

А.М. Камышный, И.В. Гриневич, А.С. Деген, И.А. Топол, Т.М. Буга

## ТН17-КЛЕТКИ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключові слова:** Th17-клітини, ROR $\gamma$ t, аутоімунні захворювання.

**Ключевые слова:** Th17-клетки, ROR $\gamma$ t, аутоиммунные заболевания.

**Key words:** Th17-cells, ROR $\gamma$ t, autoimmune diseases.

Огляд літератури з власними даними присвячений опису фенотипу, механізмів розвитку і диференціювання нової субпопуляції Т-хелперів – Th17-клітин. Показано, що Th17 беруть участь у патогенезі аутоімунних, запальних та алергічних захворювань, а також захищають організм від позаклітинних мікробів і паразитів.

Обзор литературы с собственными данными посвящен описанию фенотипа, механизмов развития и дифференцировки новой субпопуляции Т-хелперов – Th17-клеток. Показано, что Th17 участвуют в патогенезе аутоиммунных, воспалительных и аллергических заболеваний, а также защищают организм от внеклеточных микробов и паразитов.

Review of the literature with own data is devoted to description the phenotype, the mechanisms of development and differentiation of new subpopulation of T-helper cells – Th17-cells. It has been shown that Th17-cells are involved in the pathogenesis of autoimmune, inflammatory and allergic diseases, as well as they protect against extracellular bacteria and parasites.

### Функциональная пластичность субпопуляций Т-хелперов

Около 40 лет тому назад Т-лимфоциты разделены по физиологическим активностям на несколько типов клеток: Т-хелперы (Th), цитотоксические лимфоциты и супрессоры. В 1986 году Роберт Коффман и Тимоти Моссмен впервые описали подразделение CD4<sup>+</sup> Т-клеток, основанное на производстве разных цитокинов на 2 функциональные субпопуляции, названные Т-хелперами 1 и 2 типа (Th1 и Th2), и при этом невольно открыли «ящик Пандоры» сложности и противоречий [1]. Доказано, что имеется, по крайней мере, 2 клон Th, которые различаются тем, что Th1 опосредуют защиту организма от внутриклеточных бактерий и вирусов и участвуют в развитии аутоиммунных патологий. Реакции, опосредуемые Th2, защищают организм от внеклеточных патогенов и инициируют аллергический иммунный ответ. Хотя механизмы, которые регулируют дифференцировку Th1- и Th2-клеток сегодня известны, в последние годы описаны другие субпопуляции CD4<sup>+</sup> Т-клеток, такие как Т-регуляторные клетки (Treg), Т-фолликулярные хелперы (Tfh), Т-хелперы 17 типа (Th17), Th22-клетки, и наконец, Th9-клетки [2,3]. Характерно, что различные субпопуляции Th являются достаточно пластичными и на ранних стадиях развития могут дифференцироваться в другие клетки. Ярким подтверждением пластичности Th является факт обнаружения двойных позитивных Foxp3<sup>+</sup>ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, которые могут в дальнейшем дифференцироваться как в регуляторные клетки, препятствующие развитию аутоиммунных заболеваний (АИЗ), так и в провоспалительные Th17-клетки [4]. Поэтому, экспрессия лимфоцитами транскрипционных факторов Foxp3<sup>+</sup> или ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> еще не является свидетельством их терминальной дифференцировки и совершенно не факт, что ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> клетка в конечном итоге пополнит пул Th17-клеток, а не Treg.

*Th17 – новая линия дифференцировки аутоагрессивных Т-хелперов?*

Относительно недавно открыты Th17-клетки, которые, по первым экспериментам, считались сугубо провоспалительными. Эта гипотеза оценена Lawrence Steinman как «поспешный приговор Th17» [5]. История открытия нового представителя Т-хелперов – Th17 – начинается с 2003 г., когда A.L. Gurney et al. [6] показали, что IL-23 способствует развитию и активации Th17-клеток, отличающихся от Th1 и Th2 тем, что они продуцируют IL-17. В течение последующих 5 лет Th17 интенсивно изучали, в результате этого удалось показать источники происхождения, пути дифференцировки и часть функциональных особенностей, а также их роль в защите организма от патогенов и в развитии патологических процессов. Окончательно как о новой субпопуляции Т-хелперов о Th17-клетках стали говорить только в 2006–2007 гг., называя их также Th<sub>IL-17</sub>-клетками, или провоспалительными Th1 (inflammatory Th) [7,8]. С этих пор о механизмах развития большинства АИЗ рассуждают в основном в контексте этих клеток – «аутоиммунные заболевания в эпоху Th17-клеток» и т.п. [9]

Показано, что дифференцировка Th17-клеток происходит независимым от Th1 путем [10]. Так, С.Т. Weaver et al. [8] установили, что IL-23 не вызывает продукцию IL-17 поляризованными Th1-клетками и что Th1 не чувствителен к IL-23. Более того, IFN $\gamma$ , продукт Th1, активно супрессирует развитие Th17. Параллельные находки сделаны и для Th2-клеток, которые являются нечувствительными к IL-23, а их продукт IL-4 ингибирует развитие Th17. Установлено, что CD4<sup>+</sup> Th17-клетки экспрессируют хемокины CCR4 и CCR6 [11]. У мышей в созревании Th17 вовлекается TGF $\beta$  и IL-6, тогда как у людей это происходит под влиянием IL-23 и IL-1 $\beta$ , которые приводят к развитию Th17, экспрессирующих следующий цитокиновый профиль: IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26, IFN $\gamma$ , хемокин CCL-20 и транскрипционный фактор ROR $\gamma$ t. В работе S. Nakaе et al. [12], в которой рассмотрены фенотипические различия между Th1 и Th17 мышей, ис-



пользовано около 60 маркеров, связанных с Th. В результате показаны существенные различия в фенотипе изученных популяций Th. Обнаружено, что экспрессионный профиль поверхностных молекул на Th17 более похож на Th1, чем на Th2. Th1-линейные маркеры (IL-18R, CXCR3, T-клеточный Ig-домен, муциноподобный домен-3 (TIM-3)), но не линейные маркеры Th2 (T1/ST2, TIM-1, TIM-2), экспрессированы на Th17, но интенсивность экспрессии была различна [12].

Необходимо отметить, что основной цитокин Th17-клеток – IL-17, – может продуцировать и целый ряд других клеток, не являющихся «полноценными» Th17, а часть из них называют «врожденными» Th17-клетками. Это T-клетки памяти, NKТ-клетки, Th-лимфоциты (T-лимфоциты, регулирующие нейтрофилы),  $\gamma\delta$ T-клетки, клетки, способные индуцировать лимфоидную ткань эмбрионов человека (Lti клетки, Lymphoid tissue inducer cells) [13–14].

Для дифференцировки Th17-клеток, как и для любых других Th, важны сигналы, поступающие от T-клеточного рецептора (TCR) – связывание TCR является существенным в индукции IL-17 [15]. Основным путем активации с участием TCR является продукция внутриклеточного кальция и активация транскрипции фактора NFAT (Nuclear Factor of Activated T lymphocytes). Проксимальный промотор гена *IL-17a* человека содержит два NFAT-связывающих сайта, которые важны в регуляции IL-17 [16]. Проведение сигналов от TCR индуцирует транскрипционные факторы NF- $\kappa$ B и AP-1, которые, по-видимому, необходимы для продукции провоспалительных цитокинов Th17-клетками [16].

P.R. Mangan et al. [17] идентифицировали TGF $\beta$  как цитокин, критичный для осуществления развития T-хелперных клеток, продуцирующих IL-17 *in vitro* и *in vivo*. Один из механизмов созревания Th17 выражается в том, что существует дихотомия в генерации Th17-клеток и регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>-клеток, так как оба типа клеток происходят из наивных Th, и их развитие находится под контролем TGF $\beta$ . В зависимости от сигналов, генерируемых окружением, возникают либо обычно встречающиеся CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> регуляторные T-клетки, либо Th17-клетки. Также важное значение в дифференцировке Th17 имеют факторы, регулирующие интерфероны (IRFs) – семейство транскрипционных факторов, регулирующих продукцию интерферонов I типа [18]. Так, у мышей с отсутствием гена *IRF4* (*irf4*<sup>-/-</sup>) дифференцировка Th17-клеток не происходит, и они полностью отсутствуют, что, по-видимому, связано с дефектной продукцией IL-6. Еще один факт, подтверждающий предыдущий, показывает, что мыши с нокаутом гена *IRF4* (*irf4*<sup>-/-</sup>) не чувствительны к экспериментальному аутоиммунному энцефаломиелиту (ЭАЭ), так как Th17 являются основными клетками, участвующими в патогенезе ЭАЭ [18]. IRF4-связывающий белок (IBP), который недавно был изолирован, обладает способностью блокировать IRF4 и тем самым препятствовать развитию Th17. У мышей, дефицитных по IBP, быстро развиваются аутоиммунные заболевания, сопровождающиеся резко повышенным уровнем IL-17 и IL-21 [19].

Th17 человека отличаются от Th17 мыши тем, что проду-

цируют иной набор цитокинов. Так, Th17 мыши продуцируют IL-17A, IL-17F, IL-21, тогда как Th17 человека – IL-17A, IL-17F, IL-22 и IL-26 [3, 9]. Кроме IL-17, важное значение имеет продукция IL-21, который является потенциальным иммуномодулятором и имеет плеiotропные эффекты на врожденный и приобретенный иммунные ответы. T. Onoda et al. [20] получили данные, свидетельствующие, что Th17 мышей продуцируют IL-21, а в лаборатории V.K. Kuchroo получены данные [21], свидетельствовавшие, что IL-21 и TGF $\beta$  требуются для дифференцировки Th17 клеток человека. IL-21 усиливает пролиферацию лимфоцитов, цитотоксичность CD8<sup>+</sup>T-клеток и естественных киллеров, а также дифференцировку В-клеток в плазматические. И наоборот, IL-21 имеет прямые ингибиторные эффекты на антиген-представляющую функцию дендритных клеток и может быть проапоптотическим для В-лимфоцитов и NK-клеток. IL-21 является критическим регулятором развития Th17. Совсем недавно показано, что IL-21 продуцируется Th17-клетками в зависимой от STAT3-манере [22]. A. Sato [23] получил данные, что Th17-клетки, находясь в условиях поляризации (направление конечной дифференцировки), продуцируют IL-17A и IL-17F, но, тем не менее, 60% этих клеток продуцируют не IL-17, а IL-21.

Развитие Th17 тесно связано с еще одним цитокином – IL-23. Не исключена возможность, что IL-23 действует совместно с TGF $\beta$  в развитии Th17 – отсутствие IL-23 и TGF $\beta$  приводило к продукции малого количества Th17-клеток. При наличии одного IL-23 дефицит Th17 не восполнялся [17]. Возможно, что наиболее убедительным доказательством роли IL-23 в развитии Th17 были данные, показавшие, что делеция гена IL-23 или его блокирование приводит к отсутствию Th17, что сопровождается резистентностью к ряду аутоиммунных заболеваний (ЭАЭ, ревматоидному артриту) [24].

*Роль ретиновых orphan-рецепторов в развитии Th17-клеток*

Несмотря на большое число молекул, экспрессируемых Th17-клетками и претендующих на роль их маркеров, пожалуй, наиболее надежными являются транскрипционные факторы, относящиеся к ядерным orphan-рецепторам [25]. Суперсемейство ядерных рецепторов (ЯР) представлено у позвоночных почти 50 белками, которые имеют сходную структурно-функциональную организацию и исполняют роль лиганд-активируемых регуляторов транскрипции генов. Первым описанным ЯР был рецептор глюкокортикоидов [26]. В дальнейшем, благодаря различным проектам по исследованию генома, идентифицированы гены, продукты которых – полипептиды близкой структуры – сформировали семейство ЯР. Для многих ЯР проблемы идентификации эндогенного лиганда не существовало, они были известны еще до выяснения структуры самого рецептора; это, к примеру, рецепторы тиреоидных гормонов (TR $\alpha$ / $\beta$ ), ретиновой кислоты (RORs), эстрогеновые рецепторы (ERs) и рецепторы к 3-кетостероидам (GRs, MRs, PGRs, ARs), витамину D (VDRs). Для других ЯР эндогенные лиганды были идентифицированы позднее, чем установлена структура самого рецептора, а для некоторых лиганды



неизвестны и по сей день. Эта последняя группа белков и была названа orphan-рецепторами (англ. orphan – безродный, сирота). Так, к примеру, у человека идентифицированы лиганды 23 ядерных рецепторов, а для 25 рецепторов они предполагаемы или неизвестны (собственно orphan-рецепторы). Тем не менее, для многих orphan-рецепторов установлены экзогенные агонисты и антагонисты, и, соответственно, фармакологические эффекты, связанные с блокадой или активацией этих рецепторов [27].

Ядерные рецепторы локализуются в цитоплазме (тип I) или конститутивно присутствуют в ядре (собственно ядерные рецепторы, тип II) и осуществляют регуляцию множества функций в многоклеточных организмах (рост, дифференцировку, активацию, апоптоз и пр.) путем прямого контроля экспрессии генов и ряда «негеномных» эффектов. Активность рецепторов контролируются следующим механизмом [28]: цитоплазматический рецептор связывается со специфическим лигандом, который в подавляющем большинстве представлен небольшой липофильной молекулой (стероиды, арахидонаты, ретиноиды, витамин D), далее происходит диссоциация комплекса рецептора с белками теплового шока HSP-90, гомодимеризация (гетеродимеризация), присоединение коактиватора, транслокация в ядро и взаимодействие с отвечающим мотивом ДНК. Собственно ядерные рецепторы конститутивно экспрессируются в ядре после связывания лиганда и гетеродимеризации или в мономерной форме взаимодействуют с ДНК. Активация/подавление транскрипции генов осуществляется благодаря присоединению к лиганд-связанной форме рецептора различных белков коактиваторов/корепрессоров.

Рецепторы, ассоциированные с рецепторами ретиноевой кислоты, или ретиновые orphan-рецепторы (Retinoic acid-related orphan receptors, RORs) представлены тремя основными подтипами: ROR $\alpha$  (NR1F1), ROR $\beta$  (NR1F2) и ROR $\gamma$  (NR1F3) [29]. ДНК-связывающий домен RORs, содержащий 66 аминокислот, высоко консервативен, что предполагает единый участок связывания (ROR response element, RORE) для всех трех рецепторов. Из них ROR $\alpha$  широко экспрессирован в различных тканях: скелетных мышцах, яичках, клетках Пуркиньи в мозжечке, сетчатке, а также в селезенке. ROR $\alpha$  также играет важную роль в развитии лимфоцитов. Так, у ROR $\alpha$ -дефицитных мышей селезенка и тимус меньше, чем в контроле [30]. Предполагается, что ROR $\alpha$  влияет на экспрессию ИКВ $\alpha$ , негативного регулятора NF- $\kappa$ B сигнального пути, ограничивая таким образом уровень воспалительной реакции и адаптивного иммунного ответа. Экспрессия ROR $\beta$  ограничена зонами ЦНС, ответственными за процессинг сенсорной информации в спинном мозге, таламусе и сенсорной коре. ROR $\gamma$  широко экспрессирован в тимусе, мышцах, мозге, сердце, легких, почках. Одна из изоформ, ROR $\gamma$ 2 (ROR $\gamma$ t), впервые обнаружена в тимусе и носит название TOR (thymus orphan receptor). Однако в последующем экспрессия ROR $\gamma$ t обнаружена и в периферических органах иммунной системы – лимфоцитах селезенки, лимфатических узлов, лимфоидных фолликулов тонкой кишки и др. Предположительно, лигандами ROR $\alpha$

является холестерин и сульфат холестерина, а лигандами ROR $\beta$  и ROR $\gamma$  – некоторые ретиноиды [31].

Последние исследования обнаружили критическую роль ROR $\gamma$ /ROR $\gamma$ t в регуляции дифференцировки Th17-клеток [32,33]. Ivanov, Littman и их коллеги первыми сообщили, что ROR $\gamma$ t необходим для дифференциации наивных CD4<sup>+</sup> T-клеток в клетки Th17 [34]. Это было подтверждено открытиями нескольких других лабораторий [24,35]. Установлено, что ROR $\gamma$ t индуцируется во время дифференцировки антиген-стимулированных Th в направлении Th17 в ответ на IL-6 и TGF $\beta$ . Клетки с недостатком IL-6 не экспрессируют ROR $\gamma$ t, не синтезируют IL-17F и IL23R [24]. IL-6 опосредует свое действие с помощью активации STAT3. Недостаток STAT3 сильно нарушает активацию экспрессии ROR $\gamma$ t и дифференцировку Th17, из чего можно сделать вывод, что эта индукция STAT3-зависимая [36]. Дополнительные доказательства роли ROR $\gamma$ t в развитии Th17 базируются на исследованиях, показывающих, что Th, изолированные от ROR $\gamma$ t-дефицитных мышей, характеризуются заметным уменьшением способности к дифференцировке в направлении Th17 [37]. Кроме того, ROR $\gamma$ t открыт как фактор, регулирующий экспрессию генов в течение развития T-клеток тимуса [38]. Высокий уровень экспрессии обнаруживается в дубль-позитивных тимоцитах, экспрессия снижается на этапе позитивной селекции, а в одинарно-позитивных тимоцитах и зрелых T-клетках ROR $\gamma$ /ROR $\gamma$ t выявляется реже, за исключением популяции T-хелперов 17 типа [39]. Установлено, что у мышей с дефектом ROR $\gamma$ /ROR $\gamma$ t генов содержание тимоцитов, из-за их интенсивного апоптоза, снижается почти на 90% [40]. В свою очередь, животные с гиперэкспрессией ROR $\gamma$ t в зрелых T-лимфоцитах, равно как и ROR $\gamma$ /ROR $\gamma$ t-экспрессирующие клетки T-гибридом, характеризуются гипореактивностью при стимуляции TCR, сниженным уровнем активационно-индуцированного апоптоза [41]. Механизмы ROR $\gamma$ /ROR $\gamma$ t-зависимого контроля созревания тимоцитов окончательно не ясны, однако установлено, что ROR $\gamma$ t регулирует экспрессию антиапоптотического белка Bcl-X<sub>L</sub>, а у ROR $\gamma$ t-дефицитных мышей наблюдается усиленный апоптоз тимоцитов из-за уменьшения экспрессии Bcl-X<sub>L</sub> [41]. Существенно, что помимо резкого усиления апоптоза тимоцитов у ROR $\gamma$ /ROR $\gamma$ t<sup>-/-</sup> мышей наблюдается высокая частота T-клеточных лимфом, что связано с появлением T-лимфоцитов, имеющих дефекты контроля клеточного цикла и высокочувствительных к онкогенным вирусам [42].

ROR $\gamma$ /ROR $\gamma$ t является критичным транскрипционным фактором и для развития вторичных лимфоидных органов. Так, LTi-клетки (Lymphoid tissue inducer cells) играют важную роль в развитии периферических лимфоидных органов – селезенки, лимфатических узлов, лимфоидных бляшек кишечника. Недавние исследования показали, что LTi-клетки отсутствуют в селезенке, БЛУ и кишечнике у ROR $\gamma$ <sup>-/-</sup> эмбрионов, что свидетельствует о критической роли ROR $\gamma$ t в генерации и выживании LTi-клеток [43]. У мышей, дефицитных по ROR $\gamma$ t, количество Th17-клеток в лимфоидных бляшках кишечника было снижено в 10 раз



по сравнению с мышами дикого типа. Форсированная экспрессия ROR $\gamma$ t в наивных Т-клетках приводила к продукции ими IL-17, IL-17F и IL-22 [43].

Проведено иммунофлюоресцентное выявление экспрессии ROR $\gamma$ t в клетках белой пульпы селезенки у крыс с экспериментальным стрептозотоциновым диабетом (ЭСД). Среди идентифицированных ROR $\gamma$ t-иммунопозитивных клеток для последующего анализа отбирали только клетки с высокой концентрацией ROR $\gamma$ t (больше 0,3 единиц интенсивности флюоресценции – E<sub>иф</sub>). Установлено, что развитие ЭСД длительностью 28 и 38 дней сопровождается достоверным увеличением плотности популяции ROR $\gamma$ t<sup>+</sup>-клеток в лимфоидных фолликулах (в 6,5–11,2 раза, p<0,05), маргинальной зоне (в 2–2,4 раза, p<0,05) и периартериальных лимфоидных муфтах (ПАЛМ) селезенки (в 3,3–3,6 раза, p<0,05) по сравнению с контролем. Гипоксические тренировки (10 на высоте 6 км) диабетических крыс не влияют на количество ROR $\gamma$ t<sup>+</sup>-клеток в лимфоидных фолликулах и приводят к достоверному снижению их плотности в маргинальной зоне (на 28%, p<0,05) и ПАЛМ (на 25%, p<0,05). Данные изменения не только сохраняются, но и увеличиваются по истечению 10-дневного постгипоксического периода.

*Аутоиммунные заболевания и Th17-клетки. Роль Th17 в патогенезе сахарного диабета 1 типа*

Накоплено большое число данных, свидетельствующих, что клетки Th17 причастны к развитию различных аутоиммунных заболеваний человека, таких как системная красная волчанка, ревматоидный артрит, атопический дерматит, рассеянный склероз, псориаз, астма и сахарный диабет 1 типа [9,44]. IL-17 индуцирует секрецию целого ряда цитокинов, хемокинов, металлопротеиназ и других провоспалительных медиаторов и способствует привлечению нейтрофилов к органу-мишени. Мыши с отсутствием продукции IL-17 невосприимчивы к коллаген-индуцированному артриту (CIA) и экспериментальному аутоиммунному энцефаломиелиту (ЕАЕ), модели рассеянного склероза. Нейтрализация IL-17 антителами подавляет аутоиммунное воспаление ЦНС [44]. Перенос Th17-клеток, напротив, усугубляет течение заболевания. Недавние исследования с использованием экспериментальной модели колита показали, что перенос Т-клеток с отсутствием ROR $\gamma$ t не увеличивал уровень синтеза IL-17 у мышей и не индуцировал колит, тогда как воздействие IL-17A восстановило клинику колита [45]. Эти исследования показывают, что потеря функции ROR $\gamma$ t сильно уменьшает восприимчивость к развитию аутоиммунного заболевания у мышей и позволяют предположить, что, контролируя дифференцировку Th17 и экспрессию IL-17, ROR $\gamma$ t играет критическую роль в регуляции воспалительных и аутоиммунных процессов. Следовательно, ROR $\gamma$ t может являться потенциальной фармакологической мишенью для лечения аутоиммунных заболеваний.

J. Etmawalee и коллеги (2009) обнаружили высокие уровни ИЛ-17 в сыворотке крови у NOD-мышей, являющихся моделью СД 1 типа [46]. При этом введение нейтрализующих анти-ИЛ-17 антител предотвращало у них развитие

диабета, резко снижая уровень лимфоидной инфильтрации панкреатических островков – инсулит. Интересно, что при этом увеличивался уровень инфильтрации островков CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup>/Foxp3<sup>+</sup> Treg-клетками, оказывающими выраженное супрессорное действие на прогрессию диабета, и снижалось количество CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Таким образом, ингибирование Th17-клеток влияет на баланс Th17/Treg, увеличивая и расширяя популяцию Treg-клеток и противодействуя развитию аутоиммунного процесса в этой модели. Кроме того, применение анти-ИЛ-17-антител предотвращает образование аутоантител к одному из островковых антигенов – глутаматдекарбоксилазе GAD65 [46]. Эти данные позволяют предположить, что Th17 клетки участвуют в прогрессировании СД 1 типа, а ингибирование их функций может предотвратить образование аутоантител к панкреатическим антигенам.

Важную роль в патогенезе АИЗ играет не только ИЛ-17, но и другие цитокины, продуцируемые Th17 клетками, в частности, IL-21 и IL-22. Так, R. Spolski et al. [47] установили необходимость IL-21 для инициации молекулярных изменений, которые вызывают клеточную дифференцировку Th17. В свою очередь, сигнализация, осуществляемая через IL-21, является критической для развития диабета и формирования инсулита у мышей NOD. Интерес к IL-21 как потенциальному медиатору аутоиммунного диабета основывается на том факте, что ген IL21 находится в пределах локуса Idd3, с которым ассоциировано развитие диабета у NOD-мышей, напоминающее по течению СД 1 типа у человека, и уровни IL-21 и экспрессии IL-21R были повышены у этих экспериментальных животных [47]. В частности, у IL-21R-нокаутных мышей NOD отсутствовала лимфоцитарная инфильтрация панкреатических островков, и только у 1 из 20 животных наблюдалась гипергликемия по сравнению с повышенной глюкозой у 60% обычных мышей NOD. IL-21 экспрессируется также на Th2-клетках, фолликулярных Т-хелперах, НКТ-клетках и проявляет свое действие на пролиферацию, дифференцировку и эффекторные функции Т-, В-, НК- и дендритных клеток и способствует участию Th17 в органоспецифических аутоиммунных заболеваниях, таких как рассеянный склероз, ревматоидный артрит, диабет и другие [48]. R. Nurgieva et al. [49] показали, что основная аутокринная регуляция IL-21 связана с увеличением числа провоспалительных Т-клеток.

Еще один цитокин Th17-клеток, IL-22, активирует продукцию антимикробных пептидов  $\beta$ -дефензина 2, кателицидина, S100A9, S100A7 и S100A8 [50] и играет важную роль в развитии аутоиммунных повреждений кожи человека, в частности псориаза. Псориазические поражения инфильтрованы Th17, которые продуцируют IL-17A и IL-22. Более того, IL-17 и IL-22 регулируют продукцию антимикробных белков в слизистой эпителии. IL-22 обладает как про-, так и противовоспалительными свойствами. В течение воспалительного процесса IL-22 предотвращает поражение тканей [50]. Так, отсутствие IL-22 приводит к острому гепатиту, а восстановление его экспрессии Th17-клетками обеспечивает защиту против воспалительного повреждения



печени. L.A. Zenewicz et al. [51] показали, что у мыши IL-22 продуцируется Th17-клетками и популяцией NK-клеток, которые участвуют в защите организма от воспалительных заболеваний кишечника. IL-22, как эффекторный цитокин, продуцируемый T-клетками, опосредует взаимодействие (crosstalk) между иммунной системой и эпителиальными клетками [52]. IL-17 и IL-22 вносят свой вклад в защиту человека от микобактериальной инфекции [52].

У детей с СД 1 типа наблюдается увеличение секреции и экспрессии IL-17 и IL-22 T-лимфоцитами периферической крови [53], а моноциты, выделенные от пациентов с СД 1 типа, спонтанно секретируют провоспалительные цитокины IL-1 $\beta$  и IL-6, которые, как известно, стимулируют дифференцировку Th17-клеток [54]. При этом индукция образования Th17-лимфоцитов IL-17-секретирующими моноцитами от пациентов с СД 1 типа была уменьшена *in vitro* в случае применения комбинации IL-6-блокирующих антител и антагониста IL-1R. Эти данные предполагают, что врожденная иммунная система, где одними из основных эффекторных клеток являются моноциты и макрофаги, управляет уровнем адаптивного иммунного ответа, увеличивая экспансию Th17-клеток [54].

Важное значение в развитии АИЗ играет соотношение между числом Th17 и Treg-клеток. Так, J. Van den Brandt et al. показали, что спонтанное развитие диабета 1 типа у крыс линии DP-BB (Diabetes-prone BioBreeding rats) обусловлено нарушением баланса между субпопуляциями Th17 и Treg-клеток [55]. Клетки Treg и Th17 взаимно регулируются при участии нескольких положительных и отрицательных регуляторных сетей [56]. Равновесие между экспрессией транскрипционных факторов ROR $\gamma$ t и FOXP3 играет критическую роль в определении, будут ли наивные CD4<sup>+</sup> Th дифференцироваться в Treg или в Th17. Индукция или экзогенная экспрессия FOXP3 подавляет дифференцировку Th17. Регуляция экспрессии FOXP3, производимая TGF $\beta$  и IL-6 играет критическую роль в выборе направления Treg или Th17 [57]. Если наивные Th подвергаются совместному действию IL-6 и TGF $\beta$ 1, индуцируется их дифференцировка в сторону Th17, включающая активацию генов IL-21, ROR $\alpha$ , ROR $\gamma$ t, IL-17, IL-17F, IL-22, и IL23R. Если же действует только TGF $\beta$ , индуцируется транскрипционный фактор FOXP3 и дифференцировка в сторону Treg, причем FOXP3 сильно ингибирует образование Th17-клеток. Хотя TGF $\beta$  может умеренно усиливать экспрессию ROR $\alpha$  и ROR $\gamma$ t, экспрессию FOXP3 он индуцирует на намного более высоких уровнях, тем самым сдвигая баланс ROR/FOXP3 в сторону FOXP3 и дифференцировки Treg [56,57]. Добавление IL-6 или IL-21 ингибирует индукцию FOXP3, вызванную TGF $\beta$  и активирует экспрессию ROR $\alpha$  и ROR $\gamma$ t, тем самым сдвигая баланс ROR/FOXP3 в сторону дифференцировки Th17. Ряд других цитокинов и транскрипционных факторов также влияют на баланс между дифференцировкой в сторону Treg и Th17. В частности, IL-2 ингибирует экспрессию ROR $\gamma$ t и дифференцировку Th17 [34]. IL-10, кроме ингибирования дифференцировки Th1, также подавляет образование Th17 и экспрессию ROR $\gamma$ t и IL-17 [56]. И наоборот, экспрессия

ROR $\gamma$ t и дифференцировка Th17 усилена в клетках селезенки IL-10<sup>-/-</sup>дефицитных животных. Экспрессии ROR $\alpha$ , ROR $\gamma$ t и IL-17 сильно уменьшены в клетках с недостатком интерферон-регулирующего фактора 4 (IRF4), тогда как экспрессия FOXP3 увеличена, что говорит о том, что IRF4 также играет роль в регуляции баланса между Th17 и Treg [18]. Таким образом, баланс между дифференцировкой Th17 и Treg находится под комплексным контролем, в котором принимают участие множество транскрипционных факторов [58].

Помимо взаимодействия Th17 и Treg-клеток, которое явно антагонистическое и приводит к противоположным эффектам, заслуживает внимание взаимодействие Th17 и Th1-лимфоцитов, являющихся основными эффекторами аутоиммунных заболеваний и действующих, казалось бы, синергично [59]. Характерно, что Th17 и Th1 клетки – 2 субпопуляции наиболее продиабетогенных клеток. При этом, если преобладают Th17-клетки, то инфильтрация панкреатических островков преимущественно нейтрофильная (ассоциированные хемокины CXCL1, CXCL2, CXCL5), а если Th1 клетки – макрофагальная (ассоциированные хемокины CXCL9, 10, 11). Есть мнение, что Th17 клетки провоцируют развитие инсулита у NOD мышей только после конверсии в продуцирующие IFN $\gamma$  Th1 клетки [60]. Вместе с тем, есть немало примеров антагонистического взаимоотношения этих субпопуляций T-хелперов: продукция IL-17 увеличена у IFN- $\gamma$ <sup>-/-</sup>-нокаутных мышей, а продукция IFN $\gamma$  возрастает, соответственно, у IL-17<sup>-/-</sup>-нокаутных мышей. Кроме того, основной цитокин, направляющий дифференцировку Th1 (IL-12<sub>in</sub> ингибирует образование Th17 [59,60].

## ВЫВОДЫ

Обзор данных показывает, что Th17-клетки существенно отличаются по генотипу, фенотипу и физиологии от других субпопуляций Th. Th17 имеют оригинальные рецепторы, транскрипционный фактор, набор продуцируемых цитокинов. Th17 являются клетками, участвующими в воспалительных и аутоиммунных процессах, а также осуществляют защиту организма от внеклеточных бактерий и паразитов.

Открытие Th17 произошло совсем недавно, основные работы появились в 2006–2008 гг., и многие параметры существования этих клеток пока не ясны. Тем не менее, уже сейчас можно сказать, что Th17 – одни из основных эффекторов развития АИЗ, поэтому являются важной фармакологической мишенью для создания новых лечебных подходов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Mosmann T. Two types of murine helper T cell clone. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins / Mosmann T., Cherwinski H., Bond M., Giedlin M., Coffman R. // J. Immunol. – 1986. – Vol. 136. – P. 2348–2357.
2. Bluestone J. The functional plasticity of T cell subsets / Bluestone J., Mackay C., O'Shea J., Stockinger B. // Nat. Rev. Immunol. – 2009. – Vol. 9. – P. 811–816.
3. Кетлинский С.А. Th17 – новая линия дифференцировки T-хелперов: обзор данных / Кетлинский С.А. // Цитокины и воспаление. – 2009. – №2. – С. 3–15.
4. Tartar D. Foxp3<sup>+</sup>ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> T helper intermediates display suppressive function against autoimmune diabetes / Tartar D., Van Morlan A., Wan X., Guloglu F., Jain R., Haymaker C., Ellis



- J., Hoeman C., Cascio J., Dhakal M., Oukka M., Zaghouni H.* // *J. Immunol.* – 2010. – Vol. 7. – P. 3377–3385.
5. *Steinman L.* A rush to judgment on Th17 / *Steinman L.* // *J. Exp. Med.* – 2008. – Vol. 205, №7. – P. 1517–1522.
6. *Gurney A.L.* Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T-cell activation state characterized by the production of interleukin-17 / *Gurney A.L., Aggarwal S., Ghilardi N.* // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 17. – P. 1910–1914.
7. *Betelli E.* Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T-cells / *Betelli E., Carrier Y., Gao W. et al.* // *Nature.* – 2006. – Vol. 441. – P. 235–238.
8. *Weaver C.* Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties / *Weaver C., Harrington L., Mangan P., Gavioli M., Murphy K.* // *Immunity.* – 2006. – Vol. 24. – P. 677–688.
9. *Mesquita J.* Autoimmune diseases in the Th17 era / *Mesquita J., Cruvinel W., Camara N., Kallas E., Andrade L.* // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2009. – Vol. 42. – P. 476–486.
10. *Harrington L.* IL-17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from T helper type 1 and 2 lineages / *Harrington L., Hatton R., Mangan P. et al.* // *Nat. Immunol.* – 2005. – Vol. 6. – P. 1123–1132.
11. *Acosta-Rodriguez E.* Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin-17-producing T-helper memory cells / *Acosta-Rodriguez E., Rivino L., Geginat J.* // *Nat. Immunol.* – 2007. – Vol. 8. – P. 639–646.
12. *Nakae S.* Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation of Th1 cell differentiation by IL-17 / *Nakae S., Iwakura Y., Suto H., Galli S.* // *J. Leukoc. Biol.* – 2007. – Vol. 81. – P. 1258–1268.
13. *Ley K.* IL-17A-producing neutrophil-regulatory Tn lymphocytes / *Ley K., Smith E., Stark M.* // *Immunol. Res.* – 2006. – Vol. 34. – P. 229–242.
14. *Roark C.* Gamma-delta T cells: an important source of IL-17 / *Roark C., Simonian P., Fontenot A., Born W., O'Brien R.* // *Curr. Opin. Immunol.* – 2008. – Vol. 20. – P. 353–357.
15. *Chen Z.* Distinct regulation of IL-17 in human helper T lymphocytes / *Chen Z., Tato C., Muul L., Laurence A., O'Shea J.* // *Arthritis Rheum.* – 2007. – Vol. 56. – P. 2936–2946.
16. *Coquet J.* Diverse cytokine production by NKTcell subsets and identification of an IL-17-producing CD4-NK1.1-NKT cell population / *Coquet J., Chakravarty S., Kyriakoudis K.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105. – P. 11287–11292.
17. *Mangan P.* Transforming factor beta induces development of the Th17 lineage / *Mangan P., Harrington L., Quinn D. et al.* // *Nature.* – 2006. – Vol. 441. – P. 231–234.
18. *Brustle A.* The development of inflammatory Th17 cells requires interferon-regulatory factor 4 / *Brustle A., Heink S., Huber M. et al.* // *Nat. Immunol.* – 2007. – Vol. 8. – P. 958–966.
19. *Chen Q.* IRF-4-binding protein inhibits IL-17 and IL-21 production by controlling the activity of IRF-4 transcription factor / *Chen Q., Yang W., Gupta S. et al.* // *Immunity.* – 2008. – Vol. 29. – P. 899–911.
20. *Onoda T.* Human CD4<sup>+</sup> central and effector memory T cells produce IL-21: effect on cytokine-driven proliferation of CD4<sup>+</sup> T cell subsets / *Onoda T., Rahman M., Nara H. et al.* // *Int. Immunol.* – 2007. – Vol. 19. – P. 1191–1199.
21. *Korn T.* IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory Th17 cells / *Korn T., Betelli E., Gao W. et al.* // *Nature.* – 2007. – Vol. 448. – P. 484–487.
22. *Wei L.* IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner / *Wei L., Laurence A., Elias K., O'Shea J.* // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 34605–34610.
23. *Sato A.* Development and characterization of IL-21 producing CD4<sup>+</sup> T cells / *Sato A., Kashiwakuma D., Kagami S. et al.* // *J. Exp. Med.* – 2008. – Vol. 205. – P. 1369–1379.
24. *Laurence A.* Th17 differentiation: of mice and men / *Laurence A., O'Shea J.* // *Nat. Immunol.* – 2007. – Vol. 8. – P. 903–905.
25. *Сибиряк С.В.* Orphan-рецепторы в клетках иммунной системы: роль в иммунорегуляции / *Сибиряк С.В., Вахитов В.А., Черешнев В.А.* // *Российский иммунологический журнал.* – 2008. – №4. – С. 23–30.
26. *Evans R.* The Nuclear Receptor Superfamily: a rosetta stone for physiology / *Evans R.* // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 19. – P. 1429–1438.
27. *Giguère V.* Orphan nuclear receptors: from gene to function / *Giguère V.* // *Endocrinol. Rev.* – 1999. – Vol. 20. – P. 689–725.
28. *Novac N.* Nuclear receptors: overview and classification / *Novac N., Heinzl T.* // *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy.* – 2004. – Vol. 3. – P. 335–346.
29. *Jetten A.* Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism / *Jetten A.* // *Nuclear Receptor Signaling.* – 2009. – Vol. 7. – P. 1–32.
30. *Dzhagalov I.* Lymphocyte development and function in the absence of retinoic acid-related orphan receptor  $\alpha$  / *Dzhagalov I., Giguere V., He Y.* // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173. – P. 2952–2959.
31. *Stehlin-Gaon C.* All-trans retinoic acid is a ligand for the orphan nuclear receptor ROR / *Stehlin-Gaon C., Willmann D., Zeyer D., Sanglier S. et al.* // *Nat. Struct. Biol.* – 2003. – Vol. 10. – P. 820–825.
32. *Chen Z.* Signal transduction pathways and transcriptional regulation in the control of Th17 differentiation / *Chen Z., Laurence A., O'Shea J.* // *Semin. Immunol.* – 2007. – Vol. 19. – P. 400–408.
33. *Chen Z.* Th17 cells: a new fate for differentiating helper T cells / *Chen Z., O'Shea J.* // *Immunol. Res.* – 2008. – Vol. 41. – P. 87–102.
34. *Ivanov I.* Transcriptional regulation of Th17 cell differentiation / *Ivanov I., Zhou L., Littman D.* // *Semin. Immunol.* – 2007. – Vol. 19. – P. 409–417.
35. *Dong C.* Th17 cells in development: an updated view of their molecular identity and genetic programming / *Dong C.* // *Nat. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 337–348.
36. *Yang X.* STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells / *Yang X., Panopoulos A., Nurieva R. et al.* // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 9358–9363.
37. *Yang X.* Molecular antagonism and plasticity of regulatory and inflammatory T cell programs / *Yang X., Nurieva R., Martinez G. et al.* // *Immunity.* – 2008. – Vol. 29. – P. 44–56.
38. *Ivanov I.* The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17<sup>+</sup> T helper cells / *Ivanov I., McKenzie B., Zhou L. et al.* // *Cell.* – 2006. – Vol. 126. – P. 1121–1133.
39. *He Y.* Down-regulation of the orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  is essential for T lymphocyte maturation / *He Y., Beers C., Deftos M., Ojala E., Forbush K., Bevan M.* // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164. – P. 5668–5674.
40. *Sun Z.* Requirement for ROR $\gamma$  in thymocyte survival and lymphoid organ development / *Sun Z., Unutmaz D., Zou Y., Sunshine M. et al.* // *Science.* – 2000. – Vol. 288. – P. 2369–2373.
41. *He Y.* Orphan nuclear receptors in T lymphocyte development / *He Y.* // *J. Leuk. Biol.* – 2002. – Vol. 72. – P. 440–446.
42. *Ueda E.* High Incidence of T-Cell Lymphomas in Mice Deficient in the Retinoid-related Orphan Receptor ROR / *Ueda E., Kurebayashi S., Sakaue M., Backlund M. et al.* // *Cancer Research.* – 2002. – Vol. 62. – P. 901–909.
43. *Eberl G.* The role of the nuclear hormone receptor ROR $\gamma$  in the development of lymph nodes and Peyer's patches / *Eberl G., Littman D.* // *Immunol. Rev.* – 2003. – Vol. 195. – P. 81–90.
44. *Komiyama Y.* IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis / *Komiyama Y., Nakae S., Matsuki T. et al.* // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 566–573.
45. *Leppkes M.* ROR $\gamma$ -expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-17A and IL-17F / *Leppkes M., Becker C., Ivanov I. et al.* // *Gastroen-*

- terology. – 2009. – Vol. 136. – P. 257–267.
46. *Emamaullee J.* Inhibition of Th17 Cells Regulates Autoimmune Diabetes in NOD Mice / *Emamaullee J., Davis J., Merani S., Toso C., Elliott J., Thiesen A., Shapiro J.* // *Diabetes.* – 2009. – Vol. 58. – P. 1302–1311.
  47. *Spolski R.* IL-21 signaling is critical for the development of type I diabetes in the NOD mouse / *Spolski R., Kashyap M., Robinson C., Yu Z., Leonard W.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 16. – P. 14028–14033.
  48. *Deenick E.* Autoimmunity: IL-21 – a new player in Th17-cell differentiation / *Deenick E., Tangye S.* // *Immunol. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 85. – P. 503–505.
  49. *Nurieva R.* Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells / *Nurieva R., Yang X., Martinez G. et al.* // *Nature.* – 2007. – Vol. 448. – P. 480–483.
  50. *Liang S.* IL-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides / *Liang S., Tan X., Luxenberg D. et al.* // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 203. – P. 2271–2279.
  51. *Zenewicz L.* IL-22 but not IL-17 provides protection to hepatocytes during acute liver inflammation / *Zenewicz L., Vancopoulos G., Velazuela D. et al.* // *Immunity.* – 2007. – Vol. 27. – P. 647–659.
  52. *Scriba T.* Distinct, specific IL-17- and IL-22-producing CD4<sup>+</sup> T cell subsets contribute to the human anti-mycobacterial immune response / *Scriba T., Kalsdorf B., Abrahams D. et al.* // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 180. – P. 1962–1970.
  53. *Honkanen J.* IL-17 Immunity in Human Type 1 Diabetes / *Honkanen J., Nieminen J., Gao R. et al.* // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 183. – P. 4432–4439.
  54. *Bradshaw E.* Monocytes from patients with type 1 diabetes spontaneously secrete proinflammatory cytokines inducing Th17 cells / *Bradshaw E., Raddassi K., Elyaman W. et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105. – P. 14028–14033.
  55. *Van den Brandt J.* Type 1 diabetes in BioBreeding rats is critically linked to an imbalance between Th17 and regulatory T cells and an altered TCR repertoire / *Van den Brandt J., Fischer H., Walter L. et al.* // *J. Immunol.* – 2010. – Vol. 185. – P. 2285–2294.
  56. *Betelli E.* Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells / *Betelli E., Carrier Y., Gao W. et al.* // *Nature.* – 2006. – Vol. 441. – P. 235–238.
  57. *Weaver C.* Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties / *Weaver C., Harrington L., Mangan P., Gavrieli M., Murphy K.* // *Immunity.* – 2006. – Vol. 24. – P. 677–688.
  58. *Jietang M.* T Helper 17 Cells Interplay with CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs in Regulation of Inflammations and Autoimmune Diseases / *Jietang M., Hong W., Xiao-Feng Y.* // *Front. Biosci.* – 2010. – Vol. 15. – P. 986–1006.
  59. *Damsker J.* Th1 and Th17 cells. Adversaries and collaborators / *Damsker J., Hansen A., Caspi R.* // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1. – P. 211–221.
  60. *Martin-Orozco N.* Th17 cells promote pancreatic inflammation but only induce diabetes efficiently in lymphopenic hosts after conversion into Th1 cells / *Martin-Orozco N., Chung Y., Chang S., Wang Y., Dong C.* // *Eur. J. Immunol.* – 2009. – Vol. 39. – P. 216–224.

**Сведения об авторах:**

Камышный А.М., д. мед. н., доцент, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ЗГМУ.

Гриневич И.В., ассистент каф. акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ЗГМУ.

Деген А.С., ассистент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ЗГМУ.

Топол И.А., ассистент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ЗГМУ.

Буга Т.М., аспирант каф. нормальной физиологии ЗГМУ.

**Адрес для переписки:**

Камышный Александр Михайлович. 69035, г. Запорожье, пр-т Маяковского, 26, ЗГМУ, каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии.

Тел.: (0612) 34 26 31, (066) 926 63 08.