

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2014
УДК 616.9-097

**БИОЛОГИЯ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА И ИХ РОЛЬ
В ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ**

В.В. Цветков, Т.В. Сологуб, И.И. Токин

ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ, г. Санкт-Петербург

Дендритные клетки человека представляют собой гетерогенную популяцию профессиональных антигенпрезентирующих клеток. Известно, что они играют важнейшую роль в регуляции как врожденного, так и приобретенного иммунного ответа. Функциональная активность той или иной субпопуляции дендритных клеток напрямую зависит от того, в каких условиях и под действием каких сигналов микроокружения происходило развитие этой субпопуляции, ее дифференцировка и созревание. Особый интерес представляет собой изучение роли дендритных клеток в патогенезе различных инфекционных заболеваний человека.

Ключевые слова: дендритные клетки, антигенпрезентирующие клетки, иммунитет, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны.

Дендритные клетки (ДК) впервые были описаны Паулем Лангергансом в 1868 году как особая популяция отростчатых клеток кожи человека [12]. Спустя столетие, в 1973 году Штайнман и Кон обнаружили клетки с характерной морфологией в селезенке мыши и впервые применили термин «дендритная клетка» [20]. В последующие десятилетия большой интерес к изучению ДК был вызван их уникальными способностями к захвату и презентации антигенных структур, контролю активации и пролиферации других иммунокомпетентных клеток, подобно уже известным антигенпрезентирующим клеткам (АПК): моноцитам, макрофагам и В-лимфоцитам. Были получены первые доказательства того, что именно ДК играют важнейшую роль в реакциях отторжения трансплантата и в регуляции как врожденного, так и приобретенного иммунного ответа [7].

ДК человека представляют собой гетерогенную популяцию профессиональных АПК. На различных стадиях дифференцировки и созревания, характерные фенотипы ДК могут быть обнаружены: в

периферической крови, в эпидермисе (клетки Лангерганса), в дерме (дермальные ДК), в большинстве внутренних органов, например, в интерстициальной ткани печени, почек, сердца (интерстициальные ДК), в слизистых оболочках, выстилающих ротовую полость, кишечный тракт и дыхательные пути, в лимфоидной ткани периферических лимфатических узлов, селезенки, вилочковой железы [10].

В периферической крови человека выделяют две субпопуляции ДК, имеющих различные фенотипы, функциональные особенности и особенности развития: плазмацитоидные и миелоидные ДК [8, 23]. Эти две субпопуляции характеризуются отсутствием поверхностных маркеров других клеточных линий и имеют фенотипы CD11c- CD2- CD13- CD33(DIM) HLA-DR++ и CD11c+ CD2+ CD13+ CD33(Bright) HLA-DR+++ , соответственно [23].

Все ДК человека являются лейкоцитами и имеют костномозговое происхождение из общей гемопоэтической стволовой клетки [11]. Миелоидные ДК имеют миелоидное происхождение и типичную клеточ-

ную морфологию с многочисленными, вуалеподобными цитоплазматическими выступами. Плазмацитоподобные ДК имеют лимфоидное происхождение и по своей морфологии очень похожи на секреторные лимфоциты и плазматические клетки.

Предшественником миелоидной ДК при соответствующих условиях *in vitro* может стать как CD34+ гемопоэтическая стволовая клетка, выделенная из периферической крови, пуповинной крови или вещества костного мозга [6], так и моноцит периферической крови [17]. Миелоидные ДК периферической крови представляют собой преимущественно незрелые формы ДК, характеризующиеся низким уровнем экспрессии костимуляторных молекул (CD80, CD86, CD40), адгезивных молекул (CD54/ICAM-1), молекул главного комплекса гистосовместимости 1 и 2 классов (МНС-1, МНС-2), отсутствием экспрессии CD83. Однако при культивировании незрелых ДК в соответствующих условиях *in vitro* можно получить, так называемые, зрелые ДК, на поверхности которых появляется маркер созревания (CD83) и значительно повышается уровень экспрессии всех костимуляторных и адгезивных молекул [23]. Миелоидные ДК также экспрессируют на своей поверхности хемокиновые рецепторы: CXCR4 (SDF-1 рецептор), CCR1 и CCR5 и PAF рецептор, которые ответственны за миграцию по направлению к следующим хемокинам: MIP-1 α , MIP-1 β , MIP-5, MIP-3 и SDF-1.

Миелоидные ДК, полученные *in vitro* из CD34+ гемопоэтических стволовых клеток, экспрессируют также и CCR6, что делает возможным миграцию по направлению к MIP-3 α [3]. Характерные изменения в экспрессии хемокиновых рецепторов происходят при созревании ДК. Эти изменения характеризуются снижением уровня экспрессии CCR1 и CCR5 и появлением на поверхности ДК CCR7, рецептора хемокинов MIP-3 β и SLC, продуцируемых преимущественно лимфоидными тканями. На поверхности миелоидных ДК представлены

несколько групп рецепторов для связывания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов: Toll-like рецепторы (TLRs1-6/CD281-286 и TLR8/CD288) [13], рецепторы лектинов С-типа, макрофагальный маннозосвязывающий рецептор (MMR:CD206), DEC-205 (CD205), DC-SIGN (CD209), BDCA-2, dectin-1. Клетки Лангерганса экспрессируют только DEC-205 (CD205), а дермальные и интерстициальные ДК – DEC-205 (CD205) и DC-SIGN (CD209) [5].

Плазмацитоподобные дендритные клетки морфологически сходны с В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Более 40 лет назад в паракортикальной области лимфатических узлов были обнаружены ранее не распознанные клетки, похожие на плазматические и в тоже время экспрессирующие на своей поверхности некоторые маркеры Т-клеток и моноцитов. Популяция похожих клеток была обнаружена и в периферической крови человека, причем было отмечено, что эти клетки обладают уникальной способностью к секреции большого количества интерферонов первого типа в ответ на присутствие в среде вирусов [14]. Фенотипически эти клетки характеризуются отсутствием экспрессии миелоидных маркеров (CD13, CD33) и CD11c. На своей клеточной поверхности они экспрессируют следующие молекулы: CD4, CD45RA, BDCA-2/CD303 и BDCA-4/CD304, молекулы главного комплекса гистосовместимости 2 класса (МНС-2), костимуляторные молекулы (CD80, CD86, CD40) и большое количество рецепторов к интерлейкину 3 (IL-3R α /CD123) [23]. Только на поверхности зрелых ДК появляется маркер созревания CD83. В отличие от миелоидных ДК, плазмацитоподобные ДК характеризуются низким уровнем экспрессии рецепторов к IgG Fc γ R2 (CD32) и практически неопределяемым уровнем экспрессии Fc γ R1 (CD64). Из всех известных субпопуляций ДК только плазмацитоподобные ДК имеют Toll-like рецепторы 7 и 9 типа [19].

Таблица 1

Популяции ДК периферической крови человека

	Миелоидные ДК: CD11c(high) CD1a+ BDCA-1+	Миелоидные ДК: CD11c(low) CD1a- BDCA-3+	Плазматоидные ДК
Происхождение	миелоидное	миелоидное	лимфоидное
CD1a	++	-	-
CD2	++	-	-
CD4	++	++	++
CD8	-	-	-
CD11b	+	-	-
CD11c	+++	++	-
CD13	++	++	-
CD32	++	-	-
CD33	++	+	-
CD45RA	-	-	++
CD45RO	+	+	-
CD64	+	-	-
CD116	++	++	-
CD123	++	вар.	+++
BDCA-1	++	-	-
BDCA-2	-	-	++
BDCA-3	-	++	-
BDCA-4	-	-	++
CD40	+	+	-
CD80	+	+	+
CD86	+	+	-
МНС-2	+++	+++	++
МНС-1	+	+	+

Фенотипическая гетерогенность популяций ДК организма человека ассоциирована с множеством физиологических и патофизиологических процессов, в которых принимают участие эти клетки. Функциональные способности той или иной субпопуляции ДК напрямую зависят от того, в каких условиях и под действием каких сигналов микроокружения происходило развитие этой субпопуляции, ее дифференцировка и созревание. Реализация генетически обусловленной программы формирования конкретного фенотипа ДК происходит под действием сигналов микроокружения путем дифференцировки менее специализированной клетки в более специализированную. Все ДК человека имеют костномозговое происхождение из общей гемопоэтической стволовой клетки [11], однако возможно несколько путей дифференцировки. В многочисленных экспериментах *in vitro* было показано, что под действием TNF (α или β) и IL-3 или GM-CSF [6], c-kit-ligand, Flt-3-L различные субпопуляции миелоидных ДК могут быть получены *in vitro* из CD34+ гемопоэтических стволовых клеток, изолированных из пуповинной крови или из пула мононуклеарных клеток костного мозга. *In vitro* большое количество миелоидных ДК может быть получено также и путем дифференцировки из моноцитов периферической крови человека под действием GM-CSF и IL-4 [17]. На сегодняшний день известны способы получения небольшого количества ДК плазмацитоидного ряда *in vitro*. Основными необходимыми компонентами для получения плазмацитоидных ДК из CD34+ гемопоэтических стволовых клеток *in vitro* является fms-like tyrosine kinase 3 ligand (Flt3-L) в сочетании с тромбопоэтином [9].

В ряде исследований была изучена роль некоторых других молекул, способных влиять на дифференцировку ДК. Так было отмечено, что IL-3 способствует выживанию всех популяций ДК, в то время, когда GM-CSF переключает дифференцировку преимущественно в сторону ДК плазмацитоидного ряда. IL-10 *in vitro* предупреждает дифференцировку моноцитов в ДК, смещая равновесие в сторону обра-

зования макрофаг-подобных клеток. M-CSF и IL-6 блокируют в свою очередь дифференцировку CD14+ предшественников ДК, но не CD1a+ предшественников, и смещают равновесие в сторону образования из них макрофаг-подобных клеток.

Незрелые ДК характеризуются отсутствием характерных выростов цитоплазмы, а также рядом фенотипических особенностей: 1) отсутствием на поверхности ДК маркера созревания (CD83); 2) низким уровнем экспрессии костимуляторных молекул (CD80, CD86, CD40); 3) низким уровнем экспрессии адгезивных молекул (CD54/ICAM-1); 4) низким уровнем экспрессии и преимущественно внутриклеточной локализацией молекул главного комплекса гистосовместимости 1 и 2 классов (MHC-1, MHC-2).

Созревание дендритных клеток *in vivo* является результатом: 1) контакта с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами; 2) контакта с провоспалительными цитокинами; 3) CD40/CD40L взаимодействия; 4) активации сигнального пути от Fc-рецепторов; 5) контакта с компонентами разрушенных клеток: нуклеотидами, белками теплового шока (gp96, Hsp90, Hsp70). Процесс созревания ДК сопровождается рядом морфологических, фенотипических и функциональных изменений: 1) происходит потеря адгезивных структур и реорганизация цитоскелета; 2) увеличивается мобильность ДК; 3) повышаются уровни экспрессии CD83, костимуляторных молекул (CD80, CD86, CD40) и MHC 1-2 классов; 4) происходит смена хемокиновых рецепторов с CCR1 и CCR5 на CCR7; 5) ДК теряют способность к эндоцитозу.

Процессы дифференцировки и созревания ДК тесно связаны с конкретной локализацией этих клеток в организме. ДК считаются профессиональными клетками мигрантами, способными к смене локализации в течение жизненного цикла. Так предшественники ДК мигрируют из периферической крови в нелимфоидные ткани, где интенсивно захватывают различные антигены и принимают сигналы опасности от микроокружения. Затем по-

ка еще незрелые ДК по афферентным лимфатическим путям или через кровь мигрируют в регионарные лимфатические узлы или селезенку. В процессе миграции происходит окончательное созревание ДК и формируется их способность представлять антигенные участки другим иммунокомпетентным клеткам [7].

ДК, полученные *in vitro* из моноцитов или CD34+ гемопоэтических стволовых клеток, способны к миграции в ответ на формируемые пептиды (fMLP), липиды (тромбоцит активирующий фактор, PAF), продукты каскада комплемента (C5a) и ряд хемокинов: MIP-1 α , MIP-1 β , MIP-5, MIP-3 и SDF-1 [16]. Все эти агенты в большом количестве продуцируются в очаге воспаления или инфекции, что способствует миграции в этот очаг незрелых ДК. Клетки Лангерганса экспрессируют на своей поверхности также хемокиновый рецептор CCR6 и привлекаются в эпидермис под действием специфического лиганда CCL20 (MIP-3 α). Характерные изменения в экспрессии хемокиновых рецепторов происходят при созревании ДК и проявляются снижением уровня экспрессии CCR1 и CCR5 и появлением на поверхности ДК CCR7, рецептора хемокинов MIP-3 β , CCL21/SLC (хемокин эпителиальных клеток лимфатических сосудов вторичных лимфоидных органов) и CCL19/ELC (хемокин, экспрессированный в Т-клеточных областях вторичных лимфоидных органов), что способствует миграции зрелых ДК в регионарные лимфатические узлы или селезенку. Важную роль в миграции клеток Лангерганса играет также остеоопонтин, фосфопротейн паракортикальной Т-клеточной зоны лимфатических узлов, за счет взаимодействия с CD44 и интегрином на поверхности ДК.

Незрелые ДК способны эффективно захватывать антигены посредством фагоцитоза и макропиноцитоза (в зависимости от размера и характера частицы) [24]. С помощью фагоцитоза ДК поглощают крупные частицы (более 1 мкм): микроорганизмы, апоптотические и некротические клетки. Индукция фагоцитоза про-

исходит при взаимодействии патогенов или иммунных комплексов с рецепторами на поверхности ДК. Макропиноцитоз, в отличие от фагоцитоза, протекает постоянно и позволяет ДК неспецифически захватывать большое количество окружающей жидкости, что сопровождается колебаниями цитоплазматической мембраны под действием ростовых факторов. Активация ДК запускает долговременную макропиноцитическую активность, позволяющую клеткам собрать большой объем внеклеточной жидкости и, таким образом, участвовать в иммунологическом надзоре. В процессе созревания ДК теряют способность к эндоцитозу, что, вероятно, связано со снижением уровней экспрессии большинства рецепторов, распознающих патогены [4].

Зрелые ДК являются профессиональными антиген-представляющими клетками. Они способны к более «аккуратной» переработке крупных антигенных структур в короткие пептиды, и более эффективной их презентации в составе МНС как 1, так и 2 классов. Презентация коротких антигенных структур (8-10 аминокислот) в составе МНС 1 класса является ключевой в регулировании клеточного иммунного ответа, опосредованного активацией специфических цитотоксических Т-лимфоцитов. Как правило, источником антигенных структур для такого типа презентации служат белки, синтезируемые непосредственно самой ДК. Презентация коротких антигенных структур (20-24 аминокислот) в составе МНС 2 класса является ключевой в активации наивных CD4+ Т-лимфоцитов при дальнейшей их дифференцировке в Т-хелперы 1 или 2 типа. Источником антигенных структур для такого типа презентации служат экзогенные белки, захваченные ДК извне. [24]. Липидные и гликолипид-содержащие антигены микроорганизмов могут быть презентированы в составе молекул семейства CD1 (CD1a, b, c, d, e). [18]. Молекулы CD1d связываются с синтетическими липидами, альфа-галактозил-церамидом и активируют не только Т-лимфоциты, но и натуральные киллерные Т-лимфоциты (НКТ) клетки [22].

Заключение

На ранних стадиях развития инфекционного заболевания ДК распознают патоген-ассоциированные молекулярные паттерны и различные сигналы опасности, что приводит к формированию уникального фенотипа зрелых ДК и предопределяет дальнейшее развитие иммунного ответа. Функциональная активность конкретной субпопуляции ДК напрямую зависит от того, в каких условиях и под действием каких сигналов микроокружения происходило развитие этой субпопуляции. Зрелые ДК посредством прямого межклеточного взаимодействия с другими иммунокомпетентными клетками играют ведущую роль в активации и регуляции адаптивного иммунного ответа.

Литература

1. A CD1a+CD11c+subset of human blood dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells / T. Ito [et al.] // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 163. – P. 1409-1419.
2. Characterization of expression, cytokine regulation, and effector function of the high affinity IgG receptor Fcγc1 (CD64) expressed on human blood dendritic cells / N.A. Fanger [et al.] // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 158. – P. 3090-3098.
3. Cloning and characterization of a specific receptor for the novel CC chemokine MIP-3 alpha from lung dendritic cells / C.A. Power [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1997. – Vol. 186. – P. 825-835.
4. Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products / F. Sallusto [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1995. – Vol. 182. – P. 389-400.
5. Expression of C-type lectin receptors by subsets of dendritic cells in human skin / S. Ebner [et al.] // *Int. Immunol.* – 2004. – Vol. 16. – P. 877-887.
6. GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells / C. Caux [et al.] // *Nature.* – 1992. – Vol. 360. – P. 258.
7. Hart D.N. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response / D.N. Hart // *Blood.* – 1997. – Vol. 90. – P. 3245-3287.
8. Human blood contains two subsets of dendritic cells, one immunologically mature and the other immature / U. O’Doherty [et al.] // *J. Immunol.* – 1994. – Vol. 82. – P. 487-493.
9. In vivo generation of human dendritic cell subsets by Flt3 ligand / E. Maraskovsky [et al.] // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 878-884.
10. Katsuaki S. Dendritic Cells-Nature and Classification / S. Katsuaki, F. Shigeharu // *Allergology International.* – 2007. – Vol. 56. – P. 183-191.
11. Katz S.I. Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow / S.I. Katz, K. Tamaki, D.H. Sachs // *Nature.* – 1979. – Vol. 282. – P. 324-326.
12. Langerhans P. Ueber die Nerven der menschlichen Haut / P. Langerhans // *Archiv fur pathologische Anatomie und Physiologie, und fur Klinische Medicin.* – Berlin, 1868. – Bd. 44. – S. 325-337.
13. Large-scale culture and selective maturation of human Langerhans cells from granulocyte colony-stimulating factor-mobilized CD34 progenitors / E.M. Gatti [et al.] // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164. – P. 3600-3607.
14. Liu Y.J. Dendritic Cell Subsets and Lineages, and their functions in innate and adaptive immunity / Y.J. Liu // *Cell.* – 2001. – Vol. 106. – P. 259-262.
15. Matsuda J.L. Presentation of self and microbial lipids by CD1 molecules / J.L. Matsuda, Kronenberg // *Curr. Opin. Immunol.* – 2001. – № 13. – P. 19-25.
16. Receptor expression and responsiveness of human dendritic cells to a defined set of CC and CXC chemokines / S. Sozzani [et al.] // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 159. – P. 1993-2000.
17. Sallusto F. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor / F. Sallusto, A. Lanzavecchia // *J. Exp. Med.* – 1994. –

- Vol. 179. – P. 1109-1118.
18. Separate pathways for antigen presentation by CD1 molecules / M. Sugita [et al.] // *Immunity*. – 1999. – Vol. 11. – P. 743-752.
 19. Specialization and complementarity in microbial molecule recognition by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells / D. Jarrossay [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2001. – Vol. 31. – P. 3388-3398.
 20. Steinman R.M. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice / R.M. Steinman, Z.A. Cohn // *J. Exp. Med.* – 1973. – Vol. 137. – P. 1142-1162.
 21. The formation of immunogenic major histocompatibility complex class II-peptide ligands in lysosomal compartments of dendritic cells is regulated by inflammatory stimuli / K. Inaba [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2000. – Vol. 191.
 22. The mouse CD1d-restricted repertoire is dominated by a few autoreactive T cell receptor families / S.H. Park [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2001. – Vol. 193. – P. 893-904.
 23. Thomas R. Human peripheral blood dendritic cell subset. Isolation and characterisation of precursor and mature antigen-presenting cells / R. Thomas, P.E. Lipsky // *J. Immunol.* – 1994. – Vol. 153. – P. 4016-4028.
 24. Trombetta E.S. Cell biology of antigen processing in vitro and in vivo / E.S. Trombetta, I. Mellman // *Annu. Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 975-1028.

BIOLOGY OF HUMAN DENDRITIC CELLS AND THEIR ROLE IN INFECTIOUS DISEASES

V.V. Tsvetkov, T.V. Sologub, I.I. Tokin

Dendritic cells are a heterogeneous human population of professional antigen-presenting cells. They are known to play a critical role in the regulation of both innate and acquired immune response. The functional activity of dendritic cells depends on the action signals microenvironment. Of particular interest is the study of the role of dendritic cells in the pathogenesis of various infectious diseases in humans.

Keywords: dendritic cells, antigen presenting cells, immunity, pathogen-associated molecular patterns.

Цветков В.В. – аспирант, научный сотрудник ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ.
197376, г. Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, 15/17.
E-mail: suprcolor@gmail.com.

Сологуб Т.В. – д-р мед. наук, проф., зам. директора по научной и клинической работе ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ.
197376, г. Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, 15/17.
E-mail: sologub@influenza.spb.ru.

Токин И.И. – канд. мед. наук, доц., зав. отделением экспериментальной терапии вирусных гепатитов ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ.
197376, г. Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, 15/17.
E-mail: ivan.i.tokin@rambler.ru.