

СЕМАФОРИН 3А — НОВЫЙ ВНУТРИТИМУСНЫЙ ИНГИБИТОР*К.В. Рутто¹, Е.П. Киселева^{1,2}*¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург**SEMAPHORIN 3A — A NEW INTRATHYMIC SUPPRESSOR FACTOR***K.V. Rutto¹, E.P. Kisseleva^{1,2}*¹Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;²North-Western Federal Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

Семафорины были первоначально описаны как молекулы, направляющие рост аксонов в течение развития нервной системы. Однако появились данные о том, что многие семафорины, называемые «иммунными семафоринами», также вовлечены в регуляцию различных фаз иммунного ответа. Одним из таких факторов является семафорин 3А — представитель семафоринов 3 класса, которые являются секретлируемыми молекулами у позвоночных. Существует множество механизмов регуляции с помощью семафорина 3А. Один из них — это подавление активности периферических Т-лимфоцитов, вследствие чего семафорин 3А рассматривается в качестве иммуносупрессорного фактора. Но семафорин 3А также экспрессируется и в тимусе, но его функция там остается неясной. Здесь обсуждаются новые данные об иммуносупрессивной роли этого фактора в отношении тимоцитов и эпителиальных клеток тимуса, полученные *in vitro*. Поскольку семафорин 3А участвует и в физиологической иммунорегуляции, и в патогенезе различных заболеваний, таких как аутоиммунные, atopические, онкологические, этот фактор является перспективным для его дальнейшего изучения и использования в качестве лечебного препарата.

Ключевые слова: семафорин 3А; Т-лимфоциты; тимоциты; эпителиальные клетки; пролиферация; адгезия.

Semaphorins were originally identified as axon guidance factors involved in the development of the neuronal system. However, accumulating evidence indicates that several semaphorins, so-called ‘immune semaphorins’, are also involved in various phases of immune responses. One of such factors is semaphorin 3A — a member of class 3 semaphorins, which are secretory molecules in vertebrates. There are multiple mechanisms involved in the process of semaphorin 3A-mediated regulation. One of them is down-regulation of peripheral T-cell activity in consequence of which semaphorin 3A is considered as an immunosuppressive factor. But semaphorin 3A is also expressed in the thymus while its function there remains obscure. Here are discussed new data on immunosuppressive function of this factor towards thymocytes and thymic epithelial cells, obtained *in vitro*. Because it is involved both in physiological immunoregulation and in the pathogenesis of many autoimmune, atopic, and malignant diseases, semaphorin 3A turns to be a promising therapeutic tool to be studied and applied in these diseases.

Keywords: semaphorin 3A; T-lymphocytes; thymus; epithelial cells; proliferation; adhesion.

Семафорины являются факторами, регулирующими направление роста аксонов [8]. В настоящее время насчитывается около 30 членов семейства семафоринов, которые поделены на 8 классов в зависимости от их строения. В основном семафорины представляют собой мембраносвязанные гликопротеины, но есть и секретлируемые; у позвоночных — это семафорины 3 класса. Этот класс семафоринов является наиболее многочисленным (А-Н), но основным из них считается — семафорин 3А. В 1990 году из мозга эмбриона цыпленка был выделен белок, который вызывал коллапс конусов роста нейронов в культуре; он получил название коллапсин-1, а позднее был переименован в семафорин 3А.

Первоначально семафорин 3А рассматривался в основном как нейрональный фактор, однако через некоторое время было выявлено также и его иммунорегуляторное действие, что

указывает на общность нервной и иммунной систем. В периферической иммунной системе экспрессия данного фактора обнаружена в активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах и дендритных клетках. Незрелые дендритные клетки слабо экспрессируют семафорин 3А, но при их активации с помощью TNF- α /IL-1 β экспрессия усиливается [5].

Кроме того, оказалось, что он также экспрессируется в сердечно-сосудистой и костной системах. Семафорин 3А является анти-ангиогенным фактором: он вызывает апоптоз эндотелиальных клеток, ингибирует их пролиферацию, адгезию к компонентам внеклеточного матрикса и миграцию. Благодаря своим анти-ангиогенным свойствам, семафорин 3А может использоваться в качестве потенциального противоопухолевого фактора [9]. При этом, он также может оказывать негативное воздействие

непосредственно и на сами опухолевые клетки, что показано при некоторых типах рака, и даже стимулировать противоопухолевую активность макрофагов. Эти факты указывают на перспективность дальнейших исследований семафорина 3А, как средства для борьбы с раком.

С самого начала основными эффектами семафорина 3А в отношении развивающихся клеток нервной системы считались хеморепеллентный и индукция апоптоза. В отношении клеток иммунной системы семафорин 3А рассматривали в основном как фактор, ингибирующий продукцию цитокинов и пролиферативную активность периферических Т-лимфоцитов [5], а также миграцию моноцитов человека. Вследствие этого сформировалось представление о том, что этот фактор является иммуносупрессорным и противовоспалительным, и играет важную роль в патогенезе аутоиммунных и аллергических заболеваний [10].

Так, было показано, что семафорин 3А экспрессируется Т- и В-регуляторными клетками, и его экспрессия в этих клетках также, как и уровень в циркуляции существенно снижены при ревматоидном артрите, системной красной волчанке и склеродермии; причем тяжесть заболевания коррелирует со снижением содержания семафорина 3А в сыворотке крови [10]. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что введение семафорина 3А мышам с ревматоидным артритом ослабляет развитие заболевания за счет увеличения содержания IL-10 и снижения IL-17 в сыворотке крови. В другой работе — рекомбинантный семафорин 3А улучшал течение атопического дерматита [8]. На основании приведенных данных семафорин 3А рассматривается многими авторами в качестве потенциального средства для лечения аутоиммунных и аллергических заболеваний.

Помимо клеток периферической иммунной системы экспрессия семафорина 3А была также обнаружена и в центральном органе иммуногенеза — тимусе. Было показано, что этот фактор синтезируют тимоциты и эпителиальные клетки тимуса человека [6]. Однако функции семафорина 3А в тимусе остаются недостаточно изученными, поскольку все работы по его исследованию проводились только *in vitro*. Главным образом, оценивали действие семафорина 3А на миграцию и адгезию клеток тимуса.

Прежде всего, следует упомянуть, что хеморепеллентный эффект семафорина 3А, хорошо известный в отношении аксонов, был воспроизведен на тимоцитах человека [6]. После этого исследователи впервые обратили внимание на то, что кроме хемоаттракции существует также и хеморепеллентия клеток иммунной системы. Если миграцию тимоцитов индуцировали с помощью хемокина SDF-1, семафорин 3А оказывал ингибирующий эффект [7], снижая

экспрессию рецептора CXCR4 в мигрирующих клетках [4]. В отношении адгезии семафорин 3А также оказывал негативное действие, подавляя адгезию тимоцитов человека к эпителиальным клеткам тимуса [6] и тимоцитов мыши к субстрату [7]. При этом семафорин 3А оказывал влияние на цитоскелет, индуцируя образование филоподий и накопление фибриллярного актина в наружном слое цитоплазмы тимоцитов [7].

В указанных работах семафорин 3А рассматривался как регулятор процессов адгезии/деадгезии тимоцитов и миграции. В последнем случае — как функциональный антагонист хемокина SDF-1 [4, 6].

В наших исследованиях удалось получить новые экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что нейрональный фактор семафорин 3А оказывает иммуносупрессорное влияние на клетки тимуса. Было показано, что данный фактор ингибирует пролиферативную активность тимоцитов мыши *in vitro* [3]. Кроме того, было установлено, что этот фактор может оказывать влияние не только на тимоциты, но и на эпителиальные клетки. С помощью метода обратной транскрипции с последующей ПЦР, а также метода проточной цитометрии было показано, что клетки линий кортикального cTEC1-2 и медуллярного mTEC3-10 эпителия тимуса — PlexA1, PlexA3, Nrp-1, что позволяет считать их мишенями действия семафорина 3А.

Было впервые показано, что данный фактор ингибирует пролиферацию эпителиальных клеток тимуса [2]. Также получены данные о способности семафорина 3А отменять стимулирующий эффект KGF и HGF на пролиферацию эпителиальных клеток тимуса, что позволяет рассматривать семафорин 3А в качестве потенциального функционального антагониста HGF и KGF в организме [2]. Эти данные могут быть учтены при разработке новых тактик по восстановлению тимуса с применением данных ростовых факторов.

Для исследования адгезии тимоцитов нами была разработана модель с применением клеточных линий эпителия тимуса мыши cTEC1-2 и mTEC3-10. С использованием данной модели мы подтвердили данные других исследователей об ингибирующем действии семафорина 3А на адгезию тимоцитов, полученные на клетках человека, а также уточнили механизм действия этого фактора. Показано, что именно тимоциты, а не эпителиальные клетки, являются мишенью действия семафорина 3А в процессе адгезии, и что ингибирующий эффект данного фактора опосредован через Nrp-1 на тимоцитах [2].

На основе данных об ингибирующей роли семафорина 3А впервые была сформулирована гипотеза о том, что данный фактор может являться индуктором инволюции тимуса при росте перевиваемой опухоли [1]. Однако по

совокупности проведенных экспериментов нам не удалось получить данных, подтверждающих участие семафорина 3А в инволюции тимуса при росте гепатомы 22а, поскольку не было выявлено ни повышения содержания этого фактора в циркуляции или в строме тимуса, ни усиления экспрессии рецепторов семафорина 3А (Nrp-1, PlexA1) на тимоцитах.

Семафорин 3А является многофункциональным цитокином и рассматривается в настоя-

щее время в качестве потенциального средства для лечения различных заболеваний человека. Полученные нами результаты об ингибирующем действии семафорина 3А в отношении клеток тимуса в совокупности с данными других авторов могут служить основой для дальнейшего изучения механизма действия этого фактора в организме и учитываться при разработке стратегий по применению семафорина 3А в качестве лечебного препарата.

Литература

1. Киселева Е.П., Лямина И.В., Цвиркун С.А., и др. Изучение роли семафорина 3А в тимусе в норме и при опухолевом росте // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13. – № 4. – С. 42–48. [Kisseleva EP, Lyamina IV, Tzvirkun SA, et al. Investigation of the role of semaphorin 3A in the thymus at normal conditions and tumor growth. *Medical Academic Journal*. 2013;13(4):42-48. (In Russ.)]
2. Рутто К.В., Овсяков К.С., Кудрявцев И.В., Киселева Е.П. Семафорин 3А негативно влияет на пролиферацию эпителиальных клеток тимуса мышей *in vitro* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166. – № 9. – С. 310–314. [Rutto KV, Ovsyukov KS, Kudryavtsev IV, Kiseleva EP. Semaphorin 3A negatively affects proliferation of mouse thymus epithelial cells *in vitro*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;166:339-343. (In Russ.)]
3. Рутто К.В., Старикова Э.А., Людино В.И., Киселева Е.П. Семафорин 3А ингибирует функции тимоцитов // Российский иммунологический журнал. – 2017. – Т. 11 (20). – № 3. – С. 487–489. [Rutto KV, Starikova EA, Lioudyno VI, Kisseleva EP. Semaphorin 3A inhibits thymocyte functions. *Russian Journal of Immunology*. 2017;11(20)(3):487-489. (In Russ.)]
4. Garcia F, Lepelletier Y, Smaniotto S, et al. Inhibitory effect of semaphorin-3A, a known axon guidance molecule, in the human thymocyte migration induced by CXCL12. *J. Leuk. Biol.* 2012;91:7-13.
5. Lepelletier Y, Moura IC, Hadj-Slimane R, et al. Immunosuppressive role of semaphorin-3A on T cell proliferation is mediated by inhibition of actin cytoskeleton reorganization. *Eur. J. Immunol.* 2006;36(7):1782-1793.
6. Lepelletier Y, Smaniotto S, Hadj-Slimane R, et al. Control of human thymocyte migration by neuropilin-1/semaphorin-3A-mediated interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007;104:5545-5550.
7. Lins MP, Silva ECO, Silva GR, et al. Association between biomechanical alterations and migratory ability of semaphorin-3A-treated thymocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 2018;1862(4):816-824.
8. Takamatsu H, Kumanogoh A. Diverse role for semaphorin — plexin signaling in the immune system. *Trends Immunol.* 2012;33:127-135.
9. Toledano S, Nir-Zvi I, Engelman R, et al. Class-3 semaphorins and their receptors: potent multifunctional modulators of tumor progression. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(3):e556.
10. Vadasz Z, Toubi E. Semaphorin 3A: A potential therapeutic tool in immune-mediated diseases. *Eur. J. Rheumatol.* 2018;5(1):58-61.