

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ: РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК Treg

Олейник Е.К., Чуров А.В., Олейник В.М.

Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

Резюме. Т-клетки памяти необходимы для развития иммунного ответа и представляют собой одну из наиболее многочисленных популяций Т-лимфоцитов человека. Регуляторные Т-клетки (Treg), напротив, выполняют функцию завершения адаптивного иммунного ответа и обеспечения толерантности к собственным антигенам. Эти группы клеток представлены разными субпопуляциями и присутствуют в организме в течение всей жизни. Однако сегодня еще нет ясного понимания того, как формируются взаимосвязи между этими группами клеток. В работе рассматриваются возможные пути развития и поддержания CD4⁺ Т-клеточной памяти с участием Treg-клеток. Обсуждаются разные механизмы дифференцировки Т-клеток памяти, Treg-клеток и недавно открытых Treg-клеток памяти, сравниваются их функциональные и молекулярно-генетические характеристики. Разделение клеток по функциональному профилю позволяет отметить параллели между Т-клетками памяти и Treg-клетками: и те и другие представлены центральными циркулирующими популяциями (T_c), эффекторными, которые мигрируют в ткани (T_e), и тканево-резидентными (T_r), пребывающими в тканях на периферии. Сходная структурная организация Tregs и Т-клеток памяти, существование переходных форм тканево-резидентных субпопуляций Tregs со свойствами клеток памяти может свидетельствовать о тесной взаимосвязи между данными группами лимфоцитов. Одним из вариантов такой связи может быть существование конверсии CD4⁺Т-клеток памяти с образованием Treg-клеток, экспрессирующих транскрипционный фактор FoxP3. Treg-клетки памяти, обладающие свойствами и Т-клеток памяти, и Treg-клеток, могут представлять собой переходный этап дифференцировки. С другой стороны, Treg-клетки могут дифференцироваться независимо от Т-клеток памяти и накапливаться в течение жизни в виде Treg-клеток памяти, так как их супрессорная функция является столь же постоянно необходимой, как и готовность Т-клеток памяти развивать иммунный ответ. Возможно, часть Treg-клеток уже в тимусе проходит отбор и конститутивно экспрессирует антигенраспознающие рецепторы TCR, имеющие сродство с периферическими тканями. В дальнейшем эти коммитированные клетки могут расселяться в соответствующих тканях и становятся тканево-резидентными Treg-клетками, которые поддерживают региональную Т-клеточную память. Система Treg-клеток может представлять собой зеркальное отражение структурной организации Т-клеток памяти, но с обратным знаком – знаком супрессии. Количественное соотношение Treg-клеток и Т-клеток памяти (CD4⁺CD45RO⁺CD25^{hi}FoxP3⁺/CD4⁺CD45RO⁺CD25⁻FoxP3⁻), возможно, является важным критерием для оценки функционального состояния иммунной системы. Поддержание баланса между этими функционально противоположными типами клеток должно обеспечивать устойчивое функционирование иммунной системы.

Ключевые слова: иммунологическая память, Т-клетки памяти, Treg-клетки, Treg-клетки памяти, субпопуляции, гетерогенность, дифференцировка

Адрес для переписки:

Олейник Евгения Константиновна
Институт биологии Карельского научного центра
Российской академии наук
185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск,
ул. Пушкинская, 11.
Тел.: 8 (8142) 76-98-10.
Тел./факс: 8 (8142) 76-98-10.
E-mail: ole@krc.karelia.ru

Address for correspondence:

Oleinik Evgeniya K.
Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
185910, Russian Federation, Republic of Karelia,
Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11.
Phone: 7 (8142) 76-98-10.
Phone/Fax: 7 (8142) 76-98-10.
E-mail: ole@krc.karelia.ru

Образец цитирования:

Е.К. Олейник, А.В. Чуров, В.М. Олейник
«Иммунологическая память: роль регуляторных клеток
Treg» // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 5.
С. 613–620. doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-613-620
© Олейник Е.К. и соавт., 2018

For citation:

E.K. Oleinik, A.V. Churov, V.M. Oleinik "Immunological memory:
the role of regulatory cells (Tregs)", *Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya*, 2018, Vol. 20, no. 5, pp. 613–620.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-613-620
DOI: 10.15789/1563-0625-2018-5-613-620

IMMUNOLOGICAL MEMORY: THE ROLE OF REGULATORY CELLS (Tregs)

Oleinik E.K., Churov A.V., Oleinik V.M.

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

Abstract. Memory T cells are necessary for development of the immune response and represent one of the most numerous population of human T lymphocytes. On the contrary, suppressive regulatory T cells (Tregs) may terminate the immune response and help to maintain tolerance to self-antigens. These important groups of cells are consisting of different subpopulations and retaining throughout life. However, today there is yet no clear understanding of how the relations between these two groups of cells are formed. In this work we consider possible ways of development and maintenance of CD4⁺ T cell memory and role of Tregs in these processes. Mechanisms of a differentiation of memory T cells, Tregs and recently described memory Tregs are discussed. The functional and genetic characteristics of these cells are compared. Division of cells according to the functional profile allows drawing parallels between memory T cells and Tregs. These two groups are consisted of central circulating populations (T_c), effector which can migrate toward specific tissues (T_e) and tissue-resident cells (T_r), which are staying in peripheral tissues. The similar structural organization of Tregs and memory T cells, existence of transitional forms of tissue-resident Treg subpopulations with properties of memory cells assumes existence of close interrelation between these groups of lymphocytes. The conversion of CD4⁺ memory T cells into FoxP3-expressing Tregs is one of possible mechanisms of communication between these two groups. The memory Treg-cells with T cell and memory Treg-cell properties can represent a transitional stage of differentiation. On the other side, Treg cells can differentiate independently of memory T cells and accumulate during life in the form of memory Treg cells. The suppressor function of Tregs is also necessary as well as function of memory T cells to develop the immune response. It is possible, that a subset of Treg cells undergoes selection in thymus and constitutively express TCR-receptors having affinity with peripheral tissues. Further, these committed cells can be settled into tissues and become tissue-resident Treg cells which maintain regional T cell memory. Tregs can represent the “mirror image” of the structural organization of memory T cells, but with the return sign – the sign of suppression. The quantitative ratio of Tregs and memory T cells (CD4⁺CD45RO⁺CD25^{hi}FoxP3⁺/CD4⁺CD45RO⁺CD25⁻FoxP3⁻), perhaps, is important criterion for functional assessment of immune system. The balance between these functionally opposite cell subsets has to provide stable functioning of immune system.

Keywords: immunological memory, memory T cells, Tregs, memory Tregs, subpopulations, heterogeneity, differentiation

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН, бюджетная тема № 0221-2017-0043.

Т-клетки памяти

Т-клетки памяти относятся к долгоживущим клеткам и характеризуются способностью длительное время персистировать в отсутствие АГ. Они обладают специфичностью к АГ или гаптену, значительной фенотипической и функциональной неоднородностью [8, 15]. Клетки памяти составляют наиболее многочисленную лимфоцитарную популяцию в течение большей части жизни индивида. Они также представляют преобладающую Т-клеточную популяцию в слизистых, коже, селезенке и костном мозге [14]. Эти Т-клетки аккумулируются на протяжении всей жизни, так как приобретение антигенного опыта сопровождается генерацией и персистенцией специфических клонов Т-клеток памяти, которые экспрессируют уникальные TCR и могут обеспечивать защиту от патогенов. После рождения Т-клетки памяти развиваются из наивных Т-клеток в ответ на встречи с разными антигенами. Предполагается, что при развитии иммунного ответа на АГ часть эффекторных клеток

выживает, приобретая свойства клеток памяти, в том числе АГ-специфичность, которая сохраняется в виде комплементарных антигену участков TCR [44]. Заметное увеличение циркулирующих Т-клеток происходит в первое десятилетие жизни, и к концу второго десятилетия Т-клетки памяти составляют до 35% циркулирующих Т-клеток. В третье десятилетие жизни количество циркулирующих Т-клеток памяти достигает максимума и стабилизируется. Выход Т-клеток из тимуса постепенно уменьшается в течение этой фазы, и далее число Т-лимфоцитов большей частью поддерживается через гомеостатический клеточный круговорот [11]. В эти средние годы жизни организм наиболее иммунологически устойчив и менее чувствителен к патогенам. После десятилетий стабильного состояния Т-клеток памяти функциональная активность этих клеток снижается в течение иммунологического старения, начиная с 65-70 лет [14, 18].

Т-клетки памяти человека экспрессируют RO изоформу CD45 в тимусе и конвертируются в CD45RA после эмиграции в периферические ткани, а при распознавании АГ на периферии эти клетки возвращаются опять к CD45RO. Почти все CD45RA⁺, экспрессирующие CD4⁺Т-клетки *in vitro*, теряют CD45RA-экспрессию и перехо-

дят в CD45RO⁺ клетки после 4 дней стимуляции TCR [4]. Хотя появились данные о переключении изоформы от CD45RO назад к CD45RA и на периферии [20], экспрессия изомера CD45RO и отсутствие CD45RA (CD45RO⁺CD45RA⁻), в комбинации с хемокиновыми рецепторами и селективностями в настоящее время широко используется для того, чтобы отличить наивные Т-клетки от Т-клеток памяти.

Гетерогенность Т-клеток памяти периферической крови человека была идентифицирована на основе экспрессии хемокинового рецептора CCR7 [38]. В отличие от наивных Т-клеток, которые экспрессируют CCR7, что отражает их преимущественную локализацию в лимфоидной ткани, Т-клетки памяти подразделяются на CD45RA-CCR7⁺ центральные Т-клетки памяти (T_{cm}), которые передвигаются к лимфоидным тканям, и CD45RA-CCR7⁻ эффекторные Т-клетки памяти (T_{em}), которые могут мигрировать во многие ткани. При этом T_{cm} интенсивно продуцируют IL-2, что не характерно для T_{em} клеток. Изучение экспрессии других поверхностных молекул, таких как маркер апоптоза CD95 (FAS) и ассоциированный с памятью маркер CD122 (IL-2Rβ), позволило очертить новую популяцию Т-клеток памяти у человека и мышей, названную стволовой клеткой памяти (T_{scm}) [16]. У человека T_{scm} клетки напоминали наивные Т-клетки, имея промежуточный фенотип CD45RA⁺CD45RO⁻, и экспрессировали повышенный уровень костимулирующих рецепторов CD27 и CD28, рецептор альфа-цепи IL-7 (IL-7Rα), CD62L и CCR7. T_{scm} клетки имеют высокий пролиферативный потенциал, а также способность дальше дифференцироваться в другие Т-клеточные субпопуляции, включая T_{cm} и T_{em}, а также в противоопухолевые Т-клетки [17].

Хотя активное передвижение Т-клеток памяти по всему организму является неотъемлемой частью их способности обеспечивать иммунную защиту, исследование последних лет показывают, что дифференцировка некоторых Т-клеток в уникальные тканево-резидентные субпопуляции (T_{rm}), которые представлены практически во всех тканях и органах, дает хозяину возможность усилить региональный иммунитет [29].

Значительная часть CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток памяти в селезенке, легких, кишечнике отличается повышенной экспрессией CD69, а экспрессия CD103 характерна для CD8⁺Т-клеток кишечника [40]. Изучение маркеров T_{rm} продолжается и пока трудно определить пропорции резидентных и циркулирующих Т-клеток памяти у человека. Однако становится все более очевидным, что именно тканево-резидентные клетки памяти составляют наиболее многочисленную фракцию общего пула Т-клеток памяти, что и привлекает особое внимание к этим клеткам.

Регуляторные клетки Treg

Как и Т-клетки памяти, регуляторные клетки Treg представлены разными субпопуляциями,

которые участвуют в контроле физиологического состояния организма. Эти клетки выполняют важную функцию завершения адаптивного иммунного ответа и обеспечения толерантности к собственным антигенам. Неспособность организма поддерживать достаточное количество и функции Treg приводит к аутоиммунным, опухолевым заболеваниям или к иммунодефицитным состояниям. В сущности, эти клетки являются супрессорами и могут подавлять активацию, пролиферацию и эффекторные функции широкого круга иммунокомпетентных клеток, включая CD4⁺ и CD8⁺Т-клетки, а также NK-, NKT- и другие клетки. К Treg, обеспечивающим иммунологическую толерантность и супрессию Th1-зависимых аутоиммунных реакций, относят клетки с фенотипом CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺.

Используя метод иммунизации гаптенизированными IgG, Loblay R.H. и соавт. [26] впервые показали, что при первичном воздействии АГ среди Т-клеток генерируются супрессорные клетки памяти. Эти клетки были долгоживущими (не менее 9 мес.) и подавляли иммунный ответ с усиленной кинетикой при повторном контакте с АГ, причем в течение вторичного ответа требовалось в 5-10 раз меньше этих клеток, чтобы достичь уровня супрессии, эквивалентного тому, который наблюдается при первичном ответе. Авторы постулировали, что супрессорные клетки, проявляющие свойства Т-клеток памяти, могут играть важную роль в поддержании длительной толерантности к своим АГ. Было введено понятие регуляторной памяти, но эксперименты в течение длительного времени были затруднены в связи с отсутствием специфических маркеров, позволяющих выделять супрессорные клеточные популяции. В 2001 году Treg человека были впервые охарактеризованы как CD4⁺CD25⁺, так как были получены доказательства конститутивной экспрессии CD25 [2]. Открытие транскрипционного фактора FoxP3, как наиболее специфического маркера Treg-клеток, позволило более точно определять регуляторные популяции [21]. Важным оказалось то, что повышенная экспрессия FoxP3 в Т-клетках может быть одним из компонентов гомеостатической программы, инициируемой этими клетками, для реализации отрицательной обратной связи в ходе иммунного ответа. Дальнейшее изучение фенотипических и функциональных характеристик Treg-клеток выявило гетерогенность этой популяции, и начались попытки определить их происхождение и структурную организацию [37].

Периферическая кровь здорового человека содержит две фенотипически и функционально различающиеся популяции Treg-клеток: CD45RA⁺FoxP3^{low} и CD45RA⁻FoxP3^{hi} клетки, названные, соответственно, «отдыхающими» и «активированными» Treg-клетками [28]. Обе популяции были стабильными, высокосупрессивными

Трег-клетками, у которых отсутствовала продукция эффекторных цитокинов. При этом CD45RA⁺FoxP3^{hi}Трег-клетки экспрессировали высокий уровень внутриклеточных маркеров активации, таких как CTLA-4, ICOS, HLA-DR, GITR, CD39, CD45RO.

Возможно, что наивные или покоящиеся Трег-клетки эмигрируют из тимуса в раннем детстве и при встрече с АГ на периферии пролиферируют и дифференцируются в «активированные» эффекторные Трег-клетки. Можно предположить, что именно популяции «активированных» Трег-клеток среди мононуклеаров периферической крови человека и представляют собой Трег-клетки памяти, которые циркулируют и остаются активированными по своему фенотипу в отсутствие постоянной АГ-стимуляции. С возрастом количество CD45RA⁺Трег-клеток в периферической крови постепенно снижается, в то время как число CD45RO⁺Трег-клеток увеличивается [45]. Наиболее высокий процент CD45RA⁺Трег-клеток содержит пуповинная кровь человека [13]. Подобно Т-клеткам памяти, CD4⁺Трег могут экспрессировать либо CD45RA, либо CD45RO. Так как известно, что CD45RA и CD45RO являются неизменными участниками активации антиген-распознающего Т-клеточного рецептора TCR, можно предположить, что изменение соотношения числа CD45RA⁺ и CD45RO⁺Трег отражает функциональное состояние регуляторных клеток и может быть индикатором супрессии. Возможно, что стимуляция TCR фенотипически проявляется в переходе одной изоформы в другую.

До сих пор остается неясным, какие механизмы обеспечивают стабильный уровень регуляторных CD4⁺CD45RO⁺CD25^{hi}FoxP3⁺Т-лимфоцитарных популяций человека в течение длительного времени вплоть до пожилого возраста (65-70 лет), когда наблюдается увеличение числа Трег [25]. В условиях стабильного состояния организма число CD4⁺CD45RO⁺CD25^{hi}FoxP3⁺Трег-клеток поддерживается в определенном количественном диапазоне с высоким темпом деления клеток. При этом Трег-клетки характеризуются очень короткими теломерами и невысокой теломеразной активностью, экспрессируют низкий уровень антиапоптотической молекулы BCL-2 и чувствительны к апоптозу, что отличает Трег от классических Т-клеток памяти и свидетельствует о маловероятности их самостоятельной регенерации. Скорее всего, эти клетки постоянно набираются из других предшественников, в частности, возможно, из пула CD4⁺Т-клеток памяти, так как существует очень тесная TCR клональная гомология между регуляторными клетками и CD4⁺Т-клетками памяти [46].

Кроме разделения по происхождению (тимические и периферические), FoxP3⁺Трег могут быть разделены по функциональному профилю на три группы: центральные, эффекторные

и тканево-резидентные [48]. Центральные Трег составляют большинство среди циркулирующих и находящихся во вторичных лимфоидных органах Трег-клеток. Эта популяция имеет фенотипические характеристики, сходные с наивными Т-клетками и Т-клетками памяти. Центральную популяцию Трег представляют клетки с фенотипом CD62L^{hi}CCR7⁺ или FoxP3^{low}CD45RA^{hi}CD25^{low}. Циркулирующие Трег обладают высокой скоростью пролиферации по сравнению с обычными Т-клетками: примерно 50% популяции проходит деление каждые 10 дней [25, 46]. Эффекторные Трег-клетки составляют минорную фракцию Трег-клеток как среди циркулирующих, так и во вторичных лимфоидных органах. Фенотипически эти клетки несут черты активированных антигеном Т-клеток, усиленно мигрируя через нелимфоидные ткани, и их можно определить как FoxP3^{hi}CD45RA^{low}CD25^{hi}. Тканево-резидентные Трег-клетки характеризуются тем, что долгое время пребывают в нелимфоидной ткани и могут приобретать антигенную специфичность, изменяя свои функции и гомеостатические свойства в зависимости от условий микроокружения [6, 19].

Регуляторные клетки памяти Трег

Потенциально каждый орган может быть гаванью различных популяций тканево-резидентных Трег-клеток, участвующих в регуляции местного иммунитета. Недавно были изучены фенотипические и функциональные характеристики Трег-клеток, которые удалось выделить из кожи человека [39, 47]. Оказалось, что почти все Трег-клетки в коже взрослого экспрессируют CD45RO, в то время как в коже плода значительная часть Трег-клеток была CD45RO⁻CD45RA⁺. Трег-клетки в коже взрослого экспрессировали высокий уровень и других маркеров (CD27 и BCL-2), ассоциированных с Т-клетками памяти. По сравнению с кожными эффекторными Т-клетками памяти эти Трег-клетки экспрессировали уникальную последовательность в TCR, не экспрессируя СС-хемокиновый рецептор 7 (CCR7) и не мигрируя из кожи *in vivo* [41]. Можно предполагать, что кожа человека содержит Трег-клетки с фенотипом «эффекторные клетки памяти», которые способны распознавать уникальные АГ и которые стабильно проживают в этой ткани. Примером тканево-резидентных Трег также являются Трег жировой ткани, которые экспрессируют транскрипционный фактор PPAR-gamma (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma), и Трег-клетки кишечника, которые экспрессируют рецептор свободных жирных кислот FFAR2 (free fatty acid receptor 2). Есть данные и о специализированных резидентных Трег в мышечной ткани [6]. Некоторые авторы считают, что TCR тканево-резидентных Трег реагирует на тканеспецифические сигналы и клетки приобретают тканево-специфический субфено-

тип [25]. В кишечнике, например, аккумулируется много разных по антигенной специфичности Treg, но большинство TCRs, выделенных из этих Treg, распознают антигены бактерий кишечника и, видимо, способствуют дифференцировке специфичных к микробиоте резидентных Treg [7, 23, 43].

Среди АГ-специфических регуляторных Т-клеток была выделена новая популяция — Treg-клетки памяти [34]. Исследования на моделях аутоиммунитета показали, что Treg-клетки памяти уменьшали повреждение тканей у мышей при повышенной провоспалительной реакции клеток памяти. Также есть данные о том, что регуляторные Т-клетки памяти способствуют усилению толерантности во время беременности [36]. Возможно, что постоянная экспрессия собственных АГ в тканях приводит к преимущественной аккумуляции Treg-клеток вместо эффекторных Т-клеток, и Treg-клетки памяти могут генерироваться из этих резидентных Treg-клеток. Важность регуляторных клеток памяти подчеркивается в ряде исследований, в которых фенотипически и функционально были охарактеризованы Treg-клетки памяти при вирусных инфекциях у мышей. Удалось показать персистенцию долгоживущих АГ-специфических Treg-клеток с мощными иммуносупрессивными свойствами, несмотря на элиминацию исходного АГ [5, 37]. Предлагают также разделить Treg памяти на центральные (те, которые находятся во вторичных лимфоидных органах), эффекторные (возможно, рециркулируют между кровью и нелимфоидными тканями, точно так же как Т-клетки памяти) и тканево-резидентные (пребывают в периферической ткани) [35].

Как упоминалось выше, число Treg в значительной степени увеличивается у стареющих людей (такая же динамика характерна для мышей). Поскольку Treg управляют интенсивностью Т-клеточных реакций, то при старении рост их числа способствует иммунным дисфункциям и снижению эффективности Т-клеточного ответа. Поэтому связанная с возрастом иммунная супрессия является основным фактором «иммунного старения», который повышает чувствительность к инфекциям и опухолям и существенно увеличивает заболеваемость у пожилых людей [32, 33]. Таким образом, следует иметь в виду, что, в дополнение к своей важной роли поддержания иммунологической толерантности, Treg могут вносить вклад в снижение эффективности Т-клеточного ответа при старении.

В настоящее время особое внимание привлекают вопросы генерации разнообразия популяций Treg, поддержания их стабильности. Иммунологическая память сохраняется в результате идиотип-антиидиотипических взаимодействий, образующих идиотипические сети. Может быть, таким же образом сложные сети управляют гене-

рацией регуляторных клеток памяти и их поддержанием.

Недавно было показано, что существует способ сигнализации TCR, который регулирует именно дифференцировку Treg-клеток, их численность и функции, оказывая влияние на экспрессию генов, метаболизм, клеточную адгезию и миграцию этих клеток [24]. Поэтому можно предположить, что именно TCR является основным триггером, который инициирует и в дальнейшем управляет дифференцировкой Treg в соответствии с их функциями в норме и при патологиях. Treg-клетки, которые способны подавлять аутоиммунное воспаление, экспрессируют высокие уровни TCR-индуцированных CD5, CTLA-4, CD25 (IL-2R α) и низкий уровень CD45RB. На необходимость сигналов TCR для экспрессии FoxP3 также указывает то, что активация TCR всегда предшествует транскрипции гена FoxP3. Кроме того, стимуляция TCR существенно активирует транскрипционные программы, которые связаны с развитием Treg, включая I κ B-киназы (IKK) — ассоциированные с ядерным фактором κ B (NF- κ B) и кальций-зависимым ядерным фактором активированных Т-клеток (NFAT). В эту сеть могут также входить и другие важные факторы влияния, такие как эпигенетические модификации, транскрипционные факторы, цитокины.

Treg-специфические эпигенетические изменения, например ДНК-гипометилирование (в локусе CNS2), способствуют экспрессии FoxP3 и других молекул, ассоциированных с Treg-клетками, а также обеспечивают стабильность клеточных линий, что имеет решающее значение для долгосрочной иммунологической толерантности [30]. Авторы считают, что эпигенетические модификации являются ключевым молекулярным событием для развития Treg, функционально отличающихся от других субпопуляций Т-клеток.

Известно, что высокий уровень транскрипционного фактора T-bet одновременно с низким уровнем транскрипционного фактора eomesodermin (EOMES) содействуют дифференцировке наивных CD8⁺ клеток в короткоживущие эффекторные клетки, в то время как низкий уровень T-bet с высоким уровнем EOMES приводят к их дифференцировке в клетки памяти [3]. Такая же закономерность может быть справедлива и для CD4⁺Т-клеток. Транскрипционный фактор В-лимфоцитов, индуцирующий созревание белка 1 (BLIMP1), также известный как PRDM1 и BCL-6, проявляет скоординированное влияние на развитие эффекторных клеток памяти CD4⁺ [10]. Интересно, что высокий уровень BLIMP1 экспрессируется и в популяции Treg-клеток с эффекторным фенотипом, и в фолликулярных Treg-клетках, которые также экспрессируют BCL-6. Таким образом, специфические транскрипционные факторы оказывают влияние на развитие эффекторных Treg-клеток и Treg-

клеток памяти, аналогично тому, что наблюдается в других CD4⁺T-клеточных субпопуляциях.

Важную роль в генерации и поддержании Treg-клеток памяти играют и цитокиновые факторы роста. Известно, что как IL-2, так и IL-7 вовлекаются в генерацию и поддержание CD4⁺T-клеточных популяций памяти [22]. CD127 (α -цепь рецептора для IL-7) экспрессируется на высоком уровне на CD4⁺ эффекторных T-клетках памяти и играет важную роль в поддержании их в периферической ткани. Но большинство Treg-клеток, находящихся во вторичных лимфоидных органах, экспрессируют низкий уровень IL-7R, в то время как Treg-клетки памяти в коже имеют повышенную экспрессию IL-7. Было показано, что IL-2 был необходим для генерации и поддержания Treg-клеток памяти, в то время как IL-7, но не IL-2, требовался для их поддержания в коже [19]. Субпопуляция CD44^{hi}CD62L^{low}CCR7^{low}Treg-клеток имеет пониженный уровень экспрессии IL-2R, и IL-2 не был необходим для поддержания этих клеток *in vivo* [42]. Значит, потребность в тех или иных цитокинах для разных субпопуляций Treg различна.

Отличающимися оказались и метаболические пути, которые используются на разных этапах дифференцировки и активации Treg-клеток. Если пролиферирующие клетки-эффекторы больше полагаются в основном на аэробный гликолиз, то клетки памяти зависят от окисления жирных кислот [31]. Устойчивая гликолитическая активность ингибирует формирование клеток памяти, тогда как ингибирование гликолиза способствует развитию этих клеток. Поэтому ингибирование мишени рапамицина (mTOR) способствует окислению жирных кислот и увеличению образования клеток памяти [1]. Возможно, T-клетки памяти больше зависят от окисления жирных кислот в связи с тем, что это дает преимущество для получения энергии в условиях стресса и обеспечивает более быстрое реагирование при реинфекции. Такой же метаболический путь способствует развитию Treg-клеток. По сравнению с эффекторными T-клетками, Treg-клетки экспрессируют низкий уровень глюкозного транспортера 1 (GLUT1, также известного как SLC2A1) и имеют более высокую скорость базального липидного окисления, что свидетельствует о том, что они в первую очередь используют окисление жирных кислот для своих энергетических потребностей [27]. В соответствии с этим блокирование либо гликолиза, либо мишени рапамицина mTOR способствуе развитию Treg-клеток. Возможно, что активированные T-клетки дифференцируются в эффекторные Treg-клетки только при высоких уровнях активирующих mTOR сигналов, а при низком уровне сигналов, активирующих mTOR, — в долгоживущие Treg-клетки памяти [9]. Таким образом, метаболические нужды Treg и T-клеток памяти отличаются от таковых для других CD4⁺T-клеточных популяций, но

можно ли на основе различий в метаболизме разделить Treg-клетки памяти от наивных и эффекторных Treg-клеток, пока не ясно.

Заключение

В заключение следует отметить, что окончательно не стандартизированная, но принятая на сегодняшний день структурная организация T-клеток памяти очень напоминает структурную организацию регуляторных лимфоцитов Treg. И те и другие клетки представлены сходными функциональными субпопуляциями: T_{cm} — центральные циркулирующие, T_{em} — эффекторные, мигрирующие в ткани, T_{rm} — тканево-резидентные, пребывающие в тканях на периферии. Повидимому, популяционный состав Treg-клеток представляет собой зеркальное отражение структурной организации популяций T-клеток памяти, но с обратным знаком — знаком супрессии. Сосуществование этих двух функционально противоположных T-клеточных популяций обеспечивает стабильность и необходимый баланс для поддержания иммунного гомеостаза. Вероятно, соотношение Treg/T-клетки памяти (в частности CD4⁺CD45RO⁺CD25^{hi}FoxP3⁺/CD4⁺CD45RO⁺CD25^{low}FoxP3⁻) является важным показателем, отражающим функциональное состояние иммунной системы, и может быть использовано для оценки иммунного статуса.

По всей видимости, существует несколько путей генерации этих популяций лимфоцитов. Одним из вариантов взаимоотношений между клетками памяти и регуляторными клетками может быть конверсия CD4⁺T-клеток памяти в Treg, то есть CD4⁺T-клетки памяти могут быть предшественниками регуляторных супрессоров Treg. При получении сигнала (например, антигенного) клетки памяти активируются, индуцируют иммунный ответ, и часть образующихся эффекторных клеток дифференцируется в T-клетки памяти, из которых в свою очередь образуются Treg, включая экспрессию транскрипционного фактора FoxP3. Возможно, что Treg-клетки памяти, несущие черты и T-клеток памяти, и Treg-клеток, представляют переходные этапы дифференцировки регуляторных клеток и могут быть свидетельством конверсии T-клеток памяти в Treg и, возможно, обратно.

С другой стороны, если T-клетки памяти существуют для того, чтобы эффективно отвечать на те или иные антигенные стимулы, то не менее важно, чтобы существовали и механизмы, предусматривающие остановку этого иммунного ответа, его завершение. Можно предположить, что Treg дифференцируются параллельно с T-клетками памяти и накапливаются в течение жизни в виде Treg памяти, так как их супрессорная функция является столь же постоянно необходимой, как и готовность T-клеток памяти развивать иммунный ответ. Возможно, что часть nTreg уже в тимусе проходит отбор и конститутивно экспрессирует антигенраспознающие рецепторы TCR, имеющие сродство с периферическими тканями.

В дальнейшем эти коммитированные клетки могут расселяться в соответствующих тканях, становятся тканево-резидентными Трег и поддерживают защитную память в тканевых сайтах.

У человека клоны Т-клеток памяти могут жить десятилетиями, и, как упоминалось выше,

большинство Т-клеток в организме человека имеют фенотип памяти. Поэтому изучение Т-клеток памяти, более глубокое понимание их роли при аутоиммунных заболеваниях, инфекциях, противоопухолевом иммунитете позволит найти более целенаправленные подходы к иммунотерапии.

Список литературы / References

1. Araki K., Turner A.P., Shaffer V.O., Gangappa S., Keller S.A., Bachman M.F., Larsen C.P., Ahmed R. mTOR regulates memory CD8 T-cell differentiation. *Nature*, 2009, Vol. 460, no. 7251, pp. 108-112.
2. Baecher-Allan C., Brown J.A., Freeman G.J., Hafler D.A. CD4⁺CD25^{high} regulatory cells in human peripheral blood. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 3, pp. 1245-1253.
3. Banerjee A., Gordon S.M., Intlekofer A.M., Paley M.A., Mooney E.C., Lindsten T., Wherry E.J., Reiner S.L. Cutting edge: the transcription factor eomesodermin enables CD8⁺ T cells to compete for the memory cell niche. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 185, no. 9, pp. 4988-4992.
4. Booth N.J., McQuaid A.J., Sobande T., Kissane S., Agius E., Jackson S.E., Salmon M., Falciani F., Yong K., Rustin M.H., Akbar A.N., Vukmanovic-Stejic M. Different proliferative potential and migratory characteristics of human CD4⁺ regulatory T cells that express either CD45RA or CD45RO. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 184, no. 8, pp. 4317-4326.
5. Brincks E.L., Roberts A.D., Cookenham T., Sell S., Kohlmeier J.E., Blackman M.A., Woodland D.L. Antigen-specific memory regulatory CD4⁺Foxp3⁺ T cells control memory responses to influenza virus infection. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 7, pp. 3438-3446.
6. Burzyn D., Benoist, C., Mathis, D. Regulatory T cells in nonlymphoid tissues. *Nat. Immunol.*, 2013, Vol. 14, no. 10, pp. 1007-1013.
7. Cebula A., Rempala G.A., Pabla S.S., McIndoe R.A., Denning T.L., Bry L., Kray P., Kisielow P., Ignatovic L. Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota. *Nature*, 2013, Vol. 497, no. 7448, pp. 258-262.
8. Chang J.T., Wherry E.J., Goldrath A.W. Molecular regulation of effector and memory T cell differentiation. *Nat. Immunol.*, 2014, Vol. 15, no. 12, pp. 1104-1115.
9. Coe D.J., Kishore M., Marelli-Berg F. Metabolic regulation of regulatory T cell development and function. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, no. 590, pp. 1-6.
10. Cretney E., Xin A., Shi W., Minnich M., Masson F., Miasari M., Belz G.T., Smyth G.K., Busslinger M., Nutt S.L., Kallies A. The transcription factors BLIMP1 and IRF4 jointly control the differentiation and function of effector regulatory T cells. *Nat. Immunol.*, 2011, Vol. 12, no. 4, pp. 304-311.
11. den Braber I., Mugwagwa T., Vrisekoop N., Westera L., Mogling R., de Boer A.B., Willems N., Schrijver E.H.R., Spierenburg G., Gaiser K., Mul E., Otto S.A., Ruiter An F.C., Ackermans M.T., Miedema F., José A.M. Borghans J.A.M., de Boer R.J., Tesselaar K. Maintenance of peripheral naive T cells is sustained by thymus output in mice but not humans. *Immunity*, 2012, Vol. 36, no. 2, pp. 288-297.
12. den Braber I., Mugwagwa T., Vrisekoop N., Westera L., Mogling R., de Boer A.B., Willems N., Schrijver E.H.R., Spierenburg G., Gaiser K., Mul E., Otto S.A., Ruiter An F.C., Ackermans M.T., Miedema F., José A.M. Borghans J.A.M., de Boer R.J., Tesselaar K., Goronzy J.J., Weyand C.M. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nat. Immunol.*, 2013, Vol. 14, no. 5, pp. 428-436.
13. Dong S., Maiella S., Xhaard A., Pang Y., Wenandy L., Larghero J., Becavin C., Benecke A., Bianchi E., Socie G., Rogge L. Multiparameter single-cell profiling of human CD4⁺FOXP3⁺ regulatory T-cell populations in homeostatic conditions and during graft-versus-host disease. *Blood*, 2013, Vol. 122, no. 10, pp. 1802-1812.
14. Farber D.L., Yudanin N.A., Restifo N.P. Human memory T-cells: generation, compartmentalization and homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.*, 2014, Vol. 14, no. 1, pp. 24-35.
15. Farber D.L., Netea M.G., Radbruch A., Rajewsky K., Zinkernagel R.M. Immunological memory: lessons from the past and look to the future. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 2, pp. 125-128.
16. Gattinoni L., Lugli E., Ji Y., Pos Z., Paulos C.M., Quigley M.F., Almeida J.R., Gostick E., Yu Z., Carpenito C., Wang E., Douek D.C., Price D.A., June C.H., Marincola F.M., Roederer M., Restifo N.P. A human memory T-cell subset with stem cell-like properties. *Nat. Med.*, 2011, Vol. 17, no. 10, pp. 1290-1297.
17. Gattinoni L., Klebanoff C.A., Restifo N.P. Path to stemness: building the ultimate antitumour T cell. *Nat. Rev. Cancer*, 2012, Vol. 12, no. 10, pp. 671-684.
18. Goronzy J.J., Weyand C.M. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nat. Immunol.*, 2013, Vol. 14, no. 5, pp. 428-436.
19. Gratz I.K., Campbell D.J. Organ-specific and memory Treg cells: specificity, development, function, and maintenance. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, p. 333.
20. Henson S.M., Riddell N.E., Akbar A.N. Properties of end-stage human T-cells defined by CD45RA re-expression. *Curr. Opin. Immunol.*, 2012, Vol. 24, no. 4, pp. 476-481.
21. Hori S., Hauray M., Coutinho A., Demengeot J. Specificity requirements for selection and effector functions of CD25⁺4⁺ regulatory T-cells in anti-myelin basic protein T-cell receptor transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, Vol. 99, no. 12, pp. 8213-8218.
22. Katzman S.D., Hoyer K.K., Dooms H., Gratz I.K., Rosenblum M.D., Paw J.S., Isakson S.H., Abbas A.K. Opposing functions of IL-2 and IL-7 in the regulation of immune responses. *Cytokine*, 2011, Vol. 56, no. 1, pp. 116-121.
23. Lathrop S.K., Bloom S.M., Rao S.M., Nutsch K., Lio C-W., Santacruz N., Peterson D.A., Stappenbeck T.S., Hsieh C-S. Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*, 2011, Vol. 478, no. 7368, pp. 250-254.
24. Li M.O., Rudensky A.Y. T cell receptor signalling in the control of regulatory T cell differentiation and function. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 4, pp. 220-233.

25. Liston A., Gray D.H. Homeostatic control of regulatory T-cell diversity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2014, Vol. 14, no. 3, pp. 154-165.
26. Loblay R.H., Pritchard-Briscoe H., Basten A. Suppressor T-cell memory. *Nature*, 1978, Vol. 272, no. 5654, pp. 620-622.
27. Michalek R.D., Gerriets V.A., Jacobs S.R., Macintyre A.N., Maclver N.J., Mason E.F., Sullivan S.A., Nichols A.G., Rathmel J.C. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4⁺ T cell subsets. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, no. 6, pp. 3299-3303.
28. Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A., Shima T., Wing K., Niwa A., Parizot C., Taflin C., Heike T., Valeyre D., Mathian A., Nakahata T., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M., Amoura Z., Gorochoy G., Sakaguchi S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FOXP3 transcription factor. *Immunity*, 2009, Vol. 30, no. 6, pp. 899-911.
29. Mueller S.N., Mackay L.K. Tissue-resident memory T cells: local specialists in immune defence. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 2, pp. 79-89.
30. Ohkura N., Kitagawa Y., Sakaguchi S. Development and maintenance of regulatory T cells. *Immunity*, 2013, Vol. 38, no. 3, pp. 414-423.
31. Pearce E.L., Poffenberger M.C., Chang C.-H., Jones R.G. Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. *Science*, 2013, Vol. 342, no. 6155, 1242454. doi: 10.1126/science.1242454.
32. Pulko V., Davies J.S., Martinez C., Lanteri M.C., Busch M.P., Diamond M.S., Knox K., Bush E.C., Sims P.A., Sinari S., Billheimer D., Haddad E.K., Murray K.O., Wertheimer A.M., Nikolich-Zugich J. Human memory T-cells with a naive phenotype accumulate with aging and respond to persistent viruses. *Nat. Immunology*, 2016, Vol. 17, no. 8, pp. 966-975.
33. Raynor J., Lages C.S., Shehata H., Hildeman D., Chouquet C.A. Homeostasis and function of regulatory T-cells in aging. *Curr. Opin. Immunol.*, 2012, Vol. 24, no. 4, pp. 482-487.
34. Rosenblum M.D., Gratz I.K., Paw J.S., Lee K., Marshak-Rothstein A., Abbas A.K. Response to self antigen imprints regulatory memory in tissues. *Nature*, 2011, Vol. 480, no. 7378, pp. 538-542.
35. Rosenblum M.D., Way S.S., Abbas A.K. Regulatory T-cell memory. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 2, pp. 90-101.
36. Rowe J.H., Ertelt J.M., Xin L., Way S.S. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature*, 2012, Vol. 490, no. 7418, pp. 102-106.
37. Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C.M., Hafler D.A. FOXP3⁺ regulatory T-cells in the human immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, Vol. 10, no. 7, pp. 490-500.
38. Sallusto F., Lenig D., Forster R., Lipp M., Lanzavecchia A. Two subsets of memory T-lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*, 1999, Vol. 401, no. 6754, pp. 708-712.
39. Sanchez Rodriguez R., Pauli M.L., Neuhaus I.M., Yu S.S., Arron S.T., Harris H.W., Yang S.H., Anthony B.A., Sverdrup F.M., Krow-Lucal E., MacKenzie T.C., Johnson D.S., Meyer E.H., Lohr A., Hsu A., Koo J., Liao W., Gupta R., Debbaneh M.G., Butler D., Huynh M., Levin E.C., Leon A., Hoffman W.Y., McGrath M.H., Alvarado M.D., Ludwig C.H., Truong H.A., Maurano M.M., Gratz I.K., Abbas A.K., Rosenblum M.D. Memory regulatory T-cells reside in human skin. *J. Clin. Invest.*, 2014, Vol. 124, no. 3, pp. 1027-1036.
40. Sathaliyawala T., Kubota M., Yudanin N., Turner D., Camp P., Thome J.J., Bickham K.L., Lerner H., Goldstein M., Sykes M., Kato T., Farber D.L. Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T-cell subsets. *Immunity*, 2013, Vol. 38, no. 1, pp. 187-197.
41. Schenkel J.M., Fraser K.A., Masopust D. Cutting edge: resident memory CD8 T cells occupy frontline niches in secondary lymphoid organs. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 192, no. 7, pp. 2961-2964.
42. Smigiel K.S., Richards E., Srivastava S., Thomas K.R., Dudda J.C., Klonowski K.D., Campbell D.J. CCR7 provides localized access to IL 2 and defines homeostatically distinct regulatory T cell subsets. *J. Exp. Med.*, 2014, Vol. 211, no. 1, pp. 121-136.
43. Tanoe T., Atarashi K., Honda K. Development and maintenance of intestinal regulatory T cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 5, pp. 295-309.
44. Taylor J.J., Jenkins M. CD4⁺ memory T cell survival. *Curr. Opin. Immunol.*, 2011, Vol. 23, pp. 319-323.
45. van der Geest K.S., Abdulahad W.H., Tete S.M., Lorencetti P.G., Horst G., Bos N.A., Kroesen B.J., Brouwer E. Aging disturbs the balance between effector and regulatory CD4⁺ T cells. *Exp. Gerontol.*, 2014, Vol. 60, pp. 190-196.
46. Vukmanovic-Stejic M., Zang Y., Cook J.E., Fletcher J.M., McQuaid A., Masters J.E., Rustin M.H.A., Taams L.S., Beverley P.C.L., Macallan D.C., Akbar A.N. Human CD4⁺CD25^{hi}Foxp3⁺ regulatory T-cells are derived by rapid turnover of memory populations *in vivo*. *J. Clin. Invest.*, 2006, Vol. 116, no. 9, pp. 2423-2433.
47. Vukmanovic-Stejic M., Sandhu D., Sobande T.O., Agius E., Lacy K.E., Riddell N., Montez S., Dintwe O.B., Scriba T.J., Breuer J., Nikolich-Zugich J., Ogg G., Rustin M.H., Akbar A.N. Varicella zoster-specific CD4⁺Foxp3⁺ T cells accumulate after cutaneous antigen challenge in humans. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 3, pp. 977-986.
48. Xiao-Feng Qin F. Dynamic behavior and function of FOXP3⁺ regulatory T cells in tumor bearing host cell. *Molecular Immunol.*, 2009, Vol. 6, no. 1, pp. 3-13.

Авторы:

Олейник Е.К. — д.б.н., доцент, главный научный сотрудник, руководитель группы иммунологии, Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

Чуров А.В. — к.б.н., научный сотрудник группы иммунологии, Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

Олейник В.М. — д.б.н., ведущий научный сотрудник группы иммунологии, Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

Authors:

Oleinik E.K., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Senior Research Associate, Head, Immunology Group, Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

Churov A.V., PhD (Biology), Research Associate, Immunology Group, Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

Oleinik V.M., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Immunology Group, Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

Поступила 09.11.2017
Принята к печати 28.11.2017

Received 09.11.2017
Accepted 28.11.2017