

Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного
профессионального образования «Российская медицинская академия
непрерывного профессионального образования» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
Кафедра «Медицинская микробиология и лабораторная медицина»

**Т.А. Дружинина, О.А. Левашова, В.С. Васильев,
Л.Л. Рыжкина**

Современные представления о системе комплемента.

**Часть 1. Комплемент: от участия в реакциях врожденного иммунитета до
регулятора гомеостаза организма
(учебное пособие для врачей)**

УДК 616.153.96: 612.017.11/.2

ББК 52.7

С56

Учебное пособие для врачей подготовлено сотрудниками кафедры медицинской микробиологии и лабораторной медицины ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России: к.б.н., доцента кафедры Т.А. Дружининой, к.б.н., доцента кафедры Левашовой О.А., ассистента кафедры В.С. Васильева, ассистента кафедры Л.Л. Рыжкиной.

В пособии рассматривается роль системы комплемента в реакциях врожденного иммунитета и его роль в регуляции гомеостаза организма.

В качестве обучающего пособие содержит 1 таблицу и 6 рисунков.

Учебное пособие предназначено для врачей клинической лабораторной диагностики, врачей аллергологов-иммунологов, врачей широкого круга других специальностей и биологов КЛД.

Рецензенты:

Орлова Екатерина Александровна – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой аллергологии и иммунологии с курсом дерматовенерологии и косметологии ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Микуляк Надежда Ивановна – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой физиологии человека Медицинского института Пензенского государственного университета.

Утверждено Ученым Советом ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Протокол № 9 от 28 ноября 2023 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Список использованных сокращений	4
Ключевые термины и определения	5
Введение	7
1 Общие сведения о системе комплемента	9
1.1 Пути активации системы комплемента	9
1.2 Нахождение белков комплемента в организме	12
1.3 Регуляция активации системы комплемента	13
1.4 Функции системы комплемента в организме	13
2 Система комплемента и реакции адаптивного иммунитета	16
3 Внутриклеточная система комплемента – комплосома	27
3.1 Роль комплосомы в гомеостазе Т-клеток	27
4 Неиммунная функция системы комплемента	29
Заключение	31
Список использованных источников	32
Тестовые задания	33

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

CTPSL (Cathepsin L) – катепсин L.

DAMPS (Damage-associated molecular patterns) – ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны.

ERK (extracellular signal-regulated kinase) – сигнальный путь ЕРК (внеклеточный сигнальный регуляторный киназный путь).

FDC (Follicular dendritic cell) – фолликулярные дендритные клетки.

GLUT (Glucose transporter) – переносчики глюкозы.

IL (Interleukin) – интерлейкин.

LAT (L-type amino acid transporter) – переносчики аминокислот.

MBL (mannose binding lectin) – маннозосвязывающий лектин.

mTOR (mechanistic target of rapamycin kinase) – механическая мишень рапамицина.

NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3) – NOD-, LRR- и пириновый доменсодержащий белок 3.

OxPHOS (oxidative phosphorylation) – окислительное фосфорилирование.

PAMP (Pathogen-associated molecular patterns) – патогенассоциированные молекулярные паттерны.

TGF β (Transforming growth factor beta) – трансформирующий ростовой фактор β .

TLR (Toll-like receptor) – толл-подобные рецепторы.

АПАК – альтернативный путь активации комплемента.

АСР (antigen-presenting cell) – антигенпрезентирующие клетки.

ВИ – врожденный иммунитет.

КПАК – классический путь активации комплемента.

МАС (Membrane attack complex) – мембраноатакующий комплекс.

C4bp (C4b-binding protein) – C4в – связывающий белок.

СКВ – системная красная волчанка.

ЮИА – ювенильный идиопатический артрит.

КЛЮЧЕВЫЕ ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

NLRP3 – пириновый домен семейства NLR, содержащие белок 3 (где NLR означает «нуклеотидсвязывающий домен, богатый лейцином повтор») представляет собой внутриклеточный сенсор, который в отсутствие активирующего сигнала находится в неактивном состоянии в цитоплазме, обнаруживает широкий спектр микробных мотивов, эндогенных сигналов опасности (кристаллическая мочевая кислота и внеклеточная АТФ, высвобождаемая поврежденными клетками) и раздражителей окружающей среды, что приводит к образованию и активации инфламмосомы NLRP3 – мультибелковый комплекс. Каспаза-1 в активированном инфламмосомном комплексе NLRP3, в свою очередь, активирует воспалительный цитокин, IL-1 β , участвующий в ИЛ1 β и запуске пироптоза.

Гликолиз – метаболический процесс, при котором глюкоза поэтапно преобразуется в пировиноградную кислоту для выработки энергии в виде АТФ.

ERK – один из ключевых и наиболее хорошо изученных сигнальных киназных путей, представленный двумя близкими по структуре белками ERK1 и ERK2.

Катепсины – эволюционно консервативное семейство из 12 протеаз, которые играют важную роль в регенерации клеток и деградации внеклеточного матрикса.

Комплосома – компоненты системы комплемента, которые активируются внутриклеточно и действуют преимущественно на внутриклеточные рецепторы и регуляторы комплемента.

Метаболическое ремоделирование процесс внесения метаболических изменений в клеточную биоэнергетику для удовлетворения потребности в увеличении или уменьшении потребности в энергии.

Механическая мишень рапамицина (mTOR) – основной сенсорный комплекс питательных веществ, регулирующий транскрипцию, синтез белка, а также выживание, пролиферацию, рост и подвижность клеток.

Окислительное фосфорилирование (OXPHOS) – митохондриальное ферментативное окисление питательных веществ; высвобождает энергию, которая используется для пополнения запасов АТФ.

ВВЕДЕНИЕ

Система белков комплемента была открыта и активно изучалась, начиная с конца 19 века. Несмотря на большую клиническую значимость системы комплемента в развитии и течении инфекционных, аутоиммунных, гематологических заболеваний даже среди иммунологического сообщества бытовало мнение, что «комплемент сбивает с толку или не имеет значения, или, что наиболее удобно, и то, и другое...» (Майк Хобарт (1984)). Готовность рассматривать этот каскад как компонент инициации или прогрессирования заболевания практически отсутствовала, поскольку большинство клиницистов считают систему комплемента слишком сложной.

Тем не менее дальнейшее изучение «элегантной системы» (Майк Хобарт (1984) комплемента привело к тому, что начало XXI века ознаменовалось открытием новых биологических закономерностей в эффекторно-регуляторной активности описываемой системы с новыми гомеостатическими и иммунными функциями, что добавило новые уровни сложности в биологию комплемента.

В настоящее время показано, что система комплемента участвует в адаптивном иммунитете, гемостазе, нейропротекции и сокращении синапсов, а также в развитии органов в дополнение к своей роли во врожденном иммунитете. При этом она задействована в разнообразных патологических состояниях, таких как тромботические нарушения, аутоиммунные заболевания, шизофрения, аллоиммунные реакции, а также рак. Модуляция системы комплемента уже нашла применение в лечении пароксизмальной ночной гемоглобинурии, атипичного гемолитико-уремического синдрома, тяжелой миастении и расстройств оптического спектра нейромиеелита. При этом спектр заболеваний, при котором возможно улучшение состояния больных посредством модуляции системы комплемента несравненно более широк.

В связи с вышесказанным, понимание функционирования системы комплемента, его роли в патогенезе ряда заболеваний является актуальным для

врачей клинической лабораторной диагностики, врачей аллергологов – иммунологов, а также врачей широкого круга клинических специальностей.

1 ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О СИСТЕМЕ КОМПЛЕМЕНТА

Система комплемента представляет собой филогенетически древнюю систему белков, происходящих из тех же предковых генов, что и белки свертывания крови; систему, прошедшую эволюционное развитие от прямого распознавания клеточных стенок микроорганизмов (альтернативный путь активации – АПАК), далее – усовершенствованную систему распознавания микроорганизмов, содержащих паттерны в виде углеводных лигандов (лектиновый путь), и, наконец, использующую для своей активации эволюционные приобретения лимфоцитарного иммунитета в виде антител (классический путь активации).

На сегодняшний день система комплемента объединяет около 50 белков. Это могут быть жидкофазные, мембранные белки, функционирующие как паттернраспознающие рецепторы, белки - ферменты (протеазы, конвертазы), а также регуляторные и сигнальные молекулы. Начальная активация системы комплемента приводит в действие каскад реакций протеолитического расщепления, приводящего к формированию т.н. мембраноатакующего комплекса, а также образованию гемолитически неактивных субстанций, выполняющих огромную роль не только в реакциях врожденного иммунитета (ВИ), но и в регуляции большого количества гомеостатических функций. Новые открытия, касающиеся функциональной универсальности комплемента, подняли вопрос о том, как небольшой набор белков может обеспечивать столь разнообразные эффекторные и регуляторные функции.

1.1 Пути активации системы комплемента

Одним из ранних механизмов вообще распознавания «своего и чужого» являлся альтернативный путь активации комплемента, активирующийся непосредственно поверхностью чужеродной или поврежденной клеточной мембраны.

Процесс начинается с взаимодействия небольшого количества спонтанно гидролизованного C3 плазмы [C3(H₂O)] с фактором В, что приводит к воздействию на него фактора D. «Судьба» образующегося фермента C3bBb крайне нестабильна и зависит от поверхности, на которой произошло его образование. В жидкой фазе, на поверхности собственных клеток, а также на мембране ряда микроорганизмов, в частности, имеющих в своем составе сialовые кислоты, к нему присоединяется регуляторный белок H, который инактивирует дальнейшую активацию комплемента. При этом клетки микроорганизмов, имеющие в своей структуре т.н. «защищающие участки» (зимозан, липополисахарид), способствуют присоединению к C3 - конвертазе АПАК белка стабилизатора - пропердина (P) и расщеплению еще одной молекулы C3 с образованием C5 конвертазы АПАК – (C3bBbC3b) и C3Ba. Следует отметить, что пропердин (FP) является единственным положительным регулятором в системе комплемента, который стабилизирует C3-конвертазу.

Образующаяся C5-конвертаза расщепляет C5 до C5a и C5b. На этом реакции протеолитического расщепления заканчиваются и к C5b последовательно присоединяются C6, 7, 8, и 9n (от 1 до 18 молекул) белки комплемента. Тем самым происходит образование мембраноатакующего комплекса (MAC). Альтернативный путь системы комплемента обладает уникальной конститутивной активностью при низких уровнях расщепления C3, происходящего из-за спонтанного гидролиза молекулами воды.

Активация через лектиновый путь начинается с распознавания ассоциированных с патогеном молекулярных паттернов (PAMP) (D-манноза, N-ацетил-D-глюкозамин или ацетильные группы) на поверхности патогенов или в апоптотических либо некротических клетках маннозосвязывающим лектином (MBL), фиколинами или коллектинами. Образующийся комплекс активирует МСЛ-ассоциированную протеазу. Далее идут реакции последовательного каскадного протеолитического расщепления C4, C2 с образованием C3 конвертазы C4b2a, расщепляющей C3, в результате чего образуется C5-конвертаза C4b2a3b. На этом реакции расщепления заканчиваются и идут

реакции присоединения белков комплемента с образованием МАС аналогично реакциям, происходящим в АПАК. Классический путь активации (КПАК) идентичен лектиновому, однако начальные этапы происходят уже при участии комплекса антиген-антитело и белка, представленного только в КПАК – C1 (интересно, что субъединица C1q, отвечающая за присоединение C1 к Fc фрагменту тяжелой цепи иммуноглобулиновой молекулы в составе иммунного комплекса, по своей конфигурации, но не аминокислотному составу, идентична МСЛ). C1 является белковой структурой, состоящей из 3 субъединиц: C1q и коротких цепей C1r и C1s (рисунок 1).

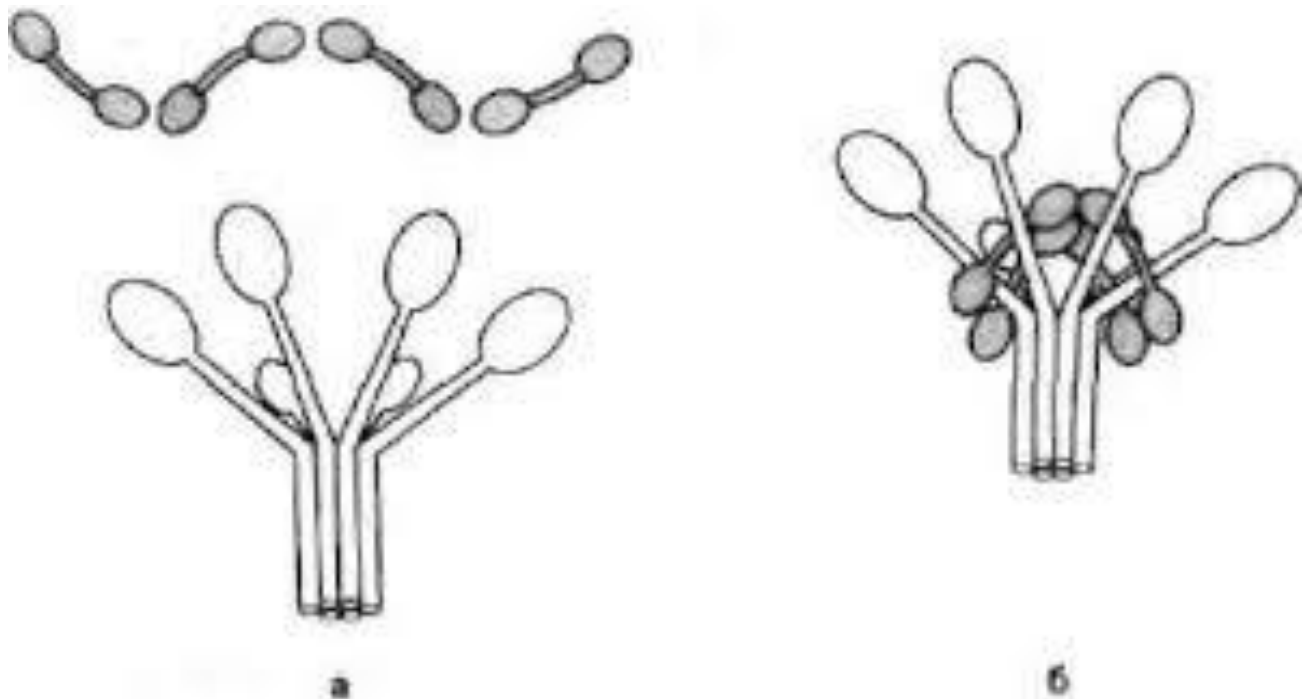


Рисунок 1 – Строение C1 компонента комплемента

Последовательная активация C1r и C1s приводит к образованию активного фермента C1-эстеразы. C1-эстераза расщепляет C4 и C2 белки комплемента. Далее все реакции происходят аналогично реакциям лектинового пути.

C3 и C5 также могут быть активированы независимым от конвертазы образом специфическими протеазами, которые принадлежат в основном к семействам ферментов гранзим и катепсин.

Отложение достаточного количества МАС разрушает фосфолипидный бислой клеточной мембраны, что приводит к массивному притоку кальция, потере потенциала митохондриальной мембраны и лизису клеток.

Три основными последствиями активации комплемента являются образование C3b, являющегося основным опсоином комплементарной природы; образование биологически активных фрагментов C3a и C5a и МАС-опосредованный лизис клеток (рисунок 2).

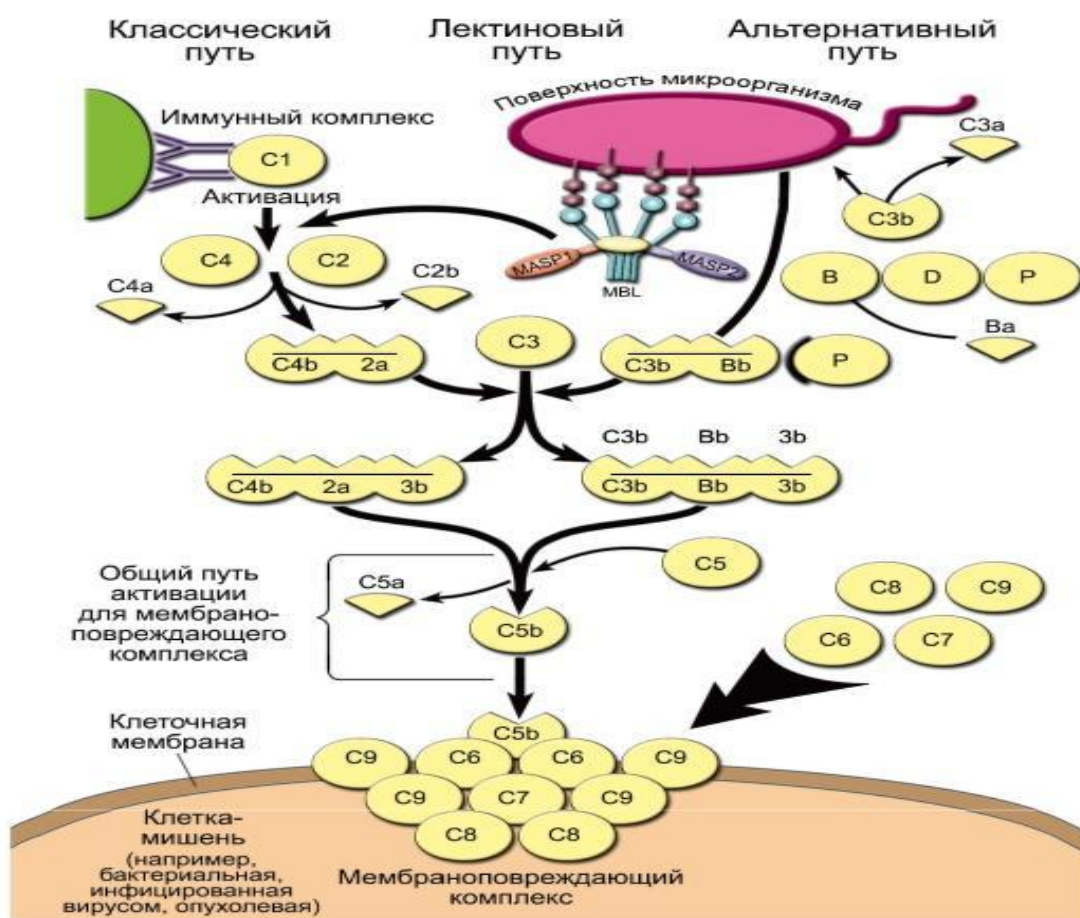


Рисунок 2 – Пути активации комплемента

1.2 Нахождение белков комплемента в организме

Компоненты комплемента в основном продуцируются гепатоцитами печени. Однако в настоящее время показано, что компоненты комплемента могут продуцироваться почти всеми популяциями клеток тканей и органов, включая почки, кишечник, сердце, синовиальные ткани суставов. Более того, в

некоторых органах с привилегированным иммунитетом, таких как мозг и глаз, локальная генерация астроцитами и эпителиальными клетками является основным источником комплемента. Белки системы комплемента могут индуцироваться в резидентных нейронах центральной нервной системы, астроцитах, олигодендроцитах, клетках гладких мышц сосудов головного мозга и микроглии во время их развития или индуцироваться повреждением либо старением. Эти результаты были недавно подтверждены с помощью секвенирования одноклеточной РНК. Локальная продукция белков комплемента также осуществляется Т-лимфоцитами и антиген презентирующими клетками (APC).

На выработку белков комплемента оказывают влияние цитокины; с другой стороны, активация системы комплемента влияет на выработку цитокинов иммунными клетками, что демонстрирует взаимодействие цитокиновой и комплементарной регуляторными системами между собой.

1.3 Регуляция активации системы комплемента

Комплемент, будучи активированным, нуждается в жестком регулировании для предотвращения нежелательного повреждения тканей хозяина. Этот контроль достигается с помощью нескольких ингибиторов комплемента в жидкой фазе и регуляторов, связанных с мембраной. Регуляция осуществляется на всех этапах активации следующими белками: ингибитор C1-эстеразы, инактивирующий C1r, C1s и MBL-ассоциированные сериновые протеазы; C4-связывающий белок (C4bp), воздействующий на C3-конвертазу (C4b2a), фактор H и I, участвующие в регуляции альтернативного пути, белок мембранного кофактора (MCP или CD46), связывающий поверхностные гликопротеины клеток C3b/C4b, фактор ускорения диссоциации МАК - DAF или CD55, CRP CD59, препятствующий сборке МАС на клеточной мембране собственных клеток.

1.4 Функции системы комплемента в организме

Первейшая функция системы комплемента - участие в противоинфекционной защите организма - состоит в уничтожении патогенов за счет образования МАС, опсонизации и последующем их фагоцитозе нейтрофилами и макрофагами, а также инициации и распространении воспалительной реакции. Так, фрагмент C3b (C3bi, c3d) опосредует опсонизацию и последующее фагоцитарное поглощение патогенов нейтрофилами и макрофагами, посредством взаимодействия ряда рецепторов, включая рецепторы комплемента CR1 или CD35, CR3 (CD11b-CD18) и CR4 (CD11c-CD18).

C3a и C5a представляют собой продукты активации комплемента, которые быстро инактивируются в плазме карбоксипептидазами. Так, карбоксипептидаза N, отщепляет одну аминокислоту аргинин от C5a, в результате чего C5adesarg теряет способность связываться с высокоаффинными рецепторами тучных клеток, сохраняя провоспалительную активность.

Активация системы комплемента и выработка анафилатоксинов (C3a и C5a) запускают воспалительную реакцию на патогены. Анафилатоксины активируют макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки, базофилы и эозинофилы, посредством взаимодействия с их специфическими рецепторами, связанными с G-белком – C3aR и C5aR1 (CD88). Это приводит к дегрануляции клеток и выработке цитокинов, которые, в свою очередь, вызывают расширение сосудов, увеличение их проницаемости, усиление экстравазации нейтрофилов и хемотаксис, вследствие чего развивается обширная воспалительная реакция.

Критическая роль циркулирующего в сыворотке крови комплемента в защите от инвазии патогенов неоспорима и подкрепляется тем фактом, что дефицит ключевых компонентов комплемента вызывает тяжелые и рецидивирующие инфекции.

Система комплемента интегрирует врожденный и адаптивный иммунитет, что позволяет ей играть важную роль в распознавании и удалении DAMPS (ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны), и, следовательно, в предотвращении развития аутоиммунных реакций. Для их удаления также

требуется опсонизация иммунных комплексов C3в (C3bi, C3d), а комплекс C1 (состоящий из C1q-C1r-C1s) обнаруживает опасные молекулы, появляющиеся на поверхностных пузырьках апоптотических клеток, и индуцирует безопасное удаление таких потенциально опасных самостоятельных образований. Отсюда, дефицит C3 и C1 вызывает нарушения в эффективном удалении иммунных комплексов (ИК) и отмирающих клеток и, следовательно, связан с развитием синдрома СКВ.

Мембраносвязанные регуляторы комплемента (C3в, C3а, C5а) обладают, подобно классическим рецепторам комплемента, сигнальной способностью. Это комбинированная функциональная активность регуляторов комплемента на иммунных и неиммунных клетках вносит существенный вклад в широкий функциональный репертуар этой древней системы.

Так, белки системы комплемента участвуют в адаптивном иммунном ответе, гемостазе, эмбриогенезе, а также восстановлении и развитии органов.

Одним из самых неожиданных открытий за последние 2 десятилетия стало выявление роли компонентов классического пути комплемента C1 по C3 в сокращении синапсов в нервной системе, что способствует синаптической пластичности во взрослом мозге, включая процесс забывания. Это сокращение включает поглощение микроглией неактивного синаптического материала, меченного C3b (iC3b) через рецептор комплемента CR3.

2 СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА И РЕАКЦИИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА

Помимо участия в реакциях ВИ, комплемент регулирует гуморальный и клеточно-опосредованный адаптивный иммунитет.

Комплемент исторически связан с регуляцией гуморального адаптивного иммунного ответа, которая осуществляется за счет снижения порога активации В-клеток, взаимодействующих с антигенами, опсонизированными продуктами распада C3b (iC3b, C3dg) через CR2 (CD21) в комплексе корецепторов В-клеток (CR2-CD19-CD81).

Взаимодействие между CR2 рецепторами на фолликулярных дендритных клетках и фрагментом C3d на антигенах важно для презентации антигена наивным и примированными В-клеткам в зародышевых центрах лимфатических узлов, для созревания В-клеток, для поддержания реакций В-клеток памяти путем привязки опсонизированных комплементом антигенов к фолликулярным дендритным клеткам (FDC) для длительного удержания в зародышевых центрах и тканях. Также сигналы, опосредованные CD21, непосредственно контролируют положительную селекцию, расширение и поддержание популяции В1-лимфоцитов.

Таким образом, C3 играет роль естественного адьюванта во время функционирования В-клеток. Это объясняет, почему дефицит C3 в сыворотке крови у людей часто вызывает распространенный переменный иммунодефицит.

Недавние исследования показали существование внутриклеточных запасов компонентов и рецепторов комплемента в Т-лимфоцитах, которые выполняют новые гомеостатические и регуляторные функции.

При этом эффекты белков комплемента на активацию, дифференцировку и пролиферацию Т-лимфоцитов обусловлены:

1. Локальной активацией комплемента.

2. Продукцией C3a и C5a на мембранной поверхности Т-лимфоцитов и АПК.

3. Воздействием через рецепторы C3aR и C5aR.

Место активации рецептора комплемента (внутриклеточное или клеточное) определяет функциональный результат (гомеостатическое выживание или эффекторная функция).

Комплемент контролирует как индукцию, так и сокращение ответов Т-клеток, его регуляторное воздействие может быть опосредовано напрямую через модуляцию самих Т-клеток и/или косвенно через влияние на функцию АПС, включая дендритные клетки (DC), FDC и макрофаги, которые экспрессируют полный набор рецепторов и регуляторов комплемента (рисунок 3).

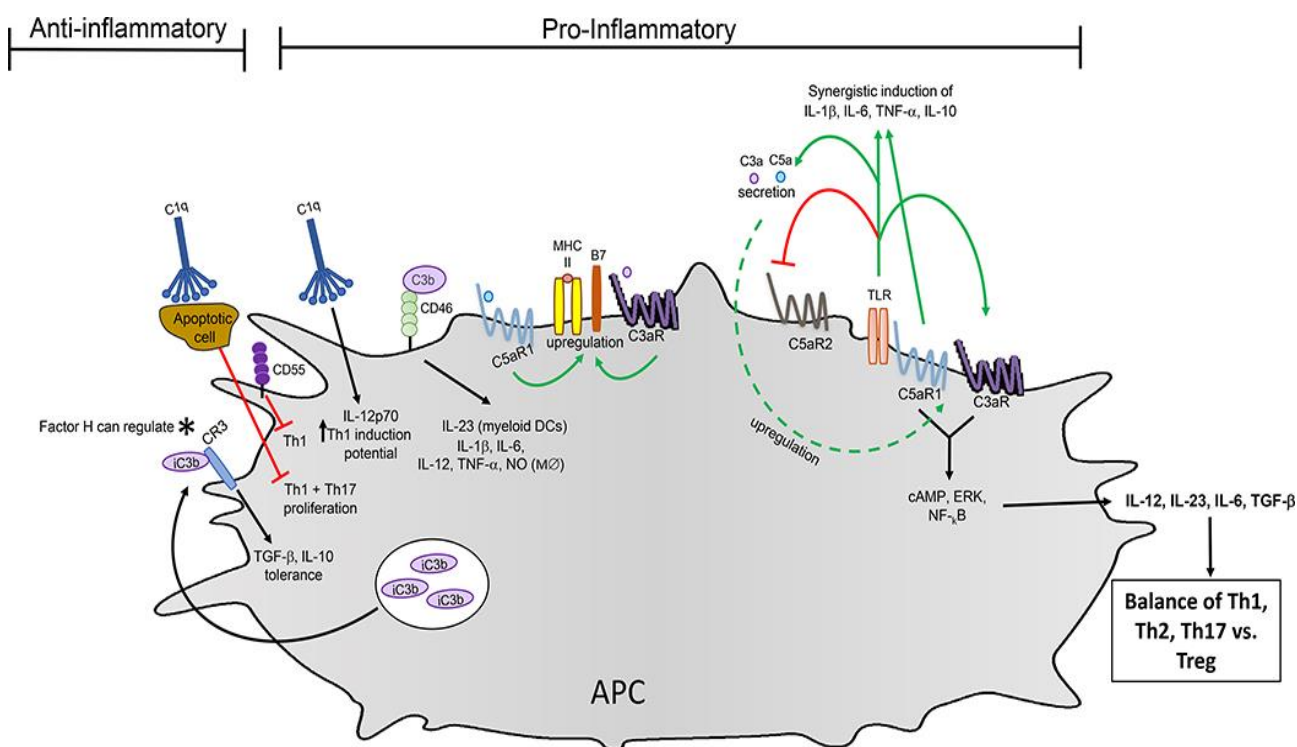


Рисунок 3 – Взаимодействие АПК и компонентов комплемента

Локальная активация комплемента запускается, в случае стимуляции TCR на Т-клетках и активации TLR на АПС, что инициирует выработку и секрецию C3, C5, фактора В и фактора D. Это приводит к образованию **локальной**

внечелочной конвертазы C3 (C3bBb), C5 (C3bBbC3b) и образованию фрагментов C3a, C3b, C5b и C5a. Стимуляция TCR также индуцирует перемещение C3aR из лизосомы на поверхность клетки, позволяя фрагментам комплемента C3a и C5a, связываться со своими соответствующими рецепторами C3aR и C5aR1 (CD88), экспрессируемыми на CD4⁺, CD8⁺ Т-клетках и на APC аутокринным образом, что опосредует созревание APC и ответы Т-эффекторных клеток.

На APC (DC) передача сигналов C5a и C3a через их рецепторы (C5aR1 и C3aR соответственно) усиливает регуляцию MHC II и костимулирующих молекул B7, а также передачу сигналов цАМФ, сигнальным киназным цепям ERK и NF-κB, что приводит к секреции IL-12, IL-23, IL-6 и/или TGF-β. Сигналы TLR усиливают секрецию C3a и C5a, которые в сочетании с сигналами C5aR1 и C3aR, приводят к синергетической индукции IL-1β, IL-6, TNF-α и IL-10, которые являются важными цитокинами для индукции Th1 и Th17.

Блокада C5aR1 в моноцитах человека во время инфекции *S. aureus* ингибировала индукцию Th1, а моноциты пациентов с дефицитом C3 у людей имеют сниженную способность индуцировать секрецию IFN-γ в CD4⁺ Т-клетках. Кроме того, в ДК и макрофагах человека стимуляция рецептора CD46 (рецептор для C3b, C4b) индуцирует выработку провоспалительных цитокинов и NO, не оказывая существенного влияния на Th2 тип цитокинов (IL-4, IL-5).

Активация Т-клеток запускается посредством презентации антигена зрелыми APC во вторичных лимфоидных органах. Природа антигена, APC и окружающего микроокружения в основном определяет, какие эффекторные функции (цитотоксические, Th1, Th2, Th17, регуляторные и т.д.) индуцируются принимающими сигнал Т-клетками.

C1q как положительно, так и отрицательно регулирует воспалительную реакцию, которая частично зависит от контекста/окружающей среды: C1q увеличивает уровень IL-1β и IL-12p70 и потенцирует ответы Th1, тогда как C1q, связанный с апоптотическими клетками, ингибирует секрецию IL-1β и пролиферацию Th1 и Th17.

При этом ряд рецепторов комплемента и регуляторов активно способствуют образованию APC с **противовоспалительным** фенотипом: связывание CR3 с его лигандом iC3b на APC приводит к последовательной продукции TGF- β и IL-10; такая продукция необходима для индукции ингибирования Т-клеток и для поддержания толерантности. Кроме того, фактор регулятора комплемента в жидкой фазе Н (FH) может индуцировать толерогенное состояние в DC, полученных из моноцитов человека.

Т-лимфоциты экспрессируют почти все белки комплемента, хотя и в гораздо меньших количествах по сравнению с APC и экспрессируют их, главным образом, внутриклеточно.

Несмотря на то, что рецепторы комплемента CR1 и CR2 играют центральную роль в индукции и регуляции активности В-клеток, у этих рецепторов нет аналогичной костимулирующей роли в биологии Т-клеток. CR1 экспрессируется у 12% циркулирующих в крови человеческих CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, стимуляция CR1 во время активации CD4⁺ Т-клеток *in vitro* ингибирует пролиферацию и выработку IL-2 и индуцирует секрецию IL-10, поэтому CR1 считается негативным регулятором активности Т-клеток

Центральными компонентами комплемента, регулируемыми регуляцию Т-клеточных реакций, являются рецепторы анафилатоксинов (рисунок 4).

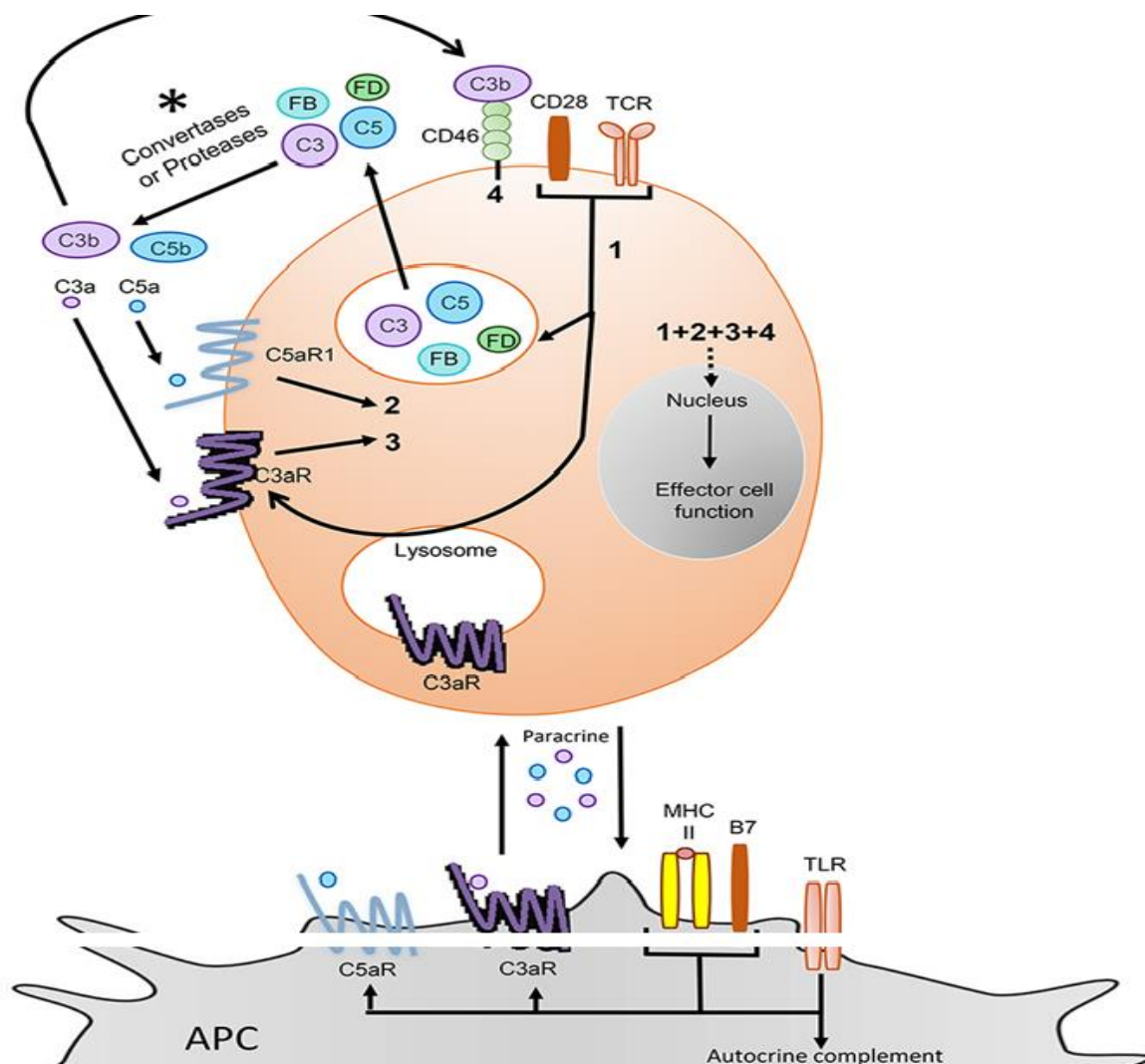


Рисунок 4 – Взаимодействие Т-лимфоцитов и АПК

(1 – активация TCR и костимуляция CD28 индуцируют перемещение внутриклеточной системы активации C3 на поверхность клетки; 2 и 3 – образующиеся C3a и C5a **во внеклеточном пространстве**, аутокринно взаимодействуют со своими рецепторами C3aR и C5aR1 (CD88), экспрессируемыми на CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитах и на АПК, опосредуя созревание АПК и ответы Т-эффекторных клеток; 4 – активация CD46 и C3aR соответственно лигандами C3b и C3a)

У людей активированные Т-клетки экспрессируют C3aR и C5aR2 как внутриклеточно, так и внеклеточно, тогда как экспрессия C5aR1 наблюдается только внутриклеточно. Внутриклеточная передача сигналов C5aR1 приводит к выработке АФК митохондриями и активации инфламماسомы NLRP3, что

приводит к аутокринной передаче сигналов IL-1 β и усилению функции Th1, которая ингибируется внеклеточной активацией C5aR2. Функция C5aR2 варьируется в зависимости от типа клетки: C5aR2 может действовать либо как антагонист C5aR1, либо как активный преобразователь про- или противовоспалительных сигналов.

CD4⁺ Т-клетки человека содержат внутриклеточные запасы C3, внутриклеточного C3aR (на лизосомальных мембранах) и протеазу катепсин L (CTSL) (рисунок 5).

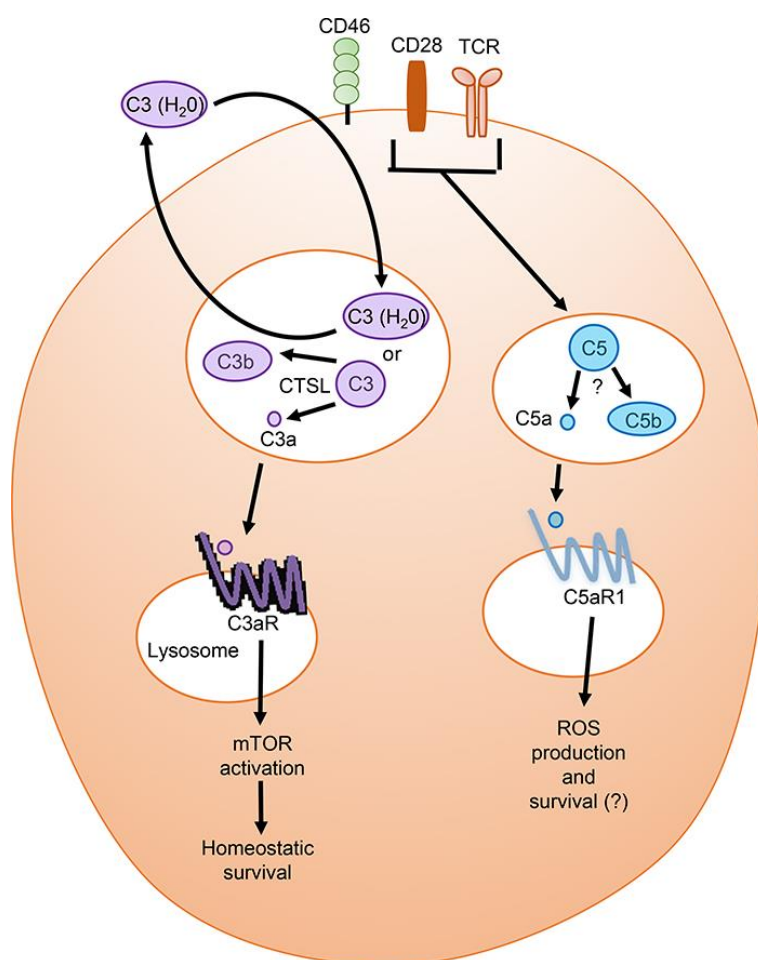


Рисунок 5 – Гомеостатическое выживание и активация Т-клеток, опосредованное анафилотоксинами и их рецепторами

CTSL непрерывно перерабатывает внутриклеточный C3 в биоактивные C3a и C3b в покоящихся Т-клетках, а взаимодействие лизосомального C3aR с внутриклеточным C3a опосредует гомеостатическое выживание Т-клеток

посредством активации тонической механистической мишени рапамицина (mTOR) – протеинкиназы, являющейся мишенью иммунодепрессанта рапамицина, контролирующей клеточный метаболизм и рост.

Т-клетки также постоянно генерируют внутриклеточный C5a из внутренних источников. При активации Т-клеточного рецептора внутриклеточный C5a взаимодействует с внутриклеточным C5aR и влияет на метаболизм кислорода, вызывая повышенную выработку митохондриальных АФК, которые поддерживают активацию клеток.

CD46 является трансмембранным белком и первоначально был обнаружен как регулятор комплемента, который функционирует как кофактор в протеолитической инактивации C3b и C4b. Кроме того, эта молекула может индуцировать довольно широкий спектр различных функций. Например, CD46 необходим для нормального взаимодействия сперматозоида и яйцеклетки и служит рецептором проникновения в клетку целого ряда важных патогенов человека, включая вирусы и бактерии.

У людей аутокринное вовлечение CD46 генерируемым Т-клетками фрагментом C3b является дополнительным необходимым событием для успешной индукции Th1. CD46 является ключевой костимулирующей молекулой на CD4⁺ Т-клетках: запускает внутриклеточное расщепление C5 до C5a, что индуцирует C5aR1-зависимое производство активных форм кислорода, и, в свою очередь, активирует инфламмасому NLRP3, вызывающую устойчивую активацию mTORC1, управляющую воспалительными процессами, активацией гликолиза, окислительного фосфорилирования, секрецию IL-1 β , что поддерживает индукцию TH 1 (IFN- γ). Интересно, что выработка IFN- γ CD4⁺ Т-клетками требует особенно высоких уровней гликолиза.

IL-1 β является сильным супрессором продукции IL-10, что требует жесткой регуляции локальных уровней IL-1 β , поскольку слишком большое количество этого цитокина может блокировать CD46-индуцированную коэкспрессию IL-10. Действительно, Т-клетки пациентов с CAPS (криопирин ассоциированный периодический синдром), продуцирующие повышенный

уровень IL-1 β , значительно уменьшают переключение с IFN- γ на IL-10; это снижение может быть устранено путем активации C5aR2 на поверхности клеток. Тогда как, пациенты с дефицитом CD46, либо C3 не способны развивать продуктивные ответы Th1 и страдают от рецидивирующих инфекций. Следует отметить, что CD4⁺ T-клетки у этих пациентов пролиферируют нормально и не имеют дефектов в индукции Th2 эффекторных клеток.

Критическая роль взаимодействия между этими древними системами «датчиков опасности» - комплементом и инфламасомами - для нормальной регуляции Th1 демонстрируется тем, что нарушение взаимодействия этих систем влияет на воспалительные реакции при аутоиммунных заболеваниях и инфекциях.

Передача сигналов IL-2R вместе с аутокринной активацией CD46 индуцирует выработку IL-10, инициируя переход к фазе ингибирования Th1 (рисунок 6).

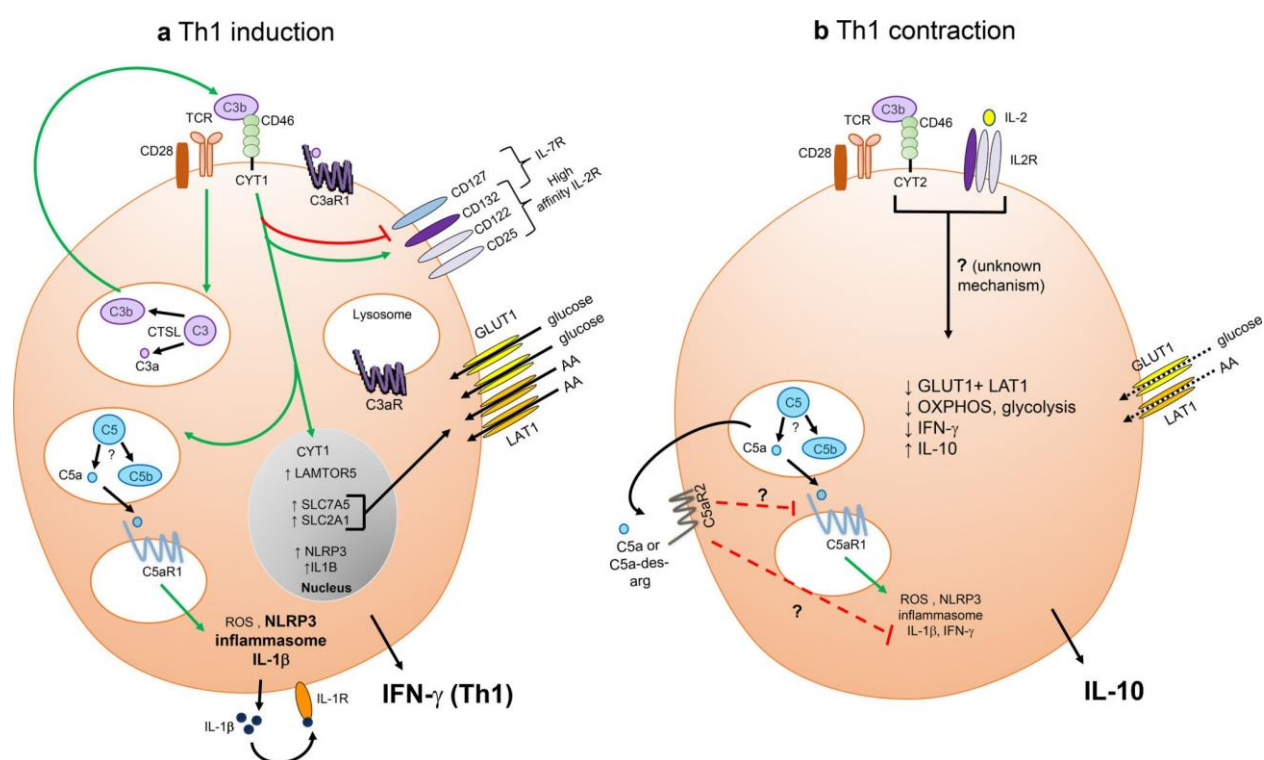


Рисунок 6 – Участие комплемента в индукции и ингибировании Th1 лимфоцитов

Во время ингибирования Th1 и индукции коэкспрессии IL-10 перемещение экспрессии изоформы CD46 в сочетании с сигнализацией рецептора IL-2, приводит к подавлению гликолиза и окислительного фосфорилирования, а также снижению выработки IFN- γ . Более того, аутокринное вовлечение поверхностно экспрессируемого C5aR2 посредством C5a способствует негативной регуляции митохондриальной активности и снижению АФК.

Таким образом, CD46 критически необходим для метаболического ремоделирования, лежащего в основе как успешной индукции, так и ингибирования Th1 типа иммунного ответа.

Активация каждой субпопуляции Т-лимфоцитов (хелперы, цитотоксические, регуляторные, памяти и т.д.) характеризуется особым метаболическим профилем.

В то время как наивные Т-клетки метаболически неподвижны и зависят главным образом от окислительного фосфорилирования (OXPHOS) для гомеостатической генерации АТФ, активированные Т-клетки усиливают аэробный гликолиз, приток глюкозы и биогенез митохондрий, окислительное фосфорилирование и поглощение аминокислот для обеспечения биомолекулярного синтеза, необходимого для пролиферации клеток и эффекторных процессов. В свою очередь mTOR распознает и интегрирует приток питательных веществ, чтобы затем регулировать метаболическую адаптацию в клетках, стимулируя гликолиз, OXPHOS и синтез липидов.

При активации CD4⁺ Т-клетки пациентов с дефицитом CD46 (которые имеют нормальные сигнальные пути TCR и CD28) демонстрируют значительно сниженную экспрессию переносчиков аминокислот LAT1 и переносчиков глюкозы GLUT1. Это снижение экспрессии критически связано с неспособностью этих клеток продуцировать IFN- γ . В воспаленных суставах пациентов с ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА) напротив наблюдали патологически повышенную стимуляцию CD46 посредством нерегулируемой внутриклеточной CTSL-опосредованной активации C3 в CD4⁺

Т-клетках. Эта неконтролируемая генерация внутриклеточного СЗ способствует повышенной активности mTOR и секреции IFN- γ в Т-клетках этих пациентов. Следует отметить, что усиленная внутриклеточная активация СЗ в Т-клетках ЮИА может быть нормализована с помощью проницаемого для клеток ингибитора CTSL, демонстрируя, что этот путь поддается терапевтическому вмешательству.

Снижение экспрессии CD46 на CD4⁺ Т-клетках специфически влияет на индукцию Th1-клеток, в то время как ответы Th2-клеток и Foxp3⁺ регуляторных Т-клеток (Treg) остаются незатронутыми.

Поскольку APC обычно выделяют большее количество IL-1 β во время родственного взаимодействия APC с Т-клетками, то полученный из APC IL-1 β поддерживает первичную активацию Th1, а поддержание фенотипа Th1 во время дифференцировки и миграции в ткани требуют аутокринной активности NLRP3, управляемой комплементом. Поскольку Т-клетки могут жить до 15 лет, в них реализуется специальный механизм, обеспечивающий самодостаточность в течение этого длительного срока службы. Действительно, нарушения в передаче сигналов CD46 способствуют гиперактивным ответам Th1 и снижению переключению на IL-10, наблюдаемому в Т-клетках пациентов с ревматоидным артритом, ЮИА и рассеянным склерозом.

Активация рецептора Т-клеток и костимуляция CD28 в покоящихся Т-клетках индуцируют внутриклеточную генерацию лиганда CD46 СЗb путем расщепления CTSL и повышенную экспрессию изоформ CD46, несущих CYT-1. В результате специфически индуцируются метаболические изменения, необходимые для продукции IFN- γ . Во время сокращения Th1 и индукции коэкспрессии IL-10 экспрессия изоформы CD46 в CD4⁺ Т-клетках возвращается к паттерну, в котором преобладает CYT-2 (цитоплазматическая субъединица CD46-2). Это сопровождается снижением экспрессии GLUT1 и LAT1 и подавлением регуляции окислительного фосфорилирования и гликолиза. Интересно, что естественные Treg-клетки не усиливают регуляцию изоформ CD46-CYT-1 при активации. Кроме того, CD46 не индуцирует и не

отменяет супрессивную способность IFN- γ или IL-10 в этих клетках, и пациенты с дефицитом CD46 имеют нормальное количество полностью функциональных Treg-клеток.

Эти данные свидетельствуют о том, что, хотя Treg-клетки экспрессируют все компоненты комплемента, необходимые для выработки провоспалительных цитокинов, и генерируют внутриклеточный C3a, передача сигналов CD46-CYT-1 в них практически отключена, что позволяет этой популяции Т-клеток оставаться в противовоспалительном состоянии.

Следовательно, переключение клеточного фенотипа CD46 может быть терапевтически ценным, для чего следует определять молекулярные пути, регулирующие сплайсингом РНК CD46 в Т-клетках.

3 ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА – КОМПЛОСОМА

В настоящее время установлено, что комплемент представлен, не только внеклеточной и мембраносвязанной системой белков, но и внутриклеточной системой (комплосомой), взаимодействующей с другими внутриклеточными системами - инфламмасомами. Внутриклеточная система комплемента имеет широкое биологическое значение.

Наличие встроенной в клетку и функционально активной системы комплемента (комплосомы) показано в лимфоцитах, фибробластах, эндотелиальных и эпителиальных клетках.

Вследствие того, что функционирование комплосом наиболее изучено в лимфоцитарных клетках, а также вследствие исторически сложившегося учения о комплементе, как о факторе врожденной иммунной защиты (а в ряде случаев и повреждения), мы наиболее подробно остановимся на взаимодействии системы комплемента (в том числе и комплосомы) и адаптивного иммунного ответа.

3.1 Роль комплосомы в гомеостазе Т-клеток

В покоящихся клетках внутриклеточно генерируемые фрагменты комплемента поддерживают саморегуляцию Т-клеток посредством тонкой настройки базальной метаболической активности с помощью обоих компонентов: C3a, генерируемого CTSL или путем рециркуляции и выживания клеток за счет C5a, связывающего внутриклеточный C5aR1. Регуляция же эффекторных ответов комплементом происходит посредством метаболического перепрограммирования CD4⁺ Т-клеток.

Внутриклеточная система обнаружена во всех проанализированных клетках. Следовательно, комплосома, названная отчасти по аналогии с инфламмасомой, и, представляющая собой компоненты системы комплемента, которые активируются **внутриклеточно** и действуют преимущественно на

внутриклеточные рецепторы и регуляторы комплемента, имеет широкое биологическое значение.

Таким образом, наши современные знания о роли комплемента/комплосомы в Т-клеточном иммунитете обеспечивают молекулярную основу, которая связывает эту древнюю систему с другими датчиками опасности (например, инфламмасомами и TLR) и с основными клеточными процессами, такими как пути выживания и иммунометаболическое перепрограммирование для прямой регуляции нормального функционирования организма.

4 НЕИММУННАЯ ФУНКЦИЯ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА

Межклеточные и стромально-клеточные взаимодействия, опосредованные белками комплемента, регулируют несколько физиологических процессов, таких как коллективная миграция клеток во время эмбриогенеза, синаптическая обрезка во время развития мозга, пролиферация и дифференцировка клеток во время регенерации печени, развитие костей, миграция и приживание гемопоэтических стволовых клеток во время гемопоэза.

Биологические функции комплемента реализуются следующими продуктами его активации:

– C3b и продукты его деградации, связываясь с CR1, CR2 и CR3, обеспечивают лиганды и рецепторы для межклеточных и стромально-клеточных взаимодействий при многих физиологических и патологических состояниях.

– CD46 представляет собой трансмембранный гликопротеин, который связывает, инактивирует C3b и C4b и играет важную роль в подавлении Th1-ответа. Этот регуляторный процесс опосредован IL-2 и обеспечивает противовоспалительный, опосредованный IL-10, Т-клеточный ответ.

– Совсем недавно было продемонстрировано, что MCP является рецептором вируса кори и участвует в прикреплении Streptococcus pyogenes группы А к эпителиальным клеткам. Кроме того, MCP может играть важную роль в репродуктивной биологии и, наряду с родственными белками, в ксенотрансплантации в качестве ингибитора активации комплемента.

– Активация комплемента генерирует C3a, C5a и MAC. При сублитической плотности накопление MAC на клеточной мембране способствует пролиферации клеток и дифференцировке, ингибирует апоптоз и защищает клетки от лизиса, опосредованного комплементом.

– Активация TCR и костимуляция CD28 индуцируют перемещение внутриклеточной системы активации C3 на поверхность клетки, где могут активироваться C3aR и CD46 соответственно лигандами C3a и C3b. Эти

сигнальные события C3aR и CD46 усиливают регуляцию рецепторов факторов роста, пролиферацию клеток.

– Рецепторы анафилатоксина C3aR и C5aR представляют собой рецепторы, связанные с G-белком, присутствующие на многих типах клеток, включая лимфоциты, моноциты/макрофаги, миелоидные клетки, гемопоэтические стволовые клетки, мезенхимальные клетки и эпителиальные клетки, в том числе раковые клетки.

– Активация C5aR вызывает ряд ответов в зависимости от типа клеток. Например, связывание C5a с C5aR уменьшает апоптоз нейтрофилов и Т-клеток и увеличивает пролиферацию клеток в эндотелиальных и клеточных линиях рака толстой кишки.

– Активация C3aR играет важную роль в управлении коллективной миграцией клеток и эпителиально-мезенхимальным переходом, которые являются важными механизмами метастазирования.

Эти данные в совокупности показывают, что комплемент является важным регулятором активации инфламماسом в различных типах клеток и регулирует основные физиологические пути (особенно те, которые имеют метаболическую природу) и являются ключевыми для общего гомеостаза клеток и эффекторных функций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Как считают ряд авторов (West EE, Kolev M, Kemper C., 2018) комплемент, возможно, первоначально функционировал как внутриклеточная сенсорная система и стал секретируемым и системным компонентом только тогда, когда жизнь эволюционировала от одиночной клетки к многоклеточным, а затем и многоорганным образованиям. Таким образом, комплемент, эволюционировал от первоначального регулирования нормального внутриклеточного физиологического гомеостаза посредством организации клеточно-автономного иммунитета посредством индукции и сокращения эффекторных функций во время стимуляции клеток до того, чтобы в конечном итоге стать главным стражем внеклеточного пространства, каким мы его знаем сегодня.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Куприянов С.В., Сеницкий А.И., Долгушин И.И. Сложные регуляторные сети: взаимосвязи метаболизма, внутриклеточных сигнальных путей и эпигенетических регуляторов в контроле функций Th. Иммунология. 2021; 42 (5): 562-573.
2. Hawksworth OA, Coulthard LG, Woodruff TM. Complement in the fundamental processes cell. Mol Immunol. 2017 Apr; 84:17-25.
3. Garred P, Tenner AJ, Mollnes TE. Therapeutic Targeting of the Complement System: From Rare Diseases to Pandemics. Pharmacol Rev. 2021 Apr;73(2):792-827.
4. West EE, Kolev M, Kemper C. Complement and the Regulation T Cell Responses. Immunol. 2018 Apr 26;36:309-338.
5. Hajishengallis G, Reis ES, Mastellos DC, Ricklin D, Lambris JD Novel mechanisms and functions complement. Nat Immunol. 2017 Nov 16;18(12):1288-1298.
6. M Kathryn Liszewski, Martin Kolev, Gaelle Le Friec, Marilyn Leung, Paula G Bertram, Antonella F Fara, Marta Subias, Matthew C Pickering, Christian Drouet, Seppo Meri, T Petteri Arstila, Pirkka T Pekkarinen, Margaret Ma, Andrew Cope, Thomas Reinheckel, Santiago Rodriguez de Cordoba, Behdad Afzali, John P Atkinson, Claudia Kemper. Intracellular complement activation sustains T cell homeostasis and mediates effector differentiation. Immunity. 2013 Dec 12;39(6):1143-57.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Возможна ли активация системы комплемента по классическому пути иммуноглобулинами класса М?

- А. Да
- Б. Нет, только иммуноглобулинами п/кл. G1 И G3
- В. Иммунные комплексы, содержащие IgM не активируют комплемент по классическому пути
- Г. Возможна, но не IgM, а иммунными комплексами, содержащими IgM

2. Назовите компонент комплемента, участвующий во всех трех путях активации.

- А. C1
- Б. C3
- В. C2
- Г. C4

3. Фрагмент какого белка комплемента участвует в выведении иммунных комплексов?

- А. C1
- Б. C9
- В. C3
- Г. C4

4. Чем обусловлен константный противовоспалительный фенотип естественных Treg-клеток?

- А. Treg-клетки не экспрессируют компоненты комплемента, необходимые для выработки провоспалительных цитокинов
- Б. естественные Treg-клетки не усиливают регуляцию изоформ CD46-СУТ-1 при активации
- В. на естественных Treg-клетках отсутствует рецептор CD46

Г. дефицит CD46

5. Комплосома – это:

А. Внутриклеточная система комплемента

Б. Внеклеточная система комплемента

В. Сосудистая система комплемента

Г. Белки комплемента в макрофагах

6. Основные рецепторы комплемента, регулирующие Т-клеточные реакции:

А. Рецепторы к C1

Б. Рецепторы к C3в

В. NOD- рецепторы

Г. Рецепторы к C3a и C5a

7. Продукция каких цитокинов ведет к ингибированию Тн1 типа иммунного ответа?

А. IFN- γ

Б. α - и β -интерферонов

В. TGF β и IL10

Г. ИЛ-1

8. Мембраноатакующий комплекс – это:

А. C1 (C1q, C1r, C1s)

Б. C3a-C5a

В. C5b,6,7,8,9n

Г. Inh C-1эстеразы

9. Продукция какого провоспалительного цитокина поддерживает индукцию Тн1 (IFN- γ):

- А. ИЛ1
- Б. ИЛ6
- В. ФНО
- Г. α -ИФН

10. Индукция какого метаболического процесса наиболее выражена в активированных Тн1 –лимфоцитах:

- А. Глюконеогенез
- Б. Синтез жирных кислот
- В. Гликолиз
- Г. Окислительное фосфорилирование

Таблица 1 – Эталоны правильных ответов на тест

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Г	Б	В	Б	А	Г	В	В	А	В