

РОЗДІЛ 10. АКТИВАЦІЯ ЛІМФОЦИТІВ

Активация - це процес, що зумовлює перехід клітини під впливом стимулюючого сигналу з фази G0 у фазу G1 клітинного циклу. Наївні лімфоцити, що мігрували з центральних лімфоїдних органів на периферію, перебувають на стадії G0, тобто знаходяться в стані спокою. В результаті активації в лімфоцитах відбуваються процеси, що зумовляють поділ клітин та їх диференціювання. Повноцінна активація лімфоцитів, що супроводжується процесами проліферації і диференціювання, відбувається за участю кількох послідовних сигналів, які індукуються, крім антигену, ще й додатковими стимулами, що сприяють проходженню і завершенню циклу. Відсутність додаткових стимулюючих сигналів може призвести до клональної анергії або апоптозу (рис. 59). Рецепторний апарат лімфоцитів пов'язаний із певними внутрішньоклітинними біохімічними системами. Взаємодія рецепторів з антигеном визначає подальший функціональний стан специфічного до цього антигену лімфоцита. Хоча, який саме "шлях" обере лімфоцит, залежить від багатьох факторів: стадії розвитку лімфоцита, наявності додаткових сигналів від клітинного (цитокінового) мікроочередення, а також від кількості (локальної концентрації) антигену та афінності специфічних до нього рецепторів. У цьому розділі буде детально розглянуто, які біохімічні процеси відбуваються під час взаємодії (зв'язування) рецепторів наївних Т- і В-клітин з відповідним антигеном та які додаткові сигнали потребує лімфоцит для повноцінної активації.

10.1. БУДОВА РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТУ Т- І В-КЛІТИН Специфічне розпізнавання антигену клітинами імунної системи є центральним моментом запуску та регуляції імунної відповіді. Розпізнавання антигену лімфоцитами здійснюється завдяки притаманним лише їм специфічним структурам -антигенрозпізнавальним рецепторам. Взаємодія рецепторів з антигеном з одного боку запускає процес активації клітини, стимулюючи диференціювання і виконання її ефекторної функції, з іншого боку може призвести до анергії лімфоцита чи його загибелі шляхом апоптозу. Антигенспецифічні рецептори несуть як Т-, так і В-лімфоцити, Т-клітинні рецептори (ТкР) і В-клітинні рецептори (ВкР) різняться за молекулярною структурою та особливостями розпізнавання. На поверхні Т- і В-клітин антигенспецифічні рецептори експресуються поряд з додатковими поліпептидними ланцюгами, формуючи разом з ними рецепторний комплекс. Функції складових цього комплексу різні, власне рецептор виконує функцію розпізнавання і зв'язування антигену (епітопу), а додаткові молекули беруть участь у передачі сигналу всередину клітини.

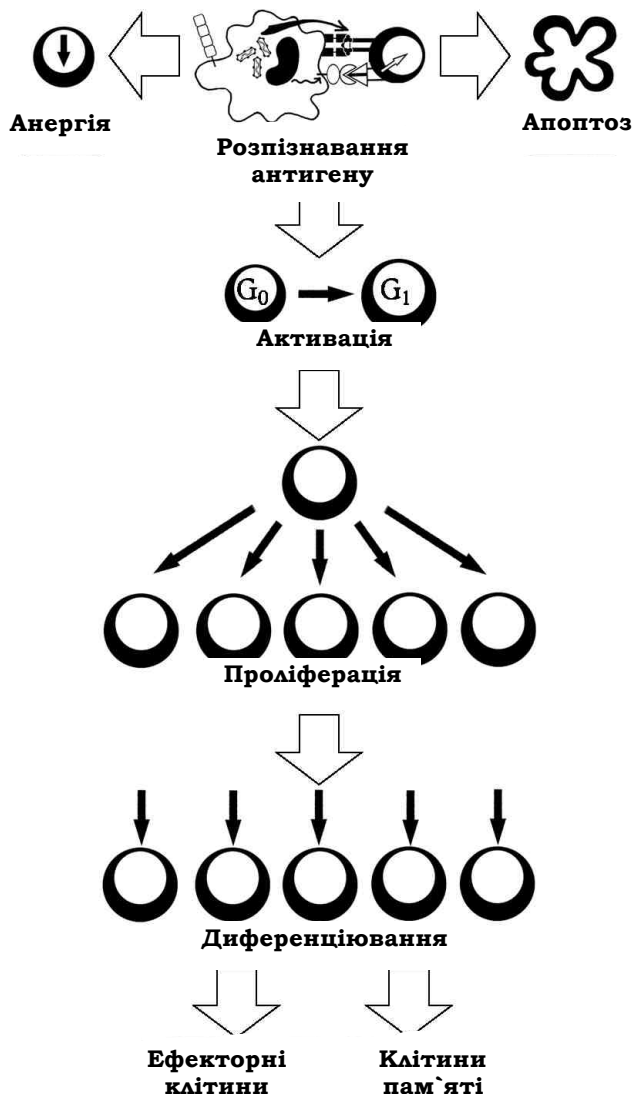


Рис. 59. Можливі наслідки розпізнавання чужорідного антигену лімфоцитом (активация з наступною проліферацією і диференціюванням з утворенням ефекторних клітин та клітин пам'яті або анергія чи апоптоз)

Рецепторний комплекс В-клітин. Головною частиною В-клітинного рецепторного комплексу, що специфічно взаємодіє з антигеном, є структурно пов'язані з клітинною мембраною молекули імуноглобулінів (mIg). Для імуноглобулінів всіх класів можлива експресія у вигляді мембранозв'язаної форми, але на поверхні наївних В-лімфоцитів, що не контактували з антигеном, рецептори представлені тільки імуноглобулінами двох класів: IgM та IgD, і їхня кількість становить приблизно 150 000 на клітину. Мембранні форми імуноглобулінів з'являються в результаті альтернативного сплайсингу їх матрич-

них РНК. На відміну від секреторних, Ig мають (містять) гідрофобну С-кінцеву ділянку, яка затримує ці імуноглобуліни в плазматичній мембрані. Мембранний IgM має мономерну форму, на відміну від сироваткової пентамерної форми.

Додаткові компоненти В-клітинного рецептора, що виконують функцію передавання сигналу про зв'язування антигену всередину клітини, представлені двома подібними за структурою поліпептидними ланцюгами - $Ig\alpha$ (CD79a) і $Ig\beta$ (CD79b) з молекулярною масою відповідно 39 000 і 33 000. У формі гетеродимерів вони безпосередньо пов'язані з основною частиною рецептора (рис. 60). Ланцюги $Ig\alpha$ і $Ig\beta$ мають по одному позаклітинному домену імуноглобулінової природи та великі цитоплазматичні хвости, на яких знаходяться специфічні послідовності (ITAM – імунні мотиви активуючої дії, що базуються на тирозині), необхідні для запуску процесів активації клітини. Вважають, що з однією молекулою імуноглобуліну зв'язано по одній молекулі $Ig\alpha$ і $Ig\beta$.

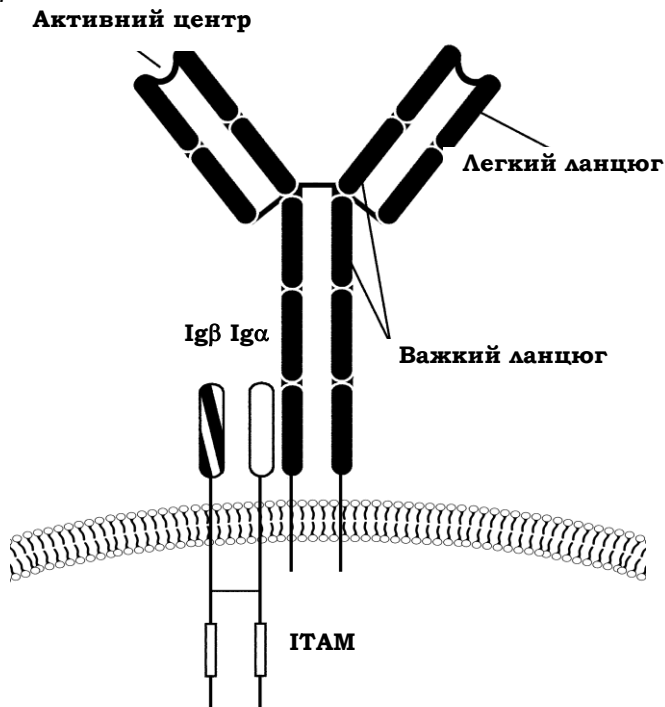


Рис. 60. Будова антигенрозпізнавального рецепторного комплексу В-клітин

Рецепторний комплекс Т-клітин. Як уже зазначалося, існує два типи Т-клітинного рецептора – $\alpha\beta$ і $\gamma\delta$. Кожний Т-лімфоцит несе рецептори тільки одного типу. На клітинній поверхні як $\alpha\beta$ -ТкР, так і $\gamma\delta$ -ТкР асоційовані з поліпептидним комплексом CD3.

Поліпептидні ланцюги $\alpha\beta$ -ТкР і $\gamma\delta$ -ТкР, що складають власне ТкР, мають аналогічну молекулярну структуру. Кожний із ланцюгів містить у надмембранній частині один варіабельний (V) та один константний (C) домен, трансмембранний сегмент (12-20 залишків) і короткий цитоплазматичний хвіст (3-5 залишків). Між С-доменом і трансмембранним сегментом у гнучкій шарнірній ділянці міститься дисульфідний зв'язок, що з'єднує ланцюги димеру. У людини виявлено один із різновидів $\gamma\delta$ -ТкР, ланцюги якого з'єднані не ковалентними зв'язками, а не типовими ковалентними-дисульфідними зв'язками. У надмембранній частині ланцюгів є дві ділянки N-глікозилювання (одна у V-домені, друга в С-домені).

V-Домен ТкР подібні до V-доменів імуноглобулінів, характеризуються різноманітністю амінокислотної послідовності і містять гіперваріабельні ділянки з найбільш мінливою послідовністю амінокислот, які утворюють активний центр, що зв'язує антиген. Гіперваріабельні ділянки V-домена ТкР, як і в молекулі імуноглобуліну, стабілізовані каркасними ділянками з відносно постійною амінокислотою послідовністю.

CD3-комплекс. Як уже зазначалося, димери $\alpha\beta$ і $\gamma\delta$ Т-клітинного рецептора розміщуються на клітинній поверхні поряд з поліпептидними ланцюгами, що об'єднуються в комплекс під назвою CD3. До складу комплексу CD3 входить п'ять видів поліпептидних ланцюгів, з них три (γ , δ і ϵ) експресуються у формі мономерів, два інші (ζ і η) - у формі з'єднаних дисульфідним зв'язком гомо- або гетеродимерів (ζ - ζ , η - η , ζ - η). Не слід плутати ланцюги γ і δ CD3-комплексу з ланцюгами $\gamma\delta$ -ТкР.

Поліпептиди CD3-комплексу є трансмембранними білками і мають однакову послідовність амінокислот у всіх Т-клітин.

Ланцюги γ , δ і ϵ кодуються тісно зчепленими генами, гомологічними між собою, і належать до суперродини імуноглобулінів. Кожен з ланцюгів має в надмембранній частині один домен (подібний до імуноглобулінового С-домену), трансмембранний сегмент і цитоплазматичний хвіст (40 і більше залишків) з висококонсервативною послідовністю амінокислот. Як і на цитоплазматичних частинах Iga і Igb на ланцюгах CD3-комплексу знаходяться активаційні послідовності ITAM.

Ланцюги ζ і η кодуються одним геном, експресуються в результаті альтернативного сплайсингу і різняться між собою за наявністю або відсутністю в молекулі продуктів останнього екзону. Вони не належать до суперродини імуноглобулінів. Характерною особливістю їх структури є короткий надмембранний домен і дуже довгий цитоплазматичний хвіст (із 143-185 амінокислотних залишків). На відміну від ланцюгів γ , δ і ϵ , ланцюги ζ і η мають не по одній, а по три послідовності ITAM.

Поліпептиди CD3-комплексу виконують таку саму функцію, що й додаткові молекули ВкР, і призначені для передавання сигналу про зв'язування антигену Т-рецептором у середину клітини.

Дослідження топології та визначення молекулярної маси солюбілізованого ТкР-CD3-комплексу дають змогу припустити, що на поверхні Т-клітин повний антигенрозпізнавальний комплекс представлений у вигляді димеру. Його формула $(\alpha\beta)_2, \gamma, \delta, \varepsilon_2, \zeta_2 (\eta_2)$. Модель структури ТкР-CD3-комплексу наведено на рис. 61.

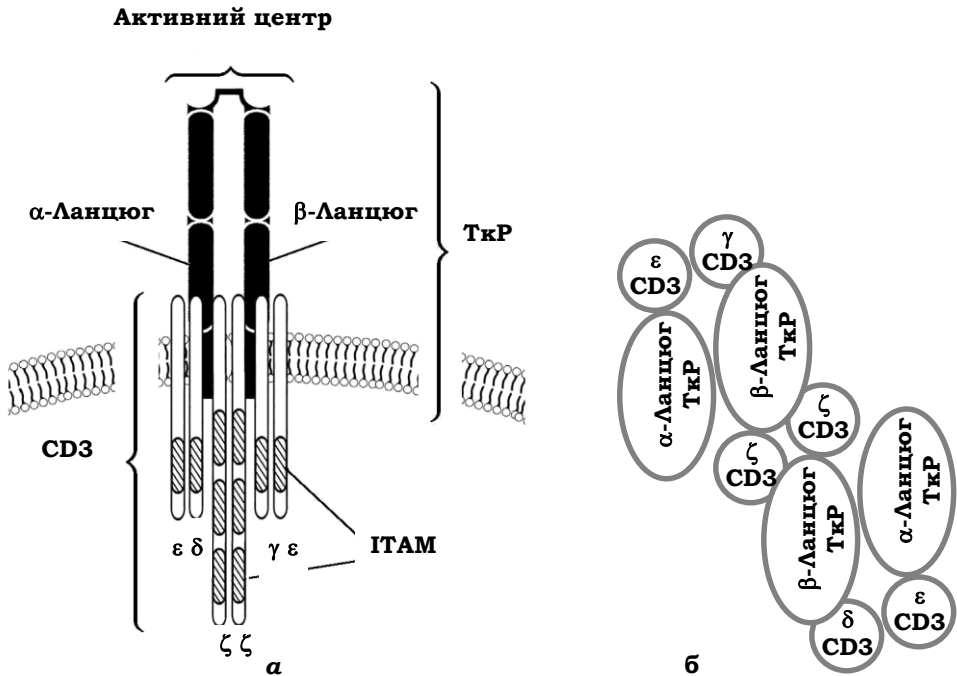


Рис. 61. Будова антиген розпізнавального рецепторного комплексу Т-клітин: а – схематичне зображення основних компонентів комплексу; б – топографія сигнального комплексу Т-клітинного рецептора (вигляд зверху – проекція на площину мембрани, за даними G.Fernandez-Miguel і співавт., 1999)

Складання більшості компонентів ТкР-CD3-комплексу відбувається в ендоплазматичному ретикулумі, однак повністю завершується на мембрані. Вважають, що для складання та експресії рецепторного комплексу на поверхні клітини велике значення мають взаємодії протилежно заряджених амінокислотних залишків у складі трансмембранних сегментів поліпептидних ланцюгів: позитивно заряджених залишків лізину (або аргініну) в $\alpha\beta$ і $\gamma\delta$ -ланцюгах ТкР та негативно заряджених залишків аспарагінової кислоти в CD3-ланцюгах.

На поверхні зрілих наївних Т-клітин, що не контактували з антигеном, міститься 30 000-40 000 молекул ТкР.

Корецептори Т- і В-клітин рецептори, що знаходяться поряд з ТкР або ВкР і розпізнають структури, просторово наближені до антигену. Вони збільшують авідність взаємодії рецепторів з антигеном, а також підсилюють інтенсивність сигналу про розпізнавання антигену, який передається в клітину. До корецепторів Т-клітин належать молекули CD8 у Т-кілерів і CD4 у Т-хелперів. На В-клітинах корецептор представлений комплексом з трьох молекул - CD19/CD21/ТАРА. Корецептори Т-клітин мають специфічність до константних доменів МНС. Причому корецептор Т-кілерів CD8 розпізнає константний домен $\alpha 3$ МНС I, а корецептор Т-хелперів CD4 - константний домен $\beta 2$ МНС II. Таким чином, наявність корецепторів на Т-клітинах зумовлює той факт, що Т-кілери розпізнають антиген у комплексі з МНС I, а Т-хелпери - в комплексі з МНС II. Корецепторний комплекс CD19/CD21/ТАРА В-клітин взаємодіє з С3dg-компонентом комплексу, який сорбується на бактеріальних клітинах, циркулюючих комплексах антигенів з антитілами, агрегованих антигенах тощо. Отже, розпізнавання антигену Т- і В-клітинами часто супроводжується розпізнаванням додаткових структур, що безпосередньо контактують з антигеном - МНС та С3dg за допомогою корецепторів цих клітин.

Корецептори Т-лімфоцитів асоційовані в цитоплазматичній частині з кіназою Lck, а корецептор В-клітин - з кіназою Fyn або Lyn, а також з PI-3-кіназою та білком Vav. Функцію цих молекул у сигнальній трансдукції буде описано далі.

10.2. ПЕРЕДАВАННЯ СИГНАЛУ ВІД РЕЦЕПТОРІВ ЛІМФОЦИТІВ

Повноцінна активація лімфоцитів відбувається за участю складної сигнальної системи, яка забезпечує індукування та передавання сигналів у середину клітини як від антигену, так і від костимуляторних мембранних молекул та розчинних факторів. Головний, специфічний, сигнал клітина отримує від антигензв'язувальних рецепторів. Передавання сигналу від рецепторів супроводжується формуванням сигнального каскаду з послідовним залученням ферментів і адапторних білків, що пов'язані з рецепторним апаратом лімфоцита.

Основні класи тирозинових кіназ, що беруть участь у передаванні сигналу від рецепторів лімфоцитів. Тирозинові кінази, що беруть участь у передаванні сигналу від антигенспецифічного рецептора Т- і В-клітин, поділяють на чотири родини за спільними ознаками будови та гомологією амінокислотних послідовностей. Слід підкреслити, що всі тирозинові кінази, крім каталітичної, мають консервативні домени, які визначають взаємодію кіназ з певними субстратами, а також їх локалізацію в сигнальному комплексі. Це, як правило,

домени SH2 та SH3, а також домен PH, який є характерним для кіназ Тес-родини.

Кінази Src-родини. Кінази Src-родини завжди сполучені з мембраною клітини за допомогою залишків міристинової кислоти. У такому положенні їх активні центри знаходяться на рівні цитоплазматичних частин CD3-комплексу в Т-лімфоцитах або I α /I β -комплексу в В-лімфоцитах.

Кінази Src-родини першими "відповідають" на розпізнавання антигену. Вони фосфорилують спеціальні послідовності ITAM (від англ. *Immunoreceptor tyrosine based activation motive*) цитоплазматичних частин CD3- або I α /I β -комплексу. Кожний ITAM - це послідовність, що містить два залишки тирозину на відстані 9-11 інших амінокислотних залишків. Обидва залишки тирозину в ITAM мають бути фосфорильовані для успішного проходження сигналу.

У В-лімфоцитах тирозинові залишки, що входять до складу ITAM, фосфорилуються такими кіназами Src-родини, як Lyn, Fyn, Blk і, можливо, Lck, тоді як у Т-лімфоцитів цю функцію виконують в основному кінази Lck та Fyn.

Кінази Src-родини, як правило, нековалентно сполучені з цитоплазматичною частиною корецепторів Т- і В-клітин. У Т-клітинах вони перебувають в асоціації з молекулами CD4 або CD8 (залежно від субпопуляції Т-клітин), а у В-клітинах - з корецепторним блоком, що складається з трьох субодиниць - CD19, CD21 та ТАРА. Наближення корецептора до рецептора під час розпізнавання антигену призводить до того, що кінази Src-родини розміщуються біля послідовностей ITAM і фосфорилують їх.

Розглянемо регуляцію функцій кіназ цієї родини на прикладі Src-кінази. Нормальна Src-кіназа складається з кількох доменів: N-кінцевого SH3-домену, SH2-домену, каталітичного домену і С-кінцевого "хвоста". З N-кінця до Src-кінази ковалентно приєднаний залишок міристинової кислоти, необхідний для "заякорення" кінази в мембрані. Домени Src-кінази здатні до інтрамолекулярної та міжмолекулярної взаємодії. Домени SH3 і SH2 пригнічують активність Src-кінази внаслідок взаємодії з залишками, розміщеними по різні боки від каталітичного центру. SH2-домен взаємодіє з фосфотирозином рТyr527 хвостової ділянки. Цей залишок фосфорилується іншою цитоплазматичною кіназою Csk, яка є негативним регулятором Src-кінази. Внаслідок такої взаємодії каталітичний центр Src-кінази позбавляється доступу до субстратів. Утворюється замкнена структура, яка стабілізується взаємодією SH3-домену з послідовністю між SH2-доменом і каталітичним доменом. Ця послідовність містить тільки один залишок проліну, тому SH3-домен зв'язується з нею з невеликою афінністю (рис. 62).

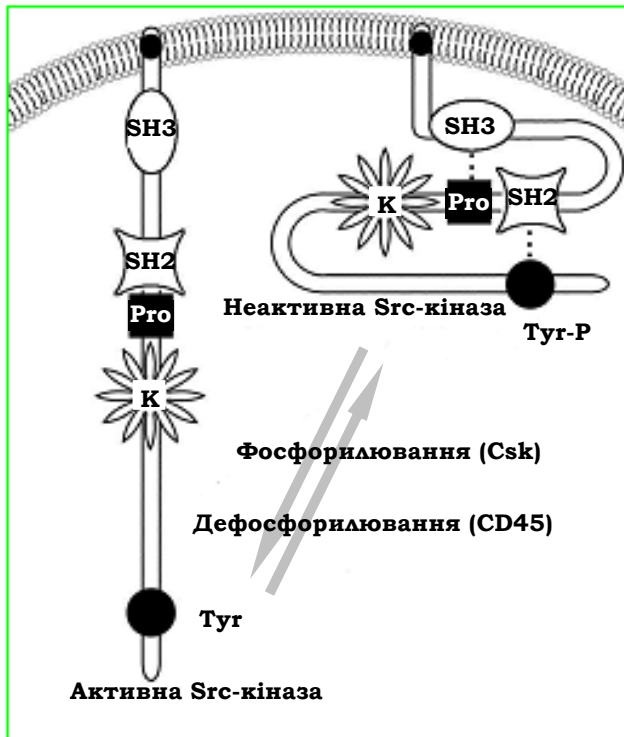


Рис. 62. Механізм регуляції активності src-кінази за участю процесів фосфорильовання-дефосфорильовання та внутрішньомолекулярних взаємодій доменів SH2 і SH3

У такій замкненій конформації кіназа знаходиться в клітинах у нормі і є неактивною, тому що субстрат не може потрапити до активного центру кінази. Активація кінази відбувається при витісненні доменів SH3 та SH2, які беруть участь в інтрамолекулярній взаємодії, внаслідок міжмолекулярної взаємодії з більш афінними лігандами. Для цього повинно відбутися відщеплення фосфатного залишку від Tyr527 за допомогою фосфатази. Як правило, дефосфорильовання кіназ Src-родини в клітинах імунної системи здійснює фосфатаза CD45, тобто CD45 є активатором кіназ Src-родини.

Кінази Syk/Zap-70-родини. Кінази Syk/Zap-70-родини представлені в клітинах імунної системи двома видами: Syk (у В-лімфоцитах) і Zap-70 (у Т-лімфоцитах), завдяки яким родина й дістала свою назву. Ці кінази не містять залишків міристинової кислоти, тому в нормі вони не асоційовані з мембраною, тобто є цитоплазматичними протеїн-кіназами. Характерною ознакою кіназ цієї родини є наявність розміщених один за одним двох SH2-доменів. За допомогою тандему з двох SH2-доменів кінази Syk/Zap-70-родини здатні специфічно взаємодіяти з двома фосфорильованими тирозинами, що входять до складу ITAM. По суті, фосфорильовані послідовності ITAM є специфіч-

ними сайтами для взаємодії з кіназами Syk/Zap-70-родини. Після того як кінази Src-родини фосфорилують цитоплазматичні частини CD3 або I α /I β , до цих частин приєднуються кінази Syk/Zap-70-родини.

Кінази Tec-родини. Представники кіназ Tec-родини за будовою дуже нагадують кінази Src-родини, однак, на відміну від останніх, вони не містять М-кінцевого залишку міристинової кислоти. Замість нього у них є М-кінцевий РН-домен. РН-Домени здатні приєднуватися до мембрани під час взаємодії з ФІФ3, тому кінази Tec-родини можуть знаходитися як у цитоплазмі, так і в контакті з мембраною клітини, залежно від наявності у клітинній мембрані ФІФ3. Отже, при активації в клітині РІЗ-кінази, яка утворює ФІФ3, кінази Tec-родини приєднуються до мембрани і залучаються в процес передавання сигналу.

У пацієнтів із важкими формами імунодефіцитів, наприклад з хворобою Брутона, знайдено мутації в генах, що кодують кінази Tec-родини (Btk). Можливою функцією кіназ цієї родини є активація фосфоліпази C γ , причому різні представники Tec-родини активують різні ізоформи фосфоліпаз.

У Т-клітинах знайдено щонайменше три представники кіназ Tec-родини - Tec, Itk і Rlk/Txk. У В-клітинах найважливішу функцію в процесі передавання сигналу виконує інший представник цієї родини - кіназа Btk.

Кінази Csk-родини. Csk-Родина тирозинових кіназ у клітинах імунної системи представлена однією кіназою Csk (від англ. C-terminal Src кіпазе - кіназа С-кінця Src) - негативним регулятором кіназ Src-родини. За своєю будовою Csk нагадує кінази Src-родини, однак вона не має залишку тирозину на С-кінцевому "хвості" і міристинової кислоти на N-кінці молекули. Тому вона є цитоплазматичною кіназою і постійно перебуває в активованому стані.

Формування сигнального комплексу. Розпізнавання антигену рецепторами Т- і В-клітин супроводжується змінами конформацій цих рецепторів, які передаються до цитоплазматичних частин допоміжних молекул CD3 або I α /I β та латеральною транслокацією корецепторів до рецепторних комплексів. Ці зміни призводять до передавання сигналу всередину клітини. Для нормального проходження сигналу потрібна участь сотень рецепторів на поверхні лімфоцита. Залучення корецепторів до процесів розпізнавання антигену значно зменшує необхідну кількість рецепторів. Усі рецептори, що розпізнали антиген, скупчуються на мембрані разом (олігомеризуються чи агрегуються), що є передумовою активації клітини.

Етапи передавання сигналу від ТкР і ВкР загалом дуже подібні. Вони відрізняються лише специфічними представниками тих чи інших класів білків, що діють у різних клітинах. Для прикладу розгля-

немо передавання сигналу від антигенспецифічного рецептора Т-хелпера.

Антигенспецифічний рецептор Т-хелпера розпізнає антигенний пептид у комплексі з МНС II на поверхні клітини, що презентує антиген. При цьому корецептор CD4 розпізнає константний домен $\beta 2$ молекули МНС II, внаслідок чого цитоплазматична частина CD4 розміщується безпосередньо біля цитоплазматичних частин CD3-комплексу та ζ -ланцюгів. З цитоплазматичного боку з молекулою CD4 сполучена кіназа Lck (представник Src-родини). Внаслідок просторового наближення CD4 до CD3 кіназа Lck фосфорилує послідовності ITAM цитоплазматичних частин CD3 комплексу та ζ -ланцюгів. Кожна субодиниця CD3 комплексу має по одній, а ζ -ланцюг - три послідовності ITAM. Після фосфорилування обох тирозинів у послідовності ITAM до кожної такої послідовності приєднується кіназа Zap-70. Кіназа Lck також фосфорилує кіназу Zap-70, що призводить до активації останньої. Можливо, що кінази Zap-70 активуються також у результаті аутофосфорилування та перехресного гомофосфорилування. Активовані кінази Zap-70 фосфорилують значну кількість інших білків, що входять до складу сигнального комплексу, наприклад великі адапторні білки LAT та SLP-76 (рис. 63).

У Т-кілерів суттєвою відмінністю від наведеної схеми є те, що кіназа Lck у них асоційована з корецептором CD8.

Головним пусковим моментом активації В-лімфоцитів, як вважають, є перехресне зв'язування рецепторів антигеном. Унаслідок цього кінази Src-родини активуються і фосфорилують цитоплазматичні частини $Ig\alpha/Ig\beta$. Цитоплазматичні частини молекул $Ig\alpha/Ig\beta$ мають по одній послідовності ITAM кожна. Замість Zap-70 до фосфорильованих ITAM у В-клітинах приєднуються кінази Syk. Активація кіназ Syk супроводжується приєднанням та фосфорилуванням великих адапторних білків BLNK/SLP-65, що призводить до формування необхідного сигнального комплексу. Роль корецепторів CD19/CD21/TAPA В-лімфоцитів пов'язана передусім з підсиленням сигналу, що надходить від рецепторів. Вважають, що залучення корецепторів дає змогу зменшити потрібну для активації кількість IgM -рецепторів, що взаємодіють з антигеном, у 100 разів. В асоціації з цитоплазматичною частиною комплексу CD19/CD21/TAPA можуть перебувати кінази Fyn, Lyn та Blk, а також кіназа PI-3K та білок Vav.

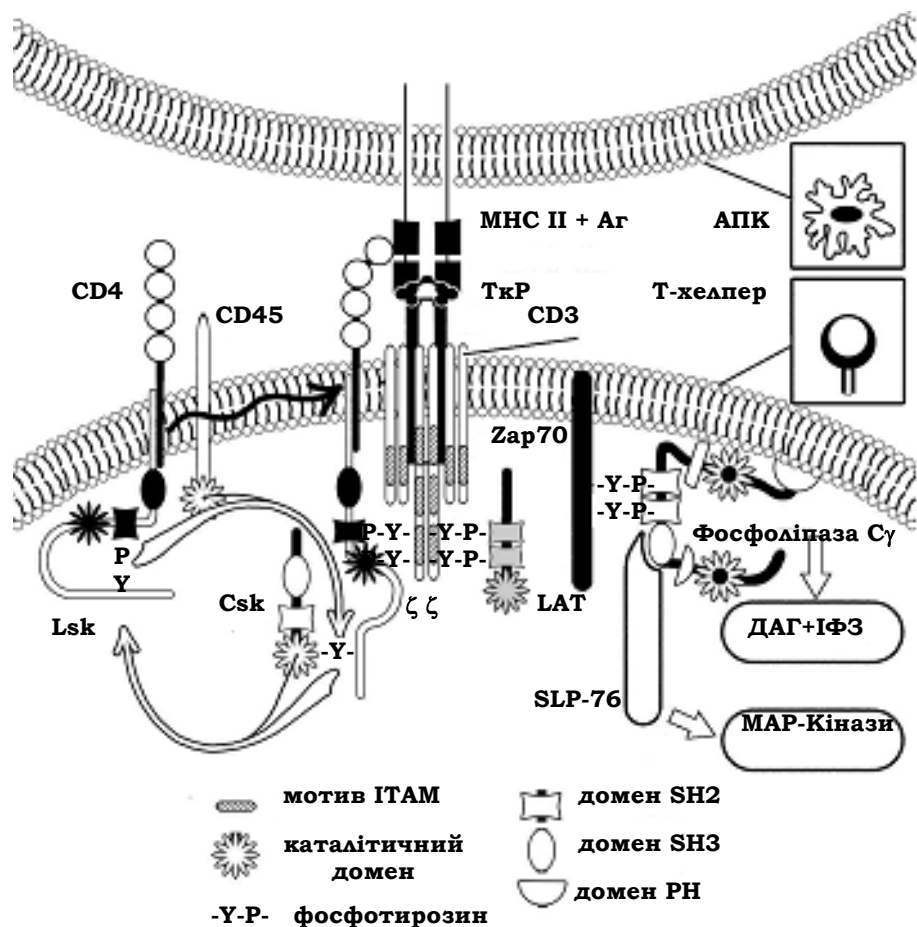


Рис. 63. Схема передавання сигналу від Т-клітинного рецептора після розпізнавання Т-хелпером чужорідного антигенного пептиду в комплексі з МНС II на поверхні АПК

Важливо, що процеси активації В1- і В2-лімфоцитів дещо різняться. Для активації В1-лімфоцитів головним є сигнал про розпізнавання антигену за допомогою ВкР, тоді як В2-лімфоцити після розпізнавання й інтерналізації антигену переходять лише в стан готовності до активації. Вони представляють поглиnutий антиген і "очікують" його розпізнавання активованими Т-хелперами. Отже, для активації В2-лімфоцитів необхідний сигнал про розпізнавання на їх поверхні молекул МНС II з процесованим антигеном. Чи може МНС II виступати як активаційний рецептор на поверхні В-клітин, остаточно ще не з'ясовано. Однак певні дані свідчать на користь цього припущення. Сигнал від МНС II у В2-лімфоцитах, можливо, нагадує сигнал від ВкР і разом з коstimуляторними сигналами, які В-клітина отримує від Т-клітини, є необхідним для остаточної активації цих клітин.

Залучення до складу сигнального комплексу великих адапторних білків LAT та SLP-76 у T-лімфоцитів та BLNK/SLP-65 у B-лімфоцитів є важливим ключовим моментом передавання сигналу, оскільки до цих білків приєднується ціла низка ферментів, кожний з яких зумовлює свій власний шлях передавання сигналу. Це, насамперед, фосфоліпаза $C\gamma$, яка ініціює фосфатидилінозитольний шлях передавання сигналу, фосфатидилінозитол-3-кіназа, що зумовлює приєднання до мембрани білків, які несуть PH-домени, та маленькі G-білки, які активують шлях MAP-кіназ. Розглянемо кожний із цих шляхів подальшого передавання сигналу детальніше.

Активація фосфоліпази $C\gamma$ та фосфатидилінозитольний шлях передавання сигналу. У клітинах вищих хребетних виявлено дві ізоформи фосфоліпази $C\gamma$ ($PLC\gamma$) - $C\gamma 1$ і $C\gamma 2$. Перша ізоформа експресована в клітинах усіх типів, а друга характерна виключно для імунокомпетентних клітин. Отже, у клітинах імунної системи, на відміну від інших типів клітин, експресовані обидві ізоформи цього ферменту.

$PLC\gamma$ приєднується до адапторних білків після їх фосфорилування кіназами Syk/Zap-70-родини. Субстратом $PLC\gamma$ є фосфоліпіди, які входять до складу плазматичної мембрани клітин. Наближення каталітичного домену фосфоліпази до мембрани є необхідною умовою для по-трапляння ФІФ₂ до активного центру $PLC\gamma$. Таке наближення стає можливим після зв'язування SH2- та SH3-доменів фосфоліпази з адапторними білками, а PH-домену - з ФІФ₃ мембрани.

Після зв'язування $PLC\gamma$ з примембранним сигнальним комплексом відбувається її активація. В цьому процесі беруть участь тирозинові кінази сигнального комплексу. Вважають, що в активації $PLC\gamma$ можуть брати участь тирозинові кінази трьох родин: - Src, Syk/Zap-70 і Tec. Активація фосфоліпази $C\gamma$ є ключовим моментом передавання сигналу від антиген-специфічних рецепторів T- і B-клітин, оскільки вона продукує найважливіші вто-ринні месенджери: ДАГ та ІФ₃, які потрібні для активації клітини. ДАГ залишається зв'язаним з мембраною, а ІФ₃ потрапляє в цитозоль. ДАГ активує мембранозв'язану форму протеїнкінази C (PKC), яка може фосфорилувати низку білків за залишками серину й треоніну. Субстратами протеїнкінази C є деякі транскрипційні фактори, рецептори та примембранні білки, а також кіназа Raf-1. Активуючи кіназу Raf-1, протеїнкіназа C здатна запускати інший шлях передавання сигналу - шлях MAP-кіназ.

ІФ₃ зв'язується з кальцієвими каналами гладенького ендоплазматичного рети-кулуму, внаслідок чого канали відкриваються і йони Ca^{2+} надходять у цитозоль. Слід зазначити, що кожний канал відкривається тільки на мілісекунди, після чого переходить у неактивний стан. Саме тому для істотного збільшення в цитоплазмі концентрації йонів Ca^{2+} потрібна значна кількість молекул ІФ₃. Йони Ca^{2+} зв'язуються з кальмодуліном, який активує кальмодулінзалежну серин-

треонінову фосфатазу кальциневрин, у результаті чого остання активується і дефосфорилує транскрипційний фактор NF-AT. Після дефосфорилування NF-AT мігрує в ядро, де ініціює транскрипцію певних генів.

Крім того, йони Ca^{2+} зв'язуються з цитоплазматичною формою РКС, унаслідок чого РКС сполучається з мембранним ДАГ. Отже, в активації РКС беруть участь обидва вторинні месенджери, продуковані фосфоліпазою C_γ : ДАГ - безпосередньо, а ІФЗ - опосередковано, через йони Ca^{2+} (рис. 64).

Активация фосфатидилінозитол-3-кінази. Фосфатидилінозитол-3-кіназа (PI3-кіназа) складається з двох субодиниць - регуляторної р85 та каталітичної р110. Регуляторна субодиниця містить кілька доменів, які беруть участь у білок-білкових взаємодіях: SH3-домен, два SH2-домени та дві ділянки, багаті на залишки проліну (PRR – proline-rich regions). Ці домени зв'язуються з багатьма внутрішньоклітинними білками, внаслідок чого регулюється локалізація та функціональна активність PI3-кінази. Так, пролін-багаті послідовності зв'язуються з SH3-доменами тирозинових кіназ Src-родини: Lyn та Fyn, SH2-домени р85 зв'язуються з фосфорильованими тирозинами адапторних білків і відіграють важливу роль в активації кінази. Зв'язування PI3-кінази з примембранними білками потрібне для розміщення каталітичної субодиниці р110 біля мембрани, що забезпечує потрапляння субстрату ФІФ2 до активного центру кінази. Активацию PI3-кінази підсилюють також G-білки, зокрема ГТФаза Ras, яка взаємодіє безпосередньо з каталітичною субодиницею PI3-кінази. Активована PI3-кіназа фосфорилує інозитольне кільце похідних фосфатидилінозитулу в положенні 3, перетворюючи, наприклад, фосфатидилінозитол-4,5-дифосфат (ФІФ2) на фосфатидилінозитол-3,4,5-трифосфат (ФІФ3). ФІФ3 залишається в складі мембрани, де він виконує функцію сайту зв'язування деяких сигнальних білків, що містять PH-домени. Нагадаємо, що PH-домени входять до складу тирозинових кіназ Tec-родини (Btk, Itk та ін.), фосфоліпази C_γ , а також фактора Vav, що активує ГТФази родини Rho. Отже, при активації PI3-кінази і накопиченні ФІФ3 у мембрані всі ці білки приєднуються до мембрани, що є необхідною умовою для подальшого проходження сигналу.

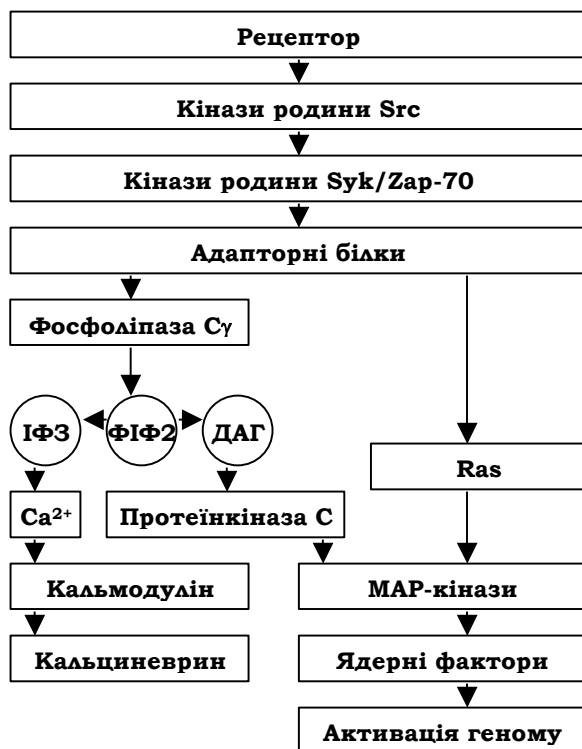


Рис. 64. Схема основних шляхів сигнальної трансдукції, які задіяні у передаванні сигналу від рецепторів лімфоцитів

У клітинах, що не містять РІЗ-кіназу, спостерігається дуже слабка активність фосфоліпази $C\gamma$ у відповідь на стимуляцію рецепторів. Це пов'язано з тим, що для активації фосфоліпази $C\gamma$ потрібні кінази Тес-родини, а для активації кіназ Тес-родини та їх наближення до фосфоліпази $C\gamma$ потрібний ФІФЗ, який продукується РІЗ-кіназою. Тому РІЗ-кіназа підсилює сигнал, що передається фосфоліпазою $C\gamma$. Проте, з іншого боку, РІЗ-кіназа та фосфоліпаза $C\gamma$ "працюють" з одним субстратом - ФІФ2 і здатні конкурувати за нього. Така конкуренція за субстрат є важливою для регулювання інтенсивності й тривалості передавання сигналу, а також може зумовлювати зміни концентрації йонів Ca^{2+} в цитоплазмі при відповіді на подразнення рецептора. Отже, основною функцією РІЗ-кінази під час активації лімфоцитів є модуляція активності фосфоліпази $C\gamma$, яка є ключовим ферментом передавання сигналу від антигенспецифічних рецепторів Т- і В-клітин.

Активация каскаду МАР-кіназ. Приєднання адапторних білків до сигнального комплексу та їх фосфорилування тирозиновими кіназами призводить також до активації маленьких G-білків Ras і Rho. Зв'я-

зані з ГТФ форми Ras- і Rho-ГТФаз активують каскад MAP-кіназ (від англ. Mitogen-activated protein kinase - активовані мітогенами кінази).

Каскад MAP-кіназ - це послідовна активація трьох різних серин-треонінових кіназ, які активують одна одну шляхом фосфорилування. Їх позначають відповідно MAP-кіназа (МАРК), кіназа MAP-кінази (МАРКК) та кіназа кінази MAP-кінази (МАРККК). Каскад MAP-кіназ починається з активації МАРККК, яка здійснюється за допомогою маленьких g-білків, таких як Ras і Rho. Ці білки активують різні каскади MAP-кіназ, які спричинюють експресію різних транскрипційних факторів. При зв'язуванні з ГТФ Ras- і Rho-ГТФ-ази набувають конформації, необхідної для безпосередньої взаємодії з МАРККК та їх активації. Однак Ras і Rho швидко розщеплюють ГТФ до ГДФ і фосфату й переходять у неактивний стан. У цьому стані вони можуть існувати досить довго, оскільки самі не здатні звільнитися від ГДФ і зв'язувати нову молекулу ГТФ.

Для заміни ГДФ на ГТФ потрібні додаткові білки - так звані фактори, що заміщують гуанін. Заміщення ГДФ на ГТФ для білка Ras здійснює фактор Sos, для білка Rho - фактор Vav, причому ці фактори сполучаються з маленькими G-білками Ras і Rho за допомогою спеціалізованих адапторів. Маленькі адаптори приєднуються до великих адапторів, таких як LAT та BLNK, що входять до складу сигнальних комплексів. Тому початкові етапи передавання сигналу, які призводять до приєднання і фосфорилування адапторних білків, потрібні також для активації каскаду MAP-кіназ.

Схематично послідовність подій, пов'язаних із передаванням сигналу по шляху MAP-кіназ, можна подати так:

Великі адапторні білки (LAT, BLNK та ін.) → Маленькі адапторні білки (Grb2 та ін.) → Фактори, що заміщують гуанін (Sos, Vav) → G-білки (Ras, Rho) → МАРККК → МАРКК → МАРК → Активація генів транскрипційних факторів.

У клітинах імунної системи МАРККК представлені кіназами Raf та Mekk. Кожна з них активує різні МАРКК, тому можна записати два основних шляхи передавання сигналу за допомогою MAP-кіназ.

1. Перший шлях передавання сигналу:

Sos → Ras → Raf (МАРККК) → Mek (МАРКК) → Erk (МАРК).

MAP-Кіназа Erk (від англ. extracellular activated kinase - кіназа, що активується позаклітинними сигналами) спричинює активацію фактора транскрипції Elk, який, у свою чергу, ініціює транскрипцію гена *c-Fos*.

2. Другий шлях передавання сигналу:

Vav → Rho → Mekk (МАРККК) → Jnkk (МАРКК) → Jnk (МАРК).

MAP-Кіназа Jnk (від англ. *Jun-N-terminal kinase* - кіназа N-кінця фактора Jun) зумовлює активацію протоонкогена *c-Jun*.

Продукти протоонкогенів Jun і Fos об'єднуються, внаслідок чого утворюється фактор транскрипції AP-1, що є головним наслідком передавання сигналу по каскаду MAP-кіназ та ініціює транскрипцію генів, необхідних для поділу клітини.

Слід додати, що існують й інші шляхи активації каскаду MAP-кіназ, наприклад, за допомогою протеїнкінази C (див. рис. 64).

Процеси реорганізації цитоскелета. Цитоскелет бере участь у регуляції процесів внутрішньоклітинного переміщення білкових молекул та мембранних везикул. Він також регулює форму й рухливість клітини, формує випинання та інвагінації мембрани, зумовлює формування ендоцитозних везикул та поглинання рецепторів. Існує складна система білків, які контролюють процеси реорганізації цитоскелета в клітині. Функціонування цих білків регулюється процесами, які супроводжують передавання сигналу всередину клітини. В регуляції процесів полімеризації актину беруть участь як продукти фосфатидилінозитидного шляху, так і йони кальцію. Важливу функцію в регуляції реорганізації цитоскелета виконують G-білки, зокрема ГТФази родини Rho.

Отже, завдяки зв'язку з мембранними рецепторами цитоскелет може регулювати форму клітини, положення рецепторів на мембрані, їх олігомеризацію (кепінг), а також тривалість "життя" (існування на мембрані) рецепторів на мембрані.

Вважають, що деякі молекули, які передають сигнал від рецепторів, зокрема кінази Src-родини, а також молекули, що несуть РН-домени, асоційовані з ліпідними острівцями (рафтами, від англ. *Rafts* - *плотки*) цитоплазматичної частини мембрани. Після перехресного зв'язування рецепторів з антигеном на поверхні клітини ліпідні плотки збираються разом, утворюючи структуру, необхідну для проходження сигналу в клітину. В такій ліпідній ділянці крім рецепторів знаходяться закорені, наприклад, за допомогою залишків міристинової кислоти, ферменти, що здатні передавати сигнал, а також попередники вторинних месенджерів - фосфатидилінозитолдифосфати та їхні метаболіти. Отже, агрегація рецепторів на поверхні клітини призводить до того, що з цитоплазматичного боку мембрани збираються ферменти, необхідні для передавання сигналу.

Активація транскрипційних факторів. Усі розглянуті сигнальні шляхи ведуть до активації певних транскрипційних факторів і експресії певних генів у клітині. Те, які транскрипційні фактори і в якому співвідношенні активуються у відповідь на стимуляцію рецепторів, визначає подальшу долю клітини.

Для активації лімфоцитів необхідно, щоб у результаті стимуляції рецепторів активувалися принаймні три головні транскрипційні фак-

тори - NF-AT (від англ. *nuclear factor of activated T-cells* - ядерний фактор активованих Т-клітин), NF-κB (від англ. *nuclear factor for κ-chain expression in B-cells* - ядерний фактор, необхідний для експресії κ-ланцюга імуноглобулінів у В-клітинах) та AP-1.

NF-AT активується в "кінці" фосфатидил-інозитидного шляху внаслідок дії на нього фосфатази кальциневрину, NF-κB - завдяки фосфорилуванню з подальшим убіквітинуванням і деградацією інгібіторної субодиниці I-κB цього фактору, а фактор AP-1 утворюється внаслідок поєднання факторів c-Fos і c-Jun, які активуються в кінці різних каскадів MAP-кіназ. Ці фактори активують експресію генів, які необхідні для переходу клітини в активний стан, тобто на початок клітинного циклу. Такими генами є, насамперед, гени цитокінів, їх рецепторів та костимуляторних молекул. Цитокіни й костимуляторні молекули потрібні для подальшого проходження клітиною цього циклу - проходження так званої точки рестрикції, яка знаходиться приблизно в середині G1-фази клітинного циклу. Проходження цієї точки безповоротно детермінує клітину до поділу. Головним геном, експресія якого активується внаслідок проходження сигналу від рецепторів клітин, є ген ІЛ-2. ІЛ-2 зумовлює подальші процеси активації лімфоцита внаслідок аутокринної дії на рецептори клітини, яка продукує цей інтерлейкін. Таким чином, клітина сама себе стимулює до повної активації та проходження клітинного циклу.

10.3. ДОДАТКОВІ СИГНАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ДЛЯ АКТИВАЦІЇ ЛІМФОЦИТІВ

Для повноцінної активації лімфоцитів потрібно три сигнали. Перший сигнал клітина отримує, як зазначалося вище, при розпізнаванні антигену за допомогою специфічних до антигену рецепторів за участю корецепторних молекул. Цей сигнал називають специфічним, тому що антиген розпізнається лише певними клонами лімфоцитів за допомогою специфічних до нього рецепторів.

Другий сигнал клітина отримує при безпосередньому контакті з іншою клітиною, яка також розпізнала той самий антиген і є вже активованою. Цей сигнал зумовлений взаємодією мембранних костимуляторних молекул обох клітин, і для його отримання необхідний щільний контакт між мембранами клітин, що взаємодіють. Зону контакту між клітинами називають імунним синапсом. Як правило, імунний синапс формується між АПК і Т-клітиною.

Третій сигнал клітина отримує від цитокінів – розчинних білкових факторів, що діють на спеціалізовані рецептори клітин. Цитокіни, по суті, є гормонами, які регулюють функції клітин імунної системи. Проте, на відміну від гормонів, концентрація цитокінів у крові та лімфі дуже мала, тому вони діють локально в місці їх синтезу. Цитокіни продукуються лейкоцитами і можуть діяти як на власне клітину-

продуцента (аутокринно), так і на інші клітини (паракринно): безпосередньо в "щілині" імунного синапсу або дистантно в разі відсутності тісного контакту між клітинами.

Потреба в такій складній трисигнальній системі активації зумовлена тим, що костимуляторні молекули експресуються тільки активованими клітинами, а рецептори до них існують ще на наївних клітинах. Отже, активувати наївний Т-лімфоцит може лише активована АПК, а активувати наївну АПК (зокрема, В-лімфоцит) може лише активований Т-лімфоцит (зокрема, Т-хелпер). Більшість антигенів розпізнаються двома типами клітин – АПК і Т-лімфоцитами. Між цими двома типами клітин устанавлюються функціональні зв'язки, які називають клітинною кооперацією. АПК і Т-лімфоцит, що потенційно здатні відповідати на певний антиген, повинні знайти один одного й утворити імунний синапс. Такий синапс потрібний як для активації неактивованої АПК активованим Т-хелпером, так і для активації наївних Т-лімфоцитів активованими АПК. Якщо обидва партнери неактивовані, контакт між ними не відбудеться, і вони не зможуть активувати один одного. Таке розпізнавання антигенів одночасно двома клітинами, що взаємодіють, – АПК і Т-лімфоцитом – підвищує надійність системи імунітету та запобігає помилковій активації ефекторних клітин.

У процесі взаємодії клітин костимуляторні молекули та їхні рецептори утворюють пари, які забезпечують формування міжклітинних контактів і обмін сигналами, що призводять до активації клітин (в активації бере участь значна кількість пар молекул). У кожній парі одна молекула є постійною – експресується на наївній клітині, інша – індукованою і експресується лише на активованій клітині. Сигнал, що виникає внаслідок взаємодії молекул, передається в напрямі від індукованої до постійної, тобто постійна молекула є рецептором, а індукована – її лігандом. Особливе значення в обміні сигналами між АПК (ДК, МФ, В-клітинами) і Т-лімфоцитами мають дві пари молекул: CD80/86 і CD28 та CD40L і CD40 (табл.38).

Таблиця 38. Костимуляторні молекули АПК і Т-клітин.

АПК	Т-Лімфоцит
CD80/86 (індукована) →	CD28 (постійна)
CD40 (постійна) →	CD40L (індукована)

Костимуляторні молекули, потрібні для активації АПК. Першим сигналом, що активує АПК, є перехресне зв'язування поверхневих рецепторів антигеном. При цьому В-лімфоцити розпізнають антиген специфічно, за допомогою імуноглобулінових рецепторів. Макрофаги і дендритні клітини можуть розпізнавати антиген як за допомогою лектинових рецепторів, так і за допомогою рецепторів до опсонинів (FcR, C3bR). Після перехресного зв'язування поверхневих ре-

цепторів антигеном відбувається поглинання та процесинг антигену. На поверхні такої АПК з'являються МНС II з пептидними фрагментами антигену, які можуть бути сайтами для зв'язування з рецепторами Т-клітин.

Другий сигнал – сигнал від рецептора CD40 – наївні АПК отримують при взаємодії з активованими Т-лімфоцитами, які несуть на поверхні ліганд до цього рецептора – CD40L. Взаємодія CD40 з CD40L зумовлює наступний етап активації АПК, внаслідок чого АПК починає експресувати костимуляторні молекули CD80 (B7.1) та CD86 (B7.2) і секретувати залежно від типу АПК низку цитокінів: ІЛ-1, ІЛ-6, ІФН- γ та ін. На такій АПК підвищується також рівень експресії рецепторів до цитокінів, внаслідок чого вона стає чутливішою до сприйняття третього сигналу і вже сама може активувати наївні Т-клітини.

Після сприйняття третього сигналу від цитокінів АПК (зокрема, В-лімфоцит) повністю активується, проходить кілька клітинних циклів і диференціюється в ефекторну клітину. Слід зазначити, що саме цитокіни остаточно визначають напрям диференціювання активованої АПК, наприклад, ІЛ-4 та ІЛ-5 переключають синтез антитіл В-лімфоцитами з ІgM на ІgE, а ІЛ-2 – з ІgM на ІgG.

Костимуляторні молекули, необхідні для активації Т-лімфоцитів. Т-лімфоцити при взаємодії з АПК отримують перший і другий активаційні сигнали одночасно. Перший сигнал – це сигнал від ТкР, який розпізнає представлений на АПК комплекс антигенного пептиду з МНС, другий сигнал – від костимуляторних молекул CD80 (B7.1) та CD86 (B7.2), що містяться на активованих АПК. Наївні Т-лімфоцити несуть рецептор до цих костимуляторних молекул, який позначається CD28. Взаємодія CD28 з B7.1/B7.2 є важливою для подальшого проходження процесу активації Т-клітин. Вона індукує експресію Т-клітиною костимуляторних молекул CD40L, які потрібні для активації АПК, а також ІЛ-2 та високоафінних рецепторів до ІЛ-2. Подальший процес диференціювання Т-лімфоцитів залежить від дії цитокінів. У разі відсутності зовнішніх впливів Т-клітини можуть активувати самі себе за допомогою ІЛ-2, який діє аутокринно через рецептор до ІЛ-2. Інші цитокіни, що надходять із клітинного оточення, регулюють диференціювання Т-хелперів у Т-хелпери I і II класу. Активовані CD4Т-хелпери можуть активувати різні типи неактивованих АПК, а CD8Т-кілери – знищувати інфіковані клітини. Важливо, що Т-клітини, які не мають рецептора CD28, можуть специфічно пригнічувати активацію АПК, зумовлюючи цим супресію імунної відповіді.

Загальна схема активації АПК і Т-клітин. З наведеного вище випливає, що для активації Т-клітин головним костимуляторним сигналом є сигнал через рецептор CD28, а для активації АПК – через рецептор CD40. Загальну схему активації АПК та Т-клітин наведено на рис. 65.

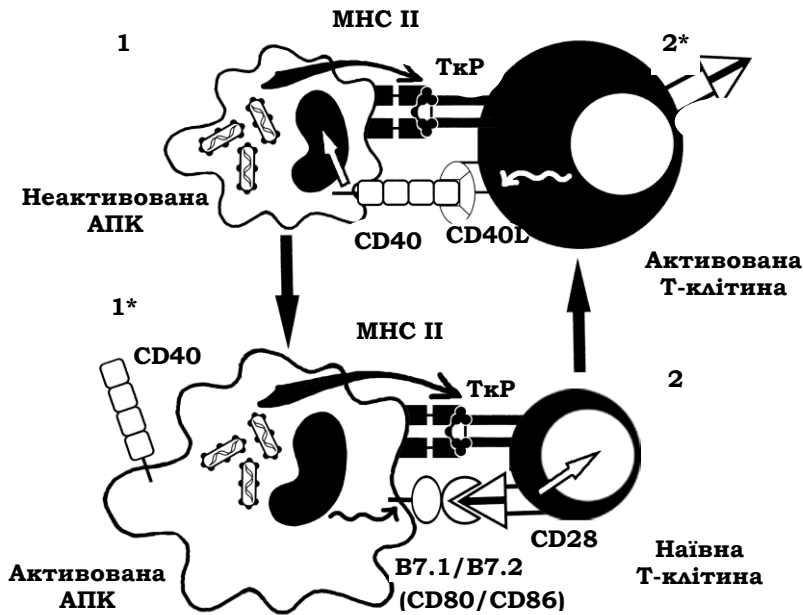


Рис. 65. Механізм активації АПК активованою Т-клітиною та активації наївної Т-клітин активованою АПК

Наївна АПК (1) експресує МНС II з антигеном та рецептор CD40. Активованій Т-хелпер (2*) експресує специфічний для взаємодії з МНС II та пептидом ТкР, а також CD40L, за допомогою якого він активує АПК. У відповідь на активацію АПК починає експресувати CD80 та CD86 і переходить в активований стан (1*). У такому стані вона може взаємодіяти з наївним Т-лімфоцитом (2), який несе рецептор CD28 до CD80/CD86 та ТкР необхідної специфічності. Така Т-клітина починає експресувати CD40L і переходить у стан активації (2*). Отже, у системі активаційних взаємодій виникає позитивний зворотний зв'язок, який призводить до збільшення кількості активованих клітин у ході імунної відповіді.

Виникає запитання, яким чином починаються імунні реакції? Справді, наївні Т-хелпери можуть бути активовані тільки за допомогою активованих АПК, а ці АПК активуються, в свою чергу, за допомогою активованих Т-хелперів. Однак виявляється, що дендритні клітини є винятком з цього правила. Вони переходять в активний стан при поглинанні чужорідних субстанцій. Активацію дендритних клітин зумовляють імунні комплекси природних антитіл з антигеном, перехресне зв'язування поверхневих лектинових рецепторів полімерними структурами антигенів, а також різні медіатори запалення. Для того щоб дендритна клітина почала експресувати достатню кількість ко-стимуляторних молекул CD80 та CD86, вона не потребує попередньої взаємодії з Т-хелпером. Тому дендритні клітини – це єдиний тип АПК,

який може ініціювати імунну відповідь. Отже, система природного імунітету першою вступає у взаємодію з антигеном та ініціює специфічні імунні реакції.

Формування імунного синапсу. Формування контакту між Т-клітиною та АПК відбувається за участю різних молекул клітинної поверхні. У цьому процесі, безперечно, важливу роль відіграє взаємодія між МНС та ТкР, між МНС та CD4, а також між коstimуляторними молекулами та їх лігандами.

Проте якщо в АПК миші ввести гени людини, що кодують МНС та коstimуляторні молекули, то такі АПК не спроможні активувати наївні Т-клітини людини. Для того щоб АПК миші набули здатності формувати імунний синапс з лімфоцитами людини, в них потрібно також ввести гени людини, що кодують молекули адгезії. Молекули адгезії – це мембранні глікопротеїни клітин, які зумовляють міжклітинні контакти або взаємодію клітин з позаклітинним матриксом. Відомі молекули адгезії мають імуноглобулінову, лектинову та інтегринову природу. Для взаємодії Т-лімфоцитів та АПК найважливішими є дві пари молекул адгезії: LFA-1, які взаємодіють з ICAM-1, та LFA-3, які взаємодіють із CD2. Молекули ICAM-1 та CD2 належать до рецепторів імуноглобулінової, а молекули LFA-1 та LFA-3 – до рецепторів інтегринової суперродини. LFA-1 та ICAM-1 представлені як на Т-клітинах, так і на АПК, тоді як CD2 характерний виключно для Т-клітин. До речі, саме цю ознаку Т-клітин використовують для підрахунку кількості Т-клітин людини за допомогою методу утворення розеток з еритроцитами барана, оскільки еритроцити барана несуть рецептор, специфічний до CD2 людини.

Формування імунного синапсу – це багатостадійний процес, у ході якого послідовно встановлюються зв'язки між різними парами молекул обох клітин. Молекули адгезії – це досить великі за розмірами молекули, через що вони виділяються серед інших рецепторів на поверхні клітини і вступають у контакт першими. Під час контакту, що відбувається за допомогою молекул адгезії, одна клітина ніби котиться по поверхні іншої. Важливо, що молекули адгезії інтегринового типу LFA-1 та LFA-3 можуть перебувати у "відкритому" або "закритому" стані залежно від стадії активації клітини, причому в різних станах молекули LFA мають різну афінність до своїх лігандів. Активовані клітини здатні до активнішого контакту з іншими клітинами, ніж неактивовані, що є необхідним для пошуку клітин – партнерів по взаємодії.

Під час взаємодії клітин за допомогою молекул адгезії стає можливим контакт різних пар коstimуляторних молекул: B7.1/B7.2 з CD28 та CD40 з CD40L. Взаємодія за допомогою цих молекул наближує ТкР і корецептори CD4 (CD8) до МНС II (МНС I), тобто розпізнавання антигену стає можливим тільки після взаємодії молекул адгезії й коstimуляторних молекул. Таким чином, молекули адгезії та коstimулятор-

ні молекули сприяють контакту МНС з ТкР, підсилюють авідність взаємодії двох клітин. Однак остаточне формування імунного синапсу відбувається після специфічного контакту МНС з ТкР. Якщо такий контакт не відбувся, клітини "розходяться" для пошуку інших партнерів по взаємодії.

Нещодавно виявилось, що в зоні контакту молекули розміщуються не рівномірно, а у вигляді концентричних кілець (рис. 6б). Центральне коло займають МНС з антигенними пептидами, навколо нього розміщується кільце з коstimуляторних молекул, а по периферії – молекули адгезії. Отже, під час формування імунного синапсу відбувається агрегація однакових рецепторів, яка є важливою для активації клітини.

Усі сигнали, які потрібні для активації клітини, зокрема перехресне зв'язування рецепторів антигеном, зв'язування мембранних коstimуляторних молекул та висока локальна концентрація цитокінів спостерігаються саме в зоні контакту двох клітин. Тому імунний синапс можна вважати ще одним засобом запобігання помилковій активації клітин імунної системи.

Сигналінг від коstimуляторних молекул. Сигнал, який передається від коstimуляторних молекул, найімовірніше, лише підсилює сигнал від специфічних до антигену рецепторів. На користь такого припущення свідчить той факт, що за відсутності стимуляції деяких коstimуляторних молекул активація клітин може відбуватися, але за допомогою значно більших доз антигену. Наприклад, миші, в яких було зруйновано гени CD40 і CD40L, все-таки могли утворювати плазматичні клітини, однак у відповідь на введення значно більших доз антигену.

Було показано, що рецептори коstimуляторних молекул пов'язані з низкою сигнальних білків, які активуються при зв'язуванні лігандів з цими рецепторами. Ймовірно, під час агрегації корецепторів у зоні контакту клітин відбувається їх фосфорилування мембранозв'язаними кіназами Src-родини, що формує сайти зв'язування для різних сигнальних молекул: великих адапторних білків, PI-3-кінази, а також фактора Vav, який активує маленькі ГТФази Rho та Ras. Отже, коstimуляторні рецептори збільшують розміри сигнального комплексу за допомогою залучення додаткових адапторних білків, завдяки чому збільшується інтенсивність передавання сигналу. Крім того, активація PI-3-кіназа потрібна для залучення до мембрани більшої кількості кіназ Tec-родини, що важливо для посилення активації фосфоліпази C γ . Фактор Vav підсилює каскад MAP-кіназ. Важливо також, що ГТФази Rho і Ras можуть активувати фосфатидилінозитол-4-фосфат-5-кіназу (PIP-5K – від англ. phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase), яка генерує ФІФ2 – субстрат для фосфоліпази C γ та PI-3-кіназу. PIP-5K фосфорилує попередник фосфатидилінозитол-4,5-дифосфату – фос-

фатиди-інозитол-4-фосфат. Тому активація PIP-5K важлива для підтримання тривалої роботи PLC- γ та PI3-кінази.

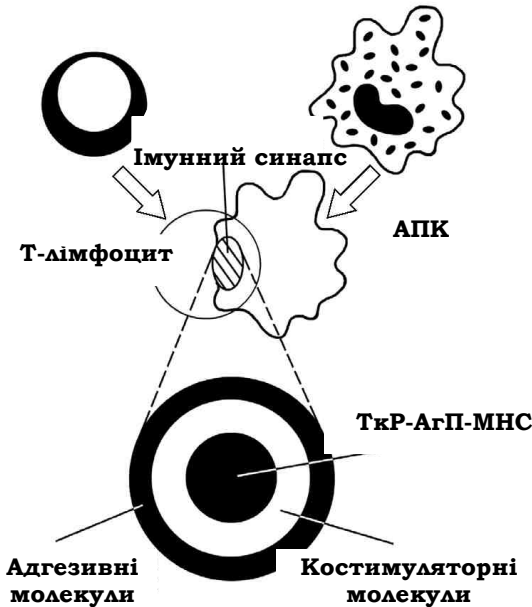


Рис. 66. Утворення імунного синапсу між Т-лімфоцитом та АПК, що взаємодіють, і його схематична будова (АгП – антигенний пептид)

Деякі дослідники вважають, що роль костимуляторних рецепторів полягає лише в збільшенні ліпідних острівців унаслідок агрегації більшої кількості мембранних рецепторів. Це призводить до залучення більшої кількості кіназ Src-родини в зону контакту клітин та їх активації, що підсилює сигнал від ВкР та ТкР.

Отже, усі відомі на сьогодні сигнальні шляхи, пов'язані зі стимуляцією костимуляторних рецепторів, ведуть до підсилення різних ланок передавання сигналу від ВкР та ТкР. Однак важливо, що сама по собі стимуляція костимуляторних рецепторів не призводить до активації клітин і навіть не спричинює помітних змін у метаболізмі цих клітин.

Сигнальна трансдукція від цитокинових рецепторів. Першим етапом дії цитокинів є зв'язування зі специфічним рецептором на поверхні клітини-мішені. А індукція й передавання сигналу від цитокинових рецепторів пов'язана з їх олігомеризацією. Особливістю внутрішньоклітинних доменів цитокинових рецепторів (передусім рецепторів до гемопоетичних цитокинів, яким належить важлива роль у проліферації клітин імунної системи, - інтерлейкінів 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 15, Г-КСФ, ГМ-КСФ) є відсутність власної протеїнкінасної активності. Проте вони, як правило, нековалентно асоційовані з кіназами Jak.

У середині 90-х років ХХ ст. було запропоновано відносно просту модель сигнальної трансдукції, яка полягала в тому, що кінази Як активуються при олігомеризації рецепторів, яка індукується після зв'язування ліганду. Після цього вони фосфорилують транскрипційні фактори STAT за тирозиновими залишками, що дає змогу молекулам STAT димеризуватися. Димеризація стимулює їх транслокацію в ядро, підвищує їх здатність зв'язуватися з ДНК і регулювати експресію генів. Було показано, що для багатьох цитокінових рецепторів (наприклад, до ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-5, Епо, КСФ-ГМ) ця базова модель відповідає дійсності.

Пізніше було відкрито альтернативні шляхи сигнальної трансдукції від цитокінових рецепторів. Найпоширенішим є шлях сигнальної трансдукції: цитокіновий рецептор / Ras / Raf / Mek / Erk (МАРК-каскад), який може призводити до фосфорилування та активації в подальшому додаткових кіназ і транскрипційних факторів.

Встановлено, що більшість рецепторів до цитокінів є багатосубдиничними, причому одна субдиниця (зазвичай α) важлива для специфічного зв'язування цитокіну, а друга (або іноді й третя) важлива для передавання сигналу в клітину. Часто ця друга субдиниця входить до складу рецепторів до різних цитокінів. Наприклад, у разі природженої відсутності γ -ланцюга рецептора ІЛ-2, спільного з низкою інших рецепторів, імунна система значно ушкоджується внаслідок відсутності функціональних цитокінових рецепторів до ІЛ-4, -7, -9. Це призводить до розвитку тяжкого комбінованого імунодефіциту.

Багато цитокінових рецепторів існують як у зв'язаній з мембраною, так і у вільній формах. Вільна форма рецептора може утворюватися внаслідок протеолітичного відщеплення трансмембранного домену рецептора або альтернативного сплайсингу мРНК-рецептора. Ці вільні рецептори можуть діяти як інгібітори цитокінів.

10.4. РЕГУЛЯЦІЯ ПРОЦЕСІВ АКТИВАЦІЇ. РЕЦЕПТОРИ, ЩО ПРИГНІЧУЮТЬ АКТИВАЦІЮ ЛІМФОЦИТІВ

На кожному етапі існує негативна регуляція процесів активації за допомогою біохімічних механізмів, які можуть за певних умов пригнічувати передавання сигналу від ТкР та ВкР після розпізнавання антигену. Так, кінази Csk фосфорилують кінази Src-родини, внаслідок чого останні переходять у неактивний стан. Протеїнові фосфатази SHP-1 та SHP-2 (англ. SH2-domain containing protein phosphatase – протеїнова фосфатаза, що містить домен SH2) відщеплюють фосфатні залишки від цитоплазматичних частин CD3 та Iga/Ig β , які були попередньо фосфорильовані кіназами Src-родини. Фосфатази SHIP та SHIP-2 (англ. SH2-domain containing phosphatidylinositol phosphatase –

фосфатаза фосфатиди-інозитола, що містить домен SH2) є фосфатазами фосфоліпідів. Вони дефосфорилують субстрат фосфоліпази C γ -фосфатидил-інозитол-4,5-дифосфат (ФІФ2), переводячи його в неактивний фосфатидил-інозитол-5-фосфат (ФІФ). Передавання сигналу від рецепторів також може негативно регулюватися за допомогою механізмів ендцитозу рецепторів, зібраних разом на мембрані.

Отже, кінцевий результат активації клітини залежить від співвідношення активаційних та інгібіторних сигналів, які виникають у ході розпізнавання антигену. Це важливо як для контролю за кількістю активованих клітин в організмі, так і для індукції толерантності "на периферії" у потенційно аутоімунних лімфоцитів, що помилково уникає негативної селекції в первинних лімфоїдних органах. Індукування толерантності може відбутися в разі недостатньої кількості коstimуляторних сигналів. У такому випадку гальмівні механізми в процесі передавання сигналу випереджають активаційні.

Крім того, існують спеціалізовані рецептори, функція яких полягає в інгібуванні процесів активації клітин імунної системи. Сигнал через ці рецептори клітини отримують при надмірній активації клітин в організмі та дефіциті антигену. Нині відомо кілька інгібіторних рецепторів Т- і В-клітин, однак ми розглянемо два найбільш вивчені представники цієї групи: інгібіторний рецептор Т-клітин - CTLA-4 та інгібіторний рецептор В-клітин - Fc γ RIIB.

Усі інгібіторні рецептори мають у цитоплазматичній частині спеціальну послідовність, яка дістала назву ITIM (від англ. *immunocoreceptor tyrosine based inhibition motive* – інгібіторна послідовність імунних рецепторів, що містить залишок тирозину), яка трохи відрізняється за амінокислотним складом від ITAM. ITIM, як і ITAM, також може бути фосфорильованим за допомогою кіназ Src-родини. Фосфорильований ITIM може слугувати місцем зв'язування для SH2-доменів фосфатаз родин SHIP та SHP. Отже, якщо інгібіторні рецептори CTLA-4 та Fc γ RIIB потраплять до складу активаційного комплексу, вони притягнуть туди фосфатази SHIP та SHP, і активація клітини гальмуватиметься.

Лігандом для зв'язування з CTLA-4 є коstimуляторні молекули CD80 та CD86, що експресуються на активованих АПК. CTLA-4 має більшу афінність до них, ніж CD28, тому за наявності невеликої кількості CD80 та CD86 на поверхні АПК з ними зв'яжеться переважно CTLA-4, а не CD28, і інгібіторний сигнал переважатиме над активаційним. Отже, активовані АПК з недостатнім рівнем експресії CD80 та CD86 можуть бути інгібіторами імунної відповіді.

Рецептор Fc γ RIIB є, по суті, рецептором до Fc-фрагмента IgG, який може зв'язувати IgG у складі циркулюючих імунних комплексів. Якщо ВкР має специфічність до того самого антигену, що й IgG, який зв'язався з Fc γ RIIB, це може призвести до перехресного зв'язування ВкР

та Fc γ RIIB одним антигеном (рис. 67). У цьому випадку фосфатази SHIP та SHP будуть підтягнуті рецептором Fc γ RIIB до цитоплазматичних частин Ig α /Ig β , що гальмуватиме проходження активаційного сигналу. Тому наявність в організмі значної кількості специфічних до антигену IgG може бути сигналом для припинення активації нових В-клітин цієї специфічності. Таким чином вдалося пояснити давно відомий факт, що велика кількість екзогенних антитіл, введених проти будь-якого антигену, пригнічує утворення організмом власних антитіл. До речі, цей факт покладено в основу способу запобігання резус-конфлікту, який давно застосовується і полягає у введенні резус-негативним матерям після пологів великої кількості антитіл до резус-фактора. Це гальмує імунізацію самої матері еритроцитами дитини, які могли потрапити в її кров під час пологів.

Отже, в процесах активації лімфоцитів беруть участь як позитивні, так і негативні зворотні зв'язки, які регулюють кількість активованих клітин.

Яким чином призупиняються імунні реакції? Річ у тім, що всі зрілі активовані ефекторні клітини характеризуються певною тривалістю існування в активному стані: для плазматичних клітин це 3-4 доби, для Т-хелперів - до 10 діб, а Т-кілерів - менше доби. Така невелика тривалість життя потрібна, ймовірно, для того, щоб помилково активовані лімфоцити не завдали організму значної шкоди. За час свого життя клітини встигають виконати певну кількість роботи зі звільнення організму від антигену, після чого в них включаються механізми запрограмованої загибелі - апоптозу. Велика кількість активованих клітин у ході імунної відповіді підтримується процесами постійної активації нових лімфоцитів антигеном та проліферації подібно до того, як під час війни до армії постійно набирають нових рекрутів. Коли в організмі вже немає антигену, активація нових лімфоцитів припиняється, а вже активовані живуть недовго. Так згасає імунна відповідь, однак залишаються клітини пам'яті, які живуть досить довго (див. розд. 11) і здатні дуже швидко реагувати на повторне потрапляння антигену в організм.

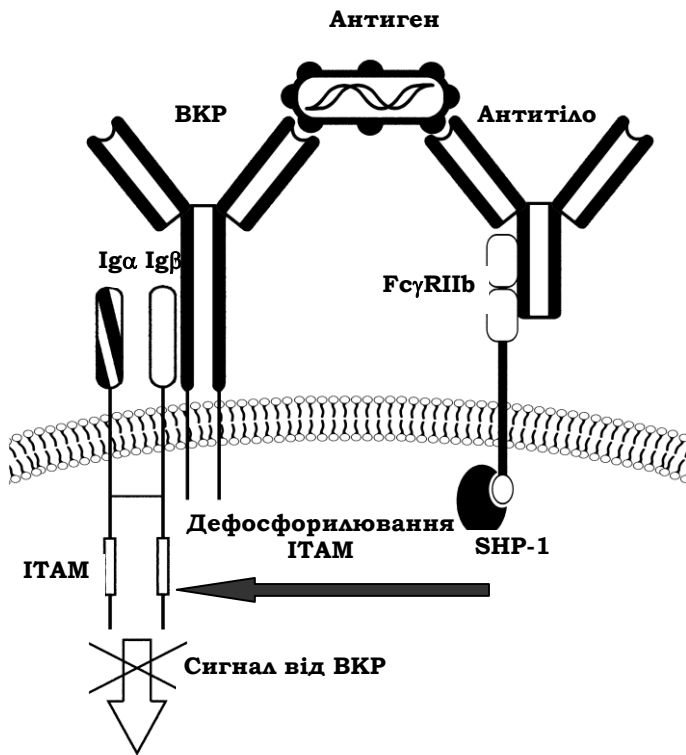


Рис. 67. Механізм блокування сигналу від В-клітинного рецептора за перехресного зшивання антигену цим рецептором і антитілом, зв'язаним з рецептором FcγRIIb

10.5. ІНДУКОВАНИЙ АКТИВАЦІЄЮ АПОПТОЗ ЛІМФОЦИТІВ

В основі імунної відповіді лежить експансія певних клонів активованих антигеном специфічних лімфоцитів. (певних клонів специфічних лімфоцитів, що були активовані антигеном) Тому дуже важливо, щоб організм міг швидко позбавлятися від цих клонів, оскільки неконтрольована проліферація лімфоцитів може спричинити загрозу розвитку лімфопроліферативних чи аутоімунних захворювань. Щоб уникнути цих негативних наслідків, імунна система використовує певні механізми елімінації "надлишку" активованих клітин. Цей процес дістав назву "індукованої активацією клітинної загибелі" (клітинної загибелі, що індукована активацією) AICD (від англ. *activation induced cell death*) і є неминучим для лімфоцитів, які активовані антигеном, якщо вони не отримали всі необхідні активаційні стимули. У разі будь-яких порушень нормального перебігу процесів активації лімфоцитів, вони, як правило, переходять у стан анергії чи гинуть шляхом апоптозу. Стан анергії здебільшого через 3-4 доби також закінчу-

ється апоптозом. Отже, апоптоз є універсальним засобом запобігання помилковій активації лімфоцитів.

Правильно активовані лімфоцити, якщо вони не перетворюються на клітини пам'яті, після проліферації, диференціювання та виконання ефекторних функцій, також гинуть апоптозом. Отже, можна сказати, що, активуючись, лімфоцит отримує інструкцію самоліквідуватися через певну кількість поділів. Це дає змогу організму зберігати стаду кількість лімфоїдних клітин і реагувати на кожне наступне потрапляння антигену проліферацією нових клонів лімфоцитів.

Загальні уявлення про апоптоз. Фізіологічні механізми клітинної загибелі існують у багатоклітинних організмах для забезпечення нормального розвитку та морфогенезу, для контролю кількості клітин та з метою знищення інфікованих, мутантних і ушкоджених клітин.

Апоптоз – це засіб самознищення клітин багатоклітинного організму, який реалізується на молекулярному рівні через певну детерміновану низку подій.

Після запуску програми апоптозу в цитоплазмі активуються ферменти, які до того перебували в клітині у неактивному стані. При індукуванні апоптозу може також змінюватися експресія певних генів, відбуватися синтез потрібних білків *de novo*. Тому загибель клітин унаслідок апоптозу супроводжується затратами енергії клітини. В регуляції апоптозу беруть участь спеціалізовані білки, одні з яких підвищують, а інші знижують чутливість клітини до дії проапоптичних факторів. Тому говорять, що апоптоз – це генетично запрограмована загибель клітин, оскільки всі потрібні біомолекули, які запускають і реалізують цей процес, клітина здатна синтезувати сама.

Фізіологічні функції апоптозу. Апоптоз дуже важливий для функціонування багатоклітинних організмів та підтримання клітинного гомеостазу.

Кількість клітин багатоклітинного організму визначається процесами клітинного поділу та клітинної загибелі. В здоровому організмі ці процеси чітко збалансовані. Отже, головною функцією апоптозу є контроль над кількістю та співвідношенням клітин у різних органах і тканинах, а також у цілому організмі.

Другою функцією апоптозу, що тісно пов'язана з першою, є видалення клітин, які старіють або які втратили здатність виконувати свою функцію. Цей процес характерний у нормі, очевидно, для всіх тканин, крім тих, клітини яких не діляться.

Апоптоз відіграє винятково важливу роль у морфогенезі в процесі індивідуального розвитку організму. Наприклад, шляхом апоптозу елімінуються клітини хвоста пуголовків, міжпальцевих перетинок у вищих хребетних тощо.

Апоптоз елімінує не тільки зайві, а й небезпечні клітини організму. Він запускається при перших ознаках вірусного ураження або неконтрольованого поділу. Тому, гинучи шляхом апоптозу, кожна клітина з

певними порушеннями захищає організм від можливої вірусної інфекції або утворення пухлин. У літературі апоптоз часто називають "смертю заради життя".

Апоптоз і некроз. Існують два альтернативних шляхи загибелі клітин - апоптоз і некроз. Саме апоптоз є нормальною фізіологічною загибеллю, тоді як некроз є формою примусової, або насильницької, смерті клітин. Апоптоз і некроз мають низку протилежних ознак. По-перше, апоптоз викликається рядом фізіологічних, генетично детермінованих або патологічних стимулів. До фізіологічних стимулів можна віднести сигнали від клітинного мікрооточення, до патологічних - вірусну інфекцію, УФ- або радіаційне опромінення, недостатність поживних речовин, до генетично детермінованих - загибель старих клітин. При апоптозі не розвивається запалення, оскільки не пошкоджується цілісність клітинних мембран. Некроз, навпаки, спричинюється лише патологічними стимулами, такими як фізичні ушкодження, зумовлені температурою або механічними подразненнями та дією агресивних хімічних речовин - кислот, розчинників, токсинів. Некроз, як правило, індукує місцеві запальні реакції, оскільки при ньому порушується цілісність клітинних мембран і мембран лізосом, унаслідок чого лізосомальний вміст виділяється в позаклітинне середовище.

Деякі дослідники виділяють ще один окремий шлях загибелі клітин - автоліз, або автофагію, який за проявами нагадує некроз, однак подібно до апоптозу також є фізіологічно детермінованою формою загибелі. При автолізі, як і при некрозі, спостерігається вивільнення вмісту лізосом у цитоплазму і перетравлювання вмісту клітини лізосомальними ферментами, однак таке вивільнення індукується певними фізіологічними сигналами або запрограмоване генетично.

Характерні ознаки апоптозу. Апоптоз був описаний J. Kerr зі співавторами у 1972 р. за характерною морфологією загиблих клітин. Апоптичні клітини мають зморщену форму, містять фрагментований хроматин. Закінчується апоптоз формуванням характерних структур - апоптичних тілець, що є фрагментами клітини, оточеними мембранною. Фосфоліпідний склад апоптичних тілець змінюється, на зовнішньому боці мембрани з'являється у значній кількості фосфатидилсерин, унаслідок чого вони легко розпізнаються і фагоцитуються макрофагами.

Після індукування апоптозу певні морфологічні зміни можна спостерігати через 5-6 год, а біохімічні - вже через 1-2 год.

Термін "апоптоз" походить від грецького *apoptosis*, що в перекладі означає "опадання листя", оскільки загиблі клітини зморщуються і зменшуються в розмірах, як опале листя. Цікаво, що опадання листя справді супроводжується процесами апоптичної загибелі клітин. Тому вважають, що першим роль апоптозу як "альтруїстичного самогубства" описав давньоримський лікар Гален (II ст. н. е.), який вважав, що

дерева самі скидають на зиму листя для того, щоб захистити гілки від надмірної ваги снігу.

Порівняльні характеристики некрозу та апоптозу наведено в табл. 39.

Таблиця 39. Характеристика апоптозу і некрозу

Апоптоз	Некроз
<p>Гинуть окремі поодинокі клітини Не спричинює запалення Зменшення об'єму клітини Фрагментація хроматину і ядра</p> <p>Міжнуклеосомна фрагментація ДНК Глибокі інвагінації мембрани Утворення апоптичних тілець Частковий гідроліз більшості білків каспазами Міжбілкові зшивки, зумовлені активацією трансглутамінази Збільшення концентрації йонів цитозольного кальцію на порядок</p>	<p>Гинуть групи клітин Спричинює місцеве запалення Збільшення об'єму клітини Дифузний хроматин, ядро без чітких контурів Невпорядкована деградація ДНК Порушення цілісності мембран Вивільнення вмісту цитоплазми назовні Частковий гідроліз більшості білків лізосомальними ферментами Денатурація білків</p> <p>Збільшення концентрації йонів цитозольного кальцію на три порядки</p>

Фактори, що індукують апоптоз. Апоптоз контролюється системою відповідних сигналів від внутрішніх (ендогенних) та зовнішніх (екзогенних) факторів, які сприймаються через так звані рецептори "смерті". Сигнали, що можуть призводити до розвитку апоптозу, називають апоптогенними, або проапоптичними, стимулами.

Найважливішими ендогенними стимулами, що запускають апоптоз, є: неправильний перебіг клітинного циклу, наявність вірусного ураження, наявність у клітині фрагментів ушкодженої ДНК, "надлишок" мітогенних факторів.

Екзогенні стимули, що призводять до апоптозу, являють собою різні сигнали, що надходять до рецепторів клітин, наприклад сигнал від рецепторів ФНП-родини (Fas-, ФНП-рецептора тощо). Одним з важливих механізмів контролю за ростом клітинних популяцій є залежність клітин від сигналів, що надходять з клітинного мікрооточення. Клітини, які не отримують цих сигналів, наприклад у разі, якщо вони потрапили в інше мікрооточення, гинуть шляхом апоптозу. Тому до апоптозу можуть призводити певні мітогенні стимули, якщо вони діють у надлишковій кількості або клітина не готова до їх сприйняття. З другого боку, відсутність потрібних ростових факторів (чинників) також призводить до апоптичної загибелі активованої клітини. Серед зовнішніх чинників, що можуть призводити до апоптозу, слід також назвати низку ушкоджувальних впливів, таких як токсини, радіація, УФ-опромінення, вплив сублетальних температур, механічні пошко-

дження. У разі сильно вираженого впливу ці фактори спричиняють некроз тканин, за слабкого - апоптоз окремих клітин.

Рецептори "смерті" та їхні ліганди. Рецептори "смерті", взаємодія яких з відповідними лігандами призводить до запуску апоптозу, є членами суперродини рецепторів фактора некрозу пухлин ФНП-Р. Найважливішим і тому добре вивченим рецептором "смерті" є Fas (CD95/APO-1). До рецепторів родини ФНП-Р, крім Fas, належать власне рецептори до фактора некрозу пухлин ФНП-Р1 та ФНП-Р2, а також багато інших молекул: CD30, CD40, рецептор до фактора росту нервів ФРН-Р тощо.

Рецептори "смерті" характеризуються наявністю 60-80-го амінокислотного цитоплазматичного домену, який називають доменом "смерті" (DD – від англ. *death domain*). Для ефективного ініціювання сигналу "смерті" від мембрани клітини потрібна тримеризація рецепторів, що й відбувається при зв'язуванні рецепторів із відповідними лігандами чи агоністичними антитілами. Після зв'язування рецептора домену "смерті" асоціюються з певними адапторними молекулами і таким чином ініціюється сигнал до запуску програми апоптозу.

Виявилося, що фізіологічним лігандом до рецептора Fas є білок Fas-ліганд (FasL), який експресується на поверхні клітин з цитотоксичною функцією. Деякі клітини можуть експресувати як рецептор Fas, так і Fas-ліганд і в такий спосіб самознищуватися.

Мембранна форма білка Fas представлена майже на всіх клітинах організму, які здатні до поділу. Це дає змогу клітинам імунної системи індукувати в разі необхідності апоптоз у своїх "мішеней". Особливо щільно молекула Fas експресована на клітинах у кишках, тимусі, печінці, легенях тощо.

Основне призначення мембранного Fas – це запуск програми апоптозу з клітинної поверхні. Проте останнім часом з'явилися дані про деякі інші функції Fas. Зокрема, було показано, що зв'язування Fas на мембрані поліморфноядерних нейтрофілів призводить до хемотаксису цих клітин. Більше того, в деяких випадках Fas може виступати як рецептор до ростових факторів.

Глікопротеїн Fas може існувати як в асоційованій з мембраною (mFas), так і в розчинній (sFas) формах. Розчинна форма Fas утворюється шляхом альтернативного сплайсингу і може існувати у вигляді кількох ізоформ. Розчинна форма рецептора взаємодіє з Fas-лігандом на поверхні цитотоксичних клітин і таким чином нейтралізує останні. Вважають, що в деяких випадках за допомогою секреції розчинної форми Fas-рецептора пухлинні клітини уникають імунного контролю.

Фізіологічний ліганд до рецептора Fas (FasL, CD95L) є трансмембранним білком з молекулярною масою 40 кДа, що експресується у вигляді тримеру. FasL є членом родини цитокінів, що включає фактор

некрозу пухлин α (ФНП- α), лімфотоксини α і β , CD30L, CD40L та багато інших.

FasL експресується на активованих цитотоксичних Т-лімфоцитах та природних кілерах, а також на клітинах кишок, ока, легенів, нирок, нервової тканини, плаценти. FasL, як і Fas, може існувати у зв'язаній із мембраною та розчинній формі (sFasL та mFasL). Показано, що розчинний FasL має молекулярну масу 27 кДа, існує у вигляді тримеру, що утворюється з мембранної форми в результаті відщеплення трансмембранної частини певною протеїназою. Розчинна форма FasL біологічно активна, тобто здатна індукувати апоптоз у чутливих клітинах, що експресують рецептор Fas.

Реалізація апоптозу. Головним "учасником" процесу апоптозу є родина 14 цистеїнових протеїназ, які розщеплюють білки за пептидними зв'язками після аспарагінової кислоти і які називають каспазами.

Каспази гомологічні між собою за амінокислотними послідовностями й структурою. Вони експресуються як проферменти і містять такі структурні елементи: N-кінцевий варіабельний домен, велику (20 кДа) і малу (10 кДа) субодиниці. Активація каспаз відбувається внаслідок протеолітичного розщеплення зв'язку між доменами та асоціації великої й малої субодиниць із утворенням гетеродимеру. Гетеродимери, в свою чергу, асоціюються і утворюють тетрамер з двома каталітичними центрами, що працюють незалежно.

Апоптичний сигнал з поверхні клітини зумовлює активацію ініціаторних каспаз, які розщеплюють і активують ефекторні каспази. Останні, в свою чергу, розщеплюють внутрішньоклітинні білки, що й призводить до розвитку апоптозу. До ініціаторних каспаз відносять каспази 8, 9, 10, а до ефекторних – 2, 3, 6, 7. Активація ініціаторних каспаз потребує зв'язування зі специфічними кофакторами та адапторними молекулами. Наприклад, активація прокаспаз 8 і 10 відбувається після їх асоціації з доменом DED (*death effector domain*) молекули FADD (*Fas-associated death domain*). Прокаспаза 9 активується через утворення комплексу з адапторною молекулою APAF-1, цитохромом c та дАТФ.

Ефекторні каспази розщеплюють різні внутрішньоклітинні мішені: структурні білки, сигнальні білки, регулятори транскрипції, білки, що регулюють метаболізм ДНК, гістони та інші білки з різними функціями. Серед гістонів найчутливішим до дії ефекторних каспаз є гістон H1. Розщеплення цього гістону робить певні ділянки ДНК доступними для дії ендонуклеаз. Каспази також розщеплюють інгібітор каспазоактивованої ДНКаз, що спричинює активацію цього ферменту і розщеплення ДНК на олігонуклеосомні фрагменти.

Існує багато шляхів індукування апоптозу, які можна згрупувати в три категорії: від рецепторів, від мітохондрій та від ядра. Перший

шлях активації апоптозу починається після перехресного зв'язування рецепторів ФНП-родини (рецепторів "смерті") відповідними лігандами. Такі рецептори тримеризуються, внаслідок чого на них з'являються сайти зв'язування для адапторних білків родини FADD (рис. 68).

З ефекторними доменами "смерті" DED молекули FADD безпосередньо асоціюється прокаспаза 8. Олігомеризація прокаспаз 8 призводить до того, що вони розщеплюють одна одну і таким чином самоактивуються.

Каспаза 8 активує інші каспази - 3, 4, 6, 7 і 13. Каспаза 3, в свою чергу, активує каспази 6 і 9. Каспази 3 та 6 беруть безпосередню участь у ядерному апоптозі. Припускають, що каспаза 4 активує мітохондрії, що призводить до виходу з них у цитоплазму цитохрому с.

Другий шлях активації апоптозу пов'язаний із порушенням функцій мембран мітохондрій, внаслідок чого цитохром с може виходити в цитозоль і разом з іншими факторами активувати прокаспазу. Цитохром с зв'язується з адапторною молекулою APAF-1. За наявності дезоксиденозинтрифосфату (дАТФ) відбувається взаємодія комплексу з каспазою 9 і активація останньої. Інгібування апоптозу на цьому рівні може відбуватися за участю білка Bcl-XL, який приєднується до комплексу APAF-1 та каспази 9 і блокує його. Деякі протеїнкінази, наприклад протеїнкіназа В (Akt), можуть гальмувати розвиток апоптозу шляхом фосфорилування певних каспаз.

Вихід цитохрому с з мітохондрій контролюють деякі білки родини Bcl, які вбудовані в мембрану мітохондрій (будуть розглянуті далі).

Третій шлях активації апоптозу пов'язаний з експресією певних проапоптичних генів. Головним транскрипційним фактором, що визначає експресію цих генів, є білок P53 – продукт гена p53, супресора пухлин. Активація p53 пов'язана з різними метаболічними порушеннями в цитоплазмі клітини, підвищенням рівня іонів Ca^{2+} , появою коротких фрагментів ДНК тощо. Активація p53 спостерігається також у разі порушень клітинного циклу. Під дією P53 збільшується експресія понад 20 генів, у тому числі білка Вах, рецептора Fas та ін. Отже, шлях запуску апоптозу від ядра тісно пов'язаний з іншими шляхами його індукування.

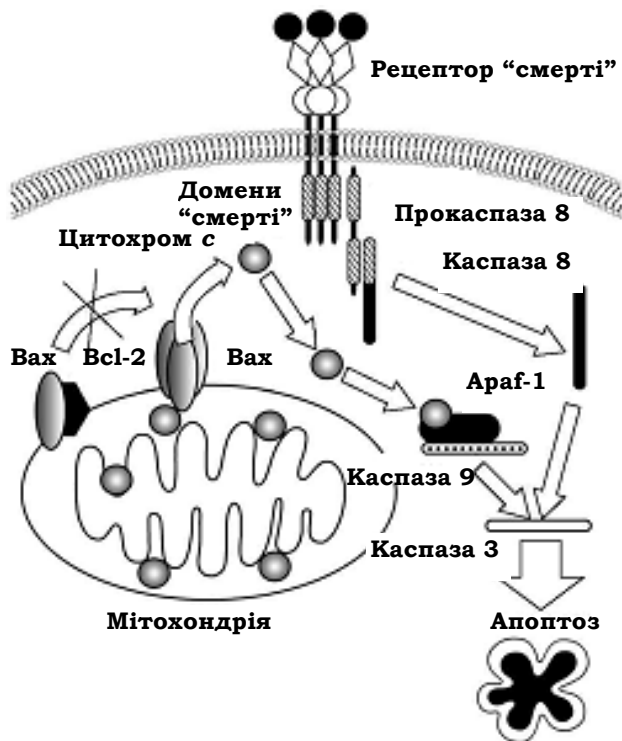


Рис. 68. Схема запуску сигнального каскаду апоптозу в клітині та його регуляція за участю Вс1-2

Крім розглянутих шляхів активації апоптозу існує ще шлях безпосередньої активації прокаспаз у цитозолі за допомогою інших протеолітичних ферментів - гранзимів та грануліну, які доставляє в клітину-мішень активований ЦТА або натуральний кілер. Цей шлях детально розглянуто в розд. 11. Суперечливі дані отримано про те, що в деяких типах клітин апоптоз може відбуватися без участі ініціаторних чи ефекторних каспаз. Такий тип загибелі клітин називають каспазонезалежним (*caspase independent form of cell death*).

За здатністю проводити апоптичний сигнал клітини можна розділити на два типи. Апоптоз у клітинах першого типу відбувається незалежно від мітохондрій і не блокується гіперекспресією білка Вс1-2. Апоптоз у клітинах другого типу залежить від активації мітохондрій. Гіперекспресія білків Вс1-2 і Вс1-XL у таких клітинах повністю блокує розвиток апоптозу. Т-Клітини належать до клітин першого типу, а В-лімфоцити - до клітин другого типу.

Внутрішньоклітинні білки – регулятори апоптозу. Показано, що CD95-опосередкований каскад запуску апоптозу може позитивно або негативно регулюватися активністю білків P53 та білків родини Вс1, а також активністю певних кіназ чи фосфатаз.

p53 – білковий продукт гена p53, (повторення) що відіграє важливу роль у клітинній відповіді на ушкодження ДНК у ссавців. Після ушкодження ДНК відбувається накопичення білка p53 в ядрі. Далі цей білок активує транскрипцію низки генів, продукти яких важливі для репарації ДНК або апоптозу. До них належать гени *fas*, *bax*, ген цикліну G та ін. (всього близько 25). Цікаво, що індукування експресії генів, важливих для репарації ДНК й клітинного циклу, відбувається через 2 год після дії радіації, а гени, важливі для апоптозу (*bax* і *fas*) експресуються через 4 год. Можливе пояснення цього явища полягає в тому, що якщо клітина не здатна виправити ушкодження ДНК в перші години після опромінення, то в ній запуститься програма самознищення.

Білки родини Bcl є модуляторами апоптозу. Деякі з них (Bcl-2, Bcl-XL, Bax) інгібують розвиток апоптозу, тоді як інші (Bcl-Xs, Bax, Bad, Bid), навпаки, виконують функцію позитивних регуляторів цього процесу. Активність Bcl-2-подібних білків регулюється різними механізмами. Ці білки через власні BH-домени (*bcl-homology*) можуть утворювати гомо- і гетеродимери. Антагоністи апоптозу димеризуються з білком Bax і пригнічують розвиток апоптозу, тоді як агоністи апоптозу утворюють гетеродимери з білками Bcl-2 та Bcl-XL й інгібують активність останніх. Деякі з членів родини Bcl-2 (крім білків Bid, Bad, Bax, Bim та Noxa) мають трансмембранний домен, що дає їм змогу вбудовуватись у зовнішню мембрану мітохондрій та інші клітинні мембрани. Ці білки регулюють вихід з мітохондрій цитохрому c, який бере участь в активації каспаз.

Білок Bcl-2 порушує активність фактора Cif (*cytochrome c-efflux inducing factor*), який індукує вивільнення цитохрому c з мітохондрій. У разі надходження різних проапоптотичних сигналів у клітині збільшується рівень експресії Bax, який може утворювати гетеродимери з Bcl-2 в мітохондріальній мембрані. Білок Bax, зв'язуючись із білком Bcl-2, інактивує останній, у результаті чого цитохром c вивільнюється з мітохондрій у цитозоль. Порушення балансу між кількістю молекул Bcl-2 і Bax може індукувати чи, навпаки, повністю супресувати апоптоз, особливо у клітинах другого типу.

Білок Bcl-XL може фізично взаємодіяти з адапторною молекулою APAF-1 і блокувати в такий спосіб активацію каспази 9.

Апоптоз і проліферація. Між процесами клітинної проліферації й клітинної загибелі існують зворотні зв'язки. Це потрібно для контролю над кількістю клітин у різних органах і тканинах, а також для запобігання розвитку злоякісних новоутворень.

Будь-які мутації, що можуть індукувати спонтанний поділ, як правило, мають призводити до апоптозу. Підвищена експресія в клітинах мітогенних факторів, таких як циклін D, протоонкогенів *myc*-родини, фактора транскрипції E2F-1, а також інактивація гена – супресора ретинобластоми RB1 тощо має призводити швидше не до поділу, а до

загибелі цих клітин. І навпаки, підвищена експресія в клітині антиапоптичних факторів, наприклад білка Bcl-2, має гальмувати клітинний цикл і затримувати клітини у фазі G0, тобто коли клітина втрачає здатність до поділу, вона "може дозволити собі" бути стійкою до зовнішніх апоптогенних стимулів. (можна розділити на 2 речення) Наприклад, добре відомо, що плазматичні клітини, які є термінальною ланкою розвитку В-клітин, у десятки разів стійкіші до дії іонізуючого випромінювання, ніж їхні попередники. І навпаки, при інтенсивній проліферації завжди підвищується чутливість клітин до дії апоптогенних стимулів, що можна спостерігати, наприклад, під час тимічної селекції тимоцитів, які стають дуже чутливими до дії радіації та кортикостероїдів.

Накопичення подальших мутацій, що блокують розвиток апоптозу чи індукують проліферацію за підвищеної експресії антиапоптичних факторів, можуть призводити до злоякісного переродження клітин.

Отже, апоптоз індукується паралельно з активацією клітини до поділу. Чому ж нормальні (не перероджені) клітини не гинуть під час проліферації? Ймовірно, що лише в разі поступового надходження всіх ростових і антиапоптичних сигналів у клітині блокується система апоптозу і відбувається перебіг усіх фаз клітинного циклу.

Роль апоптозу у функціонуванні імунної системи. У функціонуванні імунної системи апоптоз виконує низку характерних функцій. По-перше, внаслідок апоптозу знищуються аутореактивні лімфоцити під час негативного відбору в первинних лімфоїдних органах. Апоптозом гинуть також клітини, що виявились не здатними коректно перебудувати гени рецепторів і пройти позитивну селекцію. За допомогою апоптозу контролюється проліферація клітин у різних гілках гематопоезу.

Апоптоз запобігає також неправильній активації наївних лімфоцитів. Така загибель клітин настає внаслідок недостатнього надходження коstimуляторних сигналів. Крім того, апоптоз важливий для елімінації активованих ефекторних клітин, що вже виконали свою функцію, тобто апоптоз контролює припинення імунних реакцій.

Система білків Fas та FasL відіграє важливу роль принаймні в трьох видах фізіологічної загибелі клітин, пов'язаної з функціонуванням імунної системи. По-перше, це участь у пригніченні активованих Т-клітин периферичної крові в кінці імунної відповіді, а також елімінація периферичних аутореактивних В-клітин. За допомогою Fas – FasL-системи відбувається позитивна селекція Т-лімфоцитів у тимусі в ембріогенезі.

По-друге, за участю системи білків Fas і FasL відбувається знищення клітин, інфікованих вірусом, чи пухлинних клітин цитотоксичними Т-лімфоцитами й натуральними кілерами. Клітини, що загинули шляхом апоптозу, не спричинюють запалення і миттєво фагоцитуються тканинними макрофагами та іншими фагоцитами.

По-третє, Fas – FasL-система забезпечує захист імунoprивілейованих сайтів організму (ока, нервової системи) від шкідливого ефекту запальних імунних процесів. Відомо, що клітини, які експресують FasL в оці, нервовій системі, плаценті, здатні індукувати апоптоз в імунних клітинах-ефекторах, запобігаючи розвитку небажаного в цих органах і системах запального процесу, який може призвести до сліпоти, порушення функції нервової системи або відторгнення плоду.

Показано, що клітини деяких типів пухлин – меланоми, раку легень, астроцитими, карциноми шлунка й товстої кишки – також експресують FasL. Очевидно, це дає змогу пухлинним клітинам уникати імунного контролю шляхом індукування апоптозу в цитотоксичних клітинах-ефекторах, що експресують Fas-рецептор. Апоптозом гинуть також нейтрофіли в осередку запалення. Після цього рештки нейтрофілів фагоцитуються макрофагами.

Роль апоптозу при патологіях. Будь-яка функція організму, що виходить з-під контролю, може стати причиною певних патологій. Це саме стосується й апоптозу. В разі надмірної активації система апоптозу може стати причиною дегенеративних процесів у певних органах і клітинах. З апоптозом пов'язують патологічні процеси, що супроводжують певні захворювання, наприклад міокардити, ішемічну хворобу серця, нейродегенеративні ушкодження, різні лейкопенії тощо. Шляхом апоптозу гинуть клітини-мішені аутореактивних ЦТЛ при аутоімунних захворюваннях, а також при реакціях трансплантат проти хазяїна. Характерним проявом апоптозу є вікова інволюція тимуса, інші атрофічні процеси, що спостерігаються при старінні. Певні інфекційні агенти можуть спричинити апоптоз клітин хазяїна за допомогою своїх факторів патогенності. Так, показано, що здатність індукувати апоптоз мають дифтерійний, ботуліновий, правцевий та інші токсини. Деякі віруси також можуть індукувати апоптоз уражених клітин, що є фізіологічною відповіддю клітин на вірусну інфекцію. Вважають, наприклад, що зменшення кількості CD4-лімфоцитів у хворих на СНІД є проявом апоптичної загибелі уражених вірусом клітин.

10.6. ПОСТАКТИВАЦІЙНЕ ДИФЕРЕНЦЮВАННЯ ЛІМФОЦИТІВ. УТВОРЕННЯ ЕФЕКТОРНИХ КЛІТИН І КЛІТИН ПАМ'ЯТІ

Після розпізнавання антигену та отримання необхідних коstimуляторних сигналів відбувається проліферація активованого наївного лімфоцита. Внаслідок проліферації утворюється клон клітин, які мають однакову специфічність рецепторів до антигену та здатні виконувати функції, необхідні для елімінації цього антигену. Отже, проліферація активованих лімфоцитів збільшує кількість клітин, здатних відповіда-

ти на антиген. Крім того, під час проліферації відбувається постактиваційне диференціювання лімфоцитів, яке є необхідним для перетворення наївних лімфоцитів на ефекторні клітини та клітини пам'яті. Ефекторні клітини відрізняються від наївних лімфоцитів деякими властивостями, а саме: вони мають високий рівень метаболічної активності та експресують певні молекули, які необхідні для виконання ефекторних функцій. Клітини пам'яті також експресують усі необхідні ефекторні молекули, але характеризуються зниженим рівнем метаболічної активності та порівняно великою тривалістю життя.

Клон повністю диференційованих ефекторних клітин утворюється через 6-7 поділів після активації наївного лімфоцита. Вважають, що з кожним поділом відбуваються певні зміни в експресії генів і клітина все більше набуває ознак ефекторної клітини. Так, показано, що активовані наївні Т-лімфоцити починають експресувати ІЛ-2 ще до входу в клітинний цикл, ІНФ- γ – у фазі S клітинного циклу, а ІЛ-4 – після 3-4 поділів.

Процес диференціювання лімфоцитів на ефекторні клітини супроводжується змінами в структурі хроматину, модифікацією гістонів, метилюванням і деметилюванням ДНК.

Наївні В-лімфоцити експресують на своїй поверхні зв'язані з мембраною форми імуноглобулінів класів М та D. На термінальному етапі проліферації та диференціювання з наївних В-клітин утворюються плазматичні клітини, здатні синтезувати розчинні форми імуноглобулінів – антитіла. Плазматичні клітини відрізняються від наївних В-лімфоцитів певними морфологічними особливостями та інтенсивнішою роботою (більшою інтенсивністю роботи) біосинтетичного апарату. Плазматичні клітини, як правило, не діляться, середня тривалість їх життя не перевищує 3-4 днів, але існують і плазматичні клітини "довгожителі", які живуть роками.

Деякі відрізняються і процеси формування різних субпопуляцій ефекторних Т-клітин. Так, ЦТЛ, які утворюються з наївних CD8 Т-клітин, набувають ознак, необхідних для здійснення цитотоксичних функцій. У повністю диференційованому стані ефекторні ЦТЛ мають морфологію великих гранулярних лімфоцитів, гранули яких містять перфорини, гранзими та гранулізин. Крім того, диференційовані ЦТЛ експресують на своїй поверхні велику кількість молекул Fas-ліганду. Всі ці молекули необхідні для запуску апоптозу в клітинах-мішенях. Поділ активованих CD8 Т-клітин відбувається кожні 8 год. Тому вже через 3 доби після проникнення вірусної інфекції в організмі накопичується досить велика кількість ЦТЛ. Живуть ефекторні ЦТЛ, як правило, не більше 5 днів і майже повністю зникають з організму через 2-3 тижні після виведення антигену.

CD4 Т-клітини, на відміну від ЦТЛ, розмножуються не так швидко і гинуть повільніше. Диференціювання на ефекторні Т-хелпери може

відбуватися як з утворенням субпопуляцій T_H1 і T_H2, що відрізняються за експресією цитокінів, так і без поляризації T-клітин за цитокіновим профілем. Субпопуляція T-хелперів 1 продукує ІНФ- γ , тоді як субпопуляція T-хелперів 2 продукує ІЛ-4, ІЛ-5 та ІЛ-13, хоча індивідуальні T-клітини у межах цих популяцій можуть різнитися між собою за спектром цитокінів, які вони експресують.

Який шлях розвитку обере активований CD4 T-лімфоцит, залежить від фази імунної відповіді, природи АПК та щільності представленого на її поверхні антигену, афінності T_HR, а також локального контакту з певними цитокінами під час активації (табл. 40). Наприклад, T_H2, як правило, утворюються наприкінці імунної відповіді внаслідок контакту з "виснаженими" АПК.

За певних умов CD8T-клітини, як і T-хелпери, також можуть поляризуватися за цитокіновим профілем на дві субпопуляції, аналогічні субпопуляціям T_H1 і T_H2, але функціональна роль такої поляризації ЦТА менш зрозуміла. Можливо, що за певних обставин ЦТА здатні виконувати деякі функції T-хелперів. Тому наведені далі (див. розд. 11) механізми диференціювання T_H1 і T_H2, можливо, характерні також для T-кілерів.

Таблиця 40. Особливості диференціювання T_H1 і T_H2

Властивість	T _H 1	T _H 2
Цитокін, що визначає напрям диференціювання	ІЛ-12	ІЛ-4
Транскрипційні фактори, що ініціюють диференціювання	NF-AT, STAT4	NF-AT, STAT6
Транскрипційні фактори, що підтримують зрілий фенотип	NF-AT, T-bet, ERM	NF-AT, GATA3, Maf
Основні цитокіни, що продукуються зрілими клітинами	ІНФ- γ	ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-13

Наївні CD4 T-клітини після першого контакту з антигеном починають продукувати лише ІЛ-2, а поляризація за цитокіновим профілем відбувається через кілька поділів після наступного контакту з антигеном та додаткової стимуляції цитокінами.

Клітини пам'яті. Більшість ефекторних клітин гинуть через кілька днів після активації і фагоцитуються макрофагоподібними клітинами селезінки та печінки, але невелика частина виживає і стає клітинами пам'яті. Загибель ефекторних клітин після звільнення організму від антигену має велике біологічне значення, оскільки запобігає гіпертрофії лімфоїдної тканини і створює умови для відповіді наївних клітин на нові антигени. В-Клітини пам'яті утворюються лише з тих В-клітин, які пройшли переключення ізотипу антитіл і процеси "дозрівання афінності" рецепторів (див. розділ 12). Саме тому вторинна

імунна відповідь завжди більш специфічна, ніж первинна, і зумовлюється переважно антитілами класу G.

Вважають, що персистенція в організмі антигену, адсорбованого на поверхні ФДК, відіграє важливу роль у підтриманні життєздатності В-клітин пам'яті. Показано, що у видаленні активованих CD8 Т-клітин з організму головну роль відіграє ІНФ- γ , оскільки у мишей із дефіцитом інтерферону спостерігається дуже повільна елімінація ефекторних ЦТЛ. У видаленні ефекторних CD4 Т-клітин головну роль, ймовірно, відіграє Fas-залежний апоптоз, хоча гіперплазія популяції CD4 Т-клітин спостерігається також у мишей, дефіцитних за генами CTLA-4, ІЛ-2, ТФР- β тощо.

На відміну від В-клітин, у Т-клітинах соматичні гіпермутації не відбуваються. Однак рецептори до антигену у Т-клітин пам'яті відрізняються від рецепторів Т-клітин, які беруть участь у первинній імунній відповіді, більшою афінністю. Можливо, існують механізми, які контролюють відбір у клітини пам'яті саме тих клітин, що мають найбільшу афінність рецепторів.

Клітини пам'яті змінюють експресію певних маркерів, а саме, мають низький рівень експресії CD62L і CD45RA/B/C, але високий рівень CD45R0. Для ідентифікації клітин пам'яті мишей найчастіше застосовують маркери CD44, Ly6C та CD122. Хоча клітини пам'яті характеризуються високою гетерогенністю поверхневих маркерів – одні з них можуть нагадувати ефекторні клітини, а інші – наївні.

Існують дві субпопуляції Т-клітин пам'яті, які відповідно зумовлюють центральну і периферичну імунну пам'ять. Клітини центральної пам'яті (центральні Т-клітини пам'яті) перебувають у неактивованому стані, мають високий рівень експресії хемокінового рецептора CCR7, який зумовлює їхню міграцію у лімфатичні вузли. За експресією цитокінів ці клітини не поділяють на T α 1 і T α 2. Клітини центральної пам'яті повільно реагують на проникнення антигену, але все-таки набагато швидше, за наївні Т-клітини. Вони мають високий рівень експресії мРНК і під час активації діляться через короткий проміжок часу. Вважають, що клітини центральної пам'яті перебувають у стадії G1 клітинного циклу, тобто у стані "передпорогової" активації.

Клітини периферичної пам'яті (ефекторні Т-клітини пам'яті) перебувають у більш активованому стані, ніж клітини центральної пам'яті, діляться кожні 1 – 3 тижні, мають низький рівень експресії рецептора CCR7, завдяки чому вони покидають лімфатичні вузли і потрапляють у селезінку та нелімфоїдну тканину на периферії. Лише клітини периферичної пам'яті можуть поляризуватися за цитокіновим профілем, експресувати активаційні маркери CD69 та CD25 і безпосередньо виконувати ефекторні функції. Наприклад, CD8 Т-клітини пам'яті мають цитотоксичну активність і можуть вбивати клітини-мішені. Можливо, що клітини периферичної пам'яті першими реагують на

повторне проникнення антигену в організм і забезпечують першу "лінію оборони" за повторної інфекції.

Для підтримання життя Т-клітинам пам'яті, на відміну від В-клітин пам'яті, очевидно, не потрібний постійний контакт з антигеном. Так, Т-клітини пам'яті живуть тривалий час при перенесенні сингенним мишам, у яких зруйновано гени МНС. Навіть існує гіпотеза, що виведення антигену з організму є сигналом, що призводить до перетворення активованих Т-клітин, які перебувають на певній стадії диференціювання, на Т-клітини пам'яті. Причому саме стадія диференціювання Т-клітини визначає її майбутню належність до певної популяції клітин пам'яті: клітини периферичної пам'яті утворюються з клітин, близьких до термінальної стадії диференціювання, а клітини центральної пам'яті – зі слабо диференційованих Т-клітин. Слід зазначити, що кількість Т-клітин пам'яті залишається майже незмінною впродовж усього життя організму, незважаючи на кількість імунізацій. Одним з найважливіших факторів, що визначають кількість класичних CD44/CD122 Т-клітин пам'яті, є наявність ІЛ-15 і, можливо, деяких інших цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-7, ІЛ-9). Саме маркер CD122 Т-клітин пам'яті є β -ланцюгом рецептора до ІЛ-2, який входить також до складу ряду інших рецепторів, зокрема рецептора до ІЛ-15 та інших цитокінів. Показано, що у генетично модифікованих мишей, які експресують надлишок ІЛ-15 чи ІЛ-7, утворюється більше Т-клітин пам'яті, ніж у нормальних мишей. Ймовірно, гомеостаз популяції клітин пам'яті залежить від функціонального балансу кількох цитокінів.

Механізм, який зумовлює виживання CD4 та CD8 Т-клітин пам'яті, дещо відрізняється, оскільки головну роль у запобіганні апоптозу в CD8 Т-клітин відіграє білок Bcl-2, а у CD4 – білок Bcl-XL. Тому, можливо, для підтримання життєздатності CD4 і CD8 Т-клітин пам'яті потрібна дія різних цитокінів.

ВИСНОВКИ

Активация лімфоцитів є складним біохімічним процесом, який пов'язаний з розпізнаванням антигену. Активация лімфоцитів лежить в основі розвитку специфічної ланки імунної відповіді на антиген, оскільки внаслідок активації відбувається збільшення кількості клітин, що взаємодіють з антигеном. Одночасно процес активації лімфоцитів перебуває під суворим контролем багатьох сигнальних систем. Щоб запобігти помилковій активації клітин імунної системи, природа використовує механізм подвійного або навіть потрійного розпізнавання антигену. Для того щоб антиген, який потрапив в організм, міг зумовити імунну відповідь, його мають розпізнати як ефекторні клітини (ЦТЛ або В-лімфоцити), так і регуляторні Т-клітини (відповідно T_H1 або T_H2). Самі регуляторні Т-клітини активуються внаслідок взаємодії з дендритними клітинами, які були попередньо активовані антигеном. Кооперація всіх зазначених типів клітин відбувається у процесі

міжклітинної взаємодії, яка супроводжується утворенням імунного синапсу. Імунний синапс формується між АПК і Т-клітинами. Механізми активації АПК і Т-клітин загалом подібні, але різняться способом розпізнавання антигену та сигналами, необхідними для їх активації.

Кожний лімфоцит має сприйняти кілька сигналів для переходу в активований стан. Перший і головний сигнал – це сигнал від антигенспецифічних рецепторів, наступні два сигнали – костимуляторні, які клітина отримує від мембранних костимуляторних молекул, що знаходяться на поверхні іншої клітини, та від розчинних костимуляторних факторів – цитокінів. Передавання сигналу від мембранних рецепторів супроводжується формуванням сигнального комплексу, до складу якого мають входити різні ферменти та адапторні білки. Важливим етапом в активації лімфоцитів є приєднання до мембрани фосфоліпази $C\gamma$, яка продукує важливі вторинні месенджери – ІФЗ та ДАГ. Сигнали від костимуляторних молекул підсилюють основний сигнал від антигенспецифічних рецепторів та зумовлюють додаткові сигнальні каскади. Лише за збалансованого надходження всіх сигналів клітина може перейти з $G0$ – у $G1$ -стадію клітинного циклу і пройти точку рестрикції. У разі неадекватності отриманих сигналів програмі розвитку клітини, відбувається інактивація клітин, як правило, внаслідок апоптозу. Активовані клітини проліферують і диференціюються на ефекторні клітини, а за умови нестачі антигену - також на клітини пам'яті. Клони клітин, що відпрацювали, знищуються апоптозом.

Контрольні запитання

1. Порівняйте будову рецепторного апарату Т- і В-клітин. У чому полягає їхня подібність та відмінність? Яке значення мають ці відмінності для розпізнавання антигену Т- і В-клітинами? Яку роль відіграють корецептори Т- і В-клітин у процесі розпізнавання антигену?

2. Як формується сигнальний комплекс після розпізнавання антигену рецепторами лімфоцитів? Що таке імунний синапс і як він формується? Які сигнали необхідні для повноцінної активації Т- і В-лімфоцитів? Які є маркери активації Т- і В-клітин?

3. Які сигнальні шляхи активують фосфоліпаза $C\gamma$, фосфатидилінозитол-3-кіназа та маленькі G-білки?

4. Які особливості передавання сигналу від цитокінових рецепторів?

5. Чи існують механізми пригнічення активації лімфоцитів?

6. В яких випадках активація лімфоцитів призводить до їх апоптозу? Охарактеризуйте індуктори, механізми та регулятори апоптозу.