

органической патологии и, возможно, обосновывает проведение антихеликобактерной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Drossman D.A. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. // *Gastroenterology* 2006; 130 (5): 1377–90.
2. Ашмарин И.П., Ещенко Н.Д., Каразеева Е.П. *Нейрохимия в таблицах и схемах.* – М.: Экзамен, 2007.
3. Агафонова Н.А. Механизмы формирования моторных нарушений при функциональных заболеваниях желудочно-кишечного тракта. От патогенеза к лечению // *Доктор.ру. Гастроэнтерология* – № 2 (103), 2015 – С. 1–5.
4. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // *Медицинский академический журнал.* – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 18–41.
5. Dinarello C. Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family // *Ann. Rev. Imm.* – 2009. – Vol. 27. – P. 519–550.
6. Bamias G., Arseneau K.O., Cominelli F. Cytokines and mucosal immunity. // *Curr Opin Gastroenterol.* 2014;30(6):547–52.
7. Lee Y.S., Yang H., Yang J.Y., Kim Y, Lee S.H., Kim J.H., Jang Y.J., Vallance B.A., Kweon M.N. Interleukin-1 (IL-1) signaling in intestinal stromal cells controls KC/CXCL1 secretion, which correlates with recruitment of IL-22-secreting neutrophils at early stages of *Citrobacter rodentium* infection. *Infect Immun.* 2015;83(8):3257–67.
8. Lebeis S.L., Powell K.R., Merlin D., Sherman M.A., Kalman D. Interleukin-1 receptor signaling protects mice from lethal intestinal damage caused by the attaching and effacing pathogen *Citrobacter rodentium*. // *Infect Immun.* 2009;77(2):604–14.
9. Manzanillo P., Eidenschenk C., Ouyang W. Deciphering the crosstalk among IL-1 and IL-10 family cytokines in intestinal immunity. // *Trends Immunol.* 2015;36(8):471–8.
10. Jung Y., Wen T., Mingler M.K., Caldwell J.M., Wang Y.H., Chaplin D.D., Lee E.H., Jang M.H., Woo S.Y., Seoh J.Y., Miyasaka M., Rothenberg M.E. IL-1 in eosinophil-mediated small intestinal homeostasis and IgA production. // *Mucosal Immunol.* 2015;8(4):930–42.
11. Scarpa M., Kessler S., Sadler T., West G., Homer C., McDonald C., de la Motte C., Fiocchi C., Stylianou E. The epithelial danger signal IL-1 is a potent activator of fibroblasts and reactivator of intestinal inflammation. // *Am J Pathol.* 2015;185(6):1624–37.
12. Bersudsky M., Luski L., Fishman D., White R.M., Ziv-Sokolovskaya N., Dotan S., Rider P., Kaplanov I., Aychek T., Dinarello C.A., Apte R.N., Voronov E. Non-redundant properties of IL-1 and IL-1 during acute colon inflammation in mice // *Gut.* 2014;63(4):598–609.
13. Звягин А.А. Функциональная диспепсия и хронический гастрит у детей: оптимизация диагностики, лечения и реабилитации : автореф. дис. ... д-ра мед. наук: специальность 14.00.09. // *Педиатрия.* – М., 2006. – 51 с. ■

Guo S, Guo Y, Ergun A et al.

Secreted metabolites of *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus acidophilus* protect immature human enterocytes from IL-1 β -induced inflammation: a transcription profiling analysis

[Секретированные метаболиты *Bifidobacterium infantis* и *Lactobacillus acidophilus* защищают незрелые человеческие энтероциты от IL-1 β -индуцированного воспаления: анализ транскрипционного профилирования]

PLoS One. 2015 Apr 23;10(4):e0124549.

Было представлено сочетание режимов приема *Bifidobacterium infantis* и *Lactobacillus acidophilus* для профилактики некротического энтероколита (НЭ) в ходе клинических исследований. Однако молекулярные механизмы, ответственные за этот протективный эффект, не до конца изучены. Кроме того, кондиционированные

среды отдельных культур этих двух пробиотиков показали штамм-специфическое модулирование воспаления у моделей НЭ человека *in vitro*. Авторы сообщают об анализе транскрипционного профилирования экспрессии гена в незрелых человеческих эмбриональных эпителиальных клетках кишечника (H4 cells), предварительно

обработанных кондиционированной средой от *B. infantis* (BSM) и *L. acidophilus* (LSM) до IL-1 β стимуляции. По сравнению с контрольной средой, два метода обработки пробиотик-кондиционированной средой (ПКС) изменяют экспрессию сотен генов, вовлеченных в иммунный ответ, апоптоз и клеточное выживание, клеточную адгезию, клеточный цикл, рост и развитие кровеносных сосудов. В IL-1 β -стимулированных клетках обработка ПКС уменьшила повышенную экспрессию генов в каскаде реакций активации транскрипционного фактора (NF- κ B) и пониженную экспрессию генов, связанную с ремоделированием внеклеточного матрикса (BM).

По сравнению с LSM, BSM показал более значительное модулирующее влияние на ремоделирование BM, выраженное снижением величины. Продукция IL-6 и IL-8 была значительно снижена в IL-1 β -стимулированных

клетках, предварительно обработанных ПКС ($p < 0,05$), что было совместимо с их измененной экспрессией гена.

Иммуноблоттинг показал, что по сравнению со стимуляцией только IL-1 β , обработка ПКС ослабляла снижение уровней цитоплазматических I κ B α и NF- κ B p65, а также снижение уровней нуклеарных NF- κ B p65 в стимулированных клетках ($p < 0,05$). Таким образом, обработка ПКС проявила противовоспалительный эффект в незрелых человеческих эмбриональных энтероцитах прежде всего при помощи модулирования генов в сигнальном пути NF- κ B и ремоделирования BM. Кроме того, некоторые компоненты этих сигнальных путей, особенно ремоделирование BM, были более глубоко связаны с BSM, чем с LSM.

O.P.

Weidlich S, Bulau AM, Schwerdt T et al.

Intestinal expression of the anti-inflammatory interleukin-1 homologue IL-37 in pediatric inflammatory bowel disease

[Интестинальная экспрессия противовоспалительного интерлейкина-1, идентичного интерлейкину-37, при воспалительных заболеваниях кишечника у детей]

J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014 Aug;59(2):e18-26.

Авторы показали в более ранних работах, что интерлейкин (IL)-37 подавляет толстокишечное воспаление у мышей. Чтобы получить больше сведений о его роли при заболеваниях у людей, авторы исследовали экспрессию IL-37 в толстой кишке детей с хроническим воспалительным заболеванием кишечника (ВЗК).

Биопсия кишечника была проведена при эндоскопическом исследовании детей с ВЗК (18 – с болезнью Крона [БК], 14 – с неспецифическим язвенным колитом [НЯК], 11 – здоровые дети, контрольная группа) и изучена экспрессия IL-37 с помощью иммуногистохимического исследования и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Результаты были сопоставлены иммуноокрашиванием с IL-18 и IL-17, уровнями мРНК про- и противовоспалительных цитокинов и клиническими симптомами.

Белок IL-37 был обнаружен в эпителиальных клетках и субмукозальных лимфоидных клетках пациентов с БК, НЯК и группы контроля. Экспрессия белка IL-37 имела тенденцию к повы-

шению с инфильтрацией субмукозальных лимфоидных клеток у пациентов с БК и НЯК и коррелировала с гистологической степенью тяжести воспаления.

IL-18 показал, что окрашенный образец подобен такому у IL-37, тогда как окрашивание для IL-17 выявило различные позитивные клетки, рассеянные в подслизистом слое. Экспрессия мРНК IL-8, IL-17 и IL-10 была повышена у пациентов с БК и НЯК. Уровни мРНК IL-18 и IL-37 не были значительно повышены по сравнению с контрольной группой. Уровни мРНК IL-37 и IL-18 показали положительную корреляцию с группой БК.

Таким образом, белок IL-37 экспрессировался в здоровой и пораженной болезнью ткани кишечника. IL-37 и IL-18 показали такой же профиль экспрессии и коррелировали с уровнями мРНК. Будущие исследования необходимы для определения специфического вклада IL-37 с целью создания модели хронического воспаления кишечника у людей.

O.P.

Дендритные клетки кишечника

Е.А. Грищенко

Научно-клинический консультативный центр аллергологии и иммунологии,
г. Москва

Intestinal dendritic cells

E.A. Grishchenko

Dendritic cells (DCs) within the intestinal compartments have been extensively studied and much is now known regarding their phenotype. DCs are essential modulators of the immune system as they maintain the balance between immunogenic and tolerogenic immune responses in the intestine. Gut-associated DCs play a key role in the induction of Treg cells and maintaining immunological tolerance. Dysregulation of DCs function can result in severe intestinal inflammation. Given the pivotal role of DCs in regulating the balance between immunity and tolerance, much effort has been put into the generation of tolerogenic DCs in recent years. The efficacy of treatments for food allergy, such as oral allergen immunotherapy (OIT) or sublingual allergen immunotherapy (SLIT), might be enhanced by the use of adjuvants designed to enhance the tolerogenic properties of DCs.

Основное воздействие пищевых аллергенов осуществляется через слизистую желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), представляющую самую большую в организме человека контактирующую с окружающей средой поверхность [1] площадью 300 квадратных метров [2].

Поскольку слизистая ЖКТ, наряду со слизистой дыхательных путей, является основным местом внедрения патогенных микроорганизмов, развитие здесь эффективных иммунных реакций жизненно важно для предотвращения инфекций. С другой стороны, необходимы различные регуляторные механизмы, способные предотвращать развитие повреждающих воспалительных реакций на безвредные антигены (пищевые белки и синантропные бактерии). Появляется все больше доказательств, что популяции дендритных клеток (DCs), расположенные в ЖКТ, крайне важны для поддержания данного иммунологического баланса [3].

Иммунная система кишечника состоит из нескольких основных компонентов: ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани (GALT), которая включает Пейеровы бляшки (PPs) и изолированные лимфоидные фолликулы (ILFs), и дренирующего кишечника мезентериальных лимфатических узлов (MLNs) [4].

Являясь важнейшими клетками иммунной системы кишечника, DCs заслуживают отдельного внимания для понимания механизмов оральной толерантности и пищевой аллергии и создания эффективных терапевтических стратегий.

ПОПУЛЯЦИИ DCs КИШЕЧНИКА

В слизистой кишечника располагаются многие клетки семейства мононуклеарных лейкоцитов, в том числе макрофаги и DCs, и в настоящее время хорошо известно, что они играют важнейшую роль в организации иммунного ответа в кишечнике. DCs являются профессиональными антигенпрезентирующими клетками (APC) и ключевыми модуляторами иммунного ответа благодаря своей способности презентировать антигены Т-клеткам [3].

DCs кишечника достаточно широко изучены, и в настоящее время многое известно об их фенотипах [3].

DCs располагаются по всему кишечнику, в том числе в собственной пластинке (LP) как тонкого, так и толстого кишечника, в PPs, MLNs, а также в ILFs [3].

Первоначально DCs кишечника мышей были определены как CD11c⁺МНС-II клетки. На основании экспрессии маркеров αE-интегрина CD103 и рецептора CX₃CR1, были выделены две популяции CD11^{high} клеток [5]:

- CD11^{high}CD103⁺CD11b⁺CX₃CR1⁻(CD103⁺CD11b⁺)DCs;
- CD11^{high}CD103⁻CD11b⁺CX₃CR1⁺(CD103⁻CD11b⁺)DCs [3].

Большинство CD11^{high} DCs в LP тонкого кишечника экспрессируют CD103. Помимо LP тонкого кишечника, также данные клетки располагаются в пределах PPs, LP ободочной кишки и MLNs.

Работы Merad и соавт. показали, что CD11^{high}DCs отсутствуют в серозном и мышечном слоях кишечника [3].

Исследования методом иммунофлуоресценции установили расположение CD103⁺CD11c⁺DCs в пределах LP и интраэпителиальных пространств апикальных участков ворсинок, в отличие от CD103⁻CD11b⁺DCs, которые преимущественно сосредоточены в LP [3].

В PPs располагаются: CD11^{high}CD103⁺CD11b⁻CX₃CR1⁻(CD103⁺CD11b⁻)DCs. CD11c^{low}CD103⁻CD11b⁺DCs определяются по всему мышечному и серозному слоям кишечника [3].

Гранулоцитарно-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор (GM-CSF) и Flt3-лиганд (Flt3L) являются важными цитокинами, участвующими в развитии DCs. Flt3L, необходимый для образования обеих популяций DCs в LP, более важен для CD103⁺CD11b⁺DCs. В отличие от CD103⁻CD11b⁺DCs, для развития популяции CD103⁺CD11b⁺DCs также требуется GM-CSF [3].

В состоянии покоя общие предшественники DCs и пре-DCs не вносят существенного вклада в развитие популяции CD103⁻CD11b⁺DCs в LP, в отличие от моноцитов, которые активно дифференцируются в данные клетки [3].

Исследования показывают, что в то время как CD103⁺DCs экспрессируют CCR7 и активно мигрируют в нормальных условиях, CD103⁻DCs являются резидентной немигрирующей популяцией [3].

Несмотря на гетерогенность, DCs обладают функциональными свойствами, которые отличают их от других клеток – в частности, они выступают в качестве ключевого связующего звена между врожденной и адаптивной иммунными системами [3].

ЗАХВАТ АНТИГЕНА И СПОСОБНОСТЬ DCs КИШЕЧНИКА К МИГРАЦИИ

Основной путь поступления антигена через эпителий кишечника обеспечивается М-клетками. Но в 2001 году Rescigno и соавт. предложили иной путь, не зависимый от М-клеток. Предыдущие исследования показали, что *Salmonella typhimurium*, у которой отсутствовали гены инвазии, после орального введения

обнаруживалась в селезенке. Rescigno и соавт. показали способность резидентных DCs кишечника «открывать» плотные соединения между эпителиальными клетками, направлять свои дендриты в эпителий и напрямую захватывать бактерии из просвета кишечника. Поскольку DCs экспрессируют белки плотных соединений окклюдин и клаудин-1, целостность эпителиального барьера при этом сохраняется, что предотвращает развитие воспалительных реакций на бактерии, располагающиеся в кишечнике [3].

Дальнейшие исследования с использованием трансгенных мышей показали, что для формирования дендритов важнейшее значение имеет рецептор CX₃CR1 [3]. Способность направлять трансэпителиальные дендриты к антигенам в просвет кишечника является особенностью CX₃CR1⁺DCs [5]. В исследованиях на мышах показано, что спустя 30–60 минут после кормления декстраном либо овальбумином (OVA) в LP кишечника определялись CD11c⁺ клетки, содержащие данные антигены [6].

Хотя CD103⁺DCs не направляют дендриты между эпителиальными клетками, они захватывают антигены из бокаловидных клеток, которые выступают в качестве канала между просветом и слизистой кишечника. Кроме того, CD103⁺DCs могут захватывать транспортируемые через кишечный эпителий антигены трансцеллюлярным, парацеллюлярным путем или с помощью М-клеток [7].

Итак, DCs кишечника захватывают антигены либо из просвета кишечника, либо с помощью специализированных М-клеток и презентуют их наивным Т-клеткам в PPs или дренирующих кишечник MLNs [1]. Фактически, способ поглощения антигена зависит от его природы. Твердые частицы в основном доставляются в GALT путем трансцитоза через М-клетки, в то время как растворимые антигены индуцируют оральную толерантность после захвата DCs [4].

CD103⁺DCs, мигрирующие из LP в MLNs, ответственны за доставку и распознавание антигенов в GALT. При этом DCs лимфоидной ткани кишечника, экспрессирующие CD103, никогда не поступают в циркуляцию за пределы MLNs [4].

Популяция $CD103^+$ DCs отличается от CX_3CR1 -экспрессирующей популяции LP. Данные клетки по-разному реагируют на факторы роста и имеют разные скорости жизненных циклов, что свидетельствует о различии их предшественников. Schulz и соавт. показали, что у мышей, лишенных CX_3CR1 , основной мигрирующей в MLNs популяцией являлись $CD103^+$ DCs LP. По сравнению с CX_3CR1^{high} DCs, $CD103^+$ DCs гораздо более мощно индуцируют Т-клеточные ответы в кишечнике, что подчеркивает их важность. CX_3CR1^+ DCs экспрессируют значительно более низкие уровни *aldha1a2* и в результате оказываются неэффективными для активации CCR9 на Т-клетках. Также данные популяции отличаются по способности продуцировать ретиноевую кислоту (RA) [3].

Миграция DCs из LPs в MLNs зависит от хемокинового рецептора CCR7 [4]. Ухудшение миграции DCs в MLNs у мышей, не имеющих CCR7, приводит к нарушению индукции толерантности к оральным антигенам, поэтому важность непрерывного переноса антигенов в MLNs для поддержания целостности слизистых доказана. Дополнительно это было подтверждено Varol и соавт., которые установили, что когда у мышей обнаруживались только $CD103^-CX_3CR1^+$ DCs, они были более восприимчивы к развитию индуцированного колита [3].

CD103⁺ DCS И КИШЕЧНЫЙ ХОМИНГ Т-КЛЕТОК

$CD103^+$ DCs в MLNs обладают уникальным свойством индуцировать кишечный хоминг (возвращение клеток в кишечник). Эти клетки отвечают за повышенную экспрессию CCR9 и $\alpha 4\beta 7$ в $CD8^+$ Т-клетках. Данные маркеры важны для активной миграции клеток в периферические нелимфоидные ткани. После орального воздействия антигена и совместного культивирования $CD103^+$ DCs MLNs и Т-клеток наблюдается индукция экспрессии CCR9 и $\alpha 4\beta 7$. Напротив, после интраперитонеальной инъекции антигена $CD103^+$ DCs не способны индуцировать экспрессию CCR9 и $\alpha 4\beta 7$ в Т-клетках [3].

Было показано, что метаболит витамина А RA отвечает за индукцию экспрессии CCR9 и $\alpha 4\beta 7$ в Т-клетках. Превращения RA зависят от ретиналь-

дегид-дегидрогеназы-2 (RALDH2), которая экспрессируется в DCs MLNs, а также в стромальных клетках. $CD103^+$ DCs MLNs и LP экспрессируют гораздо более высокие уровни фермента, чем $CD103^-$ DCs. В то время как $CD103^-$ DCs MLNs сохраняют способность примировать $CD4^+$ и $CD8^+$ клетки, им не хватает способности индуцировать кишечный хоминг наивных Т-клеток, что отражает уникальность популяции $CD103^+$ DCs [3].

Для полной реализации способности индуцировать кишечный хоминг Т-клеток GALT-ассоциированным DCs в MLNs необходимы негемопоэтические стромальные клетки. Следует отметить, что стромальные клетки периферических лимфатических узлов не способны инициировать кишечный хоминг Т-клеток. Стромальные клетки MLNs продуцируют высокие уровни ферментов, участвующих в метаболизме RA. Также стромальные клетки MLNs (но не дренирующих кожу лимфатических узлов) поддерживают генерацию Foxp3⁺ регуляторных Т-клеток (Tregs). Таким образом, специфическое микроокружение кишечника и синергическое взаимодействие стромальных клеток и DCs в MLNs играют решающую роль в индукции кишечного хоминга Т-клеток и ассоциированных с кишечником Tregs [4].

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА С ПОМОЩЬЮ DCS

Для поддержания местного иммунного гомеостаза, предотвращения аутоиммунных заболеваний и контроля воспаления иммунная система использует ряд регуляторных механизмов [3]. Развитие оральной толерантности зависит от клональной анергии и делеции Т-клеток, а также активации антиген-специфических Tregs [1]. Tregs рассматриваются в качестве первичных «медиаторов» периферической толерантности и крайне важны для профилактики хронических воспалительных заболеваний [3].

Отсутствие всех лимфатических узлов и PPs у мышей приводит к потере оральной толерантности, которая может быть восстановлена с помощью специально индуцированной формации MLNs. Аналогичным образом, хирургическое удаление MLNs у мышей блокирует индукцию оральной толерантности. Эти дан-

ные свидетельствуют о том, что иммунная система кишечника и особенно MLNs играют основную роль в индукции оральной толерантности [4].

Одной из стратегий по предотвращению воспаления в ЖКТ является расположение в нем DCs [3]. Поглощение антигена DCs в LP является критическим моментом в индукции толерантности к растворимым антигенам в тонком кишечнике [4], поскольку DCs кишечника играют ключевую роль в активации Tregs [1].

Было показано, что DCs эффективно поглощают экзосомы. Экзосомы, содержащие МНС-II и антигенные пептиды, способны индуцировать толерантность у мышей-реципиентов после выделения из сыворотки животных, которых кормили данным антигеном [4].

Первоначальные эксперименты показали, что способностью индуцировать образование Tregs обладают незрелые или частично зрелые DCs, в то время как зрелые DCs активируют различные эффекторные популяции Th-клеток, в зависимости от стимулов, создаваемых специфическим микроокружением. Однако результаты последующих исследований демонстрируют, что при определенных условиях полностью зрелые DCs также способны индуцировать Tregs [8].

Резидентные DCs слизистой кишечника, управляющие дифференцировкой Tregs, характеризуются экспрессией CD11c и CD103 [1]. Пиев и соавт. показали, что CD103⁺DCs индуцируют толерантность и кишечный хоминг, защищая от экспериментально индуцированного колита у мышей. Толерогенный эффект CD103⁺DCs дополнительно был подтвержден тем, что при целиакии число CD11c⁺CD103⁺DCs в зонах поражения снижено [3]. Сенсibilизация к арахису также сопровождается уменьшением числа CD103⁺DCs [5]. В исследованиях показано, что увеличение числа CD103⁺DCs в кишечнике способствует формированию оральной толерантности к OVA и уменьшению симптомов мальабсорбции. Также в исследованиях продемонстрирован протективный эффект CD103⁺DCs в отношении пищевой аллергии при воздействии суперантигена или длительном поступлении антигена оральным путем [9].

Установлено, что перенос антигена из LP в MLNs с помощью CD103⁺DCs является ключевым событием для индукции системного эффекта оральной толерантности [6].

Механизмы, используемые DCs для поляризации Tregs при индукции периферической толерантности, являются важной областью исследований. Для индукции Tregs DCs используют большой арсенал растворимых и костимуляторных молекул. Так, в нормальных условиях мигрирующие CD103⁺DCs способствуют образованию алерген-специфических Tregs из наивных T-клеток с помощью TGF- β , RA и фермента индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) [8].

Продуцируемая CD103⁺DCs RA играет важную роль для ускорения индукции индуцибельных Tregs (iTregs) [3]. Как известно, RA подавляет экспериментально вызванное воспаление кишечника (илеит) путем восстановления баланса между провоспалительными Th17-клетками и iTregs у мышей [4]. Предварительная инкубация DCs с синтетическим ингибитором RA предотвращает индукцию iTregs [3].

Было показано, что ретиноиды желчи оказывают влияние на ретинол-метаболизирующую активность CD103⁺DCs тонкого кишечника мышей, повышая способность генерировать эффекторные T-клетки, участвующие в кишечном хоминге, и индуцировать образование Foxp3⁺ T-клеток [5].

Эксперименты на мышиных моделях показали, что присутствие RA в провоспалительной среде может подавлять толерантность и способствовать воспалительной реакции [5]. Следовательно, регулирование дифференцировки T-клеток с помощью RA зависит от сопутствующих сигналов, которые, в конечном счете, определяют направление иммунного ответа в сторону толерогенного либо воспалительного [1].

Сообщается о роли IDO в опосредованной CD103⁺DCs индукции iTregs. Показано, что CD103⁺DCs (но не CD103⁻DCs) экспрессируют IDO, ингибирование которой приводит к снижению образования CD4⁺FoxP3⁺ Tregs и усилению пролиферации T-клеток. Генетическая делеция IDO приводит к увеличению числа провоспалительных Th1- и Th17-клеток, а делеция IDO блокирует индукцию Tregs и вызывает обострение колита у мышей [3].

Способность DCs кишечника содействовать дифференцировке Tregs также обеспечивается интестинальными эпителиальными клетками (IECs), которые экспрессируют RALDH2. От продукции TGF- β и RA за счет IECs зависит дифференцировка DCs, индуцирующих Tregs [1].

Отмечено, что различные штаммы и виды молочнокислых бактерий регулируют активацию и созревание DCs, но только некоторые пробиотические штаммы приводят к образованию Tregs за счет DCs. В одном из исследований число CD103⁺ DCs было увеличено путем стимуляции *Lactobacillus paracasei* L9 как *in vivo*, так и *in vitro*. *In vitro* данная стимуляция ассоциировалась с более высоким уровнем экспрессии RALDH2. Управление CD11c⁺CD103⁺DCs и частично зрелыми DCs посредством пробиотиков является важным моментом в предупреждении антиген-специфических иммунных реакций [9].

Также поддержание толерогенного микроокружения DCs обеспечивается иммуносупрессивным цитокином IL-10 и индукцией его продукции Т-клетками [1].

Новые данные свидетельствуют о том, что взаимодействие лектиновых рецепторов С-типа (CLRs) DCs и антигенов может обеспечить стратегию для развития оральной толерантности к пищевым продуктам. Это подтверждается исследованиями Yufeng Zhou и соавт. [10].

В своих экспериментах Zhou и соавт. использовали две группы мышей. В течение нескольких недель первую группу кормили немодифицированной формой бычьего сывороточного альбумина (BSA), вторая группа получала маннозилированный BSA (BSA, ковалентно связанный с остатками маннозы). После периода сенсibilизации в качестве провокации мыши получали большие дозы немодифицированного BSA. В результате оказалось, что при воздействии BSA мыши первой группы (получавшие немодифицированный BSA в течение периода сенсibilизации) развивали серьезные аллергические реакции с высоким уровнем IgE, а мыши второй группы (которых кормили маннозилированным BSA) имели относительно низкий уровень IgE, пониженное высвобождение гистамина и не развивали тяжелых аллергических реакций. Ученые установили, что это DCs кишечника более активно осуществляют эндоцитоз маннозилированно-

го BSA и что за его распознавание и связывание отвечают CLRs [10].

Zhou и соавт. показали, что применение DCs, экспрессирующих CLRs SIGNR1 и содержащих маннозилированный BSA, приводило к поразительному увеличению экспрессии IL-10, обладающего иммуносупрессивными свойствами. Также Zhou и соавт. определили, что культивирование Т-клеток с SIGNR1-экспрессирующими DCs, подвергшимися действию маннозилированного BSA, приводило к дифференцировке Т-клеток в Tregs 1 типа с увеличением уровня экспрессии IL-10 и IFN- γ . Инкубация DCs с блокирующими анти-SIGNR1 антителами приводила к подавлению повышенной экспрессии IL-10 и IFN- γ Т-клетками [10].

В отличие от супрессивной функции CD103⁺DCs, CD103⁻DCs, выделенные из MLNs, ассоциированы с продукцией провоспалительных цитокинов. Например, при стимуляции липополи-сахаридом (LPS) CD103⁻ DCs вырабатывают TNF- α и IL-6 в высоких концентрациях [3]. CD103⁻CD11b⁺CX₃CR1^{intz}DCs индуцируют дифференцировку провоспалительных IFN- γ - и IL-17-продуцирующих эффекторных Т-клеток. Введение Flt3L приводит к индукции экспрессии CD103 на CD103⁻DCs и превращению этих клеток из провоспалительных в толерогенные CD103⁺DCs [4].

Показано, что воспаление подавляет толерогенную способность популяции CD103⁺DCs в MLNs. Этот эффект опосредован подавлением генов *tgfb2* и *aldh1a2* в DCs. У мышей с колитом способность CD103⁺DCs MLNs индуцировать FoxP3⁺ Tregs была нарушена, и данные DCs обладали усиленной способностью примировать IFN- γ продуцирующие Т-клетки. Также было обнаружено, что при колите экспрессия CD103 резидентными DCs кишечника утрачивается [3].

Таким образом, локальное микроокружение и провоспалительные/противовоспалительные стимулы могут существенно влиять на фенотип и функции DCs кишечника [4].

Помимо DCs кишечника, в формировании оральной толерантности принимают участие DCs других органов ЖКТ.

Ряд данных подтверждают, что печень выступает в качестве «толерогенной» области для кишечных антигенов. Анатомически печень является

конечной точкой доставки крови по воротной вене непосредственно из кишечника. Печень обогащена специализированными APC, которые в первую очередь вовлекаются в индукцию толерантности. К ним относятся клетки Купфера и обычные DCs печени. Плазмоцитоподобные DCs (pDCs) печени играют особую роль в индукции системной толерантности к оральным антигенам путем инициации анергии антиген-специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток [4]. Smit и соавт. показали, что увеличение числа DCs перед воздействием арахиса ингибирует продукцию специфических к арахису IgE, дегрануляцию тучных клеток и продукцию Th2-цитокинов. Считается, что данный защитный эффект связан с увеличением популяции pDCs [5]. Эти данные подтверждают, что pDCs представляют уникальную популяцию DCs с внутренним толерогенным потенциалом [8].

В селезенке и периферических лимфатических узлах, располагающихся за пределами печени, резидентные DCs даже при отсутствии костимуляции могут индуцировать местную и системную толерантность к антигенам посредством инициации анергии эффекторных Т-клеток или индукции Tregs, но менее эффективно, чем GALT-ассоциированные DCs. Вполне вероятно, что именно кишечные DCs играют ключевую роль в индукции системной толерантности [4].

РОЛЬ DCs В ИНДУКЦИИ Th2-ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И РАЗВИТИИ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ

Иммунная система ЖКТ подвергается воздействию разнообразных пищевых продуктов, однако лишь небольшое число данных воздействий индуцирует сенсибилизацию и развитие симптомов аллергии. Известно около 400 пищевых аллергенов, представляющих 71 семейство белков [1]. Самыми распространенными продуктами, вызывающими аллергию, являются коровье молоко, куриное яйцо, арахис, лесные орехи, рыба, моллюски, пшеница и соя [10]. В связи с тем, что в подавляющем большинстве случаев пищевая аллергия вызывается такой небольшой группой белков, можно предположить, что данные белки обладают определенными свойствами, объясняющими их аллергенность. Одно из объяснений может заключаться в том, что данные пищевые продукты действуют как адъюванты и стимули-

руют DCs инициировать аллерген-специфическую Th2-дифференцировку [1].

Активация DCs, ведущая к Th2-опосредованным иммунным ответам, имеет решающее значение для развития аллергии [11].

Большое число исследований по изучению фенотипов и функций DCs было проведено на мышиных моделях пищевой аллергии. О фенотипах и функциях DCs при аллергии у человека известно немного [1].

Отмечено, что основным аллергеном арахиса гликопротеин Ara h 1 стимулирует DCs человека, индуцируя дифференцировку наивных Т-клеток в Th2-клетки. Ara h 1 связывается с CLRс DC-SIGN. Дегликозилированный Ara h 1 не приводит к преобладанию Th2-ответа, демонстрируя, что связывающие аллерген углеводные структуры выступают в качестве адъюванта для активации Th2-ответа. Другие исследования показали, что гликозилирование белков усиливает их захват DCs и иммуногенность Т-клеток, а также способность индуцировать дифференцировку Th2-клеток. Инкубация DCs с трисахаридами подавляет продукцию Th1-индуцирующего цитокина IL-12, что позволяет объяснить преобладание Th2-ответа, вызванного данными гликанами. Отмечено, что негликозилированный белок арахиса активирует экспрессию RALDH2 миелоидными DCs человека (mDCs) [1].

Таким образом, биохимические особенности пищевых аллергенов позволяют им выступать в качестве Th2-адъювантов [8].

Изофлавоны являются противовоспалительными молекулами, обнаруживаемыми в сое. В мышинной модели аллергии на арахис оральное применение изофлавонов уменьшало аллергические симптомы, вызванные арахисом. Кроме того, в организме человека изофлавоны ингибируют индуцированное холерным токсином (СТ) созревание DCs MLNs и уменьшают продукцию Th2-цитокинов в культурах СТ-примированных DCs и CD4⁺ наивных Т-клеток. Иммуносупрессивная способность изофлавонов может объяснить тот факт, что соя является менее аллергенным продуктом, чем арахис, в то время как белки данных продуктов содержат во многом гомологичные аминокислотные последовательности [1].

Важность DCs в развитии индуцированной пищевыми аллергенами аллергической реакции

была показана с помощью адоптивного переноса DCs от мышей с аллергией на коровье молоко наивным реципиентам. При этом, несмотря на отсутствие предшествующей иммунизации, у мышей-реципиентов развивались специфические IgE- и IgG-ответы на коровье молоко. Та же группа исследователей сообщила, что DCs мышей с аллергией на коровье молоко были более устойчивы к апоптозу, индуцированному специфическими к коровьему молоку CD4⁺ Т-клетками, чем DCs мышей группы контроля. В другой мышинной модели аллергии было замечено, что культивирование резистентных к апоптозу DCs мышей с аллергией (после адоптивного переноса наивным сингенным реципиентам) с наивными Т-клетками приводило к Th2-дифференцировке и индукции аллерген-специфических IgE-ответов. Эти данные позволяют предположить, что резистентность к апоптозу является особенностью DCs, что вносит свой вклад в развитие IgE-опосредованной аллергии [1].

Хорошо известно, что изолированное оральное введение антигена не приводит к аллергической сенсibilизации и способствует формированию иммунологической толерантности [12]. В мышинных моделях пищевой аллергии показано, что аллергическая сенсibilизация к пищевым антигенам, поступающим оральным путем, требует наличия специфических адьювантов, таких как СТ или стафилококковый энтеротоксин В (SEB). Детальные механизмы, с помощью которых данные адьюванты способствуют Th2-сенсibilизации, не до конца понятны, но DCs кишечника играют ключевую роль в данном процессе [8].

В одном из исследований на мышинной модели пищевой аллергии были проанализированы изменения популяций DCs кишечника после изолированного воздействия СТ и комбинации СТ с экстрактом арахиса. Увеличение числа DCs осуществлялось путем применения Flt3L *in vivo*. Сенсibilизация к экстракту арахиса сопровождалась смещением популяций DCs кишечника преимущественно в пользу CD11b⁺DCs [11]. В основном указанные эффекты были индуцированы за счет СТ, поскольку ответы на изолированный СТ и комбинацию СТ с арахисовым экстрактом оказывались сопоставимы [1]. Существенных изменений числа pDCs не наблюдалось. Применение Flt3L приводило к увеличению чис-

ленности всех популяций DCs и торможению манифестации аллергии, включая производство Th2-цитокинов, специфических к арахису IgE и дегрануляцию тучных клеток. Истощение pDCs подавляло Flt3L-индуцированное ингибирование IgE-ответов и дегрануляцию тучных клеток [11].

В другом исследовании оральное применение СТ приводило к увеличению численности CD11c⁺ популяции в MLNs. СТ индуцировал селективную миграцию CD11c⁺CD11b⁻ DCs и созревание всех популяций DCs. Также СТ индуцировал усиление экспрессии Jagged-2 и OX40L в DCs MLNs [12].

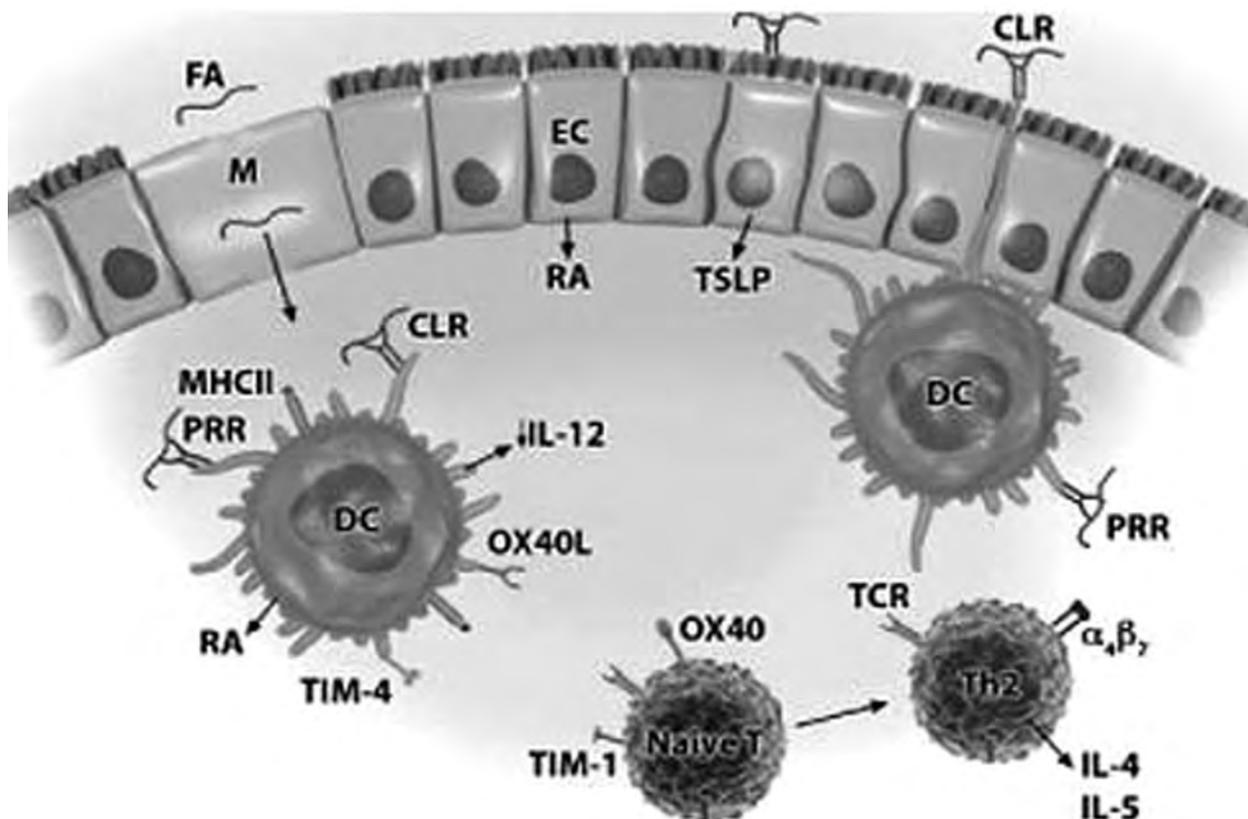
Молекула OX40L опосредует преобладание Th2-ответа и считается важным индуктором сенсibilизации к пищевым аллергенам. Применение нейтрализующих анти-OX40L антител полностью подавляет СТ-индуцированный Th2-ответ. В связи с этим генетические модификации OX40L или внешние факторы, которые модулируют экспрессию OX40L, могут иметь решающее значение для развития аллергической сенсibilизации, а не толерантности при пищевой аллергии у человека [7].

DCs лимфоидных органов экспрессируют белок TIM-4, а Т-клетки – его лиганд TIM-1. Данные молекулы считаются критическими регуляторами Th2-дифференцировки. В мышинной модели пищевой аллергии (с использованием в качестве адьювантов OVA и SEB) была обнаружена активация TIM-4 и других костимулирующих молекул в DCs слизистой кишечника. Блокада TIM-4 или его лиганда TIM-1 сдерживала Th2-дифференцировку и развитие аллергического воспаления в кишечнике. Схожие результаты были получены в другом исследовании, в котором в качестве антигена использовался арахис, а в качестве адьюванта – СТ. СТ индуцировал активацию TIM-4 в DCs, что имело важное значение для инициации специфических к арахису Th2-ответов и развития аллергии и зависело от экспрессии TLR4 в DCs. Доказательства важности TIM-4 для индукции аллергического ответа также были получены и у человека [1].

Лектин галектин-9 (Gal-9) представляет собой лиганд TIM-3 и подавляет Th1- и Th17-дифференцировку [1]. Было показано, что Gal-9 активирует DCs и способствует их созреванию. В исследовании Chen и соавт. было показано, что экспрессия



Рисунок 1. *Предположительные механизмы, с помощью которых DCs кишечника могут способствовать сенсibilизации к пищевым аллергенам [1].*



Слой эпителиальных клеток (EC) формирует барьер между полостью кишечника и ассоциированной с кишечником лимфоидной тканью (GALT). Дендритные клетки (DCs), а также наивные T- и B-клетки располагаются в лимфоидных фолликулах. Пищевой аллерген (FA) может быть транспортирован из просвета кишечника в лимфоидные фолликулы специализированными M-клетками, где будет встречен DCs Пейеровых бляшек или мезентериальных лимфатических узлов, либо может быть напрямую захвачен DCs из просвета кишечника. В обоих случаях пептиды пищевых аллергенов будут представлены DCs GALT-резидентным наивным T-клеткам. Распознавание DCs пищевых аллергенов с помощью CLRс или других паттерн-распознающих рецепторов (PRRs) может привести к снижению TLR-индуцированной продукции IL-12, а также к снижению активности OX40L и/или TIM-4. Эпителиальные клетки также могут быть вовлечены в распознавание пищевого аллергена с помощью PRRs, что может приводить к высвобождению тимического стромального лимфопоэтина (TSLP), который индуцирует экспрессию OX40L в DCs. OX40L и TIM-4 DCs связываются с OX40 и TIM-1 на наивных T-клетках, соответственно. В совокупности эти факторы могут способствовать индукции аллерген-специфических Th2-ответов к пищевым аллергенам за счет DCs. Кроме того, эпителиальные клетки и DCs кишечника экспрессируют ретинолдегидрогеназу-2 (RALDH2) и, таким образом, продуцируют ретиноевую кислоту (RA), повышающую кишечный хоминг интегрин $\alpha 4\beta 7$ в T-клетках. TCR - T-клеточный рецептор [1].

Gal-9 в IECs слизистой двенадцатиперстной кишки, индуцированная триптазой тучных клеток, у взрослых пациентов с пищевой аллергией повышена. Используя мышиную модель, было показано, что после лечения мышей, чувствительных к OVA, анти-Gal-9 антителами отмечается снижение маркеров аллергической гиперчувствительности (специфических IgE, IL-4, тучных клеток, эозинофилов). Таким образом, авторы пришли к выводу, что Gal-9, вырабатываемый IECs,

способствует поддержанию аллергического «статуса» в кишечнике [5].

Также было показано, что и IECs человека экспрессируют TSLP, который поддерживает Th2-индуцирующую способность DCs кишечника. TSLP-активированные DCs примиряют наивные Th-клетки для последующей продукции IL-4, IL-5 и IL-13. Индукция Th2-клеток за счет TSLP-стимулированных DCs зависит от OX40L [1]. TSLP непосредственно индуцирует экспрессию



OX40L в DCs. TSLP-активированные DCs могут способствовать генерации Th2-иммунного ответа при отсутствии IL-12 [8]. Таким образом, в организме человека естественный Th2-адъювант TSLP, по всей видимости, действует посредством того же механизма, что и экспериментальный адъювант CT в мышинных моделях пищевой аллергии [1].

В отличие от перечисленных регуляторов, способствующих Th2-дифференцировке и сенсibilизации к аллергенам, продукция DCs Th1-индуцирующего цитокина IL-12 может существенно ингибировать оральную сенсibilизацию к арахису, даже при применении CT в качестве адъюванта. По сравнению со здоровыми мышами, у мышей с дефектом выработки IL-12 DCs развивались более сильные IgE-специфические ответы и более серьезные аллергические реакции. Нейтрализация IL-12 с помощью специфических антител также приводила к повышению вероятности развития пищевой аллергии. Ингибирующее влияние IL-12 на аллергический ответ также было показано в исследовании, в котором мышинные DCs, активированные экстрактом арахиса, были культивированы с Т-клетками, выделенными от сенсibilизированных к арахису мышей, в присутствии либо в отсутствии убитых нагреванием *Escherichia coli* (НКЕ). Добавление НКЕ приводило к снижению продукции Th2-цитокинов и повышению уровня Th1-цитокина IFN- γ . Данные эффекты были опосредованы НКЕ-индуцированной активацией TLRs. Применение антител, нейтрализующих IL-12, частично отменяли эффекты НКЕ [1].

На рисунке 1 отражены предположительные механизмы, с помощью которых DCs кишечника могут способствовать сенсibilизации к пищевым аллергенам [1].

РОЛЬ DCs В ТЕРАПИИ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ

Пищевая аллергия трудно поддается лечению с помощью специфической иммунотерапии (SIT) из-за серьезных, а иногда и опасных для жизни побочных эффектов, особенно при проведении подкожной аллерген-иммунотерапии. Тем не менее в последние годы определенный успех был достигнут за счет проведения оральной (OIT) или сублингвальной аллерген-иммунотерапии (SLIT), приводящих к десенсibilизации и в некоторых слу-

чаях к развитию толерантности к пищевым продуктам. Многочисленные исследования показали, что аллерген-специфические Tregs играют ключевую роль в механизме SIT. Хотя немного известно о роли DCs в SIT, они крайне важны для индукции Tregs [1]. Появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что DCs являются важными клетками-мишенями при SLIT [13].

DCs эпителия ротовой полости в основном представлены клетками Лангерганса (LCs), обеспечивающими поддержание толерантности в тех участках организма, которые подвержены воздействию большого числа антигенов [1]. Несмотря на миллионы бактерий, которые колонизируют ротовую полость, тяжелые инфекции развиваются здесь редко, подтверждая существование сложных механизмов, подавляющих воспалительные реакции. LCs эпителия ротовой полости являются классическими mDCs и экспрессируют высокоаффинный IgE-рецептор Fc ϵ RI, липополисахаридный рецептор CD14 и TLR-4. Экспрессия LCs Fc ϵ RI в высокой степени является одним из оснований применения аллергенов через слизистую ротовой полости при проведении SIT. В преддверии ротовой полости располагается большее число LCs, чем в сублингвальной области. LCs преддверия экспрессируют TLR4 и TLR2 в высокой степени. В связи с этим ученые полагают, что данная область является хорошей альтернативой сублингвальной при проведении SIT [13].

Замечено, что LCs слизистой ротовой полости пациентов с аллергией на пыльцу луговых трав, а также индивидуумов без атопии, стремительно захватывают аллерген тимофеевки Phl p 5, что подавляет их созревание и увеличивает продукцию TGF- β и IL-10. Все это способствует индукции аллерген-специфических Tregs [1].

Показано, что pDCs и FoxP3⁺ Tregs являются важными представителями DCs и Т-клеток миндалин человека. Отмечено, что pDCs миндалин обладают способностью индуцировать образование FoxP3⁺ Tregs из наивных Т-клеток, а FoxP3⁺ Tregs миндалин подавляют Т-клеточные реакции к пищевым продуктам и ингаляционным аллергенам в миндалинах [1].

Таким образом, клетки Лангерганса слизистой ротовой полости и pDCs миндалин играют важную роль в формировании оральной толерантно-

сти и могут быть вовлечены в механизмы SLIT и OIT [1].

Эффективность лечения пищевой аллергии путем проведения OIT или SLIT может быть улучшена за счет применения адъювантов, усиливающих толерогенные свойства DCs. Большинство этих исследований были проведены на мышиных моделях аллергии. Показана способность лигандов TLR2 и TLR4 усиливать продукцию IL-10 и IL-12 DCs и эффективно индуцировать Tregs и Th1-ответ при сублингвальном воздействии. Совместное с аллергеном введение данных лигандов способствовало индукции толерантности. Глюкокортикостероиды совместно с витамином D3 являются мощными индукторами продукции IL-10 DCs и CD4+ Т-клетками и ингибируют созревание DCs. Кроме того, некоторые пробиотические бактериальные штаммы индуцируют продукцию большого количества IL-10 и IL-12 за счет DCs слизистых и повышают эффективность SLIT [1].

В последние годы усилия ученых активно сосредоточены на популяции толерогенных DCs, поскольку генерация данной популяции DCs *in vitro* потенциально может быть использована для индукции антиген-специфической толерантности. *In vitro* толерогенные DCs могут быть индуцированы с помощью противовоспалительных биологических агентов (например, IL-10, TGF- β или витамин D3), иммуносупрессоров (например, дексаметазон или рапамицин), генетической модификации [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Весомый вклад DCs в поддержание иммунологического гомеостаза в кишечнике и ЖКТ в целом неоспорим. Во многом данный процесс зависит не только от самих DCs, но и их микроокружения, взаимодействия с другими клетками и факторами. Большинство данных о роли DCs кишечника в развитии оральной толерантности и пищевой аллергии получены из исследований на моделях животных. В связи с этим по-прежнему остается много вопросов, касающихся опосредованных DCs механизмов оральной толерантности и пищевой аллергии у человека. Особое значение для лечения и профилактики пищевой аллергии имеет создание новых и модернизация уже имеющихся терапевтических стратегий, мишенью которых

являются толерогенные DCs кишечника и их толерогенное микроокружение. Дальнейшие исследования в этом направлении являются перспективными и многообещающими.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bert Ruiter, Wayne G. Shreffler. *The role of dendritic cells in food allergy // J Allergy Clin Immunol.* 2012;129:921–8.
2. Barry J. Pelz, Paul J. Bryce. *Pathophysiology of Food Allergy // Pediatr Clin N Am.* 2015;62:1363–1375.
3. Ruane D.T., Lavelle E.C. *The role of CD103+ dendritic cells in the intestinal mucosal immune system // Front. Immun.* 2011;2:25.
4. Chistiakov D.A., Bobryshev Y.V., Kozarov E. et al. *Intestinal mucosal tolerance and impact of gut microbiota to mucosal tolerance // Front. Microbiol.* 2015;5:781.
5. Kim J.S., Sampson H.A. *Food allergy: a glimpse into the inner workings of gut immunology // Curr Opin Gastroenterol.* 2012;28(2):99–103.
6. Pabst O., Mowat A.M. *Oral tolerance to food protein // Mucosal Immunology.* 2012;5:232–239.
7. M. Cecilia Berin, Hugh A. Sampson. *Mucosal Immunology of Food Allergy // Current Biology.* 2013;23:R389–R400.
8. Palomares O. *The Role of Regulatory T Cells in IgE-Mediated Food Allergy // J Invest Allergol Clin Immunol.* 2013;23(6):371–382.
9. Jing Yang, Fazheng Ren, Hao Zhang et al. *Induction of Regulatory Dendritic Cells by Lactobacillus paracasei L9 Prevents Allergic Sensitization to Bovine γ -Lactoglobulin in Mice // J. Microbiol. Biotechnol.* 2015;25(10):1687–1696.
10. Chris Mattison *Preventing Food Allergies by Tricking Dendritic Cells // Nature Education.* 2015;8(3):10.
11. Smit J.J., Bol-Schoenmakers M., Hassing I. et al. *The role of intestinal dendritic cells subsets in the establishment of food allergy // Clinical & Experimental Allergy.* 2011;41:890–898.
12. Ana Belün Blázquez, M. Cecilia Berin. *Gastrointestinal Dendritic Cells Promote Th2 Skewing via OX40L // The Journal of Immunology.* 2008;180:4441–4450.
13. Novak N., Allam J-P. *Mucosal dendritic cells in allergy and immunotherapy // Allergy.* 2011; 66(95):22–24. ■