**РЕФЕРАТ**

**"Иммунологическая толерантность"**

2009

Введение

Иммунологическая толерантность – это состояние ареактивности в отношении того или иного антигена; ее индуцирует предшествующий контакт с этим антигеном. Активно функционирующие механизмы толератности необходимы для предупреждения воспалительных реакций в ответ на многие безвредные антигены, попадающие в организм с воздухом и пищей и действующие на слизистую оболочку дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Однако наиболее важна толерантность к собственным антигенам организма; она предотвращает иммунный ответ против собственных тканей. Между тем возможность такого ответа существует, поскольку иммунная система продуцирует самые разнообразные антигенспецифичные рецепторы, в том числе способные реагировать с аутоантигенами. Поэтому клетки, имеющие подобные рецепторы, должны быть функционально или физически элиминированы.

Способность организма предотвращать развитие иммунных реакций, направленных против собственных антигенов, не является генетически запрограммированной, а развивается в онтогенезе. Так, гомозиготные животные гистосовмести-мых линий А и Б взаимно отторгают кожные трансплантаты другой линии, тогда как их гибриды F1 воспринимают трансплантаты как А, так и Б. Отторжение трансплантатов обоих типов вновь проявляется у гомозигот поколения F2. Таким образом, свойство различать «свое / несвое» приобретается в онтогенезе: все эпитопы, закодированные в ДНК организма, должны быть иммунологически определены как «свои», все другие – как «не-свои».

Однако способность отличать собственные антигены от чужеродных определяется не только структурой их молекул как таковых. Наряду со структурными особенностями эпитопов важное значение имеют и другие факторы:

• стадия дифференцировки лимфоцита при его первом контакте со специфическим эпитопом;

• участок организма, где происходит этот контакт;

• природа клеток, презентирующих эпитопы и

• число лимфоцитов, реагирующих на данные эпитопы.

История открытия

Вскоре после того как была обнаружена специфичность антител, стало ясно, что должны существовать какие-то механизмы, предотвращающие образование аутоантител. Еще в начале XX столетия Эрлих предложил термин «страх самоотравления», предполагая необходимость существования регулирующего механизма, препятствующего продукции аутоантител. В 1938 г. Трауб индуцировал специфическую толерантность, введя эмбрионам мышей вирус лимфоцитарного хориоменингита, вызывающий пожизненную инфекцию. В отличие от нормальных мышей взрослые особи, зараженные in utero, не продуцировали нейтрализующих антител при повторном введении вируса. В 1945 г. Оуэн сообщил об эксперименте, поставленном самой природой, – неидентичных телятах-близнецах, в крови каждого из которых были обнаружены клетки, несущие и «свои», и «не-свои» антигены. Эти телята в эмбриональный период имели общий плацентарный кровоток, в результате чего был возможен обмен гемопоэтическими клетками. У животных возникла пожизненная толерантность: во взрослом состоянии они не давали гуморального ответа на введение эритроцитов партнера по эмбриональному парабиозу. Основываясь на этом наблюдении, Вернет и Феннер постулировали, что решающим фактором в формировании иммунореактивности и приобретении способности распознавать чужеродные антигены служит возраст животных в момент первого контакта с антигеном. Такая гипотеза казалась логичной, поскольку с большинством собственных антигенов иммунная система сталкивается обычно до рождения и только позднее начинает взаимодействовать с чужеродными антигенами.

Экспериментальное подтверждение эта гипотеза получила в 1953 г., когда Медавар и его коллеги индуцировали у мышей толерантность к аллогенному кожному трансплантату путем введения аллогенных клеток новорожденным особям. Подобная толерантность легко объяснима с позиций клонально-селекционной теории Бернета, согласно которой данный иммуноцит при участии антигена проходит отбор, после чего делится, давая клон дочерних клеток той же специфичности. Один из постулатов этой теории гласит, что при контакте с теми или иными антигенами после рождения специфичные к ним клоны лимфоцитов активируются, тогда как при контакте до рождения происходит делеция специфичных к данным антигенам клонов. Из теории следует, что весь репертуар специфичностей должен быть создан до рождения, однако в действительности дифференцировка лимфоцитов продолжается еще долгое время после рождения. Таким образом, ключевым фактором, определяющим иммунореактивность, является не стадия развития организма, а степень зрелости лимфоцита в тот момент, когда он встречается с антигеном. Такое предположение было высказано в 1959 г. Ледербергом в его модифицированной трактовке клонально-селекционной теории: незрелые лимфоциты, контактирующие с антигеном, подвергаются клональной делеции, а зрелые активируются. В настоящее время иммунокомпетентность новорожденного организма – твердо установленный факт. Индуцировать толерантность к определенным антигенам до рождения удается просто по той причине, что иммунные реакции у новорожденных и взрослых могут быть функционально различными. В связи с этим индукцию толерантности у новорожденных можно рассматривать как один из первых примеров «иммунного отклонения» такого типа.

Основополагающими открытиями 1960-х гг. стали иммунологическая компетентность лимфоцитов, ведущая роль тимуса в развитии иммунной системы и существование двух взаимодействующих субпопуляций лимфоцитов – Т- и В-клеток. Именно эти открытия послужили основой для обширных исследований по выяснению клеточных механизмов «толерогенеза».

Экспериментальная индукция толерантности

Получение трансгенных животных открыло возможность изучения толерантности к аутентичным, собственным антигенам

До последнего времени единственной экспериментальной моделью толерантности служила искусственно индуцированная толерантность: животным вводили антигены или чужеродные клетки, а затем прослеживали судьбу реагирующих Т- или В-клеток, всевозможным образом варьируя условия. Оставалось, однако, неясным, в какой степени эта модель воспроизводит состояние естественной толерантности к собственным антигенам.

Теперь, благодаря разработке методов получения трансгенных животных стало возможным изучать толерантность к «своему» прямым путем. Эти методы позволяют вводить мышам с известной генетической основой специфический ген и анализировать влияние данного гена на развитие иммунной системы. Кроме того, если вводимый ген соединить с тканеспецифическим промотором, экспрессию гена можно ограничить специфичными для данного промотора клетками. Иммунная система реагирует на белковый продукт «трансгена», по существу, как на истинный собственный антиген, и все происходящие при этом процессы можно изучать in vivo, исключив травмирующие вмешательства и воспалительные реакции, сопутствующие пересадке чужеродных клеток или тканей. Кроме того, животные родительской и трансгенной линий идеально подходят для постановки контрольных экспериментов и переноса лимфоцитов, ибо они являются конгенными, т.е. различаются только по одному локусу. Удается даже вывести таких трансгенных мышей, у которых все Т- или В-клетки экспрессируют лишь единственный антигенный рецептор. Благодаря такому повышению частоты антигенспецифичных клеток-предшественников анализ механизмов толерантности существенно облегчается. И наконец, использование методов направленного мутагенеза позволяет иммунологам удалять специфические гены, чтобы исследовать роль их продуктов в индукции иммунологической толерантности.

Существуют три возможных пути, посредством которых предотвращается реакция аутореактивных лимфоцитов на собственные антигены.

• Клональная делеция: физическое удаление клеток из репертуара на той или иной стадии их жизненного цикла.

е Клональная анергия: подавление самого механизма иммунного ответа.

• Супрессия: подавление клеточной активности в результате взаимодействия с другими клетками, в частности продуцирующими цитокины-ингибиторы, или с идиотипспецифичными лимфоцитами, распознающими антигенспе-цифичный рецептор аутореактивных клеток.

Какой из указанных механизмов будет действовать в том или ином случае, зависит от ряда факторов: 1) стадии дифференцировки аутореактивных лимфоцитов, 2) аффинности их рецепторов к аутоантигену, 3) природы антигена, 4) его концентрации, 5) распределения его в тканях и 6) характера его экспрессии, а также 7) от наличия костимулирующих сигналов. Существует общее правило: если костимуляция отсутствует, иммунная система скорее всего «не заметит» данный антиген.

Центральная тимическая толерантность к аутоантигенам

В тимусе происходит формирование Т-клеток из клеток-предшественников с еше неперестроенными генами Т-клеточных рецепторов. В процессе развития лимфоцитов в тимусе эти гены подвергаются перестройке, после чего Т-клетки начинают экспрессировать ТкР, способные распознавать продукты деградации антигенов или пептиды в связывающей их полости мог лекул МНС – антигенов, кодируемых генами I главного комплекса гистосовместимости организма.

В тимусе происходит отбор Т-клеток с рецепторами, способными связывать антигены в комплексе с молекулами МНС, и делеция клеток, высокоавидных к собственным антигенам

Высокая скорость пролиферации тимоцитов сочетается с их массовой гибелью: подавляющее большинство так называемых дважды положительных тимоцитов погибает в тимусе. К причинам этого относятся аберрантная перестройка генов ТкР, отрицательная селекция и неспособность клеток пройти положительный отбор. Условием положительной селекции является умеренная степень авидности Т-клеток к полиморфным областям молекул МНС, ассоциированных с пептидами; такие клетки выживают. Они связываются с молекулами МНС на поверхности эпителиальных клеток корковой зоны, и это связывание предположительно защищает Т-клетки от запрограммированной гибели. Положительная селекция обеспечивает формирование зрелых Т-клеток, способных распознавать лишь те пептиды, которые удерживаются в специальной полости собственных молекул МНС. Этот феномен ограниченности распознавания называют рестрикцией по МНС. Однако положительная селекция не предотвращает дифференцировку Т-клеток, несущих рецепторы с высокой аффинностью и к собственным пептидам, и к молекулам МНС. Поэтому, чтобы заставить «молчать» такие высокоау-тореактивные клетки, должен существовать тот или иной путь отрицательной селекции.

Механизмы положительной и отрицательной селекции

Поскольку и положительная, и отрицательная селекция связаны с распознаванием собственных пептидов в ассоциации с собственными молекулами МНС, возникает вопрос, каким образом сигналы, передаваемые одним и тем же ТкР, обусловливают либо тот, либо другой процесс. Для объяснения этого предложены две теории.

• Согласно так называемой количественной теории, в случае незначительного числа комплексов пептид–молекула МНС индуцируется положительная селекция, тогда как при высоком их числе – отрицательная.

• Основное положение «качественной» теории состоит в том, что, воздействуя на один и тот же Т-клеточный рецептор, различные комплексы пептид–молекула МНС индуцируют сигналы разного типа, вызывая либо положительную, либо отрицательную селекцию.

В пользу количественной теории говорят результаты опытов на трансгенных мышах, экспресси-рующих ТкР к основному белку миелина – ауто-антигену миелиновой оболочки, окружающей аксоны. У мышей одной из линий естественный пептидный эпитоп, распознаваемый специфичными к этому белку Т-клетками, связывается соответствующей молекулой МНС класса II но с очень низкой аффинностью. Вследствие этого специфичные к данному эпитопу Т-клетки избегают отрицательной селекции в тимусе. Однако, если трансгенным мышам, имеющим тот же самый ТкР, ввести высокоаффинный аналог этого пептида, происходит отрицательная селекция незрелых тимоцитов – апоптотическая гибель. Очевидно, судьбу клеток – гибель или выживание – определяет число комплексов пептид–молекула МНС, презентированных развивающимся Т-клеткам. Собственные эпитопы, формирующие более стабильные комплексы с белками МНС, с большей вероятностью индуцируют отрицательную селекцию.

Качественная теория была предложена для объяснения результатов, полученных в опытах с органными культурами тимуса. Как показали эти эксперименты, пептидные эпитопы, измененные по аминокислотным остаткам, которые обеспечивают взаимодействие с Т-клеточным рецептором, – ТкР-антагонисты – вызывают более выраженную положительную селекцию, чем исходный эпитоп. Однако эти две теории не являются взаимоисключающими. Разработанные к настоящему времени методы позволяют измерять аффинность связывания очищенных молекул ТкР с очищенными молекулами МНС, нагруженными пептидными агонистами или антагонистами. При помощи этих методов установлено, что с теми комплексами пептид-антагонист–молекула МНС, которые индуцируют положительную селекцию в органных культурах тимуса, ТкР образует нестабильное соединение. Тот же самый ТкР относительно стабильно связывается с комплексом агонист-молекула МНС, и в тех же экспериментальных условиях это ведет к отрицательной селекции. Полученные результаты сближают количественную и качественную теории и соответствуют кинетической модели, согласно которой индукция процессов положительной или отрицательной селекции определяется скоростью диссоциации ТкР от комплекса пептид–молекула МНС. На обшую авидность взаимодействия Т-клеток с антиген-презентируюшими клетками в тимусе влияют следующие факторы:

• число комплексов пептид–МНС; оно зависит от аффинности эпитопа к соответствующей молекуле МНС;

• число молекул ТкР и соответствующих корецепторных молекул, экспрессируемых Т-клет-кой, и

• аффинность специфичного ТкР к лиганду.

Положительная селекция и коммитирование Т-клеток происходят на определенной стадии их развития

В связи с чем тимоциты в процессе своего развития утрачивают одну из корецепторных молекул и становятся либо CD4+-, либо С08+-клетками? Положительной селекции подвергаются лишь те незрелые тимоциты, которые имеют ТкР соответствующей специфичности и пока еще экс-прессируют оба корецептора. Положительно отобранные тимоциты дифференцируются в так называемые моноположительные клетки, CD4+ или CD8+. При коммитировании в тот или иной тип клеток избирательно прекращается синтез другой корецепторной молекулы. У мыши такое избирательное прекрашение синтеза происходит, когда клетки, несущие оба корецептора, получают сигналы, необходимые для положительной селекции.

Время и место отрицательной селекции зависят от разнообразных факторов

В число таких факторов входят: доступность собственных антигенов для развивающихся Т-клеток, сочетанная авидность ТкР и вспомогательных молекул к комплексу собственный антиген МНС–собственный пептид и природа клеток, ответственных за делению. Отрицательная селекция не требует участия специализированных АПК; в обычных условиях это функция дендритных клеток тимуса или макрофагов, которые локализованы преимущественно в области перехода корковой зоны в мозговую; они несут на своей поверхности большое число молекул МНС классов I и II, обеспечивая тем самым связывание Т-клеток, имеющих высокую авидность к собственным пептидам. В отрицательной селекции могут также участвовать некоторые эпителиальные клетки мозговой и корковой зон. Делению способны вызывать и сами тимониты.

В отрицательной селекции участвует специальный сигнал гибели

Существует ряд механизмов апоптотической гибели зрелых лимфоцитов. Сигналы, индуцирующие апоптоз, могут передаваться через Fas, CTLA-4 или рецепторы ФНО. Процесс отрицательной селекции дважды положительных тимоцитов уникален тем, что не зависит ни от одного из этих процессов.

Периферическая, или посттимическая, толерантность к собственным антигенам

Как правило, некоторые потенциально аутореактивные Т-лимфоциты не погибают в тимусе и поступают в пул периферических лимфоцитов. Таким образом, в крови здоровых индивидов могут появиться аутореактивные Т-клетки, способные реагировать с пептидами собственных тка-неспецифических антигенов, в частности основного белка миелина. Избежать лелеции в тимусе Т-лимфоциты могут по ряду причин:

• в тимусе могут экспрессироваться не все антигены организма;

• не все эпитопы собственных антигенов обладают достаточной аффинностью для формирования стабильных комплексов пептил–молекула МНС, которое составляет условие Т-кле-точной лелеции;

• не все ТкР связывают свои лиганды с достаточной для лелеции Т-клеток аффинностью.

Для предотвращения аутоагрессивного действия избежавших делеции Т-лимфоцитов существует четыре механизма:

• «игнорирование» Т-клетками антигенов собственных тканей организма;

• анергия Т-клеток;

• гибель Т-клеток;

• иммунное отклонение или иммуносупрессия

Потенциально аутореактивные клетки могут «игнорировать» собственные антигены

Этот феномен представляет собой пассивную форму толерантности к аутоантигенам и наблюдается в следующих случаях:

• если аутореактивные Т-лимфоциты не могут проникнуть через эндотелиальный барьер, отделяющий клетки с соответствующими аутоантигенами;

• если активация аутореактивных Т-клеток, проникших через этот барьер, не может произойти по одной из следующих причин:

а) недостаточное для распознавания количество аутоантигена;

б) недостаточность или отсутствие экспрессии молекул МНС на тканевых клетках, несущих данный аутоантиген;

в) недостаточное для эффективной иммунной реакции число Т-клеток;

г) отсутствие костимуляции при презентации антигена.

Костимуляция Т-лимфоцитов состоит в том, что клетка в дополнение к сигналу, индуцированному через ТкР, получает второй сигнал. Этот дополнительный сигнал усиливает пролиферацию и стимулирует эффекторные функции Т-клеток, например продукцию цитокинов и литическую активность. Костимуляцию могут опосредовать различные поверхностные молекулы Т-клеток, однако основная роль в этом процессе принадлежит взаимодействию В7-CD28/CTLA-4. Молекула CD28 экспрессирована на клеточной поверхности, тогда как CTLA-4 исходно локализована внутри клетки, и ее ограниченная экспрессия на поверхности клетки зависит от соединения ТкР с лигандом. Экспрессия В7 на поверхности АПК необходима для презентации многих антигенов. В отсутствие костимуляции презентация антигенов, например клетками поджелудочной железы, может привести либо к «игнорированию» аутоантигенов, либо к развитию анергии, в зависимости от природы антигена и авидности взаимодействия.

Анергия как механизм периферической толерантности

Клетки могут стать неотвечаюшими, получив опосредованный ТкР сигнал. Подавление их функции может происходить за счет снижения экспрессии ТкР и корецепторных молекул. Это снижение возникает вследствие активирования Т-клеток и в условиях постоянной стимуляции ведет к анергии. Анергией называют такое состояние клеток, при котором они сохраняют жизнеспособность, но не могут осуществлять некоторые функции в ответ на оптимальную стимуляцию, опосредованную как антигенспецифичным рецептором, так и другими необходимыми для активации рецепторами. Анергию Т-лимфоцитов можно легко индуцировать in vitro, стимулируя клетки через их ТкР в отсутствие костимуляции. Тот же результат дает применение пептидов-антагонистов в присутствии сигнала 2. Анергия, возникающая из-за отсутствия костимулируюшего сигнала, обратима; ее удается устранить, стимулируя Т-клетки посредством ИЛ-2. По-видимому, подобное состояние можно воспроизвести in vivo введением мощных суперантигенов. Однако значение анергии как механизма периферической толерантности к собственным антигенам нельзя считать бесспорным. Такая форма регуляции слишком ненадежна, чтобы обеспечить стойкую толерантность к собственным антигенам, так как всегда существует опасность ее отмены под влиянием цитокинов, в частности ИЛ-2. При подобной регуляции было бы неизбежным возникновение аутоиммунных реакций в результате случайного воспаления или в ходе иммунного ответа на инфекцию. Не исключено, что во многих случаях проявления толерантности in vivo, приписываемые развитию анергии, в действительности отражают состояние паралича лимфоцитов, предшествующее их запрограммированной гибели. Активацию Т-клеток, ведущую к снижению экспрессии рецепторов, анергии и, возможно, гибели, следует рассматривать как непрерывный процесс, исход которого зависит от силы и продолжительности антигенного стимула.

Периферический механизм клеточной гибели

Для поддержания толерантности к собственным антигенам и гомеостаза иммунной системы важное значение имеет делеция Т-клеток вне тимуса, когда после активации антигеном большинство Т-клеток погибает в результате апоптоза. Этот механизм служит для контроля аутоиммунных реакций и поддержания оптимального пула лим-фоидных клеток.

Периферическую делению Т-клеток инициирует взаимодействие либо антигена Fas с его лигандом, либо ФНО с рецептором ФНО. Последующая цепь передачи сигналов активирует ИЛ-ф-конвертируюшие ферментоподобные протеазы, которые опосредуют запрограммированную клеточную гибель. У человека и мыши встречается генетически обусловленная недостаточность Fas или лиганда Fas, и в обоих случаях возникает лимфопролиферативное заболевание. После активации Т-лимфоцитов антигеном повышается экспрессия FasL на клеточной поверхности. Связывание лиганда в мембра-носвязанной или растворимой форме с Fas может служить «сигналом гибели» близлежащим Т-клет-кам, вызывая процесс, названный «братоубийством». В некоторых тканях система Fas служит для защиты от нежелательных иммунных реакций. Так, ткани яичка и сетчатки конститутивно экспрессируютлиганд Fas, который предохраняет их от действия активированных Т-лимфоцитов.

Молекула CTLA-4 также играет важную роль как отрицательный регулятор. У лишенных CTLA-4 мышей развивается лимфопролиферативное расстройство, напоминающее нарушение у мышей с недостаточностью Fas, и возникает распространенный аутоиммунный процесс. После активации Т-лимфоцитов антигеном повышается экспрессия CTLA-4 на их поверхности. Связывание этой молекулы с лигандом блокирует СБ28-зависимую продукцию ИЛ-2, экспрессию рецептора ИЛ-2 и продолжение цикла деления активированных Т-лимфоцитов. Одновременное связывание ТкР и CTLA-4 вызывает гибель клеток, которую можно предотвратить добавлением ИЛ-2. Таким образом, костимуляция посредством В7 может иметь двоякий исход:

• связывание с CD28 ведет к синтезу ИЛ-2, экспрессии рецептора ИЛ-2 и продолжению деления активированных Т-клеток;

• связывание с CTLA-4 блокирует СБ28-зави-симые реакции, останавливает клеточный цикл деления и вызывает гибель клеток, подавляя синтез ИЛ-2.

Следовательно, эффект костимуляции, опосредуемой молекулами В7 на поверхности АПК, определяется тонко сбалансированным соотношением экспрессии мембраносвязанных молекул CD28 и CTLA-4 на поверхности Т-клеток. Исследования на лишенных CTLA-4 мышах показывают, что отрицательная сигнализация посредством CTLA-4 – это активно действующий механизм контроля в отношении аутореактивных Т-лимфоцитов.

Иммунное отклонение

Периферическая толерантность к антигенам может быть «заразительной», когда экспериментально индуцированная толерантность к одному антигену поддерживет толерантность или подавляет иммунный ответ на другой антиген, пока оба антигена структурно или физически связаны. Это указывает на механизм толерантности, отличный от «игнорирования» антигена и клеточной гибели. Одно из предложенных для данной формы толерантности объяснений предполагает существование двух популяций Т-лимфоцитов, продуцирующих разные цитокины. Известно, что многие воспалительные аутоиммунные заболевания вызываются Txl-клетками, которые образуют цитокины ИФу и ФНОа. Цитокины, продуцируемые Тх2-лимфоцитами, – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6 и ИЛ-10 – поддерживают антитело-образование. Однако наряду с этим синтезируемые Тх2-клетками цитокины, в частности ИЛ-10, оказывают важный дополнительный эффект подавления эффекторных функций макрофагов, включая презентацию антигена Тх1-лимфоци-там и нестимулированным Т-клеткам. Таким образом, Тх2-клетки способны подавлять воспалительные реакции. В свою очередь секретируемый Тх1-лим-фоцитами ИФу может предотвращать диффе-ренцировку ТхО-клеток в Тх2-лимфоциты. Такой механизм иммунного отклонения предложен более 30 лет назад для объяснения того, как животное может отвечать на один и тот же антиген реакциями двух совершенно разных типов. Если морских свинок примировать антигеном, используя в качестве адъюванта квасцы, у них продуцируется большое количество антител IgGl, однако ГЗТ не возникает. При введении того же антигена, но в полном адъюванте Фрейнда, развивается сильная реакция ГЗТ. Впоследствии было высказано предположение о том, что способность антигена вызывать либо «гуморальный», либо «клеточный» иммунный ответ отражает активацию им одного из двух, функционально антагонистичных один другому, механизмов иммунной системы. В описанных выше экспериментах наблюдалась, несомненно, форма иммунного отклонения, обусловленная избирательной индукцией Тх2-, но не Txl-клеток. Феномен иммунного отклонения распространяется и на собственные антигены, поскольку развитие таких заболеваний, как диабет и воспалительный процесс в кишечнике, вызываемых Txl-клетками, может быть предотвращено стимулированными антигеном Тх2-лим-фоцитами.

Т-клеточная толерантность зависит от генотипа организма

Для изучения генетической природы толерантности экспериментально полученных трансгенных мышей, у которых островковые клетки поджелудочной железы экспрессировали вирусный антиген, гемагглютинин вируса гриппа, а Т-клетки – ТкР, специфичный к этому антигену, скрещивали с мышами, отличающимися по генам не-МНС, т.е. по генетической основе. У мышей одной линии Т-клетки, реактивные по отношению к ГА, продуцировали большие количества ИЛ-4 и ИФу; признаков воспалительного процесса в поджелудочной железе у этих мышей не было. ГА-реактивные Т-лимфоциты мышей другой линии продуцировали лишь цитокины, свойственные Txl-клеткам, и были способны инфильтрировать островки поджелудочной железы, вызывая диабет. Очевидно, что иммунное отклонение здесь контролировали гены, составляющие генетическую основу; многие из этих генов совместно регулируют чувствительность к аутоиммунному заболеванию.

Толерантность В-клеток к собственным антигенам

Продукция высокоаффинных IgG зависит от Т-клеток. Поэтому, а также имея в виду, что порог чувствительности Т-клеток к индукции толерантности ниже, чем у В-клеток, проще всего предположить, что ареактивность В-лимфоци-тов по отношению к собственным антигенам определяется отсутствием Т-клеточной помощи.

В некоторых условиях толерантность В-клеток должна быть индуцирована прямым воздействием антигена

Клетки некоторых микробов содержат перекре-стнореагируюшие антигены, в составе которых имеются как чужеродные эпитопы, стимулирующие Т-клетки, так и другие эпитопы, сходные с собственными эпитопами организма и способные стимулировать В-клетки. Такие антигены могут вызывать сильный гуморальный ответ против аутоантигенов. Кроме того, в отличие от ТкР иммуноглобулиновые рецепторы зрелых, стимулированных антигеном В-клеток могут изменяться в результате гипермутирования и в итоге приобретать реактивность в отношении собственных антигенов. Таким образом, толерантность В-клеток может возникать как во время их развития, так и после антигенной стимуляции во вторичных лимфоидных тканях.

Аутореактивные В-клетки могут делетироваться или становиться энергичными в зависимости от аффинности В-клеточного рецептора и природы антигена

Индукция толерантности к собственным антиге-нам может приводить либо к делении клеток, либо к их анергии. Это зависит от аффинности антигенных рецепторов В-клеток и природы соответствующего антигена, в частности от того, является ли он интегральным белком клеточной мембраны или представляет собой растворимый, циркулирующий, в основном мономерный белок. Судьба аутореактивных В-клеток прослежена в экспериментах на трансгенных животных.

Контакт аутореактивных В-клеток с мембраносвязанными аутоантигенами, способными с высокой аффинностью связывать В-клеточные Ig-рецепторы, дает следующий результат. В костном мозге число незрелых аутореактивных В-лим-фоцитов не уменьшается, несмотря на подавление экспрессии IgM-рецепторов после связывания с мембраносвязанными собственными антигенами. Таким образом, незрелые В-клетки менее чувствительны к делетирующему действию аутоантигенов, чем Т-клетки на ранних стадиях дифференцировки. Тем не менее эти В-клетки имеют короткую продолжительность жизни и, можно сказать, обречены на гибель обычно еще до поступления в периферические лимфоидные ткани.

В периферических лимфоидных тканях, где аутореактивные В-лимфоциты могут присутствовать в большом количестве, они не делетируются, подвергаясь воздействию растворимых антигенов, а переходят в состояние анергии. Такой эффект возникает только при условии, что концентрация антигена превышает некий критический уровень. Анергия связана со снижением экспрессии IgM-, но не IgD-pe-цепторов. Эффект анергии сопровождается прекращением созревания В-клеток в мантии фолликулов селезенки и резким снижением числа В-клеток, имеющих высокий уровень экспрессии поверхностного IgM, в краевой зоне. Таким образом, в отличие от В-клеток, подвергающихся клональной делеции, энергичные В-лимфоциты мигрируют в периферические лимфоидные органы, но не способны взаимодействовать в них с соответствующими Тх-клетками, что косвенно обусловлено отсутствием экспрессии IgM. Кроме того, время полужизни энергичных В-клеток составляет лишь несколько суток, тогда как у нормальных периферических В-лимфоцитов оно равно нескольким неделям. Развитие анергии, вероятно, не обусловлено активностью Т-клеток-супрессоров или антиидиотипических В-клеток, поскольку в исследованиях на трансгенных животных влияния подобных факторов не обнаружено.

Анергия В-клеток – обратимое состояние. Так, энергичные В-клетки могут реагировать на антигеннезависимые, опосредуемые CD40 сигналы, поступающие от Тх-клеток; при этом на поверхности энергичных В-лимфоцитов за счет IgD-рецепторов может создаваться физиологическая концентрация антигена для презентации Тх-лимфоцитам. Вместе с тем при энергии нарушена способность к повышению экспрессии молекул В7 из клеточной поверхности после связывания антигенного рецептор. Недостаточная костимулирующая активность этих клеток может восстанавливаться под влиянием цитокинов или рззличных поликлональных активаторов. Кроме того, хроническая активация Т-клеток, вызванная инфекционными агентами, может приводить к активации соседних В-клеток, опосредуемой молекулами CD40 и цитокинзми.

Вторичная перестройка генов иммуноглобулинов

У большинстве В-клеток по завершении продуктивной перестройки генов иммуноглобулинов дальнейшей их перестройки не происходит. Однако у мышей, несущих искусственно перестроенные трансгены, потенциально аутореактивные В-клетки избегают делеции или состояния энергии благодаря тому, что подвергаются вторичной перестройке генов иммуноглобулинов. Такое изменение специфичности рецепторов может служить одним из механизмов выживания В-клеток при постоянном соматическом мутировании.

Толерантность, искусственно вызванная in vitro

Толерантность В- и Т-клеток можно легко индуцировать in vitro

Антигены, способные перекрестно связывать иммуноглобулиновые рецепторы В-клеток, но не обладающие митогенными свойствами, могут вызывать толерантность В-клеток. Чтобы сделать толерантными зрелые В-лимфоциты, необходимо использовать высокие концентрации антигена, однако на незрелые В-клетки антиген оказывает толерогенное действие и при низкой концентрзции. Перекрестное связывание иммуноглобулиновых В-клеточных рецепторов можно получить, при помощи моноклональных антител знти-IgM. Применение таких антител в высоких концентрациях вызывает клонльную делецию пре-В-клеток, предотвращая их дальнейшую дифференцировку в В-клетки, несущие мембрзносвя-ззнные IgM. Если же использовать невысокие концентрации антител, пре-В-клетки дифференцируются в морфологически нормальные В-лимфоциты с нормальным числом иммуноглобулиновых рецепторов, однако переходят при этом в состояние глубокой энергии. Таким образом, и функцию В-клеток, и их число можно модулировать, воздействуя на иммуноглобулиновые рецепторы в критический период, когда они начинают появляться на рп-Я верности клеток.

Т-клетки человека экспрессируют белки МНС класса II и могут взаимно презентировать друг другу антигенные пептиды. В результате либо развиваются толерантность, обусловленная снижением экспрессии рецепторов, и энергия, либо происходит активация, в зависимости от природы Т-клеток и антигена. Исследования, проведенные в клонах Т-клеток мыши, показали, что активация в отсутствие костимулирующих сигналов неизбежно приводит к развитию энергии. Презентация пептидных антигенов АПК на химически фиксированных АПК или на искусственных мембранах, содержащих белки МНС клзссз II, вызывзет энергию, кэк это происходит в случае активации Т-клеток антитела» против ТкР, иммобилизовзнными на пластиковой поверхности. По-видимому, одно лишь связывание ТкР без сопутствующей костимуляции. ведет к анергии.

Эффект антигена – клональное абортирование В-клеток, делеция зрелых В-клеток или анергия – зависит от его валентности и перекрестного связывания

Результат взаимодействия В-клетки с антигеном зависит от ряда факторов: валентности антигена, концентрации антигена, аффинности рецепторов к соответствующим эпитопам и состояния зрелости клетки. На одном конце спектра возможных эффектов находится клональная делеция менее зрелых клеток, наиболее вероятная для клеток, несущих высокоаффинные рецепторы, а также встречающих высоковалентные антигены либо антигены, присутствующие в высокой концентрации. Противоположный конец спектра – это отсутствие эффекта при малой концентрации антигена и низкой аффинности. Клональная анергия занимает среди возможных эффектов промежуточное положение.

• Клональное абортирование: поливалентный антиген в соответствующей концентрации может вызывать делецию незрелых В-клеток, препятствуя их дальнейшей дифференцировке: пре-В-клеткам свойственна высокая степень «толерабельности».

• Клональная делеция: очень сильные отрицательные сигналы могут вызвать устранение зрелых В-клеток.

• Клональная анергия: при промежуточных концентрациях поливалентного антигена В-клетки дифференцируются в морфологически нормальные клетки с нормальным числом иммуноглобулиновых рецепторов, однако при этом переходят в состояние глубокой анергии.

• Клональное «игнорирование»: антиген не будет оказывать какого-либо влияния на В-клетки, если его концентрация слишком мала или же аффинность антигенного рецептора чересчур низка; это пассивная форма иммунологической толерантности.

• Блокада антителообразующих клеток: избыток Т-независимого антигена блокирует секрецию антител АОК; последние обладают низкой толерабельностью.

Второй период повышенной чувствительности клеток к индукции толерантности временно существует при формировании В-клеточной иммунологической памяти

Вторичные В-клетки высокочувствительны к толерогенному действию эпитопов поливалентных антигенов в отсутствие Т-клеточной помощи. Существование такой стадии повышенной чувствительности к индукции толерантности, вероятно, обеспечивает элиминацию тех вновь возникающих В-клеток памяти, которые приобрели аутореактивность.

Индукция толерантности как возможное средство терапии

Дальнейшее изучение механизмов толерантности необходимо для развития целого ряда направлений прикладных исследований. Оно поможет В поиске способов усиления толерантности к чужеродным трансплантатам и восстановления нарушенных иммунных функций при состояния! гиперчувствительности и аутоиммунитета. С целью возможного применения в медицине были (опробованы различные пути создания искусств венной толерантности у животных. Определенный успех достигнут в трансплантации, связанной с химеризмом, при использовании иммуносупрессивных агентов. Успешным оказалось иприменение в опытах по пересадке чужеродный органов и тканей моноклональных антител анти-1 CD4 и анти-С08, не вызывающих элиминации клеток. Предстоят клинические испытания разработанного на животных способа создания толерантности путем аппликации антигена направленного действия на слизистую оболочку или применения пептидов-антагонистов.

Важно также найти способ активации Т-клеток, «не замечающих» некоторые антигены, что-) бы стимулировать активный иммунный отвел против этих антигенов. Это позволило бы огpaничивать рост опухолей, которые могут экспрессировать свои собственные, уникальные, опухолеспецифические антигены.