

РОЗДІЛ 7. РОЗПІЗНАВАННЯ "СВОГО" І "ЧУЖОГО"

Для виконання своєї головної функції – елімінації чужорідних агентів, що з'являються в організмі, імунна система повинна вміти розпізнавати чужорідні структури (субстанції) цих агентів, тобто відрізняти їх від власних молекул організму. Таке розпізнавання здійснюється за допомогою рецепторів – спеціальних молекул, що можуть безпосередньо зв'язуватися з чужорідними субстанціями. Тому процес розпізнавання можна визначити як взаємодію чужорідних структур із рецепторами імунної системи. Слід зазначити, що деякі рецептори можуть перебувати як у зв'язаній із мембраною клітини, так і в розчинній формі.

Розпізнавання антигену – ключовий момент функціонування імунної системи, необхідний як для індукції імунної відповіді, так і для прояву майже всіх ефекторних функцій системи. Крім того, процеси розпізнавання антигену важливі для підтримання толерантності до власних антигенів, для позитивної й негативної селекції лімфоцитів, їх диференціювання в ефекторні клітини та клітини пам'яті. На різних етапах свого розвитку лімфоцити по-різному реагують на розпізнавання антигену: можуть активуватися, диференціюватися, гинути або переходити у функціонально неактивний стан. Системи природного і набутого імунітету використовують принципово різні підходи для розпізнавання чужорідних субстанцій. Тому рецептори, за допомогою яких вони розпізнають чужорідні субстанції, також різняться.

7.1. ОСОБЛИВОСТІ РОЗПІЗНАВАННЯ ЧУЖОРІДНОГО СИСТЕМАМИ ПРИРОДНОГО І НАБУТОГО ІМУНІТЕТІВ

Вважають, що імунна система еволюційно виникла як система захисту від інфекцій. У процесі еволюції вона набула також здатності захищати організм від перероджених власних клітин, що несуть змінену генетичну інформацію. Ця властивість імунної системи, напевно, тісно пов'язана зі здатністю протидіяти внутрішньоклітинним інфекціям.

Імунна система може впізнати чужорідне за двома критеріями: наявністю певних хімічних структур, не характерних для "свого", а також за відсутністю певних структур, властивих "своєму". Обидва ці підходи використовують системи як природного, так і набутого імунітету. Однак ступінь прояву ознак "свого" та "чужого", що є достатнім для розпізнавання чужорідного цими системами, дещо різний. Система природного імунітету реагує тільки на яскраво виражені загальні ознаки наявності "чужого" або відсутності "свого", а система набутого імунітету може виявляти навіть замасковані індивідуальні ознаки наявності "чужого", наприклад певного патогену.

Представники різних систематичних груп (бактерії, віруси, найпростіші, гельмінти та паразитичні гриби) можуть бути інфекційними агентами і становити небезпеку для життя організму. Кожний окре-

мий вид патогенів має свій генетичний апарат, який кодує синтез власних білків. Очевидно, що більшість білків патогенів дуже відрізняються від білків організму хазяїна. Особливістю імунного розпізнавання, характерною лише для системи специфічного набутого імунітету, є здатність до виявлення відмінностей між амінокислотним складом чужорідних і власних білків.

Проте, чи завжди потрібна специфічна імунна відповідь для захисту від патогенів? У більшості випадків організм може перемогти інфекцію та запобігти виникненню пухлинних клітин, використовуючи лише систему природного, або неспецифічного, імунітету. До речі, термін "неспецифічний" видається не дуже вдалим, оскільки реакції системи природного захисту також мають певну специфічність. Однак їхня специфічність широка і насамперед спрямована на консервативні хімічні угруповання, які характерні для ряду різних патогенів. Річ у тім, що певні антигени інфекційних агентів можуть мати загальні особливості хімічної будови, за якими вони істотно відрізняються від антигенів організму хазяїна. Існує кілька таких загальних ознак, які притаманні інфекційним агентам і є сигналом для запуску механізмів природного імунітету. Це насамперед наявність клітинної стінки або вірусного капсиду, що на відміну від мембран власних клітин хазяїна є достатньо жорсткими структурами. У цих структурах певні однакові хімічні угруповання (як правило, залишки вуглеводів) трапляються з однаковою періодичністю і розміщені на фіксованій відстані один від одного. Разом із тим мембранні білки клітин макроорганізму здатні до латерального переміщення в площині мембрани, внаслідок чого відстань між ними може змінюватися. Саме періодичне розміщення певних угруповань у структурі клітинних стінок і вірусних капсидів є ознакою, за якою система природного захисту може їх виявляти. Таке розпізнавання просторового розміщення певних вуглеводних залишків називають розпізнаванням *молекулярних патернів* (розпізнаванням "за зразком"). А рецептори системи природного захисту, які здійснюють цей тип розпізнавання, називають рецепторами, що розпізнають молекулярні патерни PRR (від англ. *Pattern recognition receptors*). Істотною ознакою PRR є наявність кількох однакових активних центрів, розміщених на певній відстані один від одного.

Іншою ознакою патогенів може бути наявність біополімерів, яких немає в організмі хазяїна, наприклад ліпополісахаридів, пептидогліканів, тейхоевих кислот, хітину тощо. Крім того, до складу біополімерів патогенів часто входять вуглеводні залишки, яких немає в складі біополімерів хазяїна. Наприклад, N-ацетилглюкозамін характерний для пептидогліканів бактерій та хітину грибів. Часто глікокон'югати інфекційних агентів містять короткі олігосахаридні ланцюги з кінцевими залишками манози, що є нетиповим для вищих хребетних. Більшість бактеріальних білків мають N-кінцевий залишок формілметіоніну внаслідок того, що їх синтез починається саме з цього залишку. Тому

на багатьох лейкоцитах є рецептори до формілметіоніну та інших хімічних угруповань, не притаманних організму хазяїна. Крім того, для деяких вірусів на певному етапі розвитку характерна наявність дволанцюгової РНК. Така РНК також може розпізнаватися в цитоплазмі клітини й індукувати синтез клітиною інтерферону.

Отже, чужорідні речовини, які належать патогенам, а також індуковані ними певні ознаки інфекційного процесу, якими можуть бути пошкодження тканин, активація систем згортання крові та комплементу, некроз клітин, вивільнення білків теплового шоку тощо, можуть розпізнаватися певними рецепторами системи природного захисту, індукувати процеси запалення в тканинах, активувати лімфоцити й фагоцитарні клітини. Вони можуть також бути сигналом для хемотаксису лейкоцитів, вивільнення цитокінів, розширення судин та інфільтрації прилеглих тканин. Для клінічної симптоматики цього процесу характерне набрякання, почервоніння, біль та підвищення температури. Реакції системи природного імунітету у відповідь на проникнення чужорідних антигенів називають реакціями запалення. Запалення є першою захисною реакцією організму та необхідною передумовою для індукування специфічних імунних реакцій (див. розд. 2).

Існують певні механізми природного захисту для боротьби з внутрішньоклітинними інфекціями та пухлинним переродженням власних клітин. Значну роль у цьому захисті відіграють інтерферони, які продукуються активованими макрофагами або ураженими клітинами. Інтерферони припиняють синтез білка в клітині, активують ендонуклеази, зупиняють поділ клітин. У розпізнаванні перероджених клітин, можливо, беруть участь $\gamma\delta$ Т-клітини, які, ймовірно, розпізнають білки теплового шоку на їхній поверхні. Уражені або трансформовані власні клітини можуть розпізнаватися за принципом "відсутності свого", а саме за відсутності або недостатнього рівня експресії на поверхні антигенів головного комплексу гістосумісності. Саме цю ознаку використовують великі гранулярні лімфоцити – природні кілери для знищення небезпечних власних клітин хазяїна.

Слід зазначити, що механізми природного імунітету виникли еволюційно дуже давно в нижчих безхребетних тварин і майже без змін перейшли до хребетних. Система природного імунітету спеціалізована на захисті організму від більшості інфекційних агентів, оскільки вона використовує для їх розпізнавання ознаки, спільні для більшості патогенів. Головними молекулами, які здійснюють функцію розпізнавання в системі природного захисту, є різні рецептори, що розпізнають молекулярні патерни. Ця система реагує на кожне потрапляння інфекційного агента дуже швидко, однак інтенсивність цього реагування не залежить від кількості попередніх контактів організму з цим патогеном, оскільки вона не запам'ятовує його. Система природного імунітету першою вступає в боротьбу з патогенним агентом, що потра-

пив в організм, і є достатньо потужним засобом протидії інфекціям.

Проте ця система захисту має слабкі місця, що дає змогу деяким патогенам уникати контролю з її боку. Внаслідок еволюційної консервативності системи природного захисту більшість патогенних мікроорганізмів пристосувалися до боротьби з нею і виробили певні механізми, що запобігають знешкодженню їх факторами неспецифічної резистентності (див. розд. 15). Відсутність у системи природного захисту імунної пам'яті не дає їй можливості реагувати інтенсивніше під час наступного проникнення збудника в організм. Тому певні інфекційні агенти при проникненні в організм у великій дозі долають захисний бар'єр, зумовлений факторами природного захисту, тобто випереджають завдяки розмноженню процеси, спрямовані на їх елімінацію. Крім того, оскільки система природного захисту недостатньо специфічна, вона залишає для мікроорганізмів можливість антигенної мімікрії – копіювання антигенами мікроорганізмів антигенів хазяїна. Ще однією проблемою, яку не може "вирішити" система природного захисту, є необхідність розрізняти патогенні бактерії і представників нормальної мікрофлори. Усі ці недоліки системи неспецифічного (природного) захисту і зумовили виникнення в процесі еволюції системи специфічного (набутого, або адаптивного) імунітету.

Характерними особливостями системи адаптивного імунітету є наявність імунної пам'яті та великої кількості специфічних до різних антигенів клітинних рецепторів, що різняться за будовою активних центрів. Під час першого контакту з антигеном система набутого імунітету реагує дуже повільно. Вона встигає взяти участь лише у звільненні організму від тих збудників, що уникли контролю з боку системи природного захисту. Як правило, на момент розвитку імунних реакцій залишається не більш як 1–10 % первинної кількості антигену. Однак ці реакції спрямовані на знищення саме того інфекційного агента, який їх зумовив. Система набутого імунітету спеціалізується на виявленні особливих ознак, притаманних лише певному збуднику, які вона запам'ятовує і переходить у стан повної готовності до захисту організму від цього збудника в разі можливих майбутніх контактів. Отже, система набутого імунітету характеризується здатністю формувати імунну пам'ять на кожний антиген. У розпізнаванні антигену цією системою беруть участь спеціалізовані молекули імуноглобулінової суперродини – антитіла та рецептори Т-клітин, які істотно відрізняються від рецепторів системи природного захисту. Важливою ознакою таких молекул є надзвичайна мінливість їхніх активних центрів, що дає змогу знаходити до кожного антигену такі рецептори, які за будовою активного центру комплементарно підходять до нього, як "ключ до замка".

Головні індивідуальні ознаки кожного виду патогенів зосереджені в структурі білків, оскільки білки є продуктом геному. Саме за структурою білків імунна система виявляє генетичні розбіжності між різними

видами патогенів і відрізняє молекули збудника від власних молекул організму. Безпосередньо структуру білків розпізнають рецептори Т-клітин. Рецептори В-клітин можуть розпізнавати антигенні детермінанти не тільки білкової природи. Однак для своєї активації більшість В-клітин потребують допомоги Т-клітин, для яких вони представляють у комплексі з МНС II розпізнаний і поглинутий антиген. Тому можна зазначити, що всі реакції системи набутого імунітету залежать від розпізнавання в структурі білків амінокислотних послідовностей, які відсутні в структурі власних білків організму.

Оскільки система набутого імунітету виникла на фоні вже існуючої системи природного імунітету, обидві системи функціонують у взаємозв'язку, доповнюючи одна одну. Система набутого імунітету взяла на себе функцію спрямування реакцій систем природного захисту, тобто частково підпорядкувала їх собі. Наприклад, активація комплементу безпосередньо на клітинних стінках бактерій є еволюційно більш давнім типом активації (альтернативний шлях). Проте після виникнення антитіл став можливим також інший механізм активації комплементу – комплексами антигену й антитіл (класичний шлях). Іншим прикладом може бути посилення фагоцитарної активності фагоцитів при опсонізації бактерій антитілами. Функцію фагоцитів можуть регулювати також Т-хелпери, оскільки фагоцити здатні представляти їм поглинуті антигени, а Т-хелпери – розпізнавати ці антигени та активувати фагоцити.

Система природного імунітету, навпаки, може ініціювати специфічні імунні реакції. Наприклад, дендритні клітини, які активуються в зоні запалення переважно після розпізнавання молекулярних патернів чужорідних структур, здатні активувати Т-хелпери, що є пусковим механізмом для багатьох реакцій імунітету. Отже, системи природного й набутого імунітету використовують різні механізми, за якими визначають, належить певна хімічна субстанція до речовин власного організму чи є чужорідною. Система природного захисту спрямована на пошук обмеженої кількості хімічних угруповань, що не входять до складу речовин власного організму, або на розпізнавання певних молекулярних патернів на поверхні патогенів. Система специфічного імунітету може розпізнавати індивідуальні ознаки кожного виду й навіть штаму патогенів, які відображають особливості організації його геному. Функції систем природного і набутого імунітету тісно пов'язані, тому розглядати ці системи потрібно у взаємодії та взаємозв'язку.

7.2. РЕЦЕПТОРИ, ЩО РОЗПІЗНАЮТЬ ЧУЖОРІДНІ СУБСТАНЦІЇ

Рецептори, що розпізнають чужорідні субстанції, можна розподілити на два великих класи. Перший клас – це рецептори, що розпізнають молекулярні патерни. Як правило, це лектини та лектиноподібні молекули, пентраксини, фіколіни, Toll-like- і scavenger-рецептори, які

є головними рецепторами системи природного захисту і здатні розпізнавати регулярні залишки біополімерів. Другий клас – це антиген-специфічні рецептори імуноглобулінової суперродина, до яких належать антитіла та рецептори Т-клітин. Головною особливістю другого класу рецепторів є надзвичайна мінливість їхніх активних центрів. Такі рецептори використовує система набутого імунітету для специфічного розпізнавання антигенів.

Виникнення системи специфічного захисту в процесі еволюції пройшло певні проміжні етапи становлення специфічності. Тому існують рецептори з різним ступенем специфічності. Розглянемо окремі класи цих рецепторів та їх представників у порядку зростання специфічності.

7.2.1. Рецептори, що розпізнають молекулярні патерни

Лектини і лектиноподібні рецептори. Часто функцію розпізнавання молекулярних патернів виконують *лектини* та *лектиноподібні рецептори*. Ці рецептори спеціалізуються на розпізнаванні вуглеводних залишків у структурі біополімерів. Слід зазначити, що зв'язування вуглеводних залишків лектинами може бути важливим не тільки для розпізнавання патогенних мікроорганізмів, а й для міжклітинної взаємодії.

Елементарною функціональною одиницею таких рецепторів є лектиновий або лектиноподібний домен С-типу. Лектиновий домен складається приблизно зі 120 амінокислотних залишків і є дуже консервативним, тобто лектинові домени, що входять до складу різних білків, дуже подібні за первинною та просторовою структурою. Цей домен входить до складу приблизно 5 % лейкоцитарних рецепторів. Характерною особливістю лектинових доменів, що відрізняє їх від лектиноподібних доменів, є здатність до зв'язування з лігандами лише за наявності іонів кальцію. До лектинів С-типу належать такі рецептори системи неспецифічного захисту, як *колектини*, а також деякі інші білки, наприклад манозний рецептор макрофагів.

Цікаво, що лектиновий домен С-типу може входити до складу рецепторів, які не беруть участі в імунному розпізнаванні, наприклад до складу *селектинів*. Селектини та колектини – великі групи споріднених білків, які виконують зовсім різні функції. Селектини експресуються на лейкоцитах різних типів і беруть участь у клітинній адгезії та міжклітинній взаємодії. Вони зумовлюють взаємодію лейкоцитів з ендотелієм судин, завдяки чому контролюють міграцію лейкоцитів до різних органів та в місця запалення. Селектини взаємодіють з вуглеводними залишками різних глікопротеїнів лейкоцитів та ендотеліальних клітин (наприклад, з антигеном Льюїса). Функцію цих білків детально розглянуто в розділах, присвячених рециркуляції, розвитку та міграції клітин імунної системи.

Колектини (колагенові лектини) спеціалізуються на розпізнаванні

патогенних мікроорганізмів і відіграють важливу роль у захисті організму від інфекцій. На відміну від селектинів колектини не зв'язані з мембраною лейкоцитів, а перебувають у розчинній формі. На поверхні багатьох лейкоцитів є рецептори до колектинів, що свідчить про те, що колектини можуть виконувати функцію опсонінів і підсилювати фагоцитоз. Колектини здатні також активувати комплемент. Цей шлях активації комплементу відкритий досить недавно і названий лектиновим шляхом. Колектини являють собою гомоолігомери, що складаються з кількох однакових субодиниць. Кожна субодиниця складається з трьох поліпептидних ланцюгів, кожний з яких містить С-кінцевий лектиновий домен і колагеноподібний "хвіст". Тому структура кожної субодиниці нагадує косу з хвостиком або букет квітів, у яких переплетені стеблинки (рис. 47).

Нині відомо кілька представників колектинів, що беруть участь у процесах природного захисту: сироватковий білок, який зв'язує манозу (MBP – від англ. *mannose-binding protein*), та сурфактанти легень (SP-A і SP-D). Певною мірою до колектинів можна віднести перший фактор активації комплементу C1q. Білки MBP та SP-A складаються з трьох розміщених у формі букета субодиниць, причому всі лектинові домени розміщуються на одному кінці молекули. Сурфактант SP-D складається з чотирьох субодиниць і має хрестоподібну структуру (рис. 48).

Колектини розпізнають залишки вуглеводів у складі глікокон'югатів на поверхні клітин мікроорганізмів і вірусних часточок. Наприклад, лектинові домени колектинів взаємодіють із залишками D-манози, N-ацетил-D-глюкозаміну та L-фукози. Взаємодія одного лектинового домену зі своїм лігандом характеризується невисокою афінністю (константа дисоціації становить приблизно 2 мМ). Однак сумарна звідність усіх доменів значно більша. Це дає колектинам можливість розпізнавати з високою ефективністю клітинні стінки бактерій та вірусні капсиди.

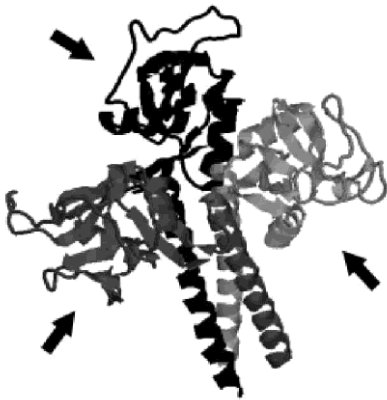


Рис. 47. Структура окремої субодиниці колективів (заданими крис-

талографії, Н. Feinberg і співавт., 2000; стрілками відмічено три лектинових домени, що розміщуються в одній площині)

Чому ж селектини взаємодіють із клітинами власного організму, а колектини зв'язують потенційні патогени? Вибірковість взаємодії селектинів і колектинів пояснюється особливостями будови їхніх молекул та щільністю лігандів до них на клітинній поверхні. У колектинах кілька лектинових доменів розміщені в одній площині на фіксованій відстані один від одного. Це дає змогу колектинам взаємодіяти з високою авідністю з клітинними стінками мікроорганізмів та вірусними капсидами, в яких ці вуглеводні залишки характеризуються жорстким розміщенням із певною періодичністю. З клітинами власного організму колектини, навпаки, взаємодіють слабо, оскільки на їхніх мембранах вуглеводні залишки мають меншу щільність, входять до складу різних молекул глікопротеїнів, які, до того ж, можуть переміщуватися в площині мембрани. На відміну від колектинів селектини мають лише один лектиновий домен. Тому кожна молекула селектину повинна знайти саме свій ліганд на мембранах відповідних клітин власного організму.

Зв'язування колектинів із клітинними стінками мікроорганізмів забезпечує розпізнавання цих інфекційних агентів та їх фагоцитоз макрофагами й гранулоцитами. Крім того, MBP і C1q, зв'язані з клітинними стінками, можуть активувати комплемент. Сурфактанти легень опосередковують аглютинацію мікроорганізмів та виведення їх із мокротинням. Колектини мають широку специфічність до цілого спектра патогенних мікроорганізмів. Наприклад, MBP здатний зв'язувати клітини *Escherichia*, *Salmonella*, *Mycobacterium*, *Candida*, *Cryptococcus*. Сурфактанти легень зв'язують клітини *Haemophilus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Pneumocystis*. C1q у вільній формі (тобто без взаємодії з антитілом) може зв'язуватися з поверхнею мікоплазм і деяких ретровірусів.

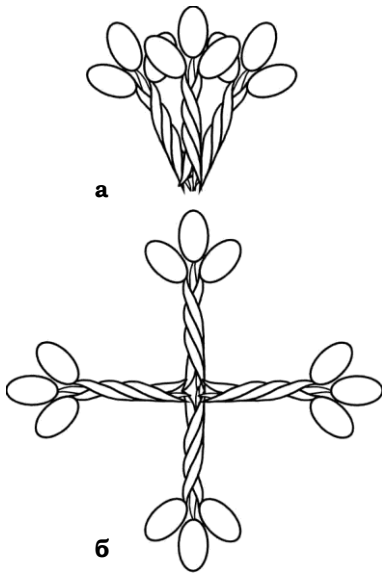


Рис. 48. Субдинічна будова різних представників колективів: а – сироватковий білок, що зв'язує манному (МВР); б – сурфактант легень SP-D

Важливим представником лектинів С-типу є *манозний рецептор макрофагів*. На відміну від колектинів, які складаються з кількох поліпептидних ланцюгів, кожний з яких несе по одному лектиновому домену, манозний рецептор макрофагів представлений одним поліпептидним ланцюгом, по всій довжині якого один за одним розміщено кілька лектинових доменів. Як і в МВР, лектинові домени манозного рецептора специфічні до залишків D-манози, N-ацетил-D-глюкозаміну та L-фукози. Манозний рецептор макрофагів зумовлює розпізнавання та фагоцитоз макрофагами багатьох патогенів.

Частина лейкоцитарних рецепторів мають *лектиноподібні домени*. Такі домени входять до складу рецепторів натуральних кілерів (НК-клітин) і деяких типів Fc-рецепторів.

Інші типи рецепторів, здатних розпізнавати молекулярні патерни. Окремий клас рецепторів, що розпізнають молекулярні патерни, представляють *пентраксини*. Білки родини пентраксинів характеризуються циклічною пентамерною структурою та радіальною симетрією. До їх складу входить п'ять нековалентно зв'язаних однакових доменів із молекулярною масою 24 кДа, що складаються приблизно з 200 амінокислотних залишків (рис. 49). Найважливішими представниками пентраксинів є С-реактивний білок CRP (від англ. *C-reactive protein*) і сироватковий амілоїдний білок SAP (від англ. *serum amyloid protein*).

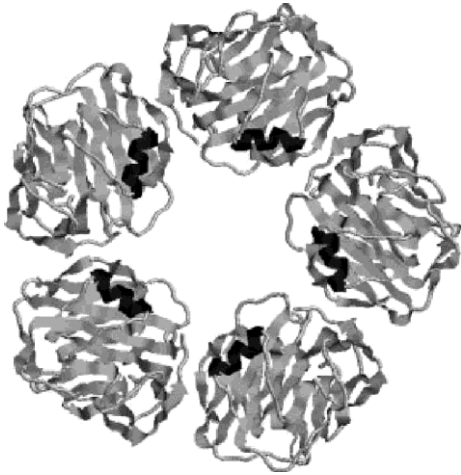


Рис. 49. Структура пентраксинів на прикладі С-реактивного білка (за даними кристалографії D.Thompson і співавт., 1998)

Пентраксини, як і колектини, зв'язуються за наявності іонів кальцію з клітинними стінками патогенних агентів. Головним лігандом для зв'язування пентраксинів є фосфорилхолін, який входить до складу ліпополісахаридів клітинних стінок багатьох бактерій і грибів. Свою назву С-реактивний білок отримав завдяки здатності зв'язуватися з С-полісахаридом *Streptococcus pneumoniae*. Фосфорилхолін не тільки входить до складу клітинних стінок, а й міститься на мембранах власних клітин організму у складі фосфоліпідів. Проте з власними клітинами пентраксини взаємодіють слабо з тих самих причин, що й колектини. Отже, пентраксини, як і колектини, розпізнають чужорідні субстанції завдяки підвищеній авідності зв'язування з лігандами, які знаходяться в жорсткій структурі клітинних стінок мікроорганізмів або вірусних капсидів.

Пентраксини здатні активувати фагоцитоз і комплемент, однак на відміну від колектинів вони активують комплемент не безпосередньо, а за участю C1q, тобто класичним шляхом.

Разом із колектинами пентраксини відносять до *білків гострої фази запалення*. У відповідь на інфекцію або травму їх концентрація в сироватці крові може зростати на два-три порядки. Синтезуються білки гострої фази клітинами печінки у відповідь на стимуляцію ІЛ-6, ІЛ-1, ФНП- α та іншими цитокінами запалення, що виділяються активованими макрофагами. Підвищена концентрація пентраксинів у крові може бути фактором ризику для розвитку деяких захворювань серцево-судинної системи, таких як атеросклероз, ревматизм та ін. Вважають, що тривале підвищення їх концентрації навіть в 1,5–7 разів збільшує ризик розвитку цих захворювань.

Крім лектинових рецепторів і пентраксинів, в останні роки активно вивчають функції інших рецепторів, що розпізнають молекулярні

патерни. Серед таких рецепторів на особливу увагу заслуговують так звані Toll-like рецептори, scavenger-рецептори (рецептори-двірники) та фіколіни (назва останніх походить від перших літер назв фібриногену і колагену). Існують також інші молекули, що зв'язуються з клітинними стінками мікроорганізмів. Наприклад, лізоцим специфічно зв'язується і розщеплює пептидоглікан. Пропердин і С3-компонент комплементу зв'язуються з клітинними стінками мікроорганізмів та індують активацію комплементу альтернативним шляхом. Природа вибіркового зв'язування цих молекул із клітинними стінками в різних випадках може бути різною. Проте важливо, що головним механізмом розпізнавання чужорідних субстанцій системою природного захисту є розпізнавання великих просторових структур – молекулярних патернів, характерних для різних груп патогенів.

7.2.2. Антигенспецифічні рецептори імуноглобулінової суперродини

У 1970-х рр. Д.Давіс і І.Паддан провели перші дослідження просторової структури молекули імуноглобуліну. Саме тоді стало зрозуміло, що молекула антитіла складається з доменів, які мають однакову просторову будову. Ці домени було названо *імуноглобуліновими* (рис. 50). Пізніше, коли було отримано дані про просторову будову більшості рецепторів лімфоцитів, виявилось, що імуноглобулінові домени входять до складу майже половини з них.

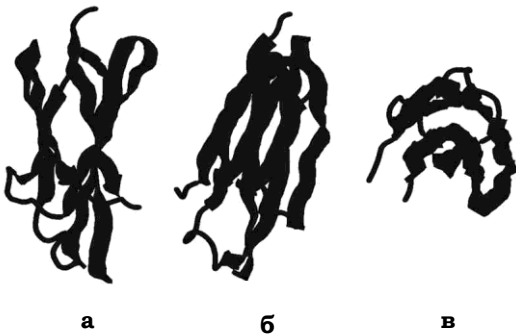


Рис. 50. Структура імуноглобулінового домену в трьох різних проєкціях – прямо (а), зліва (б) і знизу (в) (за даними кристалографії, U.Lamminmäki та співавт., 2001)

Ці рецептори об'єднані в так звану *імуноглобулінову суперродину*. До складу цієї суперродини входить багато білків, які беруть участь у міжклітинних контактах і забезпечують адгезію клітин до різних субстратів, а також рецептори, що виконують функцію імунного розпізнавання. До останніх належать антигенспецифічні рецептори Т- і В-клітин, а також антитіла, які, власне, і є секретованою формою реце-

пторів В-клітин.

Антитіла і рецептори В-клітин. Антитіла та рецептори В-клітин здатні специфічно зв'язуватися з нативними антигенами (див. розд. 10). Рецептори наївних В-клітин представлені мономерною формою імуноглобуліну класу IgM та IgD, які асоційовані з допоміжними молекулами $Ig\alpha/Ig\beta$, що беруть участь у передаванні сигналу від цього рецептора. У процесі імунної відповіді В-клітини експресують рецептори інших класів (IgG, IgA, IgE). Антитіла є важливою ефекторною ланкою системи специфічного імунітету. За ступенем прояву специфічності імуноглобуліни поділяють на нормальні та імунні.

Нормальні імуноглобуліни. Серед антитіл найпримітивнішими є нормальні, або природні, антитіла сироватки крові, які ще називають поліспецифічними, або поліреактивними, імуноглобулінами. Нормальні антитіла синтезує особлива субпопуляція В-клітин – В1-клітин. Для цих клітин характерна наявність на поверхні маркерів CD5 та Mac-1, а також відсутність соматичних гіпермутацій, внаслідок чого різноманітність активних центрів поліреактивних антитіл визначається лише структурою ембріональних V, D і J-генів і може підвищуватись тільки завдяки реаранжуванню цих генів.

Вважають, що синтез природних антитіл відбувається ще до контакту організму з антигеном, хоча, можливо, їх появу ініціюють предшественники нормальної мікрофлори та продукти активації комлементу. У відповідь на проникнення антигену рівень природних антитіл зростає в кілька разів, однак В1-клітини не здатні утворювати клітини пам'яті. Тому кількість нормальних антитіл при вторинній імунній відповіді істотно не збільшується.

Нормальні антитіла мають широку специфічність щодо деяких антигенів, як правило, – компонентів клітинних стінок бактерій. Вони здатні також розпізнавати різні глікопротеїни, навіть рецептори власних клітин організму, хоча константа їх взаємодії з антигенами дуже низька (приблизно 10^3 – $10^5 M^{-1}$). Оскільки нормальні антитіла належать переважно до IgM-класу, тобто мають пентамерну форму, сумарна авідність їх взаємодії з бактеріальними клітинними стінками значно зростає порівняно зі спорідненістю до власних глікопротеїнів, що дає їм змогу вибірково розпізнавати чужорідні субстанції (аналогічно колектинам і пентраксинам).

Нормальні антитіла є одним із первинних факторів захисту від інфекцій. За різними підрахунками, кількість цих антитіл у плазмі крові становить від 5 до 60 % усіх імуноглобулінів. Головними функціями нормальних антитіл є опсонізація бактерій, стимулювання фагоцитозу та комлементзалежного лізису. Припускають, що нормальні антитіла можуть виконувати ще одну функцію, не пов'язану з імунним захистом, – спричинювати базальну стимуляцію глікопротеїнових рецепторів власних клітин організму. Хоча вагомих доказів цієї гіпотези

поки що не отримано.

Таким чином, нормальні антитіла та В1-клітини, що їх продукують, мають деякі ознаки, притаманні системі природного захисту, а саме: неспецифічну реактивність до різних антигенів і відсутність імунної пам'яті. Тому їх часто відносять до факторів неспецифічної резистентності. Напевно, В1-лімфоцити є еволюційно найдавнішою популяцією лімфоїдних клітин. Отже, еволюційно імуноглобуліни з'явилися як рецептори, що розпізнають молекулярні патерни, і їхні активні центри були специфічні насамперед до детермінант клітинних стінок бактерій.

У відповідь на стимуляцію В-клітин полімерними Т-незалежними антигенами, наприклад, поліцукридами бактеріальних стінок, утворюються антитіла класу М, дуже подібні до нормальних антитіл. Імунна пам'ять при відповіді на Т-незалежні антигени формується дуже слабко. На ці антигени відповідає переважно також популяція В1-клітин. Отже, відповідь В1-клітин на Т-незалежні антигени, очевидно, можна розглядати як перехідну форму захисту між системою природного та набутого імунітету.

Імунні антитіла. На відміну від природних антитіл *імунні антитіла* мають дуже високий ступінь поліморфності активних центрів. Їх різноманітність забезпечується як *реаранжуванням* генів, так і соматичними *гіпермутаціями* цих генів, завдяки чому вони можуть зв'язувати речовини будь-якої хімічної природи. Імунні антитіла продукуються CD5⁺ В-клітинами субпопуляції В2 і можуть належати до різних класів: IgM, IgD, IgG, IgA та IgE. CD5⁺ В-Клітини здатні формувати клітини пам'яті, тому під час кожного наступного потрапляння антигену в організм концентрація специфічних до нього антитіл збільшується. У ході імунної відповіді афінність антитіл зростає внаслідок соматичних гіпермутацій в активному центрі антитіл. Цей процес, названий *дозріванням афінності рецепторів*, відбувається в зародкових центрах вторинних лімфоїдних органів. Головними функціями антитіл є утворення імунних комплексів з антигеном, опсонізація корпускулярних антигенів, інактивація токсинів та активація комплементу класичним шляхом. Крім того, для окремих класів і підкласів антитіл характерні свої особливі функції. У мембранозв'язаній формі імуноглобуліни виконують функцію антигенспецифічних рецепторів В-клітин.

Рецептори Т-клітин. На відміну від рецепторів В-клітин рецептори Т-клітин перебувають тільки в мембранозв'язаній формі. Головними функціями ТкР є активація Т-клітин під час взаємодії з АПК, розпізнавання Т-кілерами своїх "мішеней", а також розпізнавання Т-хелперами клітин, які треба активувати. За будовою ТкР нагадує Fab-фрагмент антитіл. Він утворений двома поліпептидними ланцюгами – α і $\beta\beta$ (або γ і δ), кожний з яких складається з двох доменів імуноглобулінового типу – N-кінцевого варіабельного V-домену і C-кінцевого

константного С-домену. Варіабельні домени різних ланцюгів ТкР позначають α_1 і β_1 , а константні – відповідно α_2 і β_2 . Розрізняють два типи Т-клітинного рецептора: $\alpha\beta$ і $\gamma\delta$ відповідно до назв субодиниць, що входять до його складу.

$\gamma\delta$ -ТкР вважають еволюційно більш давньою формою. Для Т-клітин із таким рецептором характерний, як правило, фенотип CD4-CD8-, тобто в більшості їх відсутні маркери CD4 і CD8. Вважають, що $\gamma\delta$ -ТкР розпізнає певні нативні білкові антигени, білки теплового шоку, а також гліколіпідні антигени, представлені в комплексі з молекулами CD1.

$\alpha\beta$ -ТкР характерний для клітин із фенотипом CD4 або CD8. Такий рецептор здатний розпізнавати пептидні фрагменти білкових антигенів у комплексі з власними молекулами МНС. Таким чином, для того щоб розпізнати антиген, $\alpha\beta$ -ТкР потребує попередньої його обробки – процесингу (див. розд. 6). Цей тип імунного розпізнавання можна вважати еволюційно наймолодшим, оскільки він потребує для своєї реалізації додаткових механізмів.

Механізми утворення різноманітності антигенспецифічних рецепторів. Велика різноманітність антигенспецифічних рецепторів створюється в результаті ряду унікальних генетичних механізмів, які детально розглядатимуться в наступному розділі. Забігаючи наперед, зазначимо, що гени імуноглобулінів і ТкР побудовані аналогічно і складаються з кількох генних сегментів (V, D, J і C), кожний з яких представлений значною кількістю подібних, але не ідентичних копій. Особливо велика різноманітність варіабельних V-сегментів. Об'єднання певних варіантів генних сегментів приводить до утворення функціональних генів ланцюгів рецепторів. Саме комбінація різних генних сегментів, що отримала назву *реаранжування генів*, є одним із механізмів утворення великої кількості антигенспецифічних рецепторів. Додаткова різноманітність імуноглобулінів і Т-клітинних рецепторів зумовлена вставками нуклеотидів, зміною рамок зчитування для сегмента D, комбінацією різних легких і важких ланцюгів. Завдяки існуванню цих механізмів у геномі людини потенційно може міститися інформація для синтезу 10^{14} – 10^{16} різних варіантів антитіл і 10^9 варіантів ТкР.

Генам антитіл властивий ще один унікальний механізм утворення різноманітності – так звані *соматичні гіпермутації*. Ці соматичні гіпермутації відбуваються головним чином у трьох позиціях, що відповідають гіперваріабельним ділянкам V-доменів. У результаті соматичних гіпермутацій генів важких і легких ланцюгів імуноглобулінів кількість різних варіантів антитіл зростає ще на кілька порядків. Якщо врахувати те, що кожний активний центр може зв'язувати кілька різних хімічних структур, стає зрозумілим, що такої кількості різних варіантів рецепторів достатньо, щоб розпізнати майже всі можливі антигени.

7.3. СПОСОБИ РОЗПІЗНАВАННЯ АНТИГЕНУ СПЕЦИФІЧНИМИ РЕЦЕПТОРАМИ

З наведеного випливає, що у вищих хребетних існують два принципово різних типи специфічного імунного розпізнавання антигенів. Перший тип характерний для антитіл і рецепторів В-клітин, другий – для рецепторів Т-клітин.

Розпізнавання антигену антитілами та рецепторами В-клітин.

Антитіла та рецептори В-клітин не потребують додаткових структур для взаємодії з антигеном. При цьому вони можуть розпізнавати антигени як розчинні, так і корпускулярні, нативні й денатуровані, вільні та асоційовані з мембраною клітини або фіксовані на штучному інертному носії (пластику, нейлоновій ваті тощо). Антитіла та рецептори В-клітин потенційно здатні взаємодіяти з антигенами будь-якої хімічної природи. Наприклад, описано моноклональні антитіла, які здатні селективно розпізнавати катіони важких металів.

Ділянки молекули антигену, з якими специфічно зв'язуються рецептори В-клітин і відповідні антитіла, називають *антигенними детермінантами*, або *B-епітопами*. В-Епітопи складаються приблизно з 3–15 амінокислотних залишків, що, як правило, експоновані на поверхні молекули антигену. В-Епітопи білкових антигенів можуть бути лінійними й конформаційними (просторовими, розривними). Конформаційні епітопи, на відміну від лінійних, утворені залишками амінокислот, що розміщені не в одній, а в різних частинах амінокислотної послідовності білка, але просторово наближені один до одного.

Розпізнавання антигену рецепторами Т-клітин. Рецептори Т-клітин можуть розпізнавати лише білкові антигени, причому ТкР взаємодіє з короткими пептидами, що містяться в певних ділянках поліпептидного ланцюга антигену. Пептиди, що розпізнаються рецепторами Т-клітин, називають *T-епітопами*. Т-Епітопи є послідовними (секвенційними) і не залежать від просторової конфігурації нативного білка. Вони утворюються внаслідок процесингу вихідного поліпептидного антигену та зв'язування його фрагментів із відповідними молекулами МНС.

Антигени, в розпізнаванні яких беруть участь Т-клітини, називають Т-залежними антигенами. Тільки такі антигени є імуногенними, тобто здатними формувати повноцінну специфічну імунну відповідь та імунну пам'ять. Т-Залежні антигени можуть взаємодіяти як із рецепторами В-клітин, що розпізнають поверхневі епітопи, так і з рецепторами Т-клітин, що розпізнають пептидні фрагменти, локалізовані всередині молекули антигену. Представлення Т-залежних антигенів на поверхні В-клітин дає можливість Т-хелперам індукувати диференціювання В-клітин в антитілопродуценти.

Оскільки Т-епітопи містяться тільки в структурі білкових антигенів, то необхідною умовою імуногенності антигену є наявність у його структурі поліпептидного ланцюга. Отже, серед природних біополіме-

рів імуногенними можуть бути білки, глікопротеїни, нуклеопро­теїни та ліпопротеїни. Цей феномен був відомий імунологам уже давно і широко використовувався на практиці. Так, класичним методом для отримання імунної відповіді до будь-якого неімуногенного антигену (гаптену) є кон'югація цього антигену з імуногенним білком-носієм.

Кількість Т-епітопів у молекулі білка менша, ніж кількість В-епітопів. По-перше, це пов'язано з тим, що репертуар рецепторів Т-клітин більш обмежений, ніж репертуар рецепторів В-клітин. По-друге, не всі пептидні фрагменти антигену можуть бути представлені з молекулами МНС на поверхні клітини.

На відміну від В-клітинних рецепторів ТкР можуть розпізнавати тільки антигени, представлені на поверхні живих клітин, що здатні до попереднього розщеплення антигену. Саме тому методи, які були успішно використані для демонстрації зв'язування В-рецепторів з антигеном (метод адсорбції розчинних радіоактивно мічених антигенів на поверхні лімфоцитів і метод адсорбції лімфоцитів на нейлоновій ваті чи латексних кульках із сорбованим антигеном), виявилися непридатними для ідентифікації рецепторів Т-лімфоцитів.

Зв'язування Т-клітин з антигеном уперше було продемонстровано при використанні методу адсорбції імунних лімфоцитів на моношарі клітин-мішеней. Принцип методу полягає в тому, що лімфоцити, взяті від імунізованих певним антигеном тварин, додають до обробленого цим самим антигеном моношару макрофагів. Лімфоцити, що зв'язалися з антигеном, знімають із моношару, змінюючи рН або обробляючи його розчином трипсину. Специфічність зв'язування рецепторів з антигеном визначають, досліджуючи функціональну активність знятих із моношару клітин, наприклад кілінговий ефект або продукування інтерлейкінів. Виявилось, що зв'язування Т-лімфоцитів з антигеном на моношарі клітин не блокується ні антитілами до антигену, ні самим антигеном, але блокується антитілами до антигенів системи МНС.

Так було встановлено унікальну особливість Т-рецепторів, яка полягає в тому, що об'єктом їх розпізнавання є не сам вилучений у результаті процесингу антигенний пептид, а його комплекс з аутологічними молекулами МНС. Рецептор Т-клітин розпізнає як процесований антиген, так і проксимальні (N-кінцеві) домени білків гістосумісності, що його зв'язують. Тому розпізнавання за таким механізмом називають *подвійним розпізнаванням*.

Як уже зазначалося в попередніх розділах, рецептор Т-хелпера розпізнає пептиди у складі комплексів із МНС II, а рецептор Т-кілерів – у складі комплексів із МНС I. Отже, Т-епітоп, який розпізнається Т-хелпером, і Т-епітоп, що розпізнається Т-кілером, як правило, не збігаються за амінокислотною послідовністю. Пептиди, що зв'язуються з молекулами МНС різних класів, мають різні розміри і складаються з 12–25 амінокислотних залишків для МНС II і з 8–10 залишків для

МНС I. Крім того, з МНС I представляються, як правило, пептиди ендогенних, а з МНС II – пептиди екзогенних антигенів (див. розд. 6).

Отже, ТкР розпізнає антигенні пептиди білкових антигенів ендо- або екзогенного походження та антигени гістосумісності, які є продуктами генів власних клітин організму. Необхідність асоціації антигенних пептидів на АПК із молекулами МНС власного або генетично ідентичного організму називають *МНС-рестрикцією* (обмеженням за МНС). Цей феномен уперше виявили Р. Цінкернагель і П. Догерті у 1974–1976 рр. під час вивчення цитотоксичної дії Т-лімфоцитів тварин, заражених вірусом лімфоцитарного хориомеїнігиту, на інфіковані цим вірусом клітини-мішені різних гаплотипів.

МНС-Рестрикція формується внаслідок позитивної селекції Т-лімфоцитів у тимусі, під час якої відбираються ті клітини, що несуть рецептор, здатний взаємодіяти з представленими на епітеліальних клітинах власними молекулами МНС (див. розд. 12). Феномен МНС-рестрикції еволюційно виник для розпізнавання експресованих на поверхні інфікованих клітин організму антигенів внутрішньоклітинних інфекційних агентів, таких як віруси та деякі бак-терії (лістерії, мікобактерії та ін.). Одночасне розпізнавання чужорідного антигену і власного МНС робить неможливою блокаду рецепторів Т-лімфоцитів вільним антигеном, що циркулює в крові. Крім того, завдяки МНС-рестрикції Т-лімфоцити здатні розрізняти ендо- та екзогенні антигени, оскільки вони представляються в комплексі з молекулами МНС різних класів, і розвивати ефективну відповідь адекватного типу. А здатність багатьох патогенів до антигенної мімікрії (маскування під антигени макроорганізму з метою уникнення контролю з боку імунної системи) не загрожує виду в цілому завдяки значному поліморфізму системи МНС.

Слід зазначити, що здатність розпізнавати антигени в комплексі з МНС властива $\alpha\beta$ Т-клітинам, які характеризуються широким спектром специфічних рецепторів. Особливості розпізнавання антигенів $\gamma\delta$ -Т-клітинами остаточно не з'ясовані. Є дані, що вони можуть розпізнавати нативні антигени або антигени в комплексі з деякими іншими молекулами, які не є ні МНС I, ні МНС II, зокрема CD1 у людини і Tla – у миші.

Отже, Т- і В-рецептори, характеризуючись високою специфічністю до антигену і подібністю структури, значно різняться за механізмами розпізнавання антигену. Однак незважаючи на принципову відмінність у розпізнаванні антигенів імуноглобулінами та рецепторами Т-клітин, молекулярні механізми, що лежать в основі такого розпізнавання, однакові. Ці механізми ґрунтуються на одних і тих самих типах нековалентних взаємодій: вандерваальсових, електростатичних, гідрофобних, водневих.

Прогрес у вивченні молекулярних основ імунного розпізнавання

пов'язаний насамперед із дослідженням просторової структури комплексів антиген – антитіло та комплексів ТкР-антигенний пептид-МНС за допомогою методів ядерного магнітного резонансу та рентгеноструктурного аналізу.

7.4. СТРУКТУРНІ ОСНОВИ СПЕЦИФІЧНОСТІ РЕЦЕПТОРІВ, ЩО РОЗПІЗНАЮТЬ АНТИГЕНИ

Структурні особливості імуноглобулінових доменів виявились еволюційно дуже вдалим для виконання імунними рецепторами Т- і В-клітин функції специфічного розпізнавання антигену. Прогрес у вивченні просторової структури активних центрів антитіл і ТкР дав відповідь на запитання, як саме забезпечується специфічність взаємодії їх з антигеном.

Як уже зазначалося в попередніх розділах, кожний імуноглобуліновий домен складається приблизно зі 100 амінокислотних залишків і має внутрішньодоменний дисульфідний зв'язок. Структурною основою імуноглобулінового домену є антипаралельні β -смуги, які утворюють два β -листки. Ці два β -листки трохи вигнуті та розміщені один навпроти одного. Вони об'єднані дисульфідним зв'язком і утворюють структуру, яка за зовнішнім виглядом нагадує бочку або бутерброд, тому в літературі її часто так і називають – " β -бочкою" (β -barrel) або " β -сандвічем".

На основі спільних ознак в амінокислотній послідовності та просторовій будові всі імуноглобулінові домени, що входять до складу рецепторів імуноглобулінової суперродина, поділено на два типи: перший (V-тип) нагадує варіабельний домен імуноглобулінів, а другий (C-тип) подібний до константних доменів антитіл.

Будова активного центру ТкР і ВкР. Структура активних центрів Т- і В-клітинних антигензв'язувальних рецепторів дуже подібна. Домен $\alpha 1$ ТкР аналогічний VL-домону ВкР і антитіл, а домен β_1 – VH-домону. Два варіабельні домени ТкР утворюють активний центр, аналогічний активному центру ВкР або антитіла.

Характерні ознаки варіабельних доменів (V-типу). V-Домени відрізняються від C-доменів кількістю антипаралельних β -смуг, що входять до їх складу. Якщо структуру імуноглобулінового C-домону розгорнути на площині, то отримаємо картину, зображену на рис. 60, а. Кожну β -смугу, що входить до складу імуноглобулінового домену, позначають відповідною літерою латинської абетки, починаючи від N-кінця. C-Домени складаються з розміщених на двох β листках семи β -смуг: відповідно d, e, b, a та g, f, c. Листок g, f, c називають *внутрішнім*, оскільки при збиранні молекули імуноглобуліну два імуноглобулінові домени різних ланцюгів розміщуються один навпроти іншого, контактують сторонами, що утворені смугами g, f, c. Відповідно листок d, e, b, a називають *зовнішнім*, оскільки він розміще-

ний на зовнішній поверхні зібраної молекули імуноглобуліну. Головною структурною особливістю V-доменів, що відрізняє їх від С-доменів, є наявність на внутрішньому листку додаткових смуг с' та с'', розміщених безпосередньо за смугою с (рис. 51, б).

Варіабельні домени мають певні ділянки, в яких спостерігається найбільша частота амінокислотних замін. Ці ділянки були виявлені при порівнянні первинних структур ряду моноклональних антитіл, а також рецепторів Т-клітин одного клону. Вся мінливість варіабельних доменів зосереджена в трьох локусах, які названі *гіперваріабельними регіонами* (HVR – *hypervariable regions*). Існує загальнобіологічне правило, що найбільша варіабельність білкової молекули може бути зосереджена в неупорядкованих структурах, таких як петлі, згини тощо, які розміщені на поверхні цієї молекули. Виявилось, що гіперваріабельні ділянки імуноглобулінових доменів відповідають саме петлям, розміщеним на внутрішньому β-листку V-домену.

Гіперваріабельні петлі знаходяться з одного торця β-бочки. Залишки, що входять до складу гіперваріабельних петель, беруть безпосередню участь у взаємодії з антигеном, а отже, забезпечують специфічність цієї взаємодії. Тому їх називають CDR (від англ. *complementarity-determining regions* – регіони, що визначають комплементарність) і позначають відповідно CDR1, CDR2 та CDR3 (див. рис. 51, б). Зверніть увагу, що CDR та HVR – це різні назви одних і тих самих районів, але CDR належить до молекули білка, а HVR, як правило, позначає відповідну ділянку гена. CDR1 утворений петлею між β-смугами b і c, CDR2 – між смугами с' і с'', а CDR3 – петлею між смугами f і g. Наявність додаткових двох β-смуг с' і с'' у структурі V-домену дає можливість утворити ще одну петлю, якої немає в С-доменах. Усі три CDR-петлі одного варіабельного домену розміщені з одного краю внутрішнього β-листка. Отже, активний центр антитіл і ТкР складають шість петель CDR. При розміщенні V-доменів обох ланцюгів поруч усі шість CDR-петель збираються разом і утворюють активний центр рецептора.

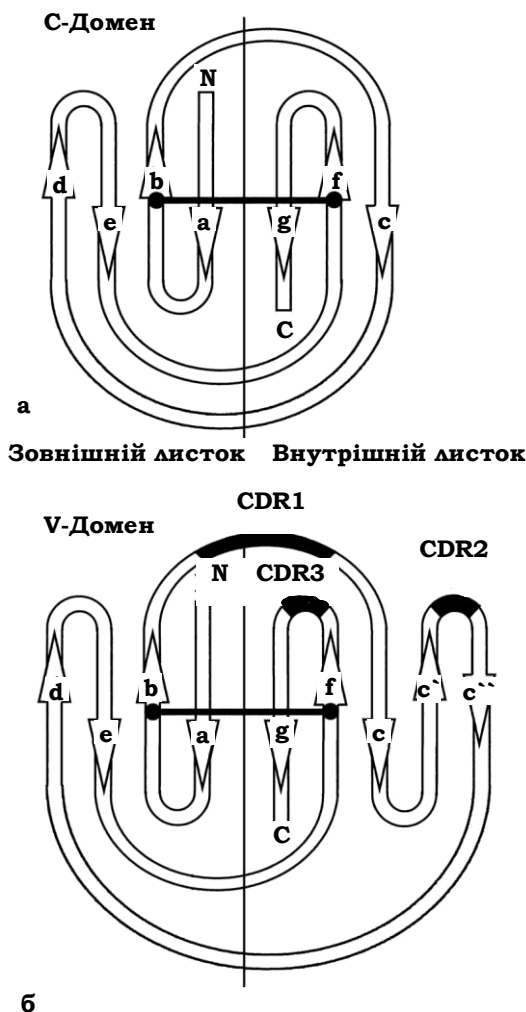


Рис. 51. Схематичне зображення розгорнутої на площині структури С- (а) і V-доменів (б) імуноглобулінової природи (стрілками показано β -смуги)

Таким чином, активні центри антитіл і ТкР мають принципово подібну організацію, однак взаємодіють з антигенами, що перебувають у різних станах. Які ж саме особливості їх будови забезпечують участь у різних процесах імунного розпізнавання? Поки що не існує остаточної відповіді на це запитання, проте виявлено певні відмінності в будові активних центрів ТкР та антитіл, які, можливо, пояснюються їх різною функціональною спеціалізацією.

Відмінності в будові активних центрів ТкР і ВкР. На сьогодні виявлено кілька основних відмінностей у будові ТкР і ВкР, однак залишається з'ясувати, які саме з цих відмінностей зумовляють специ-

фіку функцій цих двох молекул.

1. Активний центр антитіла має шість гіперваріабельних ділянок, а активний центр ТкР – ще по одній додатковій гіперваріабельній ділянці в кожній субодиниці. Ці ділянки називають HVR4. Вони належать до зовнішнього β -листка варіабельних доменів. Їх функція залишається нез'ясованою. Можливо, вони беруть певну участь у взаємодії з МНС.

2. ТкР, на відміну від ВкР і антитіл, не зазнає соматичних гіпермутацій. Тому головне джерело різноманітності для ТкР – це рекомбінація сегментів VJ для α -ланцюга і VDJ – для β -ланцюга. Місце рекомбінації цих сегментів відповідає тій послідовності, яка кодує CDR3-петлі обох субодиниць. Тому найбільша варіабельність ТкР спостерігається саме в CDR3-ділянках.

3. У варіабельному домені антитіла додаткові смуги c' та c'' належать внутрішньому листку, а в структурі ТкР смуга c'' – зовнішньому, а c' – внутрішньому листку. Тому для ТкР зовнішній і внутрішній β -листки називають відповідно $d e b a c''$ і $g f c c'$. Структура V-доменів $\gamma\delta$ -ТкР, який, як вважають, може взаємодіяти з нативним антигеном, така сама, як і V-доменів антитіл. Можливо, це пов'язано з тим, що $\gamma\delta$ -ТкР є примітивнішою формою рецептора Т-клітин.

4. Оскільки між смугами c' і c'' розміщена петля CDR2, то різне розміщення цих β -смуток у структурі ТкР та ВкР призводить до різної

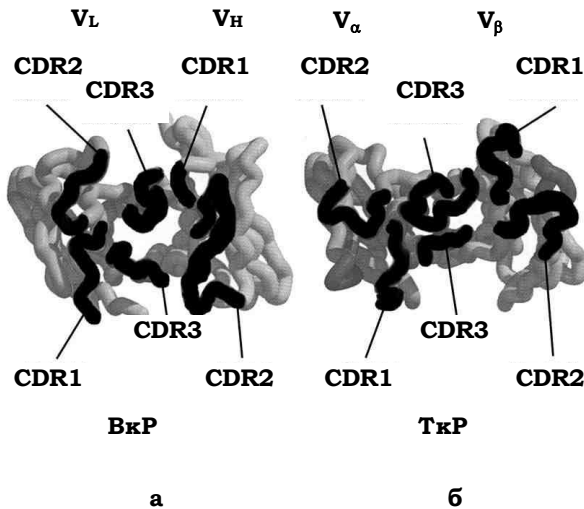


Рис. 52. Порівняльна будова активних центрів ВкР (а), і ТкР (б) (виділено CDR-петлі)

орієнтації петель CDR2.

5. Найбільша відмінність між активними центрами ВкР і ТкР полягає саме в тому, що CDR2-петлі ТкР розміщені перпендикулярно до порожнини активного центру, а в антитіла вони паралельні їй. Саме

тому CDR2-петлі антитіл можуть вступати в контакт з антигеном, а CDR2-петлі ТкР не можуть взаємодіяти безпосередньо з антигенним пептидом і контактують лише з МНС. На рис. 52 наведено будову активних центрів ТкР і ВкР, якщо їх розглядати зверху, тобто з боку CDR-петель.

7.5. МНС-РЕСТРИКЦІЯ І БУДОВА ПОТРІЙНОГО КОМПЛЕКСУ

$\alpha\beta$ Т-Клітини здатні розпізнавати лише ті антигенні пептиди, які представлені на АПК власного або генетично ідентичного організму, що зумовлено, як вже зазначалося вище, сформованим в онтогенезі феноменом МНС-рестрикції.

На молекулярному рівні МНС-рестрикція пояснюється тим, що ТкР має специфічність не тільки до антигенного пептиду, а й до варіабельних частин МНС. У процесі імунного розпізнавання утворюється потрійний комплекс: Т-клітинний рецептор – Т-епітоп – МНС (рис. 53).

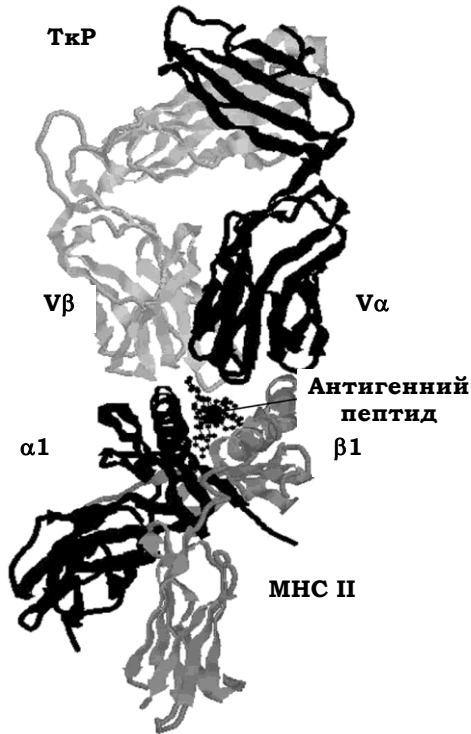


Рис. 53. Будова потрійного комплексу МНС II – антигенний пептид – ТкР (за даними кристалографії, J.Ненпекке і співавт., 2000)

Істотною особливістю потрійного комплексу є те, що всі три його компоненти взаємодіють один з одним, тобто між рецептором і Т-епітопом, між рецептором і МНС, між МНС і Т-епітопом встановлюються нековалентні зв'язки. Інакше кажучи, в потрійному комплексі варіабельні петлі ТкР утворюють нековалентні зв'язки зі всією поверхнею зайнятої антигенним пептидом порожнини МНС. По краю по-

рознини МНС знаходяться α -спіралі, які є дуже поліморфними для різних алелів МНС. Можна сказати, що вони несуть свої власні детермінанти, за якими рецептор Т-клітини впізнає молекули МНС власного організму. У МНС I це спіралі, що належать $\alpha 1$ - і $\alpha 2$ -доменам, а в МНС II – $\alpha 1$ - і $\beta 1$ -доменам.

Детально розглянути, як відбувається взаємодія ТкР із МНС, дають змогу результати рентгеноструктурного аналізу потрійного комплексу. На сьогодні відомі дані такого аналізу понад 10 різних комплексів ТкР із МНС I та МНС II. Робити остаточні висновки поки що рано, однак певні особливості розпізнавання антигену ТкР вже можна з'ясувати. Нині точно відомо, що щілини активних центрів МНС і ТкР мають діагональну орієнтацію одна відносно одної. Не було помічено ніяких змін у конформації пептиду, зв'язаного з МНС, після утворення потрійного комплексу з ТкР. У контакт із ТкР вступають як поліморфні, так і консервативні залишки амінокислот у структурі МНС. Проте залишається відкритим питання про те, чи мають залишки амінокислот, які зумовлюють контакт з іншими компонентами потрійного комплексу, постійне положення в різних алелях МНС, тобто чи є вони консервативними. У контакт із ТкР вступають приблизно 15 залишків амінокислот, причому 12 із них мають однакове положення як для МНС I, так і для МНС II.

Пептид, зв'язаний із МНС II, перебуває в більш розгорнутій конформації, ніж пептид, зв'язаний із МНС I. Тому в першому випадку ТкР може утворювати контакт із пептидом завдовжки 2,5 нм, тоді як у другому випадку – тільки з пептидом завдовжки 2,0 нм.

Як свідчать результати рентгеноструктурного аналізу, при розпізнаванні Т-клітинним рецептором МНС I і МНС II CDR1- та CDR3-петлі встановлюють контакти як із пептидом, так і з МНС. Причому одна з CDR1-петель контактує з С-кінцем, інша – з N-кінцем пептиду. Це пов'язано з тим, що ТкР і МНС знаходяться відповідно в діагональній орієнтації один відносно одного. CDR2-Петлі контактують лише з МНС, оскільки вони розміщуються перпендикулярно до щілини активного центру ТкР. Найбільше "навантаження" в розпізнаванні комплексу МНС – пептид беруть на себе CDR3-петлі, які встановлюють зв'язки як з антигенним пептидом, так і з МНС. Слід зазначити, що процеси розпізнавання МНС I і МНС II істотно не різняться.

Підсумовуючи всі дані рентгеноструктурного аналізу потрійних комплексів МНС-пептид-ТкР, можна зробити висновок, що взаємна орієнтація МНС II – ТкР є більш перпендикулярною, ніж МНС I – ТкР. Так, кути взаємного розміщення досліджених комплексів МНС I – ТкР становлять 45–70°, а МНС II – ТкР – відповідно 70–80°. Ці дані заперечують отримані раніше результати моделювання взаємодії МНС і ТкР, в яких ТкР було замінено на Fab-фрагмент антитіла. При такому моделюванні МНС і Fab-фрагмент розміщувались під прямим кутом,

при цьому CDR3-петлі контактували лише з пептидом, а CDR1- та CDR2-петлі утворювали контакти лише з МНС.

Отже, різні CDR-петлі мають різну функціональну спеціалізацію в розпізнаванні антигену. Одні з них переважно розпізнають поверхневі структури МНС, інші – структурні елементи антигенного пептиду. Цей висновок, який було зроблено завдяки даним про тривимірну будову комплексу ТкР – антигенний пептид – МНС, має велике значення, оскільки пояснює біологічний сенс різної варіабельності різних CDR-петель. Зрозуміло, що найбільшою варіабельністю мають характеризуватися петлі CDR, спеціалізовані переважно на взаємодії з антигенним пептидом, а більш консервативними мають бути петлі, які взаємодіють виключно з МНС. І справді, як уже зазначалося, поліморфність CDR3-петель ТкР на кілька порядків вища, ніж інших варіабельних частин цієї молекули.

Таким чином, розпізнаватиметься чи ні представлений із МНС антиген, залежить від двох властивостей ТкР – від його специфічності до певного антигенного пептиду та його специфічності до певної молекули МНС. Причому теоретично можливо, що недостатня афінність до антигенного пептиду може бути компенсована високою афінністю до МНС і навпаки.

7.6. РОЗПІЗНАВАННЯ ЧУЖОРІДНИХ МОЛЕКУЛ МНС (АЛОРЕАКТИВНІСТЬ)

Відкриття молекулярних механізмів імунного розпізнавання дало змогу пояснити феномен алореактивності – здатності Т-лімфоцитів відповідати на стимулювання алогенними клітинами, що лежить в основі відторгнення трансплантатів та реакції трансплантат проти хазяїна. Алореактивність пов'язана з феноменом розпізнавання Т-клітинами чужорідних ("не своїх") молекул МНС, за якими різняться особини одного виду (алогенні молекули МНС). Загадковість цього феномену полягає в тому, що в природі не існує процесу, аналогічного трансплантації тканин.

На перший погляд, феномен алореактивності суперечить феномену МНС-рестрикції, оскільки внаслідок позитивного відбору в тимусі формуються Т-лімфоцити, які здатні розпізнавати лише свої молекули МНС. Т-Клітини, які зазнали позитивного й негативного відбору в тимусі, мають середню афінність до власних МНС із власними антигенними пептидами. Якщо антигенні пептиди в структурі власних МНС будуть чужорідними, то частина Т-клітин зв'язуватиметься з такими мішенями більш афінно, що й зумовить активацію імунної відповіді. Таке явище отримало назву "розпізнавання "чужого" за принципом зміненого "свого". Як же Т-клітини розпізнають чужорідні молекули МНС при відторгненні трансплантата? Нині вважають, що частина Т-клітин може за допомогою своїх рецепторів "випадково" сприймати чужорідні МНС як "свої з чужорідним пептидом", а отже, розвивати

відповідь на ці антигени. Цю особливість Т-клітин було виявлено в процесі кропітких експериментальних досліджень *in vivo* та *in vitro*. Для пояснення явища алореактивності було запропоновано три моделі.

Згідно із запропонованою англійським імунологом Н.Єрне у 1971 р. *першою моделлю* алореактивності Т-клітини, що розпізнають чужорідні, "не свої" молекули МНС і експресують, як вважали, специфічні рецептори до них та функціонують на периферії як алореактивні, розглядалися як окрема субпопуляція клітин, що не підлягає відбору під час дозрівання в тимусі. Проте вже в ранніх дослідженнях реакції трансплантат проти хазяїна (трансплантації лімфоцитів однієї особини іншій) та реакції змішаної культури лімфоцитів (культивування лімфоцитів двох особин) на тваринах одного виду, але різних аплотипів МНС було доведено, що близько 1–10 % Т-лімфоцитів є алореактивними. Така висока частота Т-клітин, здатних розпізнавати молекули МНС інших особин виду, не узгоджувалася за тодішніми уявленнями з клонально-селекційною теорією імунітету Бернета. Якщо брати до уваги кількість існуючих гаплотипів МНС, то за теоретичними розрахунками весь репертуар Т-лімфоцитів повинен обмежуватися розпізнаванням лише алогенних молекул МНС. Виходячи з цього, було висловлено припущення, що на кожному Т-лімфоциті (принаймні на більшості з них) експресуються два рецептори, один з яких специфічний до алоантигену, другий – до іншого чужорідного антигену (*друга модель* алореактивності). Аргументом на користь такого припущення були дослідження, в яких специфічні до чужорідних антигенів Т-лімфоцити активувалися алогенними клітинами. Однак і ця теорія виявилася помилковою.

Після відкриття феномену МНС-рестрикції було запропоновано третю модель алореактивності, згідно з якою один і той самий Т-клітинний рецептор здатний розпізнавати як чужорідний антиген у комплексі з власними молекулами МНС, так і певні алогенні молекули МНС. Існування Т-клітин зі специфічністю до алоантигену МНС та до інших чужорідних антигенів в асоціації з власними молекулами МНС вперше було продемонстровано на нерозділеній популяції алореактивних Т-кілерів при дослідженні їхньої цитотоксичної активності щодо клітин-мішеней методом холодного (конкурентного) гальмування. Принцип цього методу полягає в культивуванні цитотоксичних Т-лімфоцитів одночасно з міченими ^{51}Cr і неміченими (холодними) клітинами-мішенями за значного переважання останніх. У такій системі спостерігається помітне пригнічення цитотоксичної активності Т-лімфоцитів, що реєструється за гальмуванням виходу ^{51}Cr (показник лізису) з мічених клітин-мішеней. Отже, відбувається конкуренція немічених ^{51}Cr -"мішеней" із міченими при зв'язуванні зі специфічними рецепторами Т-лімфоцитів.

Алореактивні Т-кілери отримували внаслідок стимуляції *in vitro* клітин селезінки мишей лінії А опроміненими алогенними клітинами се-

лезінки мишей лінії Q. Виявилось, що отримані Т-кліери лінії А лізували мічені ^{51}Cr не тільки алогенні клітини лінії Q, якими вони були активовані, а й модифіковані гаптенем (ТНФ) клітини лінії А. Лізис мічених ^{51}Cr модифікованих мішеней лінії А гальмувався холодними мішенями лінії Q в такому самому ступені (> 50 %), що й модифікованими ТНФ мішенями лінії А. З даних експериментів випливало, що ті самі Т-клітини специфічні як до модифікованих гаптенем власних молекул МНС лінії А, так і алогенних молекул МНС лінії Q і, отже, несуть рецептори, специфічні до двох антигенних детермінант МНС: ТНФ-модифікованих власних і немодифікованих алогенних. Однак залишалося нез'ясованим питання, чи розпізнаються ці дві детермінанти одним чи двома незалежними рецепторами? У разі експресії на клітинній поверхні двох незалежних рецепторів зв'язування холодної мішені лінії Q з одним рецептором буде стерично блокувати взаємодію другого рецептора з міченими ^{51}Cr ТНФ-модифікованими мішенями лінії А.

Здатність Т-клітин, специфічних до чужорідного антигену в асоціації з власними молекулами МНС, вибірково реагувати на певні алогенні молекули МНС було чітко підтверджено в дослідах *in vitro*. Антигенспецифічний проліферувальний Т-клітинний клон отримували методом клонування в м'якому агарі вторинно стимульованих *in vitro* антигеном (ДНФ-А) імунних Т-лімфоцитів лімфатичних вузлів мишей лінії В10.А. Ріст клону можна було підтримувати *in vitro*, стимулюючи клітини цим самим антигеном за наявності сингенних АПК (клітини селезінки В10.А). Однак виявилось, що ріст цього клону були здатні підтримувати також алогенні АПК (клітини селезінки мишей лінії В10S). При цьому клітини клону не потребували наявності антигену для проліферації, тобто розпізнавали МНС іншого гаплотипу як свої, що представляють чужорідний антиген.

У подальших дослідженнях із використанням клонованих Т-лімфоцитів різних конгенних за МНС ліній мишей було виявлено, що частота алореактивних Т-клітин серед клітин із детермінованою специфічністю до чужорідного антигену добре корелює із загальною частотою алореактивних клітин до будь-якого алогенного гаплотипу в усій популяції Т-лімфоцитів. Це свідчить про те, що алореактивні Т-клітини і Т-клітини, специфічні до чужорідних антигенів в асоціації з власними молекулами МНС, не є окремими популяціями, як вважали раніше, а значною мірою перекриваються.

Таким чином, існують антигенспецифічні Т-лімфоцити, здатні виявляти також алореактивність. Незаперечні докази того, що той самий Т-рецептор розпізнає і чужорідний антиген в асоціації з власними молекулами МНС, і алогенну молекулу МНС, було отримано при використанні клонотипічних моноклональних антитіл. Специфічні до певного Т-клону антитіла, зв'язуючись із ним, пригнічують його реакцію не лише на відповідний чужорідний антиген, а й на певну ало-

генну молекулу МНС.

На основі результатів цих досліджень зроблено висновок про подвійну специфічність рецепторів Т-лімфоцитів – здатність розпізнавати чужорідний антиген у комплексі з власною молекулою МНС і один з алоантигенів того самого класу МНС (МНС I – для рецепторів Т-кілерів, МНС II – для рецепторів Т-хелперів). Отже, Т-клітини розпізнають чужі молекули МНС як змінені антигеном власні.

Як нині пояснюють розпізнавання алоантигенів Т-лімфоцитами з позиції МНС-рестрикції? В експериментах на клітинах трансгенних мишей, які не експресують молекули МНС I і МНС II, було показано, що здатність розпізнавати ці молекули, ймовірно, не залежить від відбору розпізнавання МНС під час розвитку Т-клітин у тимусі, а швидше зумовлена генетично. Тому алореактивність пов'язують із перехресною реактивністю (крос-реактивністю) Т-клітинних рецепторів, які специфічні до різних чужорідних пептидів в асоціації з власними молекулами МНС.

Як уже зазначалося, ТкР утворює нековалентні зв'язки як із МНС, так і з антигенним пептидом. При цьому недостатню афінність зв'язування з МНС може компенсувати висока афінність до пептиду і навпаки. Запропоновано два можливих механізми крос-реактивного розпізнавання. Перший механізм полягає в досить сильному зв'язуванні Т-рецепторів із пептидом, що асоційований з алогенною молекулою МНС. При цьому афінність зв'язування власне з молекулою МНС може бути низькою. Такий тип зв'язування (більш поширений) відбувається в разі значної спорідненості пептиду до Т-рецептора і називається *пептид-домінуючим зв'язуванням*. Інший тип крос-реактивного розпізнавання (менш поширений) більше залежить від спорідненості Т-рецептора до алогенних молекул МНС. Існування такого типу зв'язування було продемонстровано на клітинах-мішенях із дефектами процесингу антигенів. При цьому так званому *МНС-домінуючому зв'язуванню* Т-рецептор сполучається з унікальними структурами алогенних молекул МНС.

Обидва ці механізми крос-реактивного розпізнавання можуть реалізуватися під час розвитку імунної відповіді на трансплантат, причому другий, очевидно, може генерувати досить сильний сигнал, оскільки алогенні молекули МНС представлені в значній кількості на АПК. Вважають, що пептидозалежна алореактивність призводить до хронічного відторгнення трансплантата, тоді як МНС-залежна – до гострого.

На природу алореактивності проливають світло результати рентгеноструктурного аналізу комплексу МНС I з алореактивним ТкР, які було отримано в 2000 р. С.Райсер зі співавторами. Виявилося, що, на відміну від звичайного розпізнавання ТкР своїх МНС із чужорідним пептидом, при розпізнаванні алогенних МНС CDR3-петля α -ланцюга ТкР не бере участі у взаємодії з антигенним пептидом. На жаль, це

єдина встановлена на час написання цього підручника структура комплексу ТкР з алогенним МНС, тому робити остаточні висновки поки що зарано, однак, певно, алогенні МНС "помилково" розпізнаються ТкР, специфічними до власних МНС, що презентують пептиди чужорідних антигенів.

ВИСНОВКИ

Імунна система вищих хребетних може розпізнавати чужорідні субстанції за груповими та індивідуальними ознаками. Для певних груп мікроорганізмів характерні деякі спільні ознаки, такі як наявність клітинної стінки, певних хімічних угруповань тощо. Система природного імунітету спеціалізована на розпізнаванні саме цих ознак. Головними рецепторами цієї системи є лектинові та лектиноподібні PRR-рецептори, здатні взаємодіяти з вуглеводними залишками, а також PRR-рецептори, що розпізнають інші періодичні угруповання. Зазвичай ці рецептори мають низьку афінність до чужорідної субстанції, яка компенсується високою авідністю.

Система набутого імунітету спеціалізована на розпізнаванні індивідуальних ознак кожної чужорідної субстанції, що потрапила в організм або виникла в ньому. Головною ознакою системи набутого імунітету, на відміну від системи природного імунітету, є її специфічність, тобто здатність формувати імунну пам'ять після першого контакту з антигеном. Для розпізнавання антигенів система специфічного імунітету використовує структурні особливості варіабельних доменів білків імуноглобулінової суперродини. Завдяки певним генетичним механізмам, які розглядатимуться в наступному розділі, може формуватися велика різноманітність рецепторів Т- і В-клітин, причому вся їхня мінливність зосереджена в CDR-петлях, які утворюють активний центр.

ВкР і антитіла здатні розпізнавати антигени у вільному стані, а ТкР – тільки в комплексі з МНС. Розпізнавання Т-клітинами найрізноманітніших чужорідних антигенів завжди рестрикується (обмежується) антигенами гістосумісності. Т-Клітини розпізнають Т-епітопи – пептиди тимусзалежних антигенів в асоціації з власними (сингенними) молекулами МНС.

Наявність у структурі антигенів Т-епітопів є необхідною передумовою їх імуногенності, а асоціація Т-епітопів із молекулами МНС та представлення відповідних комплексів на мембранах власних клітин – передумовою їх розпізнавання Т-клітинами і стимулювання імунної відповіді. Алогенні антигени МНС є об'єктом розпізнавання при трансплантаціях.

Контрольні запитання

1. Назвіть особливості розпізнавання чужорідних агентів системами природного і набутого імунітету.
2. Які є класи рецепторів, що впізнають чужорідні агенти? Охарак-

теризуйте їх.

3. Охарактеризуйте рецептори В- і Т-клітин.

4. Які є способи розпізнавання антигену специфічними рецепторами? Проведіть порівняльний аналіз.

5. Які структурні особливості забезпечують специфічність рецепторів, що впізнають антиген?

6. Проведіть порівняльний аналіз будови ТкР- та Fab-фрагментів антитіл.

7. Поясніть терміни "МНС-рестрикція" та "алореактивність", а також існування обох цих явищ.