса 90
- Лекарства бифункциональные 133
- Лизосома 83
- индукция цГМФ-сигнала 53
- Лимфатические узлы 9, 11\*, 105
- — строение 13\*
- Лимфобласт 17
- Лимфоидная система человека 11\*
- Лимфоидные клетки 35
- — блуждающие 104
- — оседлые 104
- — субпопуляции 18
- Лимфотоксин ( $\beta$ -ФНО) 86
- Лимфоциты 9, 17
- активация деления 53
- клетки-предшественники 10
- рециркуляция 104, 105\*
- стадии созревания 123
- В-Лимфоциты 10, 14, 18, 66
- дифференцировка в антителосекретирующую клетку 24\*, 25
- пролиферация 24\*, 25
- расселение 107
- субпопуляции 22, 23
- Т-Лимфоциты 10, 14, 22, 66, 121
- активированные 89
- обучение в тимусе 121, 122, 125
- расселение 107

- Макрофаги 12, 20, 22, 58
- активации фактор 28, 32
- активированные 89
- альвеолярные 20
- ингибирования миграции фактор 28, 32
- эффекторная функция иммунитета 83
- Макрофаги-киллеры 85
- Маркерные белки 123
- — киллеров 124\*, 125
- — общих предшественников для Т-и В-лимфоцитов 123, 124\*
- — стволовых клеток 123, 124\*
- — супрессоров 124\*, 125
- — хелперов 124\*, 125
- Матрикс В-зон 116
- Т-зон 116
- тканевой 110, 113
- — регуляторная роль 114\*, 117
- Мегакариоциты 89
- Меланоциты 29, 30\*
- Миграция клеток иммунной системы 104
- Микрофаги 20

Миндалины окологлоточные 9, 11\*  
Молекулы адгезии 106, 112  
Моноциты 58  
Мякотные шнуры 108  
МНС-белки 42, 43

Нейтрофилы 10, 20, 87  
— хемотаксис 87  
Некротизация опухоли 86  
Нелимфоидные клетки 19

Опсонизация 74

Памяти клетки 95  
— — свойства 95  
Пейеровы бляшки 9, 11\*, 106, 109  
Перфорин 32, 78\*, 79  
Плазматические клетки 18, 66, 109  
Повышенная чувствительность немед-  
ленного типа 88  
Поры неселективные ионпроводящие  
55, 56\*  
— сквозные 76\*  
Пролиферация 18, 24\*, 25  
Проницаемость клеточной мембраны,  
гипотетический механизм 55\*  
Простагландины 53  
Протеогликаны 114, 115\*, 118

Регуляторные медиаторы 98, 99  
Репарации реакция 90  
Респекрины 135  
Рестрикция по МНС 48  
Ретикулиновые волокна 114  
Ретикулярные дендритные клетки 11,  
14, 20  
Рецептор, агрегация 53, 54  
— для ИЛ1 58  
— — ИЛ2 60  
— — — структура 60\*  
— — связывания с молекулами адгезии  
106  
— — фибронектина 112  
— — Fc-фрагмента Ig 84—88\*  
— — В-лимфоцитов 35  
— — Т-лимфоцитов 35, 40, 41\*  
— Т-супрессоров 46  
— Т-хелперов 44

Секреторный компонент 71  
Селезенка 9, 11\*, 13\*  
Селекция 122  
Сетевые взаимодействия 34  
Сплайсинг 63  
Супрессия, основной механизм 27  
— факторы 27, 32  
Супрессорный каскад 27\*

Т-Супрессоры 19, 32, 97  
— активация 27  
— предшественники 27

Технология получения особо чистых ве-  
ществ 131  
Тимопозитивы 31  
Тимус 9—11\*  
— гормоны 21, 127  
— эпителиальные клетки 21  
Транскондон 92, 93  
Транспорт ионный 51, 52  
— направленный лекарств в организме  
131, 132

Узнавание антигенов В-клеточное 44  
— — Т-клеточное 44, 77  
Т-Усилители 59

Фаголизосома 83  
Фагосома 83  
Фагоциты 9, 10, 15, 20  
Фагоцитоз 20, 83, 84\*  
Фактор(ы) некроза опухоли 86, 90, 102,  
106  
— роста 58  
— — интерференция 65  
— — В-клеток 23  
— — Т-клеток 23, 59  
Фибробласты 89  
Фолликул лимфатический 11, 13\*, 14  
— — первичный 107  
— — — зародышевый центр 108, 109  
— солитарный 109  
Фосфолипазы клеточной мембраны 52  
Фосфолипиды, активация лимфоцитов  
52  
Fab-Фрагмент 68  
Fc-Фрагмент 68

Т-Хелперы 32, 40  
— медиаторы 23  
Т—В-Хелперы 19, 42  
Т—Т-Хелперы 20, 26, 42, 59  
Хемотаксиса индукторы 113  
— фактор 28, 32

Циклазы 50  
— активация 51  
Цитодифференцировка 18, 25  
Цитокинез 50  
Цитоскелет 113

Экзоцитоз векторный 110, 111\*  
Эластин 114, 116  
Эозинофилы 10, 20, 28, 29, 87, 89

---

# Оглавление

---

Список принятых сокращений .....	5
Предисловие .....	6
Глава 1. Иммунная система (принципы организации и функционирования) .....	8
1.1. Общие понятия .....	8
1.2. Структурная организация иммунной системы .....	9
1.3. Эффекторные средства иммунной защиты .....	14
1.4. Особенности иммунного реагирования .....	16
1.5. Клетки иммунной системы .....	17
1.5.1. Лимфоциты .....	17
1.5.2. Нелимфоидные клетки .....	19
1.6. Функциональные взаимодействия клеток в иммунных реакциях .....	22
1.6.1. Межклеточные взаимодействия в реакции антителообразования .....	22
1.6.2. Медиаторные факторы Т-хелперов .....	23
1.6.3. Межклеточные взаимодействия в реакции образования Т-киллеров .....	25
1.6.4. Межклеточные взаимодействия при активации Т-супрессоров .....	27
1.6.5. Межклеточные взаимодействия при индукции гиперчувствительности замедленного типа .....	28
1.6.6. Взаимодействие клеток при активации эозинофилов .....	28
1.6.7. Взаимодействие клеток при развитии местных иммунных реакций в коже .....	29
1.6.8. Общие закономерности функционального взаимодействия клеток иммунной системы .....	31
1.7. Система иммунитета — клеточная машина .....	33
Глава 2. Узнавание антигенов лимфоцитами .....	35
2.1. Рецепция антигенов В-лимфоцитами .....	35
2.1.1. Структура рецепторных Ig .....	36
2.1.2. Антигенузнающий центр молекулы Ig .....	37
2.1.3. Структура антигенных детерминант .....	39
2.2. Рецепция антигенов Т-лимфоцитами .....	40
2.2.1. Структура антигенузнающего рецептора Т-клеток (ТР) .....	40
2.2.2. Молекулы главного комплекса гистосовместимости .....	41
2.2.3. Что узнает Т-клетка с помощью ТР .....	43
2.2.4. Взаимодействие ТР с комплексом (антиген + МНС) .....	47

<b>Глава 3. Активация делений и дифференцировки лимфоцитов . . . . .</b>	<b>49</b>
3.1. Сигнал активации формируется в плазматической мембране . . . . .	49
3.2. Сигнальные устройства в мембране лимфоцита . . . . .	50
3.2.1. Система циклаз . . . . .	50
3.2.2. Система ионного транспорта . . . . .	51
3.2.3. Система регуляции липидной матрицы мембраны . . . . .	52
3.3. О возможной роли процесса агрегации рецепторов как пускового звена в механизме активации . . . . .	54
3.4. Преобразование мембранного сигнала внутри клетки . . . . .	57
3.5. Перестройка активности генома — конечный адресат сиг- нала . . . . .	57
3.6. Дополнительные сигналы активации — ростовые и диф- ференцировочные факторы для лимфоцитов . . . . .	57
3.6.1. Интерлейкин-1 . . . . .	58
3.6.2. Интерлейкин-2 . . . . .	59
3.6.3. $\gamma$ -Интерферон . . . . .	61
3.6.4. Интерлейкин-4 . . . . .	62
3.6.5. Интерлейкин-5 . . . . .	62
<b>Глава 4. Защитная функция созревших лимфоидных клеток . . . . .</b>	<b>66</b>
4.1. Эффекторные функции антител . . . . .	66
4.1.1. Изотипы антител . . . . .	67
4.1.2. Инактивация биологически активных центров антигена . . . . .	71
4.1.3. Агрегация растворимых антигенов антителами . . . . .	71
4.1.4. Опсонизация “чужих” клеток . . . . .	74
4.1.5. Активация системы комплемента. Лизис чужой клетки . . . . .	75
4.2. Эффекторная функция лимфоцитов-киллеров . . . . .	77
4.2.1. Т-Киллеры . . . . .	77
4.2.2. Естественные киллеры . . . . .	81
<b>Глава 5. Вовлечение нелимфоидных клеток в защитные механизмы имму-         нитета . . . . .</b>	<b>83</b>
5.1. Макрофаги . . . . .	83
5.1.1. Макрофаги-“мусорщики” . . . . .	83
5.1.2. Макрофаги-киллеры . . . . .	85
5.2. Нейтрофильные гранулярные лейкоциты . . . . .	87
5.3. Эозинофильные гранулярные лейкоциты . . . . .	87
5.4. Базофильные гранулярные лейкоциты и тучные клетки . . . . .	88
5.5. Вовлечение резервов путем активации кроветворения . . . . .	89
5.6. О единстве реакций иммунитета, воспаления и репарации . . . . .	90
<b>Глава 6. Иммунная память . . . . .</b>	<b>92</b>
6.1. Различия между первичной и вторичной реакциями на один и тот же антиген . . . . .	92
6.2. Продолжительность иммунной памяти . . . . .	93
6.3. Гипотетический механизм иммунной памяти . . . . .	94
6.4. Проблемы иммунной памяти . . . . .	95
<b>Глава 7. Регуляция иммунитета . . . . .</b>	<b>97</b>
7.1. Современные представления о механизмах регуляции имму- нитета . . . . .	97
7.2. Центральная проблема регуляции иммунной реакции . . . . .	101
7.3. Надежность иммунного механизма . . . . .	102

Глава 8. Движение клеток иммунной системы.....	104
8.1. Рециркуляция лимфоцитов.....	104
8.2. Движение и расселение лимфоидных клеток в тканях.....	107
8.2.1. Механизм движения клетки по субстрату.....	110
8.2.2. Межклеточный матрикс как фактор регуляции движения клеток в ткани.....	113
8.3. Миграция и кооперация клеток при созревании Т-лимфоци- тов в тимусе.....	121
8.3.1. Необходимость миграции клеток между органами.....	121
8.3.2. Чему "обучаются" лимфоциты в тимусе?.....	122
8.3.3. Стадии созревания лимфоцитов в тимусе.....	123
8.3.4. Что известно о молекулярных и клеточных механизмах соз- ревания лимфоцитов в тимусе.....	125
Заключение.....	130
Вместо послесловия.....	131
Рекомендуемая литература.....	138
Предметный указатель.....	139

90 к.

# БИОХИМИЯ МЕМБРАН

Книга продолжает  
серию учебных пособий  
по современным проблемам  
биохимии мембран  
и дает основные сведения  
о молекулярных механизмах  
клеточного иммунитета.

