

ков тканевых макрофагов. Хотя последние данные показывают, что в стационарном состоянии гистиоциты многих органов являются независимыми моноцитами, моноциты крови участвуют в работе тканевых макрофагов и пула DCs при воспалении.

Чтобы лучше понять взаимосвязь между этими популяциями и их фенотипом, авторы изолировали и дифференцировали CD14(+) моноциты человеческой крови *in vitro* в незрелые и зрелые дендритные клетки (MoDCs), а также в семь различных полученных из моноцитов суб-

популяций макрофага. Авторы использовали 70 моноклональных антител, представленных на 10-й Международной конференции по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека, чтобы определить профили экспрессии 10 популяций с помощью флуоцитометрии. Стало возможным собрать подгруппы моноклональных антител, чтобы дифференцировать 10 моноцит/макрофаг/ MoDCs субклассы, обеспечивая основу для новых диагностических и терапевтических возможностей.

O.P.

РАЗДЕЛ XVI

ЦИТОКИНЫ И АУТОАНТИТЕЛА К ЦИТОКИНАМ

Часть 2

Е.Н. Супрун

Консультативно-диагностический центр «Арбатский», Москва.

В настоящее время установлено, что практически ко всем иммунорегуляторным цитокинам в сыворотке крови определяются аутоантитела (ААТ) как в норме, так и при патологических состояниях.

Важности существования антител к собственным антигенам долгое время не придавалось должного значения в связи с теорией делеции аутореактивных клонов лимфоцитов в течение онтогенеза. В настоящее время показано, что аутореактивные В-клетки, а также аутореактивные Т-клетки присутствуют у здоровых лиц и, кроме того, эти аутореактивные репертуары проходят селекцию преимущественно в течение внутриутробного развития.

В 1981 году было доложено о присутствии антител против IFN- α или IFN- β у участников клинических исследований, в которых оценивалась эффективность применения данных экзогенных рекомбинантных цитокинов человека. В дальнейшем была продемонстрирована положительная корреляция между продолжительностью терапии и вероятностью возникновения таких ААТ. ААТ к цитокинам были обнаружены в фармацевтических препаратах иммуноглобулина и у

здоровых людей, от которых данные препараты были получены.

В настоящее время ААТ к цитокинам привлекают все большее внимание как ученых, так и клинических иммунологов в связи с полученными доказательствами их активной роли в регуляции биологических эффектов медиаторов. Высокие концентрации ААТ к цитокинам, которые определены для ряда медиаторов в норме и при патологии в сыворотке крови, и способность их при связывании с лигандом нейтрализовать его активность или, наоборот, увеличивать период полужизни медиатора и его биологическую активность, позволяют рассматривать ААТ к цитокинам как активных участников в регуляции биологической активности медиатора. Представленные в литературе данные по изменению содержания как общего пула специфических антицитокиновых ААТ, так и отдельных субклассов позволяют сделать вывод о том, что они играют роль не только в поддержании гомеостаза в норме, но и могут участвовать в патологических процессах как в качестве причины, так и в качестве последствия протекающих патологических реакций.

У человека, мышей и кроликов натуральные ААТ принадлежат к IgM, IgG и IgA классам и содержатся не только в крови, но также и в других биологических жидкостях, таких как слюна, молозиво, спинномозговая жидкость [1].

Было обнаружено, что IgM пуповинной крови человека, преимущественно, если не полностью, аутореактивный. Характеристика человеческих ААТ к цитокинам выявляет их поликлональную природу и принадлежность преимущественно к IgG классу и некоторой части к IgM и IgA классам.

ААТ к цитокинам все в большей степени признаются исследователями как весьма существенные биологические эффекторные молекулы, регулирующие иммунный ответ *in vivo*. В последние годы многими исследовательскими группами сообщается об обнаружении ААТ, специфичных к интерферонам (IFN- α , IFN- β , IFN- γ), некоторым интерлейкинам (IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12), факторам роста (GM-CSF, M-CSF, LIF, oncostatin M, VEGF) и TNF. Как правило, такие ААТ в высоких концентрациях представлены в системной циркуляции у пациентов с различными инфекционными и аутоиммунными заболеваниями, но также обнаруживаются и в сыворотках здоровых доноров. В некоторых случаях появление или изменение содержания ААТ к цитокинам являлось причиной индукции развития патологических процессов. Другие ААТ, по всей видимости, могут отвечать за патофизиологические проявления течения патологического процесса, связанного с заболеванием. В дополнение к блокировке специфических функций цитокинов, ААТ к цитокинам могут играть важную роль в балансе здоровья и болезни в силу их способности к образованию иммунных комплексов с соответствующими цитокинами или антиидиотипическими антителами, что может сделать их детектирование с помощью анализов иммуносорбции затруднительным.

Действительно, процедуры диссоциации иммунных комплексов и разделения их компонентов существенно расширяют спектр обнаруживаемых в сыворотке ААТ к цитокинам. Показано, что связывающие и нейтрализующие ААТ образуются при терапии с использованием интерферонов, GM-CSF, IL-2. Клиническая

значимость обоих типов ААТ широко обсуждается, но ясно, что их генерация ассоциирована с потерей лечебных эффектов назначаемых цитокинов. В многочисленных исследованиях было продемонстрировано, что реактивация заболевания и толерантность к его последующему лечению ассоциированы с образованием нейтрализующих ААТ. Эти данные согласуются с предполагаемой ролью нейтрализующих антител в противодействии биологической активности цитокинов *in vivo*. Действительно, в разнообразных исследованиях на экспериментальных моделях животных инфекционных и аутоиммунных заболеваний было показано, что ААТ могут существенно влиять на тяжесть заболевания.

Таким образом, иммунологическая толерантность к большому числу цитокинов далека от абсолютной, и детектируемые уровни ААТ к цитокинам могут наблюдаться как в норме, так и при патологических состояниях.

На сегодняшний день не существует четкой классификации ААТ к цитокинам. Исследователи условно разделяют их на натуральные ААТ к цитокинам, в том числе и те, что обнаруживают у пациентов с различными инфекционными или аутоиммунными заболеваниями, и терапевтически-индуцированные, появляющиеся в системной циркуляции пациентов, проходящих терапию с использованием рекомбинантных форм цитокинов. Кроме того, выделяют связывающие (способные только формировать иммунные комплексы) и нейтрализующие ААТ [1].

В настоящее время выявлены следующие антитела к цитокинам (28 продуктов):

- ANT-128 (нейротропный фактор головного мозга),
- ANT-183 (белок морфогенеза костей-2),
- ANT-169 (эпидермальный фактор роста),
- ANT-187 (эритропоэтин),
- ANT-196 (эритропоэтин),
- ANT-204 (анти-FAS-антитело),
- ANT-205 (FAS-активирующее антитело),
- ANT-197 (гормон роста),
- ANT-129 (КОЕ макрофагов-гранулоцитов),
- ANT-184 (КОЕ гранулоцитов),
- ANT-122 (нейтрализатор интерферона-альфа),
- ANT-208,
- ANT-185 (интерферон-бета),
- ANT-123 (интерферон-гамма),

- ANT-102 (интерлейкин-2),
- ANT-104 (рецептор интерлейкина-2),
- ANT-106 (интерлейкин-3),
- ANT-107 (интерлейкин-4),
- ANT-109 (интерлейкин-6),
- ANT-110 (интерлейкин-7),
- ANT-111 (интерлейкин-8),
- ANT-112 (интерлейкин-10),
- ANT-115 (интерлейкин-15),
- ANT-172 (лептин),
- ANT-117 (нейротрофин-4),
- ANT-124 (фактор некроза опухолей-альфа),
- ANT-168 (трансформирующий фактор роста-бета),
- ANT-125 (фактор роста ЭПР).

ААТ к цитокинам могут обнаруживать широкий спектр аффинности с константами диссоциации от 10^{-4} до $5 \cdot 10^{-11}$ М. Молекулы ААТ имеют высокую авидность, что позволяет им выступать конкурентами растворимым и мембраносвязанным рецепторам за цитокин.

Большинство ААТ к цитокинам относится к классу высокоаффинных IgG, которые продуцируются плазматическими клетками, дифференцированными из цитокин-реактивных В-клеток, присутствующих в герминальном центре. Так как дифференцировка в такие клетки требует поддержки Т-клеток, нацеленных на эти цитокины, дисрегуляция Т-клеточной толерантности также относится к критическим событиям для последующей продукции ААТ. Однако такие Т-клетки к данному моменту не идентифицированы.

Было показано, что ААТ к цитокинам продуцируются в эмбриональном периоде. При этом ААТ к GM-CSF, выделенные из крови пуповины новорожденного, относятся к классу IgM, тогда как у взрослых почти вся масса ААТ к цитокинам относится к классу IgG. Кроме того, пуповинные ААТ к GM-CSF не обладают нейтрализующей способностью. Таким образом, можно говорить о том, что незрелые В-клеточные клоны, продуцирующие IgM антитела, присутствуют во время пренатального периода. Часть этих клонов может сохраняться в герминальном центре с последующим переключением класса, что приводит к продукции высокоаффинных нейтрализующих IgG антител.

Индукция ААТ может быть ассоциирована с повторяющимся или длительным повышением

уровней цитокинов в кровотоке. Так, высокий уровень GM-CSF при синдроме Фелти и системной красной волчанке может служить причиной запуска продукции ААТ к GM-CSF. У пациентов с ААТ-ассоциированной истинной эритроцитарной аплазией (в отсутствие лечения эритропоэтином) и СКВ сывороточные уровни эритропоэтина также были повышены. Было сделано предположение, что аутореактивные В-клетки, вероятно, выживают в условиях, когда снижается конкуренция за В-клеточный активационный фактор семейства TNF (например, при В-клеточной лимфопении) или когда его продукция увеличивается (например, при наличии инфекции).

Повторяющаяся или длительная терапия рекомбинантными цитокинами приводит к индукции продукции ААТ к цитокинам. ААТ к GM-CSF были обнаружены у пациентов с метастатическим колоректальным раком после введения рекомбинантного GM-CSF, а ААТ к IL-2 – у пациентов с метастатической почечной карциномой после введения рекомбинантного IL-2, выделенного из *E. coli*. ААТ к эритропоэтину также появлялись после введения рекомбинантного эритропоэтина, что приводило к развитию истинной эритроцитарной аплазии. ААТ к INF- β были зафиксированы у пациентов с рассеянным склерозом, при лечении INF- β , частота обнаружения ААТ была максимальной (76%) в течение 6 месяцев после первого курса лечения и снижалась впоследствии. ААТ в данных примерах относились к классам IgM, IgG. Эти данные подтверждают гипотезу о том, что повторяющееся или длительное повышение уровней цитокинов в кровотоке может приводить к индукции продукции ААТ [1].

Также было показано, что уровень ААТ к GM-CSF обратно коррелирует с количеством нейтрофилов и эозинофилов в периферической крови. Активность IL-2 в сыворотке была повышена при низком уровне ААТ к IL-2 и снижалась, когда уровень ААТ был высоким. Такое функционирование индуцированных ААТ *in vivo* подтверждает гипотезу, согласно которой низкий уровень ААТ увеличивает цитокиновую активность, тогда как высокие концентрации ААТ их нейтрализуют.

Еще одной из возможностей, приводящих к индукции ААТ к цитокинам, может являться

активация кросс-реактивных В- и Т-клеток, инициированных родственными цитокинами. Например, вирус Эпштейн-Бар и саркомы Капоши содержат кодирующие последовательности гомологов IL-10 и IL-6. Кроме того, последний имеет в геноме последовательности, кодирующие гомологичные хемокинам белки, а также аналоги регулирующих их молекул: INF-регулирующего фактора и молекул, подобных рецептору IL-8. В геноме некоторых поксвирусов также закодированы молекулы, подобные IL-10. Иммунный ответ на такие вирусные антигены в результате инфекционного процесса может привести к появлению перекрестнореагирующих антител к цитокинам.

Антицитокиновые ААТ могут являться мишенью для терапевтических воздействий, но могут использоваться и в качестве средства терапевтического воздействия.

Проведена оценка различных форм иммунного ответа у мышей, в сыворотке которых присутствуют антитела к ключевым цитокинам Th1- и Th2-клеток (IFN- γ и IL-4), индуцированные иммунизацией пептидными фрагментами этих цитокинов. Обнаружено усиление спонтанной и митоген-индуцированной пролиферации лимфоцитов селезенки мышей, иммунизированных против IFN- γ . Способность CD4⁺ Т-клеток иммунизированных мышей дифференцироваться в Th1- и Th2-клетки *in vitro* не изменяется, но при введении в культуры спленоцитов аутологичных сывороток, содержащих антитела к IFN- γ или IL-4, подавляется дифференцировка Т-хелперов, продуцирующих соответствующие цитокины. Накопление антител к IFN- γ приводит к подавлению как клеточного, так и гуморального иммунного ответа на эритроциты барана, но не влияет на образование реагинов при иммуниза-

ции овалбумином. Накопление антител к IL-4 подавляет гуморальный, но не клеточный ответ на эритроциты барана. Ингибирующее действие антител к IL-4 на аллергический ответ выявляется при раздельном анализе уровня реагинов у мышей с высоким и низким содержанием антител к IL-4 [2].

Изучение ААТ к цитокинам как молекул, регулирующих активность иммуномодулирующих медиаторов, является важным направлением современной молекулярной иммунологии, включающим как фундаментальные исследования иммунорегуляторных процессов в иммунной системе, так и разработки новых подходов при лечении заболеваний различного патогенеза.

В клинической практике в настоящее время используют:

- 1) рекомбинантные препараты рецепторного антагониста ИЛ-1 (препарат Арил);
- 2) рекомбинантные растворимые рецепторы ФНО-RII (Этанерцепт);
- 3) гуманизированные моноклональные антитела к ФНО- α (Ремикейд, Инфликсимаб) [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Сенников С.В., Лопатникова Ю.А., Киреев Ф.Д. Аутоантитела к цитокинам: биологическая и патогенетическая роль // Цитокины и воспаление. – 2015. – № 2.
2. Шевелев С.В., Митин А.Н., Никонова М.Ф., Бабахин А.А., Ярилин А.А. Иммунологические последствия индукции антител к INF- и IL-4 у мышей // Цитокины и воспаление. – 2008. – № 3.
3. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 633 с. ■