

Российская академия медицинских наук
Сибирское отделение
ГУ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ

**ИММУНОПАТОГЕНЕЗ И ИММУНОТЕРАПИЯ
ОСНОВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА:
ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИКЕ**

Материалы 7-й отчетной конференции
ГУ НИИКИ СО РАМН

Под редакцией:
Директора ГУ НИИКИ СО РАМН
академика РАМН, профессора В. А. Козлова

Scientific report 2006
Institute of Clinical Immunology
Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences

Новосибирск
2006 г.

РОЛЬ TH1/TH2 БАЛАНСА В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ: ЭФФЕКТЫ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Кудаева О.Т.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

В настоящее время не вызывает сомнений, что важную роль в детерминации индивидуальных иммунных реакций играют эпигенетические механизмы, то есть долгосрочные, но обратимые изменения активности генов в процессе индивидуального развития организма, не связанные с изменением нуклеотидной последовательности ДНК. Благодаря эпигенетической регуляции осуществляется целенаправленное сопряжение реакций иммунной системы с адаптационными процессами целостного организма [Vercelli D., 2004; Reiner S.L., 2005; Wilson C.V. et al., 2005].

Интенсивное исследование открытых в 1986 году среди мышинных CD4⁺ Т-клеток, а затем среди Т-лимфоцитов человека двух субпопуляций Т-хелперов, которые продуцируют разные комплексы цитокинов и оказывают оппозитное влияние на основные звенья иммунного ответа [Mosmann T.R. et al., 1986; Del Prete G.F. et al., 1991], привело к формированию концепции поляризации иммунного ответа, рассматривающей баланс Th1/Th2 в качестве базисного параметра регуляции иммунных процессов. [Mosmann T.R., Sad S., 1996; Allen J.E., Maizels R.M., 1997; O'Gor D. et al., 2003]. Установлено, что судьба развивающейся Th-клетки зависит от доминирования специфических транскрипционных факторов Th1- или Th2-дифференцировки, устанавливаемого комплексом внешних эпигенетических факторов [Glimcher L.H., Murphy K.M., 2000; Wilson C.V., Makarb K.W., 2002; Agnello D. et al., 2003]. В связи с этим выбор направления, по которому будут развиваться конкретные Th-клетки, находится под влиянием многочисленных факторов, связывающих реакции в иммунной системе с текущим состоянием целостного организма. Одним из процессов, в реализации которых Th1/Th2-баланс играет решающую роль, является реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) – иммунная реакция клеточного типа, развивающаяся при трансплантации зрелых Т-лимфоцитов неспособному к их отторжению хозяину в условиях тканевой несовместимости донора и реципиента [Шевелёв А.С., 1976]. До последнего времени было принято считать,

что острая РТПХ является преимущественно Th1-зависимым процессом, тогда как при хронической РТПХ происходит активация Th2-клеток донора [Krenger W., Ferrara J.L., 1996; Abdallah A.N. et al., 1997; Shustov A. et al., 2000].

Показано, что перенос лимфоцитов в системе DBA/2 → (C57Bl/6×DBA/2) F_1 вызывает у самок хроническую РТПХ, сопровождающуюся аутоиммунным расстройством – люпус-подобным гломерулонефритом. Индуцируя хроническую РТПХ в данной системе, мы обнаружили, что реакция может идти по двум направлениям, несмотря на генетическую идентичность животных (C57Bl/6×DBA/2) F_1 . Хотя у всех реципиентов развивается типичная хроническая РТПХ, о чём свидетельствуют спленомегалия и поликлональная активация В-лимфоцитов при отсутствии атрофии тимуса, аутоиммунный гломерулонефрит формируется лишь у 50–60% мышей (группа *lupus*), тогда как у остальных мышей отсутствуют выраженные поражения почек (группа *nonlupus*) [Кудаева О.Т. с соавт., 1993]. Дальнейшее изучение выявило главное различие между реципиентами – разное соотношение Th1/Th2-субпопуляций. О том, что реакция у *nonlupus*- и *lupus*-мышей идёт с доминирующим участием, соответственно, Th1- или Th2-субпопуляций, свидетельствуют следующие факты [Власов В.В. с соавт., 2002; Козлов В.А. с соавт., 2002; Кудаева О.Т. с соавт., 2005].

1. Нормальный уровень Th1-зависимых процессов у мышей *nonlupus* и сниженный – у *lupus*, показанный в опытах *in vivo* и *in vitro* (выраженность реакции ГЗТ и пролиферативный ответ на Т-клеточные митогены и аллоантигены в реакции MLC).

2. Хотя подавление гуморального иммунного ответа на Т-зависимый антиген наблюдается у всех реципиентов, ингибция в группе *nonlupus* значительно более сильная, чем в группе *lupus*.

3. Выраженный сдвиг в сторону продукции IgG2a, Th1-зависимого подкласса IgG, в случае *nonlupus*-реципиентов и в сторону IgG1, Th2-зависимого подкласса, у *lupus*-мышей.

4. Преимущественное развитие *nonlupus*- или *lupus*-варианта при стимуляции, соответственно, Th1- или Th2-субпопуляций во время индукции реакции.

Таким образом, несмотря на генетическую, половую, возрастную идентичность реципиентов, одинаковые условия содержания и стандартные условия переноса донорских клеток, развитие хронической

РТПХ в системе DBA/2 → (C57Bl/6×DBA/2) F_1 может идти по классическому Th2-зависимому или по ранее не описанному Th1-зависимому пути, что в конечном итоге приводит к формированию двух разных иммунопатологических состояний, соответственно, с иммунокомплексным гломерулонефритом или гуморальным иммунодефицитом на первом плане.

Известно, что Th1- и Th2-клетки обладают разной чувствительностью ко многим регуляторным факторам организма [Rook G.A.W., 1994; Piccini M.-P. et al., 1995; Elenkov I., 2000; 2004]. Разный уровень биологически активных молекул в организме реципиентов может приводить к преимущественной стимуляции Th1- или Th2-субпопуляций и, как следствие, направлять развитие иммунного процесса при хРТПХ по Th1- или Th2-зависимому пути. Хотя факторов, вызывающих такие отличия в балансе Th1/Th2, может быть множество, мы остановились на самых, на наш взгляд, очевидных в условиях лабораторного содержания животных: эндокринном статусе и двигательной активности животных. Анализ данных, полученных при изучении уровня кортикостерона и половых гормонов у реципиентов и влияния физических нагрузок на иммунные реакции организма, подтверждает возможность рассматривать эти факторы среди причин, обеспечивающих разное соотношение Th1/Th2 у генетически идентичных реципиентов.

Использованные в наших опытах экспериментальные животные представляли собой генетически однородную группу; трансплантируемые клетки были идентичны в каждом опыте для всех реципиентов; условия содержания до переноса клеток, процедура трансплантации клеток и дальнейшее содержание животных были постоянны и одинаковы. Тем не менее, в результате опытов мы получили два разных варианта течения реакции. Несомненно, всегда при проведении экспериментов, даже работая с генетически идентичными животными, несмотря на стандартные условия, мы получаем разброс результатов, который часто относят на счёт несовершенства методик или их проведения. По-видимому, на самом деле такая вариабельность данных нередко отражает реально существующий факт: несмотря на исходную генетическую идентичность, животные в процессе онтогенеза под действием различных факторов внешней среды приобретают стабильные отличающиеся признаки посредством эпигенетических механизмов [Jaenisch R., Bird A., 2003; Anway M.D. et al., 2005; Horsthemke B., Ludwig M., 2005; Raem M. et al., 2005; Wong A.H.C. et al., 2005].

Следовательно, характер иммунных реакций и их конечный исход не полностью предопределяются генотипом животного и параметрами непосредственного антигенного воздействия на его организм, но в значительной степени зависят от присущей каждому индивиду «эпигенетической составляющей», сложившейся в течение его предшествующей жизни. Таким образом, условия индивидуальной жизни особи формируют текущее стабильное состояние иммунной системы, внося коррективы в её интегральные характеристики, определяемые генотипом. Наряду с генетической гетерогенностью естественных популяций эта основанная на эпигенетических механизмах изменчивость иммунных параметров обуславливает видимое разнообразие индивидуальных реакций на антигенные стимулы, создавая определенную восприимчивость к инфекционным агентам и предрасположенность к развитию различных заболеваний, в патогенезе которых значимую роль играет функциональная активность клеток иммунной системы.

THE ROLE OF TH1/TH2 BALANCE IN PHYSIOLOGICAL REGULATION OF IMMUNE REACTIONS: EFFECTS OF EPIGENETIC INFLUENCES

Kudaeva O.T.

**State Research Institute of Clinical Immunology SB RAMS,
Novosibirsk, Russia**

Now it isn't doubted that epigenetic mechanisms, which are long-term but reversible changes of gene activity not connected with DNA nucleotide sequence changes during ontogenesis play the important role in determination of individual immune reactions. A purposeful mating of immune reactions with adaptive processes of whole organism is achieved by epigenetic regulation [Vercelli D., 2004; Reiner S.L., 2005; Wilson C.B. et al., 2005].

Intensive research of two Th-subpopulations producing different cytokine sets and exerting opposing influence upon basic links of immune response described among murine CD4⁺T-cells in 1986 and then among human T-lymphocytes [Mosmann T.R. et al., 1986; Del Prete G.F. et al., 1991], gave birth to conception of immune polarization reasoning that Th1/Th2 balance is the basic parameter of regulation of immune processes [Mosmann T.R., Sad S., 1996; Allen J.E., Maizels R.M., 1997; O'Gor D. et al., 2003]. It is found that fortune of developing Th-cell depends on outperforming of specific Th1 or Th2 factors of transcription that is determined by a set of external

epigenetic factors [Glimcher L.H., Murphy K.M., 2000; Wilson C.B., Makarb K.W., 2002; Agnello D. et al., 2003]. In this connection choosing of each Th-cell differential way is subjected to influence of abundant factors connecting immune reactions with the current condition of a whole organism. The graft-versus-host disease (GvH disease) is among the processes in which Th1/Th2 balance plays the pivotal role. GvH disease is a cellular immune reaction developed by transplanting mature T-lymphocytes to an immunocompromised host under host-recipient tissue incompatibility [Sheveljov A.S., 1976]. Until recently it was customary to assume that acute GvH disease is Th1-dependent process largely whereas chronic GvH disease is Th2-dependent process [Krenger W., Ferrara J.L., 1996; Abdallah A.N. et al., 1997; Shustov A. et al., 2000].

It has been shown that transfer of lymphocytes in system DBA/2 → (C57Bl/6×DBA/2)F₁ leads to development of a chronic GvH disease in female mice accompanied by an autoimmune disorder – *lupus*-like glomerulonephritis. In the course of chronic GvH induction, according to the scheme outlined above, we have discovered that reaction can proceed in two directions despite genetic homogeneity of (C57Bl/6×DBA/2)F₁. Although the typical chronic GvH disease develops in all recipients, evidenced by increased spleen cell number and polyclonal B-cell activation in the absence of pronounced thymus destruction, the autoimmune glomerulonephritis develops in 50–60 % mice (a *lupus*-group), as there is the absence of marked disorders of kidney, observed in the rest ones (*nonlupus*-group) [Kudaeva O.T. et al., 1993]. The further study has revealed that different Th1/Th2 ratio is the main distinction between recipients. The following points indicate that Th1- or Th2-subpopulation is predominant in *nonlupus*- or *lupus*-mice respectively [Vlasov V.V. et al., 2002; Kozlov V.A. et al., 2002; Kudaeva O.T. et al., 2005].

1. There is a normal level of Th1-dependent processes in *nonlupus*-mice and a reduced level of ones in *lupus*-mice, demonstrated by in vivo and in vitro experiments (delayed type hypersensitivity and the proliferative response to T-cell mitogens and alloantigens in MLC reaction).

2. There is a reduced humoral immune response to T-dependent antigen in all recipients however *nonlupus*-group is characterized by considerably more strong inhibition of antibody production compared with the *lupus*-like ones.

3. The serum IgG1/IgG2a ratio is offset to the Th1-dependent IgG2a in *nonlupus*-recipients and to Th2-dependent IgG1 in *lupus*-recipients.

4. The stimulation of Th1- or Th2-subpopulation by specific agents early in the GvH reaction initiates predominantly the development of *nonlupus*- or *lupus*-variant respectively.

Thus, in spite of the genetic, sexual and age uniformity of recipients, the same living conditions and the standard transfer procedure, the trend of the

chronic GVH disease can proceed in the classical Th2- or early not described Th1-dependent pathway in the DBA/2(C57Bl/6×DBA/2) F_1 system that eventually causes the development of two variants of immunopathology with the main characteristic of immunocomplex glomerulonephritis or humoral immunodeficiency respectively.

Th1 and Th2 activation has been shown to be affected in antagonist manner by numerous regulatory factors [Rook G.A.W., 1994; Piccini M.-P. et al., 1995; Elenkov I., 2000; 2004]. The dissimilar level of biologically active molecules in recipient's organism may cause predominantly stimulation of Th1- or Th2-cells and as a consequence direct the GvH disease development for Th1- or Th2-dependent way. Although there are abundant factors of influence on the Th1/Th2 balance, we have studied the most obvious ones for animals living in laboratory conditions: endocrine status and moving activity. Analysis of data concerning the corticosteron and sex hormones level and influence of physical training on immune reactions is evidence in favor of the possibility that these factors are among reasons for different Th1/Th2 ratio in recipients with identical genotypes.

Experimental animals were a genetic homogenic group; transplanted cells were identical for all recipients; the animal keeping conditions and transplanting procedure were constant and the same for all mice in our work. Nonetheless there are two different variants of GvH disease in our experiments. It is undoubtedly that even when experimental animals have identical genotype, there is always the dispersion of results that is considered as methodic imperfection. It seems likely that such dispersion is rather common representative in fact of the really existing situation: in spite of initial genetic identity animals are taking some stable distinctive properties in response to environmental influences by epigenetic mechanisms during ontogenesis [Jaenisch R., Bird A., 2003; Anway M.D. et al., 2005; Horsthemke B., Ludwig M., 2005; Raem M. et al., 2005; Wong A.H.C. et al., 2005].

Consequently, the character of immune reactions and their final effects are not defined by the animal genotype and parameters of antigenic action on an organism only but are determined by its «epigenetic component» taking during ontogenesis. In such a manner individual living conditions form the current stable state of immune system modifying immune characteristics of individual determined by genotype. Accompanied by genetic heterogeneity of natural populations these variations of immune parameters, based on epigenetic mechanisms, provide the observed diversity of individual responses to antigenic stimuli and form the perceptivity to infections and different diseases in developing of which functional activity of immune cells plays an appreciable role.