

γδТ-ЛИМФОЦИТЫ: ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

Нижегородова Д.Б., Зафранская М.М.

Иммунологическая группа, Центральная научно-исследовательская лаборатория, Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Беларусь

Резюме. γδТ-лимфоциты представляют собой малоизученную гетерогенную популяцию Т-лимфоцитов, доминирующую в слизистых оболочках и сочетающую в себе свойства как клеток врожденного, так и приобретенного иммунитета. Отсутствие процессинга и МНС-рестрикции обуславливает способность γδТ-клеток идентифицировать широкий спектр антигенов, природа которых, как и механизм распознавания, до конца не установлены. Многообразие биологических функций, основными из которых являются цитолиз, иммунорегуляция, презентация антигена и репарация поврежденных тканей, определяют уникальную роль данной популяции при инфекционных, опухолевых и аутоиммунных заболеваниях. В настоящий момент, основные усилия исследователей направлены на изучение терапевтического потенциала γδТ-лимфоцитов, поиск и продукцию γδТ-клеточных агонистов, а также планирование и оптимизацию терапевтических протоколов, мишенью которых являются γδТ-лимфоциты.

Ключевые слова: циркулирующие и резидентные γδТ-лимфоциты, фосфоантигены, цитотоксичность, иммунорегуляция.

Nizhegorodova D.B., Zafranskaya M.M.

γδТ-LYMPHOCYTES: GENERAL CHARACTERISTICS, SUBPOPULATION PROFILE, BIOLOGICAL ROLE, AND FUNCTIONAL FEATURES

Abstract. γδТ lymphocytes represent a poorly investigated heterogeneous population of Т cells that are found, predominantly, in mucosal structures, and express common characteristics of innate and acquired immunity. Lack of both antigen processing and MHC-restriction determines an ability of γδТ cells to identify broad spectrum of antigens, the origin of which is yet unknown, and the recognition mechanism have been not established yet. A variety of biological functions, first of all, cytolysis, immune regulation, antigen presentation and repair of tissue damage, define a unique role of this population in infectious diseases, tumors, and autoimmune disorders. Nowadays, principal efforts of scientists are directed to investigation of γδТ cell therapeutic potential, search and production of γδТ cell agonists, as well as design and optimization of herapeutic protocols that may be targeted to γδТ lymphocytes. (*Med. Immunol.*, vol. 11, N 2-3, pp 115-130)

γδТ-лимфоциты впервые были описаны в середине 1980-х Saito et al. (1984) и Brenner et al. (1986)

Адрес для переписки:

Нижегородова Дарья Борисовна
220073, Беларусь, г. Минск, ул. Притыцкого, 18,
корп. 3, кв. 35.
Тел.: (+375-17) 265-33-56.
Факс: (+375-17) 265-46-43.
E-mail: nzh@tut.by

как гетерогенная субпопуляция Т-клеток с Т-клеточным рецептором, состоящим из γ- и δ-цепей (γδТCR) [7, 11, 43]. У человека вариабельные домены γδТCR кодируются 3 основными Vδ-генами и не менее чем 6 Vγ-генами, что определяет высокий полиморфизм γδТCR, больший потенциал к формированию разнообразных лиганд-связывающих участков по сравнению с антигенными рецепторами

$\alpha\beta$ T- и В-лимфоцитов и объясняет высокую гетерогенность данной популяции. Сравнительная характеристика $\gamma\delta$ T-клеток с другими популяциями лимфоцитов представлена в таблице 1 [12, 30, 35].

Для $\gamma\delta$ T-лимфоцитов характерно тимическое и внетимическое онтогенетическое развитие. В тимусе созревает небольшая популяция $\gamma\delta$ T-клеток, которая впоследствии диссемирует в другие органы и ткани. Наряду с тимус-зависимым способом развития источником $\gamma\delta$ T-клеток могут быть слизистые оболочки, костный мозг и эмбриональная печень. В организме $\gamma\delta$ T-лимфоциты представляют собой минорную субпопуляцию Т-клеток в местах типичной локализации лимфоцитов (селезенка и лимфатические узлы), однако могут присутствовать в больших количествах в других тканях (эпителий, печень) [33, 43].

Характерным отличием Т-клеток с $\gamma\delta$ TCR является отсутствие МНС-рестрикции и способность к распознаванию непептидных антигенов. Это обуславливает специфические функции данной популяции, которые включают как эффекторные реакции, опосредуемые механизмами цитотоксичности, так и регуляцию иммунного ответа, репарацию ткани и поддержание антигенного гомеостаза [26].

Классификация

Выделяют циркулирующие и резидентные $\gamma\delta$ T-лимфоциты. Циркулирующие $\gamma\delta$ T-лимфоциты составляют в среднем 1-10% от мононуклеаров периферической крови (МПК) и экспрессируют $CD3^+V\gamma9V\delta2^+TCR$. Частота $V\gamma9V\delta2^+$ Т-клеток во время их постнатальной экспансии и селекции определяется факторами окружающей среды, главным образом инфекционными агентами. Для циркулирующих $\gamma\delta$ T-лимфоцитов более характерно

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА $\gamma\delta$ T-КЛЕТОК С ДРУГИМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ ЛИМФОЦИТОВ

Характеристика	$\alpha\beta$ T-лимфоциты	$\gamma\delta$ T-лимфоциты		В-лимфоциты
		циркулирующие	резидентные	
Иммунологическая принадлежность	Приобретенный иммунитет	Врожденный/приобретенный иммунитет	Врожденный иммунитет	Приобретенный иммунитет
Онтогенез	позже	раньше		позже
Развитие	Тимус/экстра-тимус	тимус	Тимус/экстра-тимус	Тимус/экстра-тимус
Конфигурация антигенного рецептора	CD3 комплекс + $\alpha\beta$ TCR	CD3 комплекс + V δ 2 TCR	CD3 комплекс + V δ 1/ $\gamma\delta$ 3 TCR	Иммуноглобулин
Теоретическое количество TCRs	~1015	~1020		~1011
Распознавание антигена	Пептид + МНС	Непептидные антигены бактерий и растений	Собственные антигенные структуры	Белки и небелковые структуры
МНС-рестрикция	Да	Нет		Нет
Фенотип	CD4 ⁺ или CD8 ⁺	Большинство CD4 ⁺ CD8 ⁻	CD4 ⁺ CD8 ⁻ , некоторые CD8 ⁺ или CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ (IELs)	CD19 ⁺ CD20 ⁺
Частота в периферической крови	65-75%	1-10%	Очень мало; в слизистых оболочках 25-60%	5-10%
Распределение	Периферическая кровь, лимфоидные ткани, слизистые оболочки	Периферическая кровь, лимфоидные ткани	Слизистые оболочки, эпителий, лимфоидные ткани	Периферическая кровь и лимфоидные ткани
Эффекторные свойства	Цитотоксические лимфоциты, продукция цитокинов Th1/Th2	Цитотоксические лимфоциты, продукция цитокинов (Th1 > Th2)		Продукция иммуноглобулинов
Биологические функции	Иммунологическая защита и уничтожение патогенов	Элиминация патогенов	Иммунорегуляция иммунологический надзор	Гуморальный иммунный ответ

рен тимусзависимый способ развития. Основной биологической функцией $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-клеток является элиминация патогенов [6, 12, 37].

Резидентные γδ T-лимфоциты имеют $CD3^+V\delta 1^+$ или $CD3^+V\delta 3^+TCR$ и доминируют в слизистых оболочках желудочно-кишечного, респираторного и урогенитального трактов. Большинство резидентных γδ T-клеток развиваются тимус-независимым способом. Помимо выполнения эффекторной цитотоксической функции, резидентные γδ T-лимфоциты играют большую роль в иммунорегуляции и иммунологическом надзоре организма [3, 6, 35]. Hayday и Chen (2001 г.) показали, что резидентные внутриэпителиальные T-клетки с γδ TCR (γδ IEL) находятся в дифференцированном, но покоем состоянии («activated-yet-resting T-cells») и участвуют в реализации механизмов врожденного иммунитета [27]. Эти малые по размеру лимфоциты характеризуются высоким уровнем экспрессии генов, кодирующих эффекторные молекулы (гранзим А и В), апоптоз-индуцирующий FasL, СС-хемокин RANTES, ранний активационный антиген

CD69, и имеют потенциал для дальнейшей активации [3, 35].

У мышей также существует корреляция экспрессии γδ TCR с определенными анатомическими областями (рис. 1). После реанжировки Vγ-сегментов γδ T-лимфоциты выходят из тимуса на определенном периоде фетального или неонатального развития и заселяют различные ткани организма. Так, среди γδ T-лимфоцитов периферической крови, селезенки и лимфатических узлов доминируют субпопуляции $V\gamma 1^+$ и $V\gamma 4^+$ T-клеток; в легких, матке и языке преимущественно локализованы $V\gamma 6^+$ T-лимфоциты. Генерация некоторых субпопуляций, преимущественно кишечных IEL, несущих $V\gamma 7^+TCR$, происходит экстратимически. Наряду с другими субпопуляциями γδ T-лимфоцитов у мышей присутствуют также дендритные эпидермальные $V\gamma 5^+$ T-клетки (DETC), аналогов которых у человека не наблюдается. Эти резидентные клетки, предположительно, имеют тимическое происхождение и играют роль в распознавании антигенов в эпидермисе [12, 30, 35].

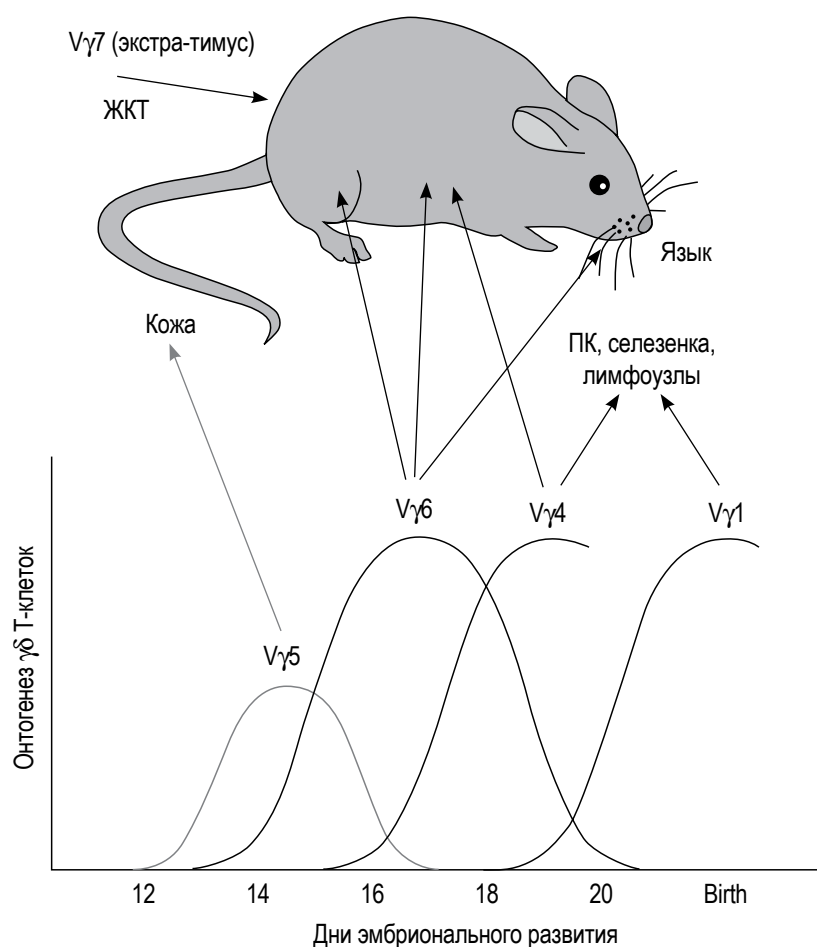


Рисунок 1. Распределение субпопуляций γδ T-лимфоцитов у мышей (адаптирован, Carding and Egan, 2002)

Примечания: ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, ПК – периферическая кровь.

Фенотип

Циркулирующие $\gamma\delta$ T-лимфоциты характеризуются экспрессией CD3-маркера и отсутствием CD4 и CD8 костимулирующих молекул. Резидентные $\gamma\delta$ T-клетки имеют аналогичный фенотип ($CD3^+CD4^-CD8^-$), однако некоторые $\gamma\delta$ IEL могут также экспрессировать CD8 или CD8 α [33, 35].

$\gamma\delta$ T-лимфоциты периферической крови имеют фенотип активированных клеток или клеток-памяти и в большей своей массе являются аутореактивными, в то время как резидентные $\gamma\delta$ T-лимфоциты, главным образом, наивные клетки. В пуповинной крови до 40% $V\gamma9V\delta2^+$ T-клеток несут маркеры памяти, количество которых в противоположность другим $\gamma\delta$ T- или $\alpha\beta$ T-клеточным субпопуляциям увеличивается до 90-95% уже к 2 годам [49].

Некоторые авторы классифицируют $\gamma\delta$ T-клетки-памяти на основе экспрессии поверхностных маркеров (костимулирующих молекул CD27 и CD28, хемокиновых рецепторов) и функциональных особенностей (миграция, секреция цитокинов, цитотоксичность) [20,37]. Среди $V\gamma9V\delta2^+$ T-клеток взрослого человека выделяют $CD27^+CD28^+$, $CD27^+CD28^-$ и $CD27^-CD28^-$, отличающиеся пролиферативным и цитотоксическим потенциалом, а также миграционной способностью, которые могут представлять различные стадии дифференцировки:

- $CD27^+CD28^+$ – ранние дифференцированные клетки-памяти (Tearly);
- $CD27^+CD28^-$ – промежуточные дифференцированные клетки-памяти (Tint);
- $CD27^-CD28^-$ – терминально дифференцированные клетки-памяти (Tlate RA) (табл. 2).

После встречи с антигеном $\gamma\delta$ T-клетки подвергаются фенотипическим изменениям, характерным для $CD8^+\alpha\beta$ T-клеток: они приобретают CD45RO подобно ранним $CD8^+\alpha\beta$ T-клеткам памяти (клетки центральной памяти) и теряют CD27, CD28, а также повторно начинают экспрессировать CD45RA с продолжающейся их активацией, что характерно для поздних $CD8^+\alpha\beta$ T-клеток (клетки эффекторной памяти). Подобно $\alpha\beta$ Th1-клеткам памяти $\gamma\delta$ T-лимфоциты экспрес-

сируют хемокиновые рецепторы CXCR3, CCR5, CXCR4, что обеспечивает хоуминг (направленное движение в периферические лимфоидные органы) циркулирующих $V\gamma9V\delta2^+$ T-клеток-памяти в места воспаления нелимфоидных тканей. Резидентные $\gamma\delta$ T-лимфоциты в процессе хоуминга в желудочно-кишечном тракте и других слизистых оболочках экспрессируют хемокиновый рецептор CCR9 и мигрируют в ответ на хемокин CCL25/TECK. Миграция T-лимфоцитов в кожу опосредована другими хемокинами – CCL17 (TARC) и CCL27 (STACK) и соответственно их рецепторами CCR4 и CCR10. Адгезию резидентных $\gamma\delta$ T-лимфоцитов к эпителиальным клеткам опосредует интегрин $\alpha_E\beta_7$ (CD103), для которого специфическим лигандом является Е-кадгерин. Экспрессия и функции $\alpha_E\beta_7$ -интегрина регулируются хемокином CCL25, что свидетельствует о функциональной значимости экспрессии хемокинового рецептора CCR9 [7, 30, 33, 37].

Помимо маркеров клеток-памяти $\gamma\delta$ T-лимфоциты экспрессируют Toll-like receptors (TLRs) и активирующие и/или ингибирующие рецепторы NK-клеток (NKR/iNKR). На сегодняшний день мало известно о роли экспрессируемых TLRs на $\gamma\delta$ T-лимфоцитах. Полагают, что TLRs наряду с TCR участвуют в трансдукции сигнала и трансформации $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в антиген-презентирующие клетки (APCs). Особое внимание уделяется костимулирующему рецептору $\gamma\delta$ T-лимфоцитов NKG2D, который представляет собой активационный лектиновый рецептор С-типа, экспрессируемый также $CD8^+\alpha\beta$ T-лимфоцитами и NK-клетками. Связывание NKG2D со своими лигандами индуцирует повышение экспрессии CD69 и CD25 на $V\gamma9V\delta2^+$ T-лимфоцитах и тем самым усиливает распознавание трансформированных или инфицированных клеток. Активация посредством NKG2D индуцирует продукцию TNF α и высвобождение цитолитических гранул $\gamma\delta$ T-лимфоцитами, но не продукцию IFN γ . $\gamma\delta$ T-клетки экспрессируют и другие активирующие и ингибирующие NKRs, принадлежащие к лектинам С-типа (CD94/NKG2A, CD94/NKG2C) или иммуноглобулиновым

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА $V\gamma9V\delta2^+$ T-ЛИМФОЦИТОВ С ФЕНОТИПОМ КЛЕТОК ПАМЯТИ

Характеристика	Tearly CD27 ⁺ CD28 ⁺	Tint CD27 ⁺ CD28 ⁻	Tlate RA CD27 ⁻ CD28 ⁻
Вид клеток памяти	Клетки центральной памяти	Клетки эффекторной памяти	
Проллиферативный и цитотоксический потенциал	Преобладает пролиферативный потенциал	Больший цитокиновый потенциал	
Миграционная способность и уникальная экспрессия хемокиновых рецепторов	CXCR3, CCR5, CXCR4		
	CXCR6, CCR1, CCR2; 35% клеток – CCR6 и CCR7	CXCR1, CXCR2 и CX3CR1	

суперсемействам (ILT2-killer cell immunoglobulin-like receptor или immunoglobulin-like transcript 2) [8, 17, 49].

Активированные человеческие Vγ9Vδ2⁺Т-лимфоциты периферической крови, как и мышинные DETC γδТ-лимфоциты кожи или мышинные γδTCR⁺IELs-лимфоциты кишечника, экспрессируют высокий уровень TRAIL (TNF-related, apoptosis inducing ligand), способный индуцировать апоптоз в TRAIL-R⁺ клетках. Наряду с TRAIL эти клетки экспрессируют TNFα и FasL и могут вовлекаться в FasL-зависимый киллинг [8, 43].

Описанный фенотип γδТ-лимфоцитов коррелирует с их способностью быстро реализовывать свои эффекторные функции после активации, что характерно для клеток врожденной иммунной системы. Показано, что γδТ-лимфоциты при активации могут изменяться фенотипически и функционально, но не способны продуцировать антиген-специфический ответ на повторное попадание чужеродного объекта (N. Jin et al, неопубликованные данные).

Активаторы γδТ-лимфоцитов

В отличие от αβТ-клеток γδТ-лимфоциты не активируются пептидными антигенами, презентруемыми молекулами МНС I и II класса, но способны отвечать на небелковые антигены, как собственной, так и чужеродной природы. Антиген-презентирующие молекулы, которые их представляют, на сегодняшний день не идентифицированы [12, 37, 48].

Антигены, распознаваемые γδТ-лимфоцитами, можно разделить на фосфоантигены и индуцибельные антигены (табл. 3). Фосфоантигены — низкомолекулярные непептидные соединения,

содержащие фосфатную либо пирофосфатную группы, которые постоянно экспрессируются в бактериальных, растительных и животных клетках. К фосфоантигенам относят пирофосфомоноэстеры, алкиламины, азотосодержащие бифосфонаты или синтетические фармакологические соединения, используемые для лечения остеопороза, резорбции кости и опухолеассоциированных заболеваний кости [12, 35, 37]. Большинство фосфоантигенов активируют γδТ-клетки опосредованно, путем внутриклеточного накопления пирофосфомоноэстеров, в связи с чем последние являются истинными агонистами Vγ9Vδ2⁺Т-лимфоцитов. Пирофосфомоноэстеры образуются в организме в результате мевалонатного (MVA) или МЕР (2-C-methyl-D-erythritol-4 phosphate) биосинтетических путей; последний также называют 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate (DOXP) путем (рис. 2). Мевалонатный путь протекает в клетках млекопитающих и некоторых бактерий, в то время как МЕР-путь используется большинством эубактерий, обнаруживается в апикомплексах паразитических простейших и хлоропластах растений. Наиболее мощные агонисты человеческих Vγ9Vδ2⁺Т-лимфоцитов продуцируются через МЕР-путь (2-C-methyl-D-erythritol-4 phosphate). Один из таких метаболитов, hydroxyl-methyl-butyl-pyrophosphate (HMB-PP), структура которого подобна IPP, способен активировать Vγ9Vδ2⁺Т-клетки в концентрации 0,1 нМ. Мышинные γδТ-клетки не распознают бактериальные фосфоантигены в связи с отсутствием соответствующей гомологии в TCR [29, 50, 51].

Помимо фосфоантигенов γδТ-лимфоциты распознают антигены, индуцибельно экспрессируемые в определенных типах клеток, например, в эпителии в результате трансформации,

ТАБЛИЦА 3. КЛАССЫ АНТИГЕНОВ, РАСПОЗНАВАЕМЫЕ γδТ-ЛИМФОЦИТАМИ

Фосфоантигены	Индукцибельные антигены
<p>Пирофосфомоноэстеры:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Isopentenyl pyrophosphate (IPP)</i> • <i>Dimethylallyl pyrophosphate (DMAPP)</i> • <i>Geranyl pyrophosphate (GPP)</i> • <i>Farnesyl pyrophosphate (FPP)</i> • <i>(E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl pyrophosphate (HMB-PP)</i> <p>Азотсодержащие бифосфонаты:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Pamidronate</i> • <i>Minodronate</i> • <i>Olpadronate</i> • <i>Risedronate</i> • <i>Zoledronate</i> <p>Алкиламины:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Methylamine</i> • <i>Ethanolamine</i> • <i>Ethylamine etc.</i> 	<p>CD1 (CD1c и CD1d молекулы)</p> <p>MHC class I Chain-related antigen A and B (MICA, MICB)</p> <p>Retinoic acid early inducible 1 (Rae-1)</p> <p>UL16-bundings proteins (ULBPs)</p> <p>T10/22 белки у мышей (MHC Ib)</p> <p>Thymus leukaemia antigen (TL)</p> <p>Митохондриальные антигены:</p> <ul style="list-style-type: none"> • фосфолипидный кардиолипин • белки теплового шока hsp60/GroEL • комплекс АТФ-синтаза-F1/аполипопротеин А-I (AS-ApoA-I)

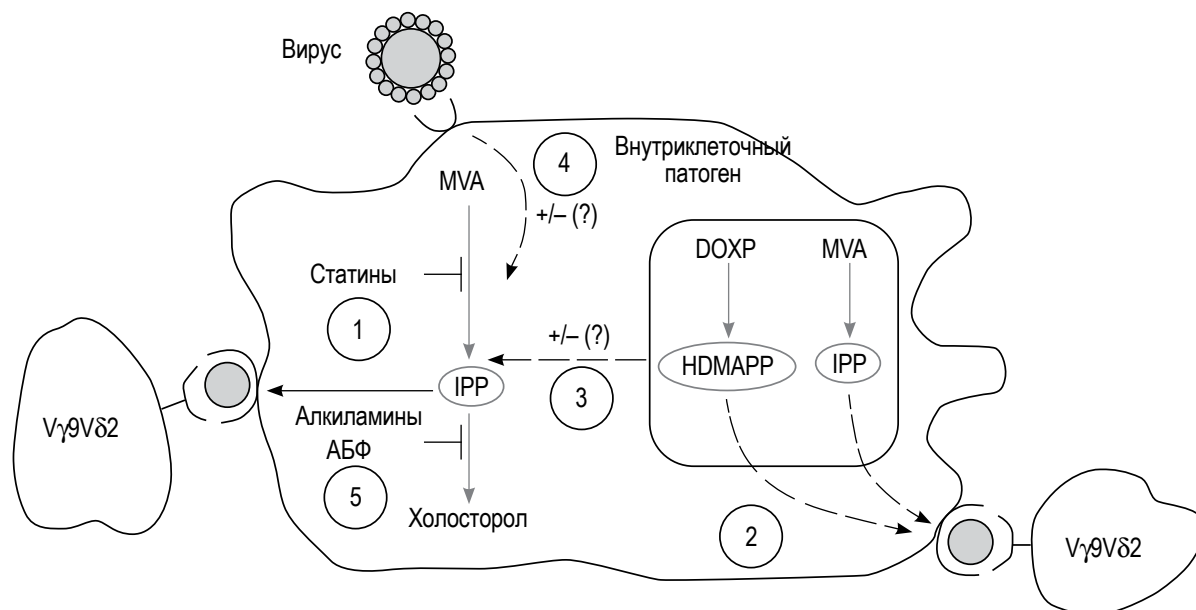


Рисунок 2. Активация $V\gamma 9V\delta 2^+$ -Т-лимфоцитов фосфоантигенами (адаптирован, Bonneville and Scotet, 2006)

Примечание. При онкотрансформации (путь 1) или инфицировании клеток внутриклеточными патогенами (путь 2) уровень эндогенных фосфоантигенов IPP и/или HDMAPP значительно повышается. Бактерии и/или вирусы (пути 3 и 4), наряду с фармакологическими ингибиторами мевалонатного пути (статины, аминобифосфонаты (АБФ) и алкиламины, путь 5), могут регулировать активацию и идентификацию опухолевых и инфицированных клеток-мишеней V γ 9V δ 2⁺-лимфоцитами.

воспаления или стресса (ультрафиолет, нагревание, токсичность, оксидативный и осмотический стресс). Класс индуцибельных антигенов представлен неклассическими антиген-презентирующими молекулами (табл. 3). До сих пор не установлено, распознают ли $\gamma\delta$ Т-лимфоциты эти антигены непосредственно, либо они идентифицируют иные антигенные структуры, презентируемые в составе данных молекул [16, 23, 45, 46, 47].

Распознавание антигенов

На сегодняшний день неизвестно, каким образом антигенные структуры взаимодействуют с $\gamma\delta$ TCR. Активация $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов при контакте с клеткой-мишенью может происходить в результате 3 типов рецептор-лигандного взаимодействия: 1) с участием TCR, 2) адгезивных молекул LFA1/ICAM1 (leukocyte-function associated antigen-1/ intercellular adhesion molecule-1) и 3) при помощи рецепторов NK-клеток NKR_s [49].

Существует несколько гипотез распознавания $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами своих антигенов. Гипотеза об иммуноглобулин-подобном распознавании предполагает, что $\gamma\delta$ TCRs функционирует подобно иммуноглобулинам, связывая нативные антигены без участия классических молекул МНС и без предварительного процессинга в APCs, демонстрируя специфичность только в отношении лиганда. Подтверждением гипотезы является

ся наличие выраженной структурной гомологии между областью 3-го комплементарного детерминирующего региона γ ДТСР и молекулами иммуноглобулинов. Иммуноглобулин-подобный способ характерен для человеческих γ ДТ-клеток, специфичных к индуцибельным антигенам [1, 14, 36, 55,].

Гипотеза $\alpha\beta$ TCR-подобного распознавания подразумевает, что $\gamma\delta$ TCR, аналогично $\alpha\beta$ TCR, может обладать специфичностью как по отношению к лиганду, так и к презентирующим молекулам. В пользу этой гипотезы свидетельствуют структурная схожесть $\gamma\delta$ TCR с организацией $\alpha\beta$ TCR, а также небольшая молекулярная масса растворимых молекул, идентифицируемых $\gamma\delta$ T-лимфоцитами, которая недостаточна для их непосредственной стимуляции. Учитывая отсутствие доказательств прямого связывания фосфоантигенов с $V\gamma 9V\delta 2^+$ TCR, их небольшой размер и необходимость клеточного контакта для активации, предполагается, что фосфоантигены либо индуцируют структурные модификации в поверхностных рецепторах, либо презентируются поверхностными молекулами. На сегодняшний день ни одна из известных антиген-презентирующих молекул не идентифицирована в участии распознавания фосфоантигенов. Основываясь на функциональных исследованиях, это должна быть уникальная непалиморфичная антиген-презентирующая молекула, широко и постоянно экспрессируемая

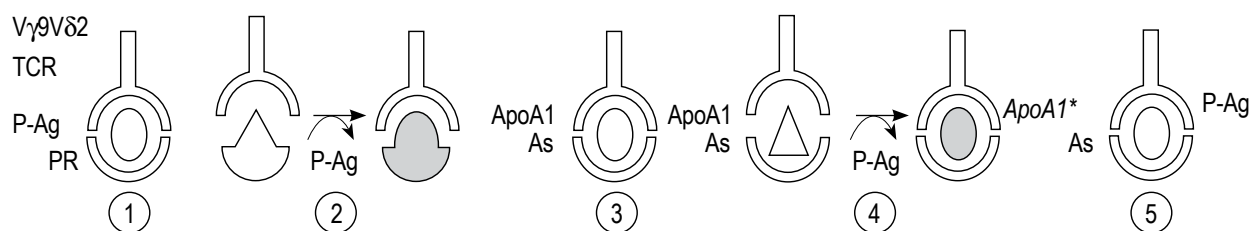


Рисунок 3. Возможные механизмы TCR-опосредованной активации $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клеток фосфорилированными антигенами

Примечания. 1) распознавание комплекса, сформированного фосфоантигеном (P-Ag) и предполагаемыми антиген-презентирующими молекулами (PR); 2) распознавание поверхностных молекул, модифицированных P-Ag; 3) распознавание комплекса АТФ-синтазы (AS) и аполипопротеина А1 (ApoA1); 4) распознавание комплекса AS с ApoA1, модифицированным P-Ag; 5) распознавание P-Ag в комплексе с AS (адаптирован, Thedrez et al., 2007).

в различных тканях [7, 55]. Было показано, что $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты могут распознавать TCR-зависимым способом комплекс, сформированный из аполипопротеина А1 и АТФ-синтазы (AS) — митохондриальный фермент, который транслоцируется на клеточную поверхность нормальных гепатоцитов и некоторых опухолевых клеточных линий [7, 15, 18]. Возможные механизмы TCR-опосредованной активации $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клеток фосфорилированными антигенами представлены на рисунке 3 [49].

Биологические функции $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов

Современные концепции, отражающие все аспекты сложного поведения $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, рассматривают эту популяцию как «клетки первой линии защиты», «регуляторные клетки», или «клетки-посредники между врожденным и приобретенным иммунным ответом» [8, 12, 35]. В связи с тем, что эта популяция комбинирует в себе свойства клеток как врожденного, так и приобретенного иммунного ответа, с точностью нельзя отнести $\gamma\delta$ Т-лимфоциты к той или другой категории клеток. В силу своей гетерогенности популяция $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов обладает многообразными биологическими функциями, которые определяются многими факторами: структурой антигенных рецепторов, распределением клеток в тканях, локальным микроокружением, способом активации клеток и стадией иммунного ответа, на которой происходит их активация и др. [7, 12]. Среди основных биологических эффектов Т-клеток с $\gamma\delta$ TCR выделяют цитотоксичность, иммунорегуляцию, презентацию антигенов и репарацию поврежденных тканей и органов.

Цитотоксическая функция. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты способны проявлять цитотоксичность в отношении инфицированных, опухолевых и аутореактивных клеток организма (рис. 4А). Эффектор-ные функции активированных $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов во многих аспектах схожи с таковыми $\alpha\beta$ Т-кле-

ток: $\gamma\delta$ Т-лимфоциты продуцируют большое количество воспалительных цитокинов (TNF α и IFN γ) и проявляют цитотоксичность в отношении широкого спектра клеток-мишеней. Активированные $\gamma\delta$ Т-лимфоциты синтезируют перфорин, гранзимы, гранулизин, серглицин, катепсин с и серпины. Помимо основных гранзимов, А и В, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты также экспрессируют высокий уровень гранзима с в сочетании с низким уровнем гранзимов D, E, F, G. Наряду с перфорин-гранзимовым путем лизис клеток-мишеней $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами может опосредоваться за счет экспрессии Fas/FasL, TRAIL и NKG2D. Широкий спектр цитотоксической активности и способность этой популяции активироваться TCR-независимым способом ставит $\gamma\delta$ Т-лимфоциты на уровень выше среди киллерных клеток в отношении специфических мишеней [2, 35, 43].

Иммунорегуляторная функция. Наряду с CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD45RB⁺, CD8⁺, NT/NKT, CTLA4⁺, Tr1 и Th3, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты относят к популяции Т-регуляторных клеток, которые играют важную роль в формировании и поддержании иммунологической толерантности. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты вовлекаются в иммунорегуляцию дендритных клеток (DCs), макрофагов, $\alpha\beta$ Т-клеток, гранулоцитов и NK-клеток (рис. 4Б) [2, 8]. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты способны модулировать активность иммунокомпетентных клеток непосредственно либо опосредованно, за счет цитокиновой продукции (про- или противовоспалительного характера), а также активации клеток врожденного иммунитета. [35, 43]

Участие в созревании дендритных клеток. Человеческие $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты способны индуцировать созревание DCs посредством TCR-CD1, а также FasL-Fas взаимодействия. Активация незрелых DCs происходит в 2 этапа. На начальном этапе сигналы от TCRs и NKRs индуцируют экспрессию молекул, принадлежащих к семейству TNF/TNFR (CD40L, FasL, TNF α). Созреванию незрелых DCs при участии $V\delta 2^+$ Т-лимфоцитов

происходит за счет сигнала от CD40L/CD40 молекул, в то время как FasL/Fas взаимодействие опосредует активацию незрелых DCs, индуцированную $V\delta 1^+$ Т-лимфоцитами. Вышеперечисленные молекулы, а также TNF α повышают экспрессию костимулирующих молекул (CD80, CD83, CD86) и молекул МНС I и II класса на незрелых DCs. На заключительном этапе происходит полное созревание DCs в IL-12-продуцирующие клетки за счет сигналов от TLRs и IFN γ Т-клеточного происхождения. В свою очередь DCs индуцируют пролиферацию $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов и способствуют увеличению синтеза цитокинов Th1-типа (TNF α и IFN γ). Это приводит к усилению собственной активации $\gamma\delta$ Т-клеток, опосредует их цитолитический эффект и последующее праймирование провоспалительного адаптивного иммунного ответа [7, 40, 54].

Регуляция $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов. Механизмы, посредством которых $\gamma\delta$ Т-лимфоциты регулируют функциональный потенциал $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов *in vivo*, мало изучены и до конца не выяснены. Экспериментальные исследования показали, что $\gamma\delta$ Т-лимфоциты обладают цитолитической активностью в отношении $\alpha\beta$ Т-клеток [43]. Fas-зависимая способность $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов регулировать $\alpha\beta$ Т-клеточный воспалительный ответ на филогенетически разнообразные микробы была показана как у мышей, так и человека [12]. Доказана киллерная активность $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в отношении CD4 $^+$ Th2-лимфоцитов и макрофагов [25]. Помимо цитолиза $\gamma\delta$ Т-клетки вовлекаются в иммунорегуляцию посредством продукции цитокинов, хемокинов и костимулирующих молекул. Активированные $\gamma\delta$ Т-лимфоциты являются мощным продуцентом IFN γ . Мышиные и человеческие $\gamma\delta$ Т-клетки отвечают на активацию $\alpha\beta$ Т-клеток, экспрессируя IL-21R, лиганд для которого, IL-21, продуцируется активированными CD4 $^+$ Т-клетками. IL-21, как и IL-15, является регулятором активности $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, способствует пролиферации и усиливает перфорин-зависимую цитолитическую функцию [43, 56]. При определенных условиях $\gamma\delta$ Т-клетки также обладают способностью к синтезу Th2-цитокинов (IL-4, IL-10, TGF β) [30]. Резидентные Т-клетки с $\gamma\delta$ TCR синтезируют малоизвестные цитокины: IL-16, который регулирует ответ Th2-лимфоцитов и созревание DCs, а также IL-17B, который опосредует повышение синтеза IL-6 и IL-8 (CXCL8 у человека) [5, 25].

$\gamma\delta$ Т-лимфоциты активно экспрессируют хемокины MIP-1 α (CCL3, macrophage inflammatory protein-1a), MIP-1 β (CCL4), RANTES (CCL5, regulated on activation, normal T-cell expressed, and presumably secreted) и MMIF (macrophage

migration inhibitory factor). Активированные DETC $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, экспрессирующих CCL1, способствуют миграции регуляторных Т-клеток в кожу и тем самым вовлекаются в регуляцию воспалительного ответа [37, 43].

$\gamma\delta$ IELs и DETC, подобно регуляторным CD4 $^+$ CD25 $^+$ Т-клеткам, постоянно экспрессируют GITR (glucocorticoid induced TNF receptor) и обладают антипролиферативным эффектом по отношению к Т-лимфоцитам. Различные субпопуляции $\gamma\delta$ Т-клеток экспрессируют TNFR-подобные молекулы (CD27 и 4-1BB), участвующие в иммунорегуляции за счет вовлечения активированных В-клеток, моноцитов и DCs путем взаимодействия с CD70 и 4-1BBL соответственно [26, 27].

Участие $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоцитов в гуморальном иммунитете. Миграция $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоцитов в лимфоузлы подтверждается присутствием этих клеток в герминальных центрах В-клеточных фолликулов. Их наличие может предполагать прямое влияние на В-клеточный иммунный ответ. Активированные $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты экспрессируют основные костимулирующие молекулы-лиганды для В-лимфоцитов CD154(CD40L), CD134 (OX40), CD70 (CD27L), CD278(ICOS). Характерно, что активированные тонзиллярные $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты имеют цитокиновый и хемокиновый рецепторный профиль, аналогичный T_{FH} (T follicular helper-Т-хелперы с потенциальной В-хелперной активностью). Подобно T_{FH} $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты выполняют *in vitro* хелперную функцию в отношении В-клеток, влияют на продукцию антител, в том числе на переключение классов иммуноглобулинов и формирование аутоантител. Повышенная активность $\gamma\delta$ Т-клеток у человека ассоциируется с высоким титром аутореактивных антител [9, 39].

Антиген-презентирующая функция $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов. В 2005 г. в Moser et al. показали, что $\gamma\delta$ Т-лимфоциты могут выступать в качестве профессиональных APCs и инициировать антиген-специфический ответ у наивных $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов (рис. 4B) [38]. Большинство циркулирующих $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клеток, в отличие от $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, не экспрессируют CCR7, что препятствует их миграции в лимфатические узлы, где большинство Т-лимфоцитов встречаются с антигеном, презентуемым DCs. Однако во время кратковременной антигенной стимуляции $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты могут приобретать фенотип профессиональных APCs [49]. В противоположность DCs, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты должны быть предварительно активированы прежде, чем они начнут захватывать антиген. Активация $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клеток происходит при встрече

с фосфоантигенами в области воспаления или инфекции, куда они мигрируют за счет экспрессии рецепторов к воспалительным хемокинам для осуществления киллинга инфицированных клеток. После активации γδТ-лимфоциты начинают временно экспрессировать хоуминговый рецептор CCR7, который способствует их миграции в дренирующие лимфатические узлы [39]. Более того, на Vγ9Vδ2⁺Т-клетках повышается экспрессия МНС II класса и коstimулирующих молекул (CD40, CD80, CD86) до уровня, сравнимого с таковым у DCs. В таком состоянии γδТ-лимфоциты могут индуцировать первичный ответ αβCD4⁺Т-лимфоцитов как на антигены, презентируемые в составе МНС II и не требующие процессинга (например, *toxic shock syndrome toxin* TSST-1), так и на антигены, требующие процессинга (например, tetanus toxoid и PPD). Активированные γδТ-лимфоциты способны также индуцировать пролиферацию и дифференцировку CD8⁺αβТ-клеток в цитотоксические Т-лимфоциты [10, 38].

Репарация поврежденных тканей. γδТ-клетки способны синтезировать различные типы ростовых факторов (фактор роста кератиноцитов KGF, фактор роста соединительной ткани CTGF, фактор роста фибробластов FGF-9, матрилизин

MMP-7), которые оказывают влияние на эпителиальные клетки и регулируют заживление ран и фибринолиз. Jameson and Havran показали уникальную роль γδIELs в поддержании тканевого гомеостаза в коже мышей [28]. Человеческие Vγ9Vδ2⁺Т-клетки, стимулированные антигеном, также обеспечивают интегративность эпителия во время инфекционного процесса, что играет важную роль в механизмах завершения воспалительного процесса. Способность γδТ-клеток регулировать восстановление и рост эпителиальных слоев может супрессировать воспалительные инфильтраты путем усиления резистентности ткани [25, 30].

Многообразие биологических функций γδТ-лимфоцитов предполагает их участие в иммунологическом контроле инфекционных процессов, опухолевого роста и аутореактивных клонов лимфоцитов в организме как посредством растворимых молекул, так и за счет клеточного контакта [4, 26, 35].

γδТ-лимфоциты и инфекционные заболевания

Вовлечение γδТ-клеток в противоинфекционный иммунитет подтверждено экспериментами

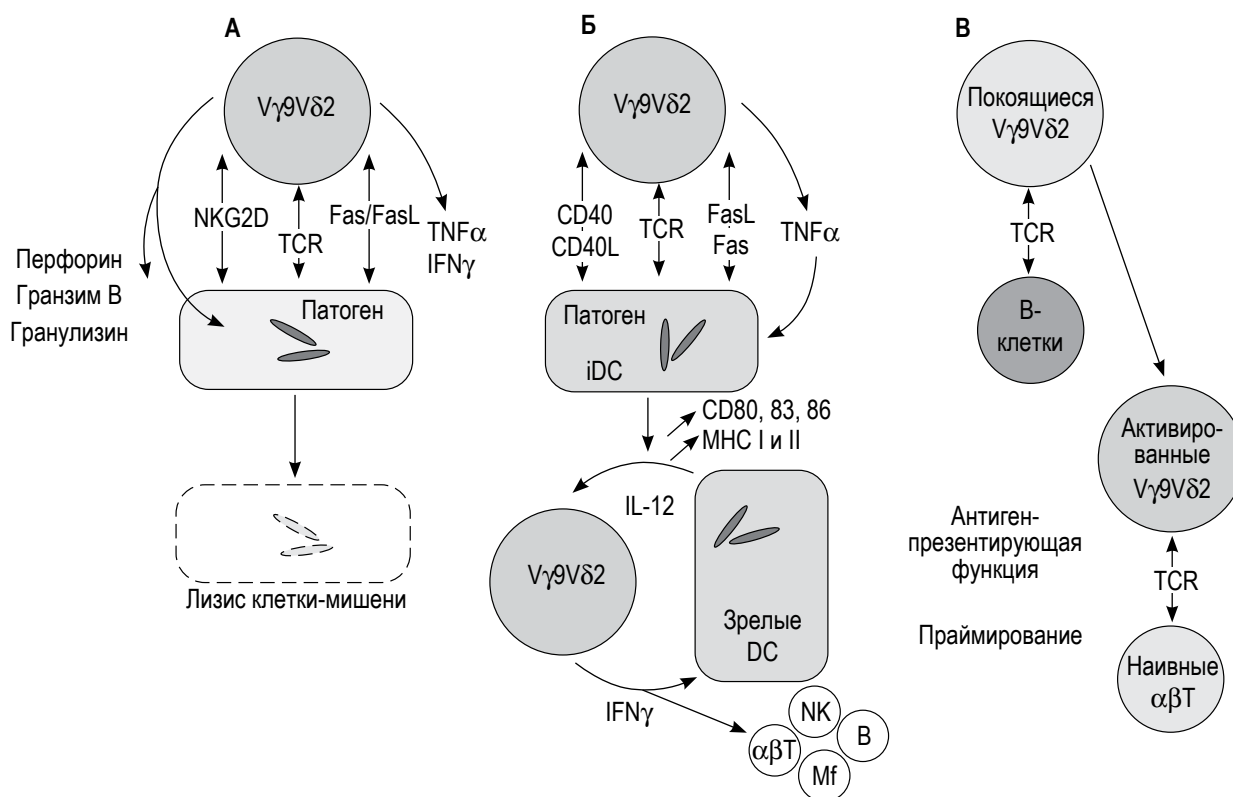


Рисунок 4. Биологические функции γδТ-лимфоцитов: цитолиз клеток-мишеней (А), иммунорегуляция (Б), презентация антигена и праймирование αβТ-клеточного иммунного ответа (В) (адаптирован, Bonneville and Scotet, 2006)

Примечание. iDC – незрелые дендритные клетки, NK – натуральные киллеры, Mφ – макрофаги.

in vitro и *in vivo*. Широкий ряд микробных агентов, синтезирующих фосфоантигены, способствует экспансии $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоцитов, в некоторых случаях до 90% от всех Т-клеток периферической крови, которые могут в таком количестве персистировать до года [41]. Экспериментально доказано участие циркулирующих $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в элиминации ряда бактерий (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycoplasma penetrans*, *Yersenia enterocolitica*, *Francisella tularensis*, *Legionella micdadei*, *Salmonella*, *Brucella*, *Listeria*, *Meningococcus*), вирусов (*Human immunodeficiency virus*, *Herpes simplex virus*) и простейших (*Plasmodium malariae*, *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania*, *Babesia*, *Cryptosporidium*, *Schistosoma mansoni*) [12, 30, 35, 43, 17].

Попадая в организм, микробные антигены инициирует продукцию цитокинов и хемокинов окружающими клетками и тканями (рис. 5А). Микроциркуляторная часть сосудистого русла поддерживает локальный воспалительный каскад, синтезируя хемокины и лиганды для селектинов и интегринов, и способствует формированию раннего инфильтрата за счет миграции гранулоцитов, моноцитов, НК-клеток, а также $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов из периферической крови. Циркулирующие $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клетки, экспрессирующие CCR5 и фенотип клеток-памяти, быстро вовлекаются в воспалительный процесс и реализуют эффекторные функции путем синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов, а также непосредственного лизиса инфицированных клеток. Помимо этого, контакт с инфекционным агентом может приводить к образованию $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоцитов с фенотипом зрелых DCs, которые мигрируют в лимфоузлы, контактируют с наивными Т-клетками в Т-зоне и, презентирова микробные пептиды, индуцируют специфический противоинфекционный иммунитет, опосредованный Т-хелперами, цитотоксичными Т-лимфоцитами и T_{FH} . Локализация $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоцитов в В-зоне способствует генерации специфических антител [8, 39].

Основными иммунологическими механизмами противоинфекционной защиты $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов являются:

1. Прямое распознавание инфицированных клеток за счет собственной мощной литической активности и способности высвобождать провоспалительные цитокины (IFN γ и TNF α), хемокины и антибактериальные соединения, что приводит к ингибированию микробной репликации в инфицированных клетках, деструкции клеток-мишеней и элиминации патогена [19, 37, 47].

2. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты участвуют в созревании незрелых DCs, активируют и впоследствии прай-

мируют как врожденный, так и приобретенный Th1-опосредованный иммунный ответ для осуществления клиренса инфекционного агента. Индукция полной активации незрелых DCs $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами происходит лишь в отношении инфицированных клеток, в которых присутствуют агонисты $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоцитов [35, 40].

3. Активированные $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клетки способны временно экспрессировать CCR7, что обеспечивает их миграцию в лимфоузлы, где они выступают в качестве профессиональных APCs и участвуют в праймировании наивных $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов [4].

4. $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты поддерживают интегративность эпителия, ускоряют заживление и таким образом лимитируют распространение инфекции. Это обеспечивается продукцией ростовых молекул и факторов [37].

Резидентные $\gamma\delta$ Т-лимфоциты слизистых оболочек организма имеют идеальное расположение для участия в инициации иммунного ответа при попадании инфекции во входные ворота. Показано, что ответ $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов может происходить как до, так и после ответа $\alpha\beta$ Т-клеток и определяется локализацией клеток в тканях. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты выполняют различную роль на различных стадиях иммунного ответа при инфекции. В первые дни заболевания, характеризующиеся резким увеличением числа бактерий, количество $\gamma\delta$ Т-клеток значительно возрастает (рис. 5Б). Иммунологические молекулы, продуцируемые $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами на ранних этапах противомикробного иммунитета, регулируют активацию НК-клеток и макрофагов, а также определяют Т-хелперный профиль $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, модулируя как врожденный, так и приобретенный иммунный ответ [12, 43]. Вовлечение $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов может также привлекать другие популяции клеток в область инфекции в ответ на продукцию хемокинов или экспрессию лигандов $\gamma\delta$ TCRs. Второй пик количества $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов приходится на поздний этап иммунного ответа и коррелирует с клиренсом патогена. В это время $\gamma\delta$ Т-лимфоциты регулируют распространение воспаления и клеточно-опосредованного иммунитета за счет продукции противовоспалительных цитокинов (IL-10) и удаления активированных макрофагов. Этот этап не рестриktирован и не предполагает вовлечение специфических $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов. После разрешения иммунного ответа $\gamma\delta$ Т-лимфоциты, ассоциированные с эпителием, участвуют в репарации тканей и регенерации клеток [3, 12, 33].

Примером может являться активация различных субпопуляций $\gamma\delta$ Т-клеток в легких мы-

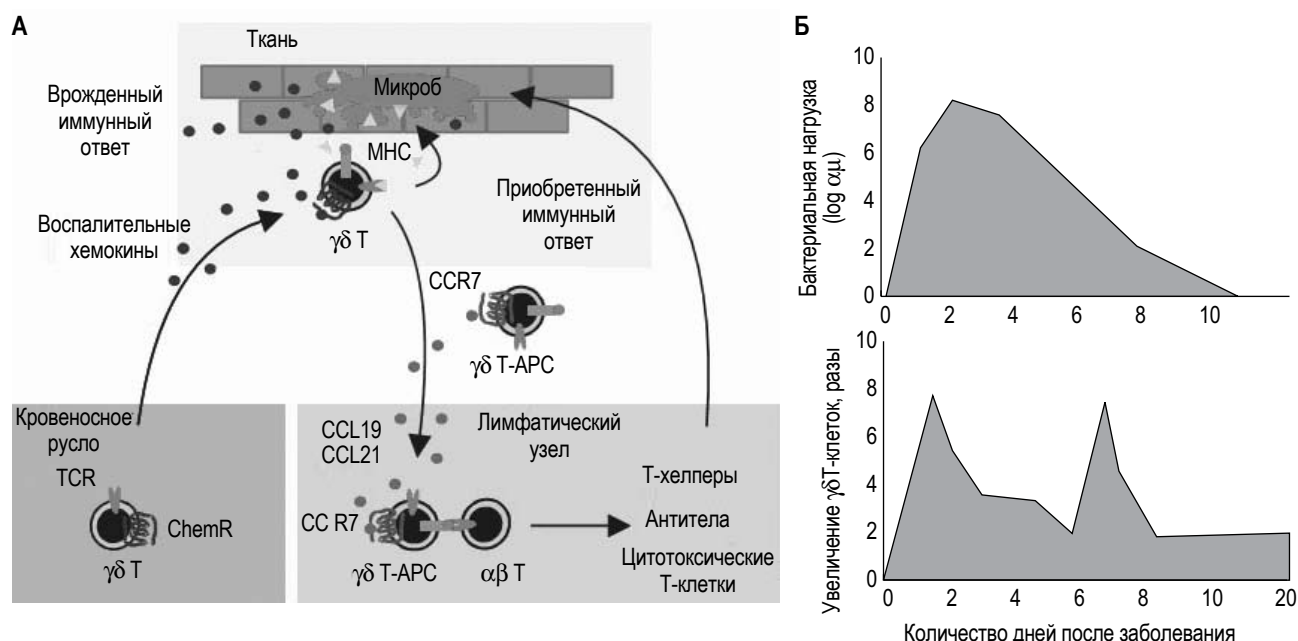


Рисунок 5. Вовлечение $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в приобретенный противоиnфекционный иммунитет (А) и количественная характеристика $\gamma\delta$ Т-клеток на различных стадиях иммунного ответа при инфекции (Б) (адаптирован, Bonneville et al., 2006, Carding et al., 2002)

Примечание. ChemR – хемокиновый рецептор, $\gamma\delta$ Т-АРС – $\gamma\delta$ Т-клетки с антиген-презентирующей функцией.

шей с инфекцией, вызванной вирусом гриппа А. На 10-й день инфекции у мышей увеличивается количество $V\gamma 4^+$ Т-клеток (резидентные $\gamma\delta$ Т-лимфоциты легких), а на 13-й день повышаются $V\gamma 1^+$ Т-клетки, которые в норме локализуются в лимфоидной ткани. Отличия в цитокиновом профиле этих субпопуляций $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов ($V\gamma 4^+$ Т-клетки синтезируют провоспалительные цитокины; $V\gamma 1^+$ Т-клетки синтезируют иммунорегуляторные, противовоспалительные цитокины) подтверждает их разнообразные механизмы действия [12].

$\gamma\delta$ Т-лимфоциты и онкология

Многочисленные исследования свидетельствуют о реактивности *in vivo* как циркулирующих (в некоторых случаях они увеличиваются до 42% МПК), так и резидентных $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов против широкого ряда опухолевых клеточных линий (гемопоэтические опухоли, солидные опухоли, В-клеточные лимфомы, плазмоцитомы и т.д.) [13, 31]. В исследованиях *in vitro* активированные непептидными антигенами человеческие $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клетки показали широкую цитотоксичность к опухолевым клеткам, выделенным из карцином мочевого пузыря, молочной железы, поджелудочной железы, простаты, почки, толстой кишки, лимфом, меланом и миелом, назофарингеальной карциномы, нейробластомы, мелкоклеточного рака легких [4, 22].

По аналогии с участием в противомикробном иммунитете $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-лимфоциты быстро вовлекаются и локально активируются в местах воспаления в процессе онкогенеза. Исследование механизмов идентификации опухолевых клеток предполагает наличие нескольких возможных мишеней для $V\gamma 9V\delta 2^+$ Т-клеток. Метаболиты опухолевых клеток, являющиеся по своей природе фосфоантигенами, могут быть непосредственно транслоцированы и презентированы на клеточной поверхности с помощью пероксисомальных или митохондриальных энзимов, таких как AS, или с помощью до сих пор неидентифицированных презентирующих молекул [37]. Некоторые исследования показали экспрессию F1-АТРазы на опухолевых клетках, которую также могут распознавать $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами при участии аполинпротеина А-1 [8].

Более вероятно, что человеческие $\gamma\delta$ Т-лимфоциты определяют и впоследствии лизируют различные опухолевые линии благодаря NKRs, главным образом NKG2D, которые распознают соответствующие лиганды (MICA и MICB и ULBP1-4) на трансформированных клетках. Связывание лиганда с NKG2D способствует высвобождению $TNF\alpha$, повышает экспрессию рецептора IL-2 α (CD25) и увеличивает клеточную цитотоксичность [37]. Некоторые активированные $\gamma\delta$ Т-клетки также экспрессируют активационный рецептор естественной цитотоксичности NKp44, ингибирование которого снижает цито-

токсичность $\gamma\delta$ T-клеток против клеток миеломы [53].

$\gamma\delta$ T-лимфоциты и аутоиммунная патология

По сравнению с ролью $\gamma\delta$ T-лимфоцитов при инфекционных и опухолевых заболеваниях закономерности функционирования этой популяции при развитии аутоиммунной патологии практически не изучены. Установлено, что одни и те же субпопуляции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов могут участвовать как в иммунном ответе на инфекцию, так и в патогенезе аутоиммунного заболевания [12, 44]. Причем аналогично инфекционному процессу на ранних стадиях аутоиммунной патологии $\gamma\delta$ T-лимфоциты реализуют провоспалительные функции, в то время как на поздних стадиях иммунного ответа — противовоспалительные.

У наивных животных и здоровых людей присутствует широкий ряд аутореактивных $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, которые в норме регулируются посредством следующих предполагаемых механизмов:

- рестриктивное распределение антигенов в тканях и дефицит костимулирующих сигналов;
- критическая высокопороговая доза антигена для активации $\gamma\delta$ T-лимфоцитов;
- зависимость активации $\gamma\delta$ T-лимфоцитов от хелперной активности других клеток;
- ограниченная экспансия или функциональное истощение $\gamma\delta$ T-лимфоцитов после антигенной стимуляции;
- чувствительность $\gamma\delta$ T-лимфоцитов к активационно-индуцированной клеточной смерти;
- короткий период полужизни [2, 12].

С другой стороны, будучи неотъемлемым компонентом слизистых оболочек, $\gamma\delta$ T-лимфоциты принимают участие в формировании периферической толерантности к собственным антигенным структурам организма, что в норме предотвращает развитие аутоиммунной патологии [32]. Иммунорегуляторные механизмы подавления аутореактивных лимфоцитов $\gamma\delta$ T-клетками до конца не изучены, однако регистрируется корреляция улучшения клинического состояния больных аутоиммунной патологией с аккумуляцией $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в слизистой оболочке кишечника [24, 42].

До сих пор остается неизвестным, экспрессируют ли $\gamma\delta$ T-лимфоциты, вовлекаемые на разных уровнях аутоиммунного процесса, отличные рецепторы, либо одни и те же $\gamma\delta$ T-клетки могут выполнять многообразные функции. В любом случае очевидна пластичность $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, о чем свидетельствуют различные эффекторные

свойства одной и той же субпопуляции, определяемые условиями активации этих клеток [12, 25].

Терапия, основанная на использовании $\gamma\delta$ T-клеток

Относительно высокая частота $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-лимфоцитов у большинства людей, их реактивность по отношению к низкомолекулярным непептидным соединениям, которые можно синтезировать *in vitro*, разнообразие эффекторных функций и широкая активность к инфицированным и опухолевым клеткам благоприятствовали развитию новых терапевтических подходов к лечению инфекционных, опухолевых и аутоиммунных заболеваний, основанных на активации и использовании $\gamma\delta$ T-лимфоцитов.

На сегодняшний день соединения, способные стимулировать $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-клетки, используются для клинических и преклинических испытаний у пациентов и приматов, клетки которых имеют близкую гомологию к человеческим $\gamma\delta$ T-лимфоцитам. Терапия, основанная на $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-клеточной активации, уже имеет обнадеживающие результаты и в некоторых случаях сопровождаются ремиссией и стабилизацией заболевания [4, 37]. Экспериментально доказано, что лечение некоторых злокачественных опухолей золендронатом приводит к снижению процента наивных ($CD45RA^+CD27^-$) и центральных $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-клеток-памяти ($CD45RA^+CD27^+$), но при этом увеличивает количество эффекторных $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-лимфоцитов ($CD45RA^-CD27^-$), способных продуцировать большое количество $IFN\gamma$ [20].

Положительные результаты также отмечены при использовании адоптивного переноса $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-клеток, экспандированных *ex vivo* с помощью *Phosphostim* или *2-methyl-3-butenyl-1-pyrophosphate*, при лечении пациентов с почечной карциномой [52]. Достоверный эффект отмечен при совместном введении агонистов $V\gamma 9V\delta 2^+$ T-лимфоцитов и рекомбинантного IL-2, что приводит к значительному увеличению $\gamma\delta$ T-клеток, стабильному ответу или частичной опухолевой ремиссии у некоторых пациентов с гемопозитическими, солидными опухолями или множественной миеломой [4].

Высокая пролиферативная способность, а также открытие антиген-презентирующей функции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов послужили предпосылкой для разработки и создания живых вакцин на основе этой популяции [38]. Создание и использование $\gamma\delta$ T-клеточных вакцин может быть подходящей альтернативой дендритным вакцинам, разработка которых находится все еще в экс-

периментальной фазе из-за некоторых трудностей. В отличие от DCs Vδ2⁺Т-лимфоциты легко изолируются из периферической крови с высокой частотой выделения и обладают высоким пролиферативным потенциалом, что позволяет выращивать их в большом количестве *in vitro* для дальнейшего использования или длительного хранения [4, 37].

В связи с доминированием γδТ-лимфоцитов в слизистых оболочках организма одним из перспективных направлений иммунопатогенетической терапии аутоиммунных заболеваний является создание антиген-специфической пероральной толерантности с помощью введения аутоантигенов через слизистую желудочно-кишечного тракта в комбинации со стимуляцией γδТ-лимфоцитов непептидными фосфоантигенами [32]. Несмотря на эффективное формирование пероральной толерантности и последующее предотвращение развития аутоиммунной патологии в экспериментальных моделях на животных (экспериментальный аллергический энцефаломиелит, коллаген-индуцированный ревматоидный артрит, инсулин-зависимый сахарный диабет, миастения гравис), у пациентов такого эффекта пока не достигнуто, не считая единичные случаи успешных результатов лечения. Например, показана положительная динамика рецидивно-ремиттирующего течения рассеянного склероза у больных, которым были введены активированные алендронатом γδТ-клетки совместно с бычьим миелином, представляющим собой источник потенциальных аутоантигенов [24, 42].

Хотя внутривенное введение специфических непептидных стимуляторов и адоптивный перенос Vγ9Vδ2⁺Т-лимфоцитов имеют относительно низкий уровень токсичности, существует множество проблем, препятствующих использованию Т-клеток с γδTCR в терапевтических целях. В первую очередь эти проблемы связаны с иммунизацией *in vivo*, что может спровоцировать анемию, иммунологическое истощение и/или активационно-индуцированную клеточную смерть. Помимо этого, презентация фосфоантигенов непрофессиональными APCs может также приводить к неполной активации или апоптозу [34]. Другие сложности касаются адоптивной иммунотерапии. Проллиферативный ответ Vγ9Vδ2⁺Т-лимфоцитов *in vitro* у пациентов с раком значительно ниже, чем таковой у здоровых доноров, что объясняется хронической стимуляцией γδТ-клеток, индукцией опухолево-индуцированной специфической или системной энергией и ятрогенными эффектами. Независимо от вовлекаемых механизмов сниженная

пролиферативная активность является важным препятствием, которое может мешать развитию Vγ9Vδ2⁺Т-клеточной адоптивной иммунотерапии. Кроме того, для эффективной реализации своих функций γδТ-клетки должны находиться в определенном соотношении с количеством αβТ-лимфоцитов. В связи с этим у реципиента необходимо создавать предварительные условия организма путем дополнительной деплеции лимфоцитов с применением химиотерапевтических препаратов. Дополнительная проблема, с которой при этом можно столкнуться, связана с терминальной дифференцировкой Vγ9Vδ2⁺Т-лимфоцитов в поздние клетки-памяти: Vγ9Vδ2⁺Т-лимфоциты начинают дифференцироваться в относительно молодом возрасте, так как активирующие их фосфоантигены достаточно широко распространены. Помимо этого, многие взрослые индивидуумы могут быть анергичными или слабо отвечаемыми на стимуляцию фосфоантигенами [37, 49].

Заключение

γδТ-клетки представляют собой минорную МНС-нерестриктивированную популяцию Т-лимфоцитов, которой присущи свойства и функции как клеток врожденного, так и приобретенного иммунитета. Использование γδТ-лимфоцитами как TCRs, так и NKRs для распознавания своих лигандов, выделение среди них функционально специализированных клеточных популяций, коррелирующих с экспрессией вариабельных генов или протеинов TCRs, взаимодействие с клетками врожденного иммунитета на разных уровнях, разнообразие эффекторных функций, иммунорегуляция и их способность к презентации антигенов свидетельствуют об уникальной биологической роли γδТ-лимфоцитов в иммунитете.

Исследования γδТ-лимфоцитов за последние 5 лет дали новую информацию о специфичности, способе активации, и функциях человеческих γδ Т-лимфоцитов *in vivo*. Высокая активность по отношению к микробным фосфоантигенам позволяет Vγ9Vδ2⁺Т-клеткам определять клетки-мишени, инфицированные даже одной микобактерией, либо обеспечивает эффективное распознавание аутореактивных и опухолевых клеток. Однако до сих пор мало известно о природе антигенов и точных механизмах их идентификации человеческими γδТ-лимфоцитами. В связи с этим основные усилия исследователей направлены на изучение терапевтического потенциала данной популяции, поиск и продукцию γδТ-клеточных агонистов, а также планирование

и оптимизацию терапевтических протоколов, мишенью которых являются $\gamma\delta$ Т-лимфоциты.

Список литературы

1. Adams E., Chien Y-H., Garcia K. Structure of a $\gamma\delta$ T cell receptor in complex with the nonclassical MHC T22 // *Science*. — 2005. — Vol. 308. — P. 227-231.
2. Beissert S., Schwarz A., Schwarz T. Regulatory T cells // *Journal of Investigative Dermatology*. — 2006. — Vol. 126. — P. 15-24.
3. Boismenu R., Havran W. Intraepithelial $\gamma\delta$ T cells exposed by functional genomics // *Genome Biology*. — 2001. — Vol. 2 — P. 1031-1035.
4. Bonneville M., Scotet E. Human V γ 9V δ 2 T cell: promising new leads for immunotherapy of infections and tumors // *Current Opinion in Immunology*. — 2006. — Vol. 18. — P. 539-546.
5. Bonneville M. Selection of intraepithelial $\gamma\delta$ T cells: the holy GrIEL at last? // *Nature Immunology*. — 2006. — Vol. 7. — P. 791-792.
6. Bonneville M., Fournie J. Sensing cell stress and transformation through V γ 9V δ 2 T-cell mediated recognition of the isoprenoid pathway metabolites // *Microbes Infection*. — 2005. — Vol. 7. — P. 503-509.
7. Born W., Jin N., Aydtung K., Wands J., French J., Roark C., O'Brien R. $\gamma\delta$ T lymphocytes — selectable cells within the innate system? // *Journal of Clinical Immunology*. — 2007. — Vol. 7. — P. 133-144.
8. Born W., Reardon R., O'Brien R. The function of $\gamma\delta$ T cells in innate immunity // *Current Opinion in Immunology*. — 2006. — Vol. 18. — P. 31-38.
9. Brandes M., Willmann K., Lang A., Nam K., Jin C., Brenner M., Morita C., Moser B. Flexible migration program regulates $\gamma\delta$ T cell involvement in humoral immunity // *Blood*. — 2003. — Vol. 102. — P. 3693-3701.
10. Brandes M., Willmann K., Moser B. Professional antigen-presentation function by human $\gamma\delta$ T cells // *Science*. — 2005. — Vol. 309. — P. 264-268.
11. Brenner M., McLean J., Dialynas D., Strominger J., Smith J., Owen F., Seidman J., Ip. S., Rosen F., Krangel M. Identification of a putative second T cell receptor // *Nature*. — 1986. — Vol. 322. — P. 145-149.
12. Carding S., Egan P. $\gamma\delta$ T cells: functional plasticity and heterogeneity // *Nature Reviews*. — 2002. — Vol. 2. — P. 336-345.
13. Cassetti R., Martino A. The plasticity of gamma delta T cells: innate immunity, antigen and new immunotherapy // *Cell Mol Immunol*. — 2008. — Vol. 5. — P. 161-170.
14. Chien Y-U., Jores R., Crowley M. Recognition by $\gamma\delta$ T cells // *Annual Reviews Immunology*. — 1996. — Vol. 14. — P. 511-532.
15. Chien Y-U., Konigshofer Y. Antigen recognition by $\gamma\delta$ T cells // *Immunological Reviews*. — 2007. — Vol. 15. — P. 46-58.
16. Crowley M., Reich Z., Mavaddat N., Altman J., Chien Y-H. The recognition of the nonclassical major histocompatibility complex (MHC) class I molecule, T10, by the $\gamma\delta$ T cell, G8 // *J. Exp. Med*. — 1997. — Vol. 185. — P. 1223-1230.
17. Das H., Groh V., Kuijl C., Sugita M., Morita C., Spies T., Bukowski J. MICA engagement by human Vgamma2Vdelta2 T cells enhances their antigen-dependent effector function // *Immunity*. — 2001. — Vol. 15. — P. 83-93.
18. Davis M., Bjorkman P. T cell antigen receptor genes and T cell recognition // *Nature*. — 1988. — Vol. 334. — P. 395-402.
19. De Rosa S., Andrus J., Perfetto S., Mantovani J., Herzenberg L., Roederer M. Ontogeny of $\gamma\delta$ T cells in humans // *J. Immunol*. — 2004. — Vol. 172. — P. 1637-1645.
20. Dieli F., Poccia F., Lipp M., Sireci G., Caccamo N., Di Sano C., Salerno A. Differentiation of effector/memory V δ 2 T cells and migratory routes in lymph nodes or inflammatory sites // *J. Exp. Med*. — 2003. — Vol. 198. — P. 391-397.
21. Girardi M. Immunosurveillance and immunoregulation by $\gamma\delta$ T cells // *Journal of Investigative Dermatology*. — 2006. — Vol. 126. — P. 25-31.
22. Gober H., Kistowska M., Angman L., Jenö P., Mori L., De Libero G. Human T cell receptor $\gamma\delta$ cells recognize endogenous mevalonate metabolites in tumor cells // *J. Exp. Med*. — 2003. — Vol. 197. — P. 163-168.
23. Groh V., Steinle A., Bauer S., Spies T. Recognition of stress-induced MHC molecules by intestinal epithelial $\gamma\delta$ T cells // *Science*. — 1998. — Vol. 79. — P. 1737-1740.
24. Hnninen A., Harrison L. $\gamma\delta$ T cells as mediators of mucosal tolerance: the autoimmune diabetes model // *Immunological reviews*. — 2000. — Vol. 173. — P. 109-119.
25. Hayday A., Tigelaar R. Immunoregulation in the tissues by $\gamma\delta$ T cells // *Nature Reviews*. — 2003. — Vol. 3. — P. 233-242.
26. Hayday A. $\gamma\delta$ cells: a right time and a right place for a conserved third way of protection // *Annual Reviews Immunology*. — 2000. — Vol. 18. — P. 975-1026.
27. Hayday A., Theodoridis E., Ramsburg E., Shires J. Intraepithelial lymphocytes: exploring the third way in immunology // *Nature Immunology*. — 2001. — Vol. 2 — P. 997-1003.

28. Jameson J., Havran W. Skin γδT cell functions in homeostasis and wound healing // *Immunological Reviews*. — 2007. — Vol. 15. — P. 114-122.
29. Jomaa H., Feurle J., Luhs K., Kunzmann V., Tony H., Herderich M., Wilhelm M. Vγ9/Vδ2 T cell activation induced by bacterial low molecular mass compounds depends on the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis // *FEMS Immunol Med Microbiol*. — 1999. — Vol. 5. — P. 371-378.
30. Kabelitz D., Marischen L., Oberg H., Holtmeier W., Wesch D. Epithelial defence by γδT cells // *International Archives Allergy Immunology*. — 2005. — Vol. 137. — P. 73-81.
31. Kabelitz D., Wesch D., He W. Perspectives of gammadelta T cells in tumor immunology // *Cancer Research*. — 2007. — Vol. 67. — P. 5-8.
32. Kapp J., Kapp L., McKenna K. Gammadelta T cells play an essential role in several forms of tolerance // *Immunology Research*. — 2004. — Vol. 9. — P. 93-102.
33. Kronenberg M., Havran W. Frontline T cells: γδT cells and intraepithelial lymphocytes // *Immunological Reviews*. — 2007. — Vol. 15. — P. 5-7.
34. Kusnierczyk P. Antigen peptide/MHC complex as an initiator of a signal for lymphocyte T activation // *Postepy Hig. Med. Dosw.* — 1999. — Vol. 53. — P. 331-341.
35. Mincheva-Nilsson L. Pregnancy and γδT cells: taking on the hard questions // *Reproductive Biology and Endocrinology*. — 2003. — Vol. 1. — P. 120-131.
36. Morita C., Beckman E., Bukowski J., Tanaka Y., Band H., Bloom B., Golan D., Brenner M. Direct presentation of nonpeptide prenylpyrophosphate antigens to human γδ T cells // *Immunity*. — 1995. — Vol. 3. — P. 495-507.
37. Morita C., Jin C., Sarikonda G., Wang H. Nonpeptide antigens, presentation mechanisms, and immunological memory of human Vγ2Vδ2 cells: discriminating friend from foe through the recognition of prenyl pyrophosphate antigens // *Immunological Reviews*. — 2007. — Vol. 215. — P. 59-76.
38. Moser B., Brandes M. γδ T cells: an alternative type of professional APC // *Trends in Immunology*. — 2006. — Vol. 27. — P. 112-118.
39. Moser B., Eberl M. γδT cells: novel initiators of adaptive immunity // *Immunological Reviews*. — 2007. — Vol. 215. — P. 89-102.
40. Mnz C., Steinman R., Fujii S. Dendritic cell maturation by innate lymphocytes: coordinated stimulation of innate and adaptive immunity // *Journal of Experimental Medicine*. — 2005. — Vol. 202. — P. 203-207.
41. Nanno M., Shiohara T., Yamamoto H., Kawakami K., Ishikawa H. γδT cells: firefighters or fire boosters in the front lines of inflammatory responses // *Immunological Reviews*. — 2007. — Vol. 215. — P. 103-113.
42. Odyniec A., Szczepanik M., Mycko M., Stasiolek M., Raine C., Selmaj K. γδT cells enhance the expression of experimental autoimmune encephalomyelitis by promoting antigen presentation and IL-12 production // *The Journal of Immunology*. — 2004. — Vol. 173. — P. 682-694.
43. Pennington D., Vermijlen D., Wise E., Clarke S., Tigelaar R., Hayday A. The integration of conventional and unconventional T cells that characterizes cell-mediated responses // *Advances in Immunology*. — 2005. — Vol. 87. — P. 27-59.
44. Poggi A., Catellani S., Fenoglio D., Borsellino G., Battistini L., Zocchi M. Adhesion molecules and kinases involved in gammadelta T cells migratory pathways: implications for viral and autoimmune diseases // *Curr. Med. Chem.* — 2007. — Vol. 14. — P. 3166-3170.
45. Porcelli S., Brenner M., Greenstein J., Balk S., Terhorst C., Bleicher P. Recognition of cluster of differentiatonal antigens by human CD4-CD8- cytolytic T lymphocytes // *Nature*. — 1989. — Vol. 341. — P. 447-450.
46. Scotet E., Martinez L., Grant E., Barbaras R., Jenou P., Saulquin X. Tumor recognition following Vγ9Vδ2 T cell receptor interactions with a surface F1-ATPase-related structure and apolipoprotein A-1 // *Immunity*. — 2005. — Vol. 22. — P. 71-80.
47. Spada F., Grant E., Peters P., Sugita M., Melian A., Leslie D., Lee H., van Donselaar E., Hanson D., Krensky A., Majdic O., Porcelli S., Morita C., Brenner M. Self-recognition of CD1 by gamma/delta T cells: implications for innate immunity // *J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 191. — P. 937-948.
48. Tanaka Y., Morita C., Nieves E., Brenner M., Bloom B. Natural and synthetic non-peptide antigens recognized by human γδT cells // *Nature*. — 1995. — Vol. 375. — P. 155-158.
49. Thedrez A., Sabourin C., Gertner J., Devilder M., Allain-Maillet S., Fournie J., Scotet E., Bonneville M. Self/non-self discrimination by human γδT cells: simple solutions for a complex issue? // *Immunological Reviews*. — 2007. — Vol. 15. — P. 123-135.
50. Thompson K., Rogers M. Statins prevent biphosphonate-induced gamma delta T cell proliferation and activation *in vitro* // *J. Bone Miner. Res.* — 2004. — Vol. 19. — P. 278-288.
51. Thompson K., Rojas-Navea J., Rogers M. Alkylamines cause Vγ9Vδ2 T cell activation and proliferation by inhibiting the mevalonate pathway // *Blood*. — 2006. — Vol. 107. — P. 651-654.
52. Viey E., Fromont G., Escudier B., Morel Y., Da Rocha S., Chouaib S., Caignard A. Phosphostim-

activated gamma delta T cells kill autologous metastatic renal cell carcinoma // J. Immunol. — 2005. — Vol. 174. — P. 1338-1347.

53. Von Lilienfeld-Toal M., Nattermann J., Feldmann G., Sievers E., Frank S., Strehl J., Schmidt-Wolf I. Activated $\gamma\delta$ T cells express the natural cytotoxicity receptor natural killer p44 and show cytotoxic activity against myeloma cells // Clin Exp. Immunol. — 2006. — Vol. 144. — P. 528-533.

54. Wands J., Roark C., Aydintug M., Jin N., Hahn Y.-S., Cook L. Distribution and leukocyte contacts of gdT cells in the lung // J. Leukocyte Biol. — 2005. — Vol. 78. — P. 1086-1096.

55. Wang H., Lee H., Bulowski J., Li H., Mariuzza R., Chen Z., Nam K., Morita C. Conservation of nonpeptide antigen recognition by rhesus monkey V γ 9V δ 2 T cells // J. Immunol. — 2003. — Vol. 170. — P. 3696-3706.

56. Zhao H., Nguyen H., Kang J. Interleukin 15 controls the generation of the restricted T cell receptor repertoire of gd intestinal intraepithelial lymphocytes // Nat. Immunol. — 2005. — Vol. 6. — P. 1263-1271.

поступила в редакцию 24.01.2009

отправлена на доработку 04.03.2009

принята к печати 05.03.2009