

## GENETIC CONTROL OF IMMUNE CELL INTERACTION

V. G. GALAKTIONOV

*The interaction of genetically identical and genetically different immunocompetent cells is discussed in respect to the recognition of T-lymphocytes by antigens. The modern views on the process of T-lymphocytes maturation in thymus are presented.*

**Рассмотрены вопросы взаимодействия генетически идентичных и генетически отличающихся иммунокомпетентных клеток в связи с проблемой распознавания антигена Т-лимфоцитами. Представлен современный взгляд на процесс созревания Т-лимфоцитов в тимусе.**

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК

В. Г. ГАЛАКТИОНОВ

Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова

### ВВЕДЕНИЕ

Защитная реакция организма от патогена или любого другого чужеродного биологического материала осуществляется двумя системами иммунитета. В тех случаях, когда организм инфицируется бактериями, основная нагрузка падает на так называемую В-систему иммунитета. В состав этой системы входят костный мозг — основной источник клеток, продуцирующих специфические антитела и получивших название В-лимфоцитов (от англ. bone marrow — костный мозг), собственно В-лимфоциты и набор различных классов антител. Конечным результатом работы В-системы является накопление специфических антител, которые нейтрализуют бактерии или их токсины. Если же организм столкнулся с вирусной инфекцией, то в работу вступает Т-система иммунитета. Составляющими элементами Т-системы являются тимус (лимфоэпителиальный орган, расположенный за грудиной), различные субпопуляции тимусзависимых клеток (Т-лимфоцитов), антигенраспознающие рецепторы, находящиеся на поверхности этих клеток (Т-клеточные рецепторы — ТКР), а также группа регуляторных молекул (цитокинов). Одна из клеточных субпопуляций этой системы — Т-киллеры (цитотоксические Т-лимфоциты) являются основным компонентом антивирусного иммунитета. Т-киллеры контактируют с инфицированными вирусом клетками и разрушают их. Попавшие в кровотоки вирусные частицы нейтрализуются антителами.

Изучая тонкие механизмы этих процессов, исследователи поняли, что ни В-клетки, ни Т-киллеры не в состоянии развить максимально эффективную реакцию самостоятельно. Для наиболее полного ее проявления необходима помощь со стороны других клеток. Эту вспомогательную функцию выполняют как фагоцитирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки), так и Т-хелперы (от англ. helper — помощник). Именно через процесс взаимодействия различных типов иммунокомпетентных клеток формируется наиболее выраженный иммунный ответ.

Параллельно и вначале независимо от проблем взаимодействия клеток, ответственных за иммунный ответ, проводились исследования по генетической

организации главного комплекса гистосовместимости (ГКГ). Этот комплекс генов был открыт в связи с пересадками (трансплантацией) тканей от одной особи вида другой. Отсюда и название комплекса. До конца 60-х – начала 70-х годов было известно лишь одно свойство этого комплекса – контроль синтеза антигенов, вызывающих иммунную реакцию отторжения пересаженной ткани. Позднее при изучении генетического контроля силы иммунного ответа и особенно при анализе механизмов взаимодействия генетически отличающихся клеток был выявлен достаточно широкий спектр биологической активности комплекса. Под контролем ГКГ проходят такие иммунологические процессы, как регуляция силы гуморального (В-клеточного) и клеточного (Т-клеточного) иммунного ответа, обеспечение иммуногенности проникшего в организм антигена, селекция специфических Т-клеток в тимусе. И наконец, изучение участия генов ГКГ во взаимодействии иммунокомпетентных клеток привело к пониманию одного из существенных явлений иммунитета – распознавания антигена Т- и В-клетками.

## ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

ГКГ у мышей представляет собой группу близкородственных генов, локализованных в 17-й хромосоме. У человека этот комплекс располагается в 6-й хромосоме. Гены H-2K, H-2D и H-2L ответственны за синтез антигенов I класса. Гены A $\beta$ , A $\alpha$ , E $\beta$  и E $\alpha$  обеспечивают образование полипептидных цепей, которые формируют антигены II класса. Известны две формы таких антигенов A $\beta$ A $\alpha$  и E $\beta$ E $\alpha$  (рис. 1).

Антигены I класса являются гликопротеинами с молекулярной массой 44 000. С основной, тяжелой  $\alpha$ -цепью этого антигена нековалентно связан  $\beta_2$ -микроглобулин ( $\beta_2$ -M), имеющий близкую гомо-

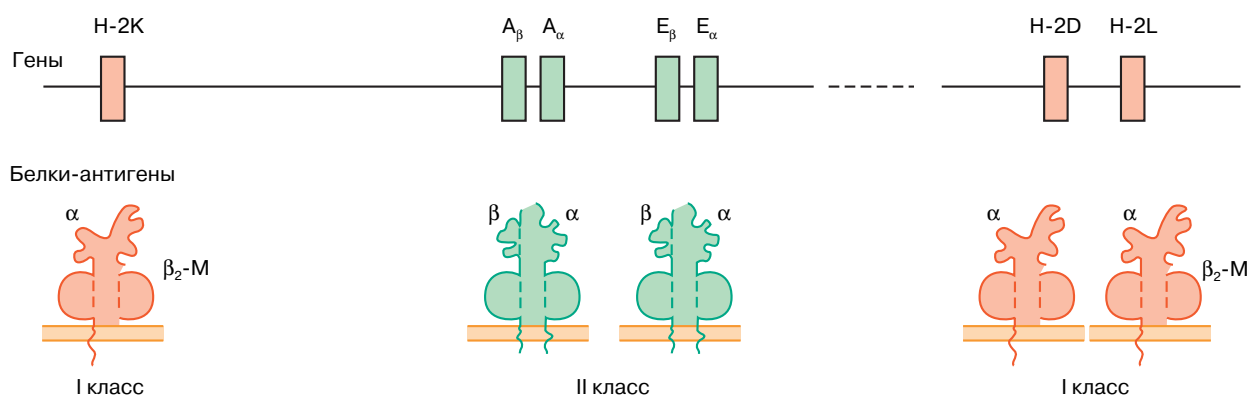
логию с иммуноглобулинами. Антигены II класса построены из двух полипептидов ( $\beta$ - и  $\alpha$ -цепей).

Антигены I и II класса, а также  $\beta_2$ -микроглобулин по характеру строения и высокой гомологии последовательности аминокислотных остатков с иммуноглобулинами входят в состав единого суперсемейства. Этот факт сам по себе примечателен. Он указывает на то, что роль ГКГ состоит не только в маркировке индивидуальности, но и в реакциях иммунологической природы.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ИДЕНТИЧНЫХ (СИНГЕННЫХ) КЛЕТОК

Проблема межклеточных взаимодействий возникла в биологии достаточно давно. Исследователям, занимающимся изучением вопросов клеточной биологии, хорошо известно взаимное влияние различных типов клеток в таких процессах, как дифференцировка клеток, эмбриональное развитие, регуляция роста тканей. Однако в иммунологии изучения вопросов клеточного взаимодействия как одного из механизмов осуществления иммунологических функций до середины 60-х годов не проводилось. Казалось, что основные клетки Т- и В-систем работают автономно. Первые из них – для реализации клеточного типа ответа, вторые – гуморального.

В 1963 году появилась публикация Claman, в которой было показано, что для полноценной продукции антител необходима кооперация по крайней мере двух типов клеток: Т- и В-лимфоцитов. Исследователи провели простые, но при этом крайне демонстративные опыты. Летально облученным мышам, лишенным собственных иммунокомпетентных клеток, вводили либо только клетки тимуса (источника Т-лимфоцитов), либо клетки костного мозга (источника В-клеток), либо смесь этих клеток. В первых двух случаях регистрировали лишь



**Рис. 1.** Организация главного комплекса гистосовместимости (H-2 комплекса) у мышей. H-2K, H-2D, H-2L – гены, контролирующие антигены I класса; A $\beta$ , A $\alpha$ , E $\beta$ , E $\alpha$  – гены, контролирующие антигены II класса;  $\alpha$ ,  $\beta$  – полипептидные цепи антигенов I и II классов;  $\beta_2$ -M –  $\beta_2$ -микроглобулин

следы антител после введения антигена. В третьем варианте опытов величина ответа была значительно выше суммы ответов двух предыдущих групп. Налицо был явный синергический эффект. Именно синергизм при кооперации двух типов клеток вызвал у иммунологов особый интерес. После работы Слатман иммунологические журналы были переполнены статьями, касающимися различных сторон клеточной кооперации. При всей впечатляющей силе первой публикации в работе был существенный недостаток. Опыты проводили на животных (*in vivo*), и в силу этого не было возможности учесть всех участников клеточного взаимодействия.

Несколько позднее Mosier и Coppelson (1968) провели эксперименты с культурой клеток. Получив очищенные от посторонних клеток популяции Т-, В-лимфоцитов и макрофагов (МФ), они стали комбинировать между собой различные типы клеток *in vitro*. Из всех возможных вариантов: Т-лимфоциты плюс В-лимфоциты, Т-лимфоциты плюс макрофаги, В-лимфоциты плюс макрофаги и, наконец, Т-лимфоциты плюс В-лимфоциты плюс макрофаги – продукция антител наблюдалась только при сочетании трех типов клеток. Стало очевидно, что полноценное развитие гуморального иммунного ответа требует не двух, а по крайней мере трех типов клеток. Функция каждого клеточного типа в антителопродукции строго предопределена. Макрофаги и другие фагоцитирующие клетки поглощают, перерабатывают и экспрессируют антиген в иммуногенной, доступной для Т- и В- лимфоцитов форме. Т-клетки, а точнее, одна из субпопуляций этих клеток, так называемых Т-хелперов (помощников), после распознавания антигена начинают продукцию цитокинов, обеспечивающих помощь В-клеткам. Эти последние клетки, получив специфический стимул от антигена и неспецифический от Т-клеток, вступают в

основной эффекторный процесс – продукцию антител (рис. 2).

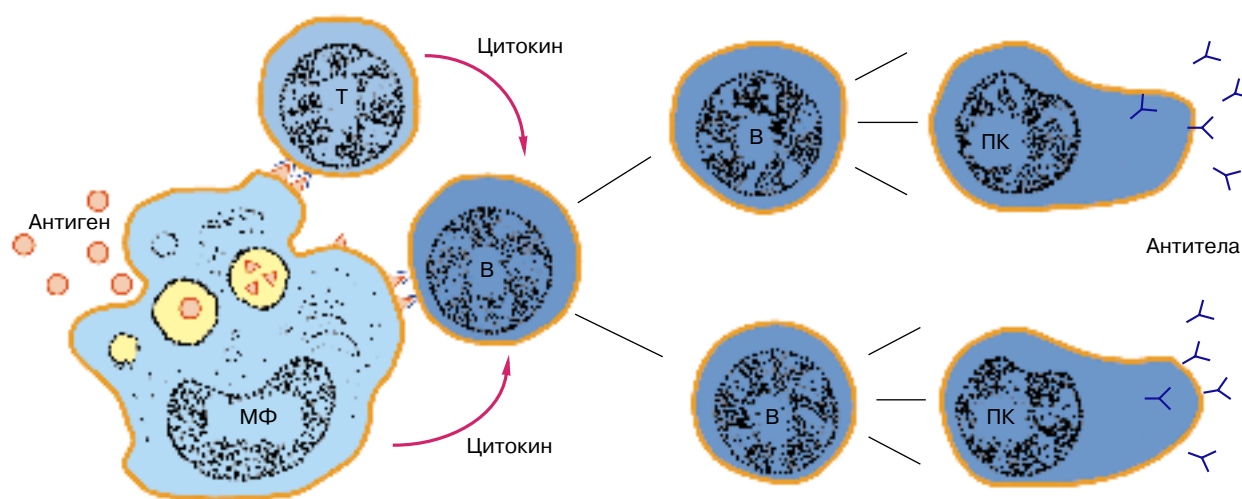
При формировании клеточного типа иммунного ответа также необходима кооперация различных типов клеток. Предшественник клеточного ответа, например Т-киллер, после распознавания антигена испытывает на себе действие Т-хелперов и вспомогательных клеток (фагоцитирующих мононуклеаров). Только после взаимодействия предшественника с этими клетками появляется возможность его развития до зрелой эффекторной клетки.

Внимательное изучение механизмов кооперации иммунокомпетентных клеток привело к формированию одного из наиболее перспективных направлений исследования, связанного с изучением роли гуморальных факторов в реализации клеточного взаимодействия. Современное название этих факторов – цитокины.

Сегодня известны структура и функция около 20 таких цитокинов. Более того, для многих из них получены генно-инженерные аналоги, повторяющие активность природных соединений. В табл. 1 в качестве примера представлены некоторые из известных цитокинов, осуществляющих реальную связь между клетками – продуцентами и мишенями, что и вскрывает один из аспектов клеточного взаимодействия.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОТЛИЧАЮЩИХСЯ КЛЕТОК

С середины 60-х годов начало формироваться направление, задача которого – выяснение генетических механизмов, регулирующих силу иммунного ответа. Были обнаружены гены иммунного реагирования (I $\gamma$ -гены – *immune response genes*), которые находятся в ГКГ. Сразу после локализации генов в



**Рис. 2.** Взаимодействие иммунокомпетентных клеток. МФ – макрофаг (или другие фагоцитирующие клетки, способные перерабатывать антиген). Т – Т-клетки (Т-хелперы), В – В-клетки, ПК – плазматические клетки

**Таблица 1.** Клетки-продуценты и клетки-мишени цитокинов

Цитокин	Основной тип клеток-продуцентов	Клетки-мишени
ИЛ-1	Клетки моноцитарно-макрофагального ряда	Т-лимфоциты, В-лимфоциты, макрофаги, НК-клетки, нейтрофилы, фибробласты, базофилы, тучные клетки и др.
ИЛ-2	Т-хелперы	Клетки лимфоидного ряда (Т-киллеры, Т-супрессоры, Т-хелперы), макрофаги, НК-клетки
ИЛ-3	Т-хелперы	Предшественники гемопоэтических клеток
ИЛ-4	Т-лимфоциты, тучные клетки, клетки стромы костного мозга	Т-лимфоциты, В-лимфоциты, макрофаги, фибробласты, эпителиальные клетки
ИЛ-5	Т-хелперы	В-лимфоциты, эозинофилы
ИЛ-6	Т-лимфоциты, фибробласты, моноциты и макрофаги, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки, кератиноциты	Т-лимфоциты, В-лимфоциты

хромосоме Ig возник вопрос о типе клеток, в которых проявляется активность этих генов. Необходимость решения данного вопроса привела к созданию комбинированных клеточных культуральных систем, составленных от животных с разной способностью к иммунному ответу на те или иные антигены. Как часто бывает в науке, используемая система взаимодействия генетически отличающихся (несингенных или аллогенных) клеток оказалась полезной не только для ответа на выдвинутый вопрос. Она принесла пользу в решении проблемы антигенного распознавания Т-лимфоцитами. Дело в том, что до середины 80-х годов природа антигенраспознающих рецепторов Т-клеток (ТКР – Т-клеточный рецептор) оставалась неизвестной. И только совместные усилия клеточных и молекулярных иммунологов привели к пониманию характера антигенного распознавания тимусзависимыми клетками. Первые опыты, заставившие думать об особом характере ТКР, отличном от антигенраспознающих рецепторов В-клеток (поверхностных иммуноглобулинов – sIg), были проведены с культурой клеток.

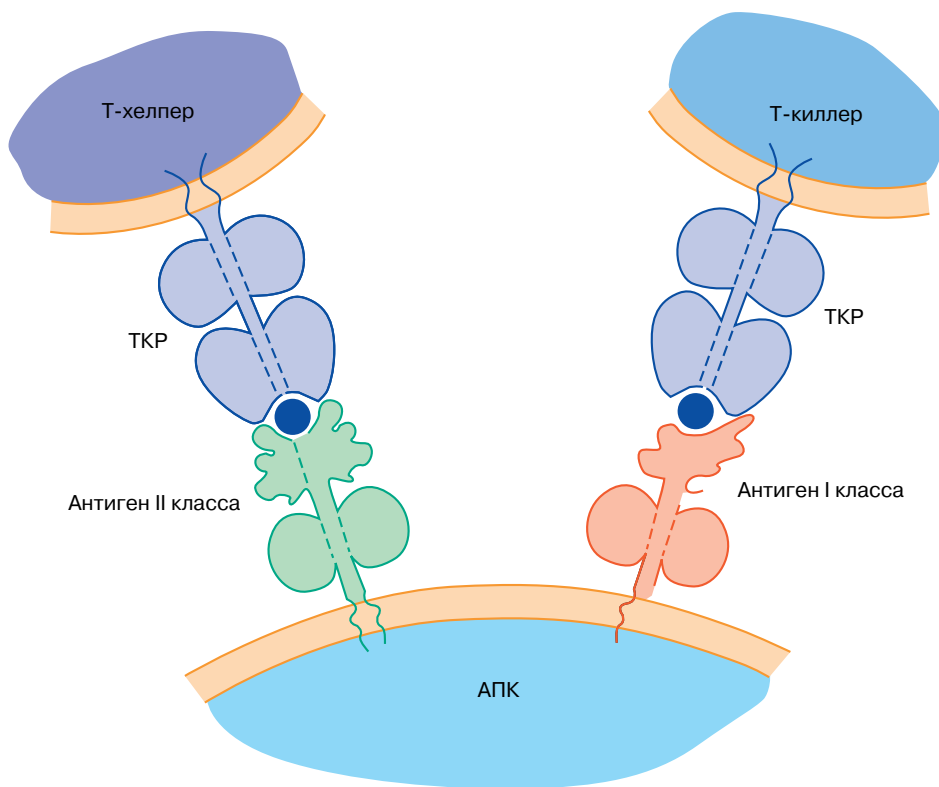
Так, например, в опытах *in vitro* была предпринята попытка оценить реакцию Т-клеток (конкретно Т-хелперов) на чужеродный антиген, который был ассоциирован с макрофагами. Выяснилось, что при генетической идентичности между макрофагом и Т-хелперами последние развивают сильную ответную реакцию. Ситуация менялась, если Т-клет-

ки генетически отличались от макрофагов. Во всех случаях, когда различия касались генов, контролирующих антигены II класса, Т-хелперы оставались пассивными. Подобная инертность показала странной. Действительно, если чувствительные к определенному антигену Т-хелперы распознают только тот антиген, к которому они были сенсibilизированы, им все равно, с каким макрофагом взаимодействовать. Однако факты говорили об обратном. Оставалось предположить, что Т-хелперы распознают не только чужеродный антиген на поверхности макрофагов, но и свои собственные антигены II класса, представленные на тех же макрофагах (рис. 3).

Если Т-хелперы распознают комплекс чужеродного, экзогенного антигена с антигенами II класса ГКГ, то генерация цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров) связана с ограничениями по антигенам I класса. К такому выводу пришли Zinkernagel и Doherty после проведения серии исследований по индукции Т-киллеров под контролем со стороны ГКГ. Специфически сенсibilизированные к определенному вирусу Т-киллеры способны разрушать в условиях *in vitro* генетически идентичные (сингенные) клетки-мишени, зараженные тем же вирусом. Смена одного вируса на другой отменяла реакцию лизиса, что указывало на специфичность анализируемых Т-киллеров. Однако эта специфичность была ограничена антигенами I класса ГКГ (Н-2К или Н-2D). Реакция на специфический вирус развивалась только при идентичности по антигенам I класса ГКГ между премированными Т-клетками и клетками-мишенями, зараженными соответствующим вирусом (см. рис. 3).

Итак, Т-киллеры, так же как и Т-хелперы, распознают не собственно чужеродный антиген, но его комплекс с продуктами ГКГ: Т-помощники – комплекс с антигенами II класса, Т-киллеры – с антигенами I класса. В схеме генерация и последующее функциональное проявление двух типов клеток выглядят следующим образом. Проникший в организм чужеродный антиген (например, вирус) захватывается и перерабатывается фагоцитирующей клеткой. В результате внутриклеточного процессинга фрагменты антигена выходят на клеточную поверхность, где и образуют комплекс с антигенами I или II класса. Включение в комплекс антигенов ГКГ и является тем генетически обусловленным ограничением, которое не позволяет развиваться ответу в тех случаях, когда в комплекс включены антигены иного генотипа.

Клеточная феноменология распознавания комплексного антигена Т-хелперами и Т-киллерами указывает лишь на двойной характер такого распознавания (распознавания “своего” и “чужого”), но ничего не говорит о природе собственно антигенраспознающих структур Т-клеток. История изучения этих структур полна ошибок, спекуляций и различного



**Рис. 3.** Распознавание антигена, ассоциированного с продуктами главного комплекса гистосовместимости, Т-клеточными антигенраспознающими рецепторами. ТКР – Т-клеточный рецептор, АПК – антигенпредставляющая клетка

рода общих суждений. Действительно, явление взаимодействия иммунокомпетентных клеток в условиях ответа на антиген ясно указывало на особые свойства рецепторов Т-клеток, отличных от аналогичных поверхностных структур В-клеток, которым не требуются антигены ГКГ для реализации процесса распознавания. Отсутствие же конкретных данных по молекулярной организации антигенных рецепторов Т-клеток и приводило к умозрительным построениям, многие из которых так и не нашли экспериментального подтверждения. Только в середине 80-х годов была наконец понята молекулярная природа Т-клеточных рецепторов. Они представляют собой гликопротеины клеточной поверхности, построенные из двух полипептидных цепей:  $\alpha$  и  $\beta$ . Каждая цепь включает два домена: переменный (V) и константный (C). Антигенраспознающий центр, так же как и у антител, формируется при взаимодействии V-доменов каждой из цепей. Сходство с антителами касается и организации генов, контролирующих синтез рецепторов Т-клеток. Между двумя типами рецепторов имеется значимая гомология по последовательности аминокислотных остатков в полипептидах. Предполагается, что эволюционно Т-клеточные рецепторы явились предшественниками антител. Черты сходства

между этими структурами позволили объединить их наряду с другими близкими белками в единое суперсемейство.

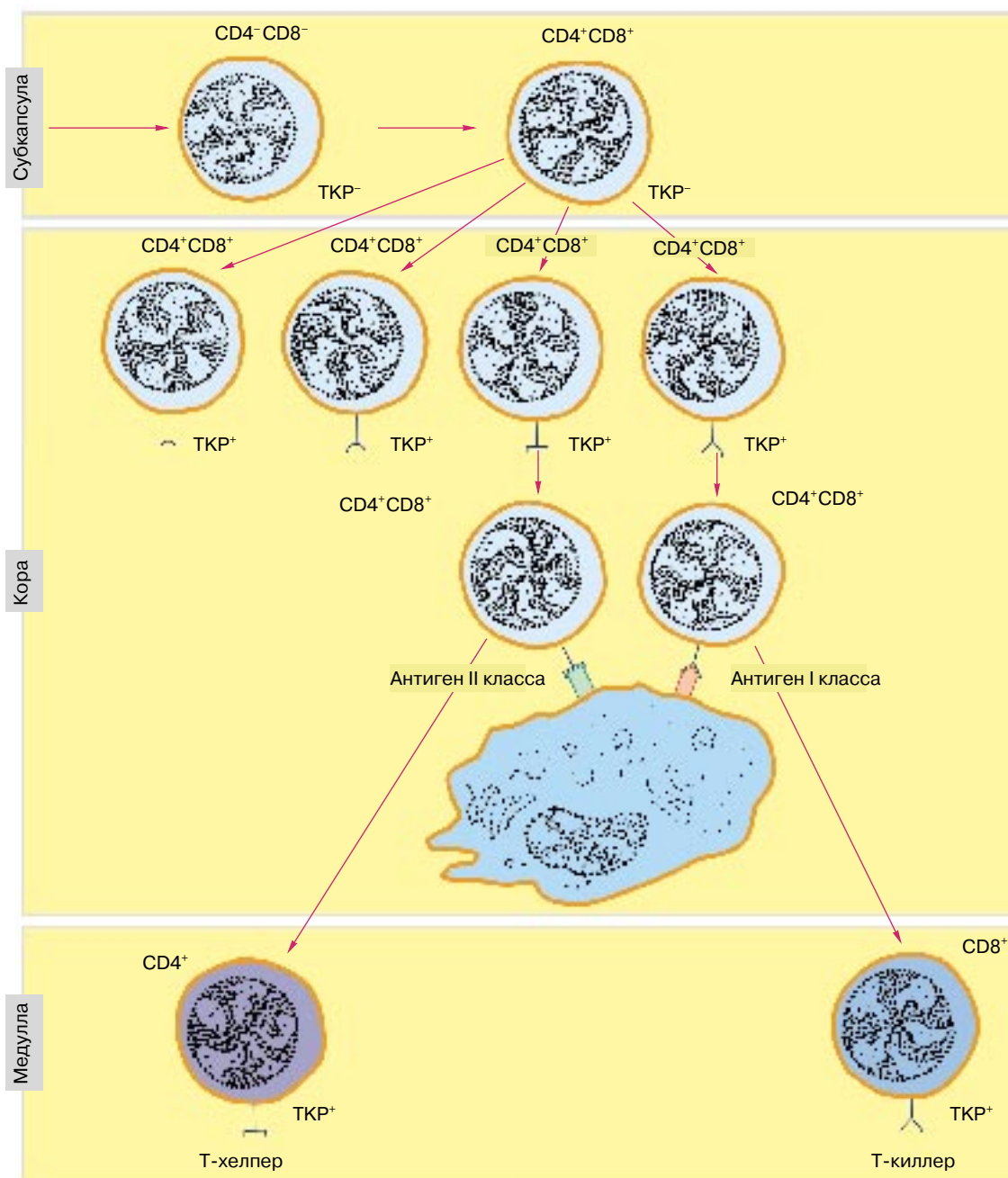
### ТИМУС – ШКОЛА ОБУЧЕНИЯ НЕЗРЕЛЫХ Т-КЛЕТОК

В середине 60-х годов была установлена ключевая роль тимуса в формировании пула зрелых Т-клеток. Позднее стало очевидно, что именно в тимусе происходят процессы дифференцировки Т-клеток на субпопуляции (Т-киллеры, Т-хелперы, Т-супрессоры). И наконец, в середине 80-х годов иммунологи поняли, каким образом в тимусе Т-клетки приобретают свое главное свойство – способность к двойному распознаванию.

Путь созревания и “обучения” предшественников Т-клеток в тимусе выглядит следующим образом (рис. 4). Незрелые клетки (пре-Т-лимфоциты), лишённые как маркеров дифференцировки, так и Т-клеточных, антигенраспознающих рецепторов (ТКР), мигрируют по предначертанному пути из костного мозга в субкапсулярную зону органа. Здесь осуществляются первые шаги внутри тимусной дифференцировки лимфоцитов. В результате на поверхности клеток начинается одновременная

экспрессия двух маркеров дифференцировки (CD4 – маркер Т-хелперов и CD8 – маркер Т-киллеров). Однако у тимоцитов субкапсулярной зоны еще отсутствуют ТКР. Их умеренная экспрессия начинается позднее, после миграции клеток в кору. С момента появления антигенных рецепторов начинается основной этап обучения. Из множества при-

шедших в кору клеток успех в дальнейшем развитии сопутствует только тем, чьи рецепторы способны взаимодействовать с антигенами ГКГ, обильно представленными на стромальных клеточных элементах. Те клетки, рецепторы которых в силу специфической конформации активного центра неспособны взаимодействовать с антигенами ГКГ, погибают.



**Рис. 4.** Внутритимусная дифференцировка Т-клеток. CD4 – маркер Т-хелперов; CD8 – маркер Т-киллеров, ТКР – Т-клеточный (антигенраспознающий) рецептор

Селекция различных клонов тимоцитов — основное событие, разворачивающееся в одном из центральных органов иммунитета. Отбор клеток по способности распознавать свои собственные антигены является определяющим условием дальнейшего внутритимусного развития Т-лимфоцитов. В тех случаях, когда распознаются антигены I класса, лимфоциты выбирают путь развития в сторону Т-киллеров (маркер CD8). Если же распознавание связано с антигенами II класса, провзаимодействовавшие тимоциты трансформируются в Т-хелперы (маркер CD4).

Предполагается, что узнавание “своего” осуществляется не всем антигенраспознающим центром ТКР, а лишь его частью. Оставшаяся часть центра будет взаимодействовать с возможными в будущем чужеродными антигенами. Именно тогда принцип двойного распознавания “своего” и “чужого” найдет свое реальное проявление.

Хотелось бы сказать несколько слов об иммунологической загадке прошлого. Долгое время оставалось непонятным, почему в тимусе гибнут более 90% поступающих из костного мозга ранних предшественников Т-клеток. Известный австралийский иммунолог Ф. Бернет предполагал, что в тимусе происходит гибель тех лимфоцитов, которые способны к аутоиммунной агрессии. Иначе говоря, тимус выступал в качестве заслона нежелательным или даже “вредным” клоном. Сегодня в данной проблеме имеется определенная ясность. Основная причина столь массовой гибели связана с жесткостью селекционных процессов — положительным отбором только тех клеток, которые способны реагировать со своими собственными антигенами ГКГ. Все остальные не прошедшие контроля на специфичность погибают.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение генетического контроля взаимодействия иммунокомпетентных клеток привело к пони-

манию наиболее скрытых механизмов работы иммунной системы, и в первую очередь к выяснению природы антигенраспознающих рецепторов Т-клеток. Весь путь познания в данном случае можно разделить на несколько этапов.

1. Определение тимуса как центрального органа иммунитета, где закладываются основы клеточного типа реагирования.

2. Формирование представлений о двух системах специфической защиты: Т- и В-системах иммунитета.

3. Установление взаимодействия различных типов клеток при развитии иммунного ответа.

4. Открытие в системе взаимодействия генетически отличающихся клеток способности Т-клеточных рецепторов к двойному распознаванию.

5. Выяснение молекулярной природы Т-клеточного антигенраспознающего рецептора.

6. Установление селекционирующей роли тимуса — места формирования специфических Т-клеток, способных к двойному распознаванию: собственных антигенов гистосовместимости и комплексированных с ними чужеродных антигенов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Ройт П.* Основы иммунологии. М.: Мир, 1991.
2. Иммунология / Под ред. У. Пола. М.: Мир, 1988. Т. 1–3.
3. *Галактионов В.Г.* Графические модели в иммунологии. М.: Медицина, 1986.

\* \* \*

Вадим Геллиевич Галактионов, доктор биологических наук, профессор, сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Область научных интересов: генетика и эволюция иммунитета. Автор более 120 работ и трех монографий.