

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ПРОТЕАСОМ ПЕЧЕНИ В РЕАЛИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ

Божок Г.А.¹, Карпова Я.Д.², Люпина Ю.В.², Легач Е.И.¹, Богомяжкова Ю.В.²,
Бондаренко Т.П.¹, Шарова Н.П.²

¹ Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

В отличие от большинства органов в печени неспецифический иммунитет преобладает над адаптивным, а в ответ на презентацию антигена предпочтительнее развивается не защитная иммунная реакция, а иммунологическая толерантность. Считается, что толерантность обеспечивают ряд процессов, таких, как апоптоз реактивных Т-клеток, уклонение их от иммунного ответа и активная супрессия иммунных реакций. В то же время есть основания полагать, что важную роль в регуляции иммунного ответа печени играют протеасомы, внутриклеточные мультипротеазные белковые комплексы. Об этом свидетельствует факт применения протеасомного ингибитора бортезомиба в трансплантологии в качестве иммуносупрессанта. Иммунные 26S- и 20S-протеасомы участвуют в образовании антигенных олигопептидов и выполняют ключевую роль в Т-клеточном иммунном ответе. Было показано, что пул протеасом подвергается существенным изменениям в процессе онтогенеза иммуно-компетентных органов. Знание особенностей функционирования протеасом и закономерностей изменения соотношения их форм позволит выявить механизмы, отвечающие за направленность вектора иммунного ответа на отторжение или принятие трансплантата.

Ключевые слова: донор-специфическая толерантность, трансплантация, иммунология печени, конститутивные и иммунные протеасомы.

POSSIBLE ROLE OF LIVER PROTEASOMES IN THE REALIZATION OF MECHANISMS OF TRANSPLANTATION TOLERANCE

Bozhok G.A.¹, Karpova Ya.D.², Lyupina Yu.V.², Legach E.I.¹, Bogomyagkova Yu.V.²,
Bondarenko T.P.¹, Sharova N.P.²

¹ Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of National Academy of Science of Ukraine, Kharkov

² N.K. Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow

In contrast to the majority of organs in liver non-specific immunity predominates over adaptive one, and in response to the antigen presentation develops preferably not immune reaction but immunological tolerance. Tolerance is considered to provide some processes, such as apoptosis of reactive T-cells, immune deviation and active suppression of immune reactions. At the same time there are the grounds for believing that an important role in regulation of liver immune response is played by proteasomes, intracellular multiprotease protein complexes. This is confirmed by the fact of application of proteasome inhibitor bortezomib as immune suppressor in transplantology. Immune 26S- and 20S-proteasomes participate in the formation of antigen oligopeptides and play a key role in T-cell immune response. It has been shown that the pool of proteasomes is subjected to significant changes during ontogenesis of immune competent organs. The changes in the pool of proteasomes occur likely during the development of specific tolerance in transplantation too. The knowledge of the peculiarities of proteasome functioning and regularities of alterations of their shapes will enable the revealing of the mechanisms responsible for either graft rejection or acceptance.

Key words: donor-specific tolerance, transplantation, liver immunology, constitutive and immune proteasomes.

Статья поступила в редакцию 17.02.11 г.

Контакты: Божок Галина Анатольевна, к. б. н., ст. науч. сотр. отдела криобиохимии и фармакологии нейро-гуморальных систем.
Тел.: (057) 373-30-07, (067) 99-11-072, e-mail: bozhokgaru@mail.ru

Иммунологическая толерантность – это состояние ареактивности в отношении того или иного антигена, индуцированное предшествующим контактом с этим антигеном. Толерантность к собственным антигенам организма предотвращает иммунный ответ против собственных тканей. Способность организма предупреждать развитие иммунных реакций, направленных против собственных антигенов, не является генетически запрограммированной, а развивается в онтогенезе.

В начале XX столетия Эрлих предложил термин «страх самоотравления», предполагая необходимость существования регулирующего механизма, препятствующего продукции аутоантител. В 1938 г. Трауб индуцировал специфическую толерантность, вводя эмбрионам мышей вирус лимфоцитарного хориоменингита, вызывающий пожизненную инфекцию. В отличие от нормальных мышей взрослые особи, зараженные *in utero*, не продуцировали нейтрализующих антител при повторном введении вируса. В 1945 г. Оуэн сообщил о неидентичных телятах-близнецах, в крови каждого из которых были обнаружены клетки, несущие и «свои», и «чужие» антигены. Эти телята в эмбриональный период имели общий плацентарный кровоток, в результате чего был возможен обмен гемопоэтическими клетками. У животных возникла пожизненная толерантность: во взрослом состоянии они не давали гуморального ответа на введение эритроцитов партнера по эмбриональному парабиозу. Основываясь на этом наблюдении, Вернет и Феннер постулировали, что решающим фактором в формировании иммунореактивности и приобретении способности распознавать чужеродные антигены служит возраст животных в момент первого контакта с антигеном. Такая гипотеза казалась логичной, поскольку с большинством собственных антигенов иммунная система сталкивается обычно до рождения и только позднее начинает взаимодействовать с чужеродными антигенами.

Иммунная толерантность к собственным антигенам поддерживается на протяжении жизни множественными механизмами, которые не позволяют образовываться антителам и аутореактивным лимфоцитам, способным повреждать собственные клетки и ткани организма. Классические представления о поддержании равновесия между толерантностью и реагированием на антиген отводят основную роль центральным и периферическим органам иммунной системы: тимусу, костному мозгу, селезенке, лимфатическим узлам. Однако клинические и экспериментальные данные, накопленные в последнее время, свидетельствуют о том, что печень также является важным органом, осуществляющим системную иммунную регуляцию в организме.

1. УЧАСТИЕ ПЕЧЕНИ В РЕАЛИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ

В отличие от большинства других органов в печени неспецифический иммунитет преобладает над адаптивным, а в ответ на индукцию антигеном предпочтительнее развивается не защитная иммунная реакция, а иммунологическая толерантность. Это подтверждают результаты исследований о том, что: в печени приобретается толерантность к пищевым антигенам [32]; выживание аллогенных трансплантатов печени возможно без иммуносупрессии [8]; при введении в печень через портальную вену донорских клеток значительно увеличивает приживаемость тканевых аллографтов [35]; введение в печень через портальную вену растворимых антигенов ведет к развитию иммунологической толерантности [24]. Такое явление иммунологической гипореактивности печени при попадании антигена через портальную вену получило название «портальной толерантности».

Состояние портальной толерантности связывают с особенностями локальной регуляции иммунного ответа в печени, хотя детально ее механизм еще не изучен. Очевидно, что бимодальная функция печени, т. е. обезвреживание антигенов и патогенных микроорганизмов, с одной стороны, и избежание активного иммунного ответа на эти антигены, с другой стороны, требует искусного баланса между иммунитетом и толерантностью. Уникальность выполняемых печенью функций определяется особенностями ее строения и кровоснабжения, особым клеточным составом печени и функционированием самих клеток, а также спецификой межклеточных взаимоотношений, связанных с анатомическими особенностями микроциркуляции крови в печени.

Одной из важнейших функций печени в организме, наряду с участием в обмене веществ, является функция детоксикации. Печень имеет ряд уникальных особенностей, которые позволяют осуществлять ей эту функцию. Прежде всего, это система кровотока через воротную вену (*vena portae*), которая собирает кровь от органов брюшной полости: желудка, кишечника, селезенки, поджелудочной железы. Такая кровь насыщена антигенами пищи и продуктами жизнедеятельности кишечной микрофлоры, в частности липополисахаридами, которые создают особое микроокружение для функционирования клеток.

В печени наблюдается уникальный тип межклеточных взаимоотношений, связанный с анатомическими особенностями ее микроциркуляции. Подсчитано, что весь объем крови организма проходит через печень 360 раз в день [24]. Функциональной микроциркуляторной единицей печени является

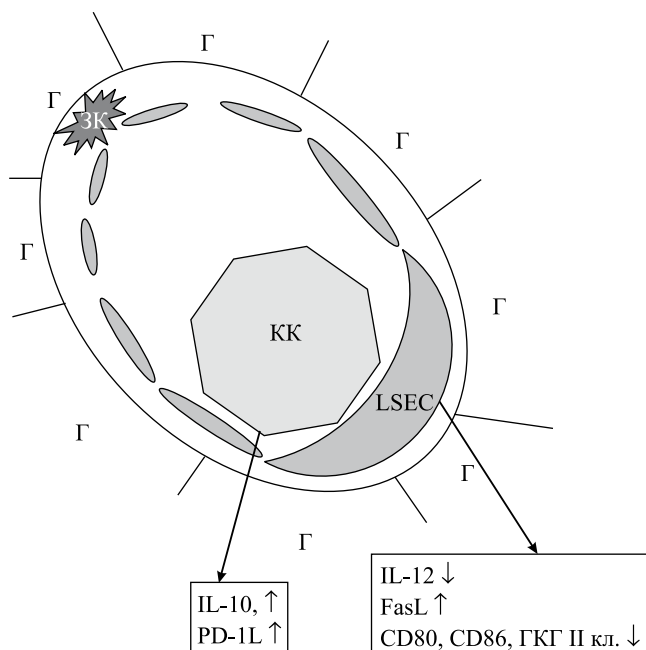


Рис. 1. Микроанатомия печеночного синусоида. LSEC – клетка эндотелия синусоида; KK – клетка Купфера; ЗК – звездчатая клетка; Г – гепатоцит

синусоид (рис. 1). Стенку синусоида выстилает один ряд эндотелиальных клеток (liver sinusoidal endothelial cells, LSEC), которые имеют отверстия (фенестрации) приблизительно 100 нм в диаметре. Таким образом, стенка печеночного синусоида является прерывистой, что облегчает обмен между кровью и гепатоцитами. В пространстве синусоида находятся резидентные макрофаги печени, называемые клетками Купфера (KK), а между гепатоцитами и эндотелием синусоидов существует перисинусоидное пространство (пространство Диссе), в котором находятся звездчатые клетки. Узкий диаметр синусоидов (5–7 мкм) и низкая скорость тока крови в них облегчают контакт между лейкоцитами крови и клетками печени. Проходя через печень с кровотоком, антигены и лейкоциты прежде всего взаимодействуют с KK и LSEC.

LSEC и KK имеют фенотип и свойства, присущие классическим антиген-представляющим клеткам [24, 14, 45]. Предполагается, что особенности процесса презентации антигена этими клетками и лежат в основе явления портальной толерантности.

LSEC являются той самой клеточной популяцией печени, которая первой входит в контакт с антигеном и может представлять его классическим образом через ГКГ II класса $CD4^+$ Т-лимфоцитам [25], а также кросс-презентацией через ГКГ I класса $CD8^+$ Т-лимфоцитам [39]. В эксперименте было показано, что патоген-ассоциированные молекулярные комплексы вызывают полное функциональное созревание LSEC с последующим превращением их в профессиональные АПК, несущие на своей поверхности не только молекулы ГКГ классов I и II,

но и все необходимые для активации Т-лимфоцитов корцепторы. Удобная локализация LSEC дает им возможность постоянно контактировать с циркулирующими лимфоцитами и влиять на их активность. Активация эффекторных Т-клеток является потенциально опасной для печени и должна быть строго контролируемой во избежание ее аутоиммунного поражения.

В связи с этим представление антигена LSEC наивным $CD4^+$ Т-лимфоцитам направляет их дифференцировку не в провоспалительные эффекторные клетки, а в сторону развития иммуносупрессорного регуляторного фенотипа $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Т-лимфоцитов (Treg cells), которые поддерживают развитие иммунологической толерантности. В ответ на стимуляцию липополисахаридами в LSEC наблюдается уменьшение экспрессии молекул адгезии, а также молекул CD80, CD86, ГКГ II класса [25]; дефицит выработки IL-12, ответственного за стимуляцию провоспалительного ответа по Th1-пути [25]; Fas/FasL, опосредующий апоптоз Th1-клеток [28]. Презентация захваченных антигенов через ГКГ I класса $CD8^+$ Т-лимфоцитам, называемая кросс-презентацией, вызывает ингибирование развития наивных $CD8^+$ Т-лимфоцитов в эффекторные цитотоксические лимфоциты, обеспечивая, таким образом, иммунологическую клеточную толерантность к пищевым антигенам [39].

KK составляют примерно 30% от всех клеток печеночного синусоида [32]. Одной из важнейших функций KK является очищение циркулирующей крови от различных эндотоксинов. Они отлично поглощают вирусы, бактерии, грибы, раковые клетки, липосомы и другие микрочастицы. Выделяют три субтипа KK по месту их локализации: околопортальные (periportal), промежуточные (midzonal) и околовенные (perivenous) [32]. Между собой они имеют некоторые различия. Околопортальные KK крупнее, имеют более высокую лизосомальную и фагоцитарную активность, нежели KK двух других зон. Выделяемые KK цитокины также различаются, например, более крупные KK выделяют преимущественно IL-1 и α -TNF, в то время как высокий уровень секреции NO был отмечен в мелких макрофагах. Таким образом, различные регионы печени имеют различные профили эффекторных и сигнальных молекул, что особенно важно в случае локально действующих молекул, таких как NO.

KK играют важную роль в обеспечении толерантности организма как к тканевым аллографтам, так и к растворимым антигенам. Была показана сниженная способность KK активировать Т-лимфоциты *in vitro* в сравнении с макрофагами и дендритными клетками костного мозга и селезенки [45]. Кроме того, Т-лимфоциты, активированные KK, продуци-

руют значительно меньшее количество IL-2. В опытах на культуре КК показали, что это может зависеть от нескольких факторов. Для эффективной активации лимфоцитов необходимо два сигнала: от ГКГ 1, связанного с антигеном (первый сигнал), и от рецепторов CD40 и B7-1, B7-2 (второй сигнал). Причиной сниженной способности КК активировать лимфоциты является редуцированное проведение первого сигнала и неэффективное представление антигена. Кроме того, макрофаги выделяют PGE₂ и 15d-PGJ₂, которые оказывают сильное ингибирующее влияние на активируемые лимфоциты. Эти клетки в норме экспрессируют лиганд иммуноингибиторного рецептора PD-1 [45]. Взаимодействие между PD-1L лигандом КК и PD-1 рецептором активированного Т-лимфоцита приводит к угнетению пролиферации последнего [16]. Также было показано, что КК играют основную роль в аккумуляции активированных CD8⁺ Т-лимфоцитов в печени, модифицируя таким образом общий иммунный ответ организма [14].

Под постоянным воздействием липополисахаридов КС и LSEC продуцируют иммуносупрессорные цитокины IL-10 и TGF-β, а в ответ на паракринное или аутокринное выделение TGF-β гепатоциты также продуцируют IL-10. HSC также способны выделять TGF-β при активации. Под действием иммуносупрессорных цитокинов происходит направление дифференцировки наивных CD4⁺Th0 не в Th1 или Th2, а в сторону развития регуляторного фенотипа CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Т-лимфоцитов (Treg cells), которые поддерживают развитие иммунологической толерантности. Кроме того, эти цитокины не только влияют на дифференцировку Т-клеток, но и способны поддерживать толерантность в печени за счет ингибирования созревания АПК и снижения вследствие этого эффективности воздействия последних на Т-клетки. В дендритных клетках в присутствии высоких количеств липополисахаридов и других эндотоксинов был отмечен низкий уровень экспрессии TLR4 [25]. Это частично объясняет их невосприимчивость ко многим специфическим лигандам, что ведет к редуцированной или измененной активации адаптивного ответа и поддержанию иммунологической толерантности печени.

Нужно отметить, что спектр иммунных клеток печени не ограничивается двумя описанными типами и содержит также резидентные лимфоциты печени: натуральные киллеры (НК), натуральные киллеры-Т (НКТ), CD4⁺ Т-лимфоциты, CD8⁺ Т-лимфоциты, В-лимфоциты, TCR-γδ клетки, а также миелоидные CD11c⁺CD8α⁻CD11b⁺ и лимфоидные CD11c⁺CD8α⁺CD11b⁻ дендритные клетки. Экспериментальные исследования, проведенные в работе [6], позволяют говорить о том, что гепато-

циты печени также действуют как специализированные АПК и вносят свой вклад в поддержание состояния толерантности печени. Звездчатые клетки печени обладают иммуномодулирующими свойствами и способны осуществлять локальный ингибиторный эффект. В работе [11] было показано, что аллогенные островки, трансплантированные совместно со звездчатыми клетками, были защищены от отторжения.

В последние годы установлено, что характерной чертой иммунологического профиля печени является большое количество НК и НКТ клеток, преобладание CD8⁺ Т-лимфоцитов над CD4⁺ Т-лимфоцитами, дефицит В-лимфоцитов [14]. Так, в периферической крови соотношение CD4⁺ Т-лимфоцитов к CD8⁺ составляет 2:1, в печени же оно смещено в сторону CD8⁺ лимфоцитов и составляет 1:2,5, а значительное количество Т-лимфоцитов экспрессирует не αβTCR, а γδTCR. Кроме того, лишь 6% от всех лимфоцитов печени составляют В-лимфоциты. Такой особый набор иммунокомпетентных клеток задает свои условия развития иммунного ответа.

Таким образом, особенности развития иммунного ответа на антиген в печени связаны с уникальностью ее клеточного «оркестра», где каждый тип иммунокомпетентных клеток играет свою роль на определенном этапе.

2. ПРОТЕАСОМЫ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

В настоящее время молекулярные механизмы регуляции иммунного ответа в печени остаются невыясненными. Предполагается, что на молекулярном уровне такая регуляция может осуществляться с участием внутриклеточных компартментов, ответственных за процессинг антигена.

В 80-х годах прошлого века был обнаружен внутриклеточный высокомолекулярный белковый комплекс, который осуществляет избирательную деградацию белка [4, 46]. Он получил название протеасома. То, что протеасомы были найдены в клетках всех представителей эукариот, а также некоторых прокариот, свидетельствует об абсолютной их необходимости для нормальной жизнедеятельности организма. Оказалось, что у млекопитающих до 90% клеточных белков подвергается гидролизу с помощью протеасом.

26S-протеасома (где 26S – коэффициент седиментации) состоит из 20S-протеасомы, в которой происходит расщепление белка, и одной или двух регуляторных субчастиц 19S (PA700), расположенных от нее с двух сторон [44]. Протеолизу в 26S-протеасоме подвергаются белки, меченные молекулами белка убиквитина. 20S-протеасомы

служат резервом для образования 26S-протеасом и расщепляют некоторые белки не зависящим от убиквитина образом [20].

Протеасомы млекопитающих можно разделить на две основные группы – конститутивные и иммунные. Протеолитическим «сердцем» конститутивной протеасомы являются белковые субъединицы $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 5$, обладающие соответственно каспаза-, трипсин- и химотрипсинподобной активностями. Под воздействием γ -интерферона на клетки три β -субъединицы могут быть заменены на их изоформы, или иммунные субъединицы $\beta 1i$ (LMP2), $\beta 2i$ (MECL1) и $\beta 5i$ (LMP7) [17, 33]. Вместе с тем на базовом уровне эти изоформы синтезируются постоянно во всех органах, причем их количественное соотношение с конститутивными субъединицами зависит и от типа ткани, и от стадии дифференцировки органа [36].

Соотношение конститутивных и иммунных протеасом во многом определяет функции органов и тканей у млекопитающих. Так, конститутивные протеасомы регулируют клеточные процессы, включая репликацию и репарацию ДНК, дифференцировку, апоптоз, клеточный цикл и деление, главным образом, убиквитин- и АТФ-зависимым гидролизом белков, участвующих в этих процессах [13, 42]. Иммунные 26S- и 20S-протеасомы образуют антигенные эпитопы, способные присоединяться к молекулам ГКГ класса I, и выполняют ключевую роль в Т-клеточном иммунном ответе [33]. Общий пул протеасом (конститутивные и иммунные) наряду с протеазами лизосом участвуют в образовании

антигенных эпитопов, связывающихся с молекулами ГКГ класса II [38].

В результате гидролиза иммунными протеасомами аномальных или чужеродных белков (рис. 2) образуются олигопептиды длиной 8–11 аминокислотных остатков с «правильным» С-концом, содержащим остатки гидрофобных аминокислот или аргинина, необходимых для образования комплекса с ГКГ класса I. При гидролизе иммунными протеасомами либо сразу образуются антигенные эпитопы нужной длины, либо их удлиненные с N-конца олигопептиды [9]. Во втором случае эти олигопептиды в цитоплазме или эндоплазматическом ретикулуме укорачивают до нужной длины с помощью аминопептидаз [23]. Олигопептиды соединяются в цитоплазме с белками-транспортёрами TAP1 и TAP2 (рис. 2) и переносятся в эндоплазматический ретикулум, где при необходимости укорачиваются под действием аминопептидаз до необходимой длины и связываются с молекулами ГКГ класса I [33]. Комплекс молекул ГКГ класса I и антигенного олигопептида выносятся на поверхность клетки в составе трансмембранного пузырька и является своеобразным флажком, сигнализирующим о бедствии.

Следует отметить, что в различных типах клеток, в том числе в клетках печени, обнаружены добавочные формы протеасом, несущие смешанный ассортимент стандартных и индуцибельных каталитических субъединиц [18, 41]. Такие смешанные формы протеасом являются распространенными в опухолевых и дендритных клетках, а также составляют приблизительно половину протеасомно-

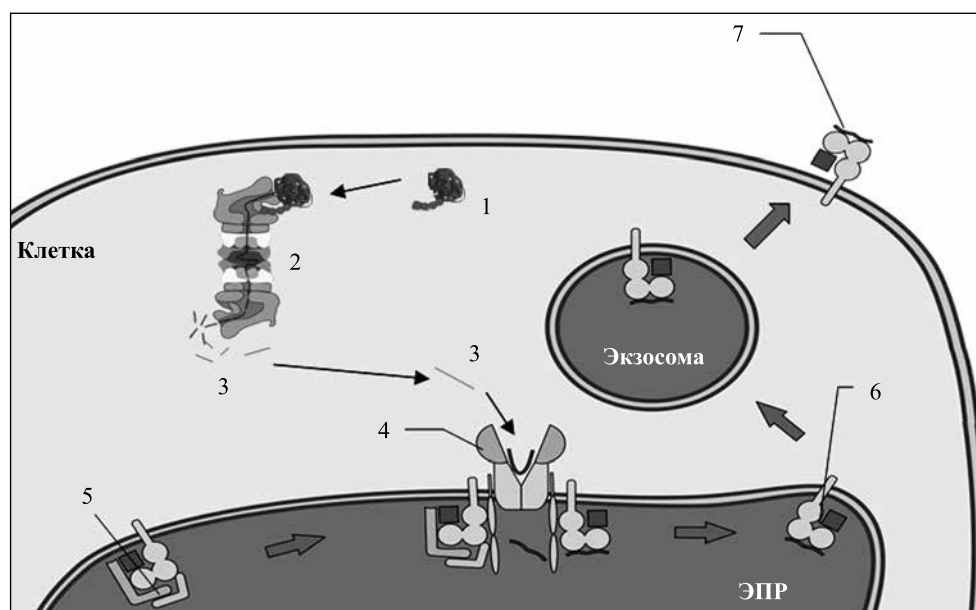


Рис. 2. Презентация антигенного эпитопа. Убиквитинированный мутантный, или чужеродный, белок (1) связывается с протеасомой (2), где происходит протеолиз белка с образованием антигенных эпитопов (3). Антигенный эпитоп переносится в эндоплазматический ретикулум (ЭПР) с помощью белков TAP1 и TAP2 (4) и образует стабильный комплекс с молекулами МНС класса I (6), до этого стабилизированного калнексином (5). Комплекс МНС класса I с помощью экзоцитарного пузырька транспортируется на поверхность клетки для связывания с Т-клеточным рецептором (7)

го пула клеток печени [18]. Для нормальной ткани печени был показан следующий состав протеасом: 31% конститутивных, 15% иммунных, 50% смешанной формы с каталитическими субъединицами $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 5i$ и 4% смешанной формы с каталитическими субъединицами $\beta 1i$, $\beta 2$ и $\beta 5i$. Существование таких смешанных форм протеасом изменяет репертуар представляемых на поверхности клеток антигенных пептидов, что также может влиять на реализацию иммунного ответа в печени.

В равной степени на реализацию этого процесса может влиять уровень экспрессии ГКГ класса I, который коррелирует с эффективностью распознавания клеток-мишеней цитотоксическими Т-лимфоцитами. В соответствии с этим утверждением существовала гипотеза о том, что толерантность печени связана с отсутствием ГКГ класса I на поверхности гепатоцитов [5]. Позже было установлено, что гепатоциты экспрессируют молекулы ГКГ класса I в количестве, сравнимом с уровнем экспрессии этих молекул в спленоцитах. Однако уровень транскрипции LMP2, LMP7 и TAP2 в гепатоцитах оказался в 5 раз, а TAP1 – в 10 раз ниже, чем в спленоцитах [12]. Таким образом, образование антигенных олигопептидов, осуществляемое иммунными и/или смешанными протеасомами, в гепатоцитах уменьшено по сравнению со спленоцитами. Можно сказать, что и клеточный ГКГ-статус, и набор множественных форм протеасом являются важными критериями, определяющими существование иммунологической толерантности печени.

3. ИНДУКЦИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ ПОСЛЕ ИНТРАПОРТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ДОНОРСКИХ КЛЕТОК

В XX–XXI вв. трансплантология из экспериментальной науки вышла на лидирующие позиции в области клинической медицины. Основной проблемой при трансплантации органов и тканей является иммунологическое отторжение [2]. Для подавления отторжения трансплантата применяют два принципиально различных подхода: средства, неспецифически подавляющие иммунный ответ организма на чужеродные антигены (иммуносупрессивная терапия), и создание специфической толерантности реципиента к трансплантату. Второй подход является более физиологичным и имеет ряд преимуществ, основное из которых – возможность избежать пожизненного приема иммунодепрессантов и связанных с этим тяжелых системных осложнений [3]. Изучение механизмов индукции иммунной толерантности реципиента к донорским органам и тканям является одной из актуальнейших задач современной биологии и медицины.

Анализ клинических и экспериментальных трансплантаций свидетельствует о том, что физиологические механизмы регуляции иммунного ответа в печени, к которым относится портальная толерантность, могут быть с успехом задействованы в трансплантологии.

В трансплантологии существует двойкий феномен толерогенности печени: как объекта трансплантации и как сайта трансплантации. Аллогенный трансплантат печени может быть принят организмом реципиента без иммуносупрессии у многих видов млекопитающих [7, 8]. При клинической трансплантации такая ситуация наблюдается редко в связи с осложнениями, развивающимися при терминальной стадии печеночной недостаточности, когда, собственно, и применяют пересадку печени. Присутствие аллографта печени может угнетать отторжение другого органа, одновременно пересаженного от того же самого донора [21]. Протокол донорства печени при подборе пары «донор–реципиент» не требует совпадения по антигенам HLA, считая достаточным совпадение по группе крови [29]. Островки поджелудочной железы, трансплантированные через портальную вену в печень, выживают в организме реципиента несравненно дольше, чем в других органах. В последнее время в клиническую практику лечения инсулин-зависимого сахарного диабета стал внедряться Эдмонтонский протокол, включающий интрапортальную трансплантацию островков.

Один из основоположников трансплантологии П. Медавар еще в 60-х годах прошлого века установил, что при трансплантации кожи у животных, которым еще внутриутробно была сделана инъекция донорских спленоцитов, не наблюдается реакции отторжения.

В настоящее время в практике трансплантации, как клинической, так и экспериментальной, накоплено множество фактов, которые свидетельствуют о возможности увеличения срока выживаемости трансплантата или об индукции специфической иммунологической толерантности к трансплантату путем предварительного введения донорского антигена в организм реципиента [10, 19, 26, 30, 31, 37, 47]. Это явление называется донор-специфической толерантностью (ДСТ).

Способ индукции ДСТ реализуется следующим образом (рис. 3). На первом этапе осуществляют введение донорских клеток (моноклеаров периферической крови, клеток лимфоузлов, селезенки, костного мозга) в периферический кровоток или в портальную вену печени за 7–14 дней до трансплантации. На втором этапе производят трансплантацию органа или ткани от того же донора. Возможно использование иммуносупрессии в промежутке между этапами.

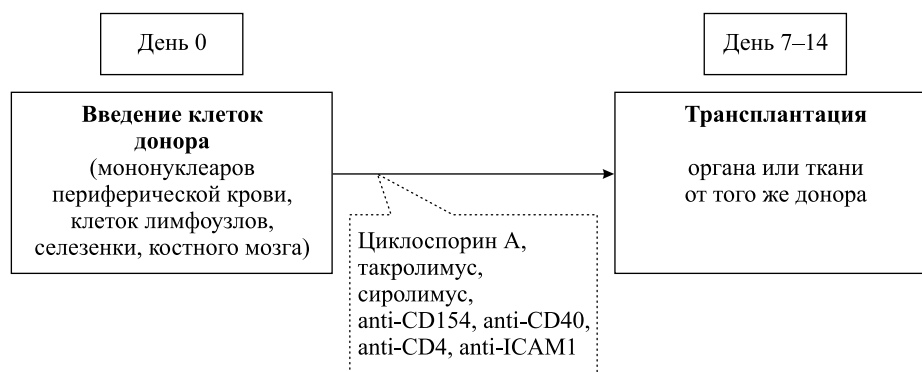


Рис. 3. Схема индукции донор-специфической толерантности

Эффект ДСТ был показан при аллотрансплантации целых органов (почки, сердце), тканей (кишечник, кожа, периферический нерв, овариальная ткань) и островков поджелудочной железы [1, 10, 15, 19, 22, 26, 30, 31, 37, 40]. Наступление состояния толерантности к трансплантату зависело от места введения (периферические сосуды или портальная вена печени) [27, 34], периода времени от введения лимфоцитов до трансплантации [34], повторности претрансплантационных обработок [35], дозы вводимого антигена [15]. Установлено, что наиболее эффективным способом индукции ДСТ является введение донорского антигена в портальную вену печени минимум за 7 дней до трансплантации [15, 34], повышение дозы вводимых клеток негативно влияет на индукцию ДСТ [15].

Нужно отметить, что ДСТ наступает не в 100% случаев. Конкретные механизмы данного явления изучены недостаточно. Установлено, что возможными механизмами реализации ДСТ на этапе, который следует за презентацией донорского антигена, являются клональная делеция цитотоксических Т-лимфоцитов, индукция анергии Т-лимфоцитов, уклонение их от иммунного ответа (девиация), активация регуляторных Т-лимфоцитов, микрохимизм [14, 24, 45]. Определяющая роль в презентации донорского антигена и дальнейшем процессе развития ответа в сторону принятия или отторжения трансплантата принадлежит печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Понимание механизмов развития толерантности к трансплантату невозможно без знания особенностей функционирования пула протеасом и закономерностей изменения соотношения их форм в печени как в ДСТ-«формирующем» органе. О важной роли протеасом в регуляции иммунного ответа при трансплантации свидетельствует факт применения протеасомного ингибитора бортезомиба в качестве иммуносупрессанта [43]. Знание особенностей функционирования пула протеасом и закономер-

ностей изменения соотношения их форм в печени позволит выявить механизмы развития ДСТ и установить ключевые звенья процессов отторжения и приживаемости трансплантата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Божок Г.А., Киришча В.В., Тищенко Ю.О., Легач Е.И. Предтрансплантационное введение донорских лимфоцитов пролонгирует выживаемость аллогенной ткани яичников у овариэктомизированных животных реципиентов // Проблемы эндокринной патологии. 2009. №4. С. 15–18.
2. Роит А., Бростофф Д., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. 592 с.
3. Шумаков В.И. Трансплантология: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1995. 575 с.
4. Arrigo A.P., Tanaka K., Goldberg A.L., Welch W.J. Identity of the 19S 'prosome' particle with the large multifunctional protease complex of mammalian cells (the proteasome) // Nature. 1988. Vol. 331. P. 192–194.
5. Barbatis C., Woods J., Morton J.A., Fleming K.A. et al. Immunohistochemical analysis of HLA (A, B, C) antigens in liver disease using a monoclonal antibody // Gut. 1981. Vol. 22 (12). P. 985–991.
6. Bertolino P., Bowen D.G., McCaughan G.W., Fazekas de St Groth B. Antigen-specific primary activation of CD8+ T cells within the liver // J. Immunol. 2001. Vol. 166 (9). P. 5430–5438.
7. Calne R.Y. Mechanisms in the acceptance of organ grafts // Br. Med. Bull. 1976. Vol. 32. P. 107–112.
8. Calne R.Y., Sells R.A., Pena J.R., Davis D.R. et al. Induction of immunological tolerance by porcine liver allografts // Nature. 1969. Vol. 223. P. 472–476.
9. Cascio P., Hilton C., Kisselev A.F., Rock K.L. et al. 26S proteasomes and immunoproteasomes produce mainly N-extended versions of an antigenic peptide // EMBO J. 2001. Vol. 20 (10). P. 2357–2366.
10. Chalermkulrat W., McKinnon K.P., Brickey W.J., Neuringer I.P. et al. Combined donor specific transfusion and anti-CD154 therapy achieves airway allograft tolerance // Thorax. 2006. Vol. 61 (1). P. 61–67.
11. Chen C.H., Kuo L.M., Chang Y., Wu W. et al. In vivo immune modulatory activity of hepatic stellate cells in mice // Hepatology. 2006. Vol. 44. P. 1171–1181.

12. *Chen M., Tabaczewski P., Truscott S.M., Van Kaer L. et al.* Hepatocytes express abundant surface class I MHC and efficiently use transporter associated with antigen processing, tapasin, and low molecular weight polypeptide proteasome subunit components of antigen processing and presentation pathway // *J. Immunol.* 2005. Vol. 175 (2). P. 1047–1055.
13. *Coux O., Tanaka K., Goldberg A.L.* Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes // *Annu. Rev. Biochem.* 1996. Vol. 65. P. 801–847.
14. *Crispe I.N., Matthew G., Ingo K., Beena J. et al.* Cellular and molecular mechanisms of liver tolerance // *Immunological Reviews.* 2006. Vol. 213. P. 101–118.
15. *Dhanireddy K.K., Bruno D.A., Weaver T.A., Xu H. et al.* Portal venous donor-specific transfusion in conjunction with sirolimus prolongs renal allograft survival in non-human primates // *Am. J. Transplant.* 2009. Vol. 9 (1). P. 124–131.
16. *Erhardt A., Biburger M., Papadopoulos T., Tiegs G.* IL-10, regulatory T cells, and Kupffer cells mediate tolerance in concanavalin A-induced liver injury in mice // *Hepatology.* 2007. Vol. 45. P. 475–485.
17. *Griffin T.A., Nandi D., Cruz M., Fehling H.J. et al.* Immunoproteasome assembly: cooperative incorporation of interferon gamma (IFN-gamma)-inducible subunits // *J. Exp. Med.* 1998. Vol. 187. P. 97–104.
18. *Guillaume B., Chapiro J., Stroobant V., Colau D. et al.* Two abundant proteasome subtypes that uniquely process some antigens presented by HLA class I molecules // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107 (43). P. 18599–18604.
19. *Iwata H., Umeda Y., Matsuno Y., Yoshikawa S. et al.* Prolongation of xenograft survival by combining donor-specific intravenous presensitization with FK 506 // *Transplant. Proc.* 2002. Vol. 34. P. 2745–2748.
20. *Jung T., Bader N., Grune T.* Oxidized proteins: intracellular distribution and recognition by the proteasome // *Arch. Biochem. Biophys.* 2007. Vol. 462 (2). P. 231–237.
21. *Kamada N., Davies H.F.S., Roser B.* Reversal of transplantation immunity by liver grafting // *Nature.* 1981. Vol. 292. P. 840–842.
22. *Kenick S., Lowry R.P., Forbes R.D.S., Lisbona R.* Prolonged cardiac allograft survival following portal venous inoculation of allogeneic cells: What is «hepatic tolerance?» // *Transplant. Proc.* 1987. Vol. 19. P. 478–479.
23. *Kloetzel P.M., Ossendorp F.* Proteasome and peptidase function in MHC-class-I-mediated antigen presentation // *Curr. Opin. Immunol.* 2004. Vol. 16 (1). P. 76–81.
24. *Knolle P.A., Gerken G.* Local control of the immune response in the liver // *Immunological Reviews.* 2000. Vol. 174. P. 21–34.
25. *Knolle P.A., Germann T., Treichel U., Uhrig A. et al.* Endotoxin downregulates T cell activation by antigen-presenting liver sinusoidal endothelial cells // *J. Immunol.* 1999. Vol. 162. P. 1401–1407.
26. *Markees T.G., Phillips N.E., Noelle R.J., Shultz L.D. et al.* Prolonged survival of mouse skin allografts in recipients treated with donor splenocytes and antibody to CD40 ligand // *Transplantation.* 1997. Vol. 64 (2). P. 329–335.
27. *Oko A., Idasiak-Piechocka I., Pawlaczyk K., Wruk M. et al.* Prolongation of rat kidney graft survival after inoculation of allogeneic spleen cells: the effect of various routes of cell transfer // *Ann. Transplant.* 2002. Vol. 7 (2). P. 51–53.
28. *Onoe T., Ohdan H., Tokita D., Shishida M. et al.* Liver sinusoidal endothelial cells tolerate T cells across MHC barriers in mice // *J. Immunol.* 2005. Vol. 175. P. 139–146.
29. *Opelz G., Wujciak T., Dohler B., Scherer S. et al.* HLA compatibility and organ transplant survival. Collaborative Transplant Study // *Rev. Immunogenet.* 1999. Vol. 1. P. 334–342.
30. *Patel R.D., Vanikar A.V., Aziz F.A., Shah P.R. et al.* Ahmedabad tolerance induction protocol and chronic renal allograft dysfunction: pathologic observations and clinical implications // *Diagn. Pathol.* 2009. Vol. 4. P. 4–9.
31. *Parker D.C., Greiner D.L., Phillips N.E., Appel M.C. et al.* Survival of mouse pancreatic islet allografts in recipients treated with allogeneic small lymphocytes and antibody to CD40 ligand // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92 (21). 9560–9564.
32. *Parker G.A., Picut C.A.* Liver immunobiology // *Toxicol. Pathol.* 2005. Vol. 33 (1). P. 52–62.
33. *Rock K.L., Goldberg A.L.* Degradation of cell proteins and the generation of MHC class I-presented peptides // *Annu. Rev. Immunol.* 1999. Vol. 17. P. 739–779.
34. *Sato Y., Farges O., Buffello D., Hatakeyama K. et al.* Impact of 70% partial hepatectomy on administration of donor leukocytes in cardiac transplantation in rats // *Transplant. Proc.* 1998. Vol. 30. P. 3873–3875.
35. *Sato Y., Ichida T., Watanabe H., Yamamoto S. et al.* Repeating intraportal donor-specific transfusion may induce tolerance following adult living-related donor liver transplantation // *Hepatogastroenterology.* 2003. Vol. 50 (51). P. 601–606.
36. *Sharova N.P., Zakharova L.A., Astakhova T.M., Karpova Ya.D. et al.* New approach to study of T cellular immunity development: Parallel investigation of lymphoid organ formation and changes in immune proteasome amount in rat early ontogenesis // *Cell. Immunol.* 2009. Vol. 256. P. 47–55.
37. *Sheng Sun D., Iwagaki H., Ozaki M., Ogino T. et al.* Prolonged survival of donor-specific rat intestinal allograft by administration of bone-marrow-derived immature dendritic cells // *Transpl. Immunol.* 2005. Vol. 14 (1). P. 17–20.
38. *Tewari M.K., Sinnathamby G., Rajagopal D., Eisenlohr L.C.* A cytosolic pathway for MHC class II-restricted antigen processing that is proteasome and TAP dependent // *Nat. Immunol.* 2005. Vol. 6. P. 287–294.
39. *Tokita D., Shishida M., Ohdan H., Onoe T. et al.* Liver sinusoidal endothelial cells that endocytose allogeneic cells suppress T cells with indirect allospecificity // *J. Immunol.* 2006. Vol. 177. P. 3615–3624.
40. *Tung T.H., Doolabh V.B., Mackinnon S.B., Mohanakumar T. et al.* Survival of long nerve allografts following donor antigen pretreatment: a pilot study // *J. Reconstr. Microsurg.* 2006. Vol. 22 (6). P. 443–449.

41. *Visekruna A., Joeris T., Schmidt N., Lawrenz M. et al.* Comparative expression analysis and characterization of 20S proteasomes in human intestinal tissues: The proteasome pattern as diagnostic tool for IBD patients // *Inflamm. Bowel Dis.* 2009. Vol. 15 (4). P. 526–533.
42. *Voges D., Zwickl P., Baumeister W.* The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis // *Annu. Rev. Biochem.* 1999. Vol. 68. P. 1015–1068.
43. *Walsh R.C., Everly J.J., Brailey P., Rike A.H. et al.* Proteasome inhibitor-based primary therapy for antibody-mediated renal allograft rejection // *Transplantation.* 2010. Vol. 89 (3). P. 277–284.
44. *Walz J., Erdmann A., Kania M., Typke D. et al.* 26S proteasome structure revealed by three-dimensional electron microscopy // *J. Struct. Biol.* 1998. Vol. 121. P. 19–29.
45. *Watanabe T., Kudo M., Chiba T., Wakatsuki Y.* Molecular mechanisms of portal vein tolerance // *Hepatology Research.* 2008. Vol. 38. P. 441–449.
46. *Wilk S., Orłowski M.* Evidence that pituitary cation-sensitive neutral endopeptidase is a multicatalytic protease complex // *J. Neurochem.* 1983. Vol. 40 (3). P. 842–849.
47. *Yang L., Du Temple B., Khan Q., Zhang L.* Mechanisms of long-term donor-specific allograft survival induced by pretransplant infusion of lymphocytes // *Blood.* 1998. Vol. 91 (1). P. 324–330.