

АНАЛИЗ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Попов С.В.¹, Шмельков И.Ю.¹, Хайдуков С.В.²

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

² ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Резюме. Показатели заболеваемости и смертности при инвазивных микозах определяют необходимость совершенствования методов их своевременной диагностики с оценкой иммунного статуса пациентов. Оценка иммунного статуса пациента позволяет клиницисту прогнозировать развитие и течение грибковых инфекций. В то же время выявление условно-патогенного микоза у пациента без иммунодефицита должно определять необходимость поиска скрытого иммунного дефекта. Определение причины таких иммунодефицитов может способствовать выработке эффективной стратегии как этиотропной, так и иммунной терапии пациентов с инвазивными микозами. В настоящее время функции регуляторных Т-лимфоцитов, поддерживающих иммунологическую толерантность, при грибковой инфекции продолжают оставаться не полностью изученными. В представленном обзоре продемонстрированы данные исследований на экспериментальных моделях, свидетельствующие о том, что регуляторные Т-лимфоциты способны подавлять иммунные ответы на грибки посредством стимулирования иммуносупрессивной среды. Определено, что регуляторные Т-лимфоциты используют Toll-like рецептор 2 для достижения иммуносупрессии при кандидозных инфекциях. Баланс количества и функции регуляторных Т-лимфоцитов имеет существенное значение для элиминации грибковых патогенов и защиты от постинфекционных иммунопатологических состояний. Установлено, что регуляторные Т-лимфоциты обеспечивают защиту на ранней стадии кандидозной инфекции, когда в результате подавления интерлейкина 2 (IL-2) они усиливают дифференцировку Т-хелперов 17 (Th17) и клиренс грибка. При этом на более поздних стадиях инфекции регуляторные Т-лимфоциты оказывают ингибирующий эффект. Баланс между Th17 и регуляторными Т-лимфоцитами в слизистой оболочке признан основным фактором для разграничения комменсального носительства и инфекции *Candida albicans*. Представлены результаты исследования, свидетельствующие о том, что при диссеминированном кандидозе экспансия регуляторных Т-лимфоцитов стимулирует Th17-клеточный ответ, управляющий течением заболевания. Механизмы, контролирующие гомеостаз регуляторных Т-лимфоцитов, являются основными для обеспечения эффективной защиты от патогенов, а также для контроля иммунопатологических состояний, связанных с кандидозной инфекцией. В обзоре представлены данные, позволившие установить роль трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF-β1) в повышении жизнеспособности регуляторных Т-лимфоцитов, что соотносится с

Адрес для переписки:

Хайдуков Сергей Валерьевич
ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
Российской академии наук
117997, Россия, Москва, ГСП-7,
ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
Тел.: 8 (985) 923-41-62.
E-mail: khsergey54@mail.ru

Address for correspondence:

Khaidukov Sergey V.
M. Shemyakin and Yu. Ovchinnikov Institute of Bioorganic
Chemistry, Russian Academy of Sciences
117197, Russian Federation, Moscow, GSP-7,
Miklukho-Maklay str., 16/10.
Phone: 7 (985) 923-41-62.
E-mail: khsergey54@mail.ru

Образец цитирования:

С.В. Попов, И.Ю. Шмельков, С.В. Хайдуков «Анализ регуляторных Т-лимфоцитов при грибковых инфекциях» // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 6. С. 1055-1064.
doi: 10.15789/1563-0625-AOR-2047
© Попов С.В. и соавт., 2020

For citation:

S.V. Popov, I.Yu. Shmelkov, S.V. Khaidukov "Analysis of regulatory T lymphocytes in fungal infections", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2020, Vol. 22, no. 6, pp. 1055-1064.
doi: 10.15789/1563-0625-AOR-2047
DOI: 10.15789/1563-0625-AOR-2047

выраженной иммуномодулирующей ролью этих клеток во время более поздней фазы кандидозных инфекций слизистой оболочки. Продемонстрированы также данные о том, что во время криптококковой инфекции индуцируются легочные регуляторные Т-лимфоциты, которые преимущественно подавляют Т-хелперы второго типа (Th2), поддерживая тем самым ее течение. Экспансия регуляторных Т-лимфоцитов при введении комплекса интерлейкина 2/ антител к интерлейкину 2 (IL-2/анти-IL-2) во время криптококковой инфекции приводила к снижению выработки иммуноглобулина Е (IgE) и уменьшению аллергического воспаления дыхательных путей. Необходимо отметить, что уточнение прогностического значения регуляторных Т-лимфоцитов при грибковой инфекции у человека может стать основой для разработки основных принципов адресной иммунотерапии.

Ключевые слова: регуляторные Т-лимфоциты, цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4 (CTLA-4), Th17, интерлейкины, Toll-like рецептор (TLR), грибковые инфекции, кандидоз

ANALYSIS OF REGULATORY T LYMPHOCYTES IN FUNGAL INFECTIONS

Popov S.V.^a, Shmelkov I.Yu.^a, Khaidukov S.V.^b

^a Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

^b M. Shemyakin and Yu. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Abstract. Morbidity and mortality rates in invasive mycoses determine the need to improve methods for their timely diagnosis by assessment the patients' immune status. Evaluation of individual immune status allows the clinician to predict the development and course of fungal infections. At the same time, identification of opportunistic mycosis in immunocompetent patients should require a search for some hidden immune deficiency. Determining the cause of such immune defects can help develop an effective strategy for both etiotropic and immune therapy of patients with invasive mycoses. Currently, the functions of regulatory T lymphocytes that support immunological tolerance in fungal infections remain to be incompletely studied. In this review, we present experimental works which suggest that the regulatory T lymphocytes are able to suppress immune responses to fungi by stimulating the immunosuppressive environment. It was shown that regulatory T lymphocytes use Toll-like receptor 2 to achieve immunosuppression in *Candida* infections. The balance between the number and function of regulatory T lymphocytes is essential for elimination of fungal pathogens and protection against post-infectious immunopathological conditions. It was found that the regulatory T lymphocytes provide protection at an early stage of *Candida* infection, since, due to IL-2 suppression, they enhance Th17 differentiation and clearance of fungi. Moreover, at the later stages of infection, the regulatory T lymphocytes have an inhibitory effect. The balance between Th17 and regulatory T lymphocytes in mucosal lining is considered the main factor for distinguishing between commensal carriage and *Candida albicans* infection. The study is presented which indicate that disseminated candidiasis associated with expansion of regulatory T lymphocytes stimulates a Th17-cell response that controls the course of the disease. The mechanisms that control regulatory T lymphocytes homeostasis are essential for providing effective protection against pathogens, as well as for controlling the immunopathological conditions associated with *Candida* infection. The review presents data that have established the role of TGF- β 1 in increasing the viability of regulatory T lymphocytes, which is correlated with the pronounced immunomodulating role of these cells at the later phase of *Candida* infections of the mucous membrane. It has been also demonstrated that the pulmonary regulatory T lymphocytes are induced during cryptococcal infection, which predominantly suppresses Th2 cells, thereby supporting its course. Expansion of the regulatory T lymphocytes upon administration of IL-2/anti-IL-2 complex during cryptococcal infection led to a decrease in IgE production and a decrease in allergic airway inflammation. It should be noted that refinement of prognostic value of the regulatory T lymphocytes in human fungal infections may substantiate the basic principles of targeted immunotherapy.

Keywords: Treg, FoxP3, CTLA-4, Th17, interleukins, Toll-like receptors (TLR), fungal infections, candidiasis

Введение

Грибковые инфекции с осложнениями, представляющими угрозу жизни, развиваются в основном у пациентов с иммуносупрессией [42]. Увеличение числа таких пациентов, регистрирующееся в настоящее время, обуславливает пристальное внимание клиницистов к проблеме инвазивного микоза, как одной из основных причин заболеваемости и смертности у данной категории больных [15, 50]. Согласно современным данным, ежегодно в мире регистрируют 3 млн случаев хронического и 0,25 млн инвазивного легочного аспергиллеза, 0,22 млн криптококкового менингита, осложняющего синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), 0,7 млн пациентов с инвазивным кандидозом и 0,1 млн с диссеминированным гистоплазмозом [11]. Распространенность инвазивного кандидоза в Российской Федерации составляет 8,29 на 100 000 населения, причем ежегодно возникает 11840 случаев заболевания [1].

Высокие показатели заболеваемости и смертности вследствие инвазивных микозов определяют необходимость улучшения методов их своевременной диагностики с оценкой иммунного статуса пациентов. Известно, что система врожденного иммунитета человека способна распознавать ключевые компоненты грибковых клеток, что приводит к серии сигнальных каскадов, обуславливающих адаптивные иммунные реакции. Однако в ряде случаев эти защитные механизмы могут оказаться недостаточно эффективными, особенно у пациентов с первичными или вторичными иммунодефицитами. Поэтому своевременная оценка иммунного статуса пациента позволяет клиницисту прогнозировать течение грибковых инфекций. С другой стороны, выявление условно-патогенного микоза у пациента без явной иммунокомпрометации должно определять необходимость поиска скрытого иммунного дефекта. Определение причины таких иммунодефицитов может способствовать выработке эффективной стратегии как этиотропной, так и иммунной терапии пациентов с инвазивными микозами [15, 19, 56]. Поэтому необходимо продолжение поиска прогностических показателей при оценке иммунного статуса для улучшения результатов терапии инвазивных микозов.

Современные возможности проточной цитофлюориметрии при оценке иммунного статуса позволили уточнить иммунопатогенез ряда инфекционных заболеваний. В частности, было исследовано значение активированных лимфо-

цитов, регуляторных Т-лимфоцитов (Treg), субпопуляций натуральных киллеров (НК) [3]. Подтверждена важность иммунофенотипирования лимфоцитов с анализом их малых субпопуляций и пулов активированных клеток [3]. Изучение в динамике изменений субпопуляций лимфоцитов может представлять интерес в процессе диагностики, для прогноза течения и контроля эффективности терапии инфекционных заболеваний.

Механизмы активности и роль в противоинфекционном иммунитете регуляторных Т-лимфоцитов

Иммуносупрессия при инфекционных заболеваниях может быть частично обусловлена Treg [7, 21, 24, 31, 43, 44]. Установлено, что фенотип Treg – CD3⁺CD4⁺CD25^{bright}CD45R0⁺CD95⁺. Регулирующий ген для развития и функционирования CD4⁺CD25^{high}Treg скурфин (FoxP3) является маркером для их идентификации [20, 25, 45].

Механизм супрессорной активности Treg связан с деструкцией метаболизма [2, 47]. Вследствие присутствия CD25, Treg способны связывать интерлейкин 2 (IL-2), подавляя активацию других Т-клеток. Treg могут потреблять IL-2 без активации иммунной функции и при этом предотвращать активацию других Т-клеток. Из-за наличия на клеточной поверхности Treg эктоэнзимов CD39 и CD73, они способствуют подавлению клеток посредством продукции внеклеточного аденозина из аденозинтрифосфата, являющегося важной эндогенной сигнальной молекулой иммунитета и воспаления [2]. Необходимо отметить, что внеклеточный аденозинтрифосфат является сигналом опасности и хемоаттрактантом для лимфоцитов, обуславливая провоспалительный ответ [2, 13]. Treg контролируют созревание дендритных клеток, определяя взаимодействие через CD80/86 и CTLA-4. Определено, что CTLA-4 (CD152) экспрессируется в высокой плотности Treg, подавляя иммунный ответ [2, 61]. Известно также, что CTLA-4 связывает молекулы CD80 (B7-1) и CD86 (B7-2) с более высокой аффинностью чем CD28, обуславливая ингибирование второго сигнала, необходимого для активации иммунного ответа [2, 49]. Конститутивная экспрессия CTLA-4 среди CD4⁺ клеток опосредована, прежде всего, Treg и вовлечена в их иммуносупрессорную функцию [2, 41]. Установлено также, что Treg подавляют иммунный ответ при апоптозе [2, 39]. При этом механизмы апоптоза используются для формирования репертуара Т-клеток, их селекции и координации событий, приводящих к развитию иммунного ответа в периферических лимфоидных органах [2, 22]. Treg продуцируют ингибирующие цитокины: IL-10,

TGF- β , IL-35 и участвуют в регуляции периферической толерантности к собственным антигенам [2, 48].

Известно, что Treg взаимосвязаны с Th17-клетками. Такая ассоциация возможна при помощи общего индуктора TGF- β . В этих случаях наблюдается перекрывание профиля хемокиновых рецепторов и экспрессии Th17-связанного фактора транскрипции ROR γ t [2, 55]. Необходимо отметить, что Th17-клетки – это эффекторские клетки в защите хозяина против патогенов (в том числе *Candida albicans*) и ряда внеклеточных бактерий. В связи с тем, что рецепторы к IL-17 экспрессируются широким спектром клеток не только иммунной системы, но и эпителиальными, фибробластами, нейтрофилами [29], то после активации Th17 возможен массовый клеточный ответ. Такой ответ на эффекторные цитокины может быть связан со способностью Th17-клеток вызывать воспалительный процесс с деструкцией тканей [2, 28].

Роль регуляторных Т-лимфоцитов при грибковых инфекциях

Опосредованная регуляторными Т-лимфоцитами иммунная толерантность обеспечивает выживание грибов и их комменсализм в различных частях тела человека [8, 32]. Анализ регуляторных Т-лимфоцитов может иметь определенное диагностическое значение при грибковых инфекциях.

Установлено, что Toll-like рецепторы: TLR2 и TLR4 играют ключевую роль в распознавании *Candida albicans*. Кроме этого Netea M.G. и соавт. продемонстрировали повышенную восприимчивость мышей с дефицитом TLR4 к диссеминированному кандидозу [36]. Определено, что сигналы, полученные от TLR2, способствуют выработке провоспалительных цитокинов, индуцируемых бластоконидией *Candida albicans*. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что TLR2 принимает участие в защите от *Candida*. Эти результаты подтверждаются тем фактом, что TLR2 участвует в распознавании зимозана (частицы клеточной стенки дрожжей *Saccharomyces*), что в свою очередь приводит к выработке провоспалительных цитокинов [54]. В другом исследовании Netea M.G. и соавт. продемонстрировали, что TLR2^{-/-}мыши оказались устойчивыми к диссеминированной кандидозной инфекции, что было связано с повышенными хемотаксисом и кандидацидной способностью TLR2^{-/-}макрофагов. Несмотря на то, что продукция провоспалительных цитокинов фактора некроза опухоли (TNF), IL-1 α и IL-1 β была

в пределах нормальных значений, высвобождение IL-10 оказалось серьезно нарушенным у мышей TLR2^{-/-}. Это сопровождалось уменьшением на 50% популяции CD4⁺CD25⁺Treg. Исследования *in vitro* подтвердили, что повышенная выживаемость Treg-клеток индуцируется агонистами TLR2. Негативная роль Treg в ответе системы врожденного иммунитета во время диссеминированного кандидоза была подтверждена устойчивостью этой инфекции после их истощения. Определено, что *Candida albicans* индуцирует иммуносупрессию с помощью сигналов, полученных от TLR2, которые обеспечивают увеличение продукции IL-10 и выживание Treg. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что отсутствие TLR2 приводит к повышению устойчивости *Candida albicans*. Исследователи продемонстрировали, что это обусловлено сниженным высвобождением противовоспалительных, но не провоспалительных цитокинов, улучшенным привлечением лейкоцитов к месту инфекции и кандидацидной активностью, а также уменьшением количества CD4⁺CD25⁺Treg. Таким образом, был уточнен механизм патогенеза грибковых инфекций [35].

Известно, что во время острой инфекции Treg могут препятствовать активности эффекторных Т-клеток, направленной на устранение инфицирования. Рецепторы распознавания патогена из семейства TLR, экспрессируемые врожденными иммунными клетками, имеют решающее значение для генерации эффективного иммунитета. Исследованиями Suttmuller R.P. и соавт. установлено, что субпопуляция CD4⁺CD25⁺ Treg у мышей с TLR2 была значительно меньше, по сравнению с контрольными мышами дикого типа, что указало на связь между Treg и TLR2 [52]. Установлено, что лиганд TLR2 Pam3Cys оказывает влияние на очищенные Treg MyD88-зависимым образом в связи с тем, что передача сигналов TLR2 зависит от адапторной молекулы MyD88 [5].

Более того, в сочетании со стимуляцией TCR, запуск TLR2 усиливал пролиферацию Treg *in vitro* и *in vivo*, что приводило к временной потере супрессорного фенотипа Treg *in vitro* вследствие непосредственного воздействия на эти клетки. Необходимо отметить, что Treg, полученные от мышей дикого типа, адаптивно перенесенные в этих животных с TLR2, были нейтрализованы системным введением их лиганда во время острой фазы инфекции *Candida albicans*, что привело к 100-кратному уменьшению роста этих грибов. Это свидетельствует о том, что *in vivo* TLR2 также

контролирует функцию Treg и иммунные ответы через данные клетки [52].

Таким образом, в эксперименте на мышах с диссеминированным кандидозом было показано, что Treg подавляют провоспалительные реакции и повышают восприимчивость к кандидозу, а TLR2 может непосредственно контролировать экспансию и функцию Treg. Кроме того, у TLR2^{-/-} мышей определяли повышенный ответ Th1 и устойчивость к кандидозным инфекциям. Как оказалось, нейтрализации TLR2 у мышей TLR2^{-/-}, которые получали Treg дикого типа, было достаточно для уменьшения инфекции *Candida* [52]. В результате был сделан вывод о том, что Treg используют TLR2 для достижения иммуносупрессии при кандидозных инфекциях.

Баланс между Th17- и Treg-клетками в слизистой оболочке признан определяющим фактором для разграничения комменсального носительства и инфекции *Candida albicans* [12]. Однако ни у человека, ни на экспериментальных моделях животных еще не получено прямого доказательства того, что повышенная продукция Treg и усиление их функции могут привести к инфекции *Candida albicans*. Косвенно участие Treg в развитии кандидозной инфекции было продемонстрировано на мышах, нокаутированных по глюкокортикоид-индуцированному TNFR (TNFRSF18, CD357). Мыши дикого типа были ассоциированы с высокой экспрессией CD4⁺CD25⁺T-клеток (Treg). Мыши, нокаутированные по CD357, имели повышенную устойчивость к системной инфекции *Candida albicans* с Th1-клеточным фенотипом. Кроме того, было определено, что дендритные клетки продуцируют более высокие уровни IL-12 при добавлении к культурам CD4⁺CD25⁺T-клеток от нокаутированных по CD357 мышей, по сравнению с мышами дикого типа [4]. Результаты этого исследования свидетельствуют о том, что Treg могут уменьшать защитную роль Th1 при кандидозе. Кроме этого, было установлено, что цитокин IL-35, состоящий из субъединиц EBi3 и IL-12p35, способствует дифференцировке Treg [37] и контролирует их подавление [17]. Мыши с дефицитом по гену IL-12p35 продемонстрировали высокую устойчивость к кандидозу ротоглотки [18], что явилось еще одним косвенным доказательством роли Treg в подавлении защитных реакций T-клеток в отношении *Candida albicans*.

В исследовании Pandiyan P. и соавт. был получен ответ на вопрос: «Почему в условиях поляризации клеток Th17 клетки Treg не подавляют, а скорее усиливают экспрессию интерлейкина-

17A (IL-17A), IL-17F и IL-22 отвечающими CD4⁺T-клеток (клеток Tresp)?» [38]. Установлено, что увеличение регуляции цитокинов IL-17 в клетках Tresp зависело от потребления IL-2 Treg, особенно в ранние сроки как *in vitro*, так и *in vivo*. Во время инфекции слизистой оболочки ротовой полости *Candida albicans* у мышей Treg индуцировали цитокины IL-17 в клетках Tresp, что заметно улучшало клиренс грибов и выздоровление от инфекции. Эти результаты продемонстрировали, каким образом Treg могут стимулировать острые клеточные реакции Th17 на подавление грибковых инфекций слизистой оболочки, и показали, что эти клетки обладали мощной способностью подавлять инфекции, кроме своей роли в поддержании толерантности или иммунного гомеостаза [30, 59]. Таким образом было определено, что Treg обеспечивают защитную роль на ранней стадии кандидоза, где ответ Th17 играет центральную роль в клиренсе инфекции. При подавлении IL-2 Treg-клетки усиливали дифференцировку Th17 и клиренс кандиды во время острой фазы инфекции. На более поздних стадиях инфекции Treg оказывали ингибирующий эффект [38].

Необходимо отметить, что при диссеминированном кандидозе роль Treg все еще остается в значительной степени неизученной. Whibley N. и соавт. охарактеризовали активацию FoxP3⁺ Treg-клеток на мышах (при внутривенном их заражении *Candida albicans* с последующей диссеминацией инфекции) и определили ее вклад в данное заболевание. Проведенный при помощи проточной цитометрии анализ показал, что заражение *Candida albicans* стимулировало экспансию *in vivo* популяции CD4⁺FoxP3⁺ в селезенке, что положительно коррелировало с грибковой нагрузкой. Истощение у мышей-репортеров FoxP3(hCD2) *in vivo* подтвердило, что клетки FoxP3⁺ усиливали грибковую нагрузку и увеличивали число воспалительных заболеваний почек. Популяция CD4⁺FoxP3⁺ продолжала увеличиваться после стимуляции *in vitro* антигенами *Candida albicans* и состояла как минимум из трех типов клеток, которые возникли в результате пролиферации природной субпопуляции Treg вместе с превращением клеток FoxP3⁺ в индуцированные Treg, по форме и типу, обладающие эффекторными характеристиками Th17-клеток, экспрессирующими ROR-γt и секретирующими IL-17A. Увеличение количества FoxP3⁺T-клеток ингибировало Th1- и Th2-ответы, но при этом *in vitro* усиливало ответ Th17-клеток на антигены *Candida albicans*. С другой стороны, эксперименты с истощением FoxP3⁺T-клеток *in vivo* подтвердили их способ-

ность влиять на усиление Th17-клеточного ответа. Результаты этого исследования позволили предположить, что при диссеминированном кандидозе экспансия FoxP3⁺T-клеток стимулирует Th17-клеточный ответ, управляющий течением заболевания [58].

Механизмы, контролируемые гомеостаз Treg, являются основными для обеспечения эффективной защиты от патогенов, а также для контроля иммунопатологии, связанной с инфекцией [60]. Bhaskaran N. и соавт. изучили, каким образом регулируется жизнеспособность Treg при кандидозной инфекции ротоглотки мыши и обнаружили, что эти клетки в высокой степени защищены от апоптоза во время поздней фазы инфекции и при повторном заражении [9]. В данном исследовании выявили снижение апоптоза Treg в связи с невосприимчивостью к гибели клеток, вызванной рестимуляцией T-клеточных рецепторов (RICD). Исследователи подтвердили их устойчивость к RICD, используя Treg мыши и человека *in vitro* и индуцируя апоптоз, опосредованный антителами к α -CD3, *in vivo*. Повышенная жизнеспособность оказалась зависимой от увеличенной передачи сигнала TGF- β 1, что приводило к усилению регуляции cFLIP (клеточного FLICE (FADD-подобного IL-1 β -превращающего фермента)-ингибирующего белка) в Treg. Защита от гибели клеток не обеспечивалась в отсутствие передачи сигналов TGF- β 1 в Treg во время кандидозной инфекции ротоглотки. Полученные данные позволили установить роль TGF- β 1 в повышении жизнеспособности Treg, что совпадает с выраженной иммуномодулирующей ролью этих клеток во время более поздней фазы кандидозной инфекции ротоглотки и, возможно, других инфекций слизистой оболочки.

Установлено, что клетки IL-17/Th17 и Treg обладают комплексом взаимоотношений, в частности при заражении *Candida albicans*. Определено, что Treg стимулируют активность Th17 и приобретают их фенотипические характеристики при орофарингеальном и диссеминированном кандидозе. Следует отметить, что влияние ответов Th17 и Treg на исход заболевания различно при разных формах кандидоза, что свидетельствует о важности микросреды для формирования общего иммунитета. Выяснение факторов, определяющих баланс между защитными и патогенными ответами Th17 и Treg при кандидозе, может явиться предметом будущих исследований, направленных на поиск механизмов управления такими ответами при данном заболевании [57].

Оппортунистический грибковый патоген *Cryptococcus neoformans* вызывает воспаление легких и тяжелый менингит у пациентов с ослабленным иммунитетом [6, 14, 16, 26, 40]. При экспериментальных инфекциях *Cryptococcus neoformans* наблюдается Treg-опосредованное подавление патологического ответа Th2, вызывающего повреждение легких [10, 23, 33, 34, 53]. Schulze B. и соавт. исследовали роль Treg при экспериментальной легочной инфекции *Cryptococcus neoformans* на мышах. Выявлено, что количество CD4⁺FoxP3⁺ Treg-клеток в легком значительно возрастает в течение первых 4 недель после интраназального заражения мышей дикого типа BALB/c [46]. Для определения функции Treg исследователи использовали мышей DEREG, позволяющих избирательно истощать CD4⁺FoxP3⁺Treg путем применения дифтерийного токсина. У мышей, истощенных по Treg, было обнаружено более значительное легочное аллергическое воспаление с повышенной продукцией слизи, повышенной продукцией IgE, выраженной эозинофилией и увеличенной грибковой нагрузкой в легких. Это сопровождалось увеличением GATA-3⁺Th2-клеток с повышенной способностью продуцировать IL-4, IL-5 и IL-13. При этом отмечено незначительное увеличение Th1-ассоциированного иммунного ответа, не связанного с грибковой инфекцией. Полученные результаты подтвердили данные о том, что во время грибковой инфекции индуцируются легочные Treg, которые преимущественно подавляют клетки Th2, поддерживая тем самым ее течение [27]. Впоследствии Schulze B. и соавт. сообщили о том, что экспансия Treg при введении комплекса IL-2/анти-IL-2 во время криптококковой инфекции приводила к снижению выработки IgE и уменьшению аллергического воспаления дыхательных путей [51].

Таким образом, полученные на экспериментальных моделях данные позволили охарактеризовать иммунологическое значение Treg при грибковых инфекциях.

Заключение

Treg являются ключевыми клетками для поддержания иммунной толерантности и уменьшения выраженности инфекционно-воспалительного повреждения тканей. На сегодняшний день их функциональная роль при грибковой инфекции остается в значительной степени неизученной. Определено, что Treg подавляют защитные иммунные ответы на грибки, повышая их

устойчивость, снижая активацию и функции как врожденных, так и адаптивных иммунных клеток путем стимулирования иммуносупрессивной среды. Равновесие в количестве и функции Treg важно для обеспечения элиминации патогенов и защиты от инфекционно-обусловленных иммунопатологических состояний. Последние достижения в понимании влияния Treg на исходы инфекции определили новые возможности для

их выявления. Применение различных фармакологических ингибиторов, моноклональных антител, нацеленных на Treg, позволило оценить их иммунологическое значение на экспериментальных моделях. Несомненный интерес будут представлять исследования роли Treg у пациентов с инвазивными микозами, по результатам которых могут быть сформулированы основные принципы адресной иммунотерапии.

Список литературы / References

1. Климко Н.Н. Микотический сепсис. Сепсис: избранные вопросы диагностики и лечения. Практическое руководство / Под ред. Н.В. Дмитриевой, И.Н. Петуховой, Е.Г. Громовой. М.: АБВ-пресс, 2018. С. 371-388. [Klimko N.N. Mycotic sepsis. Sepsis: selected issues of diagnosis and treatment. A practical guide. Ed. N.V. Dmitrieva, I.N. Petukhova, E.G. Gromova]. Moscow: ABV-Press, 2018. pp. 371-388. (In Russ.)]
2. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Цитометрический анализ субпопуляций Т-хелперов (Th1, Th2, Treg, Th17, Т-хелперы активированные) // Медицинская иммунология, 2011. Т. 13, № 1. С. 7-16. [Khaidukov S.V., Zurochka A.V. Analysis of t helper subpopulations (Th1, Th2, Treg, Th17, activated T-helpers) by means of flow cytometry. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2011, Vol. 13, no. 1, pp. 7-16. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2011-1-7-16.
3. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа) // Медицинская иммунология, 2009. Т. 11, № 2-3. С. 227-238. [Khaidukov S.V., Zurochka A.V., Totolian Areg A., Chereshev V.A. Major and lymphocyte populations of human peripheral blood lymphocytes and their reference values, as assayed by multi-colour cytometry. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2009, Vol. 11, no. 2-3, pp. 227-238. (In Russ)]. doi: 10.15789/1563-0625-2009-2-3-227-238.
4. Agostini M., Cenci E., Pericolini E., Nocentini G., Bistoni G., Vecchiarelli A., Riccardi C. The glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor-related gene modulates the response to *Candida albicans* infection. *Infect. Immun.*, 2005, Vol. 73, no. 11, pp. 7502-7508.
5. Akira S., Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunol. Lett.*, 2003, Vol. 85, pp. 85-95.
6. Armstrong-James D., Meintjes G., Brown G.D. A neglected epidemic: fungal infections in HIV/AIDS. *Trends Microbiol.*, 2014, vol. 22, no. 3, pp. 120-127.
7. Belkaid Y., Piccirillo C.A., Mendez S., Shevach E.M., Sacks D.L. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells control *Leishmania major* persistence and immunity. *Nature*, 2002, Vol. 420, no. 6915, pp. 502-507.
8. Belkaid Y., Rouse B.T. Natural regulatory T cells in infectious disease. *Nat. Immunol.*, 2005, Vol. 6, no. 4, pp. 353-360.
9. Bhaskaran N., Quigley C., Weinberg A., Huang A., Popkin D., Pandiyan P. Transforming growth factor- β 1 sustains the survival of Foxp3(+) regulatory cells during late phase of oropharyngeal candidiasis infection. *Mucosal Immunol.*, 2016, Vol. 9, no. 4, pp. 1015-1026.
10. Blackstock R., Murphy J.W. Role of interleukin-4 in resistance to *Cryptococcus neoformans* infection. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2004, vol. 30, no. 1, pp. 109-117.
11. Bongomin F., Gago S., Oladele R.O., Denning D.W. Global and multi-national prevalence of fungal diseases-estimate precision. *J. Fungi (Basel)*, 2017, vol. 3, no.4. pii: E57. doi: 10.3390/jof3040057.
12. Bonifazi P., Zelante T., d'Angelo C., de Luca A., Moretti S., Bozza S., Perruccio K., Iannitti R.G., Giovannini G., Volpi C., Fallarino F., Puccetti P., Romani L. Balancing inflammation and tolerance in vivo through dendritic cells by the commensal *Candida albicans*. *Mucosal Immunol.*, 2009, Vol. 2, no. 4, pp. 362-374.
13. Bours M.J., Swennen E.L.R., Di Virgilio F., Cronstein B.N., Dagnelie P.C. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. *Pharmacol. Ther.*, 2006, Vol. 112, no. 2, pp. 358-404.
14. Brown G.D., Denning D.W., Gow N.A., Levitz S.M., Netea M.G., White T.C. Hidden killers: human fungal infections. *Sci. Transl. Med.*, 2012, Vol. 4, no. 165, 165rv13. doi: 10.1126/scitranslmed.3004404.
15. Chang C.C., Levitz S.M. Fungal immunology in clinical practice: magical realism or practical reality? *Med. Mycol.*, 2019, Vol. 57, pp. S294-S306.

16. Coelho C., Tesfa L., Zhang J., Rivera J., Goncalves T., Casadevall A. Analysis of cell cycle and replication of mouse macrophages after *in vivo* and *in vitro* *Cryptococcus neoformans* infection using laser scanning cytometry. *Infect. Immun.*, 2012, Vol. 80, no. 4, pp. 1467-1478.
17. Collison L.W., Workman C.J., Kuo T.T., Boyd K., Wang Y., Vignali K.M., Cross R., Sehy D., Blumberg R.S., Vignali D.A.A. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*, 2007, Vol. 450, no. 7169, pp. 566-569.
18. Conti H.R., Shen F., Nayyar N., Stocum E., Sun J.N., Lindemann M.J., Ho A.W., Hai J.H., Yu J.J., Jung J.W., Filler S.G., Masso-Welch P., Edgerton M., Gaffen S.L. Th17 cells and IL-17 receptor signaling are essential for mucosal host defense against oral candidiasis. *J. Exp. Med.*, 2009, Vol. 206, no. 2, pp. 299-311.
19. Delsing C.E., Gresnigt M.S., Leentjens J., Preijers F., Frager F.A., Kox M., Monneret G., Venet F., Bleeker-Rovers C.P., van de Veerdonk F.L., Pickkers P., Pachot A., Kullberg B.J., Netea M.G. Interferon-gamma as adjunctive immunotherapy for invasive fungal infections: a case series. *BMC Infect. Dis.*, 2014, Vol. 14, 166. doi: 10.1186/1471-2334-14-166.
20. Fontenot J.D., Gavin M.A., Rudensky A.Y. Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Nat. Immunol.*, 2003, Vol. 4, no. 4, pp. 330-336.
21. Fulton R.B., Meyerholz D.K., Varga S.M. Foxp3⁺ CD4 regulatory T cells limit pulmonary immunopathology by modulating the CD8 T cell response during respiratory syncytial virus infection. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 185, no. 4, pp. 2382-2392.
22. Giovannetti A., Pierdominici M., di Iorio A., Cianci R., Murdaca G., Puppo F., Pandolfi F., Paganelli R. Apoptosis in the homeostasis of the immune system and in human immune mediated diseases. *Curr. Pharm. Des.*, 2008, Vol. 14, no. 3, pp. 253-268.
23. Grahner A., Richter T., Piehler D., Eschke M., Schulze B., Müller U., Protschka M., Köhler G., Sabat R., Brombacher F., Alber G. IL-4 receptor-alpha-dependent control of *Cryptococcus neoformans* in the early phase of pulmonary infection. *PLoS ONE*, 2014, Vol. 9, no. 1, e87341. doi: 10.1371/journal.pone.0087341.
24. Haeryfar S.M., DiPaolo R.J., Tschärke D.C., Bennink J.R., Yewdell J.W. Regulatory T cells suppress CD8⁺ T cell responses induced by direct priming and cross-priming and moderate immunodominance disparities. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 174, no. 6, pp. 3344-3351.
25. Hori S., Nomura T., Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 2003, Vol. 299, no. 5609, pp. 1057-1061.
26. Kechichian T.B., Shea J., del Poeta M. Depletion of alveolar macrophages decreases the dissemination of a glucosylceramidedeficient mutant of *Cryptococcus neoformans* in immunodeficient mice. *Infect. Immun.*, 2007, Vol. 75, no. 10, pp. 4792-4798.
27. Koguchi Y., Kawakami K. Cryptococcal infection and Th1-Th2 cytokine balance. *Int. Rev. Immunol.*, 2002, Vol. 21, no. 4-5, pp. 423-438.
28. Korn T., Bettelli E., Oukka M., Kuchroo V.K. IL-17 and Th17 cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 27, pp. 485-517.
29. Kostareva O.S., Gabdulhakov A.G., Kolyadenko I.A., Garber M.B., Tishchenko S.V. Interleukin-17: functional and structural features, application as a therapeutic target. *Biochemistry (Mosc.)*, 2019, Vol. 84, no. 1, pp. 193-205.
30. Lin W., Truong N., Grossman W.J., Haribhai D., Williams C.B., Wang J., Martín M.G., Chatila T.A. Allergic dysregulation and hyperimmunoglobulinemia E in Foxp3 mutant mice. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005, vol. 116, no. 5, pp. 1106-1115.
31. Loebbermann J., Thornton H., Durant L., Sparwasser T., Webster K.E., Sprent J., Culley F.J., Johansson C., Openshaw P.J. Regulatory T cells expressing granzyme B play a critical role in controlling lung inflammation during acute viral infection. *Mucosal Immunol.*, 2012, Vol. 5, no. 2, pp. 161-172.
32. Mills K.H. Regulatory T cells: friend or foe in immunity to infection? *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, Vol. 4, no. 11, pp. 841-855.
33. Müller U., Stenzel W., Köhler G., Werner C., Polte T., Hansen G., Schütze N., Straubinger R.K., Blessing M., McKenzie A.N., Brombacher F., Alber G. IL-13 induces disease-promoting type 2 cytokines, alternatively activated macrophages and allergic inflammation during pulmonary infection of mice with *Cryptococcus neoformans*. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 179, no. 8, pp. 5367-5377.
34. Murdock B.J., Huffnagle G.B., Olszewski M.A., Osterholzer J.J. Interleukin-17A enhances host defense against cryptococcal lung infection through effects mediated by leukocyte recruitment, activation, and gamma interferon production. *Infect. Immun.*, 2014, Vol. 82, no. 3, pp. 937-948.
35. Netea M.G., Suttmüller R., Hermann C., Van der Graaf C.A., Van der Meer J.W., van Krieken J.H., Hartung T., Adema G., Kullberg B.J. Toll-like receptor 2 suppresses immunity against *Candida albicans* through induction of IL-10 and regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 172, no. 6, pp. 3712-3718.

36. Netea M.G., van Der Graaf C.A., Vonk A.G., Verschuieren I., van Der Meer J.W., Kullberg B.J. The role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in the host defense against disseminated candidiasis. *J. Infect. Dis.*, 2002, Vol. 185, no. 10, pp. 1483-1489.
37. Niedbala W., Wei X.-Q., Cai B., Hueber A.J., Leung B.P., McInnes I.B., Liew F.Y. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells. *Eur. J. Immunol.*, 2007, Vol. 37, no. 11, pp. 3021-3029.
38. Pandiyan P., Conti H.R., Zheng L., Peterson A.C., Mathern D.R., Hernández-Santos N., Edgerton M., Gaffen S.L., Lenardo M.J. CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells promote Th17 cells in vitro and enhance host resistance in mouse *Candida albicans* Th17 cell infection model. *Immunity*, 2011, Vol. 34, no. 3, pp. 422-434.
39. Pandiyan P., Zheng L., Ishihara S., Reed J., Lenardo M.J. CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4⁺ T cells. *Nature. Immunology*, 2007, Vol. 8, no. 12, pp. 1353-1362.
40. Park B.J., Wannemuehler K.A., Marston B.J., Govender N., Pappas P.G., Chiller T.M. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS*, 2009, Vol. 23, no. 4, pp. 525-530.
41. Read S., Malmstrom V., Powrie F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25⁺CD4⁺ regulatory cells that control intestinal inflammation. *J. Exp. Med.*, 2000, Vol. 192, no. 2, pp. 295-302.
42. Romani L. Immunity to fungal infections. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, Vol. 11, no. 4, pp. 275-288.
43. Ruckwardt T.J., Bonaparte K.L., Nason M.C., Graham B.S. Regulatory T cells promote early influx of CD8⁺ T cells in the lungs of respiratory syncytial virus-infected mice and diminish immunodominance disparities. *J. Virol.*, 2009, Vol. 83, no. 7, pp. 3019-3028.
44. Schmitz I., Schneider C., Fröhlich A., Frebel H., Christ D., Leonard W.J., Sparwasser T., Oxenius A., Freigang S., Kopf M. IL-21 restricts virus-driven Treg cell expansion in chronic LCMV infection. *PLoS Pathog.*, 2013, Vol. 9, no. 5, e1003362. doi: 10.1371/journal.ppat.1003362.
45. Schubert L.A., Jeffery E., Zhang Y., Ramsdell F., Ziegler S.F. Scurfin (FOXP3) acts as a repressor of transcription and regulates T cell activation. *J. Biol. Chem.*, 2001, Vol. 276, no. 40, pp. 37672-37679.
46. Schulze B., Piehler D., Eschke M., von Buttlar H., Köhler G., Sparwasser T., Alber G. CD4(+) FoxP3(+) regulatory T cells suppress fatal T helper 2 cell immunity during pulmonary fungal infection. *Eur. J. Immunol.*, 2014, Vol. 44, no. 12, pp. 3596-3604.
47. Shevach E.M. CD4⁺CD25⁺ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002, Vol. 2, no. 6, pp. 389-400.
48. Shevach E.M. Immunology: regulating suppression. *Science*, 2008, Vol. 322, no. 5899, pp. 202-203.
49. Shevach E.M. Mechanisms of FoxP3⁺ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity*, 2009, Vol. 30, no. 5, pp. 636-645.
50. Shoham S., Levitz S.M. The immune response to fungal infections. *Br. J. Haematol.*, 2005, Vol. 129, no. 5, pp. 569-582.
51. Stephen-Victor E., Bosschem I., Haesebrouck F., Bayry J. The Yin and Yang of regulatory T cells in infectious diseases and avenues to target them. *Cell. Microbiol.*, 2017, Vol. 19, no. 6, pp. 1-9.
52. Suttmuller R.P., den Brok M.H., Kramer M., Bennink E.J., Toonen L.W., Kullberg B.J., Joosten L.A., Akira S., Netea M.G., Adema G.J. Toll-like receptor 2 controls expansion and function of regulatory T cells. *J. Clin. Invest.*, 2006, Vol. 116, no. 2, pp. 485-494.
53. Szymczak W.A., Sellers R.S., Pirofski L.A. IL-23 dampens the allergic response to *Cryptococcus neoformans* through IL-17-independent and -dependent mechanisms. *Am. J. Pathol.*, 2012, Vol. 180, no. 4, pp. 1547-1559.
54. Underhill D.M., Ozinsky A., Hajjar A.M., Stevens A., Wilson C.B., Bassetti M., Aderem A. The Toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. *Nature*, 1999, Vol. 401, no. 6755, pp. 811-815.
55. van Hamburg J.P., de Bruijn M.J., de Almeida C.R., van Zwam M., van Meurs M., de Haas E., Boon L., Samsom J.N., Hendriks R.W. Enforced expression of GATA3 allows differentiation of IL-17-producing cells, but constrains Th17-mediated pathology. *Eur. J. Immunol.*, 2008, Vol. 38, pp. 2573-2586.
56. von Boehmer H., Daniel C. Therapeutic opportunities for manipulating T(Reg) cells in autoimmunity and cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2013, Vol. 12, no. 1, pp. 51-63.
57. Whibley N., Gaffen S.L. Brothers in arms: Th17 and Treg responses in *Candida albicans* immunity. *PLoS Pathog.*, 2014, Vol. 10, no. 12, e1004456. doi: 10.1371/journal.ppat.1004456.
58. Whibley N., MacCallum D.M., Vickers M.A., Zafreen S., Waldmann H., Hori S., Gaffen S.L., Gow N.A.R., Barker R.N., Hall A.M. Expansion of Foxp3⁺ T-cell populations by *Candida albicans* enhances both Th17-cell responses and fungal dissemination after intravenous challenge. *Eur. J. Immunol.*, 2014, Vol. 44, pp. 1069-1083.

59. Wildin R.S., Smyk-Pearson S., Filipovich A.H. Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome. *J. Med. Genet.*, 2002, Vol. 39, no. 8, pp. 537-545.
60. Wing J.B., Sakaguchi S. Foxp3(+) T(reg) cells in humoral immunity. *Int. Immunol.*, 2014, Vol. 26, no. 2, pp. 61-69.
61. Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T., Miyara M., Fehervari Z., Nomura T., Sakaguchi S. CTLA-4 control over FoxP3⁺ regulatory T cell function. *Science*, 2008, Vol. 322, no. 5899, pp. 271-275.

Авторы:

Попов С.В. — д.м.н., профессор кафедры общей врачебной практики, врач-уролог, Медицинский институт ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Шмельков И.Ю. — врач-уролог, соискатель кафедры общей врачебной практики Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Хайдуков С.В. — д.б.н., старший научный сотрудник ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Authors:

Popov S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of General Practice, Clinical Urologist, Medical Institute, Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Shmelkov I. Yu., Clinical Urologist, PhD Applicant, Department of General Practice, Medical Institute, Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Khaidukov S.V., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, M. Shemyakin and Yu. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Поступила 02.05.2020
Принята к печати 04.06.2020

Received 02.05.2020
Accepted 04.06.2020