

Лекция 7

Иммунный ответ, его виды (клеточный и гуморальный) и механизмы. Кооперация иммунокомпетентных клеток в иммунном ответе. Реакции иммунного ответа: антителообразование, иммунный фагоцитоз, иммунологическая память, иммунологическая толерантность, антителозависимая и антителонезависимая цитотоксичность. Иммуноглобулины, их классы и функции

План лекции:

1. Организация функционирования иммунной системы.
2. Активация иммунной системы.
3. Иммунный ответ, его механизм, виды и формы:
 - Клеточный иммунный ответ и его механизм. Передача информации от антигенпредставляющих клеток T_1 -хелперам и цитотоксическим Т-лимфоцитам, образование Т-киллеров, их взаимодействие с клетками-мишенями.
 - Гуморальный иммунный ответ и его механизм. Передача информации от антигенпредставляющих клеток T_2 -хелперам, образование плазматических клеток, синтез специфических антител.
4. Основные формы иммунного реагирования
 - антителообразование,
 - иммунный фагоцитоз,
 - иммунологическая память,
 - иммунологическая толерантность,
 - антителозависимая и независимая цитотоксичность.
5. Антитела (иммуноглобулины), природа и молекулярное строение. Классы иммуноглобулинов, строение и основные функции; виды антител (рецепторные, нормальные, моноклональные, полные и неполные) и их особенности. Динамика антителообразования.
6. Иммунный фагоцитоз, его механизм и значение в иммунном ответе.
7. Антителозависимая и независимая цитотоксичность, механизм, значение в иммунном ответе.
8. Иммунологическая память, механизм ее формирования, значение.
9. Иммунологическая толерантность, открытие явления толерантности, виды иммунологической толерантности, механизм, значение

Как уже описывалось ранее, к основным субпопуляциям лимфоцитов (клеточным компонентам адаптивного иммунитета) относят Т- и В-лимфоциты. Т-лимфоциты, или Т-клетки, получили свое название от слова «тимус» (вилочковая железа), где они созревают, по аналогии были названы и В-лимфоциты (В-клетки), которые дифференцируются в бурсе Фабрициуса (*Bursa Fabricius* у птиц). В разделе по клеточным компонентам адаптивного иммунитета речь пойдет в основном о Т-лимфоцитах, поскольку некоторые субпопуляции Т-клеток обеспечивают клеточный ответ организма. В-лимфоциты будут рассматриваться в разделе о гуморальных компонентах адаптивного иммунитета, поскольку производные В-лимфоцитов — плазматические клетки — являются основными продуцентами антител.

Т-лимфоциты в зависимости от корецепторных (вспомогательных) молекул разделяют на две группы: Т-хелперы обозначаются как T_H , или $CD4^+$ Т-лимфоциты (содержат на своей поверхности молекулу $CD4$), а цитотоксические Т-лимфоциты как ЦТЛ, или $CD8^+$ Т-лимфоциты (содержат молекулу $CD8$). Среди основных функций Т-хелперов можно выделить продукцию цитокинов, которые регулируют иммунные процессы. Также за счет Т-хелперов происходит координация клеточного и гуморального адаптивного иммунитета.

Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) активируются антигеном и могут приводить к уничтожению вирусинфицированной или опухолевой клетки и др. Соотношение Т-хелперов ($CD4^+$ Т-лимфоциты) и ЦТЛ ($CD8^+$ Т-лимфоциты) в крови составляет 2:1. При патологии данное соотношение может сдвигаться, к примеру при инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека, преобладают $CD8^+$ Т-лимфоциты (табл. 9.6).

Т-клеточный рецептор (TCR — T-cell receptor). Основная отличительная черта Т-лимфоцитов — наличие на цитоплазматической мембране TCR, который состоит из двух форм антигенсвязывающих полипептидных цепей (гетеродимеров DE или JG), молекулы CD3 (состоит из HJ- и HG-цепей) и J-цепи, с которых передается сигнал внутрь клетки (рис. 9.20). Соответственно различают DE-Т-лимфоциты (95% Т-лимфоцитов) и JG-Т-лимфоциты (5% Т-лимфоцитов). Гетеродимеры DE и JG участвуют в связывании антигена. Они, так же как молекулы иммуноглобулинов, имеют переменные (V) и константные (C) домены. TCR, подобно антителам, кодируется несколькими наборами генов (VDJ-рекомбинации) в процессе дифференциации Т-лимфоцитов (см. ниже).

При взаимодействии этого комплекса с молекулами МНС участвуют корецепторные молекулы: $CD4$ — при взаимодействии Т-хелпера (T_H) с МНС II класса или $CD8$ — при взаимодействии ЦТЛ с МНС I класса.

Дифференцировка Т-лимфоцитов. Т-лимфоциты дифференцируются из общего лимфоидного предшественника и мигрируют из костного мозга в тимус, где они называются тимоцитами. Здесь происходят их пролиферация и генетические перестройки из большого набора зародышевых генов путем их перегруппировки. Сначала перегруппировываются E-, а потом D-цепи TCR.

Дифференцировку Т-лимфоцитов подразделяют на антигеннезависимую и антигензависимую. В тимусе происходят основные процессы антигеннезави-

символ дифференцировки Т-лимфоцитов. Антигеннезависимая дифференцировка Т-лимфоцитов происходит в периферических органах иммунной системы.

В ходе дифференцировки в тимусе Т-лимфоциты созревают и мигрируют из кортикальной зоны в медуллярную, при этом маркерный состав меняется, сначала появляются двойные негативные клетки ($CD4^-CD8^-$), у которых отсутствуют молекулы CD4 и CD8, далее — двойные позитивные клетки ($CD4^+CD8^+$), а при выходе из тимуса — одинарные позитивные Т-лимфоциты ($CD4^+CD8^-$ или $CD4^-CD8^+$). Один из важнейших процессов, происходящих в тимусе, — дифференцировка Т-клеток и формирование $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов, которые при выходе на периферию способны распознавать антиген (рис. 9.21).

Если рассматривать процесс по ходу дифференцировки Т-лимфоцитов, то особый интерес представляет перестройка генов TCR (реаранжировка). У че-

ловека гены, кодирующие цепи TCR, располагаются на 7-й (Е-цепь или J-цепь) и на 14-й (D-цепь или G-цепь) хромосоме. Существуют различные варианты так называемых зародышевых генов TCR: V-, D-, J- и C-гены. В результате реаранжировки «вырезаются» по варианту каждого из них и соединяются в единый ген, с которого и происходит синтез новой цепи TCR.

Т-лимфоциты, проходящие дифференцировку в тимусе, претерпевают позитивную и негативную селекцию. *Позитивная селекция* проходит в коре

тимуса, при этом двойные позитивные Т-клетки уже экспрессируют на своей поверхности TCR. Происходит первое взаимодействие рецепторного комплекса с молекулами МНС, если тимоцит распознал собственную молекулу МНС, такой лимфоцит претерпевает дальнейшую дифференцировку. В случае нераспознавания собственной молекулы тимоцит погибает путем апоптоза. *Негативная селекция* происходит позже в медуллярном веществе, и на этом этапе формируются клоны Т-лимфоцитов, которые не являются аутореактивными. То есть тимоциты, которые при повторном взаимодействии с молекулами МНС активируются в ответ на собственный антиген, уходят в апоптоз. Если тимоцит распознал, но не активировался на аутоантиген, такие клоны выживают и продолжают дифференцировку.

После антигеннезависимой дифференцировки (в тимусе) происходит антигензависимая дифференцировка. Из тимуса выходят наивные Т-лимфоциты, которые мигрируют в периферические органы иммунной системы и в ткани, где и происходит двойное распознавание антигена, представленного антигенпредставляющими клетками.

Субпопуляции Т-лимфоцитов. Т-хелперы (T_H от *helper* — помощник) имеют Т-клеточный рецептор (TCR) и корецептор CD4, которые участвуют в распознавании комплекса антигенный пептид + МНС II класса антигенпредставляющих клеток (рис. 9.22). Функция Т-хелперов — продукция цитокинов в результате взаимодействия с антигенпредставляющей клеткой. Выброс цитокинов приводит к активации всех окружающих клеток.

Наивные Т-хелперы, или нулевые (T_H0), под действием различных факторов дифференцируются на T_H1 , T_H2 , фолликулярные Т-хелперы (T_{FH}), T_H17 и T_{Reg} .

T_H1 -лимфоциты отвечают за стимуляцию клеточного иммунитета; участвуют в иммунном воспалении по типу ГЗТ, продуцируя IFN- γ и активируя макрофаги. T_H1 -ответ стимулируется внутриклеточными возбудителями (вирусами, микобактериями, некоторыми грибами и простейшими). Он усиливается под влиянием IL-12, выделяемого макрофагами, и IFN- γ , продуцируемого NK-клет-

ками. T_H1 -лимфоциты продуцируют так называемые T_H1 -цитокины, включая IL-2, IFN- γ и ФНО- α .

T_H2 -лимфоциты отвечают за развитие гуморального иммунитета, стимулируя антителообразование В-лимфоцитами. T_H2 -ответ стимулируется внеклеточными бактериями и паразитами. Он усиливается под влиянием IL-4. T_H2 -лимфоциты продуцируют так называемые T_H2 -цитокины, включая IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13. T_H1 и T_H2 оказывают друг на друга супрессирующее действие: T_H1 , продуцируя IFN- γ , угнетает T_H2 , а последний, образуя IL-4, угнетает T_H1 (рис. 9.23).

T_{Reg} -лимфоциты могут угнетать T_H1 и T_H2 и другие клетки, участвуя в негативной регуляции иммунного ответа (см. ниже — «Регуляторные Т-лимфоциты»).

T_H17 -лимфоциты продуцируют в основном IL-17 (см. рис. 9.23), поэтому они известны как T_H17 -лимфоциты. Эти мощные воспалительные клетки продуциру-

ют IL-17, IL-6, IL-21, IL-22 и ФНО- α , участвуя в защите против внеклеточных бактерий, активируя, привлекая нейтрофилы. Они направляют T_H1 -лимфоциты к месту размножения внутриклеточных бактерий, что сопровождается воспалением. Они также активно участвуют в аутоиммунных нарушениях, например при псориазе, способствуя гиперпролиферации кератиноцитов.

Регуляторные Т-лимфоциты (T_{Reg}) играют важную роль в негативной регуляции иммунного ответа, используя несколько механизмов для подавления активации и пролиферации Т-лимфоцитов. T_{Reg} -лимфоциты модулируют функции АПК, ингибируя их созревание и блокируя экспрессию на поверхности клеток молекул МНС и костимулирующих молекул (CD80 и CD86), ослабляя таким образом взаимодействия между АПК и Т-лимфоцитами. T_{Reg} -лимфоциты могут оказывать цитотоксические эффекты на мишени (на Т-лимфоциты и на АПК) через секрецию гранзимов и перфоринов, а также подавляют активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов через секрецию ингибирующих цитокинов, например ТФР- β , интерлейкинов (IL-10 и IL-35). Супрессорные функции регуляторных Т-лимфоцитов обеспечиваются также поверхностной супрессорной молекулой CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4) и др.

T_{Reg} -лимфоциты участвуют в толерантности к пищевым антигенам и к антигенам нормальной микрофлоры. Основной функцией T_{Reg} является поддержание ауто толерантности. Они предотвращают развитие чрезмерно интенсивного иммунного воспаления, развитие аутоиммунных заболеваний, участвуют в сохранении нормального течения беременности. В то же время избыточная активность T_{Reg} -лимфоцитов чревата ослаблением противоинфекционного и противоопухолевого иммунитета.

Различают естественные регуляторные Т-лимфоциты и индуцируемые (адаптивные) регуляторные Т-лимфоциты — Tr1-лимфоциты и др.

Естественные регуляторные Т-лимфоциты — nT_{Reg} -клетки (Natural regulatory T-cells) экспрессируют на своей поверхности молекулы CD25, а внутри содержат большое количество белка FOXP3 (forkhead box P3 — репрессор транскрипции), обеспечивающего основные супрессорные свойства. Эти клетки стали обозначать как Foxp3⁺ Т-лимфоциты, или CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ лимфоциты, т.е. CD4⁺CD25⁺ лимфоциты с высоким уровнем экспрессии CD25 (CD4⁺CD25^{hi}-клетки). В норме эти клетки составляют до 10% лимфоцитов периферической крови. Они синтезируют супрессорные цитокины IL-10 и ТФР- β , а подавление ими Т-клеточного ответа осуществляется при контакте с клетками независимо от продукции цитокинов. Естественные T_{Reg} -лимфоци-

бы направлены против аутоспецифических Т-лимфоцитов для поддержания иммунологической толерантности к собственным антигенам и предотвращения аутоагрессии. Кроме того, они подавляют функции других клеток (ДК, моноцитов/макрофагов, NK, JG-Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов), что поддерживает периферическую толерантность.

Индукцируемые регуляторные Т-лимфоциты образуются при участии антигена на периферии от наивных $CD4^+CD25^-$ или $CD8^+CD25^-$ Т-лимфоцитов под влиянием полузрелых дендритных клеток, IL-10, ТФР-Е и, возможно, IFN- γ . Полузрелые дендритные клетки имеют промежуточный фенотип с низкими уровнями экспрессии CD40 и продукции IL-12, но с высоким уровнем секреции IL-10. Индуцибельная популяция регуляторных Т-лимфоцитов включает различные подтипы $CD4^+$ Т-лимфоцитов (индуцированные T_{Reg} — T_{R1} и T_{R2} ; последние обозначались ранее как T_H3).

Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) имеют Т-клеточный рецептор (TCR) и корецептор CD8, которые участвуют в распознавании комплекса антигенный пептид+MHC I класса (рис. 9.24) на клетке-мишени. Распознавание антигена-пептида усиливается дополнительным сигналом в виде IL-2 от T_H1 -лимфоцита, что вызывает пролиферацию ЦТЛ с образованием антигенспецифического клона цитотоксических Т-лимфоцитов. Далее ЦТЛ выбрасывают из гранул цитотоксические белки перфорины и гранзимы (сериновые протеазы). Перфорины, встраиваясь в мембрану клетки-мишени, образуют поры, которые способствуют проникновению гранзимов. Гранзимы запускают процесс апоптоза клетки-мишени. Клетка-мишень, имеющая Fas-рецептор (CD95, содержит домен смерти), направляется на апоптоз в результате взаимодействия с Fas-лигандом (FasL) цитотоксического Т-лимфоцита (см. рис. 9.24).

За цитотоксические свойства ЦТЛ отвечает также фактор некроза опухолей. После уничтожения клетки-мишени ЦТЛ сами не погибают и способны к разрушению других клеток-мишеней (серийные убийцы). Таким образом, ЦТЛ участвуют в *клеточном иммунном ответе* совместно с активированным J-интерфероном макрофагом и NK-клеткой.

NKT-лимфоциты, или NKT-клетки (естественные киллерные Т-клетки, natural killer T-cells) рассматривают как высококонсервативную отдельную субпопуляцию Т-лимфоцитов, которые экспрессируют особый Т-клеточный рецептор. Одна из основных функций NKT-клеток — цитотоксичность, опосредованная через рецепторы. В основном NKT-клетки локализуются в тимусе, селезенке, печени, костном мозге. NKT-клетки могут мигрировать в зону воспаления. Среди функций NKT-клеток можно выделить секрецию IFN- γ (индукция цитотоксичности), активацию неспецифической цитотоксичности NK-клеток и макрофагов. Подобно естественным киллерам, NKT-клетки могут оказывать неспецифическое цитотоксическое действие на опухолевые и инфицированные вирусами клетки. Активация NKT-клеток происходит через такие же KIR-рецепторы, что и у естественных киллеров. NKT-клетки являются регуляторными клетками, стимулируя или подавляя отдельные звенья адаптивного иммунного ответа; с помощью IFN- γ , IL-4 и IL-13 они влияют на баланс T_H1/T_H2 .

JG-Т-лимфоциты имеют TCR, состоящий из JG-полипептидных цепей. Они являются полноправными участниками реакций врожденного иммунитета. Субпопуляция JG-Т-лимфоцитов преобладает преимущественно в коже и сли-

зистых оболочках. Если DE-Т-лимфоциты распознают антигены, представляемые молекулами МНС, то JG-Т-лимфоциты распознают антигены (липиды, гликолипиды), представляемые CD1 и другими «неклассическими» молекулами (не МНС) клеток, или свободные антигены, без участия антигенпредставляющих клеток. Эти клетки отвечают на антигенный стимул пролиферацией, а также выработкой IFN- γ и других цитокинов. Т-лимфоциты, несущие JG-рецепторы, участвуют в фагоцитозе и других реакциях. Далее происходит дифференцировка, в результате которой появляются эффекторные цитотоксические JG-Т-лимфоциты.

9.3.2.2. Гуморальный иммунный ответ (антителообразование)

Основой гуморального (от лат. *humor* — жидкость) адаптивного иммунного ответа служит активация В-лимфоцитов и их дифференцировка в антителообразующие плазматические клетки — плазмочиты. В-лимфоцит играет роль антигенпредставляющей и антителообразующей клетки.

9.3.2.2.1. Субпопуляции В-лимфоцитов

Основной функцией В-лимфоцитов (плазматических клеток) является выработка иммуноглобулиновых молекул — антител. На поверхности В-лимфоцитов присутствует В-клеточный рецептор (B-cell receptor — BCR), представленный комплексом мономера иммуноглобулина M (IgM) и молекул CD79a (IgD) и CD79b (IgE), с которых происходит передача сигнала внутрь клетки (рис. 9.25). В отличие от TCR BCR может распознавать антигены в нативном (неизмененном) состоянии.

Дифференцировка В-лимфоцитов, так же как и Т-лимфоцитов, проходит в две стадии: антигеннезависимая стадия, которая проходит в костном мозге, и антигензависимая — в периферических лимфоидных органах. В костном мозге происходит дифференцировка В-лимфоцитов по схеме: стволовая клетка о про-В-клетка о пре-В-клетка о незрелая В-клетка о зрелый наивный В-лимфоцит, выходящий из костного мозга. Важные процессы, которые протекают в костном мозге, — формирование В-клеточного рецептора, а также негативная и позитивная селекция (элиминация аутореактивных клонов, т.е. удаляются клоны В-лимфоцитов, связавшие белки собственных тканей). Созревшие наивные В-лимфоциты покидают костный мозг (см. рис. 9.21) и рециркулируют по периферическим лимфоидным органам. При антигензависимой дифференцировке происходит пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки (плазмочиты). Встречая антиген, В-лимфоциты исполняют роль антигенпредставляющей клетки, взаимодействующей с Т-хелпером. В-лимфоциты получают антиген при его рецептор-опосредованном поглощении

или от *фолликулярных дендритных клеток*, несущих иммунные комплексы антиген-антитело-комplement (C3d).

В-лимфоцит играет роль антигенпредставляющей и антителообразующей клетки: BCR распознает антиген, а клетка поглощает его (рис. 9.26). После встраивания поглощенного антигена в МНС II класса В-лимфоцит выставляет образовавшийся комплекс на поверхность и представляет его наивному Т-хелперу (T_H0) — предшественнику T_H2 . T_H2 взаимодействует своим рецептором (TCR) и корецептором CD4 с комплексом антиген/МНС II класса В-лимфоцита. Кроме этого комплекса на поверхности Т- и В-лимфоцитов взаимодействуют дополнительные пары молекул, необходимые для взаимной активации (CD40+CD40L, CD80/86+CD28 и молекулы адгезии). Так, T_H2 -хелперы экс-

прессируют CD40-лиганд (CD40L). Последний связывается с CD40 на В-лимфоците, и клетки активируются образовавшимся комплексом CD40+CD40L. Этот процесс важен для переключения синтеза иммуноглобулинов на другие изотипы (классы). Происходит пролиферация В-лимфоцитов. Под влиянием интерлейкинов (IL-4, 5, 6, 10 и др.), образуемых T_H2 , происходит переключение иммуноглобулиновых генов В-лимфоцитов, которые синтезируют иммуноглобулины различных классов. Ростowymi факторами для T_H2 являются IL-2 и IL-4. В продукции IgG1 и IgG3 участвуют цитокины, продуцируемые T_H1 .

В-лимфоциты могут активироваться и без Т-хелперов (Т-независимая активация); секретируемые иммуноглобулины относятся в основном к IgM. Т-независимые антигены имеют множественные повторяющиеся эпитопы. Они на-

прямую активируют В-лимфоциты в результате перекрестного связывания их рецепторов.

В₁-лимфоциты и В_{MZ}-лимфоциты. Указанная схема (см. рис. 9.26) характерна для главной популяции В-лимфоцитов, обозначаемых как В₂-лимфоциты. Другая популяция В-лимфоцитов, обозначаемая В₁, продуцирует нормальные, или естественные, антитела (в основном IgM) и располагается в перитонеальной и плевральной полостях (небольшое количество их находится в селезенке и лимфатических узлах). Она представлена двумя разновидностями: В_{1a} (CD5⁺) и В_{1b} (CD5⁻).

В-лимфоциты маргинальных зон периартериальных муфт селезенки получили название В_{MZ}-лимфоцитов. Они продуцируют антитела как против продуктов распада клеток организма, так и против микробных антигенов. В_{MZ}-лимфоциты быстро (через сутки) запускают синтез перекрестно реагирующих противомикробных IgM. Пусковым моментом их активации является взаимодействие антигенов (в том числе микробов-комменсалов кишечника) с сигнальными рецепторами (TLR), но не с BCR.

Иммунологическая память

Иммунологическая память основана на наличии Т- и В-лимфоцитов памяти, образующихся при первичном введении антигена параллельно (с небольшой поддержкой) с эффекторными Т-лимфоцитами и плазматическими клетками.

При первичном введении антигена (первичном иммунном ответе) выделяют четыре периода антителообразования:

- 1) латентный, при котором происходит индукция антител с предварительным представлением антигена и накоплением клона антителообразующих клеток;
- 2) логарифмического возрастания антител;
- 3) максимального антителообразования;
- 4) снижения антителообразования.

При первичном иммунном ответе первыми образуются IgM, а затем — IgG (рис. 9.29), формируются Т-лимфоциты памяти, которые имеют CD45R0-форму тирозинкиназы, ассоциированную с TCR.

Повторное введение антигена, через недели или месяцы после первичного поступления, сопровождается вторичным иммунным ответом, при котором благодаря ранее образовавшимся лимфоцитам памяти практически отсутствует латентный период антителообразования. Лимфоциты памяти быстро проли-

фериируют под влиянием специфического антигена: появляется большая популяция эффекторных клеток, увеличивается синтез антител и цитокинов. При вторичном иммунном ответе за счет лимфоцитов памяти значительно возрастают скорость образования, количество и сродство к антигену (аффинность) IgG-антител. Повторно введенные антигены удаляются более эффективно. Имунологическая память при некоторых инфекциях (оспа, корь и др.) может сохраняться годами и пожизненно. При вакцинации повторное введение вакцины значительно усиливает иммунный ответ.

Иммунологическая толерантность

Иммунологическая толерантность — отсутствие иммунного ответа (ареактивность) при наличии в организме антигенов (толерогенов), доступных лим-

фоцитам. Наиболее толерогенными являются растворимые антигены, так как не вызывают у антигенпредставляющих клеток экспрессию соответствующих костимулирующих молекул для иммунного ответа.

Естественная иммунологическая толерантность (син.: ауто толерантность) — толерантность к антигенам (аутоантигенам) собственных тканей и клеток. Она обусловлена отрицательной селекцией аутореактивных клонов лимфоцитов. Толерантность к собственным антигенам организма развивается в процессе онтогенеза за счет уничтожения аутореактивных клонов лимфоцитов. Т-лимфоциты подвергаются отрицательной селекции в тимусе, а большинство В-лимфоцитов — в костном мозге. Однако оказалось, что толерантность обеспечивается за счет толерогенных сигналов со стороны окружающих клеток. Основную роль в обеспечении толерантности выполняют регуляторные Т-лимфоциты (см. рис. 9.23). Антигены так называемых забарьерных органов в норме не вызывают аутоиммунного ответа, потому что не контактируют с клетками иммунной системы; при травме, длительной инфекции эти антигены попадают в кровь и вызывают иммунный ответ против тканей «забарьерного органа». Кроме этого, экспрессия Fas-лиганда (FasL) на клетках «забарьерных» органов может вызвать при контакте апоптоз Т-лимфоцитов, имеющих Fas-рецептор (CD95).

Искусственная иммунологическая толерантность возможна при введении чужеродных антигенов плоду или сразу после рождения (т.е. в период «иммунологической незрелости»). В 1960 г. Ф. Бернет (Австралия) и П. Медавар (Великобритания) получили Нобелевскую премию за открытие приобретенной иммунологической толерантности. Оказалось, что при введении антигена плоду или новорожденным животным в последующем ими приобреталась невосприимчивость к повторно вводимому антигену (Медавар П., 1953 г.).

Иммунологическая толерантность развивается по следующим направлениям.

х *Делеция клона лимфоцитов*, связавших антиген своими рецепторами и (вместо активации) погибающих в результате сигнала на апоптоз. Делеция аутореактивных клонов лимфоцитов развивается в тимусе и костном мозгу (*центральная толерантность*).

х *Анергия клона лимфоцитов* из-за отсутствия активации лимфоцитов, связавших антиген своими Т- или В-клеточными рецепторами (ингибирующее действие T_{Reg} -лимфоцитов, отсутствие презентации антигенов, отсутствие костимулирующих сигналов, цитокинов и др.). Например, Т-лимфоцит не отвечает на антиген, если при его представлении у анти-

генпредставляющей клетки не экспрессируются костимулирующие молекулы B7 (CD80/CD86).

Иммуноглобулины

Иммуноглобулины (Ig, Immunoglobulin) — антитела, продуцируемые В-лимфоцитами (плазматическими клетками) и состоящие из пяти классов молекул: IgG, IgM, IgE, IgA, IgD.

Классификация иммуноглобулинов основана на химическом и структурном отличии. Они состоят из мономеров, димеров, тримеров или пентамеров.

Мономеры иммуноглобулинов состоят из двух пар полипептидных цепей: двух идентичных тяжелых H-цепей (от heavy chains) с высокой молекулярной массой и двух идентичных легких L-цепей (от light chains) с низкой молекулярной массой, связанных дисульфидной связью (рис. 9.27). Эти цепи образуют Y-подобную структуру и имеют константные (C) и переменные (V) участки, или домены — компактные вторичные структуры, скрепленные дисульфидной связью. V-домены входят в антигенраспознающий центр антитела.

Легкие L-цепи (каппа — N или лямбда — O) одинаковые у всех классов иммуноглобулинов; содержат около 200 аминокислотных остатков, а *тяжелые H-цепи* — разные (J, μ , D, G, H); содержат около 550 аминокислотных остатков. По типу тяжелой цепи различают пять классов (изотипов) иммуноглобулинов (Ig): IgG, IgM, IgA, IgD, IgE (рис. 9.28). Мономеры, образующие IgM и IgA, связаны друг с другом J-цепью (англ. *joint* — связь). Все иммуноглобулины имеют углеводные (олигосахаридные) цепочки, т.е. они являются гликопротеинами.

Папаин расщепляет молекулу иммуноглобулина на два одинаковых антигенсвязывающих фрагмента: Fab-фрагмент (антигенсвязывающий фрагмент, Fragment antigen binding) и Fc-фрагмент, способный к кристаллизации (Fragment cristallizable):

- х Fab-фрагмент имеет очень изменчивый *антигенсвязывающий участок* (активный центр антител в переменном V-домене), образованный гиперпеременными участками* H- и L-цепей, которые связывают эпитопы антигена. Это позволяет иммунной системе распознавать самые разнообразные антигены;
- х Fc-фрагмент связывает комплемент (при образовании комплекса антиген-антитело), взаимодействует с Fc-рецепторами мембран клеток, с компонентами комплемента, а также участвует в переносе IgG через плаценту (плацентарный иммунитет).

Компактные вторичные структуры, структуры антител, скрепленные дисульфидной связью, называются доменами. Так, в IgG различают переменные V-домены легких (V_L) и тяжелых (V_H) цепей, расположенные в N-концевой части Fab-фрагмента; C-домены константных (постоянных по составу) участков легких цепей (C_L) и C-домены константных участков тяжелых цепей (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}). В C_{H2} -домене находится комплементсвязывающий участок, участвующий в классическом пути активации комплемента (см. рис. 9.18).

Между C_{H1} - и C_{H2} -доменами IgG расположен шарнирный участок антитела, включающий остатки пролина, что позволяет менять угол наклона Fab-фрагментов; антитело может приобретать Y- или T-образную форму. Шарнирный участок делает молекулу IgG гибкой; Fab- и Fc-фрагменты могут вращаться относительно друг друга, что важно для функционирования IgG.

Классы иммуноглобулинов. По структурным и антигенным различиям H-цепей (J, μ , D, G, H) выделяют пять классов иммуноглобулинов, определяемых

в сыворотке крови человека: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Количественное содержание иммуноглобулинов — важный показатель оценки гуморального иммунитета.

IgG составляет около 75% антител сыворотки крови и представлен четырьмя подклассами (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). IgG — мономер, молекулярная масса 146-170 кДа. Его Fab-фрагмент имеет два эпитопсвязывающих участка, поэтому IgG может связать две одинаковые молекулы антигена, участвуя таким образом в нейтрализации антигена и в реакции агглютинации. Fc-фрагмент IgG1 и IgG3 участвует в классическом пути активации комплемента. Кроме этого, Fc-фрагмент IgG может связываться с макрофагом, нейтрофилом и NK. IgG — единственное антитело, которое передается через плаценту, участвуя в плацентарном иммунитете и защищая новорожденного в первые 3-4 нед. после рождения. Он преобладает при вторичном иммунном ответе.

IgM составляет около 10% антител сыворотки крови; состоит из пяти мономеров (пентамер, имеет 10 эпитопсвязывающих участков), объединенных соединительной J-цепью. Молекулярная масса 970 кДа. IgM первым вырабатывается при инфицировании (маркер острой инфекции), преобладает при первичном иммунном ответе; участвует в классическом пути активации комплемента и в реакции агглютинации. Мономеры IgM имеются на поверхности В-лимфоцита в виде мембранного Ig (BCR).

IgA сывороточный составляет около 15% антител сыворотки крови; представлен двумя подклассами — IgA1 и IgA2. Секреторный IgA (sIgA) — димер с соединяющей J-цепью. При переносе IgA через эпителий на поверхность слизистой оболочки к нему присоединяется внеклеточный участок рецептора полимерных Ig (pIgR). Затем комплекс pIgR-IgA поглощается, и эндосомы, содержащие комплекс, перемещаются к апикальной мембране эпителиоцита для экзоцитоза. При экзоцитозе внеклеточная часть pIgR протеолитически отрезается эндопептидазой и выпускается из клетки в виде секреторного компонента, связанного с IgA. Секреторный компонент защищает sIgA от разрушения ферментами слизистых оболочек. sIgA участвует в местном (мукозальном) иммунитете; находится, кроме слизистой оболочки, в слюне, слезах, молозиве и грудном молоке, блокируя микробы, препятствуя их подвижности и адгезии к эпителиоцитам.

IgD составляет менее 0,1% антител сыворотки крови; мономер, имеет два эпитопсвязывающих участка. Находится на поверхности В-лимфоцита (наряду с мономером IgM) в виде mIg, контролируя его активацию и супрессию.

IgE составляет менее 0,01% антител сыворотки крови, имеет два эпитопсвязывающих участка. Участвует в противопаразитарном иммунитете. В ответ на аллергены Fc-фрагмент IgE связывается с тучными клетками и базофилами; последующее взаимодействие с аллергеном запускает аллергическую реакцию (ГНТ, точнее, реакцию I типа по Джемелу и Кумбсу).

Нормальные антитела. В отличие от главной популяции В-лимфоцитов, продуцирующих вышеописанные специфические антитела и обозначаемых как В₂-лимфоциты, другая популяция В-лимфоцитов, обозначаемая как В₁, продуцирует нормальные, или естественные, антитела (в основном IgM). Нормальные антитела образуются вне зависимости от введения в организм антигена. К ним относятся D- и E-аллоантитела (это IgM) против A- и B-аллоантигенов эритроцитов. Нормальные антитела имеют различную специфичность и направлены как против продуктов распада клеток организма, так

и против разнообразных микробов, вызывая неспецифическую нейтрализацию их антигенов.

Свойства антител. Антитела нейтрализуют антигены, усиливают фагоцитоз, участвуют в активации комплемента (IgM, IgG) и в реакциях антиген-антитело, входят в состав рецепторов В-лимфоцитов (IgM, IgD). Они отличаются по аффинности, авидности, каталитическим и антигенным свойствам.

Аффинность (аффинитет) антител — сродство антител к антигенам, основанное на силе связи антигенсвязывающего центра Fab-фрагмента антитела с эпитопом антигена.

Авидность антител (от лат. *avidity* — жадный) — прочность связи антитела с антигеном и количество связанного антителами антигена. Данные свойства зависят от валентности антигенсвязывающего центра, т.е. количества активных центров (IgG — два, IgM — десять, IgE — два, IgA — четыре или два): минимум двухвалентные антитела могут вызывать внешне видимый эффект типа реакции агглютинации и называются *полными антителами* в отличие от *неполных антител*, одновалентных (блокирующих), у которых функционально «работает» только один антигенсвязывающий центр.

Абзимы (от англ. *adzymes* — от antibody (ab) + enzymes) представляют собой своеобразные антитела-ферменты, которые специфически связываются с антигеном, вызывая его деструкцию. Абзимы являются биокатализаторами ферментативных реакций. Они катализируют многие эстеразные и оксидазные реакции. Известны абзимы протеазы, ДНКазы, РНКазы. Кроме этого, абзимы могут катализировать другие процессы, не имеющие ферментативных аналогов.

Антигенные свойства антител. Различают изотипические, идиотипические и аллотипические детерминанты антител.

х *Изотип антител* определяется С-доменами тяжелых цепей, по антигенным свойствам которых различают классы и подклассы иммуноглобулинов (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, IgE); выявляется с помощью антисыворотки против Fc-фрагментов тяжелых цепей в реакции радиальной иммунодиффузии или ИФА.

х *Идиотип антител* детерминируется антигенсвязывающими центрами Fab-фрагментов антител, т.е. антигенными свойствами переменных участков (V-доменов). Идиотип состоит из набора идиотопов — антигенных детерминант V-доменов антитела.

х *Аллотип антител* определяется индивидуальными отличиями антител каждого класса иммуноглобулина, т.е. отличиями между одними и теми же антителами у разных людей.

Моноклональные антитела являются однородными и высокоспецифичными. Их продуцирует гибридома — популяция гибридной клетки, полученной слиянием антителообразующей клетки определенной специфичности с «бессмертной» опухолевой клеткой миеломы, не образующей антител. Например, спленоциты мыши, иммунизированной антигеном, сливают (в среде полиэтиленгликоля) с клетками мышинной миеломы, в результате чего появляется гибридома. Затем отобранные селекцией и размноженные В-лимфоциты гибридомного клона культивируют или прививают в брюшную полость мыши с асцитной опухолью, где в экссудате брюшной полости появляются моноклональные антитела одной специфичности. Моноклональные антитела широко используются в клинко-диагностической практике. При терапии рака и аутоиммунных заболеваний, например ревматоидного артрита, также применяют химерные моноклональные антитела.

Химерные моноклональные антитела состоят из варибельной области Fab-фрагмента мышинных моноклональных антител против определенного антигена и фрагмента IgG-антител человека.

Гуманизированные моноклональные антитела получают соединением генных участков гиперварибельных областей (CDR) иммуноглобулина крысы с генами иммуноглобулина человека. Гуманизированные моноклональные антитела (даклизумаб и базиликсимаб) к рецептору IL-2 применяют в трансплантологии для блокирования активации Т-лимфоцитов.

Генетика антителообразования. По наследству передается всего около 120 структурных генов (зародышевые гены), отвечающих за структуру иммуноглобулинов. Эти гены кодируют только определенные участки молекулы иммуноглобулина. Фрагменты генов иммуноглобулинов разбросаны во многих экземплярах по хромосоме. В ходе развития плазматической клетки они собираются в различных сочетаниях, образуя миллионы вариантов непрерывного функционирующего гена. В каждом В-лимфоците происходит особая рекомбинация ДНК из сегментов зародышевых генов. Рекомбинация ДНК происходит с помощью уникальных ферментов лимфоцитов — рекомбиназ, ответственных за расщепление и воссоединение ДНК, вовлеченных в реаранжировку (перестройку).

Переключение классов иммуноглобулинов. Зрелые В-лимфоциты первыми синтезируют IgM. Впоследствии перестроенные VDJ-последовательности соединяются с другими смежными С-генами. Каждому С-гену (кроме СG) предшествует так называемая последовательность переключения S (от англ. *switching* — переключение), контролирующая процесс перестройки, рекомбинируя с другими S-последовательностями из-за высокого уровня гомологии. Например, если В-лимфоцит вместо IgM образует IgG1, то вырезаются С_μ, СG и СJ3, расположенные между VDJ-последовательностью и новым С-геном. При этом С_μ-последовательность и другие, расположенные между VDJ-последовательностью и новым С-геном удаляются.

