

УДК 62.018.2:017.12

ЭКСТРАТИМИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА $\alpha\beta$ T-ЛИМФОЦИТОВ

© 2015 г. Е. М. Куклина, Н. С. Глебездина

Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН

614081 Пермь, ул. Голева, д. 13

E-mail: ibis_07@mail.ru

Поступила в редакцию 24.12.2013 г.

Окончательный вариант получен 02.02.2015 г.

Экстратимическая дифференцировка представляет собой альтернативный путь развития $\alpha\beta$ T-лимфоцитов, который в норме выражен незначительно и ограничен в основном печенью и слизистой оболочкой кишечника, но существенно усиливается с возрастом, а также при некоторых физиологических и патологических состояниях организма, приобретая более широкое распространение. В обзоре детально рассмотрены фенотипические и функциональные особенности T-лимфоцитов экстратимического происхождения в зависимости от их локализации и условий активации процесса. Проанализированы механизмы индукции такой дифференцировки. Особое внимание уделено биологическому значению экстратимического развития $\alpha\beta$ T-клеток.

Ключевые слова: экстратимическая дифференцировка, $\alpha\beta$ T-лимфоциты, стресс, беременность, инфекционные заболевания, аутоиммунитет.

DOI: 10.7868/S0475145015040035

ВВЕДЕНИЕ

Для основной субпопуляции T-лимфоцитов, $\alpha\beta$ T-клеток, классическим путем дифференцировки является тимический. В тимусе T-клеточные предшественники приобретают рецептор для антигена (T cell receptor, TCR) и проходят процессы клональной селекции, связанные с элиминацией потенциально аутоспецифичных лимфоцитов и обеспечивающие толерантность зрелых периферических T-клеток к антигенам собственного организма.

Экстратимическое развитие T-лимфоцитов представляет собой альтернативный способ дифференцировки, в который вовлекается значительное количество клеток, заселяющих слизистые кишечника, печень, лимфатические узлы, легочно-бронхиальные ткани и кожу (Rocha et al., 1995; Guy-Grand, Vassali, 2002; Blais et al., 2004; Clegg et al., 1996; Terra et al., 2005). Основная часть T-клеток, развивающихся вне тимуса – это лимфоциты, несущие антигенный рецептор $\gamma\delta$ -типа ($\gamma\delta$ T-лимфоциты), однако и для $\alpha\beta$ T-лимфоцитов, традиционно дифференцирующихся в тимусе, такой вариант развития имеет место. Убедительные свидетельства существования экстратимической дифференцировки $\alpha\beta$ T-клеток обеспечиваются данными исследований бестимусных мышей (Rocha et al., 1995; Voileau et al., 2000; Holland, 2012), животных со сложными комбинированными иммунодефицитами (Sprent et al., 1991), мышей, по-

лучающих хронические инъекции онкостатина M (OM) или OM-трансгенных животных (Clegg et al., 1996; Voileau et al., 2000; Blais et al., 2006), и при использовании ряда других экспериментальных моделей. Перечисленные модели, конечно, не в полной мере отражают реальные процессы, происходящие в организме, но это единственная возможность изучения данного феномена, поскольку в физиологических условиях дифференцировка $\alpha\beta$ T-лимфоцитов вне тимуса, выражена незначительно. Показано, однако, что процессы экстратимического развития $\alpha\beta$ T-клеток могут активироваться в ситуациях, связанных с временной или необратимой инволюцией тимуса – при стрессе (Shimizu et al., 2000), беременности (Kimura et al., 1995; Rijhsinghani et al., 1996), в случае возрастных изменений (Ohteki et al., 1992; Ishimoto et al., 2004). Кроме того, они выявлены при ряде аутоиммунных патологий (Seki et al., 1991).

Следует отметить, что основная часть данных по экстратимической дифференцировке T-лимфоцитов получена 10–15 лет назад, и, несмотря на актуальность проблемы, новые работы появляются в литературе редко. Однако в иммунологии в целом за эти годы произошел настоящий прорыв – в частности, в понимании механизмов формирования центральной и периферической толерантности, активации различных T-клеточных субпопуляций, развития инфекционных и аутоиммунных заболеваний и т.д., и это позволяет по-

новому интерпретировать имеющиеся данные. Цель настоящего обзора — анализ механизмов активации экстратимического развития $\alpha\beta$ T-лимфоцитов, с особым акцентом на обсуждении биологического значения данного феномена.

КЛАССИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ $\alpha\beta$ T-ЛИМФОЦИТОВ

Тимическая дифференцировка $\alpha\beta$ T-клеток включает несколько последовательных этапов: коммитирование полипотентных костномозговых предшественников к T-ряду, в ходе которого они последовательно утрачивают способность развиваться при соответствующих условиях в клетки других линий (миелоидные клетки, B-лимфоциты, НК-клетки); формирование рецептора для антигена, а именно — реаранжировку β -цепи TCR, его ассоциацию с суррогатной α -цепью с формированием пре-TCR, несколько волн клональной экспансии, инициируемой сигналом с пре-TCR, реаранжировку α -цепи и формирование полноценного TCR; и, на основании экспрессируемого TCR, клональную селекцию, которая предполагает отбор T-клеток, распознающих чужеродные антигенные пептиды в контексте собственных молекул главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС). Данный процесс обеспечивает формирование пула периферических $\alpha\beta$ T-лимфоцитов, способных эффективно отвечать на чужеродные антигены, не повреждая при этом собственных тканей (Vicente et al., 2010; Koch, Radtke, 2011; Shah, Zuniga-Pflucker, 2014).

Дифференцировка T-клеток в тимусе сопровождается их фенотипическими изменениями, в первую очередь — изменением экспрессии мембранных молекул CD4 и CD8: у ранних внутритимусных предшественников обе молекулы отсутствуют (дубль-негативные, CD4⁻CD8⁻-клетки), на более поздней стадии они экспрессируются одновременно (дубль-позитивные, CD4⁺CD8⁺-клетки), а последующая дифференцировка сопровождается утратой одного из маркеров. Финально экспрессируемая молекула (CD4 или CD8) ассоциирована с TCR и участвует в связывании антигенов МНС на мембране антигенпрезентирующей клетки. Помимо CD4/CD8, идентифицирован еще целый комплекс стадиоспецифичных мембранных и внутриклеточных маркеров тимоцитов. Так, в развитии CD4⁻CD8⁻-клеток выделяют четыре стадии в зависимости от экспрессии мембранных молекул CD44 (рецептор хоминга) и CD25 (α -цепь рецептора для интерлейкина (IL)-2). В качестве маркеров различных стадий тимического развития могут выступать также суррогатная α -цепь пре-TCR, рецепторы для ростовых факторов (например, IL-7R), транскрипционные факторы Egr, Hes-1, Notch-1 и многие другие молекулы (Koch,

Radtke, 2011; Naito et al., 2011; Hong et al., 2012). Следует подчеркнуть, что большинство перечисленных молекул экспрессируется и другими клетками и может служить маркерами тимоцитов только в контексте других (стадиоспецифичных) маркеров.

Важнейшим событием тимической дифференцировки $\alpha\beta$ T-лимфоцитов является формирование антигенного рецептора, состоящего из двух ковалентно связанных цепей α и β . Гены, кодирующие переменные домены цепей TCR, имеют мозаичную структуру и формируются в ходе соматической рекомбинации за счет ассоциации дискретных сегментов ДНК трех разных классов — V (variable), D (diversity) и J (joint), так называемой V(D)J-рекомбинации. Соответствующие локусы ДНК могут содержать до сотни вариантов кодирующих сегментов данного класса, и случайное соединение этих сегментов в ходе рекомбинации является одним из основных механизмов формирования разнообразия молекул TCR и, как следствие, антигенраспознающего репертуара T-лимфоцитов.

Ключевыми факторами реаранжировки являются рекомбиназы RAG-1 и RAG-2 — продукты генов, активирующих рекомбинацию (Recombination Activating Genes). Белки RAG не только вызывают образование двунитевых разрывов ДНК, вырезая фрагменты ДНК между двумя индивидуальными сегментами, но и участвуют в последующей репарации разрывов (Nishana, Raghavan, 2012). Экспрессия белков RAG в $\alpha\beta$ T-лимфоцитах в норме регистрируется только на этапе тимического развития, причем и в этот период она стадиоспецифична и активируется только на момент реаранжировки каждой из цепей TCR — β -цепи (в CD4⁻CD8⁻-клетках) и α -цепи (в CD4⁺CD8⁺-timoцитах). После завершения процесса и появления на мембране полноценного функционального $\alpha\beta$ TCR экспрессия рекомбиназ необратимо терминируется, в связи с чем выявление в клетке белков RAG-1/RAG-2 используется в настоящее время как критерий наличия самого процесса реаранжировки (Nishana, Raghavan, 2012; Shah, Zuniga-Pflucker, 2014). Еще один важный фактор, участвующий в процессе рекомбинации и используемый в ряде работ как маркер этого процесса, — терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (TdT), которая обеспечивает нематричную подстройку нуклеотидов в месте разрыва на этапе репарации.

Уникальность тимической дифференцировки обеспечивается стромой тимуса, которая участвует во всех этапах развития тимоцитов, от коммитирования к T-ряду до процессов клональной селекции. Поэтому любые свидетельства наличия такой дифференцировки вне тимуса неизменно поднимают вопрос о том, какие клетки поддерживают ее в периферических органах и тканях.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАТИМИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Прежде чем обсуждать особенности экстратимических Т-лимфоцитов, необходимо сказать о критериях, на основании которых авторы работ по данной проблеме относят те или иные Т-клеточные субпопуляции к экстратимическим. Строго говоря, экстратимическая дифференцировка подразумевает развитие клеток исключительно вне тимуса. Однако результаты большинства работ по экстратимическим Т-лимфоцитам не позволяют четко ответить на вопрос о том, развиваются ли эти клетки полностью на периферии или начальные этапы дифференцировки, в частности, коммитирование к Т-клеточному ряду, происходят в тимусе. Наиболее убедительные свидетельства наличия экстратимической дифференцировки $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов получены в работах с трансгенными животными, Т-клетки которых несут флуоресцентный зонд (Green Fluorescent Protein, GFP), экспрессируемый под контролем промотора рекомбиназы RAG2 (Guy-Grand et al., 2003; Blais et al., 2006), одного из маркеров реаранжировки. Такие работы позволяют оценить наличие процессов реаранжировки генов TCR вне тимуса, определить их локализацию и степень выраженности процесса, и, в ряде случаев – оценить характеристики GFP (то есть RAG2)-позитивных клеток. Альтернативным вариантом является непосредственная оценка экспрессии маркеров реаранжировки – рекомбиназ RAG1 и RAG2, а также терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (TdT) в Т-лимфоцитах периферических тканей и органов (Buscone et al., 2014). Однако все перечисленные работы только фиксируют процессы реаранжировки генов TCR на периферии и не позволяют определить, где и как осуществляются начальные (RAG-независимые) этапы дифференцировки, связанные с коммитированием костномозговых предшественников к Т-клеточному ряду. Тем не менее, относить Т-клетки с активированной реаранжировкой генов TCR к экстратимическим вполне логично, поскольку ключевые этапы дифференцировки – формирование антигенного рецептора и процессы клональной селекции, – для таких клеток осуществляются вне тимуса, а именно эти процессы определяют как разнообразие антигенраспознающего репертуара Т-лимфоцитов, так и его аутоотолерантность.

Что касается более ранних работ, в которых факторы реаранжировки не оценивались, в них авторы, как правило, относят к экстратимическим клеткам Т-лимфоциты, несущие мембранные маркеры, характерные для тимоцитов на разных этапах развития (например, Т-клетки, коэкспрессирующие CD4/CD8, различные варианты коэкспрессии CD44/CD25, а также несущие суррогатную α -цепь TCR) (Ibraghimov et al., 1995; Voileau et al., 2000; García-Ojeda et al., 2005), а так-

же периферические Т-лимфоциты различной локализации, аналогичные по фенотипическим характеристикам Т-клеткам бестимульных мышей (Rocha, 1990) или же отличающиеся по фенотипу от традиционных Т-лимфоцитов той же локализации (Ibraghimov et al., 1995; Hamad, 2008). Учитывая, что в работах такого рода (а их большинство) не приводится четких свидетельств реализации вне тимуса не только начальных этапов дифференцировки, связанных с коммитированием к Т-клеточному ряду, но и более поздних, мы сочли целесообразным не ограничиваться интерпретацией этих данных, а представить их возможно более полно, отнеся комментарии в заключительный раздел обзора.

Еще один нюанс, о котором необходимо сказать в связи с характеристикой экстратимических Т-лимфоцитов: подавляющее большинство работ по экстратимической дифференцировке Т-клеток посвящено $\gamma\delta$ Т-лимфоцитам (то есть Т-лимфоцитам, несущим γ TCR), традиционно развивающимся вне тимуса. Относительно пути развития этих клеток на сегодняшний день нет окончательного мнения. Согласно последним данным, они начинают дифференцировку в тимусе, аналогично остальным Т-клеточным предшественникам, а покидают его последовательно: часть – сразу после коммитирования к $\gamma\delta$ -ряду, остальные на более поздних стадиях дифференцировки, заселяя периферические ткани, в первую очередь, слизистые (Guy-Grand et al., 2002; Narayan et al., 2012). Так или иначе, завершающие этапы развития этих клеток осуществляются на периферии (Hayday, Tigelaar, 2003). Основные характеристики $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов описаны на настоящий момент в целом ряде детальных обзоров (Johansson, Lycke, 2003; Narayan et al., 2012; Guy-Grand et al., 2013; Prinz et al., 2013), и мы на них останавливаться не будем. Тем не менее, полностью исключить $\gamma\delta$ Т-клетки из рассмотрения не удастся, поскольку во многих работах нет четкого разделения между $\alpha\beta/\gamma\delta$ Т-клеточными субпопуляциями.

Экстратимические Т-лимфоциты локализуются в основном в кишечнике и печени (Ohtsuka et al., 1994a; Ohtsuka et al., 1994b), а также, в меньшей степени, в матке (Fidel et al., 1996; Ibraghimov et al., 1995), экзокринных железах (Narita et al., 1999) и некоторых других тканях. При этом Т-клетки экстратимического происхождения отличаются по ряду признаков от традиционных Т-лимфоцитов, развивающихся в тимусе, и характер этих отличий в значительной степени зависит от локализации клеток. Так, особенностью экстратимических Т-лимфоцитов кишечника является экспрессия В-клеточного маркера B220, а также отсутствие экспрессии костимуляторных молекул CD2, CD5 и CD28 (Rocha et al., 1995; Johansson, Lycke, 2003). Важно отметить, что популяция экстратимических Т-клеток кишечника, в свою очередь, состо-

ит из двух субпопуляций — интраэпителиальных лимфоцитов и Т-клеток, заселяющих слизистые (Ohtsuka et al., 1994a; Ohtsuka et al., 1994b), и эти субпопуляции также различаются между собой по целому ряду признаков. Так, в субпопуляции интраэпителиальных лимфоцитов соотношение $\alpha\beta/\gamma\delta$ Т-клеток составляет 1 : 1, тогда как экстралимфатические Т-клетки слизистой кишечника в основном представлены $\alpha\beta$ Т-лимфоцитами (Abo T., 2001). Кроме того, $\alpha\beta$ Т-клетки слизистой кишечника имеют более высокий уровень экспрессии α -цепи рецептора для интерлейкина 2 (IL-2R α) по сравнению с интраэпителиальными $\alpha\beta$ Т-лимфоцитами (Abo T., 2001). Субпопуляция экстралимфатических $\alpha\beta$ Т-клеток кишечника состоит в основном из CD8⁺ Т-лимфоцитов или дубль-позитивных (CD4⁺CD8⁺) Т-клеток. Большинство CD8⁺ Т-лимфоцитов кишечника экспрессирует CD8 $\alpha\alpha$ -гомономер вместо традиционного CD8 $\alpha\beta$ -гетеродимера (Rocha et al., 1995; Ohtsuka et al., 1995). Кроме того, существуют различия в кинетике активации и сигнальной трансдукции между циркулирующими и локализованными Т-клетками. Так, интраэпителиальные лимфоциты кишечника могут использовать CD43-зависимый путь ко-стимуляции как альтернативу CD28-зависимому сигналу (Sperling et al., 1995).

Особенностью экстралимфатических Т-клеток печени является промежуточный уровень экспрессии на мембране комплекса TCR-CD3 (Seki et al., 1991), в то время как для традиционных Т-лимфоцитов тимического происхождения характерен высокий уровень его экспрессии. Соотношение $\alpha\beta$ TCR⁺-/ $\gamma\delta$ TCR⁺-клеток в печени составляет 4 : 1, и это соотношение увеличивается с возрастом (Ohtsuka et al., 1994a; Ohtsuka et al., 1994b). Популяция экстралимфатических $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов печени представляет собой смесь дубль-негативных CD4⁻CD8⁻-клеток, а также CD4⁺- и CD8⁺ Т-лимфоцитов (Watanabe et al., 1995). Показана экспрессия $\alpha\beta$ Т-клетками печени с пониженной экспрессией TCR уникального набора адгезионных молекул — CD44⁺L-selectin(CD62L)⁻, а также LFA-1 (Lymphocyte function associated antigen-1)^{high}, в отличие от традиционных Т-лимфоцитов с высоким уровнем экспрессии TCR, несущих CD44⁺L-selectin(CD62L)⁺ и LFA-1^{low} (Arai et al., 1995; Nakayama et al., 1995). Такая инвертированная экспрессия адгезионных молекул на Т-клетках экстралимфатического происхождения, по-видимому, необходима для миграции клеток в печень и поддержания их специфической локализации. Показано, в частности, что инъекции антител к LFA-1 мышам снижают уровень инфильтрации печени лимфоцитами (Arai et al., 1995).

Слизистые влагалища также аккумулируют Т-клетки, которые по своим свойствам отличаются от периферических. Размер этой популяции

невелик и состав сильно варьирует от одной работы к другой, возможно, из-за особенностей линий используемых животных или различий в фазах эстрального цикла на момент исследования (Ghaleb et al., 2003; Johansson, Lyske, 2003). На основе экспрессии корцепторов Т-лимфоцитов (CD4/CD8) и В-клеточного маркера B220 выделяют две основные субпопуляции вагинальных CD3⁺Т-клеток. Первая субпопуляция имеет фенотип CD3⁺TCR⁺CD4⁺/CD8⁺CD90⁺(Thy-1)B220⁻ и составляет 30–40% вагинальных Т-лимфоцитов, в том числе 50–80% $\alpha\beta$ TCR⁺- и 20–50% $\gamma\delta$ TCR⁺-клеток (Ibraghimov et al., 1995). На долю CD8⁺ Т-клеток в данной субпопуляции приходится меньше 1% клеток у мышей CBA (Fidel et al., 1996) и больше 40% у мышей Balb/c (Ghaleb et al., 2003). Подобно периферическим CD8⁺Т-клеткам, вагинальные CD8⁺Т-лимфоциты экспрессируют CD8 $\alpha\beta$ -гетеродимер. Соотношение CD4 : CD8 в слизистых влагалища у мышей CBA составляет примерно 50–100 : 1 (Fidel et al., 1999), тогда как на периферии — 3–6 : 1. Что касается CD4⁺ Т-клеток, практически все они несут на мембране CD5 и имеют фенотип эффекторных клеток/клеток памяти: CD44^{hi}CD62L^{int}CD45RB^{low}HSA⁻ (Ibraghimov et al., 1995). Вероятность того, что, по крайней мере, часть клеток этой субпопуляции представляет собой отдельную линию развития, поддерживается тем фактом, что в слизистой влагалища выявляется минорная популяция (1–5%) незрелых CD3⁺CD4⁺CD8⁺ Т-клеток (Fidel et al., 1996). Вторая большая субпопуляция вагинальных Т-лимфоцитов, CD3⁺ $\alpha\beta$ TCR^{int}CD90^{low}CD4⁻CD8⁻-клетки, включает до 60% Т-лимфоцитов слизистых (Johansson, Lyske, 2003). Характерная особенность этих клеток — экспрессия В-клеточного маркера B220, тогда как в селезенке и в слизистых кишечника выявляется соответственно 2% и 20% B220-позитивных Т-лимфоцитов. Большинство этих клеток несут на мембране CD152 (CTLA-4) и негативны по CD2, CD5 и NK1.1. Они присутствуют в слизистых влагалища нормальных тимических мышей, бестимусных мышей nude и животных, дефицитных по MHC II или CD1 (Johansson, Lyske, 2003). Больше 30% клеток данной субпопуляции несут IL-2R α (CD25), тогда как у периферических Т-лимфоцитов этот показатель не превышает 8%. У нормальных мышей вагинальные CD3⁺B220⁺ Т-лимфоциты используют только около половины TCRV β -генов, что указывает на их олигоклональность. Интересно отметить, что CD3⁺ $\alpha\beta$ TCR^{int}B220^{low} Т-лимфоциты слизистых влагалища не отвечают на TCR-CD3-или CD28-зависимую стимуляцию (Johansson, Lyske, 2003), на основании чего некоторые авторы делают вывод, что это, возможно, регуляторные клетки (Hamad, 2008), однако прямых дока-

зательств этого предположения на сегодняшний день нет.

В целом, имеющиеся на сегодняшний день данные по экстратимическим $\alpha\beta$ Т-лимфоцитам, несмотря на свою малочисленность и разрозненность, позволяют говорить о том, что развитие этих клеток в норме имеет место в различных органах и тканях. Содержание $\alpha\beta$ Т-клеток в сайтах экстратимической дифференцировки варьирует в зависимости от локализации: в популяции интраэпителиальных лимфоцитов кишечника их количество сопоставимо с числом $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов (Abo, 2001), тогда как в слизистой кишечника, а также в матке и печени на долю этих клеток приходится от 60 до 80% Т-лимфоцитов экстратимического происхождения (Abo, 2001). Есть целый ряд признаков, которые отличают экстратимические $\alpha\beta$ Т-лимфоциты независимо от локализации. Первый — это промежуточный уровень экспрессии TCR (Seki et al., 1991; Johansson, Lycke, 2003), который может быть связан с более низкой специфичностью ответа Т-клеток на антиген. Второй признак — конститутивная экспрессия на мембране α -цепи рецептора для IL-2 (Watanabe et al., 1992; Iiai et al., 1992; Watanabe et al., 1993). Традиционные, тимус-зависимые Т-лимфоциты, не экспрессируют ее в покоящемся состоянии, но начинают экспрессировать в ответ на активацию, обеспечивая при наличии α -цепи и IL-2 вход клетки в цикл. Повышенным уровнем IL-2R α на экстратимических Т-лимфоцитах объясняется, по-видимому, более быстрый ответ этих клеток по сравнению с традиционными на соответствующие антигены (Ohtsuka et al., 1995). Еще один отличительный признак экстратимических Т-лимфоцитов — клонотипические различия в репертуаре $\alpha\beta$ TCR, в частности, в использовании V β -генов Т-клетками, находящимися в разном микроокружении. И хотя эти данные ограничены, они позволяют сказать, что TCR-репертуар экстратимических $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов отличается олигоклональностью (Sugahara et al., 1998), что может быть следствием их гомеостатической пролиферации. Показано, в частности, что экстратимические $\alpha\beta$ Т-лимфоциты предпочтительно используют V β 8 при формировании β -цепи TCR (Abo, 2001). Важно отметить также, что существенная часть экстратимических $\alpha\beta$ Т-клеток несет маркер NK-клеток, NK1.1, то есть фактически является натуральными киллерными Т-лимфоцитами (NKT), причем содержание этих клеток варьирует в зависимости от их локализации (Ohtsuka et al., 1995).

Таким образом, экстратимические $\alpha\beta$ Т-лимфоциты, находящиеся в разных сайтах дифференцировки, обладают уникальными свойствами, и даже при наличии общих признаков уровень их выраженности зависит от сайта дифференцировки. Это позволяет рассматривать экстратимиче-

скую дифференцировку $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов как способ формирования уникальных Т-клеточных субпопуляций, отвечающих конкретным локальным нуждам.

СИТУАЦИИ, СВЯЗАННЫЕ С АКТИВАЦИЕЙ ЭКСТРАТИМИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

В физиологических условиях размер популяции экстратимических Т-клеток в любом сайте дифференцировки за пределами тимуса незначителен. Однако при некоторых условиях он заметно увеличивается.

В первую очередь — с возрастом. У мышей клетки с фенотипом, характерным для экстратимических Т-лимфоцитов, то есть с повышенной экспрессией IL-2R β и промежуточным уровнем TCR (IL-2R β ⁺TCR^{int}), начинают выявляться в печени в возрасте 4 недель (Iiai et al., 1992; Ohtsuka et al., 1994a; Ohtsuka et al., 1994b), и далее их число последовательно нарастает (Abo, 2001). У молодых животных экстратимические Т-клетки фиксируются только в печени, но с возрастом начинают выявляться в различных лимфоидных органах, включая селезенку, лимфатические узлы, костный мозг и даже тимус (Watanabe et al., 1995), причем в тимусе IL-2R β ⁺TCR^{int}-клетки локализуются в основном в медуллярной зоне. После 50 недель субпопуляция экстратимических Т-клеток становится сопоставимой по своим размерам и даже перекрывает популяцию традиционных, происходящих из тимуса, IL-2R β TCR^{high}-клеток в различных лимфоидных органах (Watanabe et al., 1995).

Однако даже в молодом возрасте экстратимическая дифференцировка активируется при некоторых физиологических и патологических состояниях. Во-первых, при стрессе: в отличие от основной, тимус-зависимой популяции Т-лимфоцитов, экстратимические TCR^{int}-клетки устойчивы к действию стрессовых факторов, таких как глюкокортикоиды и катехоламины (Shimizu et al., 2000), и их доля в различных лимфоидных органах в ответ на стресс существенно возрастает (Shimizu et al., 2000). Во-вторых, экстратимическая дифференцировка Т-лимфоцитов активируется при беременности, особенно на поздней стадии: клетки экстратимического происхождения регистрируются преимущественно в матке и, в меньшей степени, в печени и вторичных лимфоидных органах (Minagawa et al., 1999; Kimura et al., 1995; Ширшев и др., 2007; Ширшев, 2009). Кроме того, в децидуальной оболочке беременной матки человека выявлены Т-лимфоциты, экспрессирующие маркеры реаранжировки генов TCR, рекомбиназы RAG-1 и RAG-2 (Hayakawa et al., 1994; Mincheva-Nilsson et al., 1997), что также указывает на наличие в ней участков дифференцировки экстратимических Т-клеток.

Важно отметить, что все упомянутые выше физиологические состояния сопровождаются атрофией тимуса. При возрастных изменениях она необратима (Pericik et al., 2010), а при стрессе носит временный характер и связана с истощением популяции $CD4^+CD8^+$ кортикальных тимоцитов вследствие сниженной пролиферации и апоптоза (Maruyama et al., 1999; Shimizu et al., 2000), которые индуцируются в основном гормонами: при стрессе – глюкокортикоидами и катехоламинами (Tsukahara et al., 1997; Maruyama et al., 1999; Shimizu et al., 2000) а при беременности – гормонами репродукции, в частности, эстрадиолом в высокой дозе (Okuyama et al., 1992; Narita et al., 1998; Zoller et al., 2007). В связи с этим, активацию экстратимической дифференцировки Т-лимфоцитов в физиологических условиях можно рассматривать, по-видимому, как механизм компенсации сниженных тимических функций.

Наряду с этим, индукция экстратимической дифференцировки отмечается при ряде инфекционных заболеваний. Так, малярийная инфекция индуцирует заметную экспансию в печени клеток с фенотипом $IL-2R\beta^+TCR^{int}$, характерным для экстратимических Т-лимфоцитов, но не традиционных, $IL-2R\beta^-TCR^{high}T$ -лимфоцитов (Wegerasinghe et al., 2001; Abo, 2001). А доптивный перенос таких TCR^{int} клеток, выделенных из печени переболевших малярией мышей, облученным реципиентам вызывает у последних устойчивость к малярийной инфекции, тогда как традиционные, TCR^{high} -клетки, не обладают такой способностью (Mannoog et al., 2002). Наряду с этим, малярия сопровождается появлением незрелых дубль-негативных ($CD4^-CD8^-$) и дубль-позитивных ($CD4^+CD8^+$) клеток в мезентериальных лимфатических узлах (Francelin et al., 2011). Интересно отметить, что при малярийной инфекции регистрируется и серьезная тимическая атрофия (Abo, 2001).

Говоря об экстратимической дифференцировке Т-лимфоцитов, нельзя обойти вниманием и тему аутоиммунных заболеваний. Так, у мышей, склонных к спонтанному развитию аутоиммунных процессов ($NZB \times NZW$) F_1 , наблюдается значительная экспансия Т-клеток экстратимического происхождения в печени и различных лимфоидных органах, причем развитие аутоиммунной патологии у таких животных, как правило, сопровождается атрофией тимуса (Abo, 2001; Abo et al., 2012). У мышей $MLR-lpr/lpr$ также регистрируется популяция дубль-негативных TCR^{int} клеток в различных лимфоидных органах (Ohteki et al., 1990; Yamagiwa et al., 1996). Наличие процессов реаранжировки генов TCR выявлено нами и в периферических $\alpha\beta$ Т-лимфоцитах пациентов с органоспецифичными аутоиммунными патологиями – сахарным диабетом I типа (Куклина и др., 2011) и рассеянным склерозом (Куклина и др.,

2013), причем маркеры реаранжировки, рекомбиназы RAG-1 и RAG-2, выявлялись преимущественно в популяции Т-лимфоцитов с пониженной экспрессией TCR. Интересно отметить, что аутореактивные Т-клеточные клоны выявляются в основном в популяции TCR^{int} -лимфоцитов, но не традиционных, TCR^{hi} -клеток, что подтверждено в экспериментах с использованием различных клеток-мишеней, включая аутологичные тимоциты и сингенные гепатоциты (Kawachi et al., 1995; Moroda et al., 1997).

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ЭКСТРАТИМИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ $\alpha\beta$ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Как уже упоминалось ранее, в физиологических условиях процессы экстратимической дифференцировки $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов слабо выражены и, как следствие, сложны для изучения. Практически все основные данные по этой проблеме, связанные с механизмами индукции экстратимического развития, типом клеток, поддерживающих такую дифференцировку на периферии, особенностями формирования антигенраспознающего репертуара $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, развивающихся вне тимуса, и т.д., получены на генетически модифицированных животных. Ниже обсуждаются модели, на которых эти процессы исследованы наиболее всесторонне.

Онкостатин М как фактор индукции экстратимической дифференцировки $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов

Особого внимания заслуживает серия работ с двумя представителями семейства интерлейкина 6 (IL-6) – онкостатином М (ОМ) и фактором ингибирования лейкемии (Leukemia Inhibiting Factor, LIF). Показано, что введение мышам этих цитокинов индуцирует активацию альтернативного, экстратимического, развития Т-клеток в лимфатических узлах (Shen et al., 1994; Clegg et al., 1996; Voileau et al., 2000). Наиболее широко в этом плане на сегодняшний день изучен онкостатин М, причем ОМ-зависимая дифференцировка является тимус-независимой: она может быть индуцирована в бестимусных мышах хроническими инъекциями ОМ в течение нескольких недель (Clegg et al., 1996; Voileau et al., 2000). Эксперименты на $IL-6^{-/-}$ и $IL-7R^{-/-}$ -мышам показали, что индукция экстратимического развития ОМ-трансгенных мышей может происходить в отсутствие IL-6, но напрямую зависит от сигнала с рецептора для IL-7 (Clegg et al., 1999). Важно отметить, что ОМ-зависимая экстратимическая дифференцировка Т-лимфоцитов, оцениваемая по экспрессии инвариантной α -цепи TCR ($pre-TCR\alpha$) и наличию клеток с незрелым фенотипом ($CD4^+CD8^+$), имеет место

только в лимфатических узлах (в основном мезентериальных и, в меньшей степени, в шейных и подмышечных), и отсутствует в других органах, таких как селезенка, костный мозг, печень или кишечник (Clegg et al., 1996; Voileau et al., 2000). При этом соотношение дубль-негативных ($CD4^+CD8^-$), дубль-позитивных ($CD4^+CD8^+$) Т-клеточных предшественников и зрелых ($CD4^+CD8^-/CD4^+CD8^+$) Т-клеток в лимфатических узлах ОМ-трансгенных животных соответствует таковому в тимусе (Blais et al., 2006).

На бестимусных мышях показано, что лимфатические узлы обладают уникальной способностью генерировать зрелые $CD4^+CD8^-/CD4^+CD8^+$ Т-клетки из введенных внутривенно дубль-негативных ($CD4^+CD8^-$) Т-клеточных предшественников, но не из гемопоэтических стволовых клеток. Эти данные указывают на то, что отсутствие дифференцировки Т-лимфоцитов в лимфатических узлах в нормальных условиях обусловлено, по-видимому, неспособностью лимфоузлов поддерживать ранние стадии развития Т-клеточных предшественников и привлекать их.

Согласно существующим представлениям, в тимусе Т-лимфоциты могут формироваться из двух типов предшественников: $Lin^-c-Kit^{hi}IL-7R\alpha^-$ (так называемые ранние тимические предшественники) и $Lin^-c-Kit^{low}IL-7R\alpha^+$ (костномозговые общие лимфоидные предшественники) (Allman et al., 2003; Martin et al., 2003; Kondo et al., 1997). Исследования показали, что в лимфатических узлах интактных мышей развитие Т-клеток невозможно по двум причинам: $Lin^-c-Kit^{hi}IL-7R\alpha^-$ отсутствуют в лимфоузлах, а $Lin^-c-Kit^{low}IL-7R\alpha^+$ присутствуют, но заблокированы в фазе G1 клеточного цикла, в частности, они не способны повышать экспрессию факторов, необходимых для преодоления точки рестрикции – *c-myc*, *c-mus*, циклина D2. В то же время, у ОМ-трансгенных мышей такой блокады не наблюдается (Terra et al., 2005). Сопоставление уровней экспрессии ключевых лигандов, контролирующих пролиферацию и выживание (*IL-7*, *Kit*-лиганд, белки *Wnt*) (Akashi et al., 1998; Agosti et al., 2004; Staal et al., 2001; Staal et al., 2004; Cobas et al., 2004; Xu et al., 2003) и Т-клеточное коммитирование (*DL-1*-лиганд) (Harman et al., 2003; Radtke et al., 2004), в стромальных клетках тимуса и лимфатических узлов интактных мышей не выявило существенных различий, за исключением двух факторов – *Wnt4* и *Wnt7b*. Соответствующие транскрипты выявляются в тимусе, но отсутствуют в лимфоузлах (Terra et al., 2005). В стромальных клетках лимфатических узлов ОМ-трансгенных мышей экспрессия *Wnt4* и *Wnt7b* также не повышается, однако показано, что ОМ-индуцированный внутриклеточный сигнал частично перекрывается с *Wnt*-сигналом (Sato et al., 2004). В дубль-негативных Т-клетках

лимфоузлов ОМ-трансгенных мышей онкостатин М стимулирует экспрессию антиапоптотических факторов *Bcl-2* и *Bcl-xL*, а также фосфорилирование и активацию фактора *STAT3* (Terra et al., 2005). Сопоставление транскрипционных профилей в ранних Т-клеточных предшественниках лимфатических узлов интактных и ОМ-трансгенных мышей также подтверждает предположение, что ОМ-индуцированный сигнал в этих клетках компенсирует отсутствие *Wnt*-зависимого сигнала: экспрессия факторов *c-Fos* и *c-Myc* повышена, а *JunB* и *p21cip*, напротив, снижена у ОМ-трансгенов по сравнению с интактными животными (Terra et al., 2005).

Исследование строения лимфатических узлов ОМ-трансгенных мышей показало, что они лишены трех классических атрибутов тимуса – ретикулярных эпителиальных клеток, сегрегации коры и медулярной зоны, а также высокого уровня экспрессии хемокина *CCL25* (Blais et al., 2006). Сопоставление ОМ-трансгенных лимфоузлов с таковыми у интактных мышей выявило единственное отличие – плотность эндотелиальных венул в них выше в 3.5 раза (Blais et al., 2006). Интересно, однако, отметить, что в ряду цитокинов семейства *IL-6* именно ОМ и *LIF*, способные индуцировать дифференцировку Т-клеток в лимфатических узлах, демонстрировали выраженный ангиогенный эффект *in vitro*, тогда как сам *IL-6* был в обоих случаях неэффективен (Blais et al., 2004; Blais et al., 2006; Douglas, King, 1992).

Зрелые $\alpha\beta$ Т-клетки лимфатических узлов ОМ-трансгенных мышей имеют низкий уровень экспрессии *TCR* и фенотип клеток памяти: $CD44^{hi}CD62L^{low}$ для $CD4^+$ Т-клеток и $CD44^{hi}CD62L^{hi}CD122^{hi}$ для $CD8^+$ Т-лимфоцитов (Voileau et al., 2000; Terra et al., 2002). В функциональном отношении экстратимические Т-лимфоциты, сформировавшиеся под действием ОМ, также отличаются от Т-клеток тимического происхождения: они пролиферируют и продуцируют *IFN γ* в ответ на стимуляцию *in vitro*, однако из-за высокого уровня апоптоза не способны накапливаться в культуре. Более того, экстратимические $CD4^+$ Т-клетки не способны обеспечить достаточный уровень поддержки В-лимфоцитам в ходе иммунного ответа у мышей, инфицированных вирусом везикулярного стоматита (Blais et al., 2004). Функциональная активность $CD8^+$ Т-лимфоцитов выше таковой у $CD4^+$ Т-клеток, однако, и для них аккумуляция в культуре отстает от скорости пролиферации. Как следствие, при ответе на инфекционные агенты в системе *in vivo* такие клетки менее эффективны и способны обеспечить лишь временный контроль над патогеном (Blais et al., 2004).

В целом, работы с онкостатином М показали, что хроническая экспозиция к данному цитокину индуцирует экстратимическое развитие Т-лим-

фоцитов. Более того, она трансформирует лимфатические узлы в первичные Т-лимфоидные органы (Lindberg et al., 1998; Malik et al., 1995; Shen et al., 1994; Clegg et al., 1996; Boileau et al., 2000; Terra et al., 2002). При этом ОМ-зависимые экстралимфатические Т-клетки отличаются от классических Т-лимфоцитов и фенотипически, и функционально. Следует, однако, отметить, что, хотя данная модельная система и позволяет существенно прояснить механизмы индукции и реализации экстралимфатической дифференцировки, она не в полной мере отражает процессы, имеющие место в физиологических условиях, где преимущественная активация такой дифференцировки регистрируется в печени и слизистых.

Экстралимфатическая дифференцировка $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, индуцированная трансплантацией костного мозга

Заметный вклад в исследование механизмов экстралимфатической дифференцировки $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов внесли работы по трансплантации клеток костного мозга (Bone Marrow Transplantation, BMT) (Holland et al., 2012; Arcangeli et al., 2005; Maillard et al., 2006). После BMT ранние Т-клеточные предшественники, в частности, дубль-позитивные $CD4^+CD8^+$ Т-клетки, выявляются не только в традиционных сайтах экстралимфатической дифференцировки, включая слизистую кишечника, интраэпителиальные области, мезентериальные лимфатические узлы и Пейеровы бляшки, но и в нетрадиционных — в дистантных периферических лимфоузлах, селезенке и в костном мозге (Guy-Grand et al., 2003; Dejbakhsh-Jones et al., 1995; Garcia-Ojeda et al., 2005; Arcangeli et al., 2005). Дубль-позитивные клетки мезентериальных лимфоузлов имеют фенотип $CD8\beta^+CD3^+TCR\beta^+Thy1^+CD69^+$, аналогичный таковому у тимоцитов (Holland et al., 2012), свидетельствуя о том, что данные лимфоузлы в определенных условиях могут брать на себя тимические функции. При этом их роль в восстановлении пула Т-лимфоцитов после BMT существенно растет с увеличением возраста реципиентов: у 24-месячных мышей до 30% дубль-позитивных клеток формируется после трансплантации в мезентериальных лимфоузлах, в то время как в тимусе доля этих клеток реципрокно снижается (Holland et al., 2012).

Результатом экстралимфатической дифференцировки у реципиентов BMT является формирование зрелых $\alpha\beta$ TCR $^+CD4^+$ и $CD8\alpha\beta^+$ Т-клеток как у эулимфатических, так и у бестимульных мышей. Наряду с этим, происходит генерация $\gamma\delta$ TCR $^+$ Т-лимфоцитов и $CD8\alpha\alpha^+$ Т-клеток, представляющих собой типичные интраэпителиальные лимфоциты экстралимфатического происхождения. При этом количество интраэпителиальных $\alpha\beta$ TCR $^+$ -лимфо-

цитов у бестимульных мышей вдвое ниже такового у эулимфатических BMT реципиентов, свидетельствуя о важности тимического этапа в их развитии. В отличие от данных, полученных ранее на других экспериментальных моделях и выявивших наличие у экстралимфатических Т-лимфоцитов фенотипа активированных Т-клеток/Т-клеток памяти, в модели BMT $CD4^+$ Т-лимфоциты и большинство $CD8^+$ Т-лимфоцитов как у эулимфатических, так и у бестимульных мышей, экспрессировали маркеры наивных Т-клеток — $CD44^+CD62L^+$ (Holland et al., 2012). Экстралимфатические Т-лимфоциты у реципиентов BMT обладали широким антигенраспознающим (V β) репертуаром и функциями, сопоставимыми с функциями Т-клеток тимического происхождения, в частности, с пролиферацией и продукцией TNF α и IFN γ в ответ на поликлональную активацию. Интересно отметить, что аналогичные эксперименты на животных, лишенных лимфатических узлов, выявили важную роль последних в поддержании экстралимфатического развития Т-лимфоцитов после BMT.

В целом, исследование экстралимфатической дифференцировки Т-лимфоцитов на модели BMT выявило два важных момента: во-первых, такая дифференцировка при определенных условиях может приводить к формированию поликлонального пула наивных Т-лимфоцитов, аналогичных по фенотипу и функциям традиционным Т-клеткам тимического происхождения; во-вторых, данный процесс идет исключительно в лимфатических узлах.

ЭКСТРАЛИМФАТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА И РЕВИЗИЯ Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА

Обсуждая вопросы экстралимфатической дифференцировки $\alpha\beta$ Т-клеток, нельзя обойти вниманием еще одну серию работ, посвященных недавно открытому феномену — ревизии антигенного рецептора Т-лимфоцитов, то есть повторной индукции процессов реаранжировки в зрелых периферических Т-лимфоцитах, сопровождающейся формированием TCR с новой специфичностью (McMahan, Fink, 1998; Huang et al., 2002; Serra et al., 2002; Куклина, 2006). Строго говоря, ревизия TCR не имеет непосредственного отношения к экстралимфатической дифференцировке, поскольку инициируется в зрелых Т-лимфоцитах, уже сформировавших антигенный рецептор и прошедших процессы клональной селекции (предположительно — в тимусе). Тем не менее, поскольку в большинстве работ нет четких доказательств того, что индуцируемая в Т-клетках реаранжировка является именно повторной, а не первичной, на ней необходимо остановиться подробнее.

Наиболее убедительные данные по этой проблеме получены на $V\beta 5^+$ TCR-трансгенных мышах, то есть на мышах, у которых все T-лимфоциты несут антигенный рецептор одной специфичности, в связи с чем ее изменение легко зафиксировать (McMahan, Fink, 1998). Авторы показали, что у части $CD4^+$ T-клеток таких мышей в ответ на суперантиген запускается процесс, связанный с последовательной потерей экспрессии на мембране трансгенного $V\beta 5^+$ TCR, индукцией RAG-1, RAG-2, TdT и появлением эндогенной β -цепи TCR. Этот процесс и был назван “ревизией TCR”. Впоследствии на той же модели было показано, что вновь сформированный TCR-репертуар почти так же разнообразен, как и у не-трансгенных мышей, что ревизия TCR зависит от экспрессии CD28, присутствия В-лимфоцитов (Ali et al., 2003), и не ограничивается недавними тимическими эмигрантами – она индуцировалась в клетках, покинувших тимус более 2 месяцев назад (Cooper et al., 2003).

Наряду с этим, в литературе имеется еще целый ряд работ, в которых выявлен описанный феномен. Вторичная реаранжировка показана как в $CD4^+$ (Huang et al., 2002; Вуное et al., 2005; Lantelme et al., 2000; Vaitatis et al., 2003), так и в $CD8^+$ T-лимфоцитах (Serra et al., 2002), по TCR β (Вуное et al., 2005; Lantelme et al., 2000) и по TCR α -локусу (Huang et al., 2002). В основном она продемонстрирована у TCR-трансгенных животных (Huang et al., 2002; Вуное et al., 2005), но выявлялась также у мышей линии NOD (Non-Obese Diabetic), склонных к спонтанному развитию аутоиммунной формы диабета (Serra et al., 2002; Vaitatis et al., 2003), и в T-лимфоцитах периферической крови человека (Lantelme et al., 2000). При этом в T-клетках фиксировалась экспрессия рекомбиназ RAG-1 и RAG-2 (Huang et al., 2002; Serra et al., 2002; Вуное et al., 2005; Lantelme et al., 2000; Vaitatis et al., 2003), наличие промежуточных продуктов реаранжировки – двунитевых разрывов ДНК при сигнальных последовательностях рекомбинации (Huang et al., 2002; Lantelme et al., 2000), а для TCR-трансгенных животных – замена трансгенной цепи на эндогенную (Huang et al., 2002; Вуное et al., 2005).

Рассматривая процессы ревизии TCR в контексте статьи по экстратимической дифференцировке $\alpha\beta$ T-лимфоцитов, важно отметить, что оба процесса, разные по своей сути, фиксируются по экспрессии в клетке одних и тех же маркеров – маркеров реаранжировки генов TCR, рекомбиназ RAG1 и RAG2. При этом убедительные свидетельства того, что ревизии TCR подвергаются зрелые T-лимфоциты, успешно завершившие дифференцировку в тимусе, получены только для TCR-трансгенных животных (их по-другому и не получить). Поэтому в некоторых условиях эти два процесса могут накладываться друг на друга – на-

пример, при аутоиммунных заболеваниях, для которых показана и активация экстратимической дифференцировки T-лимфоцитов, и ревизии TCR, хотя, возможно, речь идет о каком-то одном из двух процессов, который на основании имеющихся на сегодняшний день данных вычлнить невозможно.

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСТРАТИМИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ $\alpha\beta$ T-ЛИМФОЦИТОВ

Наиболее убедительной и общепринятой на сегодняшний день является гипотеза о том, что экстратимическая дифференцировка $\alpha\beta$ T-лимфоцитов – это механизм компенсации тимических функций, сниженных вследствие временной или необратимой инволюции органа. Эта гипотеза имеет многочисленные подтверждения.

Практически все физиологические состояния, для которых фиксируется активация процессов экстратимического развития T-клеток, сопровождаются тимической атрофией. Это касается и возрастных изменений, при которых вклад экстратимической составляющей в дифференцировку T-клеток последовательно нарастает по мере необратимого угасания тимических функций (Pericik et al., 2010), и ситуаций связанных с обратимой инволюцией тимуса, таких как стресс или беременность. Обратимая инволюция обусловлена преимущественно истощением популяции $CD4^+CD8^+$ кортикальных тимоцитов вследствие апоптоза (Maruyama et al., 1999; Shimizu et al., 2000), который индуцируется главным образом гормонами: при стрессе – глюкокортикоидами и катехоламинами (Tsukahara et al., 1997; Maruyama et al., 1999; Shimizu et al., 2000), а при беременности – гормонами репродукции, в частности, эстрадиолом в высокой дозе (Okuyama et al., 1992; Narita et al., 1998; Zoller et al., 2007). Не случайно экстратимическая дифференцировка T-лимфоцитов может быть вызвана экзогенным введением тех же факторов, которые участвуют и в индукции тимической атрофии – глюкокортикоидов, катехоламинов или эстрогена (Tsukahara et al., 1997; Narita et al., 1998; Zoller et al., 2007).

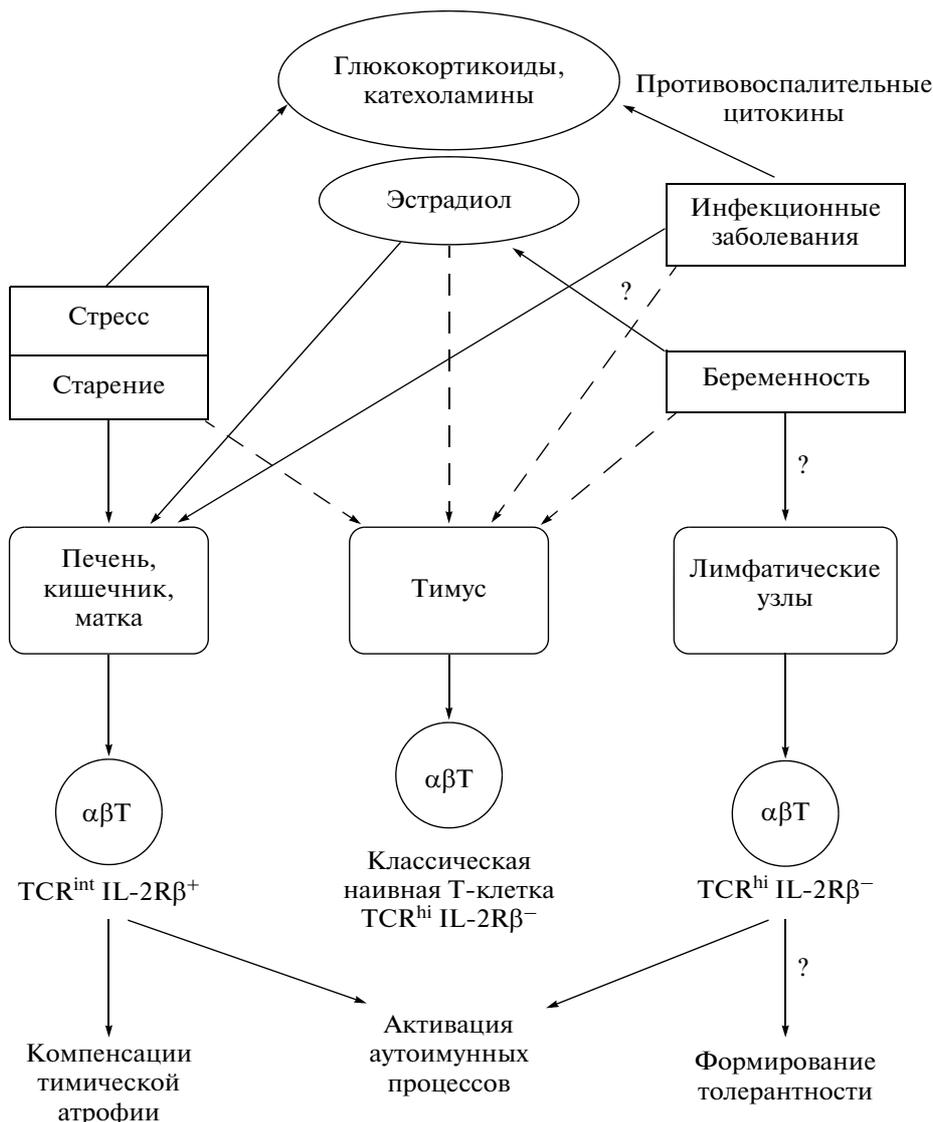
Что касается данных по активации экстратимического развития T-лимфоцитов при инфекционных заболеваниях, в частности, при малярийной инфекции, интересно отметить, что в тех же условиях фиксировалась и серьезная атрофия тимуса (Abo, 2001; Andrade et al., 2008). И этому есть логичное объяснение. Известно, что тимус чувствителен к действию многих инфекционных агентов, реагируя атрофией на поражение организма вирусами (ВИЧ), паразитами (*Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium berghei*, *Schistosoma mansoni*, *Trichinella spiralis*), а также некоторыми видами грибов (*Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma*

capsulatum) (Wellhausen, Boros, 1982; Savino et al., 1986; Souto et al., 2003; Pérez et al., 2007; Andrade et al., 2008). Изменения в тимусе при различных инфекционных заболеваниях имеют ряд общих черт: как правило, они выражаются в истощении популяции кортикальных CD4⁺CD8⁺-тимочитов в результате апоптоза, а также в потере четкого разделения между кортикальной и медуллярной зонами (Wellhausen, Boros, 1982; Pérez et al., 2007; Andrade et al., 2008; Francelin et al., 2011). В целом, описанные изменения аналогичны тем, которые наблюдаются при стрессе, и это неудивительно, поскольку опосредуется тимическая атрофия, вероятнее всего, глюкокортикоидами: уровень данных гормонов повышен при большинстве экспериментальных паразитарных инфекций, таких как малярия, токсоплазмозы, лейшманиозы и другие (Corrêa-de-Santana et al., 2006; Pérez et al., 2009). Наиболее известный общий механизм индукции синтеза глюкокортикоидов при инфекционных заболеваниях — стимулирующее действие провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, TNF α , на ось гипоталамус-гипофиз-надпочечники, результатом которого и является синтез глюкокортикоидов (Besedovsky et al., 1986; Turnbull, Rivier, 1999; Corrêa-de-Santana et al., 2006). Таким образом, именно действием стрессовых факторов на тимус объясняется, по-видимому, появление при малярии клеток с фенотипом IL-2R β ⁺TCR^{int}, характерным для экстратимических Т-лимфоцитов. Кроме того, можно ожидать, что аналогичные процессы имеют место и при большинстве других инфекционных заболеваний, сопровождаемых повышением выработки глюкокортикоидов.

С аутоиммунными заболеваниями ситуация сложнее. Активация экстратимической дифференцировки Т-клеток действительно часто фиксируется у животных, склонных к спонтанному развитию аутоиммунных процессов, в частности, у гибридов (NZBxNZW)F1 или у мышей MLR-lpr/lpr (Ohteki et al., 1990; Yamagiwa et al., 1996; Abo, 2001; Abo et al., 2012). Более того, нами ранее показана экспрессия маркеров реаранжировки генов TCR в периферических Т-лимфоцитах пациентов с аутоиммунной формой диабета (Куклина и др., 2011). Объяснения этому феномену пока не найдено, но здесь есть как минимум два варианта. С одной стороны, аутоиммунные заболевания, так же как и инфекционные, при выраженных клинических проявлениях могут сопровождаться выработкой стрессовых факторов (del Rey et al., 1998), которые, собственно, и опосредуют инициацию процессов экстратимического развития Т-клеток. С другой стороны, сами аутоиммунные патологии могут быть не причиной, а следствием активации в организме процессов экстратимической дифференцировки Т-лимфоцитов, поскольку при отсутствии в периферических лимфоидных органах условий для эффективной клональ-

ной селекции формирование Т-клеток вне тимуса неизбежно будет сопровождаться появлением клонов, реактивных в отношении собственных тканей, то есть провоцировать развитие аутоиммунных процессов. Это подтверждается данными по аутореактивности Т-лимфоцитов с промежуточным уровнем экспрессии TCR, т.е. экстратимического происхождения (Kawachi et al., 1995; Moroda et al., 1997; Abo et al., 2012). Кроме того, известно, что ОМ-трансгенные мыши, являющиеся наиболее популярной модельной системой для изучения экстратимической дифференцировки Т-клеток, чувствительны к развитию аутоиммунных заболеваний: у них выявляются антитела к двунитевой ДНК, спонтанно развиваются аутоиммунные дерматиты и гломерулонефриты (Clegg et al., 1999).

В целом, большинство имеющихся на сегодняшний день данных поддерживает гипотезу о том, что активация экстратимической дифференцировки $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов — это ответ организма на снижение функций тимуса, и играет исключительно компенсаторную роль как в физиологических условиях, так и при патологии. Большинство, но не все. Для объяснения необходимо вернуться к особенностям Т-клеток экстратимического происхождения. Хотя данные по этой теме немногочисленны, фрагментарны и не всегда сопоставимы, они все же позволяют выделить общие черты, не зависящие существенно ни от локализации Т-лимфоцитов, ни от условий активации процесса. Так, экстратимические Т-клетки часто имеют фенотип клеток памяти/активированных Т-лимфоцитов и отличаются от традиционных, наивных Т-лимфоцитов тимического происхождения пониженным уровнем экспрессии TCR (Iiai et al., 1992; Ohtsuka et al., 1994a; Ohtsuka et al., 1994b; Watanabe et al., 1995) и конститутивным присутствием на мембране β -цепи рецептора для интерлейкина 2 (Abo, 2001). Можно ожидать, что такие клетки при активации в меньшей степени зависят от костимулирующих сигналов и, как следствие, будут более реактивны при ответе на антиген, но, в то же время, менее специфичны. Последнее особенно важно, учитывая, что популяция экстратимических Т-лимфоцитов, как правило, олигоклональна (Abo, 2001), и это может приводить к неспособности адекватно отвечать на широкий спектр антигенов. Интересно отметить, что клетки с таким фенотипом и свойствами выявляются в разных сайтах экстратимической дифференцировки — в кишечнике, в печени и в матке (Ohtsuka et al., 1994a; Ohtsuka et al., 1994b; Fidel et al., 1996; Ibraghimov et al., 1995), и при различных физиологических (Rijhsinghani et al., 1996; Shinomiya et al., 1991; Ohteki et al., 1992) и патологических (Tsukahara et al., 1997; Maruyama et al., 1999; Shimizu et al., 2000; Abo 2001; Yamagiwa et al., 1996) состояниях. Более того, Т-лимфоциты с промежуточ-



Гипотетические механизмы активации экстратимической дифференцировки $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов. Примечания. Сплошные стрелки – стимуляция, прерывистые – ингибирование. TCR – Т-клеточный рецептор, $\alpha\beta$ Т – Т-лимфоциты, несущие $\alpha\beta$ TCR, TCR^{hi}/TCR^{int} – высокий/промежуточный уровень экспрессии TCR, IL-2R β – β -цепь рецептора для интерлейкина 2.

ным уровнем экспрессии TCR выявляются и при экзогенном введении стрессовых факторов или эстрадиола (Okuyama et al., 1992; Narita et al., 1998), подтверждая роль последних в индукции экстратимической дифференцировки при стрессе или беременности.

В то же время, работы по трансплантации костномозговых предшественников показали, что экстратимическая дифференцировка может приводить к формированию Т-лимфоцитов, аналогичных по своим свойствам традиционным Т-клеткам тимического происхождения – с фенотипом наивных лимфоцитов, высоким уровнем экспрессии TCR и полноценным антиген-распознающим репертуаром. Однако формиро-

вание таких Т-лимфоцитов возможно только в лимфатических узлах, поскольку у генетически модифицированных мышей, лишенных лимфоузлов, эти процессы не выявляются (Holland et al., 2012).

Лимфатические узлы экспрессируют значительное количество факторов, необходимых для развития Т-лимфоцитов, включая Notch-лиганды, IL-7, а также антигены периферических тканей, важные для коммитирования и селекции Т-клеточных предшественников (Terra et al., 2005; Fletcher et al., 2010; Link et al., 2007; Malhotra et al., 2013). Однако их способность брать на себя функции тимуса показана на сегодняшний день только на экспериментальных моделях, с использовани-

ем онкостатина М или ВМТ, и преимущественно для мезентериальных лимфоузлов. В частности, известно, что онкостатин М при экзогенном введении способен трансформировать мезентериальные лимфоузлы в органы, даже по структуре напоминающие тимус, и способные поддерживать дифференцировку Т-клеточных предшественников (Arcangeli et al., 2005; Maillard et al., 2006; Holland et al., 2012).

Аналогичный тип экстратимической дифференцировки, возможно, инициируется и при беременности. На это указывает целый ряд данных. Во-первых, в недавней работе мы показали экспрессию маркеров реаранжировки генов TCR, RAG1 и RAG2, в Т-лимфоцитах беременных мышей. Наиболее выраженными эти показатели были в парааортальных лимфатических узлах, дренирующих матку (Ширшев и др., 2007), однако клеток с промежуточным уровнем экспрессии TCR в этом случае не выявлялось (Ширшев и др., 2007). Во-вторых, онкостатин М, способный индуцировать экстратимическую дифференцировку в лимфатических узлах, играет важную роль при беременности: его уровень существенно повышен в этот период, особенно в плодно-материнской интерфазе (Ogata et al., 2000). Таким образом, индукция экстратимической дифференцировки Т-лимфоцитов при беременности может быть не только способом компенсации временной тимической инволюции, но и механизмом формирования толерантности, конкретно – пула Т-лимфоцитов, ареактивных в отношении антигенов плода и плаценты (Ширшев, 2009).

Суммируя приведенные выше данные, можно предположить, что экстратимическое развитие Т-лимфоцитов идет по двум направлениям. С одной стороны, в традиционных сайтах экстратимической дифференцировки (в печени, кишечнике, матке и др.) происходит формирование клеток с повышенной реактивностью и меньшей специфичностью к антигену. Возможно, такие клетки являются связующим звеном между врожденным (неспецифичным) и адаптивным (специфичным) иммунитетом (рисунок). Этот процесс идет в норме и усиливается в ответ на снижение тимических функций, играя в данном случае компенсаторную роль. С другой стороны, при определенных условиях под действием тех или иных факторов процессы экстратимического развития запускаются в лимфатических узлах и приводят к формированию пула полноценных Т-лимфоцитов с уникальным антигенраспознающим репертуаром, отвечающим локальным нуждам. При наличии на периферии условий для эффективной клональной селекции этот процесс может быть дополнительным механизмом формирования толерантности, а при отсутствии таких условий – напротив, источником появления в организме аутореактивных Т-клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Куклина Е.М. Ревизия антигенного рецептора Т-лимфоцитов // Биохимия. 2006. Т. 71(8). С. 1021–1033.
- Куклина Е.М., Горбунова О.Л., Смирнова Е.Н. Роль CD40-зависимого сигнала в индукции экспрессии рекомбиназы RAG-1 в периферических Т-лимфоцитах пациентов с аутоиммунной формой диабета // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 152(9). С. 306–309.
- Куклина Е.М., Некрасова И.В., Шуклина О.Л., Байдина Т.В., Данченко И.В. Индукция рекомбиназной активности в периферических Т-лимфоцитах при рассеянном склерозе // Доклады АН. 2013. Т. 453(5). С. 571–573.
- Ширшев С.В., Куклина Е.М., Максимов А.Ю. и др. Экстратимическая реаранжировка генов антигенного рецептора $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов при беременности // Биохимия. 2007. Т. 72. № 9. С. 1207–1213.
- Ширшев С.В. Иммунология материнско-фетальных взаимодействий. Екатеринбург: УрО РАН, 2009. 583 с.
- Abo T. Extrathymic pathways of T-cell differentiation and immunomodulation // Int. Immunol. 2001. V. 1. P. 1261–1273.
- Abo T., Tomiyama C., Watanabe H. Biology of extrathymic T cells and B-1 cells of the innate immune system // Immunol. Res. 2012. V. 52. P. 224–230.
- Agosti V., Corbacioglu S., Ehlers I. Critical role for Kit-mediated Src kinase but not PI 3-kinase signaling in pro T and pro B cell development // J. Exp. Med. 2004. V. 199(6). P. 867–878.
- Akashi K., Kondo M., Weissman I.L. Role of interleukin-7 in T-cell development from hematopoietic stem cells // Immunol. Rev. 1998. V. 165. P. 13–28.
- Ali M., Weinreich M., Balcaitis S. et al. Differential regulation of peripheral CD4+ T cell tolerance induced by deletion and TCR revision // J. Immunol. 2003. V. 171(11). P. 6290–6296.
- Allman D., Sambandam A., Kim S. Thymopoiesis independent of common lymphoid progenitors // Nat. Immunol. 2003. V. 4(2). P. 168–174.
- Andrade C.F., Gameiro J., Nagib P.R.A. et al. Thymic alterations in *Plasmodium berghei*-infected mice // Cell. Immunol. 2008. V. 253. P. 1–4.
- Arai K., Iiai T., Nakayama M. et al. Adhesion molecules on intermediate TCR cells. I. Unique expression of adhesion molecules, CD44⁺ L-selectin⁻, on intermediate TCR cells in the liver and the modulation of their adhesion by hyaluronic acid // Immunology. 1995. V. 84(1). P. 64–71.
- Arcangeli M.L., Lancrin C., Lambolez F. et al. Extrathymic hemopoietic progenitors committed to T cell differentiation in the adult mouse // J. Immunol. 2005. V. 174(4). P. 1980–1988.
- Besedovsky H., del Rey A., Sorkin E. et al. Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones // Science. 1986. V. 233. P. 652–654.
- Blais M.E., Gerard G., Martinic M.M. et al. Do thymically and strictly extrathymically developing T cells generate

- similar immune responses? // *Blood*. 2004. V. 103(8). P. 3102–3110.
- Blais M.E., Louis I., Perreault C. T-cell development: an extrathymic perspective // *Immunol. Rev.* 2006. V. 209. P. 103–114.
- Boileau C., Houde M., Dulude G. et al. Regulation of extrathymic T cell development and turnover by oncostatin M // *J. Immunol.* 2000. V. 164(11). P. 5713–5720.
- Buscone S., Garavello W., Pagni F. et al. Nasopharyngeal tonsils (adenoids) contain extrathymic corticostimulatory T cells // *PLoS One*. 2014. V. 9(5). P. e98222.
- Bynoe M.S., Viret C., Flavell R.A. et al. T cells from epicutaneously immunized mice are prone to T cell receptor revision // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102(8). P. 2898–2903.
- Clegg C.H., Ruffes J.T., Wallace P.M. et al. Regulation of an extrathymic T-cell development pathway by oncostatin M // *Nature*. 1996. V. 384(6606). P. 261–263.
- Clegg C.H., Haugen H.S., Ruffes J.T. et al. Oncostatin M transforms lymphoid tissue function in transgenic mice by stimulating lymph node T-cell development and thymus autoantibody production // *Exp. Hematol.* 1999. V. 27(4). P. 712–725.
- Cobas M., Wilson A., Ernst B. Beta-catenin is dispensable for hematopoiesis and lymphopoiesis // *J. Exp. Med.* 2004. V. 199(2). P. 221–229.
- Cooper C.J., Orr M.T., McMahan C.J. et al. T cell receptor revision does not solely target recent thymic emigrants // *J. Immunol.* 2003. V. 171(1). P. 226–233.
- Corrêa-de-Santana E., Paez-Pereda M., Theodoropoulou M. et al. Hypothalamus-pituitary-adrenal axis during *Trypanosoma cruzi* acute infection in mice // *J. Neuroimmunol.* 2006. V. 173. P. 12–22.
- Dejbakhsh-Jones S., Jerabek L., Weissman I.L. et al. Extrathymic maturation of alpha beta T cells from hematopoietic stem cells // *J. Immunol.* 1995. V. 155(7). P. 3338–3344.
- Del Rey A., Klusman I., Besedovsky H.O. Cytokines mediate protective stimulation of glucocorticoid output during autoimmunity: involvement of IL-1 // *Am. J. Physiol.* 1998. V. 275. P. R1146–R1151.
- Douglas G.C., King B.F. Maternal-fetal transmission of human immunodeficiency virus: a review of possible routes and cellular mechanisms of infection // *Clin. Infect. Dis.* 1992. V. 15. P. 678–683.
- Fidel P.L.-Jr., Wolf N.A., KuKuruga M.A. T lymphocytes in the murine vaginal mucosa are phenotypically distinct from those in the periphery // *Infect. Immun.* 1996. V. 64(9). P. 3793–3799.
- Fidel P.L.-Jr., Luo W., Steele C. et al. Analysis of vaginal cell populations during experimental vaginal candidiasis // *Infect. Immun.* 1999. V. 67(6). P. 3135–3140.
- Fletcher A.L., Lukacs-Kornek V., Reynoso E.D. et al. Lymph node fibroblastic reticular cells directly present peripheral tissue antigen under steady-state and inflammatory conditions // *J. Exp. Med.* 2010. V. 207(4). P. 689–697.
- Francelin C., Paulino L.C., Gameiro J., Verinaud L. Effects of *Plasmodium berghei* on thymus: high levels of apoptosis and premature egress of CD4(+)CD8(+) thymocytes in experimentally infected mice // *Immunobiology*. 2011. V. 216. P. 1148–1154.
- García-Ojeda M.E., Dejbakhsh-Jones S., Chatterjea-Mathes D. et al. Stepwise development of committed progenitors in the bone marrow that generate functional T cells in the absence of the thymus // *J. Immunol.* 2005. V. 175(7). P. 4363–4373.
- Ghaleb M., Hamad M., Abu-Elteen K.H. Vaginal T lymphocyte population kinetics during experimental vaginal candidiasis: evidence for a possible role of CD8+ T cells in protection against vaginal candidiasis // *Clin. Exp. Immunol.* 2003. V. 131(1). P. 26–33.
- Guy-Grand D., Vassalli P. Gut intraepithelial lymphocyte development // *Curr. Opin. Immunol.* 2002. V. 14(2). P. 255–259.
- Guy-Grand D., Azogui O., Celli S. et al. Extrathymic T cell lymphopoiesis: ontogeny and contribution to gut intraepithelial lymphocytes in athymic and euthymic mice // *J. Exp. Med.* 2003. V. 197(3). P. 333–341.
- Guy-Grand D., Vassalli P., Eberl J. et al. Origin, trafficking, and intraepithelial fate of gut-tropic T cells // *J. Exp. Med.* 2013. V. 210(9). P. 1839–1854.
- Hamad M. The case for extrathymic development of vaginal T lymphocytes // *J. Reprod. Immunol.* 2008. V. 77(2). P. 109–116.
- Harman B.C., Jenkinson E.J., Anderson G. Microenvironmental regulation of Notch signalling in T cell development // *Semin. Immunol.* 2003. V. 15(2). P. 91–97.
- Hayakawa S., Saito S., Nemoto N. Expression of recombination-activating genes (RAG-1 and 2) in human decidua mononuclear cells // *J. Immunol.* 1994. V. 153(11). P. 4934–4939.
- Hayday A., Tigelaar R. Immunoregulation in the tissues by gammadelta T cells // *Nat. Rev. Immunol.* 2003. V. 3(3). P. 233–242.
- Holland A.M., Zakrzewski J.L., Tsai J.J. et al. Extrathymic development of murine T cells after bone marrow transplantation // *J. Clin. Invest.* 2012. V. 122(12). P. 4716–4726.
- Hong C., Luckey M.A., Park J.H. Intrathymic IL-7: the where, when, and why of IL-7 signaling during T cell development // *Semin. Immunol.* 2012. V. 24(3). P. 151–158.
- Huang C.Y., Golub R., Wu G.E. et al. Superantigen-induced TCR alpha locus secondary rearrangement: role in tolerance induction // *J. Immunol.* 2002. V. 168(7). P. 3259–3265.
- Ibraghimov A.R., Sacco R.E., Sandor M. et al. Resident CD4+ alpha beta T cells of the murine female genital tract: a phenotypically distinct T cell lineage that rapidly proliferates in response to systemic T cell activation stimuli // *Int. Immunol.* 1995. V. 7(11). P. 1763–1769.
- Iiai T., Watanabe H., Seki S. et al. Ontogeny and development of extrathymic T cells in mouse liver // *Immunology*. 1992. V. 77(4). P. 556–563.
- Ishimoto Y., Tomiyama-Miyaji C., Watanabe H. et al. Age-dependent variation in the proportion and number of intestinal lymphocyte subsets, especially natural killer T cells, double-positive CD4+CD8+ cells and B220+

- T cells, in mice // *Immunology*. 2004. V. 113. P. 371–377.
- Johansson M., Lycke N.* A unique population of extrathymically derived alpha beta TCR⁺CD4⁺CD8⁻ T cells with regulatory functions dominates the mouse female genital tract // *J. Immunol.* 2003. V. 170(4). P. 1659–1666.
- Kawachi Y., Arai K., Watanabe H. et al.* Supportive cellular elements for hepatic T cell differentiation: T cells expressing intermediate levels of the T cell receptor are cytotoxic against syngenic hepatoma, and are lost after hepatocyte damage // *Eur. J. Immunol.* 1995. V. 25. P. 3452–3459.
- Kimura M., Hanawa H., Watanabe H. et al.* Synchronous expansion of intermediate TCR cells in the liver and uterus during pregnancy // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1995. V. 162. P. 16–25.
- Koch U., Radtke F.* Mechanisms of T cell development and transformation // *Cell. Immunol.* 2011. V. 27. P. 539–562.
- Kondo M., Weissman I.L., Akashi K.* Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow // *Cell.* 1997. V. 91(5). P. 661–672.
- Lantelme E., Palermo B., Granziero L. et al.* Cutting edge: recombinase-activating gene expression and V(D)J recombination in CD4⁺CD3^{low} mature T lymphocytes // *J. Immunol.* 2000. V. 164(7). P. 3455–3459.
- Lindberg R.A., Juan T.S., Welcher A.A. et al.* Cloning and characterization of a specific receptor for mouse oncostatin M // *Mol. Cell. Biol.* 1998. V. 18(6). P. 3357–3367.
- Link A., Vogt T.K., Favre S. et al.* Fibroblastic reticular cells in lymph nodes regulate the homeostasis of naive T cells // *Nat. Immunol.* 2007. V. 8(11). P. 1255–1265.
- Maillard I., Schwarz B.A., Sambandam A. et al.* Notch-dependent T-lineage commitment occurs at extrathymic sites following bone marrow transplantation // *Blood.* 2006. V. 107(9). P. 3511–3519.
- Malhotra D., Fletcher A.L., Turley S.J.* Stromal and hematopoietic cells in secondary lymphoid organs: partners in immunity // *Immunol. Rev.* 2013. V. 251(1). P. 160–176.
- Malik N., Haugen H.S., Modrell B. et al.* Developmental abnormalities in mice transgenic for bovine oncostatin M // *Mol. Cell. Biol.* 1995. V. 15(5). P. 2349–2358.
- Mannoor M.K., Halter R.C., Morshed S.R. et al.* Essential role of extrathymic T cells in protection against malaria // *J. Immunol.* 2002. V. 169. P. 301–306.
- Martin C.H., Aifantis I., Scimone M.L.* Efficient thymic immigration of B220⁺ lymphoid-restricted bone marrow cells with T precursor potential // *Nat. Immunol.* 2003. V. 4(9). P. 866–873.
- Maruyama S., Tsukahara A., Suzuki S. et al.* Quick recovery in the generation of self-reactive CD4^{low} natural killer (NK) T cells by an alternative intrathymic pathway when restored from acute thymic atrophy // *Clin. Exp. Immunol.* 1999. V. 117(3). P. 587–595.
- McMahan C.J., Fink P.J.* RAG reexpression and DNA recombination at T cell receptor loci in peripheral CD4⁺ T cells // *Immunity*. 1998. V. 9(5). P. 637–647.
- Minagawa M., Narita J., Tada T. et al.* Mechanisms underlying immunologic states during pregnancy: possible association of the sympathetic nervous system // *Cell. Immunol.* 1999. V. 196(1). P. 1–13.
- Mincheva-Nilsson L., Kling M., Hammarstrom S.* Gamma delta T cells of human early pregnancy decidua: evidence for local proliferation, phenotypic heterogeneity, and extrathymic differentiation // *J. Immunol.* 1997. V. 159. P. 3266–3277.
- Moroda T., Iiai T., Suzuki S. et al.* Autologous killing by a population of intermediate TCR cells and its NK1.1⁺ and NK1.1⁻ subsets, using Fas ligand/Fas molecules // *Immunology*. 1997. V. 91. P. 219–226.
- Naito T., Tanaka H., Naoe Y. et al.* Transcriptional control of T-cell development // *Int. Immunol.* 2011. V. 23 (11). P. 661–668.
- Nakayama M., Arai K., Hasegawa K. et al.* Adhesion molecules on intermediate TCR cells. II. Hepatoprotective effects of hyaluronic acid on acute liver injury // *Cell. Immunol.* 1995. V. 166(2). P. 275–285.
- Narayan K., Sylvia K.E., Malhotra N. et al.* Intrathymic programming of effector fates in three molecularly distinct $\gamma\delta$ T cell subtypes // *Nat. Immunol.* 2012. V. 13(5). P. 511–518.
- Narita J., Kawamura T., Watanabe H.* Differentiation of forbidden T cell clones and granulocytes in the parenchymal space of the liver in mice treated with estrogen // *Cell. Immunol.* 1998. V. 185(1). P. 1–13.
- Narita J., Miyaji C., Miyaji C. et al.* Abundance of NKT cells in the salivary glands but absence thereof in the liver and thymus of *aly/aly* mice with Sjorgen syndrome // *Cell. Immunol.* 1999. V. 192. P. 149–158.
- Nishana M., Raghavan S.C.* Role of recombination activating genes in the generation of antigen receptor diversity and beyond // *Immunology*. 2012. V. 137(4). P. 271–281.
- Ogata I., Shimoya K., Mortyama A. et al.* Oncostatin M is produced during pregnancy by decidual cells and stimulates the release of HCG // *Mol. Hum. Reprod.* 2000. V. 6(8). P. 750–757.
- Ohteki T., Seki S., Abo T. et al.* Liver is a possible site for the proliferation of abnormal CD3⁺4⁻8⁻ double-negative lymphocytes in autoimmune MRL-lpr/lpr mice // *J. Exp. Med.* 1990. V. 172(1). P. 7–12.
- Ohteki T., Okuyama R., Seki S. et al.* Age-dependent increase of extrathymic T cells in the liver and their appearance in the periphery of older mice // *J. Immunol.* 1992. V. 149(5). P. 1562–1570.
- Ohtsuka K., Hasegawa K., Sato K. et al.* A similar expression pattern of adhesion molecules between intermediate TCR cells in the liver and intraepithelial lymphocytes in the intestine // *Microbiol. Immunol.* 1994a. V. 38(8). P. 677–683.
- Ohtsuka K., Iiai T., Watanabe H. et al.* Similarities and differences between extrathymic T cells residing in mouse liver and intestine // *Cell. Immunol.* 1994b. V. 153(1). P. 52–66.
- Ohtsuka K., Sato K., Watanabe H. et al.* Unique order of the lymphocyte subset induction in the liver and intestine

- of mice during *Listeria monocytogenes* infection // *Cell. Immunol.* 1995. V. 161(1). P. 112–124.
- Okuyama R., Abo T., Seki S. et al.* Estrogen administration activates extrathymic T cell differentiation in the liver // *J. Exp. Med.* 1992. V. 175(3). P. 661–669.
- Pérez A.R., Roggero E., Nicora A. et al.* Thymus atrophy during *Trypanosoma cruzi* infection is caused by an immunoenocrine imbalance // *Brain Behav. Immun.* 2007. V. 21. P. 890–900.
- Pérez A.R., Bottasso O., Savino W.* The impact of infectious diseases upon neuroendocrine circuits // *Neuroimmunomodulation.* 2009. V. 16. P. 96–105.
- Pericik M., Arsenovic-Ranin M., Pilipovic I. et al.* Role of ovarian hormones in age-associated thymic involution revisited // *Immunobiology.* 2010. V. 215(4). P. 275–293.
- Prinz I., Silva-Santos B., Pennington D.J.* Functional development of $\gamma\delta$ T cells // *Eur. J. Immunol.* 2013. V. 43(8). P. 1988–1994.
- Radtko F., Wilson A., Mancini S.J.* Notch regulation of lymphocyte development and function // *Nat. Immunol.* 2004. V. 5(3). P. 247–253.
- Rijhsinghani A.G., Bhatia S.K., Tygrett L.T. et al.* Effect of pregnancy on thymic T cell development // *Am. J. Reprod. Immunol.* 1996. V. 35(6). P. 523–528.
- Rocha B.* Characterization of V β -bearing cells in athymic (nu/nu) mice suggests an extrathymic pathway for T cell differentiation // *Eur. J. Immunol.* 1990. V. 20. P. 919–925.
- Rocha B., Guy-Grand D., Vassalli P.* Extrathymic T cell differentiation // *Curr. Opin. Immunol.* 1995. V. 7(2). P. 235–242.
- Sato N., Meijer L., Skaltsounis L. et al.* Maintenance of pluripotency in human and mouse embryonic stem cells through activation of Wnt signaling by a pharmacological GSK-3-specific inhibitor // *Nat. Med.* 2004. V. 10(1). P. 55–63.
- Savino W., Dardenne M., Marche C.* Thymic epithelium in AIDS. An immunohistologic study // *Am. J. Pathol.* 1986. V. 122. P. 302–307.
- Seki S., Abo T., Ohteki T. et al.* Unusual alpha beta-T cells expanded in autoimmune lpr mice are probably a counterpart of normal T cells in the liver // *J. Immunol.* 1991. V. 147(4). P. 1214–1221.
- Serra P., Amrani A., Han B. et al.* RAG-dependent peripheral T cell receptor diversification in CD8+ T lymphocytes // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002. V. 99(24). P. 15566–15571.
- Shah D.K., Zuniga-Pflucker J.C.* An overview of the intrathymic intricacies of T cell development // *J. Immunol.* 2014. V. 192(9). P. 4017–4023.
- Shen M.M., Skoda R.C., Cardiff R.D. et al.* Expression of LIF in transgenic mice results in altered thymic epithelium and apparent interconversion of thymic and lymph node morphologies // *EMBO J.* 1994. V. 13(6). P. 1375–1385.
- Shimizu T., Kawamura T., Miyaji C. et al.* Resistance of extrathymic T cells to stress and the role of endogenous glucocorticoids in stress associated immunosuppression // *Scand. J. Immunol.* 2000. V. 51(3). P. 285–292.
- Shinomiya N., Tsuru S., Tsugita M. et al.* Thymic depletion in pregnancy: kinetics of thymocytes and immunologic capacities of the hosts // *J. Clin. Lab. Immunol.* 1991. V. 34(1). P. 11–22.
- Souto P.C.S., Brito V.N., Gameiro J. et al.* Programmed cell death in thymus during experimental paracoccidiodomycosis // *Med. Microbiol. Immunol.* 2003. V. 192. P. 225–229.
- Sperling A.I., Green J.M., Mosley R.L. et al.* CD43 is a murine T cell costimulatory receptor that functions independently of CD28 // *J. Exp. Med.* 1995. V. 182(1). P. 139–146.
- Sprent J., Schaefer M., Hurd M. et al.* Mature murine B and T cells transferred to SCID mice can survive indefinitely and many maintain a virgin phenotype // *J. Exp. Med.* 1991. V. 174(3). P. 717–728.
- Staal F.J., Meeldijk J., Moerer P.* Wnt signaling is required for thymocyte development and activates Tcf-1 mediated transcription // *Eur. J. Immunol.* 2001. V. 31(1). P. 285–293.
- Staal F.J., Weerkamp F., Baert M.R.* Wnt target genes identified by DNA microarrays in immature CD34+ thymocytes regulate proliferation and cell adhesion // *J. Immunol.* 2004. V. 172(2). P. 1099–1108.
- Sugahara S., Kuwano Y., Sato K. et al.* Oligoclonality of TCRint cells with a low diversity of TCR complementarity-determining region 3 in mice with graft-versus-host disease // *Scand. J. Immunol.* 1998. V. 48(6). P. 592–604.
- Terra R., Labrecque N., Perreault C.* Thymic and extrathymic T cell development pathways follow different rules // *J. Immunol.* 2002. V. 169(2). P. 684–692.
- Terra R., Louis I., Le Blanc R. et al.* T-cell generation by lymph node resident progenitor cells // *Blood.* 2005. V. 106(1). P. 193–200.
- Tsukahara A., Tada T., Suzuki S.* Adrenergic stimulation simultaneously induces the expansion of granulocytes and extrathymic T-cells in mice // *Biomed. Res.* 1997. V. 18. P. 237–246.
- Turnbull A.V., Rivier C.L.* Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action // *Physiol. Rev.* 1999. V. 79. P. 1–71.
- Vaitatis G.M., Poulin M., Sanderson R.J.* Cutting edge: CD40-induced expression of recombination activating gene (RAG)1 and RAG2: a mechanism for the generation of autoaggressive T cells in the periphery // *J. Immunol.* 2003. V. 170. P. 3455–3459.
- Vicente R., Swainson L., Marty-Gres S. et al.* Molecular and cellular basis of T cell lineage commitment // *Semin. Immunol.* 2010. V. 22. P. 270–275.
- Watanabe H., Ohtsuka K., Kimura M. et al.* Details of an isolation method for hepatic lymphocytes in mice // *J. Immunol. Methods.* 1992. V. 146(2). P. 145–154.
- Watanabe H., Iiai T., Kimura M. et al.* Characterization of intermediate TCR cells in the liver of mice with respect to their unique IL-2R expression // *Cell. Immunol.* 1993. V. 149(2). P. 331–342.

- Watanabe H., Miyaji C., Kawachi Y. et al.* Relationships between intermediate TCR cells and NK1.1+ T cells in various immune organs. NK1.1+ T cells are present within a population of intermediate TCR cells // *J. Immunol.* 1995. V. 155(6). P. 2972–2983.
- Weerasinghe A., Sekikawa H., Watanabe H. et al.* Association of intermediate T cell receptor cells, mainly their NK1.1– subset, with protection from malaria // *Cell. Immunol.* 2001. V. 207. P. 28–35.
- Wellhausen S.R., Boros D.L.* Atrophy of the thymic cortex in mice with granulomatous *Schistosomiasis mansoni* // *Infect. Immun.* 1982. V. 35. P. 1063–1069.
- Yamagiwa S., Kuwano Y., Hasegawa K. et al.* Existence of a small population of IL-2R beta hi TCRint cells in SCG and MRL-lpr/lpr mice which produce normal Fas mRNA and Fas molecules from the lpr gene // *Eur. J. Immunol.* 1996. V. 26(7). P. 1409–1416.
- Xu Y., Banerjee D., Huelsken J.* Deletion of beta-catenin impairs T cell development // *Nat. Immunol.* 2003. V. 4(12). P. 1177–1182.
- Zoller A.L., Frederick J.S., Gilbert J.K.* Murine pregnancy leads to reduced proliferation of maternal thymocytes and decreased thymic emigration // *Immunology.* 2007. V. 121(2). P. 207–215.

Extrathymic Differentiation of $\alpha\beta$ T Lymphocytes

E. M. Kuklina, N. S. Glebezdina

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms RAS

614081 Perm, ul. Goleva, 13

e-mail: ibis_07@mail.ru

Received December 24, 2013; in final form, February 2, 2015

Extrathymic differentiation is an alternative way of $\alpha\beta$ T lymphocyte development. In normal conditions it is expressed slightly and limited mainly to the liver and intestinal mucous. However, it increases significantly with age, as well as in certain physiological and pathological conditions, being more widespread. In the review, the phenotypical and functional features of extrathymic T lymphocytes have been considered in detail depending on their localization and a way of the process activation. The mechanisms of such differentiation induction have been analyzed. Special attention is paid to the biological significance of extrathymic $\alpha\beta$ T cell development.

Keywords: extrathymic differentiation, $\alpha\beta$ T lymphocytes, stress, pregnancy, infection diseases, autoimmunity