

РОЗДІЛ 6. ПРОЦЕСИНГ І ПРЕЗЕНТАЦІЯ АНТИГЕНІВ

Основною функцією білків головного комплексу гістосумісності є представлення антигенних пептидів у такій формі, в якій їх можуть розпізнати рецептори Т-клітин. Як саме антигенні пептиди потрапляють у порожнину, утворену варіабельними доменами МНС? Можна припустити, що молекули МНС на поверхні клітини захоплюють антиген із позаклітинного середовища. Однак виявилось, що молекули МНС без антигенного пептиду здебільшого дуже нестабільні. У 1981 р. Е. Унанью зі співавторами (Гарвардський університет) уперше переконливо довели, що процес зв'язування антигенних пептидів із МНС відбувається за активної участі клітини і потребує часу та енергії. Вони інкубували антигенпрезентувальні клітини (АПК) з антигеном протягом різних проміжків часу, після чого "фіксували" їх за допомогою формальдегіду, який припиняє клітинний метаболізм, а потім перевіряли здатність цих клітин презентувати антиген Т-лімфоцитам і зумовлювати їх проліферацію. Виявилось, що у випадку, коли АПК фіксували до чи безпосередньо після додавання антигену, вони не могли презентувати його Т-клітинам. Однак після інкубації з антигеном понад одну годину АПК набували такої здатності. Ці дані свідчили про те, що потрібен деякий час після контакту АПК з антигеном для того, щоб АПК здійснили певне перетворення антигену і представили його на поверхні.

Як виявилось, асоціація МНС з антигенним пептидом відбувається всередині клітини, і цей процес тісно пов'язаний із біосинтезом та експресією молекул МНС. Антигенні пептиди, що зв'язуються з МНС, утворюються в результаті процесингу білкових антигенів. *Процесинг* – обмежене розщеплення білкових антигенів за допомогою специфічних протеїназ, яке відбувається в клітинах. Утворення комплексів МНС з антигенними пептидами та експресію цих комплексів на поверхні клітин називають *презентацією (представленням) антигенів*.

Які ж клітини здатні презентувати антигени? Спочатку помилково вважали, що з процесованими антигенами зв'язуються лише МНС II, тоді як МНС I можуть експресуватися у вільному стані або утворювати комплекс із нативними антигенами. Тому групу клітин, які експресують МНС II, було названо *антигенпрезентувальними клітинами* (АПК), тобто до них було віднесено лише макрофаги, В-клітини і дендритні клітини. На сьогодні встановлено, що МНС I, подібно до МНС II, можуть експресуватися на поверхні клітини лише в комплексі з процесованим антигеном. Отже, майже всі клітини в організмі здатні до процесингу і презентації антигенів, однак назва АПК залишилась тільки за тими клітинами, що представляють антигени в комплексі з МНС II.

Процесинг антигену та формування пулу антигенних пептидів, а також утворення комплексів пептидів із МНС істотно різняться серед МНС різних класів. Це пов'язано з різними функціями МНС I і МНС II

та клітин, що їх експресують. Як відомо, МНС II відіграють роль переважно в регуляції імунних реакцій і слугують для того, щоб АПК могли представити поглинуті антигени для розпізнавання Т-хелперами. МНС I представляють пептидні фрагменти внутрішньоклітинних білків для розпізнавання Т-кілерами. Отже, МНС I є "знаком якості" для здорових клітин і можуть стати "маркерами смерті" для клітин із порушеннями метаболізму. Таким чином, антигенні пептиди, що входять до складу МНС I і МНС II, мають різне походження. За місцем біосинтезу антигени можна розподілити на екзогенні та ендогенні. Антигени, які потрапляють у клітину ззовні в результаті активного захоплення та поглинання, називають *екзогенними*, а антигени, що синтезуються в клітині, – *ендогенними*. Екзогенні антигени представляються переважно в комплексі з МНС II, а ендогенні – з МНС I, хоча існують важливі винятки з цього правила (див. нижче). Процесинг екзо- і ендогенних антигенів відбувається в різних компартментах клітини за участю різних протеїназ. Екзогенні антигени розщеплюються у фагосомально-лізосомальному апараті клітини, ендогенні – в цитозолі, а біосинтез молекул МНС обох класів здійснюється в шорсткому ендоплазматичному ретикулумі. Де саме відбувається поєднання білків МНС із відповідними антигенними пептидами, розглянемо окремо для кожного класу МНС.

Слід зазначити, що процесинг відбувається за певними правилами і є процесом специфічним, тобто антигенні пептиди, які утворюються внаслідок процесингу, мають характерні спільні особливості будови, необхідні для їх зв'язування з МНС. Механізм процесингу здійснює вибір саме тих пептидів, які потенційно можуть стати Т-епітопами. Тому процесинг антигену клітиною можна порівняти з роботою референта-перекладача, який із великої кількості чужорідної інформації має відібрати найістотнішу і подати її в належній, легкій для сприйняття формі. Таким чином, процесинг антигену є першим етапом обробки антигенної інформації, а отже, й першим пунктом "контролю якості" представленої Т-клітинам інформації про антиген.

Як уже зазначалося, білковий продукт кожного аляла МНС зв'язується зі своїм унікальним набором пептидів, який характеризується наявністю певних якірних амінокислотних залишків на певних місцях. Крім того, з антигенами МНС класу I зв'язуються антигенні пептиди завдовжки 8–10 амінокислотних залишків, а МНС II може зв'язувати значно довші пептиди (12–17 залишків). Як саме формується необхідний репертуар пептидів і чим саме забезпечується його специфічність? Зрозуміло, що репертуар пептидів залежить від протеїназ, що беруть участь у процесингу антигену, та від специфічності транспортних систем, які доставляють пептиди безпосередньо до МНС.

Отже, для з'ясування детальних механізмів процесингу антигенів необхідно визначити особливості біосинтезу МНС, джерело похо-

дження антигенів, специфічність протеїназ, що розщепляють антиген, та місце, де МНС зв'язується з антигеном. Потрібно також визначити, які допоміжні структури беруть участь у регуляції цих процесів. Прогрес у вирішенні цих питань пов'язаний із застосуванням методів блокування певних ланок процесингу за допомогою специфічних інгібіторів, а також із використанням методу нокаутування генів, продукти яких беруть участь у процесингу антигенів. Важливу інформацію надало застосування імуноелектронної мікроскопії, під час проведення якої за допомогою антитіл, мічених колоїдним золотом, визначали локалізацію певних молекул у клітині. За допомогою використання вищезазначених новітніх методів вдалося майже повністю з'ясувати механізми процесингу ендо- та екзогенних антигенів. Це відкриває нові можливості для коригування імунітету і розроблення нових терапевтичних підходів.

6.1. БІОСИНТЕЗ МОЛЕКУЛ МНС II ПРОЦЕСИНГ ЕНДОГЕННИХ АНТИГЕНІВ

Біосинтез МНС I та презентація ендогенних антигенів відбуваються майже в усіх клітинах організму, що дає можливість Т-кілерам контролювати якість білків, синтезованих кожною клітиною. За відомим порівнянням антигени гістосумісності класу I є "вікнами, через які імунна система може подивитися, чи все в порядку всередині клітини". Ці вікна є постійно "прозорими", тобто будь-яка здорова клітина організму завжди експресує на поверхні молекули МНС I.

Молекули МНС класу I презентують антигени, які синтезуються в цитоплазмі клітини, тобто ендогенні антигени. Ендогенними антигенами можуть бути також будь-які білки, що потрапили в цитозоль. Так, якщо за допомогою мікрокапіляра або електроосмосу в клітину ввести будь-який білок, то через деякий час фрагменти деградації цього білка з'являться на поверхні в комплексі з МНС I. Нині можна вважати доведеним, що *в нормі антигени гістосумісності I класу зв'язують антигенні пептиди, які походять із власних білків організму.* Т-кілери залишаються байдужими до МНС I із процесованими власними білками, оскільки аутореактивні ЦТЛ знищуються під час селекції в тимусі, де також представлені аналогічні комплекси МНС I із пептидами. У разі патології, наприклад, в результаті мутаційних перероджень певних клітин, із МНС I, крім власних антигенів, представлятимуться також мутантні білки. Те саме відбувається при вірусних інфекціях – продукти вірусних генів у процесованому вигляді будуть представлені на мембранах уражених клітин. До таких "нових" комплексів МНС I із чужорідними пептидами серед популяції лімфоцитів можуть виявитись специфічні ЦТЛ, оскільки вони не зазнали негативного відбору в тимусі. Отже, уражені або трансформовані клітини відрізнятимуться від здорових клітин за структурою представлених пептидів, а тому будуть розпізнаватися й знищуватися. У цьому

й полягає біологічний сенс процесингу ендогенних антигенів усіма клітинами організму.

Формування пулу антигенних пептидів – похідних ендогенних антигенів. Перший етап процесингу антигену – убіквітинування. Система убіквітину часто бере участь у регулюванні тривалості життя цитоплазматичних і мембранних білків. Убіквітин – це невеликий білок цитоплазми, здатний формувати олігомерні ланцюжки, приєднуючись до білків-субстратів. Зв'язування будь-якого білка з ланцюжком убіквітинів (убіквітинування) є сигналом для його деградації.

У процесі приєднання убіквітину до специфічного субстрату беруть участь кілька ферментів, таких як убіквітин-протеїналіаза (E3), убіквітин-кон'югуючий фермент (E2) і убіквітин-активуючий фермент (E1), що розпізнають субстрат і каталізують ковалентне приєднання до нього ланцюга поліубіквітинів. У розпізнаванні білків-мішеней під час убіквітинування беруть участь убіквітин-протеїналіази. Відомі на сьогодні убіквітин-протеїналіази різняться за специфічністю та способами розпізнавання білкових субстратів. N-кінцевий домен лігаз розпізнає білкові субстрати, а C-кінцевий каталітичний домен відповідає за утворення тієфірного зв'язку між серином білка-мішені та цистеїном убіквітину. Вважають, що убіквітин-ліази розпізнають свої субстрати шляхом виявлення помилок в укладанні третинної структури білків. Ознаками такого помилкового укладання можуть бути розгорнуті структури, відкриті гідрофобні поверхні, залишки проліну з неадекватною *цис-*, *трансізомерією* тощо.

Після убіквітинування білки потрапляють до спеціалізованої клітинної структури – *протеасоми*, де відбувається їх розщеплення на амінокислоти. Причому частина білків може розщеплюватись не повністю, а лише до пептидних фрагментів, які можуть стати антигенними пептидами.

Деградація ендогенних антигенів протеасомою. Процесинг більшої частини ендогенних антигенів починається в протеасомі, функціонування якої тісно пов'язане із системою убіквітину. Протеасома є універсальним апаратом для деградації цитоплазматичних і деяких мембранних білків. Навіть у найпримітивніших живих організмів, таких як археобактерії, протеасоми дуже подібні за структурою до протеасом вищих ссавців.

Кожний внутрішньоклітинний білок проходить шлях "від рибосоми до протеасоми". Принциповим є питання про тривалість життя окремих білків та про ефективність їх синтезу, а саме: яка частина всіх поліпептидів, що синтезуються на рибосомі, досягає функціонального стану? Нефункціональна фракція дефективних рибосомальних продуктів може бути одним із важливих джерел надходження антигенних пептидів для презентації в комплексі з МНС I. Обробка клітин інгібіторами протеасом підвищує кількість щойно синтезованого білка

порівняно з необробленими клітинами на 30–50 %. І навпаки, блокування синтезу білків істотно знижує експорт молекул МНС I на поверхню клітини, який залежить від кількості зв'язаних антигенних пептидів. Отже, частина поліпептидних ланцюгів ще під час синтезу на рибосомі убиквітинуються і потрапляє в протеасому. Це підтверджується також даними електронної мікроскопії, які свідчать, що протеасоми в клітині перебувають у тісній асоціації з полірибосомами. Крім того, в протеасомі утворюються переважно пептиди, які мають певні С-кінцеві амінокислотні залишки, що можуть бути "якірними" при зв'язуванні з МНС I, хоча для утворення антигенних пептидів, які цілком придатні для зв'язування з МНС I, здебільшого необхідне додаткове розщеплення утворених у протеасомі пептидів амінопептидазами.

Структура протеасоми. Пептиди, що можуть зв'язатися з МНС I, утворюються внаслідок деградації протеасомою внутрішньоклітинних білків. Протеасома являє собою великий багатосубодиничний комплекс із протеолітичною активністю, головною функцією якого є контрольована деградація білків, мічених убиквітином. У зібраному вигляді протеасома ссавців має константу седиментації 26S і називається 26S-протеасомою. Вона складається з каталітично активної серцевини та двох регуляторних частин. Серцевина 26S-протеасоми має константу седиментації 20S і називається 20S-протеасомою. Вона має форму бочки, що складається з чотирьох замкнених кілець, кожне з яких, у свою чергу, складається із семи субодиниць. Два α -кільця розміщені по краях бочки, а два β -кільця утворюють середню частину (рис. 42). Протеолітичну активність мають три субодиниці кожного β -кільця, які позначають $\beta 1$, $\beta 2$ і $\beta 5$. Активні центри цих субодиниць спрямовані до порожнини бочки. Така структура дає змогу зосередити всю протеолітичну активність протеасоми в порожнині циліндра, що запобігає неконтрольованому розщепленню білків цитозолю. Отже, кожна 20S-протеасома має шість каталітично активних субодиниць із трьома різними протеолітичними активностями, тобто до складу протеасоми входить три різні протеїнази. До кожного типу каталітично активних субодиниць можна підібрати відповідні інгібітори, за допомогою яких можна досліджувати функції протеасом не тільки *in vitro*, а й *in vivo*.

Під час аналізу великої кількості пептидів, що з'являються внаслідок деградації в протеасомі, було помічено, що більшість пептидів мають певні С-кінцеві залишки, які відповідають якірним залишкам антигенних пептидів, знятих із МНС I, тобто субстратна специфічність протеасоми зумовлює розщеплення пептидних зв'язків з утворенням С-кінцевого лізину або аргініну.

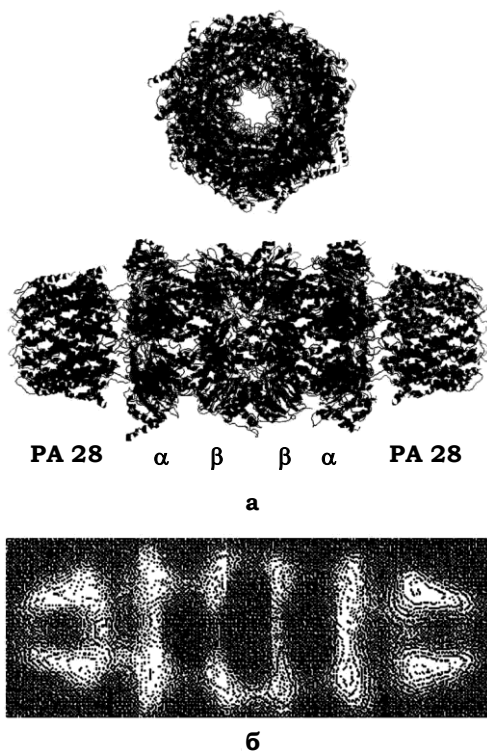


Рис. 42. Структура протеасоми за даними рентгеноструктурного аналізу (а), Whitby et al., 2001, та електронної мікроскопії (б), Souh et al., 1996 (у досліджах використано протеасому, штучно зібрану з 20S-протеасоми дріжджів і двох регуляторних частин РА трипаносом)

Доступ до активних центрів каталітичних субодиниць 20S-протеасоми контролюється двома додатковими 19S-сар-регуляторними частинами, які розміщуються "на вході" і "на виході" з порожнини протеасоми і в комплексі з 20S-протеасомою утворюють 26S-протеасому. Вони нагадують два капелюхи, натягнуті з обох боків на бочку (звідси їхня назва "сар" – від англ. *sar* – капелюх). Кожна з 19S-регуляторних частин складається з 15 різних субодиниць, головною функцією яких є розпізнавання поліубіквітинової мітки та розгортання третинної структури білків, що потрапляють до протеасоми і зазнають деградації.

Структура імунпротеасоми. Істотною особливістю протеасом вищих хребетних є те, що вони можуть змінювати свою структуру під дією цитокінів. Так, при дії інтерферону ІФН- γ на клітини три каталітичні субодиниці протеасоми заміщуються на їхні гомологи: β 1-субодиниця заміщується на LMP2, β 2 – на MECL1 і β 5 – на LMP7 (гени LMP2, MECL1 та LMP7 локалізовані в межах комплексу МНС). Це заміщення призводить до утворення так званої *імунпротеасоми*. ІФН- γ

також індукує появу нової регуляторної частини PA28, яка називається активатором протеасоми (від англ. *proteasome activator*). PA28 складається з трьох субодиниць PA28 α і чотирьох субодиниць PA28 β , які в зібраному стані мають константу седиментації 11S. Активатор PA28 може заміщувати одну з 19S-регуляторних частин, що підвищує протеолітичну активність протеасоми. PA28, можливо, сприяє також ефективнішому збиранню імунопротеасоми. Внаслідок такої модифікації 26S-протеасоми змінюється її активність та специфічність протеолітичної дії і відповідно змінюється спектр пептидів, які вона продукує. Протягом останніх років було з'ясовано, що ряд білків по-різному процесуються звичайною протеасомою та імунопротеасомою.

Певні перетворення в протеасомі також можуть індукувати не тільки ІФН- γ , а й інші цитокіни. Так, ФНП- α може зумовлювати синтез LMP7, а ІФН- α та ІФН- β можуть індукувати синтез LMP2 у деяких типах клітин. Однак, швидше за все, така експресія окремих субодиниць не може зумовлювати формування повноцінної імунопротеасоми, оскільки заміщення всіх субодиниць відбувається кооперативно, тобто LMP2 не може увійти до складу протеасоми без MECL1, і навпаки. Лише субодиниця LMP7 може самостійно заміщувати субодиницю β 5. Тому можна припустити, що існують клітини, в яких до складу протеасоми входить LMP7 разом із субодиницями β 1 і β 2, хоча функціональне значення такої протеасоми невідоме. Найімовірніше, це сприяє утворенню великого різноманіття протеасом, які по-різному процесують антигени.

Функції імунопротеасоми. У 1994 р. К.Танака з колегами вперше описали імунопротеасому як протеасому, що має здатність генерувати пептиди, які зв'язуються з МНС I із високою ефективністю. Це спостереження було підтверджено на мишах, нокаутних за генами LMP2 і LMP7, в яких презентація деяких антигенів відбувалася з меншою ефективністю. Однак ці миші мали здатність ефективно представляти епітопи інших антигенів – свідчення (доказ) того, що імунопротеасома не є винятково необхідною для процесингу взагалі. І справді, більшість відомих антигенних пептидів, зв'язаних із МНС I, експресуються клітинами, які мають стандартну протеасому. Нині добре досліджено антигени, які ефективніше процесуються імунопротеасомою, ніж стандартною протеасомою. Це, як правило, вірусні білки та білки різних внутрішньоклітинних паразитів.

За допомогою біохімічного аналізу фрагментів деградації білків протеасомами різного типу було виявлено два різних механізми, що лежать в основі підсилення процесингу антигенів імунопротеасомою. По-перше, імунопротеасома активніше виділяє епітопи з деяких білків, ніж стандартна протеасома, тобто має більшу каталітичну активність. По-друге, було помічено, що для деяких білків, особливо вірусного походження, стандартна протеасома, на відміну від імунопроте-

асоми, розщеплює додаткові пептидні зв'язки всередині пептидів, які могли б стати готовими Т-епітопами. Отже, імунопротеасома не здатна руйнувати готові Т-епітопи, що забезпечує ефективнішу презентацію антигену в цьому випадку. Детальний механізм цього явища залишається нез'ясованим, однак існує припущення, що активатор протеасоми PA28 полегшує вивільнення пептидів із протеасоми, внаслідок чого вони не встигають повністю розщепитись.

Нещодавно було виявлено, що імунопротеасома бере участь у презентації власних білків клітини з меншою ефективністю, ніж стандартна протеасома. Вперше це було показано в експериментах на лінії аутореактивних ЦТЛ, які специфічно розпізнавали МНС I з антигенним пептидом – похідним білка RU1. Ген RU1 експресується в багатьох нормальних і пухлинних клітинах, з якими взаємодіють ці аутореактивні ЦТЛ *in vitro*. Проте було помічено, що така лінія ЦТЛ не була здатна розпізнавати В-лімфоцити, трансформовані вірусом Епштейн-Барр, незважаючи на те, що в цих В-лімфоцитах ген RU1 був експресований. Виявилось, що внаслідок ураження вірусом у цих В-клітинах замість стандартної протеасоми була експресована імунопротеасома, яка не здатна процесувати продукт гена RU1. Крім того, при обробці пухлинної лінії карциноми впродовж кількох днів ІФН- γ імунопротеасома заміщувала в цих клітинах стандартну протеасому, внаслідок чого специфічні до епітопу RU1 ЦТЛ не розпізнавали клітини цієї пухлинної лінії. Після того як вплив ІФН- γ на клітини пухлинної лінії припинявся, вони через кілька днів відновлювали здатність представляти процесовані продукти гена RU1 і могли знищуватись специфічними до RU1 ЦТЛ.

Отже, стандартна протеасома є дуже важливою для презентації власних антигенів. Її повне заміщення імунопротеасомою може призвести до неповної презентації власних внутрішньоклітинних білків. З цих даних можна зробити припущення, які мають практичне значення. По-перше, слід обережно ставитись до застосування ІФН- γ в протипухлинній терапії, оскільки це може знизити розпізнавання деяких антигенів пухлин цитотоксичними Т-лімфоцитами. По-друге, можна очікувати, що в деяких випадках буде доцільним використовувати ІФН- γ для терапії аутоімунних хвороб, зумовлених аутореактивними ЦТЛ. Однак варто зауважити, що наші знання про специфічність дії різних типів протеасом не повні, тому остаточні висновки робити ще рано.

Розщеплення ендогенних антигенів у дендритних клітинах.

Важливо, що дендритні клітини конститутивно, тобто незалежно від дії ІФН- γ , експресують імунопротеасому. Було також показано, що імунопротеасома конститутивно експресована в клітинах різних лімфоїдних органів: лімфовузлів, селезінки, тимуса. Незрілі дендритні клітини, отримані з мононуклеарних клітин крові після обробки ГМ-

КСФ разом із ІЛ-4, експресують однакову кількість стандартних протеасом та імунопротеасом, тоді як зрілі дендритні клітини мають лише імунопротеасому. Саме тому зрілі й незрілі дендритні клітини здатні презентувати різний набір антигенних пептидів з одних і тих самих антигенів.

Деякі теоретичні аспекти функціонування імунопротеасом викликають неабияке зацікавлення. Наприклад, той факт, що зрілі дендритні клітини експресують лише імунопротеасому, тривалий час залишався непоясненим. Нині стає зрозумілим, що це є одним із способів підтримання толерантності до власних антигенів та запобігання аутоімунним хворобам. На зрілих дендритних клітинах істотно знижена експресія епітопів власних білків організму. А дендритні клітини – це єдиний тип клітин, здатних активувати наївні CD8 Т-лімфоцити. Отже, активація на периферії за допомогою дендритних клітин потенційно аутореактивних ЦТЛ, які не були усунуті внаслідок негативної селекції в тимусі, є досить малоімовірною. Цю властивість дендритних клітин нині починають інтенсивно вивчати у зв'язку з можливістю корекції імунітету при онкологічних та аутоімунних захворюваннях.

Одним із напрямів, що активно розвивається, є розробка протипухлинних вакцин. Наприклад, встановлено, що більшість протективних Т-епітопів антигенів, характерних для меланоми, в нормі не представляється на дендритних клітинах. Це пов'язано з тим, що імунопротеасома не процесує ці антигени. Проте, якщо вже готові антигенні пептиди ввести безпосередньо в цитоплазму дендритних клітин, такі дендритні клітини починають експресувати МНС I у комплексі з цими пептидами й активують ЦТЛ, які здатні знищувати клітини меланоми. Були також успішно застосовані мінімальні гени (міні-гени), які кодують ці антигенні пептиди, у складі генетичних векторів. Трансфекована такими векторами дендритна клітина набувала здатності активувати необхідні ЦТЛ. Іншим підходом є застосування незрілих дендритних клітин, які експресують як імунопротеасому, так і стандартну протеасому. Ці клітини можуть фагоцитувати специфічні для меланоми антигени і після активації здатні самі активувати ЦТЛ.

Отже, імунопротеасома є компетентнішою порівняно зі стандартною в процесингу вірусних антигенів, а також антигенів інших інфекційних агентів, що паразитують у цитоплазмі клітин. Вона генерує спектр пептидів, які добре відповідають вимогам для зв'язування з МНС I. Однак більшість епітопів власних білків організму, а також білків, специфічних для певних пухлин, не процесуються імунопротеасою. Конститутивна експресія імунопротеасоми в зрілих дендритних клітинах пояснює неефективність ЦТЛ у боротьбі з деякими пухлинами і відкриває можливості для створення протипухлинних вакцин та імунотерапії пухлинного росту.

Слід зазначити, що, можливо, протеасома – це не єдина структура,

яка може продукувати антигенні пептиди. Презентація деяких пептидів не змінюється під дією інгібіторів протеасоми. Можливий кандидат на участь у процесингу ендогенних антигенів – трипептидилпептидаза II (ТРПІІ), яка також є мультисубодиничним комплексом, що має ендопептидазну активність. Крім того, важливо, що ТРПІІ залишає пептиди з С-кінцевим аргініном чи лізином, тобто з такими С-кінцевими залишками, які відповідають вимогам до антигенних пептидів, що зв'язуються з МНС I.

Деякі пептиди, що утворюються в результаті дії протеасоми, потребують додаткового видалення певних N-кінцевих амінокислотних залишків, для того щоб бути здатними зв'язатися з МНС I. Цей процес називають амінокінцевим тримінгом пептидів, і до нього залучені певні амінопептидази цитозолу та ендоплазматичного ретикулула.

Транспорт антигенних пептидів та їх асоціація з МНС I. Формування комплексів ендогенних пептидів із молекулами МНС I відбувається в місці синтезу МНС, тобто в шорсткому ендоплазматичному ретикулумі. Цьому процесу сприяє набір спеціалізованих білкових молекул, які транспортують пептиди з цитозолу в ЕПР, підтримують необхідну конформацію щойно синтезованих α -ланцюгів МНС, беруть участь у приєднанні β 2-мікроглобуліну тощо. Всі ці допоміжні білки відносять до шаперонів (білків-"няньок").

Сформовані в протеасомах пептиди проникають в ендоплазматичний ретикулум із цитозолу через спеціалізований транспортер ТАР (від. англ. *transporter associated with antigen processing*). ТАР знаходиться в мембрані ЕПР і являє собою канал, по якому переносяться пептиди. Важливо, що ТАР транспортує не будь-які пептиди, а тільки ті, що мають необхідні С-кінцеві залишки і певну довжину. Гени ТАР знаходяться в межах комплексу МНС. В ЕПР пептиди асоціюються зі щойно синтезованими молекулами МНС, а потім мігрують у складі утворених комплексів на поверхню клітини (рис. 43).

Залишається відкритим питання, чи існує спеціалізований переносник пептидів від протеасоми до ТАР. Є підстави вважати, що функцію такого переносника можуть виконувати білки теплового шоку HSP (від англ. *heat-shock proteins*) та певні олігопептидази (можливо, олігопептидаза TOP – від англ. *thimet oligopeptidase*). Було показано, що пептиди, які кодувалися введеними в клітину міні-генами, асоціювалися з цими білками. Крім того, Д.Чен та М.Андролевич у 2001 р. показали, що один із білків теплового шоку, а саме HSP70, значно підсилює функцію ТАР *in vitro*, а обробка клітин специфічними інгібіторами білків теплового шоку HSP70, HSP90 та HSP110 повністю блокує презентацію ендогенних антигенів.

Біосинтез МНС I. Синтез молекул МНС I відбувається в ендоплазматичному ретикулумі і контролюється за допомогою білків-шаперонів. Спочатку щойно синтезований α -ланцюг утворює ком-

плекс із шапероном *калнексином* (рис. 44). Після зв'язування з β_2 -мікроглобуліном комплекс стабілізується *калретикуліном*. У зв'язуванні МНС I із ТАР бере участь інший шаперон – *тапасин*. Після приєднання до ТАР МНС I може зв'язувати антигенні пептиди, які надходять в ЕПР. Можливо, ТАР, калнексин, калретикулін і тапасин - це неповний перелік шаперонів, які сприяють формуванню комплексів МНС I із пептидами в ЕПР. Останнім часом з'явилися докази участі білків теплового шоку ERP57 та gp96 у цьому процесі. Таким чином, внутрішньоклітинна система, яка відповідає за презентацію ендогенних антигенів, складається з багатьох компонентів. У цитозолі вона представлена 26S-протеасомою та білками теплового шоку (HSP70, HSP90, HSP110), а в ендоплазматичному ретикуліумі – МНС I, калнексином, калретикуліном, тапасином, ERP57 та gp96. Ці складові системи пов'язані між собою за допомогою переносника пептидів ТАР. Оскільки зазначені компоненти обох підсистем близько розміщені в просторі, а їх функціонування спрямоване на досягнення спільної мети – презентації ендогенних антигенів, усіх їх можна об'єднати в єдину систему, яка отримала назву *презентосоми*. Після зв'язування МНС I з антигенним пептидом утворений комплекс виходить із презентосоми і надходить в апарат Гольджі, де відбуваються завершальні етапи глікозилування, і транспортується на поверхню клітини (див. рис. 43).

З якою ж інтенсивністю відбуваються процесинг і презентація антигенів? Підрахувати кількість різних антигенних пептидів, представлених однією клітиною в комплексі з МНС I, досить складно. Тому для визначення того, відбулася презентація певного пептиду на поверхні чи ні, використовують клони специфічних ЦТЛ. Знищення клітини Т-кілером свідчить про експресію на ній відповідного пептиду. Біохімічними методами можна виявити експресію пептиду, якщо він представлений у кількості не менш як 100 копій на клітину. У середньому для ендогенного білка інтенсивність презентації антигенів упродовж 7 год становить не більш як 40 комплексів пептидів із МНС I.

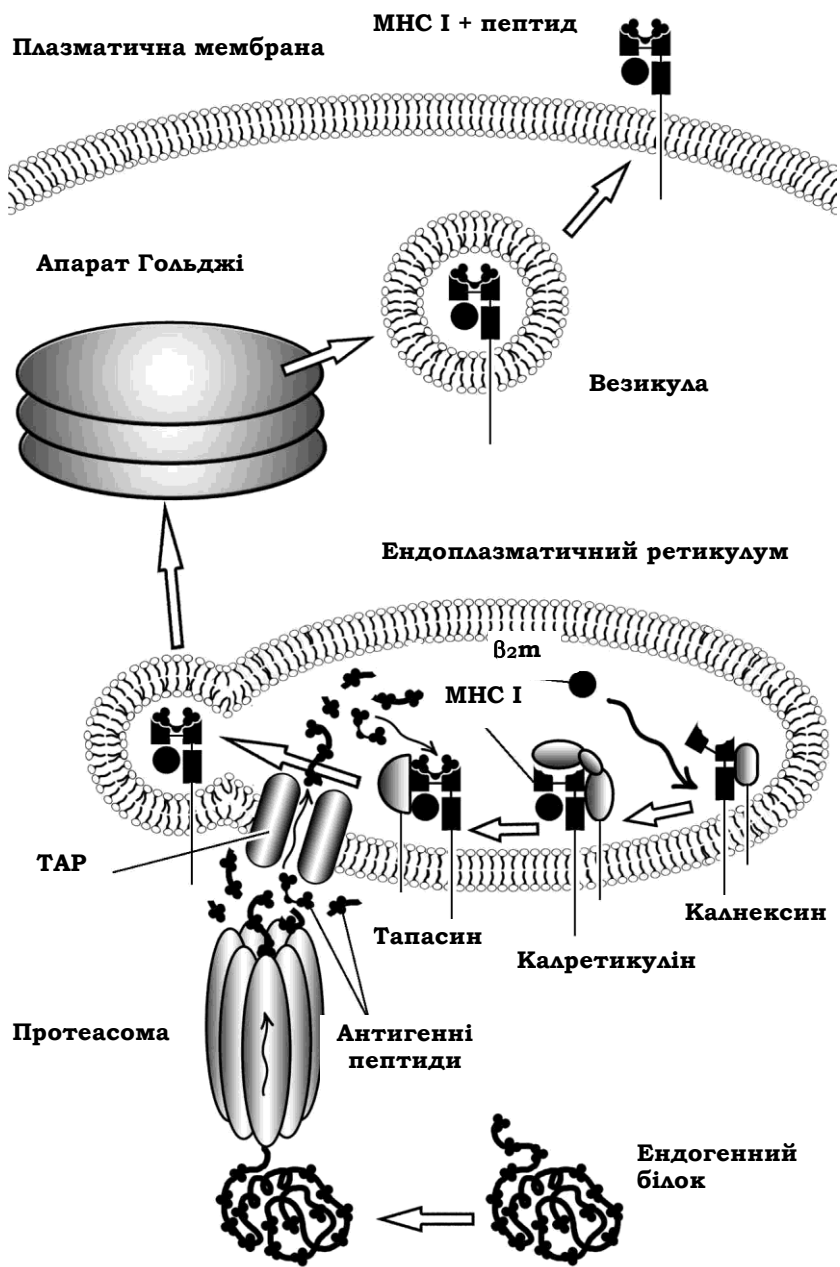


Рис. 43. Біосинтез молекули МНС I та презентація ендогенних антигенів

Взагалі кожна клітина презентує на своїй поверхні близько 100 000 комплексів МНС I із різноманітними пептидами. При цьому частка пептидів, які специфічно розпізнаються рецептором окремого Т-кліера, становить не більш як 0,1 %, тобто їх кількість не перевищує

100. Зрозуміло, що гіперекспресія будь-якого білка в клітині, скажімо, вірусного походження, збільшує частку представлених на поверхні пептидів із цього білка.



Рис. 44. Структура люмінального домену шаперону калнексину, що відповідає за зв'язування з МНС (за даними кристалографії, J.D.Schrag et al., 2001)

Можливо, що саме це і є головною ознакою, яка дає змогу Т-кілерам розпізнавати уражені клітини завдяки більшій авідності контакту з клітиною-"мішенню".

6.2. БІОСИНТЕЗ МОЛЕКУЛ МНС II І ПРОЦЕСИНГ ЕКЗОГЕННИХ АНТИГЕНІВ

На відміну від МНС I антигени МНС II представлені тільки на деяких типах клітин, що спеціалізуються на взаємодії з Т-хелперами. Головною функцією антигенів гістосумісності класу II є презентація антигенних пептидів рецепторам Т-хелперів (див. розд. 5). Молекули МНС II експресуються антигенпрезентувальними клітинами (АПК), які здатні активно поглинати антигени з навколишнього середовища та процесувати їх. АПК потребують для активації тісної взаємодії з активованими Т-хелперами, і навпаки, активовані АПК можуть активувати Т-клітини, що перебувають у стані спокою. Саме для цього вони й експресують МНС II із фрагментами екзогенних антигенів.

Клітини, що представляють антиген, дещо різняться за функціями:

дендритні клітини – найважливіший тип АПК, який відповідає за індукцію Т-клітинної відповіді та дотримання толерантності;

макрофаги – важливі ефекторні клітини, що перебувають під контролем Т-хелперів і в активованому стані здатні також активувати Т-клітини;

В-клітини – клітини, здатні за допомогою молекул МНС II вступати в контакт із Т-хелперами і перетворюватися на плазматичні клітини під дією хелперних факторів.

Крім вищезгаданих типів клітин, молекули МНС II завжди експресують на поверхні епітеліальні клітини тимуса, головною функцією яких є відбір тимоцитів, здатних зв'язувати власні молекули МНС.

Під дією певних факторів навколишнього середовища молекули МНС II можуть з'являтися на деяких інших, неспеціалізованих типах клітин: на фібробластах, клітинах ендотелію, кератиноцитах та ін. Як правило, це відбувається в місцях запалення або в разі злоякісної трансформації цих клітин, однак роль експресії МНС II у таких випадках залишається нез'ясованою.

Існує три основних шляхи потрапляння екзогенних антигенів до АПК:

макропіноцитоз – процес неспецифічного поглинання антигенів із позаклітинного середовища, пов'язаний із поглинанням позаклітинної рідини через спеціальні канали. Важливу роль у цьому процесі відіграють канали, сформовані білком аквапорином. Макропіноцитоз є головним типом поглинання антигенів незрілими дендритними клітинами (клітинами Лангерганса);

ендоцитоз – процес поглинання з поверхні клітини рецепторів, зокрема рецепторів у комплексі з антигеном (характерний для всіх типів АПК, але для В-клітин він є головним шляхом поглинання антигенів). На відміну від макропіноцитозу ендоцитоз є процесом специфічного поглинання антигенів;

фагоцитоз – процес посиленого поглинання корпускулярних антигенів (розміром понад 0,5 мкм) після опсонізації, спрямований на елімінацію та деградацію антигенного матеріалу (характерний переважно для макрофагів).

Усі три типи поглинання антигену супроводжуються формуванням інвагінацій плазматичної мембрани та утворенням *ранніх ендоцитозних вакуолей*. Як правило, ендоцитозні вакуолі вкриті зовні шаром білка *клатрину*. Клатрин розміщений під плазматичною мембраною клітини в контакт з цитоплазматичними частинами мембранних рецепторів. Він відповідає за взаємодію фагоцитарних або ендоцитозних вакуолей із цитоскелетом і спрямовує їх рух усередині клітини. Саме тому ендоцитоз залежить від активності цитоскелета.

Формування пулу антигенних пептидів – похідних з екзогенних антигенів. Пізні ендосоми і МПС-компартмент. У перших дослідженнях процесів презентації екзогенних антигенів було помічено, що слабкі основи значно зменшують експресію МНС II на поверхні АПК. З цього було зроблено висновок, що процесинг екзогенних антигенів потребує кислого середовища і, ймовірно, відбувається в ендосомально-лізосомальному апараті клітин. Ці дані були підтверджені й тим, що додавання інгібіторів протеолітичних ферментів ендосом також знижувало процесинг. Отже, антигенні пептиди утворюються з поглинутих антигенів під дією протеїназ, які мають оптимум функціонування в межах низьких значень рН.

Після поглинання антигену в ранніх ендоцитозних вакуолях клітин починають працювати протонні помпи, які закислюють рН ендосом. Далі до них надходять протеолітичні ферменти в спеціальних везику-

лах (лізосомах), які зливаються з ендоцитозною вакуолею. Утворюються *фаголізосоми* або *пізні ендоцитозні вакуолі*. Саме в них і відбувається процесинг поглинутих антигенів, тобто обмежене протеолітичне розщеплення їх на пептидні фрагменти. Частина пептидів, що з'являються внаслідок деградації поглинутих білків, можуть ставати антигенними пептидами і сполучатися з МНС II. Поєднання молекул МНС II з антигенними пептидами відбувається в спеціалізованому компартменті, який сполучений з ендосомальним апаратом. Цей компартмент отримав назву МІС (від англ. *MHC II class compartment*). Він являє собою пізні ендосоми, в які надходять синтезовані молекули МНС II. Цей компартмент вперше було виявлено за допомогою методу імуноелектронної мікроскопії з використанням антитіл із різними мітками до поглинутих антигенів та МНС II. Було показано, що ці дві мітки разом виявлялися тільки в одному компартменті – мультіламельяроному ендосомальному комплексі МІС.

Біосинтез молекул МНС II та їх асоціація з антигенними пептидами. Як і молекули МНС I, молекули МНС II синтезуються в ЕПР. Цей процес відбувається під контролем шаперонів. Ланцюги α і β синтезуються окремо, а їх фолдинг контролюється білком калнексином. Після об'єднання ланцюгів вони утримуються разом за допомогою інваріантного ланцюга I (від англ. *Invariant*). Ланцюг I являє собою тример (рис. 45), кожна субодиниця якого має



Рис. 45. Частина I-ланцюга, що відповідає за тримеризацію (за даними кристалографії, Jasanoff et al., 1999)

молекулярну масу 31 кДа і складається з цитоплазматичної та трансмембранної частин, а також МНС II-зв'язувальної частини, розміщеної в ЕПР.

Тример ланцюга I може об'єднати три молекули МНС II. Інваріантний ланцюг є шапероном і виконує важливі функції, пов'язані з об'єднанням ланцюгів α і β та транспортом готових молекул МНС II в

МПС-компартмент. Крім того, І-ланцюг заповнює порожнину МНС для зв'язування антигенного пептиду з метою запобігання передчасному зв'язуванню з МНС II сторонніх пептидів, наприклад тих, що проникли в ЕПР через ТАР.

Ланцюг І залишається в ЕПР, доки не зв'яже три молекули МНС II. Утворений комплекс транспортується в апарат Гольджі, а потім в ендосомальний МПС-компартмент. В ендосомах містяться протеолітичні ферменти, необхідні для обмеженого протеолізу поглинутих антигенів. Ці ферменти частково розщеплюють ланцюг І, внаслідок чого з МНС II залишається зв'язаним лише той його фрагмент, який заповнює порожнину для зв'язування антигенного пептиду. Цей пептидний фрагмент ланцюга І називають CLIP (від англ. *Class II associated invariant peptide*). На відміну від ланцюга І CLIP має меншу спорідненість до МНС II. Це пояснюється тим, що ланцюг І утворює ще два додаткових контакти з неполіморфними частинами молекули МНС II. Тому ланцюг CLIP може бути легко заміщений на відповідний антигенний пептид, що знаходиться в компартменті МПС. Неполіморфні (некласичні) молекули МНС класу II HLA-DM і HLA-DO у людини (відповідно H2-M і H2-O у миші) регулюють заміщення пептиду CLIP на антигенний пептид. Можливо, вони якимось чином стабілізують "відкриту" конформацію МНС II. Важливо, що асоціація пептиду з МНС II відбувається в кислому середовищі, а комплекс виходить на поверхню клітини, де середовище нейтральне. Зрозуміло, що рН впливає на конформацію МНС і стабільність зв'язку з пептидом. Саме тому в презентуванні антигенів беруть участь шаперони. Однак слід зазначити, що деякі алелі МНС II можуть нормально експресуватися без участі І-ланцюга та молекул H2-M і H2-O, що було показано на нокаутних за цими генами мишах. Після зв'язування з антигенним пептидом молекула МНС II транспортується на поверхню клітини. Схематично цей процес зображено на рис. 46.

Протеїнази, що відповідають за процесинг екзогенних антигенів. Протеїнази, що відповідають за процесинг екзогенних антигенів та розщеплення ланцюга І, називають *катепсинами*. Існує кілька різних видів катепсинів, кожний з яких має певну субстратну специфічність і оптимум рН для каталітичної активності. *Найважливішими для процесингу поглинутих антигенів є катепсини D і B, а для гідролізу І-ланцюга – S і L.* Нині відомо кілька десятків протеолітичних ферментів, що беруть участь у процесингу антигенів

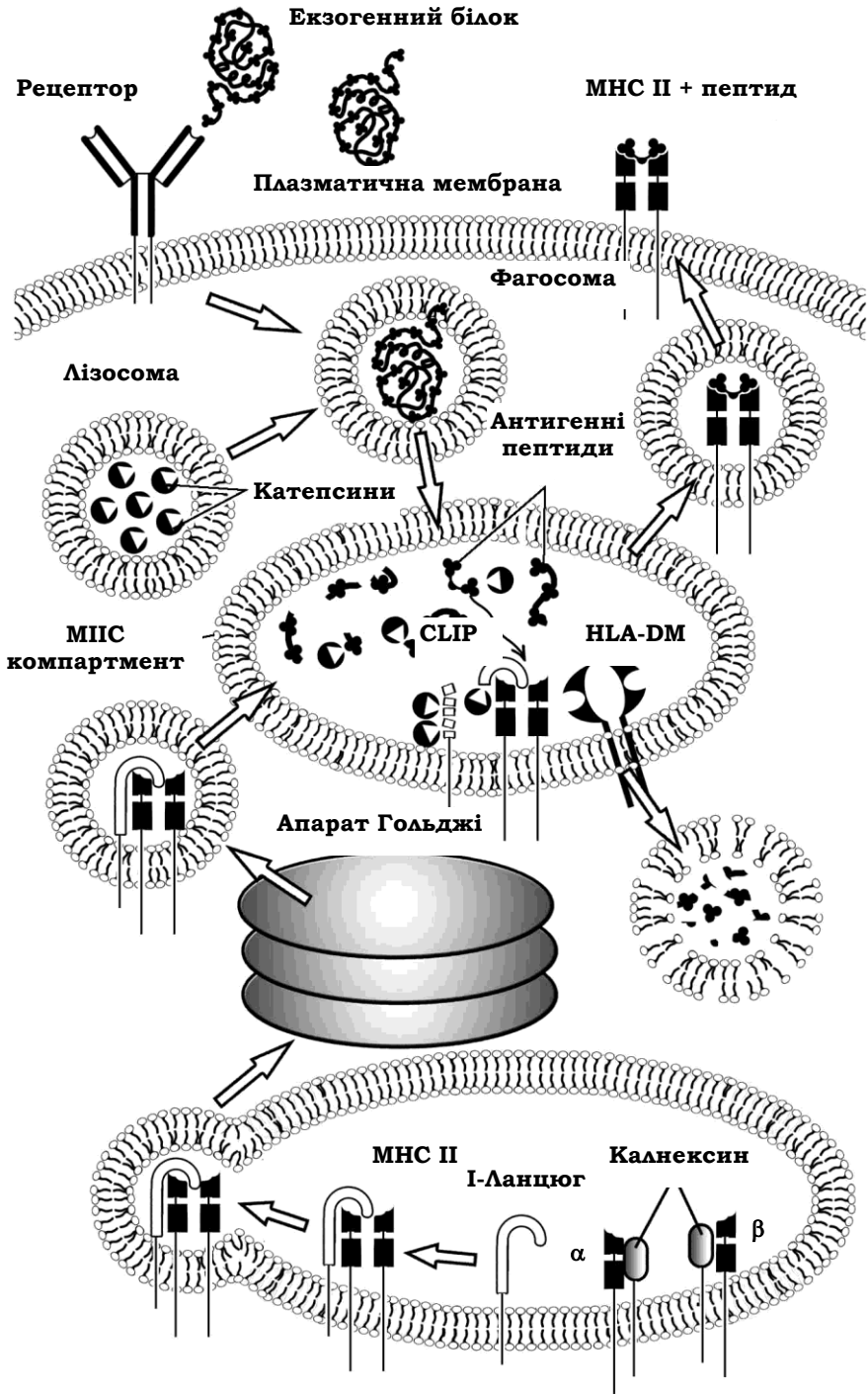


Рис. 46. Біосинтез молекул МНС II і презентація екзогенних антигенів
 в ендосомально-лізосомальному апараті, і, можливо, їхня кількість

ще збільшиться. Тому наведемо їх перелік лише для загального ознайомлення.

Протеїнази, що входять до складу компартменту МПС, розрізняють за типом каталітичної активності та спектром субстратної специфічності. Частина катепсинів є цистеїновими протеїназами, що подібні за механізмом каталізу до папаїну. Це катепсини В, Н, L, S, F, Z, V, O, С і, можливо, К. Також серед катепсинів є аспарганові протеїнази – це катепсини D, E – і аспарагініл-ендопептидаза (АЕР). Інші катепсини належать до серинових протеїназ і до металопротеїназ. Різні типи АПК експресують різні типи протеїназ, а отже, різняться і за спектром пептидів, які вони можуть генерувати з однакових антигенів. Деякі катепсини (наприклад, J і W) знайдено в клітинах, що не належать до АПК. У таких клітинах вони відіграють іншу, не пов'язану з процесингом антигенів, роль. Цікаво, що для деяких катепсинів знайдено гомологи серед різних рослинних білків. Тому, ймовірно, первинною функцією катепсинів була участь у "перетравлюванні" білків, поглинутих клітиною.

Як правило, катепсини мають широку субстратну специфічність, за винятком аспарагініл-ендопептидази, та низький оптимум рН для прояву каталітичної активності. Більшість катепсинів є ендопептидазами, хоча катепсини Н і С є карбоксиекзопептидазами, а катепсини В і Z – аміноекзопептидазами. Екзопептидази, ймовірно, зменшують ті частини зв'язаних із МНС II пептидів, що виступають назовні.

Інгібітори протеїназ та регуляція процесингу екзогенних антигенів. Головними природними інгібіторами протеїназ, що беруть участь у процесингу антигену, є *цистатини*. Серед них найбільш вивченим є цистатин С - інгібітор катепсину S, експресія якого залежить від стану активації клітини. Інгібітором катепсину може виступати інваріантний ланцюг I. Він представлений двома ізоформами – р31 і р41, що мають різну молекулярну масу. Ізоформа р41 інваріантного ланцюга містить у своєму складі інгібітор катепсину L.

Отже, найретельніше в клітині регулюються функції саме тих катепсинів, які зумовлюють останні ланки деградації ланцюга I та звільнення пептиду (CLIP). Біологічний сенс цього процесу полягає в тому, що за наявності таких інгібіторів може значно знизитись презентація клітинами антигену. Це призведе до накопичення великої кількості молекул МНС II в ендосомах, які будуть готові швидко представити антиген при зниженні експресії інгібіторів. Саме такий механізм регуляції презентації антигенів використовують дендритні клітини (див. далі).

Експресія й активність важливих для процесингу антигенів катепсинів може регулюватися різними цитокінами, серед яких найважливішим регулятором виступає ІФН- γ . Цитокіни можуть також впливати на активність катепсинів, змінюючи рН ендосом. Зокрема, було помічено, що пептиди, які з'являються на оброблених і необроблених ІЛ-6

дендритних клітинах, різняться між собою. Це пояснюється тим, що ІЛ-6 знижує рН ендосом унаслідок інгібування Na^+ , K^+ -АТФази, яка лімітує закислення ендосом.

Презентація власних пептидів молекулами МНС II. На деяких клітинах молекули МНС II можуть експресуватися ще до того, як клітина поглинула антиген. Крім того, наприклад, епітеліальні клітини тимуса взагалі не поглинають чужорідні антигени. Зрозуміло, що на таких клітинах МНС II експресується в комплексі з власними антигенними пептидами. Походження цих пептидів у багатьох випадках ще не з'ясовано, але є певні припущення. Молекули МНС II і пептиди, що не утворили комплексів, деградують до амінокислот у лізосомах. Отже, лізосоми є "кінцевою зупинкою" для поглинутих антигенів. Що ж відбувається в разі недостатньої кількості антигенного матеріалу в компартменті МІС? Певна частина щойно синтезованих молекул МНС II зазнає обмеженого протеолізу, внаслідок чого можуть з'явитися пептиди, які здатні зв'язатися з іншими молекулами МНС II. За цих умов відбувається презентація на поверхні АПК пептидних фрагментів власних молекул МНС II. Це характерно для наївних В-клітин, які ще не зв'язали і не поглинули антиген, але вже експресують молекули МНС II на своїй поверхні. Активація таких В-лімфоцитів не може відбутися в нормі, оскільки відсутні Т-клітини з рецепторами, здатними розпізнавати такі комплекси МНС II із власними пептидами. Це, можливо, зумовлено тим, що епітеліальні клітини тимуса також можуть презентувати пептидні фрагменти власних МНС II в комплексі з МНС II, що призводить до негативної селекції тимоцитів, які розпізнають ці комплекси.

Залишається відкритим питання, чи може МНС II в комплексі з пептидом СІР або ланцюгом I з'являтися на поверхні АПК (ймовірно, що так). І, нарешті, є дані, що антитіла, специфічні до МНС II без будь-якого зв'язаного пептиду, здатні взаємодіяти з незрілими дендритними клітинами, тобто, можливо, певні алелі МНС II можуть експресуватися у вільному від пептиду стані. Слід зазначити, що конкретні деталі процесингу антигенів та етапи деградації ланцюга I залежать як від алельних форм МНС II, так і від певних антигенних субстратів.

Таким чином, протеолітична система компартменту МІС виконує дві важливі функції в презентації антигенів. По-перше, вона генерує набір пептидів, що можуть зв'язатися з МНС II; по-друге, вона розщеплює інваріантний ланцюг, щоб надати можливість пептидам зв'язуватися з МНС.

Кожний тип АПК має свої унікальні особливості біосинтезу МНС II, процесингу й презентації антигену, які можуть відрізнитися від наведеної схеми, що пов'язано з конкретними функціями цих клітин. Розглянемо, наприклад, особливості процесингу антигенів дендритними клітинами – головними регуляторами імунної відповіді.

Особливості презентації антигенів дендритними клітинами. Дендритні клітини є найефективнішими АПК. Вони поглинають антигени в тканинах із навколишнього середовища, презентують їх із МНС, мігрують у вторинні лімфоїдні органи, де й відбувається стимуляція специфічних до цих антигенів Т-клітин. Дендритні клітини – це єдиний тип АПК, здатний активувати Т-лімфоцити в стані спокою. Отже, дендритні клітини є ініціаторами імунної відповіді. Вони відповідають також за дотримання імунної толерантності до власних антигенів. Для того щоб виконувати такі важливі функції, дендритні клітини мають унікальні механізми контролю за поглинанням антигену та його процесингом.

Зрілі дендритні клітини відрізняються від незрілих за функціями. Незрілі дендритні клітини поглинають антигени з навколишнього середовища, а зрілі – активують у лімфатичних вузлах наївні Т-клітини. Дозрівання дендритних клітин супроводжується зниженням процесів поглинання антигенів і набуттям здатності презентувати раніше поглинуті ними антигени. Зрілі дендритні клітини майже не здатні поглинати антигени, однак представляють у комплексі з МНС II фрагменти антигенів, поглинутих раніше. На відміну від інших типів АПК процес біосинтезу МНС II та презентації антигену в дендритних клітинах розділені в часі.

У незрілих дендритних клітинах відбувається інтенсивний процес біосинтезу МНС II, однак експресія цих молекул на поверхні клітини дуже незначна. Більшість щойно синтезованих молекул МНС II залишаються в компартменті МПС в асоціації з інваріантним ланцюгом. Це пов'язано з тим, що функція катепсину S, який відповідає за протеоліз інваріантного ланцюга, у незрілих дендритних клітинах знижена завдяки експресії специфічного інгібітору. Внаслідок цього ланцюг I деградує не до пептиду CLIP, а до довшого пептиду Iip10, який, як і ланцюг I, має в цитоплазматичній частині сигнал утримання в ендосомах. При дозріванні дендритних клітин експресія інгібітору катепсину S знижується, внаслідок чого Iip10 деградує до CLIP, і далі відбуваються всі процеси, необхідні для зв'язування антигенного пептиду і транспорту комплексів із МНС на поверхню клітини.

Встановлено, що на поверхні незрілих дендритних клітин людини може накопичуватися велика кількість молекул МНС II з ланцюгом I. В разі отримання сигналу для дозрівання відбуваються ендоцитоз цих молекул, деградація ланцюга I, зв'язування з антигенними пептидами та транспортування комплексів МНС II з пептидами на поверхню клітини, тобто здійснюється рециркуляція молекул МНС II. Отже, формування комплексів МНС II з антигенними пептидами та транспортування їх на клітинну поверхню індукуються при дозріванні дендритних клітин.

Не виключено, що дендритні клітини мають ще один механізм, який забезпечує зв'язування антигенних пептидів із МНС II. Результа-

ти досліджень свідчать про те, що на незрілих дендритних клітинах можуть експресуватися "відкриті" молекули МНС II без I-ланцюга або антигенного пептиду. На поверхні цих клітин спостерігається також експресія HLA-DM (H2-M) молекул і певних протеїназ. Тому, можливо, деякі антигенні пептиди можуть зв'язуватися з МНС II на поверхні дендритних клітин.

6.3. ПЕРЕХРЕСНА ПРЕЗЕНТАЦІЯ АНТИГЕНІВ

Нині вважається загальноприйнятим, що більшість антигенів, які синтезувалися біосинтезу в клітині і знаходяться в цитозолі або ядрі, презентуються з молекулами МНС I, а ті антигени, що були поглинуті клітиною, як правило, представляються в комплексі з МНС II. Однак існують важливі винятки з цих правил. Так, ряд ендогенних антигенів може представлятися з МНС II, а екзогенних із МНС I. Таку презентацію називають перехресною, або кроспрезентацією. Вважається, що вона не є результатом помилок у презентації антигенів та біосинтезі МНС. Очевидно, перехресна презентація має велике біологічне значення і необхідна для активації CD4⁺ та CD8⁺-клітин. Презентація ендогенних антигенів із МНС II може спостерігатися при гіперпродукції певних білків у АПК. Як правило, гіперпродукція білка свідчить про наявність вірусної інфекції в клітині. Тому такі АПК представляють вірусний білок і Т-хелперам, і Т-кілерам. Експресія МНС II на певних типах клітин, не спеціалізованих на презентації екзогенних антигенів, може також бути індукована цитокінами запалення. Це дає можливість CD4⁺Т-клітинам із кілерною активністю знищувати уражені вірусом клітини-мішені в осередку запалення.

Для дендритних клітин здатність до перехресної презентації екзогенних антигенів є найголовнішою ознакою. Завдяки цьому дендритні клітини мають унікальну можливість активувати попередників цитотоксичних Т-клітин, представляючи їм поглинуті антигени. Молекулярні механізми, що лежать в основі перехресної презентації антигенів, вивчені ще недостатньо. Де саме відбувається перетинання шляхів "дозрівання" МНС I та МНС II, і де саме відповідні МНС зв'язуються з антигенними пептидами для перехресної презентації? Цей процес може відбуватися за двома гіпотетичними механізмами: за допомогою транспорту антигенних пептидів із компартменту МІІС у цитозоль або транспорту молекул МНС I у компартмент МІІС. Уже отримано певні докази існування обох механізмів. Вважають, що в процесах перехресної презентації беруть участь білки теплового шоку, які в разі стресових умов у великій кількості синтезуються в клітині. Їх функцією є підтримання розгорнутої структури білкових молекул, що захищає їх від агрегації. Певні білки теплового шоку можуть зв'язуватися з клатрином, тому вони перебувають в асоціації з компартментом МІІС і спрямовують транспорт денатурованих білків в ендосоми. Можливо, вони здатні також виконувати функцію транспорту екзоген-

них пептидів із компартменту МПС у цитозоль і, навпаки, ендогенних пептидів із цитозолу в компартмент МПС. Нині активно вивчають ретроградний транспорт ендочитованих молекул, під час якого ендосома зливається з *транс-стороною* апарату Гольджі і потім її вміст може виходити в цитоплазму чи ЕПР. Таким шляхом екзогенні пептиди також можуть потрапляти в ендоплазматичний ретикулум і зв'язуватися з МНС I. Однак який саме шлях перехресної презентації обирає клітина, залежить від її типу, функціонального стану, типу антигену та, можливо, інших чинників.

6.4. CD1-ЗАЛЕЖНИЙ ШЛЯХ ПРОЦЕСИНГУ І ПРЕЗЕНТАЦІЇ АНТИГЕНІВ ЛІПІДНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Протягом тривалого часу вважали, що Т-лімфоцити можуть розпізнавати лише антигенні пептиди, представлені в комплексі з МНС I чи МНС II. Проте було виявлено, що антигени ліпідного і гліколіпідного походження також можуть бути розпізнані певними популяціями Т-клітин. Особливий тип процесингу і презентації таких антигенів здійснюється за допомогою молекул CD1. Молекули CD1 є родиною структурно подібних до МНС I молекул, що утворюють комплекси з β 2-мікроглобуліном. У людини родина молекул CD1 налічує п'ять членів CD1a–CD1e. У комплексі з молекулами CD1 можуть бути представлені такі антигени гліколіпідного походження, як діацилгліцерили, полізопреноїди, сфінголіпіди, міколати. Такі комплекси розпізнають $\gamma\delta$ T-клітини, а також НКТ клітини. CD1-залежний шлях процесингу і презентації антигенів має багато спільних рис із МНС II-залежним шляхом. Молекули CD1 спостерігають у системі ендочитозних пухирців, причому CD1a та CD1c виявляють у ранніх ендосомах, а CD1b та CD1d – у пізніх ендосомах і/або лізосомах. Вибір певних лігандів ліпідного походження для зв'язування контролюється різними типами CD1. Вивчення кристалічної структури CD1d показало, що в мишей антигензв'язувальна щілина молекули містить дві кишені і тому може зв'язувати ліпіди довжиною $\sim C_{40}$, тоді як CD1b людини має в антигензв'язувальній щілині чотири кишені і може зв'язувати довші ліпіди (C_{54} – C_{80}). CD1-залежний шлях процесингу і презентації ліпідних антигенів здійснюють АПК і епітеліальні клітини.

ВИСНОВКИ

Для процесингу антигенів клітини використовують протеолітичний апарат, що спеціалізується на деградації білків. Оскільки поглинуті антигени деградують в ендосомах, а синтезовані клітиною – в протеосомах, відповідно різняться й механізми процесингу екзогенних та ендогенних антигенів. Важливо, що МНС I зв'язують антигенні пептиди в ЕПР, а МНС II повинні транспортуватися до ендосомального апарату. Велика кількість допоміжних молекул бере участь у регуляції

процесингу антигенів, серед яких найголовнішими є протеолітичні ферменти, шаперони та білки теплового шоку. У деяких випадках виникає потреба перехресної презентації антигенів. Така презентація особливо важлива для того, щоб із молекулами МНС I і МНС II могли бути представлені епітопи одного й того самого антигену. Це дає можливість дендритним клітинам вступати в контакт із Т-хелперами й Т-кілерами, які мають рецептори, специфічні до одного й того самого антигену, тобто виконувати роль "містка" між цими клітинами (див. розд. 11). Крім того, існує шлях процесингу і презентації антигенів ліпідного походження – CD1-залежний шлях.

Контрольні запитання

1. Які антигени називають екзогенними, а які ендogenousними?
2. Охарактеризуйте і порівняйте основні етапи процесингу антигенів ендо- та екзогенного походження.
3. Які органели беруть участь у продукуванні антигенних пептидів? Охарактеризуйте їхні властивості.
4. Запропонуйте можливі механізми уникнення знищення імунною системою зараженої вірусом клітини.
5. Які є механізми підсилення ефективності презентації чужорідних антигенів?
6. Що таке перехресна презентація і в яких клітинах вона відбувається?
7. Які особливості презентації екзо- та ендogenousних антигенів дендритними клітинами?