

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ И ВАКЦИНАЦИЯ

В.Ф. Лавров, С.Н. Кузин

ГУ «НИИ вирусных препаратов им. О.Г. Анджапаридзе РАМН», Москва

Вакцинация – одна из многих форм вмешательства в иммунную систему. По определению, это процесс однократного или многократного введения антигена до момента появления в организме хозяина провоцирующего фактора. Таким фактором является инфицирование агентом (возбудителем) дикого типа. Вакцинацию можно также представить попыткой воспроизвести некоторые аспекты инфекционного заболевания с целью вызвать иммунный ответ, который защитит организм от инфекции [1].

После вакцинации или заражения организма диким штаммом возбудителя перед иммунной системой хозяина стоит несколько задач.

Решение первой задачи включает в себя продукцию ряда популяций эффекторных лимфоцитов:

- а) плазматических клеток, секретирующих антитела;
- б) CD4+Т-клеток (хелперов), секретирующих цитокины и стимулирующих экспрессию лиганда CD40 макрофагами, дендритными клетками и В-лимфоцитами;
- в) CD8+Т-клеток (киллеров) или цитотоксических Т-лимфоцитов, уничтожающих клетки, инфицированные вирусами.

Вторая задача состоит в том, чтобы обеспечить достаточную продукцию лимфоцитов, являющихся носителями иммунологической памяти и способных в случае контакта организма с возбудителем дикого типа, против которого была направлена вакцинация, осуществить максимально быструю мобилизацию соответствующих «эффекторных» клеток.

И третья задача решается иммунной системой в случае заражения организма возбудителями вирусной или бактериальной природы, вызывающими хроническую инфекцию, например вирусами иммунодефицита человека, вирусами гепатитов В и С, различными вирусами герпеса, микобактериями туберкулеза и т.д. При этом иммунная система больного очень долго, иногда на протяжении всей жизни, вынуждена продуцировать лимфоциты-«эффекторы», способные контролировать развитие болезни [9]. Формирование иммунологической памяти в ответ на развитие хронической инфекции представляет чрезвычайный интерес при изучении механизмов развития поствакцинального иммунитета.

Современные знания в области иммунологии пока не позволяют достаточно точно ответить на вопрос, как происходит программирование иммунной системы на генерацию клонов антиген-специфиче-

ских лимфоцитов-«эффекторов» при длительной персистенции возбудителя в организме хозяина. В то же время уже можно указать на вероятные механизмы продукции «эффекторных» клеток на протяжении достаточно длительного периода. Перед этим, однако, необходимо остановиться на некоторых известных положениях современной иммунологии.

Исходя из общих представлений о функциях иммунной системы, выделяются два основных типа иммунного ответа хозяина на антиген: 1) специфический, или адаптивный, и 2) ответ за счет врожденного иммунитета (селективный, или менее специфический). Оба типа иммунного ответа чрезвычайно важны и взаимно дополняют друг друга. Так, врожденный иммунитет представляет собой первоначальную реакцию организма на инфекцию. У компонентов этой реакции – макрофагов/моноцитов, нейтрофилов, естественных клеток-киллеров (ЕКК), интерферона-гамма, фактора некроза опухолей-альфа, интерлейкина-1, активированной системы комплемента, исключая, пожалуй, ЕКК, – нет четкой специфичности. Однако по мере ее реализации готовится почва для последующего адаптивного ответа. В свою очередь, адаптивные реакции характеризуются двумя главными признаками – уникальной специфичностью и памятью, которые являются исключительными свойствами лимфоцитов. Адаптивный иммунный ответ состоит из двух – антигеннезависимой и антигензависимой – фаз развития. Первая, антигеннезависимая, фаза характеризуется продукцией клонов Т- и В-лимфоцитов, каждый из которых имеет свой уникальный антигенсвязывающий рецептор. Антиген-распознающий репертуар этих рецепторов не связан с антимикробной специфичностью, но при этом обеспечивает хозяина очень широким набором рецепторов к любым потенциально возможным антигенам. Это очень важно, так как любой инфекционный агент (вирусного, бактериального или иного проис-

хождения) на протяжении своего жизненного цикла экспрессирует специфические молекулы (антигены), которые в свою очередь распознаются хотя бы одним или несколькими клонами лимфоцитов. У человека данная фаза жизнедеятельности лимфоцитов имеет свои особенности. Так, размножение В-клеток происходит активно и стабильно практически в течение всей жизни хозяина, а вот продукция зрелых Т-лимфоцитов существенно уменьшается вследствие относительно быстрой инволюции тимуса. Тем не менее, механизм сохранения наивных Т-клеток, а также сохранения и поддержания клонов лимфоцитов, отобранных во второй, антигензависимой, фазе по способности связывать антигены бактерий или вирусов, несомненно, существует. В процессе антигензависимой фазы дифференцировки ответ на микробные (вирусные) антигены реализуется за счет их связывания лимфоцитами с инициацией ряда сложных внутри- и межклеточных процессов, приводящих в итоге к пролиферации и дифференцировке этих клеток. Особенно важной является фаза пролиферации, так как у хозяина очень мало клонов антиген-реактивных клеток. Защита же организма даже от первичной инфекции требует огромного количества лимфоцитов-«эффекторов». Переход заболевания в хроническую фазу предполагает наличие еще большего числа окончательно дифференцированных функционально зрелых лимфоидных клеток, которые могли бы успешно и длительно контролировать течение болезни. По-видимому, существует некий механизм прерывания окончательной стадии дифференцировки антиген-коммитированных лимфоцитов на определенном этапе. При этом сохраняется способность клеток длительно и активно пролиферировать, являясь, таким образом, источником «эффекторных» лимфоцитов. Именно в этой фазе развития формируются клетки иммунологической памяти, которые способны защитить организм хозяина от последствий контакта с патогеном в будущем. Кроме того, учитывая способность лимфоцитов памяти дополнительно многократно делиться и дифференцироваться в «эффекторные» клетки, можно полагать, что именно на этой стадии сохраняется репликативный потенциал клонов антиген-коммитированных лимфоцитов. Таким образом, клетки памяти не только могут защищать от возможного заражения тем или иным инфекционным агентом, но и активно контролировать хроническую инфекцию, продуцируя лимфоциты с «эффекторными» функциями длительный период времени [1, 2, 9]. Как уже упоминалось, память является одним из двух (наравне со специфичностью) главных свойств иммунной системы позвоночных. Успех вакцинации всецело зависит от полноценного формирования клонов лимфоцитов памяти и затем их активации. Известны два вида лимфоидных клеток, обладающих иммунологической памятью. Это В- и Т-клетки памяти. В-лимфоциты памяти образуются в зародышевых (герминативных) центрах селезенки из предшественников В-клеток, так называемых центроцитов, где происходит быстрая пролиферация антиген-

коммитированных клонов В-лимфоцитов, в процессе которой возникают соматические мутации генов IgG. Продуцируемые варианты антител отбираются при этом по аффинности к антигену, а сами В-клетки после ряда делений, необходимых для возникновения мутаций, выходят из цикла деления и превращаются в терминально дифференцированные плазматические клетки-«эффекторы», продуцирующие высокоаффинные антитела и лишенные способности пролиферировать. Подробную информацию о В-клетках памяти, описание их фенотипа, свойств, происхождения и т. д. можно найти в отличном обзоре Т.К. Борисовой [2].

Предположение о существовании определенного механизма, позволяющего задерживать окончательную дифференцировку В-лимфоцитов до обретения ими способности продуцировать высокоаффинные варианты антител, подтвердилось. Было установлено, что у активно размножающихся В-лимфоцитов экспрессирован репрессор транскрипции BCL-6 [4, 6]. Он необходим для полноценного функционирования зародышевого центра и не экспрессирован у наивных В-клеток и плазматических клеток [5, 7, 19]. Оказалось, что BCL-6 препятствует также экспрессии фактора транскрипции плазматических клеток Blimp-1, позволяя В-клеткам зародышевого центра сохранять способность к самообновлению [13, 17]. По-видимому, эта уникальная способность В-клеток подобна аналогичным возможностям стволовых кроветворных клеток, и если это так, то механизм торможения дифференцировки долгоживущих антиген-специфических лимфоцитов может быть основой продукции эффекторных лимфоцитов из пула лимфоцитов памяти. Зародышевые центры, вследствие того, что в них происходит отбор В-клеток при помощи антигена, служат важными компонентами общего спектра защиты от патогенных агентов. Некоторые из В-лимфоцитов после прекращения инфекционного процесса остаются в покое состоянии, предшествующем терминальной дифференцировке. Данные клетки и являются носителями иммунологической памяти. В случае повторного контакта с соответствующим антигеном В-клетки памяти инициируют работу зародышевого центра. До наступления терминального состояния эти лимфоциты могут осуществить еще около 20 повторных циклов деления [10].

Таким образом, субпопуляция лимфоцитов, представляющая зародышевый центр В-клеток, обладает, подобно стволовым кроветворным клеткам, уникальной способностью самообновляться. Это происходит с помощью экспрессии репрессора транскрипции BCL-6, который блокирует их конечную дифференцировку.

Расшифровать механизмы антигензависимого развития Т-лимфоцитов оказалось значительно сложнее, чем В-клеток. Одной из причин подобного рода затруднений является практически отсутствие морфологических различий между терминально дифференцированными Т-клетками и их предшественниками. Кроме того, установлено, что окончательно дифференцированные Т-лимфоциты, в отличие от плазматических

клеток, способны возвращаться на более ранние стадии дифференцировки [11]. В итоге удалось выделить три стадии дифференцировки активированных антигеном CD4+ Т-клеток, фенотипические различия между которыми основывались на экспрессии или ее отсутствии хемокинового рецептора CCR7, а также нескольких изоформ маркера CD45: 1-я стадия – иммунологически наивные клетки CD45RA+CCR7+; 2-я стадия – «центральные» клетки памяти CD45RO+CCR7+ и 3-я стадия – «эффекторные» клетки памяти CD45RO+CCR7- [16]. Было также показано, что так называемые «центральные» клетки способны мигрировать во вторичные лимфоидные органы, а «эффекторные» клетки – в периферические очаги воспаления, вызванного инфекцией [12].

Изучение фенотипической характеристики CD8+ Т-лимфоцитов продемонстрировало, что на их поверхности экспрессированы два рецептора – CD27 и CD28, которые исчезают при достижении этими клетками состояния терминальной дифференцировки [8]. Было также установлено, что Т-клетки с фенотипом CD8+ можно подразделить на аналогичные CD4+Т-лимфоцитам три основных и одну дополнительную (CD45RA+CCR7-) субпопуляцию клеток, которая была представлена терминально дифференцированными лимфоцитами-«эффекторами», практически не отличающимися от CD8+CD27-«эффекторных» Т-клеток [4]. Роль этой дополнительной субпопуляции клеток пока не выяснена. В общем же было продемонстрировано, что все Т-лимфоциты, стимулированные антигеном, проходят линейный путь дифференцировки от иммунологически наивных Т-клеток к «центральным» клеткам памяти (обе субпопуляции экспрессируют CCR7), а затем к «эффекторным» клеткам памяти (CCR7-). Считается, что по аналогии со стадиями дифференцировки В-лимфоцитов CCR7+ «центральные» Т-клетки памяти способны, подобно стволовым кроветворным клеткам, к неограниченной пролиферации. Напротив, CCR7-«эффекторные» Т-клетки памяти (коммитированные предшественники) после ограниченного числа циклов деления превращаются в терминально дифференцированные лимфоциты, которые получают определенные сигналы от элементов микроокружения во вторичных лимфоидных органах, где и осуществляется их контакт с антигеном, представленным на дендритных клетках. Полагают, что CD4+ и CD8+ «центральные» CD45RO+CCR7+Т-клетки менее дифференцированы, чем «эффекторные» CD45RO+CCR7-Т-лимфоциты памяти. Это подтверждается способностью последних к цитолитической активности, продукции ряда эффекторных цитокинов и экспрессии перфорина. «Центральные» же клетки указанных свойств не имеют [3, 15], обладая при этом другим важным качеством – способностью сохраняться после успешного завершения инфекции, в отличие от «эффекторных» лимфоцитов, абсолютное большинство которых элиминируется. Сохраняется очень небольшое количество активированных антигеном CD45RO+CCR7+Т-лимфоцитов, которые, подобно стволовым кроветворным клеткам и ранее описанным

В-клеткам памяти, обладают функцией самообновления и, вероятно, экспрессируют аналогичный Bcl-6 (пока не доказанный факт), репрессор транскрипции.

Таким образом, мы имеем данные, свидетельствующие о наличии у стимулированных антигеном CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов стадии развития, при которой часть этих клеток способна к самообновлению, то есть неограниченной продукции антиген-специфических эффекторных Т-лимфоцитов на протяжении весьма длительного периода и даже всей жизни организма после вакцинации, перенесенной острой инфекции или развития хронического процесса.

Литература

1. Ада Г., Рамсей А. Вакцины, вакцинация и иммунный ответ. М., 2002. – 328 с.
2. Борисова Т.К. Механизмы генерации В-клеток памяти//Успехи современной биологии, 2000. Т. 120. № 5, С. 477– 489.
3. Champagne P., Ogg G.S., King A.S. et al., Skewed maturation of memory HIV-specific CD8 T lymphocytes. *Nature*. 2001. 410. P. 106– 111.
4. Chang C.C., Ye B.H., Chaganti R.S. et al. BCL-6, a POZ/zinc-finger protein, is a sequence-specific transcriptional repressor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1996, 93, P. 6947– 6952.
5. Dent A.L., Shaffer A.L., Yu X. et al. Control of inflammation, cytokine expression, and germinal center formation by BCL-6. *Science*, 1997, 276, P. 589– 592.
6. Deweindt C., Albagli O., Bernandrin F. et al. The LAZ3/BCL6 oncogene encodes a sequence-specific transcriptional inhibitor: a novel functional for the BTB/POZ domain as an autonomous repressing domain. *Cell Growth Differ.* 1995. 6. P. 1495 – 1503.
7. Fukuda T., Yoshida T., Okada S. et al., Disruption of the Bcl-6 gene results in an impaired germinal center formation. *J. Exp. Med.* 1997. 186. P. 439– 448.
8. Hamann D., Baars P.A., Rep M.H. et al. Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. *J. Exp. Med.* 1997. 186. P. 1407– 1418.
9. Fearon D., Manders P., Wagner S., Arrested differentiation, the self-renewing memory lymphocyte, and vaccination. *Science*, 2001. 293. P. 248– 250.
10. Milstein C. Affinity maturation of antibodies. *Immunol. Today*, 1991. 12. P. 93– 94.
11. Opferman J.T., Ober B.T., Ashton-Rickardt P.G. Linear differentiation of cytotoxic effectors into memory T lymphocytes. *Science*, 1999, 283. P. 1745– 1748.
12. Reinhardt R.L., Khorut S.A., Merica R. Visualizing the generation of memory CD4 T cells in the whole body. *Nature*, 2001, 410. P. 101– 105.
13. Reljic R., Wagner S.D., Peakman L.J. et al. Suppression of signal transducer and activator of transcription 3-dependent B lymphocyte terminal differentiation by BCL-6. *J. Exp. Med.*, 2000, 192. P. 1841– 1848.
14. Sale J.E., Bemark M., Williams G.T. et al. In vivo and in vitro studies of immunoglobulin gene somatic hypermutation. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* 2001, 356. P. 21– 28.
15. Sallusto F., Lenig R., Forster R. et al. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*, 1999, 401. P. 659– 660.
16. Seyfert V.L., Allman D., He Y et al., Transcriptional repression by the proto-oncogene BCL-6. *Oncogene*, 1996, 12. P. 2331– 2342.
17. Shaffer A.L., Yu X., He Y. et al. BCL-6 represses genes that function in Lymphocyte differentiation, inflammation, and cell cycle control. *Immunity*, 2000, 13. P. 199-212.
18. Turner C.A., Mack D.H., Davis M.M. Blimp-1, a novel zinc finger-containing protein that the maturation of B lymphocytes into immunoglobulin-secreting cell. *Cell*, 1994, 77. P. 297– 306.
19. Ye B.N., Cattoretti G., Shen Q. et al. The BCL-6 proto-oncogene controls germinal-centre formation and Th2-type inflammation. *Nature Genet.*, 1997, 16. P. 161– 170.