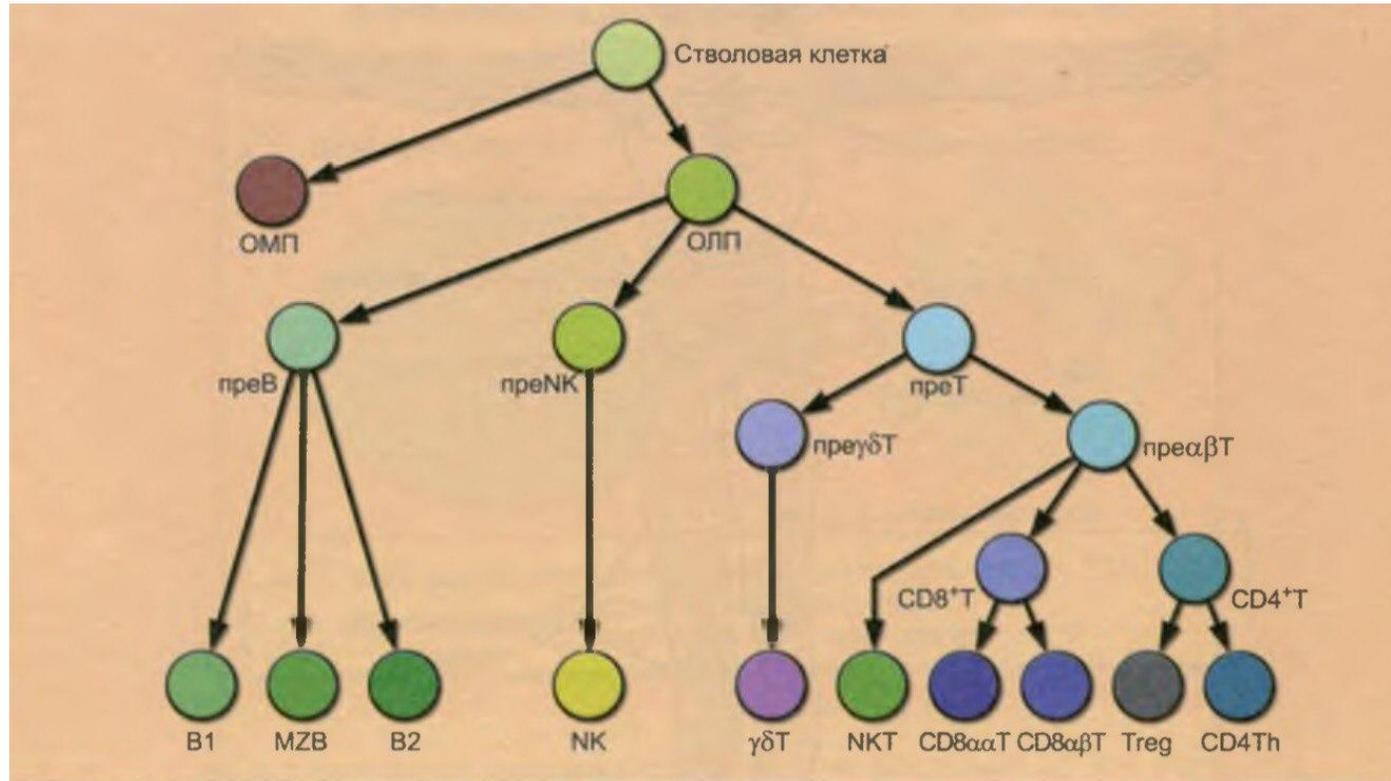
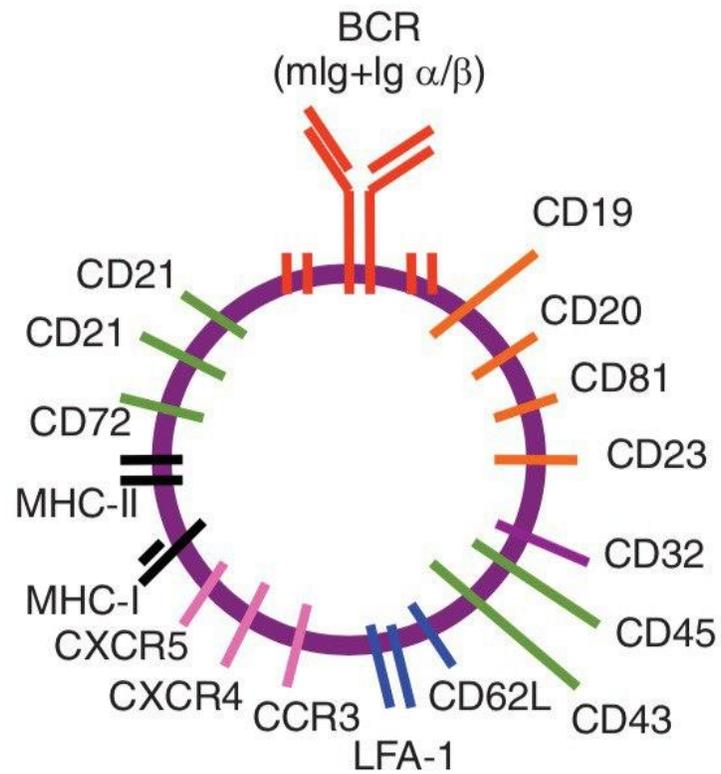


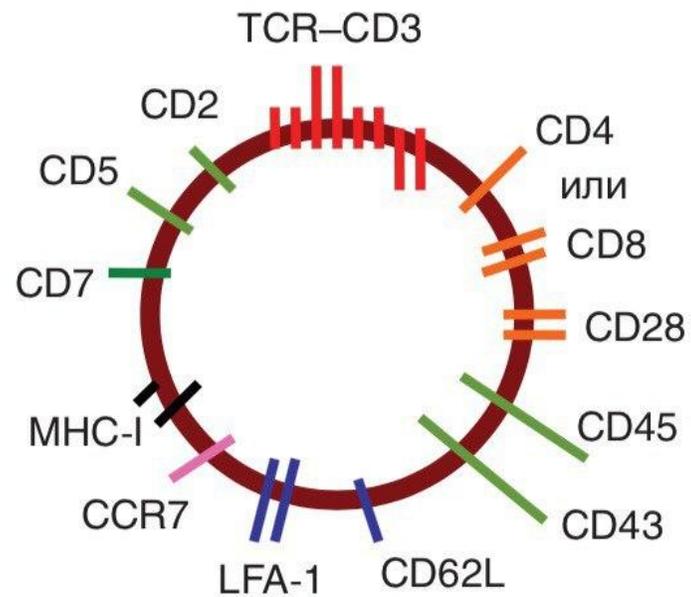
Лимфоциты

Лимфоциты — ключевые клетки адаптивного иммунитета. Они несут антигенраспознающие рецепторы и выполняют основные эффекторные и регуляторные функции. Лишь естественные киллеры, или NK-клетки, не способны распознавать индивидуальные антигены и относятся к клеткам врожденного иммунитета, занимая в нем обособленное место.

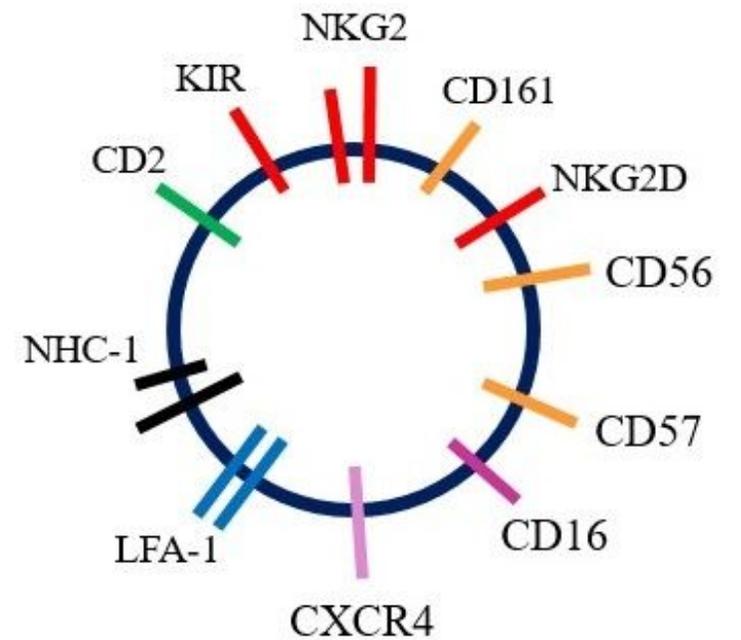




В-клетка



Т-клетка



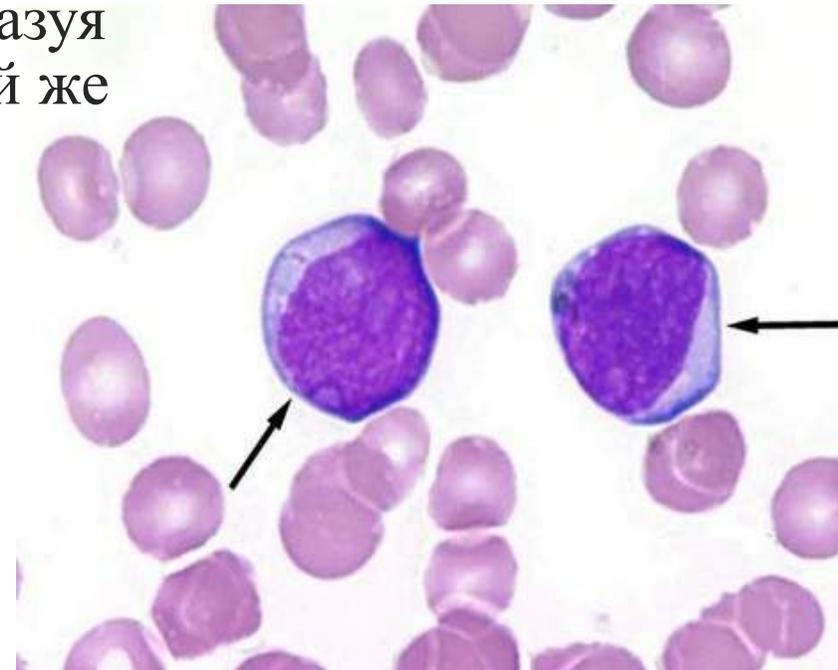
NKT-клетка

Мембранные маркеры лимфоцитов. Мембранные молекулы отмечены линиями, пересекающими круг. Цветом выделены разные функциональные группы молекул.

Лимфоциты — клетки малого размера (6–8 мкм), имеющие округлую форму с большим бобовидным ядром, занимающим почти всю клетку, и слабо выраженной цитоплазмой, бедной гранулами. Специфическим признаком Т- и В-лимфоцитов является наличие на их поверхности антигенраспознающих рецепторов.

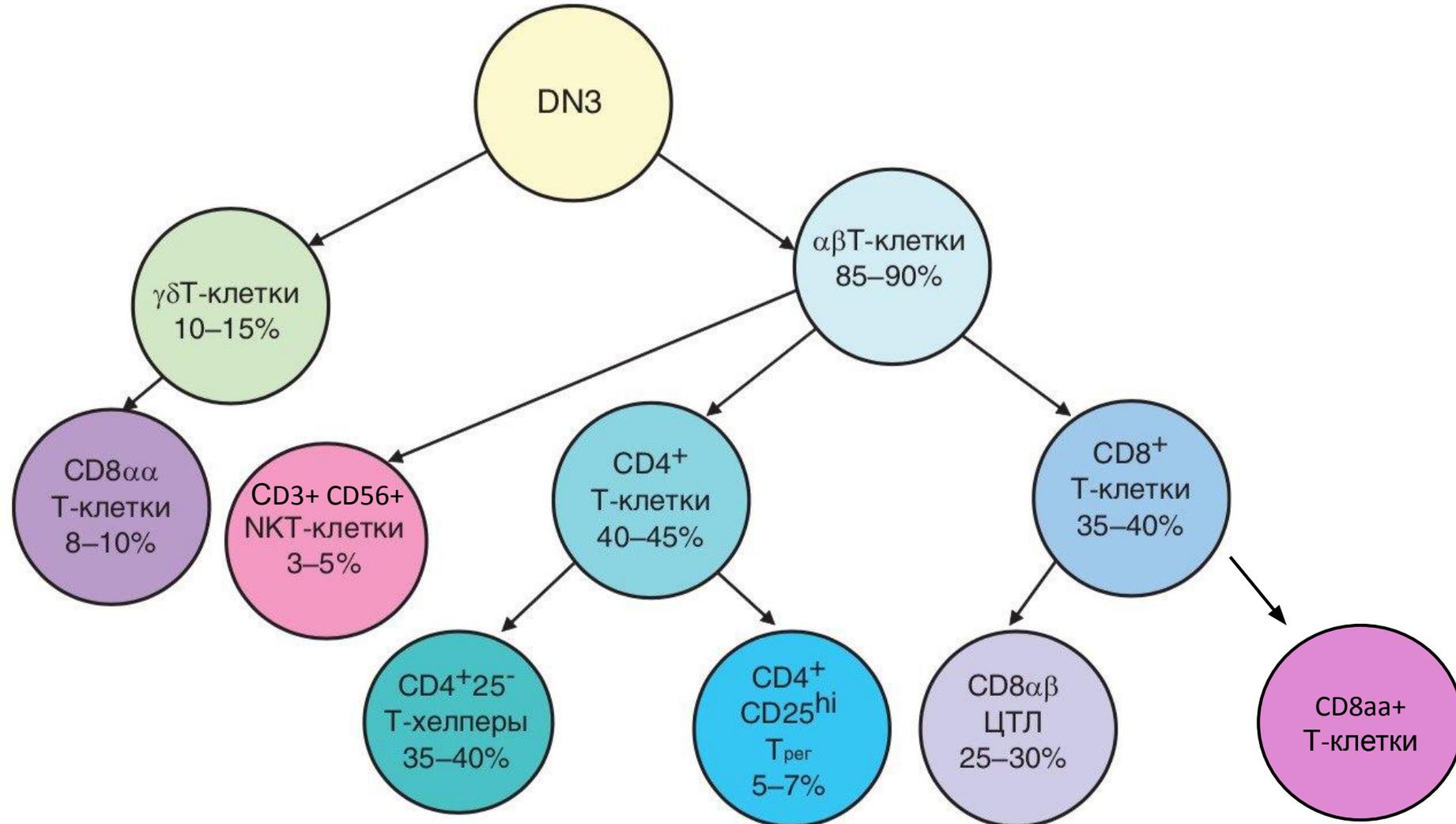
Популяции Т- и В-клеток имеют клональную структуру: в процессе дифференцировки каждая клетка приобретает рецептор уникальной специфичности. При встрече с антигеном и активации лимфоциты пролиферируют, образуя клон, каждая клетка которого несет рецептор точно такой же специфичности, что и «материнская» клетка.

Клетки разных клонов отличаются по структуре и специфичности антигенраспознающих рецепторов.



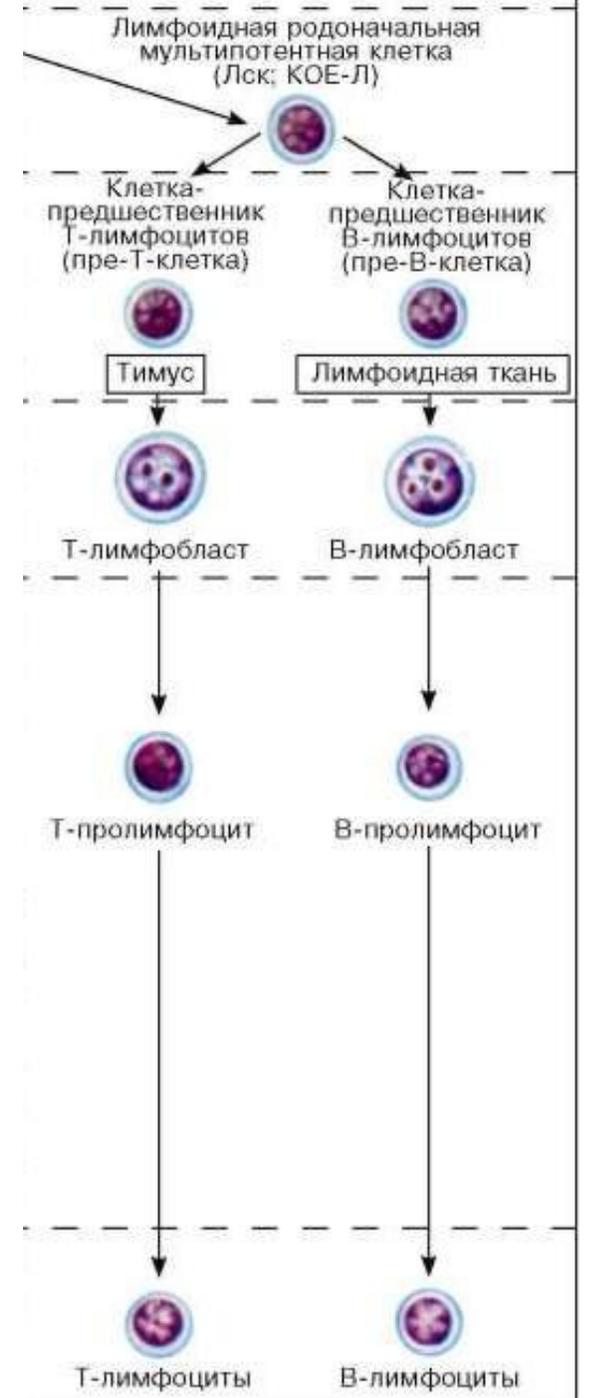
T – лимфоциты.

Субпопуляции T-клеток. Субпопуляции T-клеток различаются по мембранным маркерам, а также способу распознавания антигена и функциям.



T-клетки — разновидность лимфоцитов, основные этапы развития которых проходят в тимусе, что и определило их название (тимусзависимые, или T-лимфоциты). Для них характерен определенный способ распознавания антигенов и участие в реализации иммунного ответа в качестве исполнительных и регуляторных клеток.

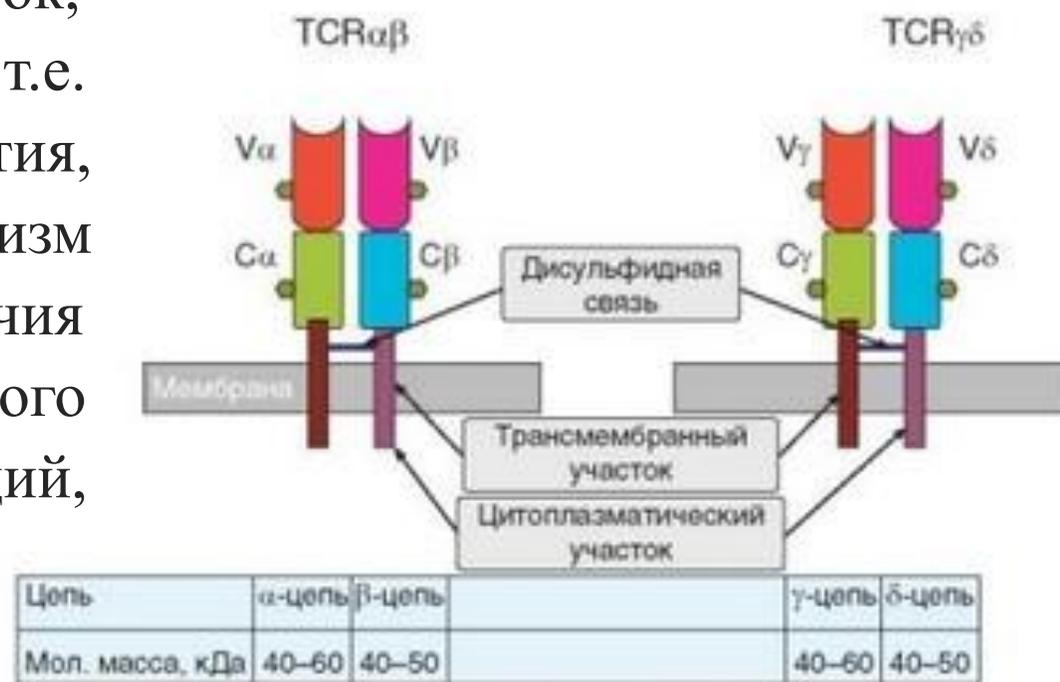
T-лимфоциты морфологически неотличимы от B-лимфоцитов. Эти клетки дифференцируют по экспрессии на их поверхности маркерных молекул. Общий маркер для всех разновидностей этих T-лимфоцитов, отсутствующий у других клеток, — молекулярный комплекс TCR–CD3.



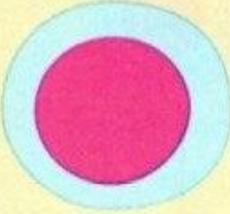
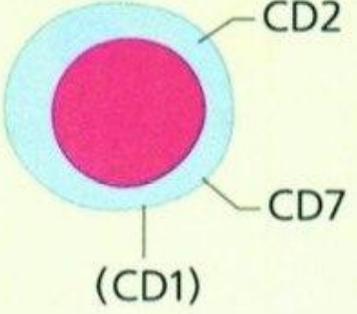
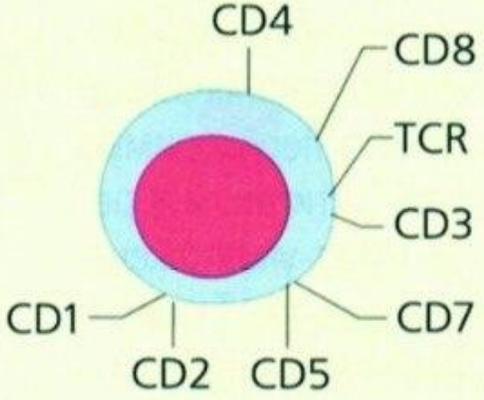
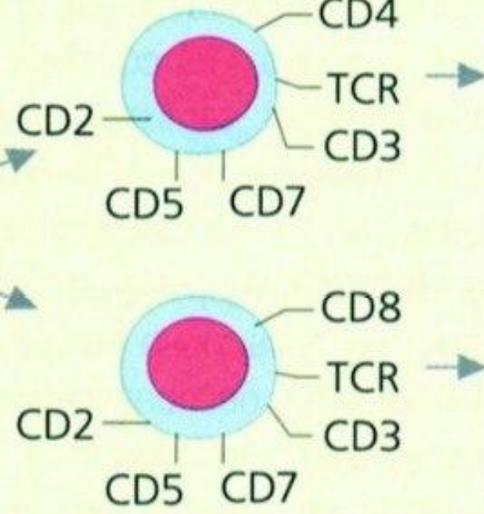
Наивные Т-лимфоциты включают 2 основных варианта клеток, отличающихся по структуре TCR: $\gamma\delta$ Т-клетки (TCR образован цепями γ и δ) и $\alpha\beta$ Т-клетки (TCR образован цепями α и β).

Т-клетка может нести только один вариант рецептора. Однако этим гетерогенность Т-лимфоцитов не ограничивается.

Выделяют еще несколько субпопуляций Т-клеток, обозначаемых как естественные, т.е. формирующиеся в процессе нормального развития, независимо от поступления в организм чужеродных антигенов. Это важно для отличия этой формы гетерогенности клеток от адаптивного разнообразия Т-клеток — их субпопуляций, формирующихся в ходе иммунного ответа.



А. Созревание Т-клеток

Локализация	Печень плода Костный мозг	Тимус		
Клетка	Претимоцит	Ранний тимоцит	Общий тимоцит	Зрелый тимоцит
Клетка				
TCR	Перегруппировка TCR γ	Транскрипция TCR γ , перегруппировка TCR β	Экспрессия TCR γ, α, β на поверхности клетки	В основном экспрессируются TCR α, β
Маркер	Фермент ТдТ	ТдТ, CD2, CD7 (CD1) Двойные отрицательные	ТдТ, CD1, CD2, CD3, CD5, CD4 и CD8 Двойные положительные	Т _H : CD2, CD5, CD7, CD3, CD4 Т _C : CD2, CD5, CD7, CD3, CD8 Одинарные позитивы

В составе $\alpha\beta$ T-клеток выявляют 4 субпопуляции:

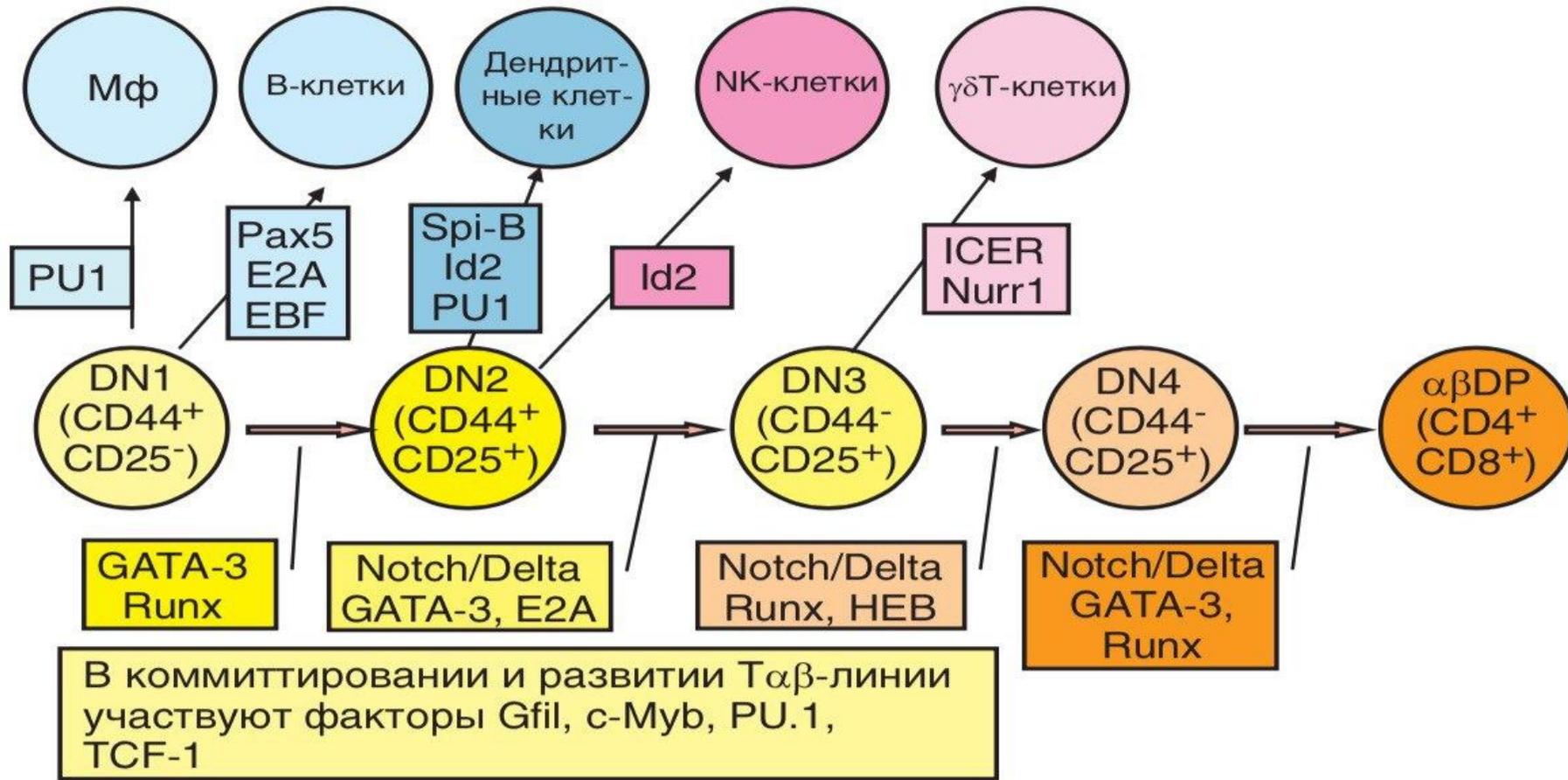
1. $CD8^+$ T-лимфоциты выполняют функции цитотоксических клеток, что и определило их название — цитотоксические T-лимфоциты, или T-киллеры.
2. $CD4^+$ T-клеток относят к T-хелперам, поскольку T-хелперы поставляют вспомогательные сигналы при активации B-лимфоцитов и макрофагов. Взаимодействие T-хелперов с дендритными клетками служит пусковым событием T-зависимого иммунного ответа.
3. Субпопуляция естественных регуляторных T-клеток – T рег $CD4^+CD25^+FOXP3^+$. Их основная функция — предотвращение реакции других T-клеток на аутоантигены, а также ограничение (супрессия) любых форм иммунного ответа.
4. NKT-клетки $CD3^+CD56^+$ на поздних этапах развития приобретающие признаки NK-клеток. В результате они коэкспрессируют ключевые маркеры T- и NK-клеток: на их поверхности представлены комплекс TCR–CD3 и типичные молекулы NK-клеток CD56 и CD16, а также ингибирующие (KIR, NKRG2) и активирующие (NKG2D) рецепторы.

В развитие $\alpha\beta$ T-клеток выделяют следующие стадии:

- Миграция в тимус клеток-предшественников;
- Развитие дважды отрицательных тимоцитов и перестройка генов T-клеточного рецептора;
- Положительная селекция;
- Отрицательная селекция;
- Дифференцировка CD4+ и CD8+ тимоцитов.

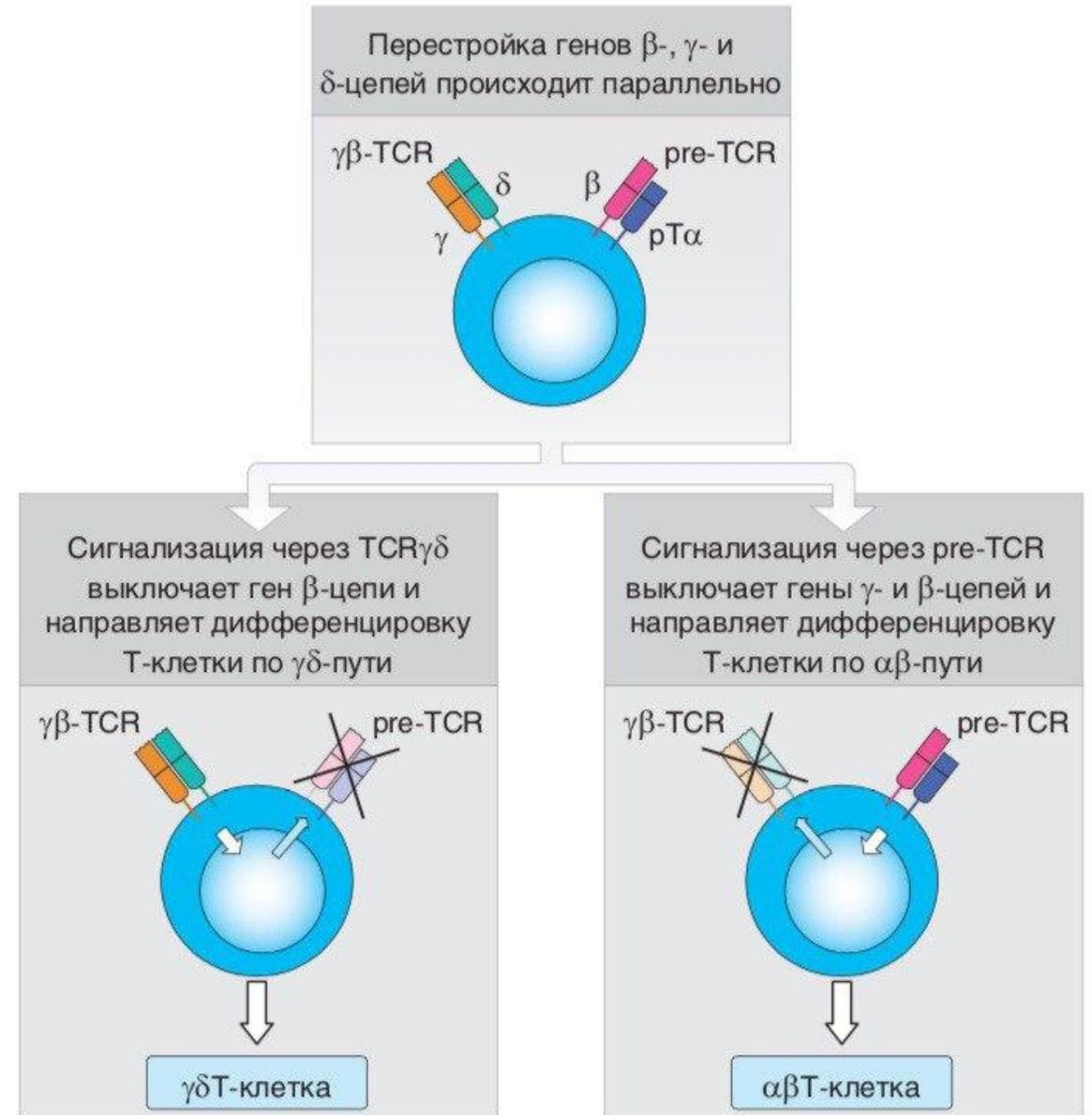
В тимус мигрируют ранние лимфоидные предшественники (ELP) — клетки, находящиеся на более ранней стадии развития, чем общий лимфоидный предшественник CLP. Фенотипически эти клетки можно охарактеризовать как CD34+ SCA-1+ CD117 (c-Kit)+ Flt-3+ CCR9+ CD4lo.

Это, в частности, проявляется способностью ELP дифференцироваться как в лимфоидные, так и в миелоидные клетки. По мере развития тимоцитов в тимусе эта полипотентность сужается и затем утрачивается.



Самые ранние CD44⁺ CD25⁻ тимоциты локализуются в перимедуллярной зоне коры тимуса. Они представляют собой полипотентные кроветворные предшественники. На стадии DN1 клетки активно пролиферируются. Это наиболее продолжительный этап развития T-клеток. Основной ростовой фактор на этом этапе — SCF.

На стадии DN2 тимоциты перемещаются в сторону наружных слоев коры. Длительность стадии — 2 суток. Клетки продолжают пролиферировать уже преимущественно под действием IL-7. На этой стадии сигналы от Notch коммиттируют Т-клетки к дифференцировке в различные линии ($\gamma\delta$ или $\alpha\beta$) и экспрессируется ген, кодирующий pTCR α , — знак выбора $\alpha\beta$ -направления развития.



К концу фазы DN3 тимоциты приобретают фенотип CD44-CD25+. Длительность фазы DN3 до β -селекции составляет 2 сут, а период β -селекции — еще 1 сут.

На заключительном этапе фазы DN3 на клетках экспрессируется корецептор CD4.

После перестройки V-генов обеих цепей происходит сборка их продуктов и экспрессия «зрелого» TCR на поверхности клетки.

Селекция тимоцитов и формирование субпопуляций CD4+ и CD8+ клеток.

Дважды положительные клетки очень чувствительны к апоптозу. Для выживания дифференцирующимся Т-клеткам нужна поддержка микроокружения. Для нормального функционирования иммунной системы нужно, чтобы Т-клетки несли TCR, распознающие молекулы МНС, содержащие пептидные фрагменты антигенов.

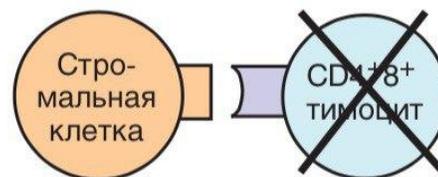
Положительной селекции подвергаются дважды положительные тимоциты фенотипа CD4+ CD8+ CD3^{lo} CD27⁻.

В качестве «отбирающего фактора» выступают кортикальные эпителиальные клетки, экспрессирующие цитокератин СК8 и молекулы МНС обоих классов, но лишенные костимулирующих молекул.

TCR тимоцитов взаимодействуют с молекулами МНС как I, так и II классов на эпителиальных клетках.

Если TCR обладает сродством к молекуле МНС, тимоцит получает поддерживающий сигнал. На поверхности экспрессируется маркера активации клетки CD69, а также молекул CD5, CD27 и костимулирующей молекулы CD28, сопровождаемая повышением плотности экспрессии рецепторного комплекса TCR–CD3 на поверхности клетки.

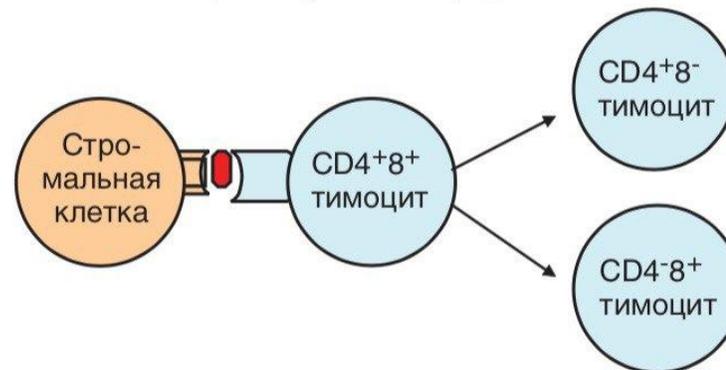
Отсутствие распознавания или распознавание со слабым сродством — апоптоз по умолчанию



Распознавание с высоким сродством — отрицательная селекция



Распознавание с промежуточным сродством — положительная селекция



Т-лимфоциты, рецепторы которых лишены сродства к МНС, подвергаются апоптозу «по умолчанию», т.е. не в силу сигнала извне, передаваемого через мембранные рецепторы, а вследствие срабатывания внутренних механизмов.

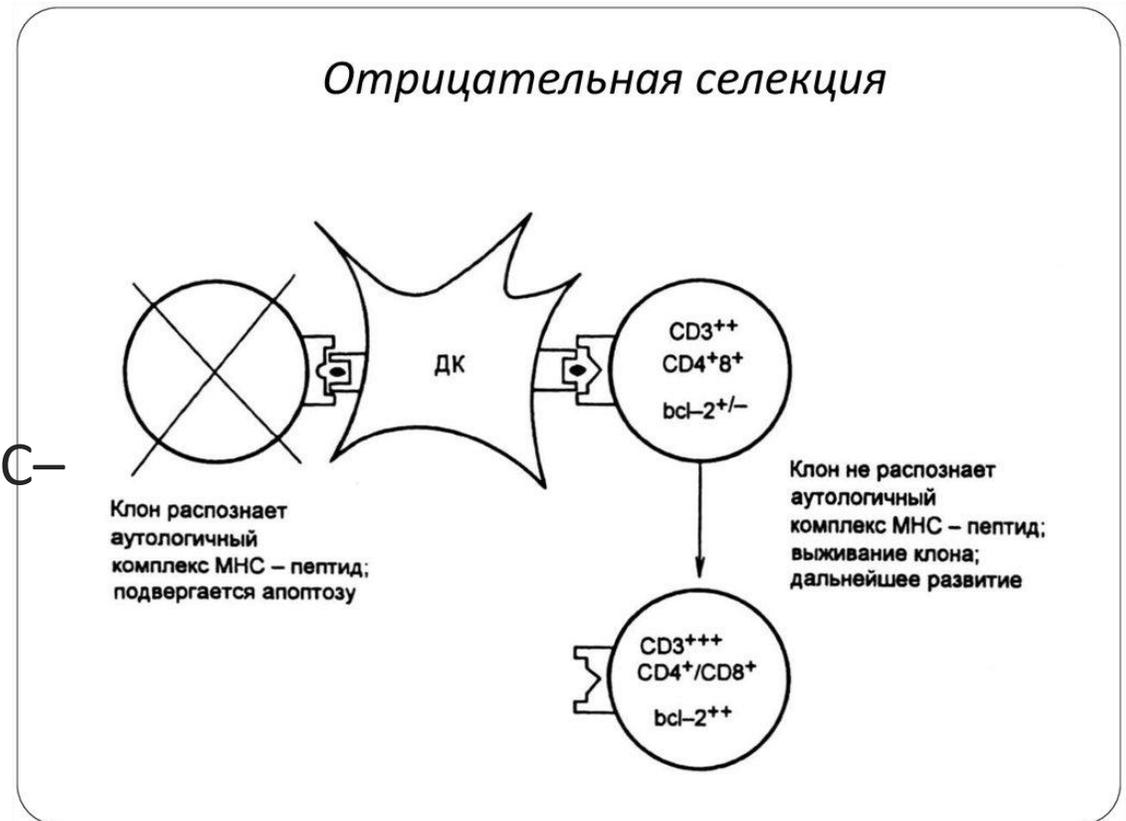
Поскольку сродством к молекулам МНС обладают ТСР лишь незначительной части клонов образующихся тимоцитов, на этапе положительной селекции погибает 90% CD4+ CD8+ тимоцитов.

Отрицательная селекция.

Тимоциты мигрируют в мозговой слой тимуса. Отрицательную селекцию осуществляют медуллярные дендритные и эпителиальные клетки, они экспрессируют молекулы МНС обоих классов и костимулирующие молекулы (CD80, CD86, CD40). На этом этапе происходит дискриминация тимоцитов по степени сродства к комплексу МНС–пептид.

Клетки, обладающие высоким сродством, подвергаются апоптозу как потенциально опасные, низким сродством- как не эффективные.

В результате сохраняются тимоциты, рецепторы которых обладают умеренным сродством к аутологичным комплексам МНС–пептид.

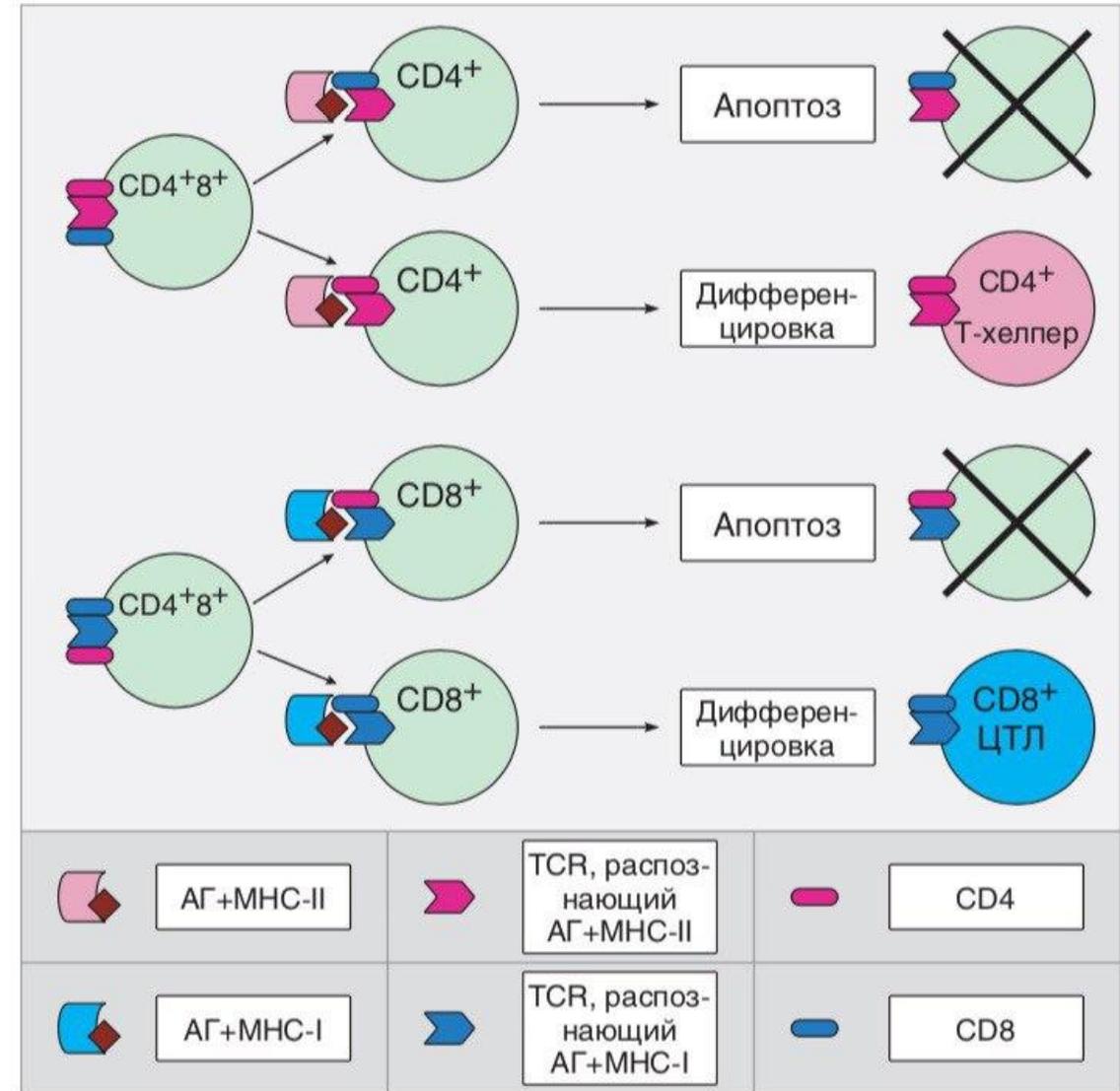


Дифференцировка CD4+ и CD8+ тимоцитов

Одновременно с селекцией тимоцитов происходит разделение их на субпопуляции С1 или CD8. Факторы влияющие на дифференцировку: сочетанная экспрессия в клетках факторов Th-POK и GATA-3 направляет клетку по CD4+-пути, тогда как экспрессия факторов Tox и Runx3 — по CD8+ пути.

Установлено, что на CD4+CD8+ клетках в определенный момент ослабляется экспрессия корецептора CD8 (фенотип CD4+CD8lo). Если TCR специфичен к MHC-II, как и доминирующий корецептор (CD4), то в клетке генерируется сильный сигнал, и она переходит на стадию CD4+CD8-.

Если TCR обладает более высоким сродством комплексу пептид–MHC-I, т.е. специфичность TCR и CD4 не совпадает, формируется слабый сигнал. Это приводит к усилению экспрессии C и утрате CD4, т.е. к развитию CD4-CD8+ Т-клеток.



После такой селекции путем подтверждения адекватности корцептора клетка приобретает функциональные свойства, соответствующие ее назначению.

CD8+ T-клетки (Т-киллеры) приобретают способность формировать цитолитический молекулярный комплекс, что обеспечивает функционирование такой Т-клетки в качестве цитотоксического Т-лимфоцита.

В CD4+ Т-лимфоцитах (Т-хелперах) формируются внутриклеточные механизмы, необходимые для выполнения «хелперной» функции, прежде всего — способность активно вырабатывать цитокины при активации.

Название	TCR	Корецепторы	Распознаваемые лиганды	Локализация, содержание	Функции
Т-хелперы	$\alpha\beta$ TCR	CD4 ⁺ CD8 ⁻	Пептид–МНС-II	Кровь (35–40%), лимфатические узлы (30–40%), селезенка (20–25%), тимус (8–10%), кожа, слизистые	Предшественники Т-хелперов
Т-киллеры		CD4 ⁻ CD8 $\alpha\beta$ ⁺	Пептид–МНС-I	Кровь (20–25%), лимфатические узлы (15–20%), селезенка (10–15%), тимус (4–5%), слизистые, кожа	Предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов
Дважды положительные (DP)		CD4 ⁺ CD8 ⁺	Нет данных	Кровь (около 1%)	Нет данных
Дважды отрицательные (DN)		CD4 ⁻ CD8 ⁻	Нет данных	Печень, брюшная полость, костный мозг	Нет данных
NKT-клетки		CD4 ^{+/+} CD8 ⁻	Липид–CD1d	Печень (>10%), селезенка, слизистые	Первая линия защиты — источник IFN γ
Регуляторные Т-клетки		CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD25 ^{hi}	Пептид–МНС-II	Кровь (5–6%), лимфатические узлы, селезенка, тимус (3–6%), слизистые, нелимфоидные органы	Предотвращение аутоагрессии, иммунорегуляция
$\gamma\delta$ Т-клетки	$\gamma\delta$ TCR	CD4 ⁻ CD8 ⁻	Фосфопротеины и др.	Лимфатические узлы, селезенка, кровь (2–3%), тимус (1%), слизистые, кожа (до 20%)	Первая линия защиты, иммунорегуляция
CD8 $\alpha\alpha$ -клетки		CD4 ⁻ CD8 $\alpha\alpha$ ⁺	Вероятно, пептид–Qa-1/TL	Слизистые, особенно кишечника	Первая линия защиты, иммунорегуляция

Естественные субпопуляции периферических Т-лимфоцитов

Развитие Т-клеток в тимусе длится около 20 сут. За это время, с одной стороны, происходит массовая (до 99%) гибель тимоцитов в процессе их созревания (главным образом, на разных этапах селекции), а с другой — пролиферация выживших клеток с образованием клонов. В зрелом возрасте из тимуса ежедневно эмигрируют Т-клетки в количестве, равном 1% от общей численности тимоцитов. Помимо рассмотренных выше субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов в тимусе дифференцируются «неклассические» субпопуляции Т-клеток.

Т-цитотоксические лимфоциты CD8ab

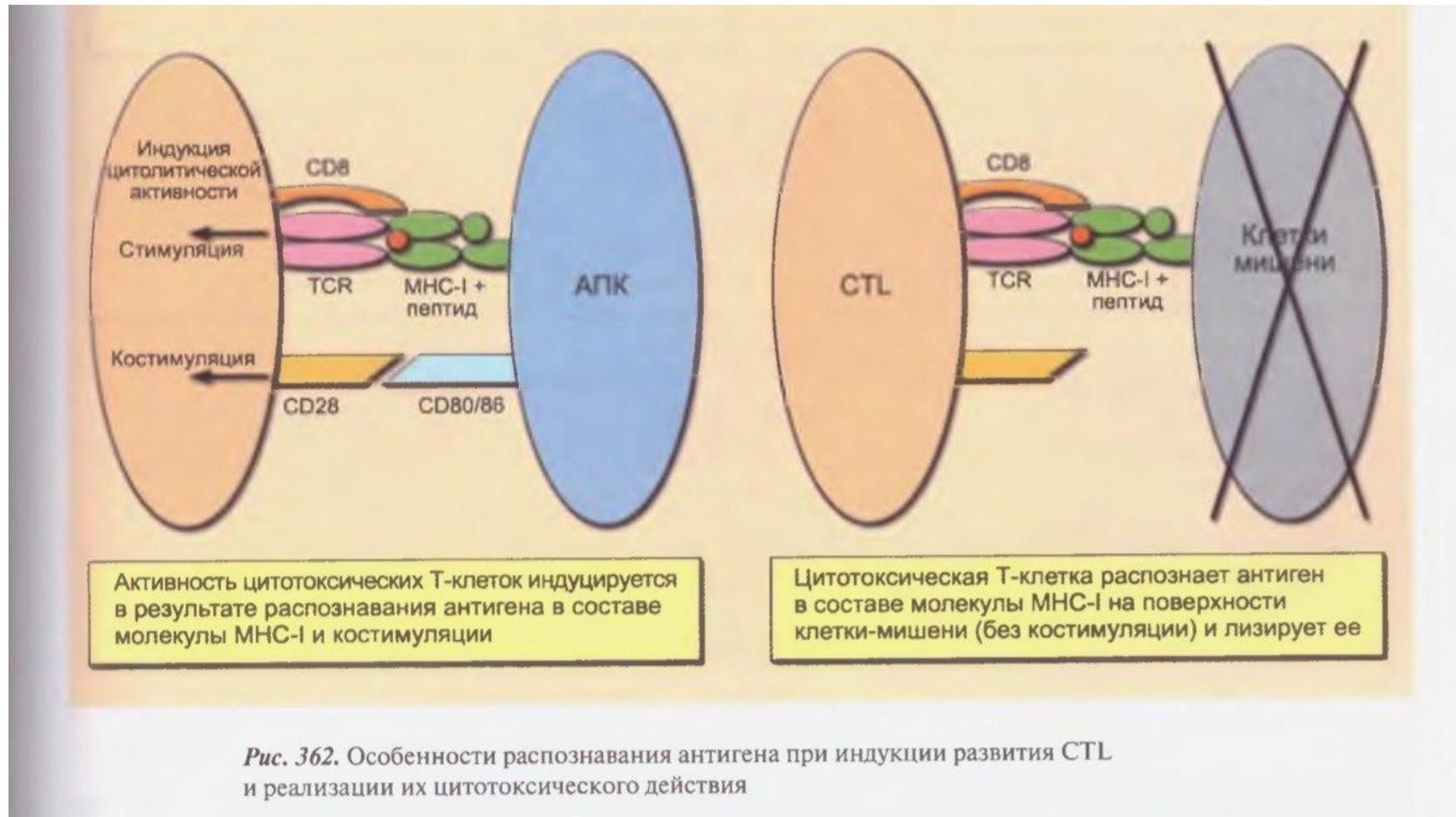
Цитотоксические Т-лимфоциты. Наивные CD8 Т-клетки являются предшественниками Тс-лимфоцитов. Они не проявляют цитотоксической активности не экспрессируют IL-2R и не синтезируют IL-2.

После контакта с дендритной клеткой, презентирующей антиген в составе MHC-I, на поверхности этих лимфоцитов появляются IL-2R, и запускается продукция IL-2. Однако уровень синтеза IL-2 обычно невысок. Его недостаточно для аутоиндукции пролиферации и дифференцировки. Поэтому для реализации цитотоксического ответа необходимо участие специфических к антигену Th1-клеток основного источника IL-2.

Кроме того, Th1-клетки через продукцию IFN γ дополнительно активируют антигенпрезентирующие клетки и макрофаги, которые, в свою очередь, синтезируя IL-12, не только поддерживают Th1-ответ, усиливают клональную экспансию CD8 Т-клеток, и подключают в реакцию NK-лимфоциты.

Важную роль в активации и дифференцировке CD8 Т-клеток играют плазмацитоидные дендритные клетки, реализующие свои эффекты через интерфероны I класса (IFN-a/B).

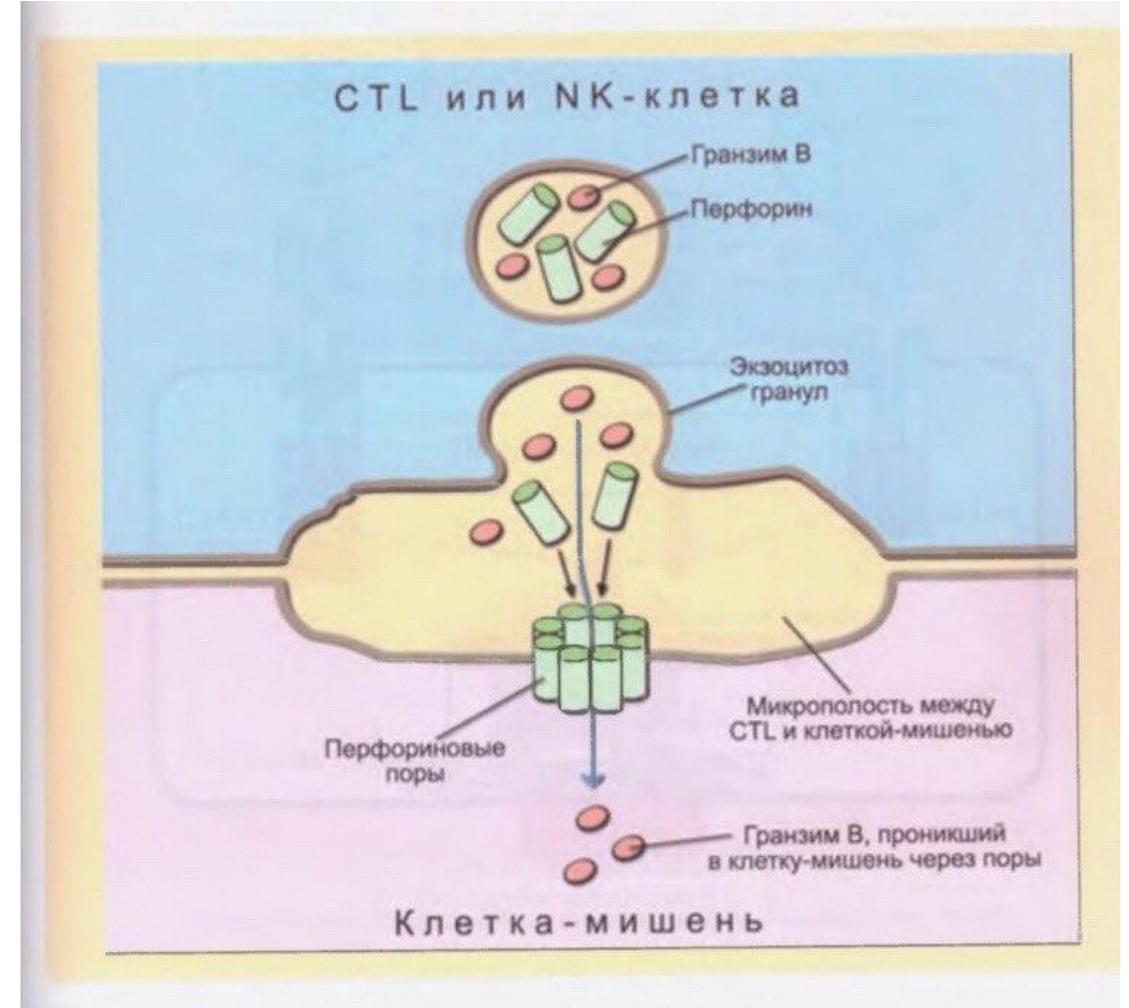
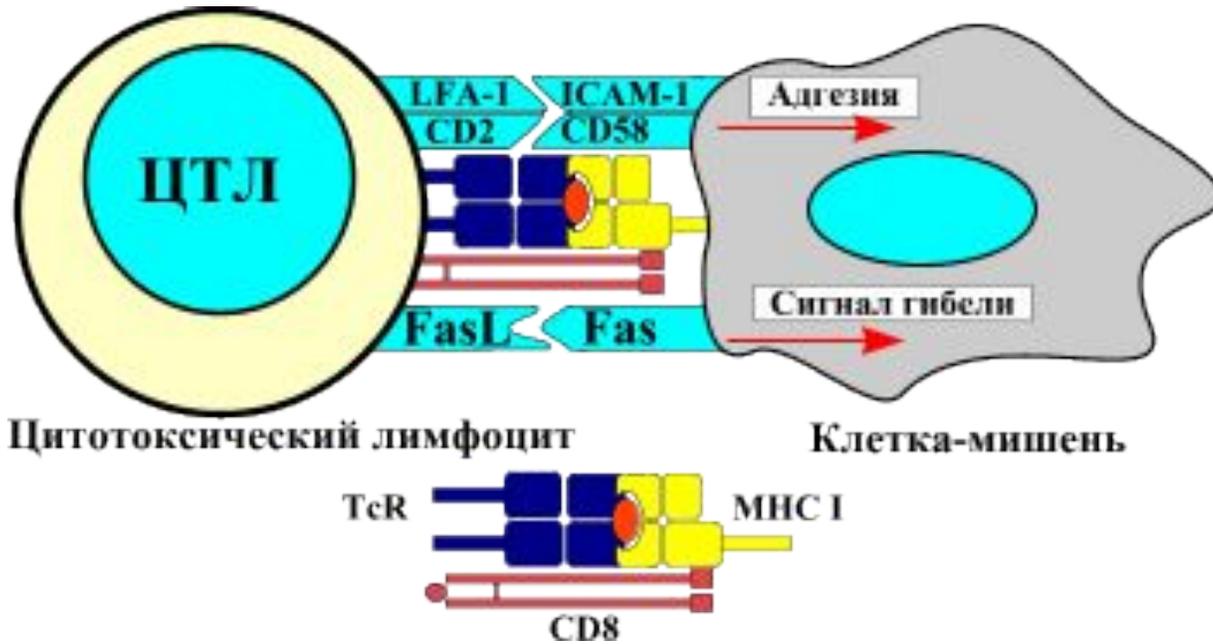
Действие Тс-лимфоцитов направлено, главным образом, против вирус-инфицированных и опухолевых клеток. Пролиферация антигенспецифичных клонов является необходимым процессом обеспечивающим эффективность цитотоксического иммунного ответа.



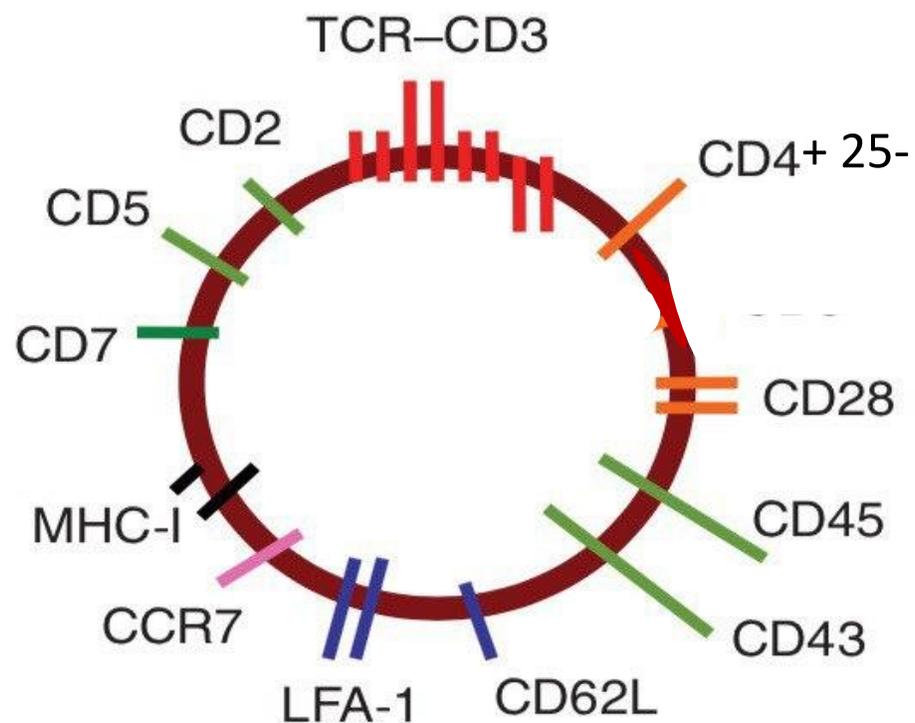
Однако накопление клеточных эффекторов занимает период в 5-7 дней. Это и определяет подключение на ран лимфоцитов, пик активности них этапах инфекции которых обычно наблюдается на 2-3 сутки В период дифференцировки Тс-клетки начинают экспрессировать перфорин и гранзимы, а также FasL.

Параллельно с эффекторными Тс-лимфоцитами происходит формирование и дифференцировки эффекторные Тс-лимфоциты покидают лимфатические узлы и мигрируют в зону воспаления. Возможность их возвращения в лимфоидные органы существенно ограничена в связи с потерей в процессе созревания мембранных структур: CCR7, CD62L и сфингозин-1-фосфатного рецептора. Вместе с тем на поверхности Тс-клеток появляется VLA-4 и хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR5, обеспечивающие их проникновение в воспалительный очаг.

Уничтожение клеток-мишеней Тс-лимфоциты осуществляют преимущественно двумя путями: с использованием перфорингранзимового механизма и через Fas-FasL взаимодействие.



T-хелперы CD4+ CD25-



T-клетка хелпер

T-лимфоциты, главной функцией которых является усиление адаптивного иммунного ответа.

Активируют T-киллеры, В-лимфоциты, моноциты, NK-клетки, презентируя им фрагменты чужеродного антигена при прямом контакте, а также гуморально, выделяя цитокины.

Основным фенотипическим признаком T-хелперов служит наличие на поверхности клетки молекулы CD4.

T-хелперы распознают антигены при взаимодействии их T-клеточного рецептора с антигеном, связанным с молекулами главного комплекса гистосовместимости 2 класса (MHC-II).

Дифференцировка Т-хелперов

Под влиянием активации в результате изменений структуры хроматина гены цитокинов становятся доступными для регулирующих сигналов, под влиянием которых выявляют минимальный уровень экспрессии многих из этих генов. На этом этапе CD4+ Т-клетки обозначаются как Th0-клетки.

Помимо IL-2, обеспечивающего пролиферативную экспансию, но уже в процессе деления CD4+ Т-клеток запускается процесс их дифференцировки на субпопуляции.

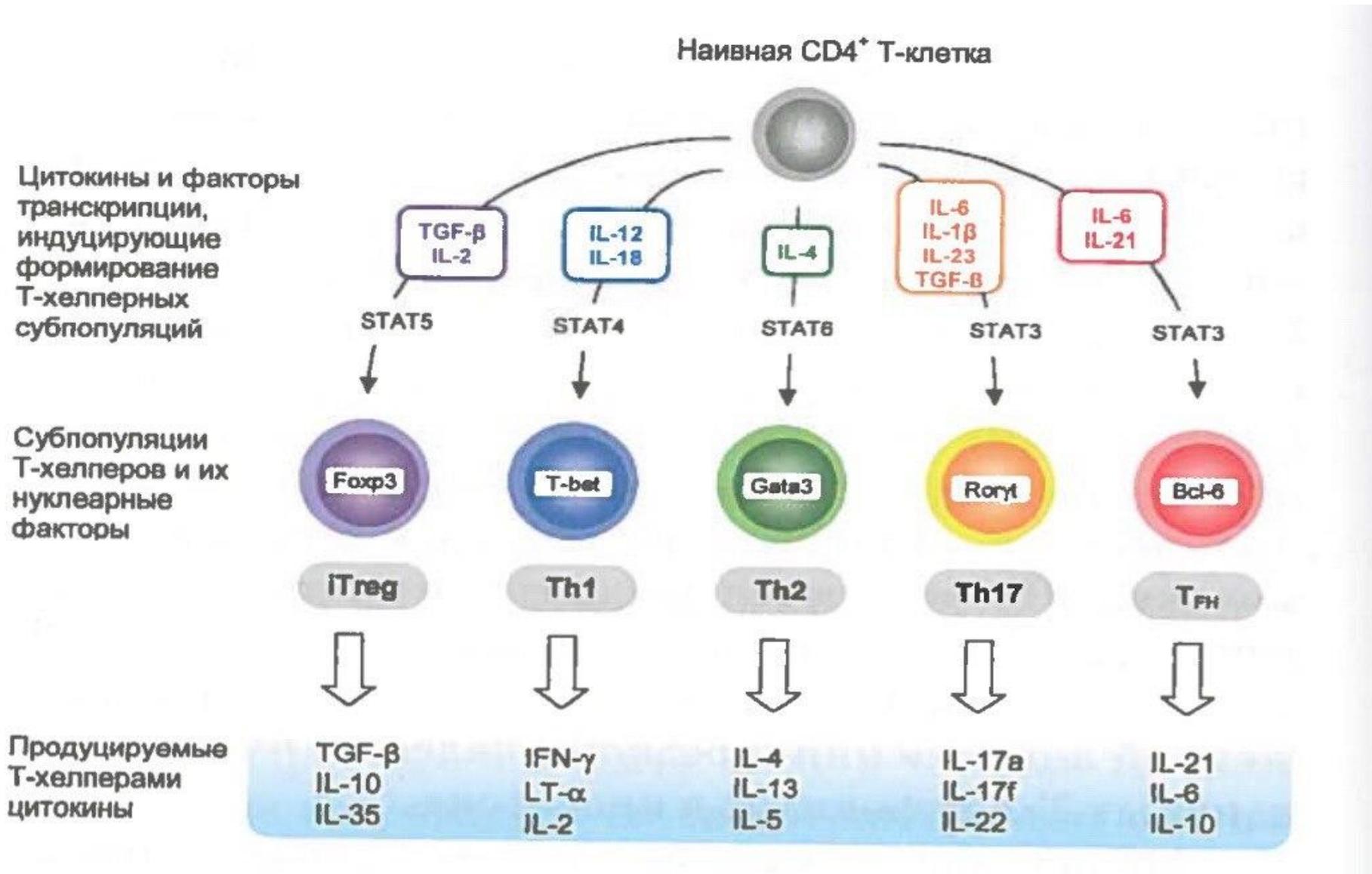
Такие субпопуляции называют адаптивными, поскольку они образуются в ходе адаптивного иммунного ответа на антигены, в отличие от естественных субпопуляций, формирующихся в ходе антигеннезависимой дифференцировки Т-клеток.

Ранее других образуются 2 субпопуляции Т-хелперов — **Th1 и Th2**.

Адаптивные субпопуляции Т-хелперов

Показатель	Th1	Th2	Th17
Типичные индукторы	Внутриклеточные патогены (например, микобактерии)	Паразиты, аллергены	Внеклеточные патогены
Факторы, благоприятствующие развитию	Высокие и низкие дозы антигены, релаксан, дигидроэпиандростерон, полный адьювант Фрейнда	Промежуточные дозы антигена, глюкокортикоиды, простагландин E2, гистамин, прогестерон, дигидрооксивитамин D, алюминиевые квасцы	Презентация антигена дендритными клетками и макрофагами, стимулированными через TLR или CD40
Цитокины-индукторы	IL-12, IFN γ , IL-18, IL-23, IL-27	IL-4	IL-6, IL-23, TGF β
Дифференцировочные факторы	Tbet	GATA-3	ROR-C
Продуцируемые цитокины	IFN γ , IL-2, TNF α , TNF β	IL-4, IL-5, IL-13, IL-6, IL-9, IL-10	IL-17, IL-22, IL-21
Клетки — функциональные партнеры	Макрофаги	В-клетки, эозинофилы	Нейтрофилы
Защитная функция	Защита от внутриклеточных патогенов, локализующихся в цитоплазме	Защита от паразитов и внеклеточных патогенов	Защита от внеклеточных патогенов
Повреждающая роль	Развитие клеточных аутоиммунных процессов	Развитие аллергии	Развитие аутоиммунных процессов

За дифференцировку Th-клеток отвечают цитокины



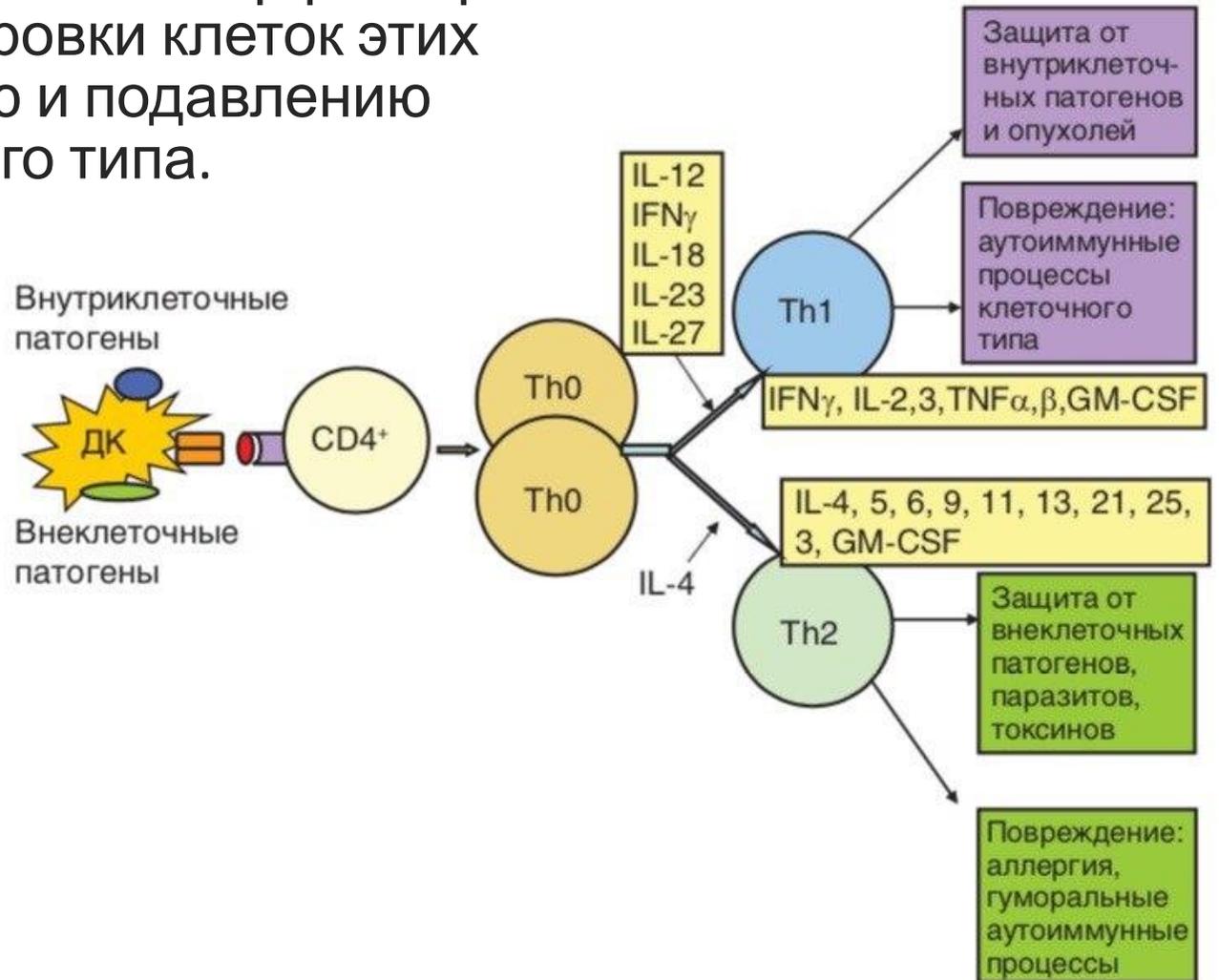


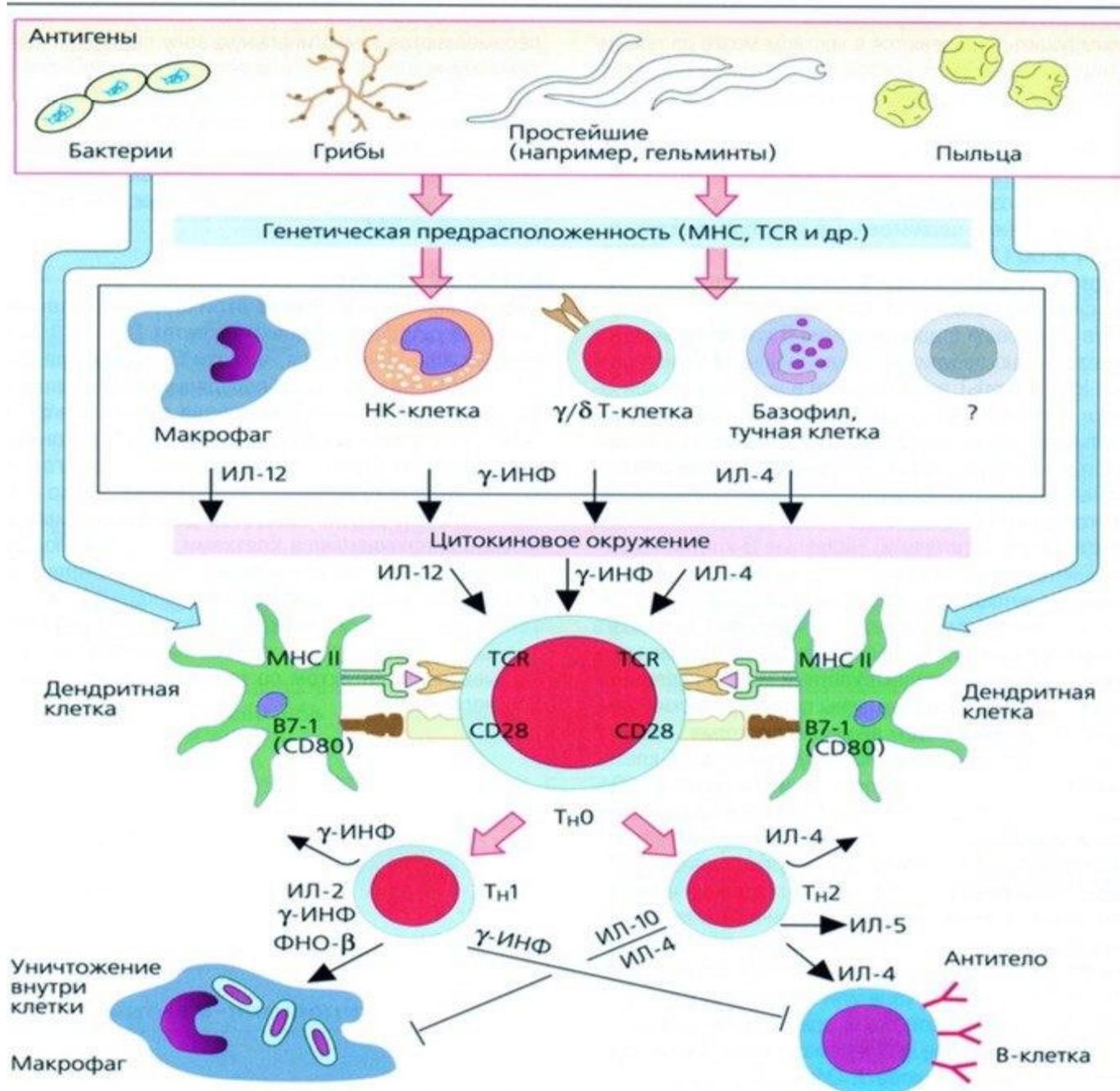
Различие спектра гуморальных продуктов, прежде всего ключевых цитокинов Th1- и Th2-клеток (соответственно IFN γ и IL-4) определяет основную направленность иммунного ответа в направлении клеточной или гуморальной защиты.

Только соответствие направления дифференцировки Т-хелперов (а следовательно, типа ответа) природе патогена делает эту защиту эффективной.

Среди этих цитокинов выделяют ключевые для Th1- и Th2-клеток, поскольку они не просто специфичны для них, но и причастны к выполнению их основных эффекторных функций, индукции дифференцировки клеток этих субпопуляций, самоподдержанию и подавлению развития клеток противоположного типа.

Для Th1-клеток таким цитокином является $IFN\gamma$
для Th2-клеток — IL-4.





А. Дифференцировка клеток Т_{H1} и Т_{H2}

Факторы запускающую дифференцировку Th1- и Th2-клеток: первый поступает через TCR и «сообщает» о распознавании антигена в комплексе с молекулой МНС. Вторым сигналом поставляют цитокины.

Развитию Th1-клеток способствуют крайние (очень высокая и очень низкая) дозы антигена и его высокое сродство к рецептору, а развитию Th2-клеток — промежуточные дозы антигена и более низкое его сродство к рецептору.

Th1- лимфоциты

Они активны в отношении внутриклеточных микроорганизмов. Включая пролиферацию наивных CD8+ Тс- лимфоцитов (IL-2) и активируя макрофаги (IFN- γ) они запускают цитотоксические и противовоспалительные реакции.

Активированные макрофаги, продуцируя IL-12 поддерживают Th1 ответ.

При этом IFN- γ подавляет формирование Th2- и Th17 – лимфоцитов и направляет В- лимфоциты на формирование IgG-антител.

Th2- лимфоциты

Дифференцировка Th2-лимфоцитов приводит к индукции антипаразитарного иммунитета.

Продукция IL-5 приводит к развитию эозинофилии.

IL-4 и IL-13 запуск синтеза IgE, усиление секреции слизи эпителиальными клетками и повышение сократительной активности миоцитов.

В конечном итоге приводит к ослаблению паразитов и их изгнанию.

IL-4 и IL-10 блокирует функции Th1- и Th17 – лимфоцитов.

Th-17 лимфоциты

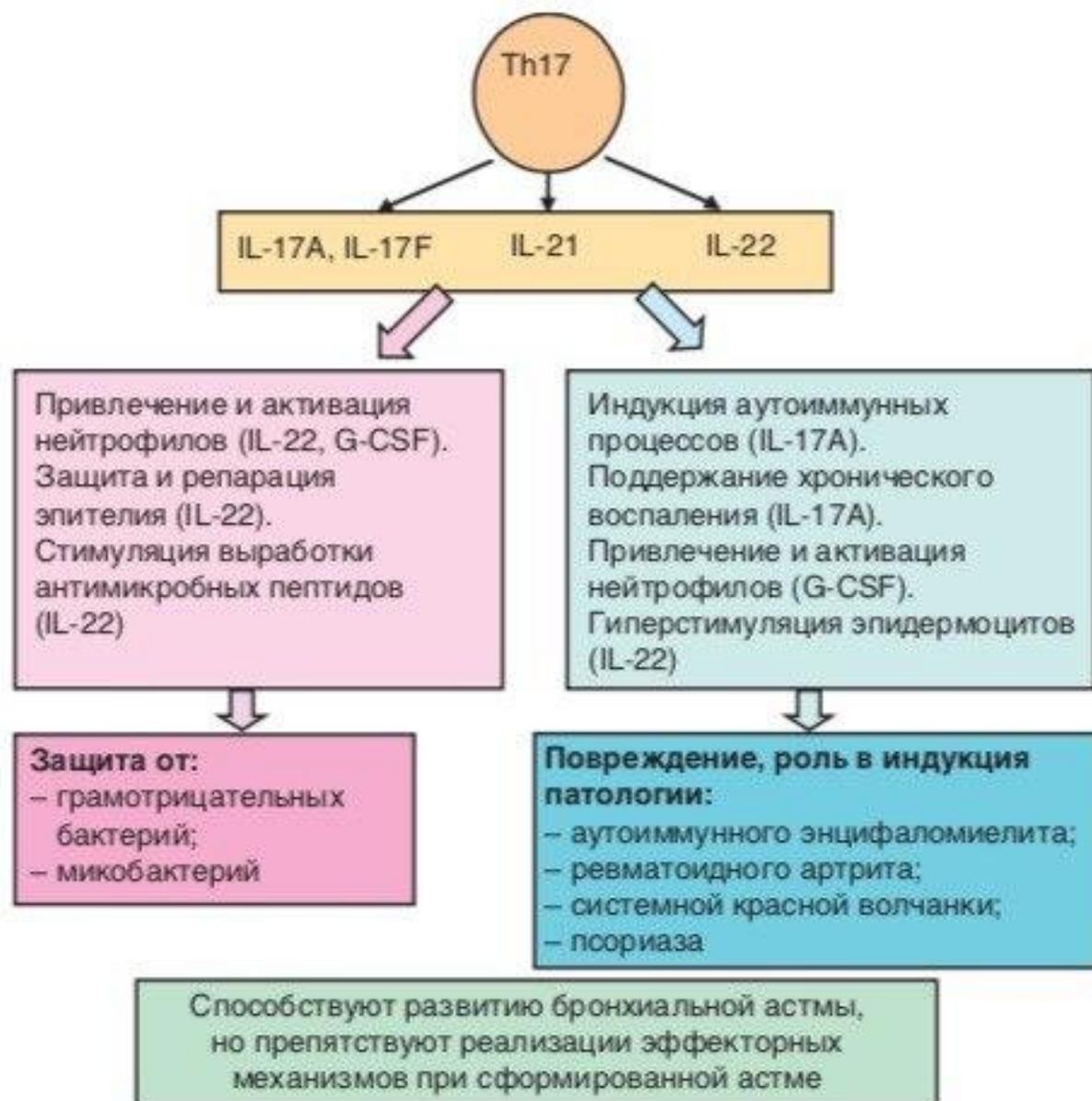
Образование Th17-клеток преимущественно направлено против ряда внеклеточных микроорганизмов (бактерий и грибов) и сопровождается включением выраженной воспалительной реакции.

Продуцируемый этими клетками IL-17 стимулирует созревание и хемотаксис нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов.

IL-22 действует на клетки эпителия, вызывая его гиперплазию и синтез антибактериальных протеинов, вызывает потерю массы тела, атрофию тимуса, нейтрофильный лейкоцитоз, усиливает образование в печени фибриногена и сывороточного амилоида А.

Защитные эффекты Th17-лимфоцитов установлены в отношении *Klebsiella pneumoniae*, *Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Pneumocystis carinii*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* (привлечение Th1 клеток).

Способность давать выраженную воспалительную реакцию определила участие клеток в аутоиммунных процессах.



T_{FH} -лимфоциты

Субпопуляция фолликулярных хелперов (T_{FH}) не только оказывает помощь В-лимфоцитам при развитии гуморального иммунного ответа, но также обеспечивает самоподдержание, координированную работу фолликулярных дендритных клеток герминативных центров и формирования В-клеточной памяти.

T_{FH} -лимфоциты (CXCR5) после контакта с антигенпрезентирующей клеткой под влиянием CXCL13 смещаются в первичные фолликулы кортикальной зоны лимфатического узла.

Здесь они стимулируют пролиферацию антигенспецифичных В-клеток, контролируют переключение в них синтеза классов иммуноглобулинов, способ создания развития иммунологической памяти. Образуемые ими цитокины IL-6, IL-21, IL-4, IL-10 не являются специфичными для этой субпопуляции. CXCR5+, PD-1+, ICOS+, CD200+.

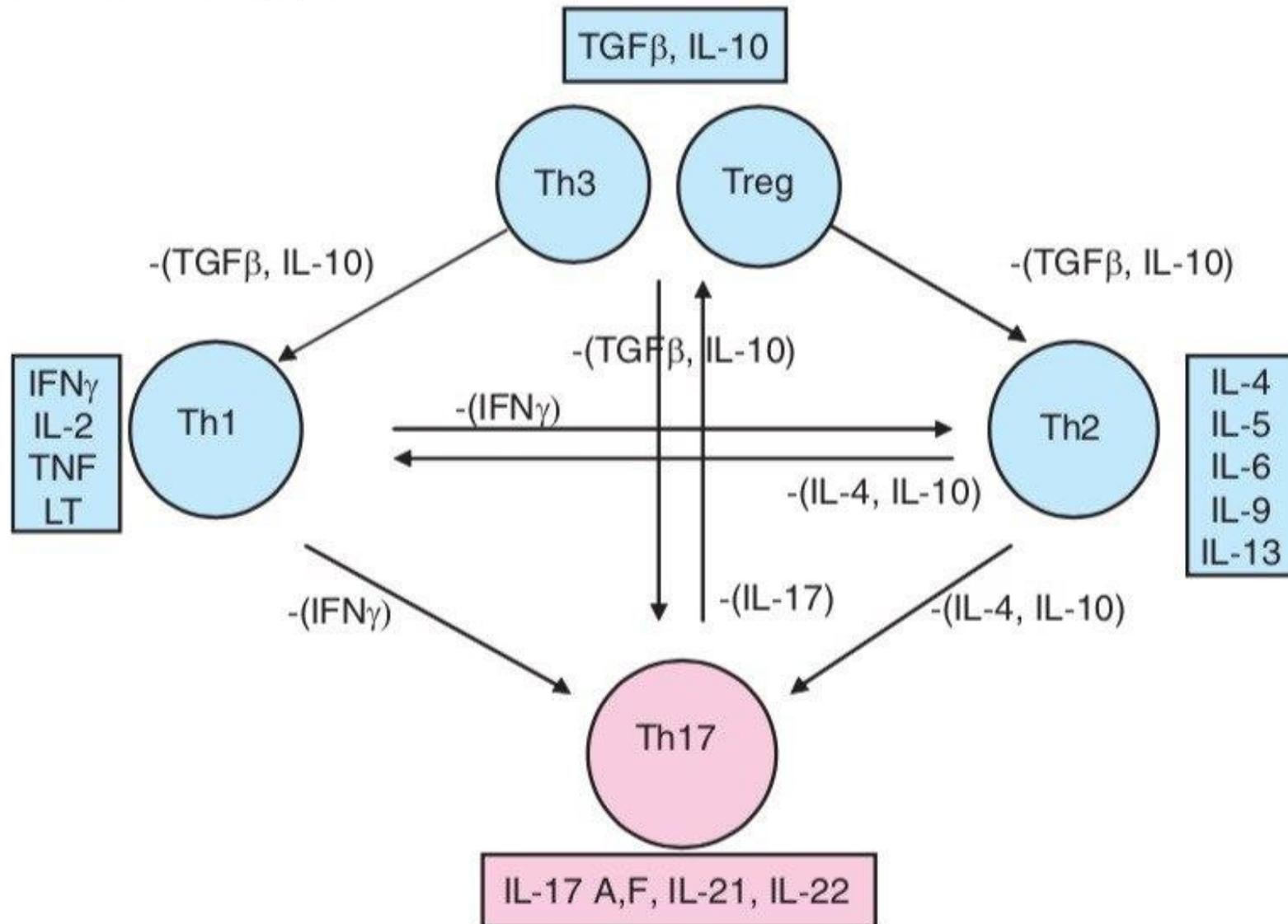
iTreg- лимфоциты

Еще одна субпопуляция, развивающаяся из наивных CD4 T-клеток iTreg. Она занимает особое место, так как не является хелперной.

iTreg отличаются также от натуральных Treg, образующихся в тимусе. Их базовый фенотип (CD4+ CD25+ Foxp3+) совпадает, но iTreg формируются только во вторичных лимфоидных органах в период развития иммунного ответа.

Их супрессорная функция реализует через секрецию TGF-В и IL-10, IL-35 обеспечивает самоподдержание.

Взаимоотношение адаптивных субпопуляций Т-хелперов



T_{рег}-лимфоциты CD4+ CD25^{hi}

Естественные регуляторные Т-клетки (T_{рег}). Они выполняют супрессорные функции, и их главная задача — предотвращение развития аутоиммунных процессов.

У человека регуляторные Т-клетки имеют мембранный фенотип CD4+CD25^{hi}CTLA-4+GITR+PD-1+.

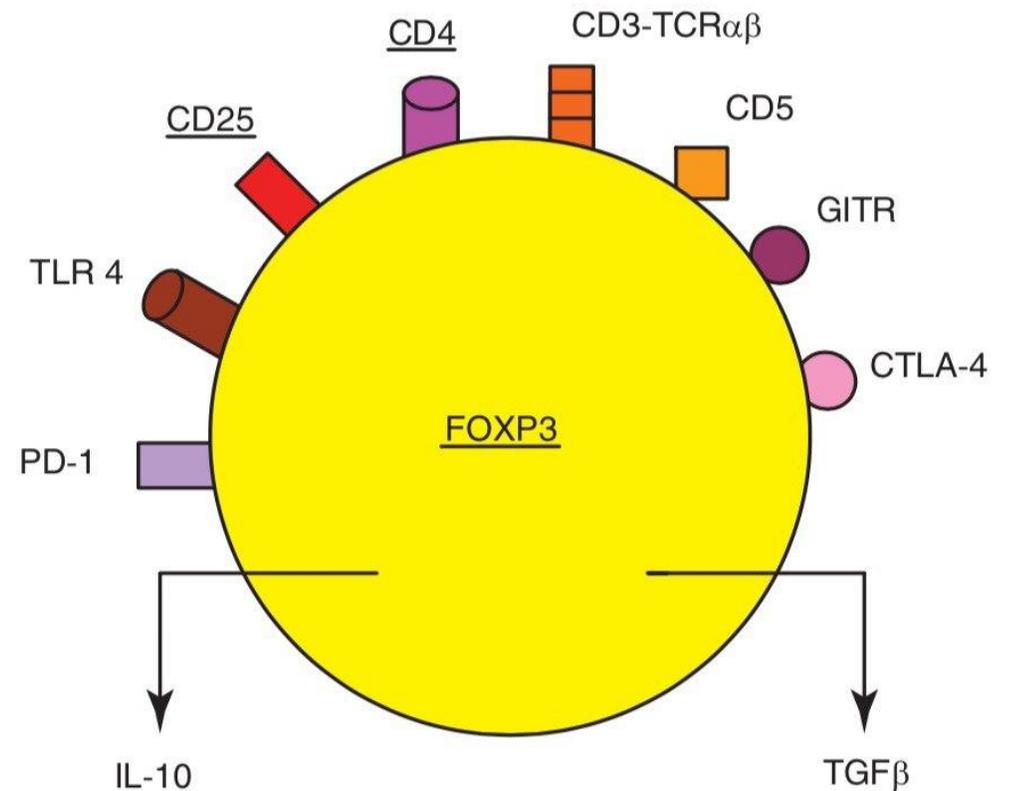
Регуляторные Т-лимфоциты эмигрируют из тимуса в составе популяции зрелых Т-клеток.

CD4+CD25^{hi} Т-лимфоциты составляют 5% от числа тимоцитов и 3–5% от числа периферических лимфоцитов (5–7% от числа CD4+ Т-клеток), т.е. 0,02–0,06×10⁹ клеток на 1 литр крови.

Экспрессия белка FOXP3 регистрируется на несколько большем (10–12%) числе Т-лимфоцитов крови.

Таким образом, регуляторные Т-клетки сильно экспрессируют α -цепь рецептора для IL-2 (CD25), что отличает их от активированных Т-хелперов, несущих меньшее число молекул CD25.

Кроме того, на их поверхности присутствуют супрессорные аналоги костимулирующих молекул CTLA-4 и PD-1 и представитель семейства TNFR — GITR. Регуляторные Т-клетки экспрессируют более широкий спектр мембранных TLR, чем другие Т-клетки.



Показано, что супрессорная активность CD4+ регуляторных Т-клеток связана с транскрипционным фактором FOXP3 (скурфин).

мутации гена FOXP3 сопровождаются утратой регуляторными Т-клетками супрессорной активности, а трансдукция гена FOXP3 в CD4+ CD25- клетки приводит к появлению у них супрессорной активности, усилению экспрессии CD25 и CTLA-4.

В то же время FOXP3 в норме экспрессируется в некоторых CD4+CD25-Т-клетках, также проявляющих супрессорную активность.

Развитие Т-регуляторных клеток

Естественные регуляторные Т-клетки развиваются преимущественно в тимусе. Необычность их дифференцировки состоит в приобретении ими супрессорных свойств, определяемых экспрессией гена *FOXP3*, а также сохранением способности распознавать аутоантигены с высокой степенью сродства (т.е. эти клетки не проходят отрицательной селекции).

Первое проявление дифференцировки состоит в экспрессии высокоаффинного рецептора для IL-2, индуцируемой при взаимодействии с эпителиальными клетками кортикальной зоны (т.е. во время положительной селекции).

Дифференцировочный сигнал вырабатывается при взаимодействии Notch-3, экспрессируемого тимоцитами, с его лигандом Jagged 1/2 эпителиальных клеток.

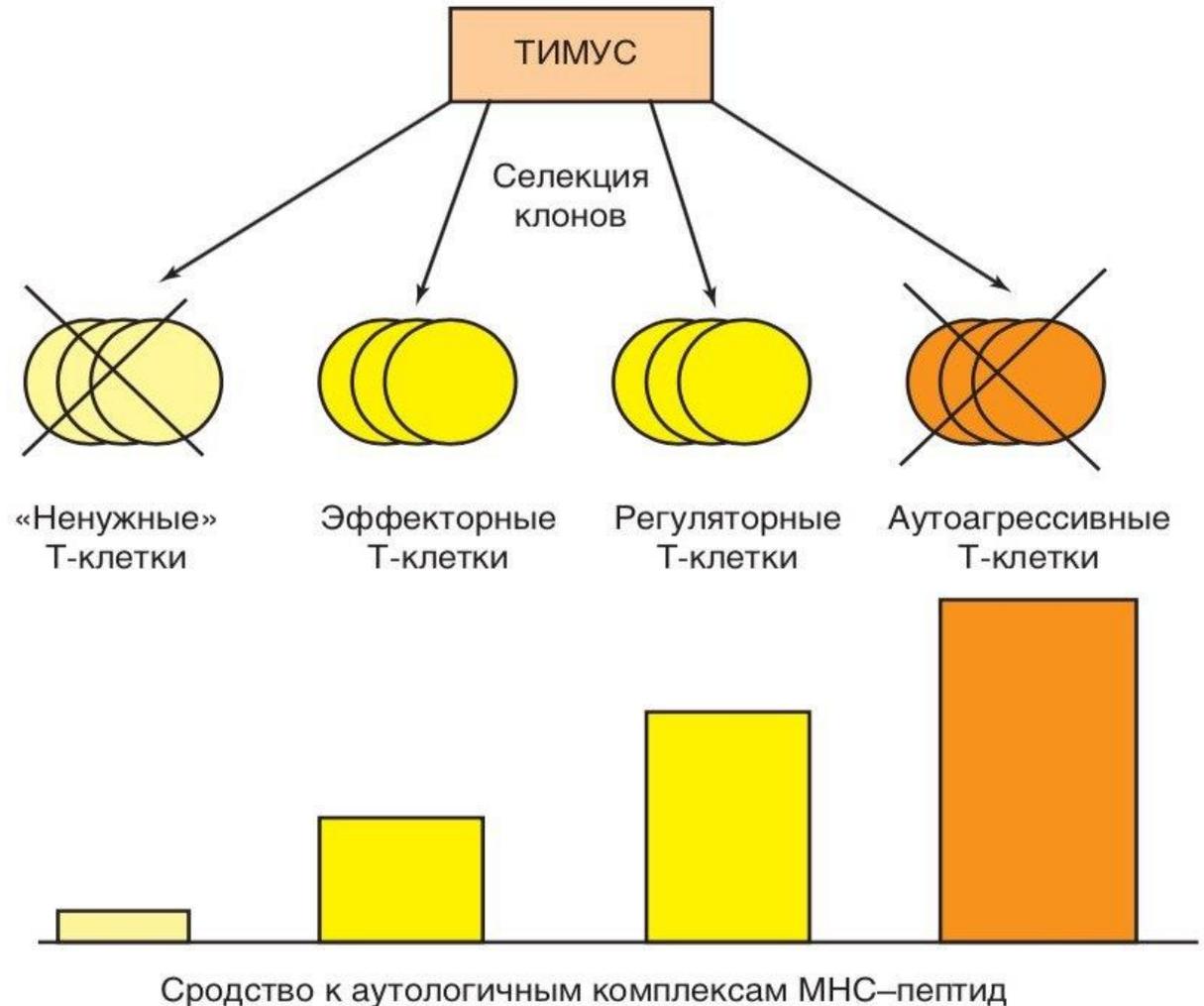
При действии IL-2, секретлируемого зрелыми CD4+CD8- Т-лимфоцитами и стромальными клетками, на IL-2R тимоцитов индуцируется (при участии STAT5) экспрессия гена ***FOXP3***.

Стадии развития	Особенности регуляторных Т-клеток
Перестройка V-генов Т-клеточного рецептора	В 50–90% регуляторных Т-клеток экспрессируется две перестроенные α -цепи, т.е. есть два отличающихся по специфичности TCR. Спектр семейств β -цепей Т-клеточного рецептора в $CD4^+CD25^+$ и $CD4^+CD25^-$ Т-клетках в принципе сходен
Селекция	Положительная селекция клонов регуляторных Т-клеток осуществляется с помощью молекул МНС-II, несущих аутологичные пептиды. При мутациях генов, кодирующих МНС-II и AIRE, содержание Т-регуляторов значительно снижено. Отрицательная селекция регуляторных Т-клеток почти отсутствует: порог сродства Т-клеточного рецептора к аутоантигенам, индуцирующего апоптоз этих клеток, значительно выше, чем для других Т-клеток.
Адаптивная дифференцировка	Регуляторные Т-клетки при иммунном ответе дифференцируются под влиянием 3 типов стимулов: стимуляции антигеном (через Т-клеточный рецептор), активации толерогенными дендритными клетками и действием TGF β .
Факторы дифференцировки	В тимусе: FOXP3, IL-2, IL-2R α , STAT5, CD28, Jagged 1/2. На периферии: FOXP3, IL-2, IL-2R α , STAT5, TGF β , CTLA-4

Экспрессия FOXP3 делает клетки устойчивыми к апоптозу, в результате чего при контакте с дендритными и эпителиальными клетками. Выживают даже клетки, распознающие аутологичные пептиды с высокой степенью сродства.

В этом и состоит главная отличительная особенность селекции клонов регуляторных Т-клеток в тимусе, называемой агонистзависимой селекцией.

Именно поэтому у зрелых регуляторных Т-клеток сродство TCR к аутологичным антигенам выше, чем у других Т-лимфоцитов.

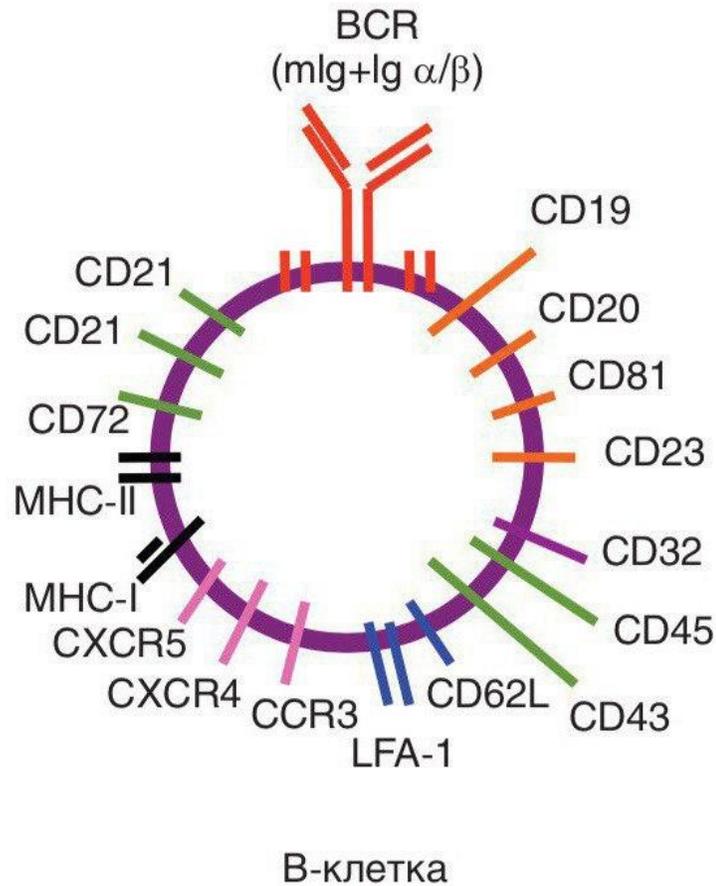


Функциональные особенности этих клеток гарантируют подавление активности аутореактивных эффекторных клеток, избежавших негативной селекции при развитии.

По завершении дифференцировки регуляторные Т-клетки начинают экспрессировать мембранные молекулы, важные для выполнения их функций (например, CTLA4, PD-1, GITR).

Кроме того, регуляторные Т-лимфоциты приобретают способность вырабатывать суперсборные цитокины (IL-10, трансформирующий фактор роста β).

В-лимфоциты

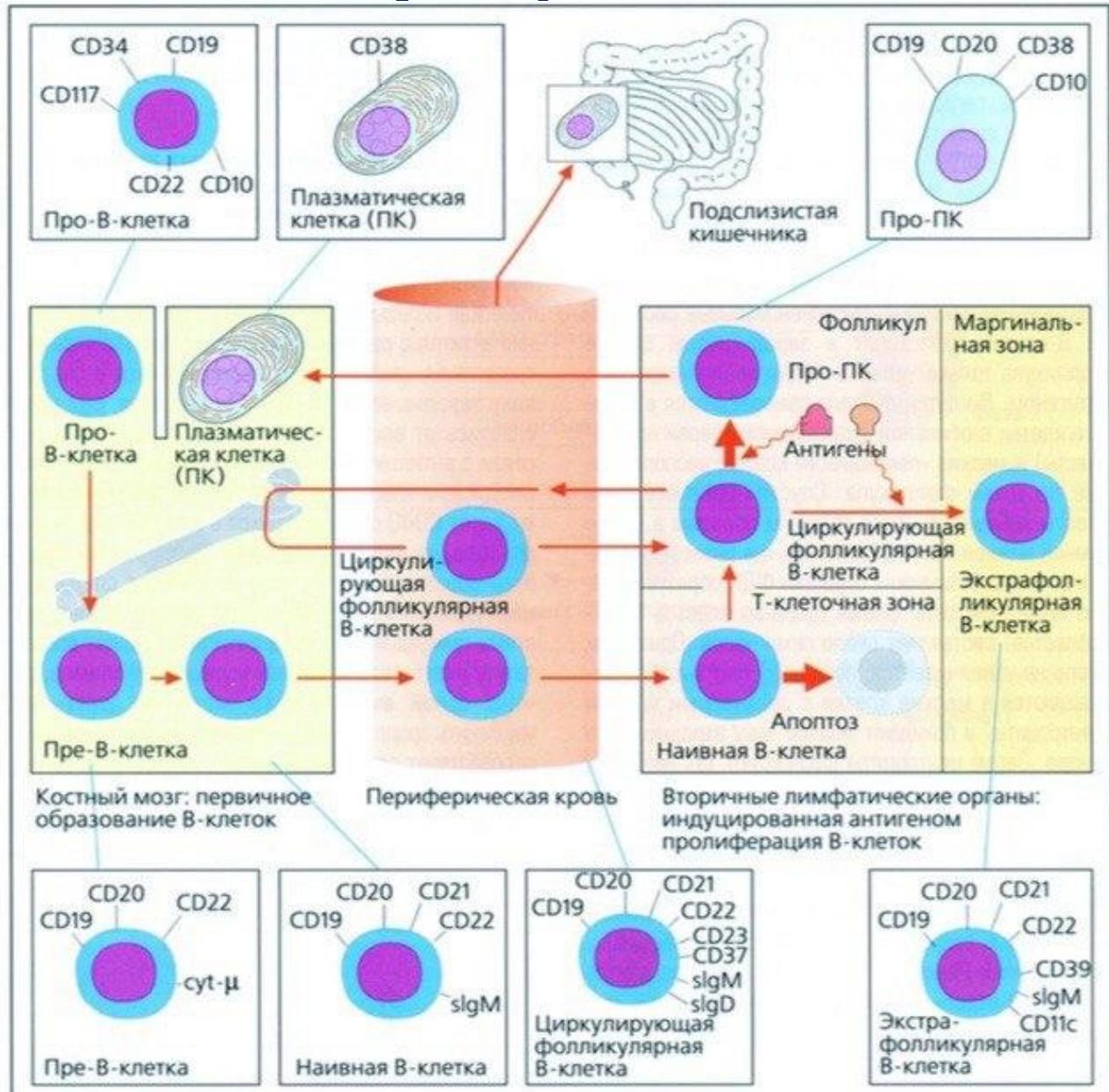


Основное свойство В-лимфоцитов — экспрессия иммуноглобулинового рецептора для распознавания антигенов — BCR. На поверхности зрелой В-клетки содержится около 150 000 комплексов BCR.

- На мембране зрелой наивной В-клетки, содержатся иммуноглобулины классов IgM и IgD.
- BCR входит также ряд молекул, относящихся к суперсемейству иммуноглобулинов: гетеродимеры, содержащие полипептидные цепи Igα (CD79a) и Igβ (CD79b) участвующие в передаче сигнала о связывании антигена внутрь клетки;
- CD19, CD21 (рецептор для компонента CR2) и CD81, в взаимодействии с антигеном между ними и В-клеточным рецептором устанавливается связь, и они вносят существенный вклад в усиление активационного сигнала, поступающего в клетку от рецептора.

- Так, В-клетки несут на поверхности молекулы МНС I и II класса, костимулирующие молекулы CD40, CD86, а при активации — CD80. Благодаря экспрессии этих молекул В-лимфоциты могут выполнять роль «профессиональных» АПК.
- В-клетки экспрессируют молекулы адгезии позволяющие им мигрировать из сосудов и перемещаться в тканях.
- Присутствие на их поверхности Fc-рецепторов (FcγRIIB — CD32) и уже упомянутых рецепторов для комплемента (CR2) в регуляции активности В-клеток играет большую роль, чем для выполнения ими эффекторных функций.
- В-клетки экспрессируют многочисленные рецепторы для цитокинов, из которых наиболее важны рецепторы для IL-4, IL-5, IL-6, IL-2, IL-1, IL-10 и некоторых других.
- На их поверхности присутствуют рецепторы для цитокинов семейства TNF: BAFF — BAFF-R, BCMS, TAC-1, а также APRIL — HSPG. Эти цитокины защищают В-клетки от развития апоптоза и выполняют гомеостатическую функцию, поддерживая численность этих клеток на постоянном уровне.
- На В-лимфоцитах представлены рецепторы для хемокинов: например, CXCR4 (для SDF-1), CXCR5 (для BLC, служащего основным хемоаттрактантом для наивных В-клеток), CCR3 (для эотаксина), CCR6 (для IARC).

Развитие В-лимфоцитов



Основное событие дифференцировки В-клеток — формирование ВСR, а точнее, лежащая в его основе перестройка V-генов иммуноглобулинов.

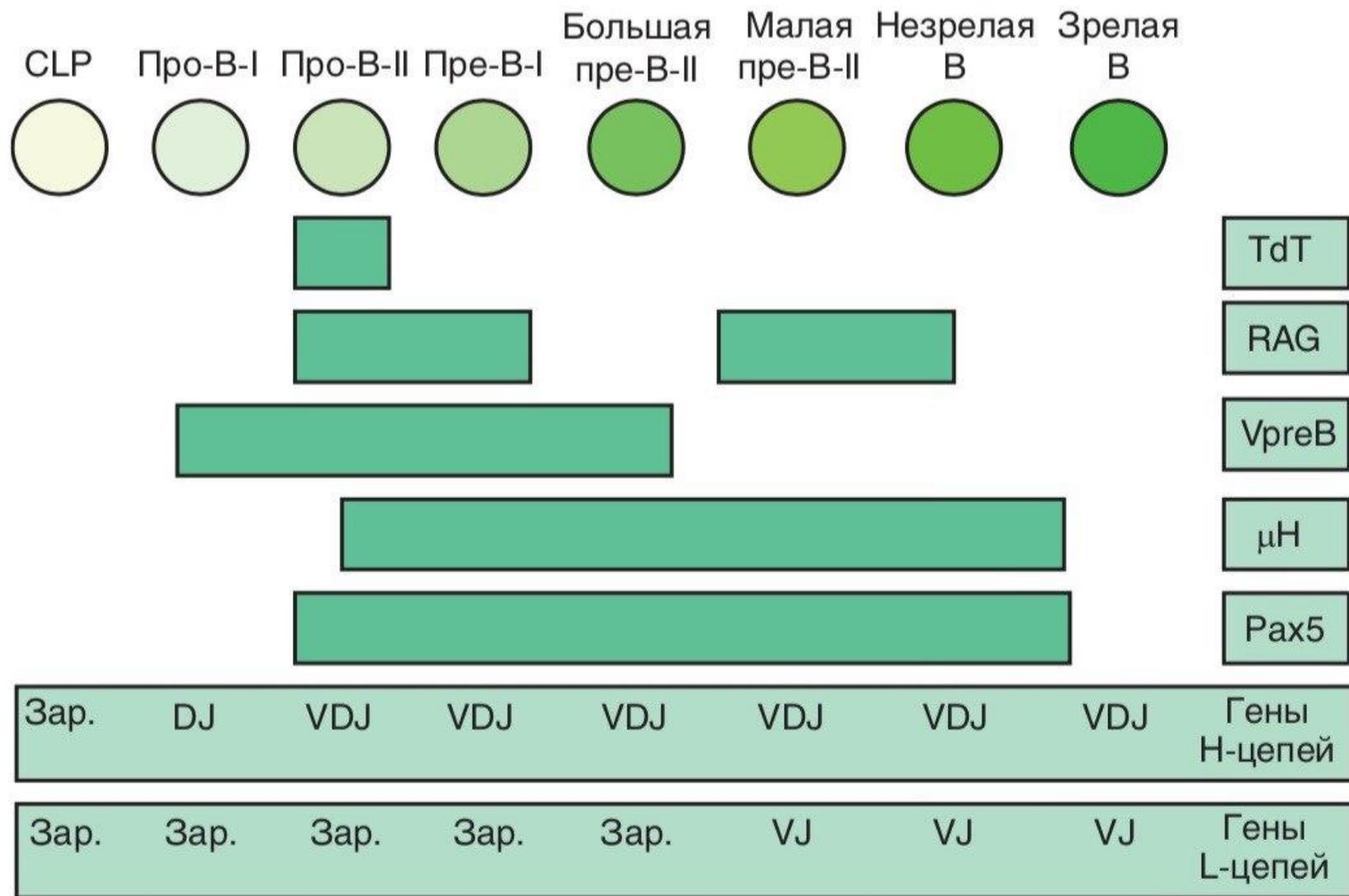
Выделяют несколько стадий развития В-лимфоцитов: про-В, пре-В, незрелые В и зрелые наивные В-клетки.

Стадии про-В- и пре-В-клеток в свою очередь подразделяют на подстадии I и II (соответственно, ранние и поздние) На стадии про-В-II перестраиваются гены H-цепей. На стадии пре-В «проверяется» правильность прошедшей реаранжировки и перестраиваются гены L-цепей.

На стадии незрелой В-клетки белковый продукт перестроенных генов иммуноглобулинов экспрессируется на мембране клетки в виде мембранного IgM, на стадии зрелой В-клетки к нему присоединяется IgD.

Перестройку V-генов в В-клетках контролирует микроокружение, индуцирующее экспрессию в них дифференцировочных факторов. Развитие лимфоцитов в направлении В-клеток направляют факторы E2A, EBF и Pax5.

- Экспрессию Pax5 рассматривают как ключевой маркер обособления В-линии. Pax5 имеет прямое отношение к включению реаранжировки V-генов в В-клетках и экспрессии молекулы CD19.
- Фактор EBF отвечает за экспрессию гена корцептора $Ig\alpha$ — наиболее раннего белкового маркера В-лимфоцитов, появляющегося уже на стадии про-В-I. Затем на поверхности В-клетки экспрессируется молекула CD19.
- На стадии про-В-II экспрессируются гены **RAG1** и **RAG2**, продукты которых отвечают за включение процесса реаранжировки V-генов, а также ген, кодирующий фермент TdT, обеспечивающий нематричное добавление нуклеотидов при D-J рекомбинации.

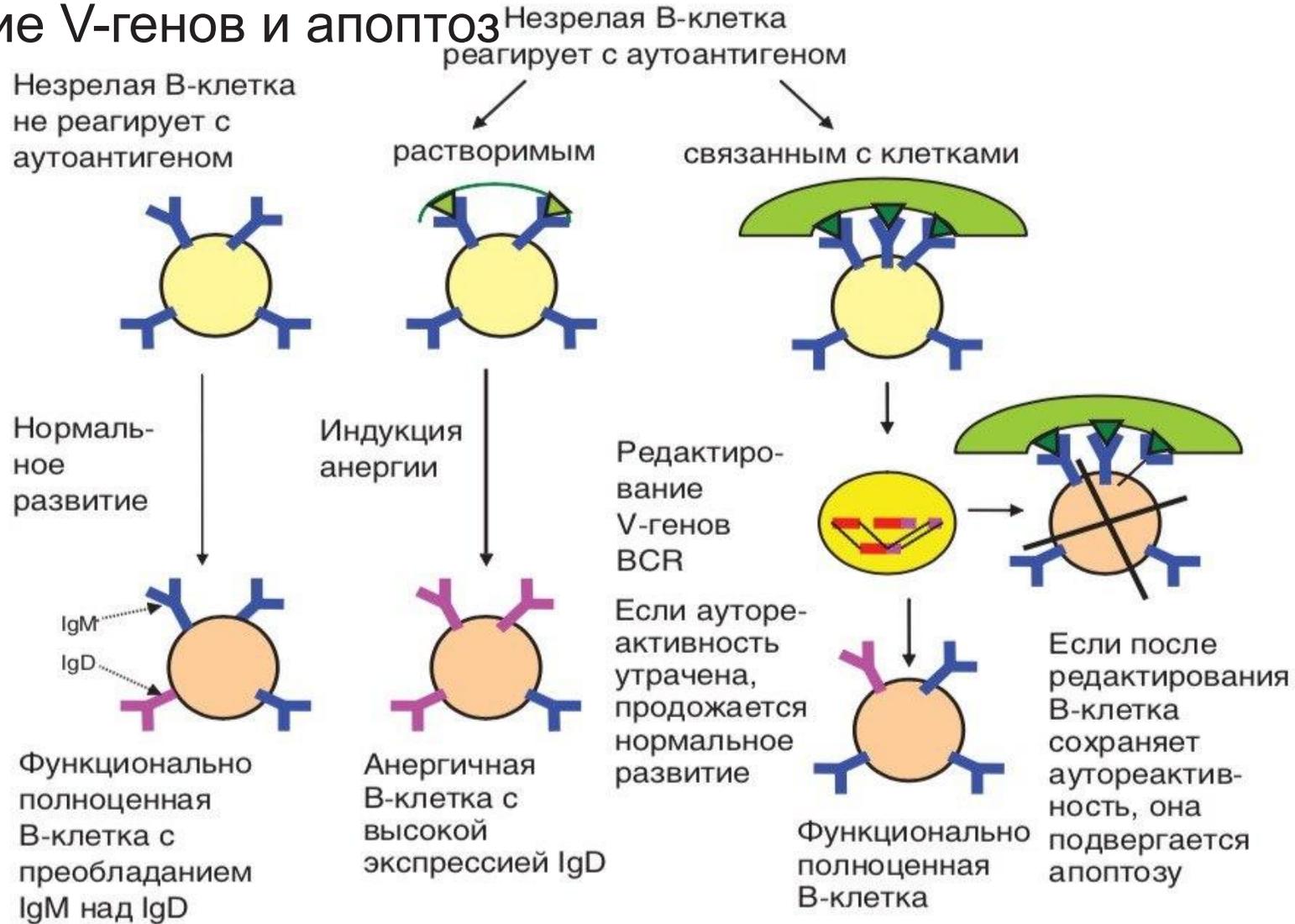


- Первым типом H-цепей которые появляется на поверхности, является IgM. Стадию, на которой на поверхности B-клетки присутствуют только IgM, называют стадией незрелой B-клетки.
- Завершающее событие в созревании B-лимфоцита — экспрессия на его поверхности IgD .
- Кроме того, при созревании B2-лимфоциты экспрессируют мембранные молекулы CD21 и CD23
- Поскольку успешная перестройка каждого V-гена блокирует перестройку аллельных генов все молекулы иммуноглобулина, присутствующие на поверхности B-клетки, идентичны по изотипу L-цепей и по структуре V-генов. Это обуславливает одинаковую специфичность рецепторных иммуноглобулинов B-клетки.
- Поскольку перестройка V-генов происходит в каждой клетке автономно, все созревающие B-лимфоциты уникальны по специфичности их рецепторов.

Установлено, что 55–75% В-клеток, образующихся в костном мозгу, специфичны к собственным антигенам организма — аутоантигенам. Уже в костном мозгу значительная часть новообразованных В-клеток распознает аутоантигены. Однако незрелые В-клетки не активируются при связывании их BCR с антигеном.

Распознавание аутоантигенов служит сигналом к «редактированию» генов BCR. Этот процесс заключается в повторной перестройке V-генов с вовлечением сегментов, не задействованных в предыдущей реаранжировке. При успешном редактировании В-клетка теряет аутореактивность. Если же этого не происходит, клетки выбраковываются путем апоптоза или подвергается очередным этапам селекции в периферическом отделе иммунной системы

Отрицательная селекция В-лимфоцитов в костном мозгу: реакции незрелых В-клеток на распознавание аутоантигенов — индукция анергии, редактирование V-генов и апоптоз



Переходные фазы развития и селекция В-клеток

Тип селекции	Объект селекции	Клетки, осуществляющие селекцию	Локализация процесса	Содержание процесса	Назначение процесса
Селекция В-лимфоцитов					
Положительная селекция	Незрелые В-клетки, стадия Т1	Клетки стромы костного мозга	Костный мозг, селезенка, лимфоузлы	Сигнал через В-клеточный рецептор, обеспечивающий выживаемость	Выход незрелых клеток в периферический пул В-лимфоцитов
Отрицательная селекция	Незрелые В-клетки, стадия Т2	Осуществляется без участия дополнительных клеток	Костный мозг, селезенка, лимфоузлы	Дефицит рецепции BAFF при ответе на аутоантиген	Элиминация аутоспецифических В-клеток

Стадии

T1. Фенотип В-клеток на стадии T1 — IgM_{hi} IgD_{-/lo} CD23⁻ CD21_{lo} CD24_{hi}. В-клетки получают через BCR-сигнал, обеспечивающий их выживание, без участия антигенов (положительная селекция).

T2 и T3. характеризующиеся фенотипом IgM_{hi} IgD_{hi} CD21_{int} CD23⁺ и IgM_{lo} IgD_{hi} CD21_{int} CD23⁺. На этих этапах выживаемость клеток и их пролиферацию регулируют сигналы, поступающих через BCR и рецепторов для BAFF. Они приводят к экспрессии транскрипционных факторов NFκB.

Особенность T2 В-клеток — низкая экспрессия рецепторов для BAFF. В результате В-клетки, связавшие антиген, не получают дополнительного сигнала через BAFF-рецепторы и подвергаются апоптозу.

Усиленная экспрессия рецепторов для BAFF на стадии T2 В-клеток приводит к индукции аутоиммунных процессов.

Несмотря на «щадящий» режим селекции, на этом этапе сохраняется лишь 10–30% В-клеток, вышедших из костного мозга, общие же потери В-клеток в процессе их развития превышают 95%.

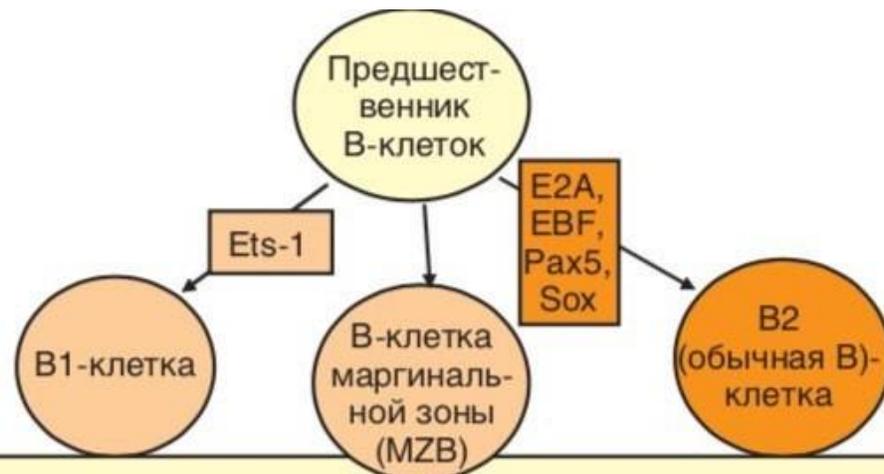
Экспрессия хемокинового рецептора CXCR5 позволяет выжившим клеткам мигрировать в фолликулы по градиенту хемокина CXCL13 (BLC).

После завершения переходной стадии развития В-клеток на их поверхности устанавливается нормальная экспрессия рецепторов для BAFF/APRIL и в ответ на связывание BCR с антигеном они не гибнут, а активируются и пролиферируют.

Выжившие клетки представляют собой зрелые наивные В-лимфоциты, в совокупности образующие антигенраспознающий репертуар В-лимфоцитов, необходимый для обеспечения развития гуморального адаптивного иммунного ответа.

Популяции

Субпопуляция	Особенности V-генов иммуноглобулинов	Происхождение	Локализация	Маркеры	Оборот ($T_{1/2}$ восстановления пула)	Продуцируемые антитела
B1a	Без следов мутаций и N-вставок	Печень плода	Брюшная и другие серозные полости; частично — селезенка, <i>lamina propria</i> кишечника, единичные клетки в костном мозгу	IgM, IgD, CD5, CD45	Очень медленный	Антитела к бактериальным поли- и липополисахаридам, а также к другим тимуснезависимым антигенам, аутоантитела (IgM, IgA; редко IgG3)
B1b	Есть N-вставки, могут быть мутации (но значительно меньше, чем в B2)	Печень плода, частично костный мозг	То же	IgM, IgD, CD45	Нет данных	То же
BMZ	Мало мутаций	Костный мозг	Маргинальная зона селезенки	IgM, (IgD — +/-), CD38	21 нед	Антитела к бактериальным полисахаридам, поступающим из крови
B2 (обычные)	Перестроены, есть N-вставки, активный гипермутационный процесс	Костный мозг	B-зоны вторичных лимфоидных органов; рециркуляция, костный мозг	IgM, IgD, CD23, CD45, CXCR5	13 нед	Адаптивные антитела (IgM, IgG, IgA, IgE)



Изотипы иммуноглобулинов	Обычно IgM (M >> G)	M > G	IgM/IgD, IgG, IgA, IgE (G > M)
Дополнит. маркеры	CD5 (на B1a), CD11b		CD23
Перестройка генов Ig механизмы	Используется огранич. число V-сегментов	Многообразие частично ограничено	Используются все пути генерации разнообразия
N-вставки	Мало или нет	Есть	Много
Соматический мутагенез	Отсутствует	?	Есть
Синтез антител	Спонтанный	Индукцированный	Индукцированный
Локализация	В серозных полостях	В маргинальных зонах (MZ) селезенки	Во вторичных лимфоидных органах, крови
Обновление	Самоподдержание	Замещение новообразованными клетками	Длительный срок жизни
Память	+/-	?	+

В1-клетки

В1-клетки локализуются преимущественно в серозных полостях — брюшной и плевральной. Небольшое количество В1-лимфоцитов, преимущественно клетки, секретирующие антитела, выявляют в селезенке, где на их долю приходится 1–5% от числа В-клеток. Некоторые В1-клетки мигрируют (через сальник) в слизистую оболочку кишечника и брыжеечные лимфоузлы (до 50% IgA-продуцентов в лимфоидной ткани кишечника — В1-клетки).

Выделяют 2 субпопуляции В1-клеток. Основной дифференциальный признак при этом — экспрессия мембранной молекулы CD5 (известной как один из маркеров Т-клеток). В1а-клетки одновременно несут на поверхности молекулы IgM и CD5. CD5 отсутствует на всех остальных В-лимфоцитах, в том числе на В1b-клетках, в остальном очень схожих с В1а-клетками. Для В1-клеток характерен «активированный фенотип», что проявляется в экспрессии на их поверхности костимулирующих молекул CD80 и CD86. Это свойство обеспечивает способность В1-лимфоцитов выполнять функции АПК.

V1a- и V1b-клетки экспрессируют BCR, содержащий мембранную форму IgM. Известны исключения: описано переключение IgM на IgA в *lamina propria* кишечника. Перестроенные V-гены мембранного IgM V1a-клеток не содержат N-вставок.

Разнообразие V-генов V1-клеток существенно ниже, чем у V2-клеток. Это связано с различиями в условиях развития: V1a-клетки в онтогенезе появляются раньше других субпопуляций — еще до рождения. Они развиваются в печени плода при участии IL-5 и IL-10 из клеток-предшественников, отличных от таковых у обычных B-клеток. Еще в эмбриональном периоде V1-клетки мигрируют в серозные полости, где они существуют в течение всей жизни организма.

V1-клетки способны к самоподдержанию путем очень медленной пролиферации, восполняющей убыль клеток, погибающих по механизму апоптоза.

Обе разновидности В1-клеток могут дифференцироваться в антителообразующие клетки без стимуляции антигеном. При этом они секретируют преимущественно IgM-антитела (в кишечнике — также IgA). Большинство этих антител специфично к собственным белкам организма; многие из них полиспецифичны. Эти антитела имеют низкое сродство к антигенам, включая аутоантигены, и не способны вызвать повреждение тканей.

Примерно половина сывороточного IgM секретируется В1-клетками.

Естественные антитела, продуцируемые В1а-лимфоцитами, часто специфичны к микробным антигенам и опсонизируют патогены, играя важную роль в реакциях врожденного иммунитета.

B2-лимфоциты

B2-клетки , локализующиеся преимущественно в селезенке, костном мозгу, лимфоузлах, пейеровых бляшках и отдельных фолликулах лимфоидной ткани кишечника.

Гистологическая единица, являющаяся местом сосредоточения B2-клеток — лимфоидный фолликул. Эти клетки составляют подавляющее большинство циркулирующих B-лимфоцитов и играют основную роль в гуморальном иммунном ответе

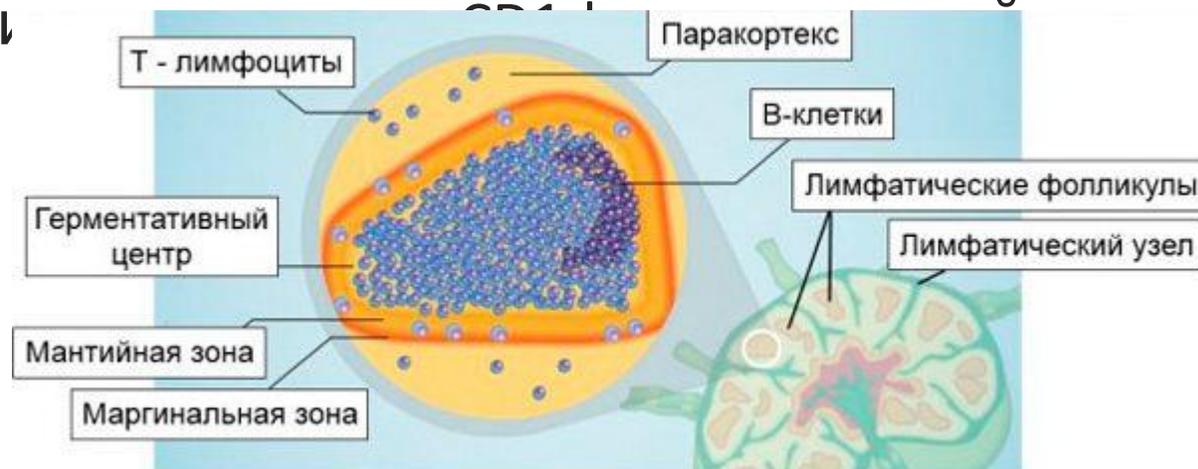
В-клетки маргинальной зоны (МЗВ)

Они локализуются почти исключительно в маргинальной зоне селезенки, отделяющей белую пульпу от красной.

Фенотипически эти клетки более сходны с В2-, чем с В1-клетками. Они происходят от тех же костномозговых клеток-предшественников. Основной мембранный иммуноглобулин МЗВ-клеток — IgM, экспрессируемый сильнее, чем на В2-клетках.

В то же время IgD присутствует на мембране в очень малом количестве. Эти клетки сходны по своему фенотипу с активированными В-лимфоцитами.

На них присутствуют молекулы CD69, CD25, CD38, в малом количестве CD23. Обращает на себя внимание наличие CD44 в презентации липидных антигенов.



Отделение линии MZB-клеток от общей линии B2-клеток происходит на переходной стадии транзиторных клеток (Т3), когда будущие MZB-клетки ослабляют экспрессию не IgM (как B2-клетки), а IgD и утрачивают молекулу CD23.

На MZB-лимфоцитах не экспрессируется хемокиновый рецептор CXCR5, позволяющий клеткам мигрировать в фолликулы.

Ключевой фактор дифференцировки MZB-клеток — Notch-2. Под влиянием сфингозин-1-фосфата и при участии молекул адгезии LFA-1 и VLA-4 они мигрируют в маргинальные зоны селезенки.

MZB-клетки не участвуют в рециркуляции, но осуществляют «челночные» миграции до лимфоидных фолликулов и обратно, получая информацию об антигенах, поступающих в селезенку с кровью. Срок жизни MZB-лимфоцитов сопоставим со сроком жизни организма. Снижение численности MZB-клеток, вызываемое повреждающими факторами, достаточно быстро устраняется.

- MZB-клетки участвуют в гуморальном иммунном ответе на возбудители, поступающие в кровотоки.
- Они осуществляют тимуснезависимый иммунный ответ на инкапсулированные патогены.
- Благодаря сильной экспрессии молекул MHC-II и костимулирующих молекул MZB-клетки обладают выраженной способностью к взаимодействию с Т-хелперами, однако их участие в тимусзависимом иммунном ответе изучено плохо.
- При ответе на антигены MZB-клетки дифференцируются в короткоживущие антителообразующие клетки. V-гены MZB-клеток редко затрагиваются мутациями, что характерно для развития плазматических клеток вне зародышевых центров. В этих клетках не происходит переключения классов иммуноглобулинов и даже MZB-клетки памяти несут на своей поверхности IgM, а не IgG. IgM+ клетки памяти преобладают в маргинальной зоне селезенки человека.