**РОЛЬ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ T-КЛЕТОК В ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОГО ОТВЕТА**

*Введение*

Традиционный иммунологический подход рассматривает иммунный ответ как результат взаимодействия между клетками посредством системы сигнальных молекул и рецепторов, инициирующих активацию иммунокомпетентных клеток в ответ на чужеродные агенты. Согласно этому подходу, иммунная система реагирует на инфекционные агенты и другие угрозы организма путем активации клеток, что приводит к целенаправленной защите от патогенов. Подобная модель, однако, не вполне полноценно способна объяснить ряд наблюдаемых аутоиммунных процессов [7, 85], парадоксальные иммунологические явления при онкологии, например, отсутствие ответа на T-клеточную терапию при солидных опухолях [11, 57, 76], феноменальное реагирование иммунных клеток на микросреду [38, 52, 71] и ряд других свойственных иммунной системе эффектов. Постепенное развитие смежных областей привело к понимаю того, что инициация и регуляция биохимических путей может осуществляться и посредством механических стимулов [13, 41, 60]. Клетки способны ощущать механическую жесткость своего окружения и собственных компонентов, изменяя ряд клеточных функций [37]. Кроме того, немаловажную роль в клеточном взаимодействии играют физические силы, создаваемые клетками при помощи биохимических каскадов [37, 83]. Рассмотрение подобной двунаправленной регуляторной системы в иммунологическом контексте послужило основанием к созданию особой области иммунологи, именуемой механоиммунологией [2, 12, 17, 48, 92, 96].

Клетки адаптивного иммунитета занимают центральное место в иммунном ответе. Они не только обеспечивают специфическое распознавание антигенов, но и формируют долговременную иммунную память. Особое место в адаптивном иммунном ответе занимают T-лимфоциты. Различные популяции T-клеток обеспечивают выполнение своей специфичной функции. Уникальность Т-клеток заключается в их способности распознавать антигены в комплексе с молекулами MHC, что обеспечивает высокую точность иммунного ответа [1]. Широкое распространение получают биоинженерный методики, связанные с T-клетками, в частности CAR-T клеточная терапия, основанная на генетической модификации T-клеток ex vivo [15, 81].

Накопленные за последние годы данные указывают на значительную роль механической регуляции в T-клеточном ответе [2, 48, 82]. Исследования показали, что механические сигналы могут модулировать миграцию, пролиферацию и дифференцировку T-клеток, а также изменять их способность к распознаванию антигенов. Несмотря на это механоиммунология, особенно в контексте T-лимфоцитов, является сравнительно новой областью, ряд фундаментальных и прикладных медицинских вопросов в которой остается недостаточно изученным. Так, например, не до конца понятно место механической регуляции иммунных функций в патологических процессах при заболеваниях. До сих пор нет попыток устанавливать корреляции, которые подтверждали бы имеющиеся предположения. Кроме того, нет разработанных терапевтических методик, которые бы использовали новейшие фармакологические достижения с целью механорегуляции T-клеточного ответа. Однако прогресс в данной области, видимый уже сейчас, позволяет утверждать, что понимание реагирования T-клеток на механические стимулы может открыть новые горизонты в иммунотерапии и лечении аутоиммунных и онкологических заболеваний [34, 84, 104].

В связи с ростом числа исследований, проводимых в данной области, возникает необходимость систематизации имеющихся знаний. Предпринятые попытки, как правило, не рассматривают механоиммунологический вопрос с медико-фармакологической точки зрения [2, 12, 48, 66, 70]. Детальный анализ, включающий обзор существующих исследований, посвященных влиянию механических факторов на Т-лимфоциты, анализ молекулярных и клеточных механизмов, через которые механические стимулы влияют на функцию Т-клеток, исследование роли механических факторов в патогенезе различных заболеваний, а также обзор перспективных биоинженерных и фармакологических методик, способных оказывать влияние на восприятие механических стимулов, способствовал бы более быстрому развитию области и направил бы исследования в сторону изучения не только фундаментальных, но и прикладных аспектов механической регуляции.

Целью данного обзора является систематизация современных данных о механоиммунологии T-лимфоцитов, анализ ключевых механорегуляторных путей и их влияния на иммунный ответ. В работе рассматриваются основные механосенсорные свойства, вовлеченные в функционирование T-клеток, а также их медицинская значимость. Отдельное место отведено анализу возможных фармакологических методик.

*Механизмы механочувствительности*

Рассмотрение механоиммунологии T-лимфоцитов следует начать с краткого описания механизмов механочувствительности. Принято выделять следующие ключевые молекулы, участвующие в реакциях механосенсинга.

Piezo 1 – это механочувствительный ионный канал, который активируется в ответ на механическое растяжение мембраны. Он представляет собой крупный трансмембранный белок, формирующий тримерную структуру, которая реагирует на деформацию липидного бислоя. При механическом воздействии конформационные изменения в структуре Piezo1 приводят к открытию канала и входу ионов кальция в клетку. Это инициирует каскад сигнальных событий, что, в свою очередь, приводит к изменению клеточной пролиферации, миграции и дифференцировки [18, 36, 97].

Интегрины представляют собой трансмембранные рецепторы, связывающие внеклеточный матрикс с актиновым цитоскелетом клетки. Эти белки формируют фокальные контакты, которые участвуют в механотрансдукции – процессе преобразования механических сигналов в биохимические каскады. При механическом напряжении или изменении жесткости внеклеточного матрикса интегрины активируются, что приводит к рекрутированию белков фокального адгезионного комплекса, таких как талин и винкулин. Это запускает сигнальные пути, за счет активации киназы фокальной адгезии FAK и RhoA, регулируя клеточную адгезию, миграцию и активацию. Интегрины также взаимодействуют с другими механочувствительными путями, например, с YAP/TAZ, что обеспечивает интеграцию механических сигналов с различными клеточными программами [32, 43, 106].

YAP (Yes-ассоциированный белок; механосенсор, механотрансдуктор) – это транскрипционный кофактор, играющий важную роль в механочувствительной регуляции генной экспрессии. Он активируется в ответ на механические сигналы, такие как натяжение клеточного цитоскелета, жесткость внеклеточного матрикса и межклеточные взаимодействия. В неактивном состоянии YAP удерживается в цитоплазме за счёт фосфорилирования киназами Hippo-пути, такими как LATS1/2. При механическом растяжении или увеличении клеточного напряжения этот тормозящий механизм ослабляется, и YAP транслоцирует в ядро, где он взаимодействует с факторами транскрипции TEAD, активируя экспрессию генов, регулирующих пролиферацию, выживание и дифференцировку клеток [9, 44, 67].

Актин играет центральную роль в механочувствительности, обеспечивая структурную поддержку клетки и реагируя на механические сигналы путем перестройки цитоскелета. Полимеризация и деполимеризация актина регулирует клеточную жесткость, миграцию и передачу механических сигналов к ядру. Актиновый цитоскелет взаимодействует с интегринами, Piezo 1 и YAP, формируя механическую систему, которая регулирует клеточный ответ на внешние воздействия. Изменения в организации актина могут модулировать активацию механочувствительных путей, что критически важно для ответа на механические стимулы [54, 77, 77].

*Активация T-клеток напряжением сдвига*

Находясь в организме T-клетки, постоянно подвергаются воздействию напряжения сдвига, возникающего в кровотоке и лимфатической системе [3, 21, 22, 62]. Современные исследования показывают, что T-клетки способны реагировать на сдвиговое напряжение [19, 31, 74, 95]. Понимание механизмов взаимодействия потоков жидкости и путей механочувствительности является ключевым фактором для объяснения наблюдаемых реакций.

Обнаружено, что T-клетки способны дополнительно усиливать CD3/CD28-опосредованную активацию в ответ на действие напряжения сдвига жидкости [31, 74]. Исследования показали, что в клетках линии Jurkat и в человеческих CD4+-, а также CD8+-T-лимфоцитах при одночасовом воздействии постоянным и равномерным напряжением сдвига жидкости 5 дин/см2 усиливается приток ионов кальция через механочувствительные каналы Piezo 1. Предполагается, что, выступая в качестве вторичного мессенджера, ион кальция активирует кальциневрин, инициируя фосфорилирование ZAP70. При этом усиливается экспрессия транскрипционных факторов NF-κB, NFAT и AP-1, а также увеличивается продукция цитокинов IL-2, TNF-α, IFN-γ [31, 74]. Изучение динамики подобного стимула в течении 10 дней позволило установить, что максимум активации NF-κB наблюдался на 3 день и даже на 7 день уровень фосфорилирования NF-κB оставался значительно выше в клетках, подвергавшихся воздействию сдвигового напряжения [74]. Немаловажно, что сразу после подобной сочетанной стимуляции происходило значимое повышение уровня фосфорилирования c-Fos, а также усиление ядерной транслокации NFATc1. Исследователи также отмечают, что уровень усиления переноса NFATc1 в ядро даже при воздействии только напряжением сдвига жидкости сопоставим с усилением соответствующей величины при стимуляции антителами к CD3/CD28 в статических условиях. Кроме того, воздействие напряжением сдвига жидкости значимо усиливало пролиферацию T-клеток, экспрессию CD107, гранзима B и перфорина в CD8+-T-лимфоцитах [74].

Изначально предполагалось, что данное свойство может лечь в основу объяснения синдрома высвобождения цитокинов у пациентов с гипертензией, а также явления усугубления аутоиммунных заболеваний у данной группы пациентов [31]. Однако в более позднем исследовании, основываясь на непостоянстве напряжения сдвига крови и данных о невозможности активации T-клеток прерывистым потоком кальция, был сделан вывод о нецелесообразности такой идеи [74]. Между тем аналогичный механизм активации, но под действием сил динамического давления частиц, наблюдается, по всей видимости, в исследованиях ex vivo активации T-клеток под действием наномоторов [19, 95]. При этом очевидно, что движение наномотора представляет собой неравномерный процесс, а значит в данных работах наблюдалась активация T-клеток меняющимся механическим стимулом. Косвенно это подтверждает предположение об участии напряжения сдвига крови в аутоиммунных процессах при гипертензии. Кроме того, активно обсуждается применение данного свойства для активации T-клеток ex vivo при T-клеточных терапиях как возможного варианта дешевого повышения их эффективности [31, 74]. Список гипотетических приложений можно продолжать. Сюда, например, могут входить и реакция трансплантат-против-хозяина, и отторжение трансплантата, при которых локальное уменьшение кровотока теоретически способно увеличить вероятность приживления.

Стоит отметить, что до сих пор остается непонятной физиологическая роль указанного механизма. В представленных статьях часто наблюдалась значимое увеличение уровня активации различных факторов даже при воздействии только напряжением сдвига [74]. Можно предположить, что подобным путем в циркулирующих биологических жидкостях создается фон активированных T-клеток. Помимо создания фона функционирующих T-клеток, активация посредством сдвигового напряжения, очевидно, упрощает включение клеточного ответа в биологических жидкостях. Это может означать, что попадание антигенов в кровь, лимфу и другие движущиеся физиологические жидкости распознается организмом как более серьезная угроза по сравнению с их нахождением в периферических тканях. Тем не менее по-прежнему неясен рабочий диапазон напряжений сдвига Piezo 1.

*Механозависимость миграции*

Миграция T-лимфоцитов является ключевым процессом в поддержании иммунного гомеостаза и эффективного иммунного ответа. Она включает несколько видов, которые регулируются различными молекулярными механизмами. Интегрин-зависимая миграция характеризуется взаимодействием интегринов с внеклеточным матриксом и связана ретроградным поток актина [6, 33, 68, 72, 79, 87]. Она представляет собой ключевой процесс, при помощи которого реализуется в том числе и проникновение T-клеток через эндотелий [75]. В последние годы установлена возможность перемещения T-лимфоцитов без прикрепления к внеклеточному матриксу. Оно получило название интегрин-независимой миграции [5, 45, 69, 93]. Исследователи отмечают, что данные два механизма движения не являются взаимоисключающими и могут реализовываться одновременно.

Удалось установить, что интегрин-зависимая хемокиновая миграция T-лимфоцитов является механозависимым процессом [49]. Было показано, что при стимуляции хемокином происходит фосфорилирование FAK, приводящее к формированию фокальных контактов. Наблюдаемое далее локальное увеличение натяжения мембраны обуславливает активацию ионного канала Piezo 1 и приток ионов кальция внутрь Т-клеток. Активация кальпаина способствует полимеризации F-актина и привлечению интегринов к переднему краю. Интегриновая индукция запускает PI3K/Akt-сигнальный путь, активирующий Rho ГТФазу. Увеличивается полимеразция F-актина, и за счет актомиозиновых сокращений F-актин ретроградно перемещается в заднюю часть клетки, что позволяет клеткам двигаться по градиенту хемокинов вперед. В недавнем исследовании было также показано снижение миграционной способности T-клеток в ориентированном пространстве по сравнению с геометрически неправильным, что, возможно, связано с воздействием внеклеточного матрикса на мембрану T-клеток [73]. Логично предположить, что в геометрически неправильном пространстве сила натяжения мембраны выше, что облегчает открытие канала Piezo 1.

Подобное участие механизма механотрансдукции в T-клеточной миграции открывает новые возможности для объяснения снижения миграционной способности T-клеток при ряде патологических состояний, связанных с изменением плотности их окружения. Так, например, при хронических инфекциях и заболеваниях, а также при опухолевых процессах возможно изменение внеклеточного матрикса, что усложняет образование фокальных контактов и миграцию T-лимфоцитов в очагах воспаления и возле опухолевых клеток [11, 52, 91].

Кроме того, участие Piezo 1 в миграции T-лимфоцитов позволяет использовать данный канал в качестве инновационной терапевтической мишени. Например, при лечении аутоиммунных заболеваний возможно снижение миграции T-клеток за счет разобщения внешних и внутренних активационных процессов посредством ингибирования Piezo 1. Усиление миграционной способности T-клеток за счет активации Piezo 1 гипотетически может способствовать улучшению проникновения T-клеток внутрь опухоли и как следствие повышению эффективности T-клеточных терапий. Уже существует ряд фармакологических методик, направленных на указанный канал, однако до сих пор их применение в рамках иммунологического контекста не обсуждалось [42].

Не очень ясны также механизмы интегрин-независимой миграции. Исследования показали, что T-клетки сохраняют способность к миграции даже в отсутствии фокальных контактов. Ключевую роль в подобном виде перемещения играет, по-видимому, геометрия окружения [69]. Нельзя исключать возможность участия в данном процессе Piezo 1, так как различная пространственная топология, очевидно, влияет на величину поверхностного натяжения. В одном из недавних исследований было установлено, что на суспензированных эритроцитах увеличение угла наклона микропипетки приводило к сильному входу кальция через Piezo 1, коррелирующему с потоком F-актина в область притока кальция [88]. Вероятно, могут существовать неустановленные механизмы сопряжения активации Piezo 1 и перемещения F-актина, которые, в частности, обуславливают и миграционную способность неадгезированных T-клеток в геометрически нестандартном окружении.

*Жесткость микросреды*

Жесткость внеклеточного матрикса существенно меняется в различных тканях и при различных состояниях [20, 26, 27, 51, 56, 59]. При сравнении здоровых легких и костного мозга жесткость изменяется от 0,4 до 7-10 кПа соответственно [59]. Между нормальными и опухолевыми тканями она может варьировать от 0,5 до 48 кПа [56].

Оказалось, что T-клетки способны воспринимать жесткость микросреды. Многие исследователи сходятся во мнении, что ключевую роль в восприятии жесткости микросреды играет YAP. В мягкой среде YAP1, фосфорилированный по Ser397, связывается с IQGAP1 в цитоплазме, что способствует взаимодействию IQGAP1 и фосфорилированного NFAT1, в результате чего NFAT1 не перемещается в ядро [55]. В жесткой же среде уровень фосфорилирования YAP1 по Ser397 снижен [55]. Уменьшается взаимодействие IQGAP1 и NFAT1, что дает возможность кальциневрину дефосфорилировать остатки серина и треонина NFAT1, влияя на его транслокацию в ядро [55]. Подобная регуляция при переходе от жесткого окружения к мягкому хорошо согласуется со снижением активации T-клеток. Было показано, что в активированных CD8+-T-клетках, увеличивается экспрессия YAP1, что, по всей видимости, способствует ограничению активации цитотоксических T-лимфоцитов для предотвращения чрезмерных эффектов [46]. При нокауте YAP1 в этих клетках происходило увеличение экспрессии воспалительных цитокинов и повышалась цитотоксичность. Кроме того, YAP1 влияет на Treg-клетки. В условиях дефицита YAP1 наблюдается снижение иммунносупрессивной функции Treg-лимфоцитов [4, 61]. Индукция YAP1 усиливает активацию сигнальных путей, опосредованных TGFβ и SMAD в Treg-клетках [61].

В недавнем исследовании обнаруживается еще один интересный результат. Ингибирование YAP1 приводило к более выраженной активации T-клеток в геометрически неправильном пространстве по сравнению с ориентированным [73]. Особенно ярко это проявлялось в изменении профиля таких маркеров, как PD1, CD44, CD69, а также цитокинов IL-2 и IFNγ. Примечательно, что в свете обсуждений о возможности участия Piezo 1 в активации YAP1 [30, 103] наблюдаемое явление гипотетически может свидетельствовать о превалирующей роли оси Piezo 1-YAP1 в T-клеточной регуляции по сравнению с другими активирующими YAP механизмами. Косвенно это указывает на участие Piezo 1 в сигнальном пути Hippo, однако не исключено существование других механизмов механочувтсвительности, задействующих YAP.

Не менее важным аспектом подобного вида регуляции иммунного ответа является YAP-индуцированное метаболическое перепрограммирование активированных T-клеток [4, 55]. При нокауте YAP наблюдается увеличение гликолитической способности, усиление митохондриального дыхания, увеличение скорости потребления кислорода, резервной дыхательной способности.

Стоит, однако, отметить, что YAP-опосредованная активация T-клеток в жестком микроокружении влияет, скорее на пролиферацию и дифференцировку, чем на исполнение цитотоксических функций. В солидных опухолях, несмотря на жесткое микроокружение цитотоксические функции T-лимфоцитов снижены, что связно, вероятно, с ухудшением презентации антигена [25, 56].

Обсуждение данного механизма проводится в основном в контексте воспалительных и аутоиммунных процессов. Предполагается, что ингибирование цитотоксических функций при переходе от воспаленного микроокружения к невоспаленному защищает ткани от аутоиммунитета, опосредованного Т-клетками [17]. Так например, на модели мышей было показано, что более быстрое развитие диабета I типа наблюдается у мышей с отсутствием YAP в T-клетках, который по предположению исследователей, реагируя на мягкую микросреду должен подавлять аутоиммунный процесс [55].

Использование субстратов различной жесткости открывает также возможности для активации T-клеток ex vivo, что может способствовать повышению эффективности T-клеточных терапий [34, 99]. Использование ингибиторов и активаторов YAP в лабораторных условиях и в качестве лекарственных препаратов также может служить методикой модуляции T-клеточного ответа.

*Иммунный синапс*

Цитотоксические T-лимфоциты образуют иммунные синапсы с клетками-мишенями для их уничтожения за счет «окутывания» антиген-презентирующих клеток [65, 66, 70]. Цитолитические факторы такие, как перфорины и гранзимы высвобождаются непосредственно в синапс, что усиливает уничтожение клеток-мишеней и минимизирует побочный ущерб за счет ограничения диффузии гранзимов и перфоринов. Миозин II и динеин совместно способствуют антероградному транспорту литических гранул [10, 16], причем первый управляет антероградным движением литических гранул от задней части клетки к ядру, а последний отвечает за транспортировку литических гранул вокруг ядра и к синапсу [58, 65].

Было установлено, что синапсы цитотоксических T-клеток можно разделить на две зоны: периферический ободок, в котором преобладает положительная средняя кривизна, и внутреннюю часть, характеризующийся отрицательно изогнутыми углублениями, разделенными плоскими или положительно изогнутыми гребнями и рельефами [23]. Имеющиеся данные позволяют утверждать, что усиление цитотоксической функции T-лимфоцитов связано с волнообразным контуром центральной части иммунологических синапсов из-за образования ряда локальных выпуклостей, которые более чувствительны к перфорину [14, 23].

За счет актомиозина формируются силы, прикладываемые к клетке-мишени, в результате чего увеличивается натяжение мембраны, что способствует образованию пор перфорина, доступу гранзима к цитоплазме клетки-мишени и уничтожению клетки-мишени [65, 66, 70]. Эти силы усиливают образование пор перфорина также и за счет увеличения натяжения и изменения топографии мембраны целевой клетки. Возникающие противоположно силы натяжения мембраны T-лимфоцита увеличиваются от периферии к центру и, по всей видимости, достигают максимума в центре, где и происходит высвобождение цитолитических факторов.

Несмотря на данные об активации цитотоксических T-лимфоцитов за счет напряжения сдвига, реализуемой через Piezo 1 [74], в недавнем исследовании было показано, что при ингибировании данного белкового канал наблюдается увеличение тянущей силы и снижение ремоделирования актина в иммунологических синапсах [63]. Исследователи связали данные эффекты с угнетением пути сигнализации, проходящему по оси Piezo 1–Grhl 3–Rnf 114 [63]. Хотя на первый взгляд это кажется противоречивым, такое сочетание явлений возможно, если предположить, что Piezo 1 в цитотоксических T-лимфоцитах выполняет роль переключателя. Изначально натяжение мембраны цитотоксического T-лимфоцита увеличивается вследствие миграции актина к краям иммунологического синапса, что необходимо для реализации киллерной функции. Однако по мере увеличения мембранного натяжения происходит активация Piezo 1, которая служит для ограничения избыточного иммунного ответа и переводит цитотоксический T-лимфоцит из киллерного состояния в фоновое. В этом случае повышение экспрессии перфорина и гранзима B за счет активации Piezo 1 обеспечивает накопление цитолитических факторов внутри клетки.

Эффективность уничтожения клеток-мишеней обеспечивается за счет кластеризации актиновых нитей. Исследователи утверждают, что кластеры сильнее деформируют клетку-мишень, оставляя при этом больше пространства для дегрануляции литических агентов [66, 89].

На формирование иммунного синапса могут оказывать влияние внешние условия. Так, например, на поверхности с более высокой жесткостью был замедлен транспорт ЦОМТ (Центр организации микротрубочек)к центру иммунной клетки [37]. В геометрически ориентированном пространстве снижается содержание актина в активированных T-клетках, что может нарушать формирование иммунного синапса [73].

*Фармакологические и биоинженерные методики модуляции механочувствительсноти T-клеток и их потенциальное значение*

Описанные механоиммунологические механизмы, взаимодействуя друг с другом, оказывают широкий спектр разносторонних эффектов. Один и тот же каскад может лежать в основе нескольких механических свойств T-клеток и определять явления при различных заболеваниях. Важным аспектом практического применения данных знаний является поиск методик модуляции механоиммунологических процессов. Имеющиеся достижения (Табл. 1) дают надежду на возможность создания препаратов и модернизацию уже известных методик, однако их применение в рамках клинической медицины все еще требует изучения.

Обнаружен агонист механочувтсвительного канал Piezo 1 – Yoda 1. Механизм действия данного агониста достоверно неизвестен. Последние данные свидетельствуют о том, что Yoda 1 связывается с Piezo 1 в трансмембранных областях канала между повторами А и B и стабилизирует открытые каналы. Исследователи отмечают низкую эффективность Yoda 1, и предполагают возможность наличия неактивных сайтов связывания. Несмотря на это, использование Yoda 1 в качестве методики для ex vivo активации T-клеток может потенциально способствовать повышению эффективности T-клеточной терапии [35, 84, 90].

Разработаны также ингибиторы Piezo 1. Существует 2 различных механизма блокировки. Один из них реализуется за счет связывания с компонентами мембраны или встраивания в нее, что либо препятствует локальному увеличению поверхностного натяжения мембраны вблизи ионного канала, либо увеличивает сжимающее давление на ионный канал, сдерживая его открытие или способствуя его стабилизации в закрытом состоянии [42, 86, 94, 102]. При этом не происходит непосредственного связывания ингибитора с компонентами Piezo 1. Среди подобных веществ упоминаются гадолиний, рутениевый красный, механотоксин GsMTx4, полученный из яда тарантула, бета-амилоиды Aβ1-40 и Aβ1-42, а также маргариновая кислота [42, 86]. Они, как правило, являются неселективными ингибиторами Piezo 1, что означает возможность наличия серьезных побочных эффектов при их применении. Тем не менее их использования в качестве дополнительных компонентов при лечении локализованных аутоиммунных заболеваний, при трансплантациях на поверхности органа или в качестве ex vivo метода может быть перспективной методикой для повышения эффективности лечения аутоиммунных процессов, а также снижения взаимных иммунных реакций в системе трансплантат-хозяин.

Другой механизм основан на связывании ингибиторов непосредственно с Piezo 1 [42, 86, 94, 102]. Вещества, действующие подобным способом, как правило являются антагонистами Yoda 1, при этом довольно часто точный механизм их действия неизвестен. В данную группу входят такие вещества, как Dooku 1, Тубеймозид I, сальвианоловая кислота B и, по всей видимости, эсцин [42, 50, 86]. Обладая большей селективностью по сравнению с веществами предыдущей группы, они имеют больший потенциал при местном использовании, однако вероятность их удачного системного применения остается такой же низкой.

Существуют также и биоинженерные методики. Выше уже упоминалась активации Piezo 1 в T-клетках посредством наномоторов. В in vitro исследованиях на наномоторах Au-Zn в виде трубок и шиповатых наномоторах Pd-Au было показано увеличение активации T-клеток посредством Piezo 1 [19, 95]. Движение системы в первом случае осуществлялось за счет реакции цинка с водой, в то время как во втором случае использовали реакцию разложения перекиси водорода. Более дешевым способом представляется воздействие потоком жидкости [31, 42, 74]. Наиболее очевидное применение данной методики – ex vivo активация T-клеток при T-клеточных терапиях.

Известно множество ингибиторов YAP. Большинство из них влияют на взаимодействие YAP и TEAD. К ним относятся вертепорфин, CA3, Super-TDU, TED-347, GNE-7883, IAG933 [29, 80, 98, 100, 101]. Проникновение данных веществ в клетку, по всей видимости, осуществляется путем пассивной диффузии вследствие их липофильности. Их изучение в контексте иммунных клеток порой приводит к неожиданным результатам. Было показано, что вертепорфин подавляет Th17-клетки, что реализуется через иной механизм, не связанный с YAP [8]. Изучаются также и непрямые ингибиторы YAP. Так, например, TDI-011536 и TRULI рассматриваются в качестве супрессоров LATS киназ [39, 40]. BAY-593, воздействуя на RhoA, способен блокировать сопряжение интегринов и YAP [24]. Существуют и другие вещества, подавляющие действие YAP, а также стратегии его непрямой блокировки [100]. Применение ингибиторов YAP представляет собой перспективное направление в контексте противоопухолевых терапий и лечения хронический инфекций. Их использование в качестве средств, способствующих увеличению цитотоксической активности CD8+-T-лимфоцитов может усиливать подавленный иммунитет [46]. За счет угнетения иммуносупрессивной функции Treg-клеток возможно поддержание активности цитотоксической функции на более длительном промежутке времени [61]. Тем не менее остаются непонятными методики избегания избыточного иммунного ответа.

К активаторам YAP относят PY-60. Проникая сквозь мембрану клеток, он ингибирует аннексин A2, препятствующий ядерной транслокации YAP [78]. Это способствует усилению YAP-опосредованного ответа. Изучение данного активатора в отношении иммунных клеток не проводилось. Тем не менее можно предположить, что за счет угнетения цитотоксичности, наблюдаемого при активации YAP [46, 61], лекарственные средства на основе PY-60 могли бы использоваться при лечении аутоиммунных заболеваний, а разработка поддерживающих методик представляется перспективным направлением в контексте трансплантации.

Стоит, однако, отметить, что как ингибиторы, так и активаторы YAP при их применении в составе лекарственных средств могут обладать широким спектром побочных эффектов за счет отсутствия селективности к типу клеток. Важной задачей является поиск методики селективной доставки, при которой молекулы активатора или ингибитора высвобождались бы вблизи T-клеток. Разработка подобной методики способствовала бы снижению выраженности побочных эффектов и повышала бы эффективность по отношению к основному применению.

Еще одной логически вытекающей методикой является активация T-клеток жёсткими подложками. Использование жесткости субстрата в качестве лабораторной методики активации T-клеток может способствовать повышению эффективности T-клеточных терапий [34, 99]. Интересным вопросом остается возможность модуляции внеклеточного матрикса внутри организма с целью создания благоприятных условий для усиления T-клеточного ответа. Не понятно, однако, какие условия можно считать благоприятными. Жесткое внеклеточное микроокружение, как было упомянуто выше, способствует пролиферации и дифференцировке T-клеток, но препятствует исполнению цитотоксических функций [11, 25, 56]. Увеличение жесткости внеклеточного матрикса внутри организма в этом случае приведет к усилению пролиферации и дифференцировки, но не к повышению эффективности T-клеточного ответа. Более перспективной в этом плане выглядит гипотетическая методика, основанная на модуляции T-клеточного ответа за счет параллельного введения растворимых молекул, имитирующих жесткий внеклеточный матрикс. Подобный подход позволит, с одной стороны, усилить пролиферацию и дифференцировку T-клеток. С другой стороны, за счет растворимости молекул они не станут препятствием для презентации антигенов T-клеткам. Возможен и другой подход. Исследователи установили, что увеличение жесткости мембраны опухолевой клетки стимулирует цитотоксический иммунный ответ [47]. Целенаправленное уплотнение мембраны опухолевых клеток является одной из перспективных методик повышения эффективности T-клеточной терапии [47].

Более разработанными представляются ингибиторы и активаторы интегринов, в частности LFA-1 [53, 64, 105]. Одним из последних достижений в этой области является обнаружение ингибирующей активности GDF-15 за счет редукции адгезии T-клеток [28].

*Заключение*

Современные достижения в области механоиммунологии указывают на существенную значимость механочувствительности в формировании T-клеточного иммунного ответа. Высокая степень сопряжения механизмов обеспечивает широкий спектр механических свойств, влияющих на активацию, пролиферацию, дифференцировку и эффекторные функции T-лимфоцитов (Рис. 1). Детальное изучение этих процессов открывает новые возможности для развития медицинских и фармакологических приложений, а также для поиска инновационных биоинженерных подходов к иммунотерапиям.

Значительный прогресс достигнут в понимании того, как жесткость микроокружения регулирует сигнальные каскады в T-клетках. Выявлены ключевые медиаторы (интегрины, YAP, транскрипционные факторы, актин), играющие центральную роль в передаче механических стимулов подобной природы. Показана и значимость канала Piezo 1 в механизмах механочувствительности T-клеток. Регуляция кальциевого потока посредством мембранного натяжения оказывается значимой в миграции и активации под действием напряжения сдвига. Эти открытия создают основу для разработки новых стратегий модуляции иммунного ответа, что особенно важно в контексте аутоиммунных заболеваний, онкологии и регенеративной медицины.

Текущие фармакологические методики предоставляют возможности для создания лекарственных препаратов, способных воздействовать на механочувствительные пути. Применение активаторов и ингибиторов Piezo 1, YAP, LFA-1 может стать основой для иммуномодуляторов, способных подавлять гиперактивированные иммунные ответы при аутоиммунных заболеваниях или, напротив, усиливать T-клеточную активность при терапии онкологий.

Значительный потенциал имеет развитие биоинженерных методик. Последние исследования указывают на возможность разработки искусственных матриксов с целью управления активацией T-лимфоцитов. Современные достижения в области нанотехнологий расширяют перспективы в создании методик модуляции T-клеток ex vivo.

Несмотря на значительные успехи, остается и ряд нерешенных вопросов. Не в полной мере изучены механизмы механочувствительности T-клеток в сложных физиологических условиях, приближенных к организму. Обнаруженные in vitro, многие механоиммунологические свойства требуют детального изучения на клинически значимых моделях in vivo. Кроме того, не исследован и фармакологический аспект. Имеющиеся вещества часто обладают низкой эффективностью и неизвестной фармакокинетикой. Применение ряда из них не было опробовано на T-клеток и предполагает большое количество побочных эффектов.

Таким образом, механоиммунология представляет собой быстро развивающуюся область. Изучение механизмов механочувствительности иммунных клеток указывает на их возможное участие в патологических процессах и открывает перспективы для модернизации или создания новых подходов к лечению широкого спектра заболеваний. Дальнейшее изучение фармакологических и биоинженерных стратегий механомодуляции иммунных функций может привести к созданию современных лекарственных препаратов и терапевтических методик, учитывающих внутреннюю среду.