РЕФЕРАТ

на тему:

"Взаимодействие клеток при гуморальном иммунном ответе"

2008

Гуморальный иммунный ответ представляет собой кульминацию ряда клеточных и молекулярных взаимодействий, происходящих в определенной последовательности:

• Т-клетки распознают антиген, представленный им антигенпрезентирующими клетками, и в результате переходят в активированное состояние;

• Тх-клетки взаимодействуют с В-клетками, которые презентируют им антигенные фрагменты;

• активированные В-лимфоииты пролиферируют и дифференцируются в антителообразую-щие клетки;

• начинается синтез антител и от их класса зависит характер последующего иммунного ответа.

ПРЕЗЕНТАЦИЯ АНТИГЕНА Т-КЛЕТКАМ

Процессинг антигена

В пионерских исследованиях Эйде и Носсела было установлено, что лишь очень небольшая доля молекул введенного антигена принимает участие в индукции иммунного ответа, а основное его количество быстро разрушается и выводится из организма. Эти данные позволяют предполагать, что презентация антигена является этапом, лимитирующим скорость иммунной реакции.

Проникшие в организм антигены подвергаются внутриклеточному процессингу — расщеплению на пептидные фрагменты, которые затем связываются с молекулами МНС класса I или II. Эти фрагменты определяют антиген-специфичную активацию Т-клеток: рецепторы Т-клеток распознают аминокислотные последовательности этих фрагментов, связываемых в полости молекул МНС.

Взаимодействие с антигенпрезентирующими клетками крайне важно для активации Т-лимфоцитов

Взаимодействие между Ф-лимфоцитами и клетками, составляющими гетерогенную группу так называемых «антигенпрезентирующих клеток», — это наиболее детально изученный пример клеточной кооперации в иммунной системе. Взаимодействие Т-клеток и АПК после введения антигена открывает всю последовательность дальнейших событий и в основном определяет их конечный результат: если активируется достаточное число хелперных Т-клеток CD4+, то почти всегда происходит активация В-клеток или развитие реакций клеточного иммунитета; если же стимуляция Тх-клеток отсутствует, может возникнуть та или иная форма иммунологической толерантности, при которой дальнейшие иммунные реакции не развиваются.

Существуют различные типы АПК

Презентировать антигены могут самые разнообразные клетки, в зависимости от того, как и где происходит первичное взаимодействие антигена с иммунной системой. Наиболее эффективно начальную активацию покоящихся Т-клеток CD4+ обеспечивают интердиштатные дендритные клетки, присутствующие в изобилии в Т-клеточных зонах лимфатических узлов и селезенки. Для ИДК характерен высокий уровень экспрессии МНС-антигенов класса II, которые взаимодействуют с Т-клеточным рецептором и молекулой CD4 на поверхности Тх CD4+. Однако макрофаги и В-клетки также могут экспрессировать МНС-антигены класса II, поэтому объяснить большую эффективность ИДК в презентации антигенов только этим свойством невозможно.

Как предполагается, интердигитатные клетки — это главный тип антигенпрезентирующих клеток, действующих при первичном иммунном ответе, поскольку они индуцируют пролиферацию Т-клеток эффективнее АПК всех других типов. Именно клеточная пролиферация служит ключевым этапом в развитии иммунного ответа, обеспечивая увеличение числа антигенспецифичных Т-клеток, однако это лишь одна сторона эффективной активации Т-лимфоцитов. Способностью индуцировать и пролиферацию, и хелперную функцию Т-клеток обладают также моноциты крови.

В качестве АПК могут действовать и В-клетки — они способны связывать, интернализовать и расшеплять специфический антиген на пептиды, которые образуют комплекс с молекулами МНС класса II. При очень низкой концентрации антигена В-клетки с высокоаффинными антигенными рецепторами служат наиболее эффективными АПК, поскольку другие типы АПК просто не могут захватить достаточное для презентации количество антигенного материала. При вторичном иммунном ответе В-клетки могут стать главным типом АПК.

Презентацию антигена Т-клеткам обеспечивает взаимодействие множества молекул клеточной поверхности

Т-клеточный рецептор — димер, состоящий из б-цепи и в-цепи, — распознает специфический пептид, находящийся в пептидсвязываю-щеи полости молекулы МНС. Это связывание является определяющим для иммунологической специфичности, так как пептид, ассоциированный с МНС-молекулой определенного гаплоти-па, образует уникальную структуру, распознаваемую ТкР. Однако в презентации участвуют и другие молекулы. Доказательство этого получено в экспериментах с трансфекцией комплементарной ДНК, кодирующей молекулы МНС человека, в мышиные фибробласты. Клетки мыши, экспрессируя молекулы МНС человека, приобретали способность функционировать как АПК человека, но менее эффективно по сравнению с клетками, которые экспрессировали также и другие связанные с презентацией молекулы. Одной из таких молекул служит молекула 1 межклеточной адгезии, взаимодействующая с функциональным антигеном 1 лимфоцитов, имеющимся у всех клеток иммунной системы.

Если в мышиные клетки трансфицировать гены как МНС, так и ICAM-1 человека, способность этих клеток действовать в качестве АПК человека возрастает. Обнаружены и другие эффективные костимулирующие молекулы, взаимодействующие с лигандами на поверхности Т-клеток.

Наиболее эффективные костимулирующие молекулы из числа известных — это В7-1 и В7-2. Они конститутивно экспрессируются ИДК, но возможна также стимуляция их экспрессии на моноцитах, В-клетках и, вероятно, других АПК. Обе молекулы служат лигандами для антигена CD28 и его гомолога CTLA-4, экспрессию которого вызывает Т-клеточная активация. Стимулирующий эффект CD28 состоит в продлении и усилении продукции ИЛ-2 и других цитокинов; эта стимуляция, по-видимому, имеет также существенное значение для предотвращения индукции толерантности. Несмотря на то что взаимодействие CD28—В7 крайне важно, нокаут-ные мыши, лишенные гена CD28, все же реагируют на антиген, хотя для этого требуется большее его количество. Следовательно, стимуляция CD28 не обязательна для активации даже непримированных Т-клеток. Возможно, у лишенных CD28 мышей роль CD28/B7 в качестве костимулирующего сигнала выполняют другие сигнальные молекулы.

Альтернативным лигандом для В7 служит CTLA-4 — ингибирующий рецептор, который ограничивает Т-клеточную активацию. Таким образом, вначале молекула CD28, экспрессируемая конститутивно, взаимодействует с В7, что ведет к активации Т-клеток, однако вызванная активацией экспрессия молекулы CTLA-4, обладающей более высокой аффинностью, лимитирует степень активации, так как имеющийся антиген В7 взаимодействует теперь с CTLA-4. О значении этой молекулы свидетельствует тот факт, что у лишенных CTLA-4 мышей развивается агрессивное лимфопролиферативное расстройство, обусловленное отсутствием эффективной инактивации деляшихся Т-клеток.

В активации Т-клеток наряду с ТкР участвует молекула CD2 Т-клеточной поверхности — рецептор функционального антигена 3 лимфоцитов, который несут многие клетки и все АПК. Присутствием LFA-3 на эритроцитах барана обусловлена реакция розеткообразования, которую широко использовали для получения очищенной фракции Т-клеток до того, как в практику исследований были введены мо-ноклональные антитела.

Сигнал, индуцируемый молекулами, подобными В7, которые усиливают сигнал от ТкР и индуцируют положительную активацию Т-клеток. получил наименование «второй сигнал». Без такого сигнала покоящиеся Т-клетки не могут реагировать оптимально и, если распознают специфический антиген в отсутствие второго сигнала, инактивируются: возникает состояние иммунологической толерантности. Эта толерантность специфична, поскольку выпадает функция только тех Тх-клеток, которые реагируют на данный антиген. Толерантность, не связанная с гибелью, известна как «клональная анергия».

Помимо молекул, экспрессированных на поверхности клеток, в Т-клеточной активации участвуют действующие локально цитокины. Особый интерес представляют ИЛ-1 и ИЛ-6 — цитокины, продуцируемые АПК, в том числе макрофагами. Стимуляция Т-клеток этими агентами не всегда бывает необходимой, как например в том случае, если Т-клетки уже делятся. Действуя на покоящиеся Т-лимфоциты, ИЛ-1 и ИЛ-6 индуцируют экспрессию рецепторов для фактора роста Т-клеток, ИЛ-2. Большое значение для Т-клеточной активации имеет также ИЛ-12, который способствует повышению продукции ИФу, направляя тем самым развитие «необученных» Т-клеток по пути превращения их в Txl-лимфоциты. Антигенпрезентируюшие клетки продуцируют ИЛ-15, также способный индуцировать Т-клеточную пролиферацию и весьма важный в тот период, когда еще не начался синтез ИЛ-2.

Взаимодействие между Т-клетками CD4+ и АПК изучено довольно подробно, тогда как сведений об аналогичном процессе с участием Т-лимфоцитов CD8+ и АПК еще мало. Известно, что клетки CD4+ функционируют как хелперные при активации Т-клеток CD8+. Поскольку одна интердигитатная дендритная клетка может связываться со многими Т-лимфоцитами. было высказано предположение, что активация происходит в кластерах, образуемых клетками CD4+ и CD8+ на поверхности ИДК.

Презентация антигена влияет на последующее развитие иммунного ответа

Антигенпрезентируюшие клетки могут быстро активироваться в самом начале иммунного ответа, например микробными продуктами или некоторыми вирусами, которые иммуногенны сами по себе, либо под влиянием адъювантного компонента вакцины. Осуществляемая ими презентация антигена не является однонаправленным процессом. Как только Т-клетки активируются, они выделяют цитокины, в частности ИФу и ГМ-КСФ, которые наряду с сигнальными молекулами клеточной поверхности, такими как лиганд CD40, усиливают антигенпрезентирующую функцию. У активированных АПК повышается экспрессия молекул МНС классов I и II, Fc-pe-цепторов и кости мул ируюши.х молекул адгезии, включая В7-1, В7-2, CDlla/b/c, ICAM-1 и ICAM-3. Они продуцируют также многочисленные цигокины, ферменты и другие медиаторы.

Активация лимфоцитов ведет к возникновению двух частично конкурирующих процессов: клеточной пролиферации и дифференцировки в клетки-эффекторы. На конечной стадии дифференцировки клетки становятся настолько специализированными, что утрачивают поверхностные молекулы, например МНС класса II, и способность отвечать на регуляторные сигналы или пролиферировать.

Судьба лимфоцитов, реагирующих на антиген, может быть разной. Некоторые из них пер-систируют в течение длительного времени как клетки иммунологической памяти. Возможная продолжительность их жизни у человека превышает 40 лет, что было установлено по хромосомным аномалиям клеток крови у людей, переживших атомную бомбардировку Хиросимы. Срок жизни других лимфоцитов невелик, и этим объясняется тот факт, что умеренная антигенная стимуляция не приводит к гипертрофии лимфоидной ткани. Тем не менее такой срок жизни реагирующих на антиген лимфоцитов достаточен для развития эффективных клеточных и гуморальных иммунных ответов. Накапливается все больше данных о том, что элиминация клеток, уже не нужных после завершения иммунного ответа, происходит путем апоптоза.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В- и Т-КЛЕТОК

Т- и В-лимфоциты распознают разные участки молекулы антигена

Большой вклад в изучение различных функций Т- и В-клеток внесли исследования, проведенные в конце 1960 — начале 1970 гг. Митчисоном и другими исследователями с использованием химически модифицированных белков. Ими было установлено, что для индукции оптимального вторичного ответа с образованием антител против небольшой молекулы, или гаптена, животное необходимо иммунизировать не гаптеном в свободной форме, а конъюгатом гаптен—носитель, и затем повторно ввести тот же конъюгат. Этот феномен был назван эффектом носителя. Исследуя различные клеточные популяции, авторы этих работ обнаружили, что за распознавание носителя ответственны Т-клетки, тогда как гаптен распознают В-лимфоциты. Дальнейшие эксперименты были направлены на подробное изучение того, каким образом В-клеточные антителарецепторы распознают эпитопы, а Т-клетки — фрагменты процессированного антигена.

Одним из принципиально важных выводов в этих исследованиях был следующий: индивидуальная В-клетка может получать «помошь» от Т-клеток, специфичных к различным антигенным пептидам, при условии что она способна презен-тировать их детерминанты каждой Т-клетке. В ходе иммунного ответа in vivo взаимодействие с В-лимфоцитами осуществляют, как считается, Т-клетки, уже стимулированные в результате предшествующего контакта с антигеном, презен-тированным другими АПК. На этих данных основаны представления о клеточных взаимодействиях при ан-тителообразовании. Согласно им, антиген, попавший в организм, процессируется клетками, которые презентируют его в высоко-иммуногенной форме Тх-клеткам и В-клеткам. Детерминанты антигена, распознаваемые Т-лим-фоцитами, отличаются от детерминант, распознаваемых В-клетками, которые делятся и дифференцируются в антителообразуюшие. Таким образом, для активации В-клетки необходимы два следующих процесса:

• взаимодействие «нативного» антигена с Ig-pe-цепторами В-клетки;

• стимуляция сигналом от Тх-лимфоцитов, отвечающих на связанный с молекулами МНС процессированный антиген.

Взаимодействие В- и Т-клеток происходит с участием костимулирующих молекул

Путем выращивания и клонирования Т-клеток в присутствии антигена, АПК и ИЛ-2 можно получить популяцию антигенспецифичных Т-лимфо-цитов. Это позволяет выявить in vitro непосредственно взаимодействующие молекулярные кластеры на поверхности Т- и В-клеток. В такой экспериментальной системе было установлено, что при взаимодействии происходит поляризация Т-клеток с концентрированием ТкР на стороне, обращенной к В-клеткам. В свою очередь В-клетки также поляризуются и экспрессируют большую часть своих антигенов МНС класса II и ICAM-1 в непосредственной близости к Т-клеткам. Взаимодействие между этими кластерами, очевидно, предполагает интенсивный обмен информацией, следствием которого становятся два важных события в жизненном цикле В-клеток: индукция пролиферации и дифференцировка в антитело-образующие клетки.

Взаимодействие между Т- и В-клетками представляет собой двунаправленный процесс: В-клетки презентируют антиген Т-клеткам и в свою очередь получают от них сигналы к делению и дифференцировке. Центральное, специфическое взаимодействие происходит при этом между комплексом молекула МНС класса II—антиген и Т-клеточным рецептором; оно усиливается за счет связывания LFA-3 с CD2, а также

ICAM-1 или ICAM-3 с LFA-1. В процессе участвуют и другие молекулы клеточной поверхности: В7-1 и В7-2 на В-клетках взаимодействуют с CD28, что ведет к стабилизации мРНК для ИЛ-2 и других цитокинов в Т-клетках и в результате к продлению периода, в течение которого Т-клетка генерирует сигналы активации.

К настоящему времени установлено, что наиболее мощный сигнал для активации В-клеток обеспечивает молекула CD40; этот сигнал даже более эффективен, чем опосредуемые поверхностными иммуноглобулинами. В процессе этой активации Т-клетки временно экспрессируют взаимодействующий с CD40 лиганд — CD40L. Белок CD40 принадлежит к семейству рецепторов ФИО, a CD40L является отдаленно родственным представителем этого семейства. Их взаимодействие способствует вступлению В-лимфоци-тов в клеточный цикл. Данный сигнал имеет важное значение для формирования центров размножения и развития гуморального иммунного ответа на Т-зависимые антигены. Подтверждением этого служит развитие иммунодефицитного заболевания — синдрома гиперпродукции IgM — в результате мутации гена CD40L. Данное расстройство характеризуется тем, что Т-клетки не оказывают «помощи» В-лимфоцитам и в результате образуются только низкоаффинные антитела IgM и отсутствует переключение синтеза иммуноглобулинов на продукцию высокоаффинных IgG или IgA.

При взаимодействии Т- и В-клеток высвобождение Т-клеточных цитокинов поляризовано в направлении В-клеток. Синтезируемые некоторыми В-лимфоцитами ИЛ-1 и ИЛ-6 повышают экспрессию ИЛ-2 Т-клетками. Поскольку, однако, лишь некоторые В-клетки секретируют эти цитокины, большинство В-клеток способно, по-видимому, активировать только ранее примированные Т-лимфо-циты или Т-клетки памяти.

Не так давно было установлено, что Т-клетки CD4+ у мыши и человека можно разделить на две субпопуляции в зависимости от профиля продуцируемых ими цитокинов.

• Т-лимфоциты CD4+, образующие ИЛ-2 и ИФу, но не ИЛ-4, ответственны главным образом за реакции гиперчувствительности замедленного типа,однако у мыши они могут также «помогать» В-клеткам продуцировать IgG2a и в значительно меньшей степени IgG 1 или IgE.

• Т-клетки CD4+, образующие ИЛ-4 и ИЛ-5, но не ИЛ-2 или ЗЦг, отнесены к другой субпопуляции, Тх2. У мыши эти клетки служат весьма эффективными хелперами в продукции антител, в основном IgG 1 и IgE.

• Многие Т-клетки, главным образом у человека, занимают промежуточное положение по типу образуемых ими цитокинов и названы «ТхО»-клетками. Однако доказано и присутствие у человека классических Txl- и Тх2-кле-ток, наиболее характерное для патологически измененных тканей.

Секреция и действие Т-клеточных цитокинов важны для активации В-клеток

При взаимодействии Т- и В-клеток Т-лимфоциты могут секретировать ряд цитокинов, оказывающих сильное действие на В-клетки. Такими цитокинами служат ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-6. Кроме того, Т-клетки синтезируют ФНОос и в. Имеются сообщения о том, что эти молекулы важны для роста В-клеток. Активацию В-лимфоцитов вызывают и другие цитокины, в частности ИЛ-11 и ИЛ-13, по характеру действия сходный с ИЛ-4. Более подробно роль цитокинов в активации Т- и В-клеток рассмотрена ниже.

Результатом взаимодействия Т- и В-лимфоцитов может быть либо активация, либо инактивация

Приведенные выше данные о взаимодействии Фз В-клеток указывают на то, что единственно возможный его результат — активация В-лимфоцитов. Однако в действительности это не так. Как было отмечено выше, кооперация АПК с Т-клетками способна давать диаметрально противоположные результаты, а именно вызыватьлибо активацию, либо инактивацию клеток. То же самое имеет место и в случае В-лимфоцитов, которые часто переходят в состояние анергии. Этот процесс очень важен в связи с тем, что созревание аффинности антител в ходе иммунного ответа — результат гипермутирования генов, кодирующих вариабельные области антител, — может легко приводить к образованию высокоаффинных аутоантител. Клональная анергия и другие формы периферической толерантности необходимы для того, чтобы такие потенциально опасные клоны «молчали». Однако на молекулярном уровне этот процесс еще мало изучен. Кроме того, остается неизвестным значение IgM и IgD, двух поверхностных антигенспецифичных рецепторов В-клеток, в процессах активации и инактивации. По-видимому, в обоих случаях IgM- и IgD-рецепторы способны передавать соответствующие сигналы.

Для стимуляции В-клеток Т-независимыми антигенами не требуется помощи Т-клеток

В иммунном ответе на большинство антигенов участвуют и Т-, и В-клетки, распознающие антиген сопряженно. Такие антигены называют Т-зависимыми. Однако некоторые антигены способны активировать В-клетки без помощи Т-клеток — это Т-независимые антигены. Для этих антигенов характерен ряд общих свойств. Так, все они представляют собой крупные полимерные молекулы с повторяющимися антигенными детерминантами. Многие из Т-независимых антигенов в высоких концентрациях обладают способностью активировать клоны В-клеток, специфичных к другим антигенам. Однако в низких дозах они активируют только В-клетки соответствующей специфичности. Нередко Т-независимые антигены обнаруживают повышенную устойчивость к деградации. Это относится в основном к микробным антигенам, например бактериальным углеводам, таким как декстран и леван, а также к белкам бактерий, например флагеллнну и эндотоксину.

Первичный гуморальный ответ на Т-независимые антигены обычно немного слабее, чем на Т-зависимые, и достигает пика несколько раньше. В обоих случаях продуцируются главным образом антитела IgM. Однако вторичные иммунные ответы на антигены этих двух типов резко различаются. При повторном введении Т-независимого антигена ответ напоминает первичный, тогда как вторичная реакция на Т-зависимые антигены гораздо сильнее первичной и большую часть образующихся антител составляет IgG. Таким образом, Т-независимые антигены, по-видимому, не индуцируют, как правило, изменений, которые могли бы привести к созреванию ответа, характерному для случая Т-зависимых антигенов, которые вызывают переключение изотопа на продукцию IgG и повышение аффинности антител. Причиной этих различий между типами антигенов может быть отсутствие активации с участием CD40 в случае Т-независимых антигенов. Формирование иммунологической памяти при их воздействии также относительно слабое.

Механизм активации В-клеток Т-независимыми антигенами без участия Тх-клеток еще не раскрыт полностью. Возможно, полимерная структура этих антигенов позволяет им перекрестно связывать В-клеточные рецепторы, чему способствует устойчивость молекул антигена к деградации. Такой иммунный ответ, не требующий сложных клеточных взаимодействий, обеспечивает преимущество для выживания, поскольку позволяет организму быстрее реагировать на микробные антигены. Многие бактериальные антигены действуют независимо от Т-клеточной помощи, поскольку являются чрезвычайно сильными индукторами синтеза цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНОос макрофагами. Непродолжительность иммунной реакции на Т-независимые антигены и то, что она не включает образование IgG, может быть результатом отсутствия костимуляции, опосредованной CD40L, и отсутствия продукции ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-5, которые Т-клетки секретируют в реакции на Т-зави-симые антигены. Часто под влиянием Т-независимых антигенов активируются главным образом В-клетки субпопуляции В1, экспрессирующие маркер CD5. Эти клетки обнаруживаются преимущественно в брюшной полости.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ СИГНАЛЫ ПРИ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ

Комплекс ТкР способен передавать сигналы внутрь клетки. В передаче сигналов участвуют комплекс CD3 и фермент р56, который связан с внутриклеточными участками молекул CD4 или CD8. В-клетки также экспрессируют семейство молекул, участвующих в передаче сигналов: оно включает Igoc, IgP и мембраносвязанные IgM и IgD.

Активацию лимфоцитов инициируют тирозинкиназы

Распознавание Т-клеточным рецептором комплекса антиген—МНС-молекула и связывание костимулирующих молекул вызывают передачу сигнала внутрь Т-клеток. Самый первый внутриклеточный этап сигнализации состоит в фосфо-рилировании тирозина, осуществляемом с участием тирозинкиназ семейства src, в частности lck, ассоциированной с CD4, и fyn; обе они фос-форилируют последовательности-мишени, обнаруженные в ж-цепи CD3 и присутствующие также в молекулах Igoc, IgP и FcyR. Эти последовательности получили название иммунорецепторные тирозин-активируемые мотивы, ITAM. Тирозинкиназа ZAP-70 связывается с ITAM и активируется, в свою очередь активируя фосфолипазу С и тем самым открывая классический путь сигнализации. Сигналы от ТкР и CD28 интегрируются, активируя находящиеся в латентном состоянии цитоплазматические факторы транскрипции, такие как NF-AT или NF-kB, которые после этого мигрируют в ядро. Здесь они действуют на гены, необходимые для Т-клеточной активации, включая гены ИЛ-2 и рецептора ИЛ-2. Продуцируемый в результате этой активации ИЛ-2, связываясь со своим рецептором, вызывает деление клеток.

Процессы активации В- и Т-клеток протекают сходным образом

Функцию Т-клеточной молекулы CD3 у В-клеток выполняют молекулы Igoc и IgP, которые также содержат ITAM в своей цитоплазматической части. Перекрестное связывание поверхностных Ig ведет к активации киназ семейства src. Киназа Syk аналогичная киназе ZAP-70 Т-клеток, связывается с фосфорилиро-ванными Iga и Igp. Это приводит к активации каскада киназ и переносу ядерных факторов транскрипции.

В-клеточную активацию заметно усиливает «корецепторный комплекс», состоящий из 3 белков — рецептора 2 комплемента, CD19 и молекулы-мишени для антипролифера-тивных антител. Известно, что фолликулярные дендритные клетки длительное время удерживают на своей поверхности антиген в виде иммунных комплексов. Антиген в составе такого комплекса может связываться и с поверхностным Ig В-клеток, и с CR2. Это связывание ведет к фосфорилированию цитоплазматической части молекулы CD 19, которая связывается также с ки-назами. Возможно, киназы, находясь близко к В-клеточному рецептору, способствуют активации В-клетки, особенно в тех случаях, когда концентрация антигена невелика.

Сигнал активации - это суммарный сигнал от антигенного рецептора и костимулирующих молекул

До сих пор не известно точно, что представляет собой эффективный антигенный сигнал. В случае Т-клетки взаимодействия антигена с одиночным ТкР недостаточно для активации; необходимое для стимуляции число таких взаимодействий может зависеть от наличия других стимулирующих сигналов, типа Т-клеток и степени их активации. Установлено, что легко активируются клетки мышиных Т-клеточных гибридом. Чтобы стимулировать гибридную клетку, эффективно функционирующая АПК должна нести не менее 60 комплексов, образованных молекулой МНС класса II и антигенным фрагментом. Функционально менее активные АП К, такие как фибробласты с трансфицирован-ным МНС-геном класса II, должны иметь для этого 5000 таких комплексов.

Проведенные недавно исследования показали, что активация требует взаимодействия примерно 8000 молекул ТкР с комплексами МНС—пептид; именно такое число ТкР исчезает с поверхности клетки при активации Т-клеточ-ных клонов. Поскольку взаимодействие ТкР—МНС характеризуется низкой аффинностью, единичный комплекс МНС—пептид способен, возможно, активировать большое число ТкР. Не исключено, что для трансформированных Т-клеток, какими являются гибридомы, необходима менее сильная ТкР-активация. При наличии костимулирующего сигнала для активации Т-клеточ-ных клонов достаточно 1500 активированных и интернализованных ТкР.

Сведения подобного типа о действии Т-зави-симых антигенов на В-клетки отсутствуют. Связывание Т-независимого антигена с одиночным рецептором не ведет к активации В-клетки, однако пока еще нет данных, которые позволили бы сопоставить эффекты стимуляции В-лимфоцитов с описанными выше процессами в Т-клет-ках.

Взаимодействие антигена с ТкР или мембранным иммуноглобулином само по себе не может служить положительным сигналом активации для Т- или В-клеток. Возможно, его достаточно для генерации «отрицательного», или толероген-ного, сигнала, однако и это сомнительно. В настоящее время считается, что для активации лим-фоидных клеток необходим целый ряд взаимодействий, каждое из которых потенциально несет сигнальную функцию. Костимулирующие молекулы, например CD2 и CD1 la/CD18, ответственны не только за связывание; их цитоплазматиче-ские домены участвуют в передаче сигналов. Так, эксперименты с удалением цитоплазматического домена CD2 показали, что в результате такого вмешательства процесс активации нарушается, однако адгезивная функция молекулы остается неизменной.

Митогены и суперантигены также могут активировать лимфоциты

Для изучения Т- и В-клеточной активации наряду с антигенами используются также митогены — вещества, которые в отличие от антигенов могут активировать Т- и В-клетки неспецифически. Для большинства Т-клеток стимуляторами служат фитогемагглютинин, выделенный из красной фасоли, и конканавалин А, экстрагированный из плодов клещевины. Механизм действия этих агентов детально изучен; они связываются с поверхностными молекулами Т-клеток, ответственными за активацию, в частности с ТкР и CD2.

Способностью неспецифически активировать Т-клетки обладают и молекулы другой группы, так называемые «суперантигены», большинство которых имеет бактериальное происхождение. К ним относятся стафилококковые энтеротоксины, токсин, вызывающий развитие синдрома токсического шока при сепсисе, токсин эксфолиативного дерматита и некоторые вирусные белки. Суперантигены связываются с молекулами МНС класса II на АПК и распознаются ТкР, однако не посредством того же механизма, какой действует при распознавании Т-клеточ-ным рецептором комплекса МНС—антигенный пептид. Суперантиген связывается только с Хвцепью ТкР, однако этого достаточно для активации Т-клетки. Эффект стимуляции при этом такой же, как и при использовании антигенов: в зависимости от условий эксперимента может возникнуть либо иммунный ответ, либо клональная анергия.

ДЕЙСТВИЕ ЦИТОКИНОВ НА В- И Т-КЛЕТКИ

Главная роль в активации Т-клеток принадлежит ИЛ-2

Пролиферация лимфоцитов — это сложный, опосредуемый многими факторами процесс. Так, стимуляция Т-клеток АПК еще не означает, что лимфоциты сразу же будут пролиферировать. Эффективное взаимодействие с участием ТкР ведет к продукции б-цепи рецептора для фактора роста Т-клеток, ИЛ-2. б-Цепь и уже имеющиеся в - и г-цепи ассоциируют с образованием высокоаффинного рецептора для ИЛ-2. Активация ТкР у всех Т-клеток вызывает продукцию цитокинов. Большинство Т-клеток CD4+ и некоторые Т-клетки CD8+ секре-тируют ИЛ-2 непродолжительное время, 1—2 сут. В течение этого срока взаимодействие ИЛ-2 с высокоаффинным рецептором для ИЛ-2 приводит к росту и активации Т-клеток. После стимуляции ТкР клетки экспрессируют высокоаффинный рецептор только в течение примерно одной недели: благодаря такому ограничению Т-клетки не размножаются беспредельно, так как отсутствие положительных сигналов способствует индукции апоптотической гибели лишних клеток.

ИЛ-2 синтезируют главным образом Т-клетки CD4+, однако его продуцентами служат также С08+-клетки и большие гранулярные лимфоциты. Действие ИЛ-2 ограничено определенными видами клеток, в основном Т-клетками всех типов, для которых данный цитокин служит наиболее сильным фактором роста и активатором. Он влияет также на БГЛ и В-клетки, индуцируя их рост и дифференцировку, активирует макрофаги и, возможно, олигоденд-роциты. В виде препарата ИЛ-2 используют для экспериментальной терапии опухолей, в частности почечно-клеточного рака. Лечебное действие этого цитокина может быть связано с активацией различных клеток, обладающих противоопухолевым цитотоксическим действием, например лимфокин-активированных клеток-киллеров.

Менее сильным фактором роста Т-клеток служит ИЛ-4, который также относится к числу ин-дуцибельных цитокинов. Экспрессия поверхностного рецептора для ИЛ-4 повышается в результате активации ТкР. На Т-клетки действует также ИЛ-7, хотя первоначально он был описан как фактор роста пре-В-клеток, образуемый стромой костного мозга. Продуцируемый элементами стромы тимуса ИЛ-7 действует на тимоциты, представляя собой фактор роста и активации Т-клеток в дополнение к свойству активировать макрофаги. Возможно, описанные три фактора роста, а также менее изученные цитокины, в частности ИЛ-9, ИЛ-12 и ИЛ-15, осуществляют тонкую регуляцию роста и активации Т-клеток в ходе иммунного ответа.

Цитокины ИЛ-1 и ИЛ-6 служат костимулиру-ющими сигнальными молекулами при активации Т-клеток некоторыми АПК. Удивительно, что еще никому не удалось обнаружить продукцию этих цитокинов теми АПК, которые считаются наиболее эффективными презентиру-ющими клетками при первичной Т-клеточной активации, — интердигитатными дендритными клетками. Не исключено действие в качестве ко-стимулирующих и других цитокинов, включая ИЛ-12 и ИЛ-15.

Цитокин ИЛ-3 стимулирует рост клеток-предшественников всех гемопоэтических линий. На этот цитокин реагирует также минорная популяция Т-клеток.

Активацию и деление В-клеток индуцируют цитокины, образуемые Тх2-лимфоцитами

К специфическим цитокинам, продуцируемым Тх2 клетками, относятся ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-13. Цитокин ИЛ-4 действует на В-клетки, индуцируя их активацию и дифференцировку с преимущественной продукцией антител IgGl и IgE. Он влияет также на Т-клетки как фактор роста, способствуя дифференцировке Тх2-лимфо-цитов и усиливая тем самым антителообразова-ние. Одновременно он ингибирует секрецию макрофагами провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 и ФНОос. Избыток ИЛ-4, вызывающего синтез IgE, играет патогенетическую роль при аллергических заболеваниях.

ИЛ-5 функционирует в организме человека в основном как фактор роста и активации эозино-филов. У мыши он действует также на В-клетки, индуцируя их рост и дифференцировку. Этот цитокин обусловливает эозинофилию при паразитарных инвазиях.

Цитокин ИЛ-6, известный ранее как фактор В-клеточной дифференцировки или фактор стимуляции гепатоцитов, образуют многие клетки — Ф лимфоциты, макрофаги, В-клетки, фибробла-сты и эндотелиальные клетки. Он действует на самые разнообразные клетки, но особенно важна его функция как индуктора дифференцировки В-лимфоцитов в антителообразующие клетки. В печени ИЛ-6 стимулирует синтез белков острой фазы. Считается, что ИЛ-6 служит важным фактором роста множественной миело-мы — злокачественного новообразования, возникшего из плазматических клеток.

Цитокины - регуляторы иммунных реакций

От цитокинов может также зависеть тип развивающегося иммунного ответа Особенно важна при этом регуляторная функция ИЛ-10 и ИЛ-12. Цитокин ИЛ-10 подавляет синтез ИФу. Кроме того, он ингибирует презентацию антигенов и синтез ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНОос макрофагами, что благоприятствует развитию иммунного ответа по Тх2-типу и В-клеточной активации. Действие ИЛ-12 комплементарно эффектам ИЛ-10: он способствует развитию Txl-ответа, сопровождающегося активацией макрофагов и нормальных киллерных клеток.

Источником образования ИФу служат активированные Т-лимфоциты и НК-клетки. Иммунная активация ведет к образованию ИФу и повышению антигенпрезентирующей функции клеток многих типов, в том числе макрофагов, астроцитов, клеток микроглии и эндотелия, а также тимоцитов. Частично этот эффект опосредован усилением экспрессии генов МНС классов I и II и ТАР, которое влечет за собой дальнейшую активацию Т-клеток. Повышается также экспрессия костимулирующих молекул В7-1, В7-2 и 1САМ-1. Таким образом, при многих иммунных реакциях ИФу выполняет функцию положительного сигнала регуляции по механизму обратной связи. Однако вместе с тем он ингибирует пролиферацию Тх2-клеток, как правило активирует макрофаги и, как это ни парадоксально, препятствует индукции синтеза МНС-молекул класса II В-клетками, вызываемой ИЛ-4. Отсюда следует, что ИФу способствует развитию иммунного ответа Txl-типа.

ИФа и ЗЦв, подобно ИФу, могут подавлять пролиферацию клеток иммунной системы. Они ингибируют, кроме того, эффект ИФу, индуцирующий экспрессию МНС-антигенов класса II. Цитокин ИЛ-6, стимулируя дифференцировку клеток, в том числе некоторых лейкозных линий, тормозит их пролиферацию. Цитокины ИЛ-6 и ИЛ-11 способны ингибировать синтез макрофагами провоспалительных цитокинов, однако их действие слабее, чем у ИЛ-4 или ИЛ-10. Цитокин ИЛ-13 по своим свойствам подавлять функции макрофагов во многом сходен с ИЛ-4.

Трансформирующий фактор роста в представлен семейством из трех близкородственных молекул, которые стимулируют рост соединительной ткани и образование коллагена, но ингибируют практически все иммунные и гемо-поэтические функции, особенно если присутствуют до активации клеток.

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ IN VIVO

В ранний период изучение гуморального иммунного ответа сводилось в основном к определению специфических антител в крови животных после иммунизации Т-зависимыми или Т-независимы-ми антигенами. По мере накопления данных о развитии и созревании В-лимфоцитов стали проясняться клеточные механизмы иммунных реакций in vivo. Характеристики гуморального ответа, связанные с описанными выше клеточными функциями, включают:

• усиление продукции антител при вторичном ответе,

• переключение изотипа Ig,

• созревание аффинности антител и

• формирование иммунологической памяти. Некоторые из этих процессов становятся понятными только при рассмотрении гетерогенной В-клеточной популяции как целостной системы, а не просто набора индивидуальных В-клеток. Элементы гуморального ответа in vivo подробно описаны ниже.

После первичной антигенной стимуляции наступает начальный период иммунного ответа — лаг-фаза, в течение которой антитела в крови не обнаруживаются. Затем следуют период логарифмического роста титра антител, фаза плато и фаза затухания ответа. Снижение уровня антител происходит либо за счет их катаболизирования, либо в результате связывания их с антигеном и выведения из циркуляции.

Изучение ответа на первичную и вторичную стимуляцию антигеном выявило 4 основных существующих между ними различия.

Фактор времени Вторичный иммунный ответ характеризуется укороченной лаг-фазой и более продолжительными фазами плато и затухания.

Титр антител Уровень антител во время фазы плато значительно выше при вторичном ответе и обычно в 10 и более раз превышает содержание антител после первичного введения антигена.

Класс антител При первичном иммунном ответе образуются в основном антитела IgM, тогда как при вторичном преобладают IgG, a IgM присутствуют лишь в очень небольшом количестве.

Аффинность антител Как правило, при вторичном иммунном ответе антитела отличаются значительно более высокой аффинностью. Эта его особенность известна как «созревание» аффинности.

Присутствие АОК в селезенке животных после иммунизации можно выявить путем анализа бляшкообразования. Как установлено. АОК в этом органе появляются примерно за сутки до того, как антитела в доступных для определения титрах обнаруживаются в сыворотке крови.

Переключение изотипа 1д зависит от Т-клеток

При Т-зависимом иммунном ответе происходит постепенное изменение класса преобладающих специфических антител, обычно в сторону доминирования IgG. При иммунизации Т-независи-мыми антигенами такого переключения изотипа иммуноглобулинов не происходит, и основным классом образующихся антител остается, как правило, IgM.

Переключение изотипа с IgM на IgG не носит характер случайного события. Подклассы IgG, продуцируемых плазматическими клетками, варьируют в зависимости от характера стимула. Так, у мыши применение полного адъюванта Фрейнда ведет к продукции преимущественно ^С2-антител, тогда как при использовании для иммунизации белковых антигенов, осажденных квасцами, возникает преимущественно IgGl-пф-вет. Может также происходить переключение на синтез IgA или IgE; клетки, образующие иммуноглобулины этих изотипов, сосредоточены главным образом в лимфоидных тканях слизистых оболочек.

Молекулярная основа переключения изотипа изучена довольно подробно. Перестройки в ДНК зависят от сигналов, генерируемых Т-клетками CD4+, от цитокинов и CD40L, который играет особо важную роль Т-клеточные цитокины, присутствующие в непосредственной близости к В-клеткам, определяют новый изотип продуцируемых иммуноглобулинов. Цитокин ИЛ-4 способствует переключению на синтез IgG 1 и IgE, тогда как ФЦСв вызывает переключение на продукцию IgA и lgG2b, а ИФу стимулирует образование lgG2a. Цитокины могут также подавлять экспрессию некоторых изотипов; например, ИЛ-4 ингибирует синтез IgG2a.

В процессе переключения изотипа происходит цитокин-зависимая транскрипция ДНК в новой константной области, измененной за счет так называемой рекомбинации переключения. Она состоит в том, что специфические «участки переключения», расположенные у 5'-конца каждого из генов, кодирующих домены константных областей тяжелых цепей разных изотипов, ре-комбинируют друг с другом, а промежуточный участок ДНК удаляется.

Созревание аффинности зависит от селекции клеток

При вторичном иммунном ответе на Т-зависимые антигены антитела обладают в среднем более высокой аффинностью, чем при первичном. Это связано с переключением синтеза антител с IgM на IgG.

Степень повышения аффинности обратно пропорциональна дозе введенного антигена: при введении высоких доз сродство возрастает слабее, чем после иммунизации низкими дозами антигена. Высказано предположение, что при низкой концентрации антигена его связывают в достаточном количестве лишь те В-клетки, которые обладают высокоаффинными рецепторами; связывание индуцирует пролиферацию и дифференцировку этих В-клеток. При значительной же концентрации антигена его связывают и активируются как высоко-, так и низкоаффинные В-клетки.

Хотя индивидуальные В-клетки обычно не меняют своей основной специфичности, аффинность антител, образуемых клоном, может претерпевать изменения в результате соматического гипермутирования рекомбинированных генов антител. По-видимому, в созревание аффинности вносят вклад два процесса:

• образование более высокоаффинных клонов В-клеток за счет небольших изменений в структуре антител, образуемых дочерними клетками; такие изменения появляются на поздней стадии первичного иммунного ответа на Т-за-висимый антиген;

• селективная экспансия высокоаффинных клонов под влиянием антигена.

Соматическое гипермутирование имеет место в антителообразующих клетках при Т-зависимом иммунном ответе и играет важную роль в продукции высокоаффннных антител. В этом отношении оно представляет собой нормальный и выгодный процесс. Однако иногда этот же процесс приводит к образованию высокоаффинных IgG-аутоантител, например антител анти-ДНК, способных вызывать тяжелые расстройства. Подобное мутирование было обнаружено экспериментально в долгоживушей культуре ткани, однако его роль в возникновении распространенных аутоиммунных заболеваний неизвестна.

Активация В-клеток происходит в центрах размножения

Процесс созревания В-клеточной аффинности протекает в центрах размножения. Они образуются в селезенке или лимфатических узлах спустя несколько суток после антигенной стимуляции. В-лимфоциты, активированные Т-клетками посредством связывания CD40 с его лигандом, мигрируют в первичные фолликулы, где имеется густая сеть фолликулярных дендритных клеток. В этом окружении происходит быстрое деление В-клеток, сопровождающееся соматическим мутированием Ig-генов. В-клетки с высокоаффинными рецепторами проходят отбор по выживаемости, основанный на взаимодействии их мембраносвязанных поверхностных антител и комплекса В-клетка—корецептор с антигеном и комплементом на поверхности фолликулярных дендритных клеток. При прохождении через центр размножения В-лимфоциты экспрес-сируют ген «клеточной выживаемости», bcl-2. Клетки с высокоаффинными IgG за счет связывания продукта bcl-2 избегают апоптоза; клетки же с низкоаффинными рецепторами таким свойством не обладают и погибают в результате апоптоза.

Иммунологическая память

Способность организма развивать вторичный иммунный ответ основана на свойстве «иммунологической памяти». Тем же свойством обусловлен эффект вакцинации.

Клетки, выполняющие функцию иммунологической памяти, накапливаются в результате экспансии популяций антигенспецифичных лимфоцитов во время первичного иммунного ответа, т. е. возрастания числа покоящихся В- и Т-клеток, способных реагировать на последующее воздействие того же антигена. В-клетки иммунологической памяти качественно отличаются от непримированных В-лимфоцитов тем, что начинают продуцировать IgG-антитела раньше и обычно обладают более высокоаффинными антигенными рецепторами благодаря селекции в ходе первичного иммунного ответа.

Т-клетки памяти вряд ли обладают рецепторами повышенной аффинности по сравнению с непримированными Т-клетками, так как Т-лимфоцитам не свойственно гипермутирование. Однако Т-клетки иммунологической памяти способны реагировать на более низкие дозы антигена, и это позволяет предполагать, что их рецепторный комплекс в целом функционирует более эффективно. В настоящее время можно считать установленным, что иммунологическая память определяется не только накоплением популяций одинаковых по свойствам клеток; меняются также свойства индивидуальных клеток, о чем свидетельствуют изменения в экспрессии молекул клеточной поверхности и цитокинов. Т-клетки CD4+, осуществляющие функцию иммунологической памяти, продуцируют цигокины быстрее и интенсивнее.