

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ

*П.А. Дьяченко, магистр;
научный руководитель – Н.Д. Чемич, канд. мед. наук
Сумский государственный университет*

ВСТУПЛЕНИЕ

Вирусные гепатиты являются одними из самых распространенных заболеваний человечества. Сотни миллионов людей в мире в настоящее время инфицированы вирусами гепатита В и С (HBV и HCV). Длительная персистентная инфекция приводит к возникновению цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) у 20-30% пациентов. Хронические вирусные гепатиты (ХВГ) являются главной причиной смертности от печеночной недостаточности. Это индуцировало широкомасштабные исследования этиологических агентов и механизмов патогенеза хронической инфекции. В настоящее время первая часть этой задачи в значительной степени решена – получены исчерпывающие данные о молекулярной структуре и репликации обоих вирусов. В то же время вопросы патогенеза остаются недостаточно изученными. Это объясняется отсутствием модельных систем: эти инфекции удалось воспроизвести лишь на шимпанзе, что отнюдь не расширило возможности исследователей. Более того, отсутствуют даже перевиваемые вируспродуцирующие клеточные линии. Большинство исследователей полагает, что HBV и HCV не обладают цитопатогенными свойствами, а катастрофические процессы, развивающиеся в печени хронически больных людей, являются следствием масштабного аутоиммунного конфликта. Эти вирусы (особенно HCV) не только способны ускользать из-под иммунного надзора хозяина, но и ориентировать эффекторные системы иммунитета на клетки самого организма. Известно, что основная роль в борьбе с вирусными инфекциями принадлежит Т-клеточной системе иммунитета, прежде всего Т-хелперам 1 типа. Поэтому изучение дифференцировки и функционирования этого звена иммунной системы при ХВГ весьма актуально.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести анализ имеющихся в литературе данных о некоторых деталях процесса дифференцировки Т-лимфоцитов при адаптивном иммунном ответе и особенностях этого процесса при хронических вирусных гепатитах.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Начальные этапы дифференцировки. Адаптивная иммунная система индуцирует пролиферацию и дифференцировку Т-клеток от наивного фенотипа к эффекторным функциональным типам или к фенотипам памяти. Th1/Th2 фенотип отражает исход активации наивных Т-клеток. Пролиферация тимоцитов и созревание их в Т-клетки происходит в результате серии последовательных превращений, характеризующихся изменением статуса рецепторных генов и экспрессии специфических для Т-клеток поверхностных мембранных молекул (прежде всего Т-клеточного рецептора, TCR, и сорцепторов CD4 и CD8), что в свою очередь отражает состояние функциональной зрелости Т-клеток. Специфические комбинации этих клеточных поверхностных молекул служат, таким образом, маркерами различных стадий дифференциации Т-клеток.

Впервые попавшая из костного мозга в тимус клетка-предшественник лишена поверхностных молекул, характерных для зрелой Т-клетки, а ее рецепторные гены имеют родительскую конфигурацию. В результате взаимодействия с тимической стромой включается дифференциация, пролиферация и экспрессия первой специфической для Т-клеток поверхностной молекулы, CD2. В конце этой длящейся около недели фазы незрелые тимоциты несут четкие маркеры Т-клеточной линии развития, но не экспрессируют ни один из трех рецепторов, характерных для зрелых Т-клеток: CD3/TCR-рецепторный комплекс, [1] CD4 и CD8. Отсутствие двух последних определяет название этих клеток – двойные негативные тимоциты (ДНТ). Эти незрелые клетки, представляющие около 5% всех тимоцитов, формируют высоко гетерогенный пул клеток, который включает основную и две минорные субпопуляции.

Одна из них, представляющая около 20% всех ДНТ тимуса, образована клетками, экспрессирующими редкий $\gamma\delta$ рецептор. Вторая, также представляющая около 20% всех ДНТ, включает клетки, несущие $\alpha\beta$ Т-клеточный рецептор весьма ограниченной дивергентности, которые активируются как часть раннего ответа на многие патогены. Термин ДНТ принято применять в отношении оставшихся 60% ранних тимоцитов, коммитированных к основной $\alpha\beta$ Т-клеточной линии, но с нереаранжированными генами α или β цепей Т-клеточных рецепторов.

Дальнейшее развитие ДНТ связано с экспрессией адгезивной молекулы CD44 и α -цепи IL-2 рецептора, CD25. На первом этапе тимоциты экспрессируют CD44, но не CD25. В этих клетках гены, кодирующие β -цепь Т-клеточного рецептора, имеют родительскую конфигурацию. При дальнейшем созревании они начинают экспрессировать на своей поверхности CD25, а еще позже экспрессия CD44 резко сокращается. В этих клетках с фенотипом CD44^{low}CD25⁺ начинается реаранжировка гена β -цепи TCR, после завершения которой прекращается также экспрессия CD25 [2].

β -цепи TCR, экспрессируемые CD44^{low}CD25⁺ клетками, достигают поверхности тимоцитов, связываясь с суррогатными α -цепями pT α (преТ-клетки α) и CD3 молекулами. Экспрессия этого комплекса ведет к пролиферации клеток и прекращению дальнейшей реаранжировки гена β -цепи TCR и, в конце концов, к экспрессии CD8 и CD4. Клетки на этой стадии развития часто называют двойными позитивными тимоцитами (ДПТ). Во время пролиферации ферменты, ответственные за реаранжировку, супрессируются и реаранжировка прекращается. Когда клетки достигают стадии ДПТ, пролиферация блокируется, что ведет к реактивации ферментов и реаранжировке генов α -цепи TCR и, в конечном итоге, образованию полного $\alpha\beta$ Т-клеточного рецептора [3].

Малые ДПТ экспрессируют TCR на очень низком уровне, и большинство из них (свыше 95%) погибает. Это прежде всего те из них, которые экспрессируют Т-клеточный рецептор, неспособный распознавать собственные МНС молекулы. В процессе позитивной селекции такие клетки гибнут [4]. Напротив, ДПТ, распознающие собственные МНС молекулы, подвергаются позитивной селекции и созревают далее, поддерживая на высоком уровне экспрессию TCR и экспрессируя одну из двух сорцепторных молекул, CD4 или CD8. Зрелые клетки с фенотипом CD4⁺CD8⁻/CD4⁻CD8⁺ быстро покидают тимус, пополняя репертуар периферических Т-клеток в виде т.н. «наивных» Т-лимфоцитов. Однако лишь после встречи с антигеном происходит окончательная подготовка Т-клеток к выполнению своих функций. Далее рассматривается дифференцировка только одного функционального типа клеток с фенотипом CD4⁺CD8⁻ (Т-хелперов).

Т-хелперы: наивные, эффекторы и клетки памяти. Th1/Th2 клетки представляют собой субпопуляцию CD4⁺ Т-клеток, имеющих на своей поверхности в составе Т-клеточного рецептора (TCR) α и β субъединицы. Необходимость детального обозначения фенотипа CD4⁺ $\alpha\beta$ TCR Т-клеток кроется в том, что помимо упомянутых в популяцию Т-иммуноцитов входят также и другие типы клеток, такие как CD4⁺ $\gamma\delta$ TCR Т-клетки и CD8⁺ $\alpha\beta$ TCR Т-клетки. Сегодня известно несколько типов Th-клеток (Thp, Th0, Th1, Th2 и Th3), которые в том же контексте часто упоминаются как наивные, эффекторные и клетки памяти. Антиген-наивные Т-клетки (Thp) после контакта с клетками врожденной иммунной системы могут дифференцироваться в некоммитированные (Th0) клетки. Хотя точная природа этих клеток еще неизвестна, показано, что они являются продуцентами IL-4 и IFN γ и предшественниками Th1/Th2 клеток [5]. Возможно также, что эта стадия дифференцировки Т-клеток представляет собой смесь популяций клеток, секретирующих множество разных цитокинов. Экспозиция антигена с Thp клетками приводит к конечному их превращению в Th1 или Th2 клетки, или в эффекторные клетки, или в клетки памяти. Если клетки активно секретируют цитокины (например, Th1: IFN γ , Th2: IL-4 и IL-5), они расцениваются как Th1 или Th2 первичные эффекторные клетки [6]. Если они являются «покоящимися», но поляризованными (т.е. коммитированными к Th типу), их расценивают как Th1 или Th2 клетки памяти [7], которые при реактивации образуют Th1 или Th2 эффекторные клетки памяти. Клетки памяти, по крайней мере CD8⁺ линии, являются определенной стадией дифференцировки Т-клеток, а не переходной стадией в развитии эффекторных клеток [7]. Пока не установлено, происходят ли клетки памяти непосредственно из стимулированных антигеном наивных клеток или они появляются в результате деактивации функционирующих эффекторных клеток [7,8].

В отличие от других иммунных клеток, фенотип Т-хелперов характеризуется не столько репертуаром поверхностных молекул (CD), сколько набором секретируемых ими цитокинов. Показано, что клетки Th1 продуцируют $IFN\gamma$, $TNF\beta$ и IL-2, в то время как Th2 — IL-4, -5, -6, -13 [9,10]. IL-10 секретируется клетками обеих субпопуляций. Еще один субтип Т-хелперов с уникальным набором секретируемых цитокинов — Th3 клетки, которые, кажется, являются CD4+ регуляторными Т-клетками, секретирующими TGF β [11]. Наивные (Thp) клетки традиционно описываются исключительно как продуценты IL-2 [9,10], но они могут быть высоко дивергированными по продукции цитокинов после первоначальной активации (например, IL-2, IL-4, $TNF\alpha$, IL-13, $IFN\gamma$). Th0 клетки первоначально описаны как продуценты IL-4 и $IFN\gamma$, однако сейчас их существование не является общепризнанным фактом. Так как продукция цитокинов измеряется в гетерогенной популяции клеток, Th0 клетки могут быть просто смесью Th1 и Th2 клеток.

В дополнение к профилю продуцируемых цитокинов известен ряд поверхностных клеточных маркеров, позволяющих дифференцировать Th1 и Th2 клетки. Например, Th1 клетки экспрессируют оба компонента рецепторов к IL-12 (β 1 и β 2 цепи), в то время как Th2 клетки обнаруживают только IL-12R β 1. Напротив, Th2 клетки синтезируют обе рецепторные цепи (α и β) для $IFN\gamma$, в то время как Th1 клетки экспрессируют только $IFN\gamma R\alpha$. Только Th2 клетки экспрессируют полный функциональный IL-1 рецептор, а также недавно открытую IL-1R1-подобную молекулу ST2L/T1. Хемотаксисные рецепторы CXCR-3 и CCR-5 характерны для Th1 клеток, в то время как CXCR-4, CCR-3, CCR-4, CCR-7 и CCR-8 ассоциированы с Th2 клетками. CD30, относящийся к суперсемейству TNF молекул, ассоциирован также с этой субпопуляцией клеток [12,13].

Факторы, регулирующие дифференцировку Th клеток. Целый ряд факторов влияет на развитие Th1 и Th2 клеток, однако все они зависят от фундаментального последовательного взаимодействия между антигенпрезентирующей клеткой (АПК) и наивной (Thp) клеткой. Это взаимодействие начинается с презентации комплекса антиген-МНС II класса на поверхности АПК комплексу TCR/CD3/CD4 наивных Т-лимфоцитов [14]. Это взаимодействие активирует наивные Т-клетки, в результате чего происходит экспрессия IL-2 рецепторов, секреция IL-2 и сверхэкспрессия CD40L. IL-2 аутокринным образом взаимодействует с IL-2R, в то время как появление CD40L позволяет Т-клетке связываться конститутивно экспрессируемой на поверхности АПК CD40. Это взаимодействие стимулирует АПК к экспрессии вначале CD86/B7-2, а позднее — CD86/B7-1. Эти молекулы являются лигандами для Т-клеточного мембранного CD28. Взаимодействие B7-CD28 является ключевым моментом активации Т-клеток, поскольку связывание CD28 (1) усиливает секрецию IL-2 (и таким образом, пролиферацию), (2) индуцирует появление способствующей выживанию антиапоптотической молекулы Bcl-x_L и (3) стимулирует дальнейшую секрецию цитокинов [15].

После связывания CD28 наивные Т-клетки могут дифференцироваться разными путями в зависимости от контекста. Одним из факторов, влияющим на развитие Т-хелперов, является собственно взаимодействие МНС-TCR. Очень низкие и очень высокие дозы антигена, как полагают, благоприятствуют Th2 ответу, в то время как умеренное количество антигена предрасполагает наивные Т-клетки к превращению в Th1 клетки [16]. Альтернативно, когда доза и аффинность антигена соотносятся конкурентно, наблюдается прямо противоположный результат: низкие и высокие дозы высокоаффинных антигенов стимулируют развитие Th1 клона, в то время как умеренные дозы высокоаффинных антигенов способствуют появлению Th2 клеток. Любая доза антигена благоприятствует Th0 фенотипу, и ключом к последующей дифференцировке является уровень доступного IL-2. Хотя CD4 является частью комплекса TCR наивных Т-клеток, он, кажется, не требуется для развития Th1 или Th2 клонов.

Определенное влияние на дифференцировку оказывают костимулирующие молекулы. В пределах системы B7-CD28 молекула CD86/B7-2 ассоциирована с Th2 развитием, в то время как CD86/B7-1 обеспечивает нейтральный дифференцировочный сигнал. Этот эффект может зависеть от действия цитокинов. Другие костимулирующие молекулы на поверхности Т-клеток включают ICOS, недавно открытую CD28-подобную молекулу, которая вносит свой вклад в развитие Th2 клеток и два члена суперсемейства TNF, OX40 и 4-1BB, которые предрасполагают к развитию Th2 и Th1 клеток соответственно [17].

Время воздействия плюс относительный уровень цитокинов систематически

смещают наивные Т-клетки к тому или иному фундаментальному фенотипу. Помимо IL-2, чья роль в дифференцировке ограничивается определенными стадиями развития Th2 клеток, три цитокина играют определяющую роль на начальных стадиях развития Th1 и Th2 клеток. Это IL-4, 20 kDa мономер, секретируемый Th2 клетками, тучными клетками, базофилами и эозинофилами; IFN γ , 35 kDa нековалентный гомодимер, секретируемый рядом клеток, включая NK клетки, Th1 клетки, макрофаги и $\gamma\delta$ Т-клетки; IL-12, 70 kDa гетеродимер, который секретируется АПК, нейтрофилами и кератиноцитами.

IL-12 и IL-4 определяют развитие наивных CD4⁺ Т-клеток в Th1 и Th2 клетки соответственно [6]. Не все цитокины равноэффективны, однако частично это связано с вариабельной экспрессией рецепторов. В наивном (Th₀) состоянии Т-клетки имеют фенотип IL-4R⁺, IL-12R β 1- β 2⁻ и IFN γ R α + β ⁺. После активации Th₀ клеток антигеном через взаимодействие с АПК экспрессия имеющегося IL-4R повышается, появляются IL-12R β 1 и β 2 и продолжается экспрессия IFN γ R α и β . В этом транзитном Th₀-подобном состоянии экспрессируют все сходные рецепторы. С этой точки количество и время появления различных цитокинов детерминированы. Ростовой фактор Th1 клеток IL-12 секретируется клетками АПК тотчас после представления ими антигена и связывания В7. IL-12 связывается с NK и Th₀ клетками, индуцируя быстрый синтез IFN γ . Эта начальная индукция IFN γ Th₀ клетками приводит, во-первых, к очевидному накоплению субъединиц IL-12R и, во-вторых, к негативной регуляции собственной IFN γ R β субъединицы. Теоретически это приводит к появлению IFN γ продуцирующих клеток, то есть Th1 клеток, которые уже не способны реагировать на свой собственный IFN γ , но все еще реагируют на IL-12 и способны отвечать на IL-4 через свои IL-4R. Необходимо подчеркнуть существование IL-4R на полностью дифференцированных Th1 клетках, поскольку это обеспечивает возможность будущего модулирования функций этих клеток.

Считается, что эффект IL-4 превосходит IL-12. Этот цитокин повышает экспрессию своего собственного рецептора, подавляет секрецию IL-12 и снижает экспрессию β 2 субъединицы рецептора IL-12. Вероятно, он индуцирует свою собственную экспрессию (как наивными, так и эффекторными клетками) и обеспечивает переключение Th1 ответа на Th2, возможно, через активацию своего собственного рецептора на Th1 клетках. Напротив, IL-12 не может блокировать продукцию IL-4 и не может индуцировать переключение Th2 на Th1. Следствием этого обстоятельства является тот факт, что Th2 клетки постоянно продуцируют IL-4, а последний снижает экспрессию IL-12R β 2 субъединицы. IL-12, однако, может повлиять на активность IL-4 через индукцию IFN γ . Этот цитокин ингибирует экспрессию рецепторов IL-4 и прямо или косвенно интерферирует с продукцией IL-4 и IL-5. Доминирующее положение IL-4 относительно IL-12 показывает, что время появления и количество IL-4 диктует путь развития Th₀. В отличие от IL-12, продуценты которого находятся в ближайшем окружении активированных Т-клеток, IL-4 синтезируется рядом клеток, находящихся на определенном удалении от места антигенной активации: тучными клетками, Th2 эффекторными клетками, $\gamma\delta$ Т-клетками и особым типом NK клеток, первоначально обнаруженных у мышей. Другим источником IL-4 являются Th₀, активированные наивные клетки. Как указывалось выше, IFN γ и IL-4 синтезируются переходными Th₀ клетками. Таким образом, при достаточном количестве синтезированного эндогенного IL-4 преодолевается ранний ингибирующий эффект эндогенного IFN γ и стимулирующее действие секретированного АПК IL-12. Доминирование IL-4 влечет клетки к Th2 фенотипу. Определяющим фактором является время появления и соотношение IL-4 с IFN γ и IL-12. IFN γ всегда синтезируется первым и лишь затем появляется IL-4. В отсутствие внешних источников цитокинов похоже, что цитокины, обеспечивающие Th1 дифференцировку, имеют первоначальное преимущество. В зависимости от местного уровня ингибирующих IL-4 цитокинов, таких как IFN γ и TGF β , любая отсрочка в появлении IL-4 не имеет значения, поскольку потенциально Th1 клетки могут быть позднее конвертированы в Th2 клетки. В любом случае IL-4 является доминантным и превалирует при достижении критического уровня [18].

Конечно, приведенная схема лишь в общих чертах отображает очень сложную систему. Например, TGF β в присутствии IL-4 и высокого уровня IL-2 может направить наивные Т-клетки к Th1 фенотипу. При наличии цитокинов стадия Th₀ может оказаться истинно дивергентной, когда одновременно развиваются оба клеточных клона. Предполагается, что IL-12 способствует превращению Th2 клеток в эффекторные. Th1

клетки памяти невозможно конвертировать в Th2 клетки, в то время как Th2 клетки памяти могут быть конвертированы в Th1 клетки.

Функционирование Th1 и Th2 клеток при ХВГ. Иммунный ответ, инициированный Т-клеточным ответом на вирусные антигены, как полагают, лежит в основе элиминации вируса и патогенеза заболевания при инфекции парентеральными гепатотропными вирусами. Т-клеточный ответ при острой самоизлечивающейся инфекции HBV и HCV характеризуется интенсивным поликлональным и мультиспецифическим цитотоксическим и хелперным Т-клеточным ответом. Считается, что освобождение организма от вируса является результатом уничтожения инфицированных клеток эффекторными цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ). Однако недавно появились сведения, что выделяемые эффекторными Т-лимфоцитами цитокины способны инактивировать внутриклеточный вирус без разрушения клеток [19].

В противовирусной стратегии организма доминируют две основные задачи: 1) воспрепятствовать инфицированию вирусом чувствительных клеток и 2) воспрепятствовать размножению вируса. Вирус в своей борьбе с иммунной системой хозяина реализует ряд иных стратегических принципов. Так, гипервариабельность гликопротеина E2 HCV находится под селективным давлением протективных ответов Т- и В-клеток, что позволяет вирусу посредством быстрой мутации антигенных детерминант избегать иммунного распознавания. Как показали экспериментальные и клинические исследования, отсутствие протективного иммунитета против реинфекции HCV обусловлено инфицированием иным антигенным вариантом вируса, к которому у переболевших людей или шимпанзе нет вируснейтрализующих антител [20]. К тому же белки кора обоих вирусов могут супрессировать иммунный ответ хозяина, подавляя ответы вирусспецифических ЦТЛ и продукцию цитокинов иммунными клетками [19,21].

В результате инфекции вирусные антигены презентуются на поверхностной мембране клетки, распознаются преинфицированными цитотоксическими CD8+ Т-лимфоцитами (ЦТЛ), которые атакуют и уничтожают инфицированные вирусом клетки. Гибель клеток-мишеней, опосредованная ЦТЛ, происходит по типу апоптоза [22]. Апоптоз при этом инициируется вследствие взаимодействия В/перфорин-зависимого механизма или опосредуется через FasL/Fas взаимодействие.

Как известно, представление процессированных антигенов антигенспецифическим клоном Т-хелперов приводит к активации и интенсивной пролиферации аналогичных клонов эффекторных Т- и В-клеток. Появление на поверхности лимфоцитов активационных антигенов неизменно сопровождается повышением экспрессии маркера готовности к апоптозу, Fas/CD95, и Fas-лиганда. Такая негативная регуляция количества эффекторных иммунных клеток ограничивает напряженность иммунного ответа достаточной необходимостью. Однако в целом ряде случаев (при суб- и супраоптимальной антигенной стимуляции, действии суперантигенов, генерации в ходе инфекции квазивидов и др.) процессы апоптоза иммунных клеток начинают доминировать над их пролиферацией, что приводит к угнетению иммунного ответа. По-видимому, антигенспецифический апоптоз преинфицированных Т-лимфоцитов является субстратом иммунорегуляторного дисбаланса и вторичного иммунодефицита при ХВГ. Дело в том, что хелперы 1-го и 2-го субтипов различаются по способности экспрессировать Fas-лиганд и подвергаться индуцированному активацией апоптозу [23]. Супeroптимальная доза антигена приводит к быстрой гибели Th1, но не Th2 клона в результате Fas-FasL взаимодействия [24]. Этому способствует недостаточность в микроокружении ауто- и паракринных факторов роста—IL-2 и IL-12 [23]. Кроме того, инфицируя такие привилегированные клетки иммунной системы, как дендритические клетки, HBV и HCV ингибируют процессинг или презентацию вирусных антигенов, нарушая тем самым способность антигенпрезентирующих клеток стимулировать Т-клеточный ответ. Следующая за этим иммунологическая толерантность на вирусные антигены является важным императивом персистенции вируса [19,25].

Апоптоз, опосредованный Fas-FasL взаимодействием, приводит к гибели антигенспецифических CD4+ Т-хелперов и CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов, имеющих фенотип клеток памяти—CD45RO+ [26]. Кроме того, CD8+ ЦТЛ могут погибать и в результате взаимодействия TNF α с TNFRII [23,24]. Обнаруженная способность ряда вирусов и других внутриклеточных паразитов защищать от апоптоза инфицированные ими клетки [27] при одновременном усилении апоптоза незараженных клеток является важной детерминантой вирусиндуцированной иммуносупрессии.

Поскольку анализ иммунного ответа в течение первых недель острой самоизлечивающейся вирусной инфекции может помочь идентифицировать успешную

противовирусную стратегию организма, характер иммунного ответа, его интенсивность, баланс субпопуляций реагирующих клеток, продукция иммунорегуляторных молекул при остром и хроническом вирусном гепатите являются объектом многочисленных исследований. Согласно доминирующему в литературе мнению, развитие сильного вирусспецифического CD4⁺ Т-клеточного ответа с продукцией IFN γ и других цитокинов Th1-репертуара при острой инфекции связано с удалением вируса из организма и разрешением заболевания [28]. Напротив, пациенты, у которых инфекция становится персистентной, обнаруживают гораздо более слабую Т-клеточную реактивность в ответ на вирусные антигены с преобладанием в крови цитокинов, характерных для Th2-клона Т-лимфоцитов (IL-4, IL-10) [29]. К тому же слабый ответ CD4⁺ Т-клеток при хронической инфекции или его отсутствие ассоциирован с низким уровнем ответа цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов (ЦТЛ) [30]. Лечение интерфероном приводит к активации специфической Th-клеточной реактивности у части больных, особенно в ранней фазе лечения между 4 и 8 неделями, сопровождающееся усилением продукции IFN γ [31]. У них также усиливается активность инфильтрирующих печень ЦТЛ. Напротив, у устойчивых к лечению интерфероном пациентов наблюдается слабая лимфопролиферация (или ее отсутствие) с преобладанием продукции через 4 недели IL-10, а не IFN γ . В печени таких больных вирусспецифические ЦТЛ не обнаруживаются. Добавление рибавирина к интерферону при комбинированном лечении ХВГ не изменяет Th-клеточной пролиферации в ответ на вирусные антигены, но модулирует баланс цитокинов в пользу Th1 репертуара, супрессируя продукцию IL-10 [32].

Большинство исследователей считает, что только развитие сильного и длительного Т-клеточного ответа с преобладанием набора цитокинов, характерных для Th1-клона Т-лимфоцитов, прежде всего IFN γ и IL-2, и активацией эффекторных CD8⁺ ЦТЛ и антителозависимой клеточномедирированной цитотоксичности через усиление продукции IgG2a и IgG3 ведет к прекращению HCV инфекции. Если в результате противирусную стратегию, баланс Th1/Th2 клонов Т-лимфоцитов смещается в сторону Th2-субпопуляции с преобладанием характерных для нее цитокинов IL-4, IL-10 и слабой (отсутствием) активностью ЦТЛ. В итоге инфекция становится персистентной, а дисбаланс субпопуляций Th-клеток консервируется на длительное время. Действительно, имеются многочисленные свидетельства существенного повышения активности Th1-клеток при ХВГ. В сыворотке таких пациентов повышается уровень TNF α и sIL-2R [33]. Обнаружена даже зависимость между сывороточной концентрацией IL-1 β , sIL-2R, TNF α с одной стороны и степенью поражения печени с другой [34]. Napoli с соавт. [35] показали, что в биоптатах печени, полученных от пациентов с ХГС, резко повышена экспрессия мРНК Th1- цитокинов, а Bertolotti с соавт. [36] доложили, что большинство инфильтрирующих печень при хроническом гепатите Т-клеток принадлежит к Th1-клеткам. Анализ продукции цитокинов отдельными клетками также показал значительный рост при ХГ и особенно ЦП пропорции IFN γ -продуцирующих клеток в общей популяции CD4⁺ лимфоцитов, что коррелировало с увеличением сывороточной концентрации sIL-2R [37]. Это означает, что Th1 цитокины или Th1 клетки принимают активное участие в патогенезе повреждения печени при хронической инфекции вирусом ГС. Указанные цитокины являются основными индукторами цитотоксической активности различных киллерных клеток. В числе прочих могут активироваться клоны аутореактивных эффекторных клеток. Чрезмерная активация их ведет к развитию аутоиммунных реакций. С другой стороны, значительное увеличение содержания IL-2 в конечном итоге может привести к формированию иммунологического ответа супрессорного типа [38]. IFN γ и IL-2 являются синергическими ауто- и паракринными регуляторами роста CD4⁺ Т-лимфоцитов. Одной из важнейших функций этих лимфокинов является поддержка экспансии клеток с цитотоксической активностью. Биологическая необходимость обеих этих функций при хронической вирусной инфекции очевидна. В числе прочего, премированные Т-лимфоциты индуцируют экспансию CD5⁺ В-лимфоцитов, наблюдающуюся при легких формах инфекции ВГС [39]. IFN γ , возможно, вызывает повреждение печени через активацию макрофагов с последующим высвобождением различных медиаторов, таких как TNF α и оксид азота. Действительно, конститутивная экспрессия IFN γ гена в печени трансгенных мышей приводит к спонтанной индукции хронического активного гепатита [40].

Хроническая вирусная инфекции индуцируют повышение концентрации в крови т.н.

провоспалительных цитокинов: $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-8$. При этом отсутствует корреляция с параметрами воспалительного процесса (активность АлАТ) или вирусной нагрузкой, но прослеживается четкая взаимосвязь со степенью функциональных нарушений (протромбиновое время, концентрация сывороточного альбумина). Таким образом, уровень секреции по крайней мере части провоспалительных цитокинов отражает скорее степень дисфункции печени, чем активность воспалительного процесса. Вообще, активность АлАТ при HCV инфекции имеет скорее ориентировочное, нежели диагностическое значение. Уровень трансаминаз не зависит от фазы инфекции, гистологической картины или вирусной нагрузки и остается нормальным у значительной части больных хроническим гепатитом, создавая тем самым терапевтическую дилемму: нуждаются ли они в лечении интерфероном и рибаверином, поскольку в ряде случаев оно приводит к повышению уровня АлАТ [41,42]. Позитивная корреляция между уровнем $TNF\alpha$ и активностью патологического процесса в печени обнаружена и другими авторами [33,43].

Воспалительный процесс сопровождается не только увеличением продукции ряда цитокинов, но и нарушением тонкого баланса между отдельными цитокинами, между лигандами и их рецепторами и рецепторными антагонистами. В литературе имеются данные о серьезном дисбалансе, зависящем от активности воспалительного и фиброзного процессов, между $IL-1\beta$ и его рецепторным антагонистом [44]. Показана также корреляция между сывороточным уровнем растворимого рецептора $TNF\alpha$ (sTNFR) и степенью и активностью фиброзного процесса [45]. $TNF\alpha$ и его растворимый рецептор являются маркерами активации макрофагов. Следовательно, можно считать обоснованным предположение о важной роли таких эффекторных клеток как макрофаги в формировании персистентного гепатита посредством модулирования Th1/Th2 ответов *in vivo*. Опубликованные данные о резком увеличении экспрессии моноцитами крови больных ХВГ растворимых лейкоцитарных антигенов 1 класса (sHLA-I) [46] предполагают важную роль этих антигенов в дисфункции Т-лимфоцитов при ХВГ. sHLA-I могут либо взаимодействовать с Т-клеточными рецепторами, передавая ингибирующий сигнал, либо включать апоптоз цитотоксических Т-лимфоцитов, индуцируя экспрессию CD95 лиганда. Оба эти события благоприятствуют репликации HCV и прогрессирующему поражению печени. Действительно, в крови больных ХГ процент апоптоза в Т-клетках был в 3 раза выше, чем у здоровых [47].

ВЫВОДЫ

Приведенные выше данные позволяют сделать вывод о нарушении процесса дифференцировки предшественников Th1 и Th2 клонов лимфоцитов и их функциональной неполноценности при ХВГ, утративших способность адекватно отвечать как на неспецифические поликлональные активаторы, так и на специфическую стимуляцию Т-клеточного рецептора и индукцию вирусными антигенами, и дисбалансе между Th1 и Th2 клонами Т-клеток. Исход инфекции зависит от конкретного соотношения этих регуляторных клеток и соответствующего репертуара цитокинов. Можно утверждать, что уже на ранних этапах иммунного ответа на гепатотропную инфекцию (распознавание антигена и индукция пролиферации и дифференцировки наивных Т-хелперных лимфоцитов) нарушается активация регуляторных клеток, что приводит к состоянию гипо- или ареактивности и, в свою очередь, влечет за собой подавление инициации пролиферации и дифференцировки эффекторных иммуноцитов, как цитотоксических CD8+ Т-клеток, так и В-клеток.

SUMMARY

Precursors of T cells migrate from the bone marrow and mature in the thymus, passing through a series of stages that can be distinguished by the differential expression of CD44 and CD25, the CD3/T-cell receptor complex proteins, CD4 and CD8.

CD4 helper T cells then differentiates into two main clones: Th1 and Th2 cells. Th1 cells produce a range of cytokines and surface molecules that activate infected macrophages, kill chronically infected senescent macrophages, recruit fresh macrophages to site in infection, and stimulate of bone marrow production of new macrophages. CD4 Th2 cells are essential in the activation of B cells to secrete the antibodies that mediate humoral immune responses directed against extracellular pathogenes. The role of Th1 cell clone in pathogenesis of chronic viral hepatitis are discussed.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zunga-Pflucker J.C., Lenardo M.J. Regulation of thymocyte development from immature progenitors// *Curr.Opin.Immunol.*-1996.-V.8.-P.215-224.
2. Shortman K., Wu L. Early T lymphocyte progenitors// *Am.Rev.Immunol.*-1996.-V.14.-P.29-47.
3. Hardardottir F., Baron J.L., Janeway C.A. T cells with two functional antigenspecific receptors// *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.*-1995.-V.92.-P.354-358.
4. Petric H.T., Livak F., Burtrum D., Mazel S. T cell receptor gene recombination patterns and mechanisms - cell death, rescue, and T cell production// *J.Exp.Med.*-1995.-V.182.-P.121-127.
5. Mosmann T.R., Coffman R.L. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties// *Ann.Rev.Immunol.*-1989.-V.7.-P.145-173.
6. Croft M., Carter L., Swain S.L., Dutton R.W. Generation of polarized antigen-specific CD8 effector populations: reciprocal action of IL-4 and IL-12 in promoting type 2 versus type 1 cytokine profiles// *J.Exp.Med.*-1994.-V.180.-P.1715-1728.
7. Sprent J. T and B memory cells// *Cell.*-1994.-V.76.-P.315-322.
8. Zinkernagel R.M., Backmann M.F., Kundig T.M. et al. On immunological memory // *Ann.Rev.Immunol.*-1996.-V.14.-P.333-367.
9. Seder R.A., Paul W.E. Acquisition of lymphokine producing phenotype by CD4+ T cells // *Ann.Rev.Immunol.*-1994.-V.12.-P.635-673.
10. Mosmann T.R., Coffman R.L. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties// *Ann.Rev.Immunol.*-1989.-V.7.-P.145-173.
11. Weiner H.L. *Immunol.Today.*-1997.-V.19.-P.335-351.
12. Hogg N., Lands R.C. Adhesion molecules in cell interactions// *Curr.Opin.Immunol.*-1993.-V.5.-P.383-390.
13. Armitage R.J. Tumor necrosis factor receptor superfamily members and their ligands // *Curr.Opin.Immunol.*-1994.-V.6.-P.407-413.
14. York I.A., Rock K.L. Antigen processing and presentation by the class 1 MHC // *Ann.Rev.Immunol.*-1996.-V.14.-P.369-396.
15. Razi-Wolf Z., Freeman G.J., Galvin F. et al. Expression and function of the murine B7 antigen, the major co-stimulatory molecule expressed by peritoneal exudate cells // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.*-1992.-V.89.-P.4210-4214.
16. Constant S., Pleifier C., Woodard A. et al. Extent of T cell receptor ligation can determine the functional differentiation of naive CD4 T cells// *J.Exp.Med.*-1995.-V.182.-P.1591-1596.
17. Linsley P.S., Ledbetter J.A. The role of the CD28 receptor during T-cell responses to antigen// *Ann.Rev.Immunol.*-1993.-V.11.-P.191-221.
18. Kamogawa Y., Minasi L.A., Carding S.R. et al. The relationship of IL-4 and IFN- γ producing T cells studied by lineage ablation of IL-4-producing cells// *Cell.*-1993.-V.75.-P.985-995.
19. Jung M.L., Pape G.R. Immunology of hepatitis B infection// *Lancet Inf.Dis.*-2002.-V.2(1).-P.43-50.
20. Mitri M.S., Cassini R., Morsica G. et al. New infection with heterotypic HCV in a patient with long-term HCV eradication// *Dig.Liver Dis.*- 2001.-V.33(7).-P.591-594.
21. Moorman J.P., Joo M., Hahn Y.S. Evasion of host immune surveillance by HCV: potential role in viral persistence// *Arch.Immunol.Ther.Exp.*-2001.-V.49(3).-P.189-194.
22. Sanderson C.J., The mechanism of T cell mediated cytotoxicity// *Proc.R. Soc.Lond.(Biol.)*-1976.-V.192.-P.241-255.
23. Schiff R.I. Transmission of viral infections through intravenous immune globulin // *N.Engl.J.Med.*-1994.-V.331.-P.1649-1650.
24. Inchauspe G. Role of neutralizing antibodies and cellular immunity in HCV infection // *Transfus.Clin.Biol.*-2001.-V.8(6).-P.471-474.
25. Shih C.M., Lo S.J., Miyamura T. et al. Suppression of hepatitis B virus expression and replication by hepatitis C virus core protein in HUH-7 cells// *J.Hepatol.*-1993.-V.67.-P.5823-5832.
26. Sekiya H., Kato N., Ootsuyama Y. et al. Genetic alterations of the putative envelope proteins encoding region of the hepatitis C virus in the progression to relapsed phase from acute hepatitis: humoral immune response to hypervariable region 1// *Int.J.Cancer.*-1994.-V.57.-P.664-670.
27. Shimizu Y.K., Hijikata M., Iwamoto A. et al. Neutralizing antibodies against hepatitis C virus and the emergence of neutralization escape mutant viruses// *J.Virol.*-1994.-V.68.-P.1494-1500.
28. Enomoto N., Sakuma I., Asahina Y. et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection // *N.Engl.J.Med.*-1996.-V.334.-P.77-81.
29. Estaquier J., Idziorek T., Zon W. et al. Th type 1/Th type 2 cytokines and T cell death: preventive effect of IL-12 on activation-induced and CD95 (Fas/Apo-1)-mediated apoptosis of CD4+ T cells from HIV-infected persons// *J.Exp.Med.*-1995.-V.182.-P.1759-1768.
30. Fadok V.A., Bratton D.L., Konowal A. et al. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF β , PGE2 and PAF// *J.Clin.Invest.*-1998.-V.101.-P.890-898.
31. Fanning L.J., Levis J., Kenny-Walsh E. et al. Viral clearance in hepatitis C (1b) infection: relationship with human leukocyte antigen class II in a homogeneous population// *Hepatol.*-2000.-V.31.-P.1334-1337.
32. Feucht H.-H., Schroter M., Zollner B. et al. The influence of age on the prevalence of hepatitis C subtypes 1a and 1b// *J.Infect.Dis.*-1997.-V.175.-P.685-688.
33. Дьяченко А.А., Красовицкий З.И., Дьяченко А.Г. Продукция цитокинов при инфекции вирусом гепатита С// *Сучасні інфекції*-2001.-№3.-С.17-24.
34. Huang Y.S., Hwang S.J., Chan C.Y. et al. Serum levels of cytokines in hepatitis C-related liver disease: a longitudinal study// *Chang Hua Hsueh Tsa Chin Taipei.*-1999.-V.62(6).-P.327-333.
35. Napoli J., Bishop G.A., McGuinness P.H. et al. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines // *Hepatol.*-1996.-V.24.-P.759-765.
36. Bertoletti A., D'Elios M.M., Boni C. et al. Different cytokine profiles of intrahepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infections// *Gastroenterology.*-1997.-V.112.-P.193-199.
37. Kawakami Y., Nabeshima S., Furusyo N. et al. Increased frequency of interferon- γ -producing peripheral blood CD4+ T cells in chronic hepatitis C virus infection // *Am.J.Gastroenterol.*-2000.-V.95.-P.227-232.

38. Choi Y.,Putti T.,Win K.et al. Correlation of viral RNA, alanine aminotransferase, and histopathology in hepatitis C virus-associated hepatitis// Mol.Diagn.-1999.-V.4(3).- P.251-254.
39. Curry M.P., Golden-Mason L., Nolan N. et al. Expansion of peripheral blood CD5+ B cells is associated with mild disease in chronic hepatitis C virus infection// J.Hepatol.-2000.-V.32.-P.121-125.
40. Toyonaga T., Hino O., Sugai S., et al. Chronic active hepatitis in transgenic mice expressing interferon- γ in the liver// Proc.Natl.Acad.Sci. USA.-1994.-V.91.-P.614-618.
41. Choi Y.,Putti T.,Win K.et al. Correlation of viral RNA, alanine aminotransferase, and histopathology in hepatitis C virus-associated hepatitis// Mol.Diagn.-1999.-V.4(3).- P.251-254.
42. Di-Bisceglie A.M. Chronic hepatitis C viral infection in patients with normal serum alanine aminotransferases// Am.J.Med.-1999.-V.107(6B).-P.52S-55S.
43. Ягода А.В., Гейвандова Н.И., Хубиев Ш.М., Цупрунова Д.С. Фактор некроза опухоли α при хронических вирусных гепатитах: патогенетическая роль, пути фармакологической коррекции// Иммунология.-2000.-В.2.-С.36-38.
44. Gramantieri L., Casali A., There D. Et al. Imbalance of Il-1 beta and Il-1 receptor antagonist mRNA in liver tissue from hepatitis C virus (HCV) – related chronic hepatitis // Clin. Exp. Immun.-1999.-V.115(3).-P.515-520.
45. Zilberberg H., Rimaniol A.C., Pol S. et al. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity// J. Hepatol.-1999.-V.30(2).-185-191.
46. Antonaci S., Jirillo E., Schiraldi O. Soluble HLA class I antigens in chronic hepatitis C: a disease-associated manifestation, or molecules modulating immunoresponsiveness? // Immunopharmacol. Immunotoxicol.-1999.-V.21(4).- P.727-738.
47. Emi K., Nakamura K., Yuh K. et al. Magnitude of activity in chronic hepatitis C is influenced by apoptosis of T cells responsible for hepatitis C virus// J.Gastroenterol.-Hepatol.-1999.-V.14(10).-P.1018-1024.

Поступила в редакцию 14 апреля 2004 г.