DOI: 10.15825/1995-1191-2015-4-104-117

ПУТИ РАСПОЗНАВАНИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ АНТИГЕНОВ ПРИ АДАПТИВНОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ НА АЛЛОГЕННУЮ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ОРГАНОВ

А.С. Беркос[1], Г.В. Николаев[2]

[1] ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург, Российская Федерация

[2] ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

В основе реакции иммунологического отторжения аллогенного трансплантата лежит процесс распознавания донорских антигенов Т-клеточными рецепторами. В качестве антигенов, как правило, выступают молекулы главного комплекса гистосовместимости, экспрессированные клетками тканей донорского органа. По своей активности иммунный ответ на аллогенный трансплантат в значительной степени превышает реакцию на обычную инфекцию и характеризуется стойкой иммунологической памятью. При этом базовые механизмы распознавания антигена при инфекции и аллотрансплантации, по-видимому, должны быть сходными. В данном обзоре рассматриваются три основных пути распознавания аллоантигенов, принципиально различающиеся природой антигенпрезентирующих клеток, кинетикой и продолжительностью своего влияния на формирование аллоиммунитета: прямой, непрямой и смешанный. Установление взаимосвязи механизмов аллораспознавания с проявлениями реакции отторжения трансплантата имеет важное клиническое значение.

Ключевые слова: аллогенный трансплантат, аллораспознавание, главный комплекс гистосовместимости, антигенпрезентирующие клетки, Т-клеточный рецептор.

PATHWAYS OF RECOGNITION OF FOREIGN ANTIGENS IN THE ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE TO ALLOGENEIC ORGAN TRANSPLANTATION

A.S. Berkos[1], G.V. Nikolaev[2]

[1] Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint Petersburg, Russian Federation

[2] Federal State Institution «Federal North-West Medical Research Centre» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

Immunological allograft rejection is based on the process of recognition of donor antigens by T-cell receptors. Antigens are generally represented by molecules of major hystocompatibility complex (MHC), expressed by the donor organ tissue cells. Immune response to allogeneic transplant in its activity is greatly higher than response to conventional infection wherein the basic mechanisms of recognition of infectious antigens and alloantigens seem to be similar. In this review we have analyzed three main pathways of recognition of alloantigens. Those pathways are differentiated by the nature of antigen presenting cells, kinetics and duration of its influence on the formation of alloimmunity: direct, indirect and semidirect. Establishing the relationship between mechanisms of allorecognition and manifestations of graft rejection is of great clinical importance.

Key words: allograft, allorecognition, major histocompatibility complex, antigen presenting cells, T-cell receptor.

ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация прочно вошла в практику лечения терминальных состояний, связанных с утратой функции жизненно важных органов и тканей. Однако главной преградой на пути достижения длительного приживления трансплантата

Для корреспонденции: Беркос Андрей Станиславович. Адрес: 196601, Санкт-Петербург, Пушкин, ул. Жуковско-Волынская, д. 4а. Тел.: (812) 451-90-52, (911) 952-59-80. E-mail: aberkos@yandex.ru.

For correspondence: Berkos Andrey Stanislavovich. Address: 4a Zhukovsko-Volynskaya st., Pushkin, St-Petersburg, 196601, Russian Federation. Tel.: (812) 451-90-52, (911) 952-59-80. E-mail: aberkos@yandex.ru.

остается проблема иммунологической несовместимости донора и реципиента. Изучение механизмов иммунологического отторжения аллогенного трансплантата, а также понимание сути биологических процессов, лежащих в основе распознавания аллогенных антигенов, как чужеродных организму реципиента является сегодня очень важным с практической и крайне интересным с научной точки зрения.

Очевидно, что защита организма от проникновения в его внутреннюю среду органов другой особи с целью замены утраченных собственных органов не была предусмотрена природой. Удивительно, но по своей активности иммунный ответ на аллогенный трансплантат в значительной степени превышает реакцию на обычную инфекцию и характеризуется стойкой иммунологической памятью. Установлено, что до 10% индивидуального Т-клеточного репертуара реагирует с аллоантигенами. В то же время менее 0,001% Т-клеток обладают рецепторами, специфичными к обычным пептидным антигенам, в том числе инфекционного происхождения [1–3]. При этом базовые механизмы распознавания антигена при инфекции и аллотрансплантации, по-видимому, должны быть сходными. Вместе с тем следует отметить, что в обычных условиях взаимодействие организма с аллоантигенами является неотъемлемой частью физиологических процессов, обеспечивающих нормальное развитие плода при беременности, где плод, по сути, является «семиаллогенным трансплантатом». Считается, что такое взаимодействие не только индуцирует толерантность материнской иммунной системы к унаследованным плодом отцовским HLA-антигенам (inherited paternal antigens) (IPA), но и обеспечивает нормальное развитие иммунной системы плода при ее взаимодействии с неунаследованными материнскими HLA-антигенами (noninherited maternal antigens) (NIMA) [4]. Все это предполагает гетерогенность механизмов, вовлеченных в процесс иммунологического распознавания аллоантигенов при трансплантации и наличие особенностей, свойственных только этому процессу.

1. РАСПОЗНАВАНИЕ АНТИГЕНОВ

В основе процесса распознавания чужеродных антигенов лежит механизм презентации антигенных пептидов Т-лимфоцитам, обладающим широким репертуаром Т-клеточных рецепторов (ТкР). ТкР способны специфично связываться с антигенами, что приводит к активации Т-клетки, пролиферации и запуску каскада реакций, направленных на уничтожение источника этих антигенов. Роль антигенпрезентирующих клеток (АПК) играют дендритные клетки (ДК), макрофаги и В-лимфоциты. При этом Т-клетка будет активироваться только при условии, что АПК экспрессирует тот же гаплотип главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex) (MHC), что и данная Т-клетка. Этот феномен получил название «рестрикция по гаплотипу», а процесс распознавания антигенного пептида в комплексе с собственной молекулой MHC – «двойное распознавание». В случае «экзогенной инфекции», развивающейся в межклеточном пространстве, АПК презентируют антигенный пептид в комплексе с MHC II класса для распознавания $CD4^+$ Т-клетками (Т-хелперы). При «эндогенной инфекции», существующей внутри клетки, антигенный пептид презентируется в комплексе с MHC I класса для распознавания $CD8^+$ Т-клетками (цитотоксические Т-клетки). Парадигма «двойного распознавания», предложенная в 1974 г. нобелевскими лауреатами Р. Цинкернагелем и П. Догерти, по сей день является базовой при изучении иммунного ответа на различные антигены [5].

Характерной особенностью MHC является его высочайший полиморфизм, современная номенклатура включает более 4000 аллелей, и количество вновь выявленных специфичностей постоянно растет [6]. Причина такого полиморфизма связана с главной биологической ролью MHC – презентацией как можно большего количества антигенных пептидов патогенных микроорганизмов для лучшей сопротивляемости инфекции на популяционном уровне. Строение молекулы MHC I и II класса отличается друг от друга, однако их принципиальной особенностью и сходством является наличие пептидсвязывающей полости, которая формируется участками доменов пептидных цепей, обладающих высоким полиморфизмом, что, собственно, и определяет конкретную MHC-специфичность (рис. 1). Именно этот участок молекулы играет ключевую роль в презентации антигена. В обычных физиологических условиях в антигенсвязывающей полости молекулы MHC находятся пептиды, представляю-

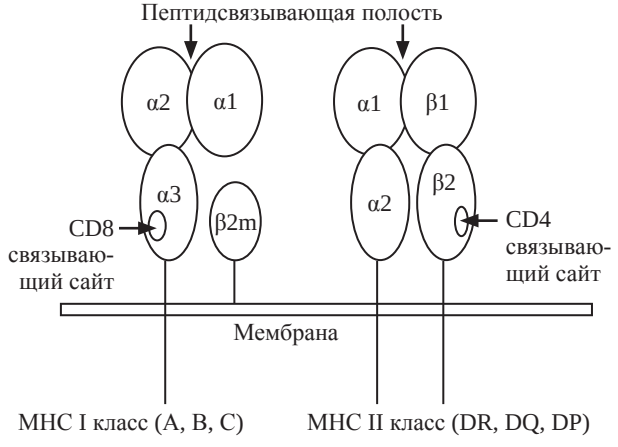

Рис. 1. Схема строения молекулы MHC

Fig. 1. Scheme of the structure of the MHC molecule

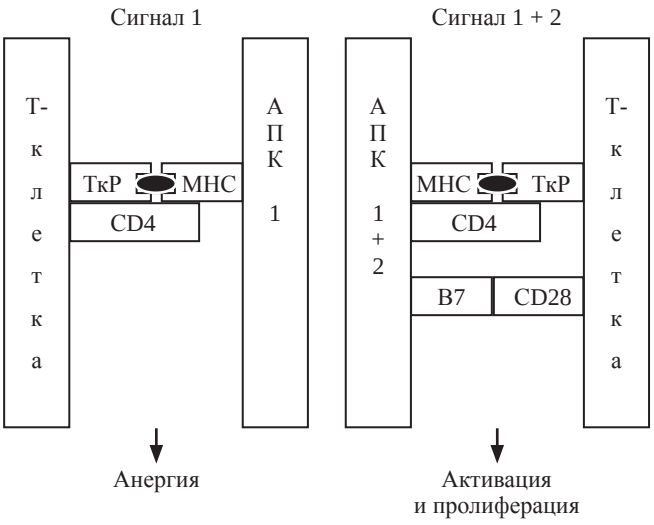

Рис. 2. Костимулирующие сигналы при взаимодействии АПК и Т-клетки

Fig. 2. Costimulatory signals in APC and T-cells interaction

щие собой фрагменты нормальных клеточных компонентов, образующиеся вследствие внутриклеточной деградации белков [7]. Без соответствующих пептидов, располагающихся в пептидсвязывающей полости, молекула МНС не может быть экспрессирована на мембране клетки. Важно подчеркнуть, что пептид может удерживаться в пептидсвязывающей полости только при условии комплементарности топографии поверхностей соприкасающихся участков, что позволяет нековалентным связям (водородные, гидрофобные, электростатические) довольно прочно связывать эти структуры. Эти пептиды специфичны для каждого организма, так как их конфигурация соответствует форме пептидсвязывающей полости молекул МНС, которые, в свою очередь, обладают высоким полиморфизмом. Получается, что в большинстве своем люди отличаются друг от друга набором пептидов, представленных молекулами МНС.

Таким образом, вследствие того что донор трансплантируемой ткани и реципиент различаются по антигенам, являющимся продуктами МНС, ткани трансплантата экспрессируют большое число таких антигенов, которые могут распознаваться Т-клетками реципиента, несмотря на принадлежность донора и реципиента к одному биологическому виду. Экспрессированные на поверхности клеток комплексы «молекула МНС + пептид» представляют собой структурную основу, обеспечивающую распознавание чужеродных антигенов, отличие «своего от чужого» и развитие иммунного ответа, в том числе и на аллогенный трансплантат.

Следует подчеркнуть, что для активации Т-клетки недостаточно только одного сигнала, поступающего в результате специфичного связывания ТкР с комплексом «МНС + антигенный пептид». Необходим второй дополнительный сигнал, который обеспечивается так называемыми костимулирующими факторами. Одним из важнейших костимулирующих факторов является взаимодействие молекул B7.1 (CD80) и B7.2 (CD86), располагающихся на АПК, с молекулой CD28 на Т-клетке (рис. 2). Только при наличии двух сигналов происходит активация Т-клетки, приводящая к пролиферации данного клона (клональная селекция) и продукции этими клетками различных цитокинов. При отсутствии костимулирующего сигнала Т-клетка переходит в состояние анергии и не может отвечать на повторную стимуляцию антигеном, что приводит к развитию толерантности [8]. Таким образом, представленное выше краткое описание базисных механизмов развития адаптивного иммунного ответа на эндогенные и экзогенные антигены должно помочь нам в дальнейшем анализе механизмов аллораспознавания.

2. ПУТИ РАСПОЗНАВАНИЯ АЛЛОАНТИГЕНОВ

В настоящее время обсуждаются три основных пути распознавания аллоантигенов, принципиально различающихся природой антигенпрезентирующих клеток, кинетикой и продолжительностью своего влияния на формирование аллоиммунитета: прямой, непрямой и смешанный.

2.1. Прямой путь распознавания аллоантигенов

Прямое аллораспознавание – это процесс, при котором Т-клетки реципиента реагируют с интактными аллогенными МНС молекулами, представленными на донорских АПК(дАПК), и возможно, на других клетках тканей трансплантата [3, 9, 10]. При этом в процессе прямого распознавания принимают участие как цитотоксические Т-лимфоциты, так и Т-хелперы, обозначаемые как «прямые аллореактивные клетки», распознающие соответственно донорские МНС (дМНС) класс I и класс II. Такой механизм распознавания, как уже упоминалось, обеспечивается неожиданно высокой концентрацией прямых аллореактивных Т-клеток, в норме присутствующих в организме человека. Следует отметить, что прямые аллореактивные Т-клетки не являются какой-то отдельной субпопуляцией Т-лимфоцитов. Из общего пула Т-клеток их выделяет только способность перекрестно реагировать с аллогенными МНС [11]. Связывание ТкР с дМНС и последующая активация соответствующих Т-клеточных клонов происходит при взаимодействии Т-клеток с дАПК в лимфатических узлах, куда те мигрируют из тканей трансплантата («клетки-пассажиры») [7, 11, 12] (рис. 3, а), и по-видимому, не-

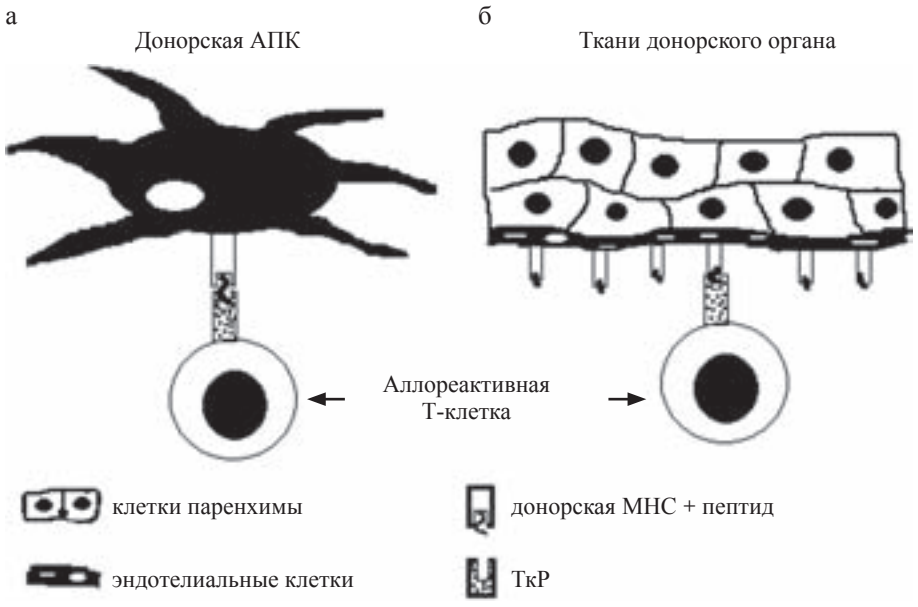

Рис. 3. Механизм презентации аллогенного антигена при прямом распознавании

Fig. 3. The mechanism of allogeneic antigen presentation in direct recognition

посредственно с клетками сосудистого эндотелия донорского органа (рис. 3, б). Важно отметить, что взаимодействие аллореактивных Т-клеток реципиента с донорским антигеном, презентированным в комплексе «дМНС + пептид», противоречит парадигме «двойного распознавания», подразумевающей распознавание чужеродных пептидов только в комплексе с собственной молекулой МНС (рестрикция по гаплотипу). Существует две модели, с помощью которых делаются попытки объяснить этот феномен. Согласно модели ***высокой плотности детерминант***, прямые аллореактивные Т-клетки распознают аминокислотный полиморфизм донорских МНС молекул вне зависимости от структуры пептида, располагающегося в пептидсвязывающей полости. Таким образом, все донорские МНС-детерминанты являются лигандами для рецепторов прямых аллореактивных Т-клеток, тем самым создавая высокую плотность таких детерминант. Следовательно, степень аффинности ТкР прямых аллореактивных клеток к соответствующим донорским МНС может быть значительно ниже, чем при взаимодействии с собственным комплексом «МНС + пептид» [11]. Модель ***множественных двойных комплексов*** предполагает, что аллореактивные Т-клетки распознают специфические пептиды, располагающиеся в пептидсвязывающей полости донорской МНС. Эти пептиды являются продуктами тех же самых нормальных клеточных белков, свойственных как донору, так и реципиенту. Однако различия в конфигурации пептидсвязывающей полости МНС молекул донора и реципиента обусловливают презентацию данными молекулами различных по аминокислотному составу пептидов, являющихся продуктами деградации гомологичных белков. Эти пептиды могут быть распознаны аллореактивными Т-клетками реципиента как чужеродные. Установлено, что продукты обмена практически всех внутриклеточных протеинов в виде пептидов презентируются на клеточной поверхности в составе комплекса «МНС + пептид». Следовательно, отличающаяся по МНС-фенотипу донорская ткань представляет гетерогенную популяцию двойных комплексов «МНС + пептид», которая может быть распознана множеством аллореактивных Т-клеточных клонов. При этом установлено, что регион ТкР, контактирующий с МНС-молекулой, сходен для многих МНС-специфичностей, что обеспечивает перекрестное реагирование Т-клеток реципиента с донорской МНС [11].

Несмотря на принципиальные различия, лежащие в основе модели высокой плотности детерминант и модели множественных двойных комплексов, есть нечто, что в значительной степени объединяет эти два подхода к пониманию механизма прямого аллораспознавания. Это способность Т-клеток реципиента перекрестно реагировать с донорскими МНС-детерминантами, имеющими отличную от реципиента специфичность. В настоящее время существуют следующие представления о природе этого феномена, в основе которых лежат процессы созревания и обучения Т-клеток в тимусе. Под влиянием хемотаксиса предшественники Т-клеток из периферического кровотока поступают в тимус, где в наружном слое корковой зоны при контакте с эпителиальными «клетками-нянями», продуцирующими различные цитокины, в том числе ИЛ-7, происходит их активная пролиферация и дифферен-

циация в тимоциты. Осуществляется первая фаза развития Т-клеток – это продукция функционального Т-клеточного рецептора. Далее созревающие тимоциты направляются вглубь корковой зоны, где в результате взаимодействия с кортикальными тимус-эпителиальными клетками (кТЭК) происходит так называемая позитивная селекция, в результате которой преимущественно выживают клетки, несущие ТкР, обладающие низкой и умеренной степенью аффинности к собственным МНС + пептид [13, 14]. В то же время Т-клетки, обладающие ТкР с достаточно высокой степенью аффинности, подвергаются апоптозу и фагоцитозу. Процесс позитивной селекции сопровождается миграцией Т-клеток из кортекса в направлении медулярной области тимуса и многочисленными взаимодействиями каждого тимоцита с МНС кТЭК в течение 12–24 ч [15]. Биологический смысл позитивной селекции вполне ясен: зрелые Т-клетки должны быть способны постоянно контактировать с аутологичными МНС-молекулами, а сила взаимодействия должна, с одной стороны, обеспечивать достаточную плотность контакта ТкР с МНС, а с другой – позволять этому контакту легко распадаться при отсутствии активации Т-клетки, что позволяет ей продолжить взаимодействие с другими МНС-детерминантами. Определяющую роль при взаимодействии ТкР с МНС играет участок ТкР, обладающий наибольшей вариабельностью, названный «регионом, определяющим комплементарность» (complementarity determining region) (CDR), представляющий собою несколько полипептидных петель, обладающих конформационной «тягучестью», способностью связывать несколько различающихся пептидов, представленных одной и той же молекулой МНС. В CDR выделяют три функциональных участка – это CDR1, CDR2 и CDR3, где CDR1 и CDR2, являющиеся эволюционно более ранними, преимущественно отвечают за взаимодействие ТкР с молекулами МНС, а CDR3 – за распознавание презентированного в их пептидсвязывающей полости пептида [11, 16]. Таким образом, пул тимоцитов, готовящихся к позитивной селекции, должен обладать достаточно широким репертуаром ТкР, способным распознать собственную молекулу МНС и при этом иметь умеренную степень аффинности при взаимодействии с ней. Этому способствует гибкая конфигурация CDR области ТкР, позволяющая тимоциту более эффективно пройти процесс позитивной селекции, а по сути, получить сигнал на выживание. Вместе с тем очевидно, что такой механизм МНС-рестрикции при позитивной селекции позволяет ТкР отобранных тимоцитов распознавать не только собственные, но и аллогенные МНС, имеющие между собой относительное конформационное сходство (молекулярная мимикрия), что обеспечивает существование значительного потенциала перекрестного аллораспознавания. При этом даже если небольшая часть ТкР репертуара способна перекрестно реагировать с любым аллогенным МНС+пептид на трансплантате, можно считать, что иммунная система данного реципиента обладает высокой степенью аллореактивности.

Т-клетки, успешно прошедшие сито позитивной селекции, мигрируют в медулярную область тимуса, где они подвергаются процессу негативной селекции. Медулярные тимус-эпителиальные клетки активно экспрессируют в комплексе с МНС-молекулами всевозможные тканевые аутоантигены, являющиеся, в том числе, продуктами так называемого аутоиммунного регуляторного гена. В результате взаимодействия ТКР с широким спектром антигенов собственных тканей элиминируются Т-клетки, обладающие ТкР с высокой аффинностью к аутоантигенам. Цель негативной селекции – выбраковка из популяции зрелых Т-клеток аутореактивных клонов, представляющих опасность развития аутоиммунитета. В настоящее время существует мнение о том, что механическое разделение процесса созревания и дифференцировки Т-клеток в тимусе на позитивную и негативную селекцию не совсем точно отражает эти процессы. Установлено, что процесс позитивной селекции продолжается и в медулярной области тимуса, а негативная селекция начинается уже в кортексе при выбраковке клеток, активно распознающих комплекс «МНС + пептид». При этом относительная полиспецифичность ТкР, прошедших стадию позитивной селекции, может способствовать более эффективной выработке аутотолерантности, поскольку один аутореактивный ТкР может быть элиминирован при негативной селекции множеством аутоантигенов, а не единичным строго специфичным комплексом «МНС + пептид» [14, 16]. Таким образом, созревание Т-клеток в тимусе представляет собой универсальный механизм, обеспечивающий организм иммунокомпетентными клетками, способными распознать широчайший спектр антигенных пептидов и одновременно имеющими толерантность в отношении аутоантигенов. Вместе с тем способ селекции зрелых Т-клеток, обладающих функциональными ТкР, обусловливает способность ТкР перекрестно реагировать с МНС молекулами различной специфичности на уровне как частных, так и публичных эпитопов, что является одной из ключевых причин их высокой аллореактивности.

Еще одним важным фактором, определяющим появление значительного числа аллореактивных Т-клеток, является вирусная инфекция и вакцинация. Так, установлено, что вирус Эпштейна–Барр (EBV) EBNA3A-специфический ТкР, являющийся специфичным для EBV FLRGRAYGL-пептида, презентированного HLA-B*08:01, одновременно

связывает EEYLQAFTY-пептид, представленный HLA-B*44:02. У HLA-B8$^+$, B44$^+$ гетерозиготных индивидов этот ТкР подвергается «негативной селекции» в тимусе, чтобы избежать развития аутоиммунитета, но у HLA-B8$^+$, B44$^-$ индивидов эти Т-клетки проходят «позитивную селекцию» и поступают в циркуляцию как наивные Т-клетки, которые способны развить иммунный ответ против EBV в случае EBV-инфицирования и потенциально против аллогенных молекул HLA-B*44:02 при трансплантации (рис. 4). Аналогичная кросс-реактивность была отмечена для грипп-IMP-специфичного Т-клеточного клона, который одновременно реагировал с аллогенным HLA-B*64:01 [2]. В настоящее время существует опись человеческих вирус-специфичных Т-клеток памяти, способных давать специфическую алло-HLA-кроссреактивность. Наиболее вероятно, что именно Т-клетки памяти, а не наивные Т-клетки, ответственны за отторжение трансплантата, так как они имеют более низкие требования к активации, менее нуждаются в костимуляции, и экспрессируют молекулы с цитотоксическими функциями. Кроме того, Т-клетки памяти более вероятно находятся в участках активного воспаления, в то время как наивные Т-клетки дислоцируются преимущественно внутри периферических лимфоидных органов. Кандидаты на трансплантацию имеют повышенный риск развития инфекционных осложнений, и поэтому подлежат проведению полного списка вакцинаций перед трансплантацией. Однако имеются все основания предполагать, что вакцинации могут значительно увеличивать аллореактивный Т-клеточный репертуар.

Таким образом, высокая аллогенная кросс-реактивность Т-клеток, как наивных, так и клеток памяти, является естественным атрибутом популяций этих клеток, связанным с процессом селекции в тимусе [13]. Создается впечатление, что эволюционный МНС-полиморфизм, обеспечивающий презентацию широчайшего спектра антигенных пептидов и определяющий эффективное развитие адаптивного иммунного ответа, не подразумевает строгой рестрикции ТкР по собственному МНС-гаплотипу. Примечательно, что ТкР, имеющие высокое сродство к собственным МНС, элиминируются уже на стадии позитивной селекции. Зрелые наивные Т-клетки, прошедшие тимическую селекцию, обладают ТкР, имеющими умеренную, но в то же время достаточную аффинность к комплексу «собственный МНС + пептид» и высокую аффинность к чужеродному пептиду, ассоциированному с собственной МНС-молекулой [13, 14]. Представляется, что процессы, происходящие в тимусе, имеют три главные цели: формирование функциональных ТкР разнообразного репертуара, дифференцировка Т-клеток по фенотипу CD4$^+$ и CD8$^+$, а также устранение клеток, распознающих аутоантигены. Вероятно, все клетки, успешно прошедшие эти испытания (около 5%), способны связываться как с собственными, так и со многими аллогенными МНС в силу своей изначальной полиспецифичности. При этом распознавание большого количества аллоантигенов, поступающих в организм с донорскими тканями при трансплантации, можно определить как побочную реакцию на событие, которого никак не должно было случиться. По-видимому, это обусловлено своеобразным «побочным эффектом» функционирования иммунной системы организма, когда механизм распознавания и уничтожения инфекционных патогенов в силу своей гибкости, широчайшей полиспецифичности и мощного эволюционного потенциала «невольно приспосабливается» к распознаванию аллоантигенов. Можно возразить, что аналогичная ситуация наблюдается при беременности, когда плод представляет собой семиалогенный трансплантат. Действительно, в организм плода, так же, как и в организм матери (двунаправленное взаимодействие), поступает ограниченное количество клеток (в основном стволовые гемопоэтические клетки и лейкоциты), несущих на своей поверхности половину чужеродных (NIMA или IPA) МНС. Но в данном случае взаимодействие происходит на уровне мик-

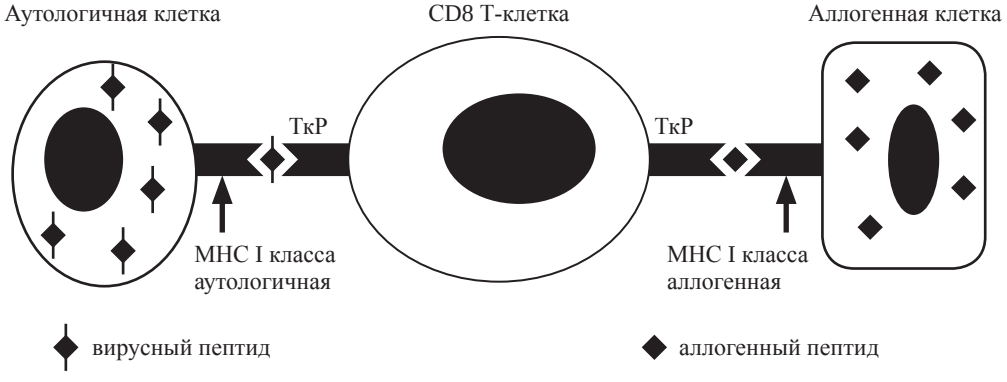

Рис. 4. Механизм аллогенной кросс-реактивности вирус-специфических Т-клеточных клонов

Fig. 4. The mechanism of allogeneic cross-reactivity virus specific T-cell clones

рохимеризма, когда немногочисленные гаплоидентичные аллогенные клетки оседают в различных органах и тканях (печень, легкие, сердце, костный мозг), индуцируют толерантность к аллоантигенам, и по-видимому, стимулируют нормальное развитие иммунной системы плода путем своеобразного иммунологического тренинга [4]. При аллотрансплантации в организм реципиента поступает большое количество различных клеток, несущих, как правило, значительно отличающийся МНС-фенотип, что приводит к активации большого количества аллореактивных наивных Т-клеток и Т-клеток памяти, приводящих к поражению тканей трансплантата. Логично будет предположить, что в данной ситуации эффекторные механизмы, направленные на отторжение донорского органа, будут превалировать над регуляторными процессами развития толерантности, подразумевая, что наверняка оба процесса одновременно имеют место.

Таким образом, прямое распознавание интактных комплексов «дМНС + пептид», экспрессированных на тканях трансплантата и донорских АПК («клетках-пассажирах»), прямыми аллореактивными $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетками, как наивными, так и клетками памяти, является причиной раннего (острого) клеточного отторжения трансплантата.

Известно, что для активации наивных $CD4^+$ и $CD8^+$-клеток недостаточно только распознать чужеродный пептид в комплексе с собственным или донорским МНС (специфический сигнал 1). Необходимо получить дополнительный сигнал при взаимодействии так называемых костимулирующих молекул (неспецифический сигнал 2), а также молекул межклеточной адгезии, обеспечивающих эффективное взаимодействие этих структур [8, 13, 17] (рис. 2). Следует отметить, что данные костимулирующие детерминанты образуют совместно с МНС своеобразный кластер, а при взаимодействии с ТкР – иммунологический синапс [18]. Только те АПК, которые прошли стадию созревания, индуцированную поглощением, процессированием и презентацией антигена в комплексе «МНС + пептид», либо подвергшиеся стимулирующему воздействию определенных цитокинов и других биологически активных веществ, способны формировать функционально полноценный иммунологический синапс при взаимодействии с ТкР [13]. Отсутствие костимулирующего сигнала во время презентации антигена приводит к развитию специфической Т-клеточной анергии, и как следствие, к иммунологической толерантности. Каким же образом костимулирующий сигнал становится возможным при взаимодействии аллореактивных Т-клеток с донорской АПК или клетками тканей трансплантата при прямом аллораспознавании? Каждый органный трансплантат, прежде чем быть подключенным к кровообращению реципиента, подвергается повреждающему воздействию так называемой реперфузионной ишемии, в результате которой активируются клеточные и гуморальные факторы врожденного иммунитета [11]. Центральным фактором в этом процессе является токсическое воздействие активных форм кислорода, которые индуцируют апоптоз и некроз клеток тканей трансплантата [13, 19]. Поврежденные клетки и клетки в состоянии стресса активно продуцируют так называемые белки-шапероны, являющиеся лигандами для Толл-подобных рецепторов (TLRs), присутствующих на АПК, в частности на дендритных клетках и на клетках сосудистого эндотелия. При связывании этих белков с TLRs происходит активация незрелых донорских ДК и эндотелиальных клеток (ЭК) сосудов трансплантата. Созревающие ДК мигрируют из тканей трансплантата в периферические лимфоузлы, где инициируют развитие аллоиммунитета, а активированные ЭК приобретают способность эффективно презентировать антигенные пептиды для распознавания прямыми аллореактивными $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетками [20]. Способность ЭК под воздействием различных медиаторов увеличивать экспрессию МНС I и II класса одновременно с экспрессией костимулирующих молекул и молекул клеточной адгезии, по сути, делает их профессиональными АПК. Таким образом, взаимодействие аллореактивных Т-клеток с комплексом «дМНС + пептид», представленным на активированной ЭК, обеспечивается необходимыми первым и вторым сигналами, что приводит к активации Т-клеток, индукции аллоиммунитета и развитию острого клеточного отторжения трансплантата [21]. Считается, что прямое аллораспознавание с участием донорских АПК обусловливает отторжение трансплантата только на ранних сроках после пересадки. Это связано с тем, что донорские АПК со временем элиминируются из организма реципиента и тем самым устраняется источник презентации «дМНС + пептид» для прямых аллореактивных Т-клеток [3]. Однако существует мнение, что способность ЭК при определенных условиях выступать в качестве полноценных АПК может обусловливать реактивацию Т-клеток памяти в любые сроки после трансплантации и быть причиной поздних эпизодов острого отторжения [11].

Важной составляющей процесса прямого аллораспознавания является взаимодействие активированных $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток. Известно, что для выполнения своих цитотоксических функций активированным $CD8^+$ Т-клеткам в большинстве случаев необходима «помощь» со стороны $CD4^+$ Т-клеток. Эта «помощь» заключается в продуцировании Т-хелперами определенных цитокинов, которые дают сигнал цитотоксическим Т-клеткам для осуществления ими цитолитического воздействия

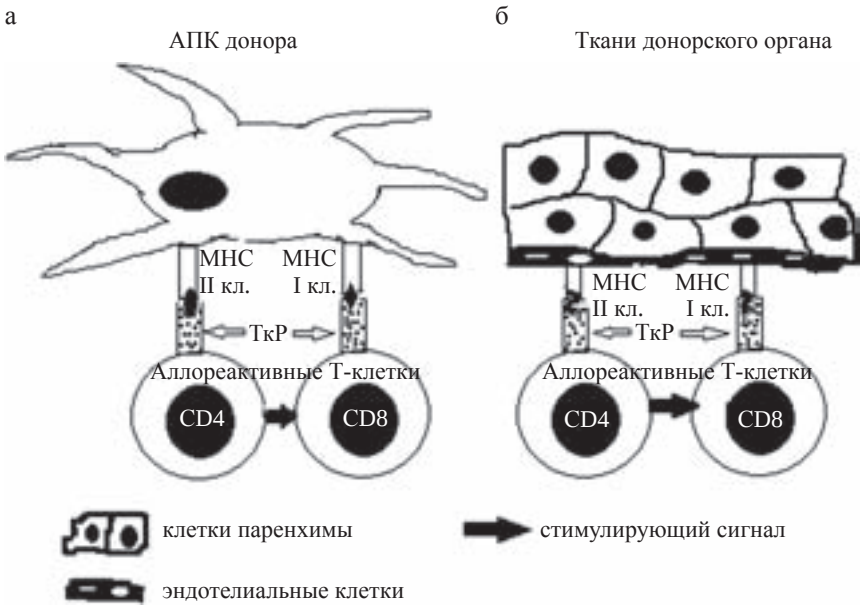

Рис. 5. $CD4^+$ – $CD8^+$ взаимодействие при прямом аллораспознавании

Fig. 5. $CD4^+$ – $CD8^+$ interaction in direct allorecognition

на клетки-мишени [3, 22, 23]. Поскольку действие цитокинов сильно ограничивается пространством и временем, то $CD8^+$ – $CD4^+$ кооперация возможна либо в процессе контакта с одной и той же донорской АПК, экспрессирующей необходимые для взаимодействия с данными Т-клетками молекулы МНС I и II класса («трехклеточная» модель взаимодействия), либо при встрече этих клеток в тканях донорского органа [1] (рис. 5). При прямом аллораспознавании Th1-клетки (субпопуляция Т-хелперов, ответственная за клеточный вариант иммунного ответа) продуцируют ИЛ-2, ИНФ-γ и лимфотоксин, стимулируя примированные цитотоксические Т-лимфоциты к лизису донорских клеток, тем самым обусловливая повреждение тканей трансплантата.

Анализируя современные представления о механизмах прямого распознавания аллоантигенов, можно предположить, что в основе данного вида иммунного ответа на донорскую ткань лежит реакция организма на эндогенную (вирусную) инфекцию. Клетки трансплантата, экспрессирующие чужеродные комплексы «дМНС I класса + пептид», воспринимаются многочисленными аллореактивными $CD8^+$ Т-клетками реципиента как собственные, пораженные вирусом клетки, презентирующие вирусный пептид. В распознавании аллоантигенов участвуют как наивные Т-клетки, так и Т-клетки памяти, образовавшиеся в результате перенесенных вирусных инфекций. Присутствие в трансплантате зрелых донорских АПК, активная экспрессия клетками сосудистого эндотелия трансплантата МНС II класса, костимулирующих детерминант и молекул клеточной адгезии способствует активному привлечению к процессу распознавания прямых аллореактивных $CD4^+$ Т-клеток. В свою очередь, примированные Т-хелперы, продуцируя соответствующие цитокины, способствуют активации $CD8^+$ Т-клеток и осуществлению ими своей цитотоксической функции. При этом элиминация со временем донорских АПК полностью не предотвращает возможности активизации процессов клеточного отторжения на основе прямого распознавания, так как функцию АПК могут брать на себя донорские эндотелиальные клетки. Неудивительно, что иммунный ответ на аллогенный трансплантат в форме раннего острого клеточного отторжения, как правило, имеет активный характер и несет серьезную угрозу повреждения тканей трансплантата.

2.2. Непрямой путь распознавания аллоантигенов

При непрямом распознавании аллоантигенов АПК реципиента перерабатывают (процессируют) донорские МНС-молекулы и презентируют их в виде пептидов в комплексе с собственными МНС для распознавания аллореактивными Т-клетками [1, 3, 10, 13, 24, 25]. Существование такого пути аллораспознавания было предложено в связи с результатами исследований, показавших, что отторжение трансплантата происходит и в отсутствие донорских АПК («клеток-пассажиров») [24]. При этом источником аллоантигенных пептидов, презентируемых АПК, являются продукты процессирования именно донорских МНС-молекул [3, 12, 26]. Предполагается, что такая презентация аллоантигена может осуществляться несколькими путями. Первый путь: донорские клетки мигрируют из трансплан-

тата в периферические лимфатические узлы, где они захватываются (интернализуются) АПК реципиента и процессируются, в результате чего донорские пептиды презентируются в комплексе с МНС реципиента для распознавания аллореактивными Т-клетками [3, 13] (рис. 6). Второй путь: слущенные с клеток трансплантата дМНС-молекулы с кровотоком попадают в периферические лимфоузлы, где они интернализуются и процессируются АПК реципиента для презентации аллогенного пептида Т-клеткам [3, 27] (рис. 7). Третий путь: АПК реципиента проникают в ткани трансплантата, фагоцитируют донорские антигены, презентируют их в виде пептидов в комплексе с собственными МНС и мигрируют в периферические лимфоузлы для примирования аллореактивных Т-клеток, несущих специфичные для данного пептида ТкР [3, 28] (рис. 8).

В непрямом распознавании, так же, как и в прямом, задействованы как $CD4^+$, так и $CD8^+$ Т-клетки, однако в данном случае они идентифицируются как «непрямые» аллореактивные Т-клетки. Количество таких клеток в организме по сравнению с «прямыми» аллореактивными Т-клетками гораздо меньше и составляет приблизительно 1–10% от всего аллоиммунного репертуара [1, 11]. Их принципиальное отличие от «прямых» аллореактивных Т-клеток состоит в том, что они способны распознавать аллогенный пептид только в комплексе с собственной МНС-молекулой. Относительно небольшое количество «непрямых» аллореактивных Т-клеток обусловливает отсроченный и менее выраженный иммунный ответ по сравнению с иммунным ответом, развивающимся вследствие прямого распознавания. Однако в связи с тем что ткань донорского органа является постоянным источником аллоантигенов, которые процессируются и презентируются АПК реципиента, именно механизм непрямого распознавания обеспечивает длительный, хронический процесс отторжения трансплантата [3, 29]. Следует отметить, что необходимое для проявления своих эффекторных функций взаимодействие $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток при непрямом распознавании может происходить при их контакте с одной и той же АПК, которая обладает уникальной способностью презентировать антигенный пептид в комплексе с МНС как I, так и II класса [12, 30]. Такое взаимодействие оп-

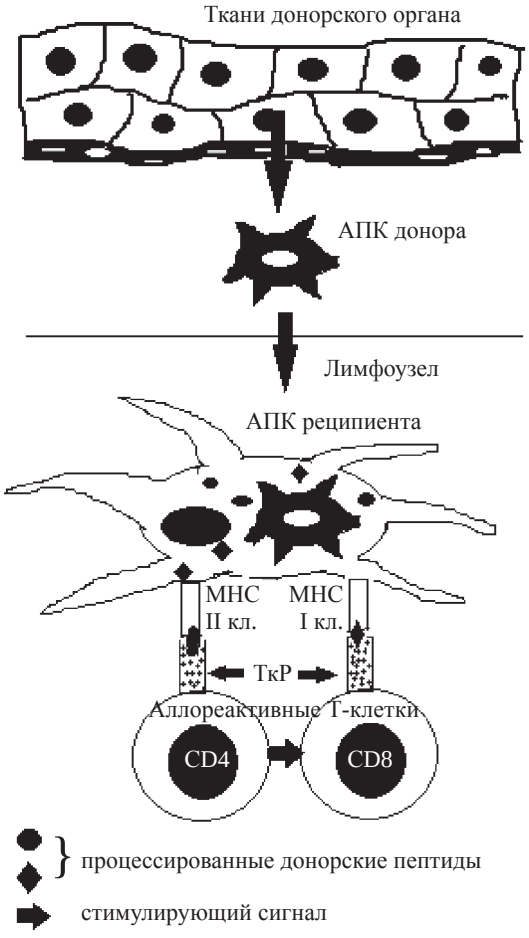

Рис. 6. Механизм презентации аллогенного антигена при непрямом распознавании (первый путь)

Fig. 6. The mechanism of allogeneic antigen presentation in indirect recognition (the first way)

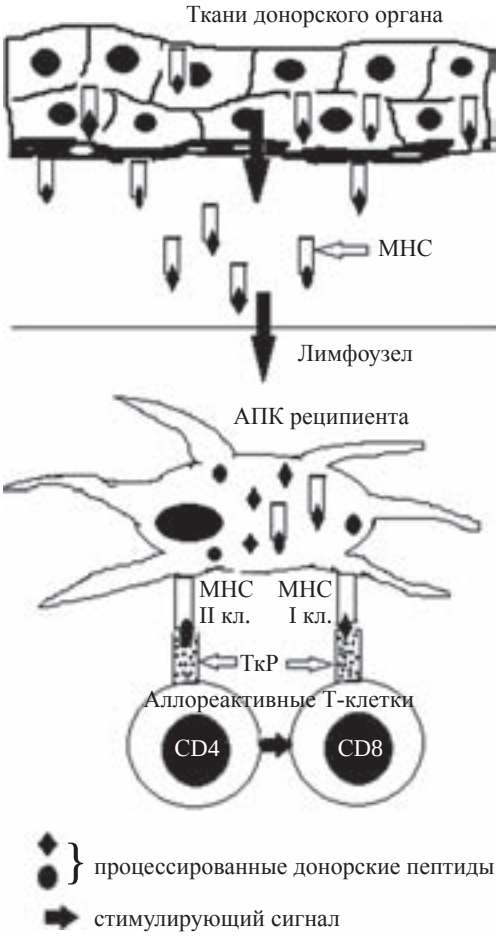

Рис. 7. Механизм презентации аллогенного антигена при непрямом распознавании (второй путь)

Fig. 7. The mechanism of allogeneic antigen presentation in indirect recognition (the second way)

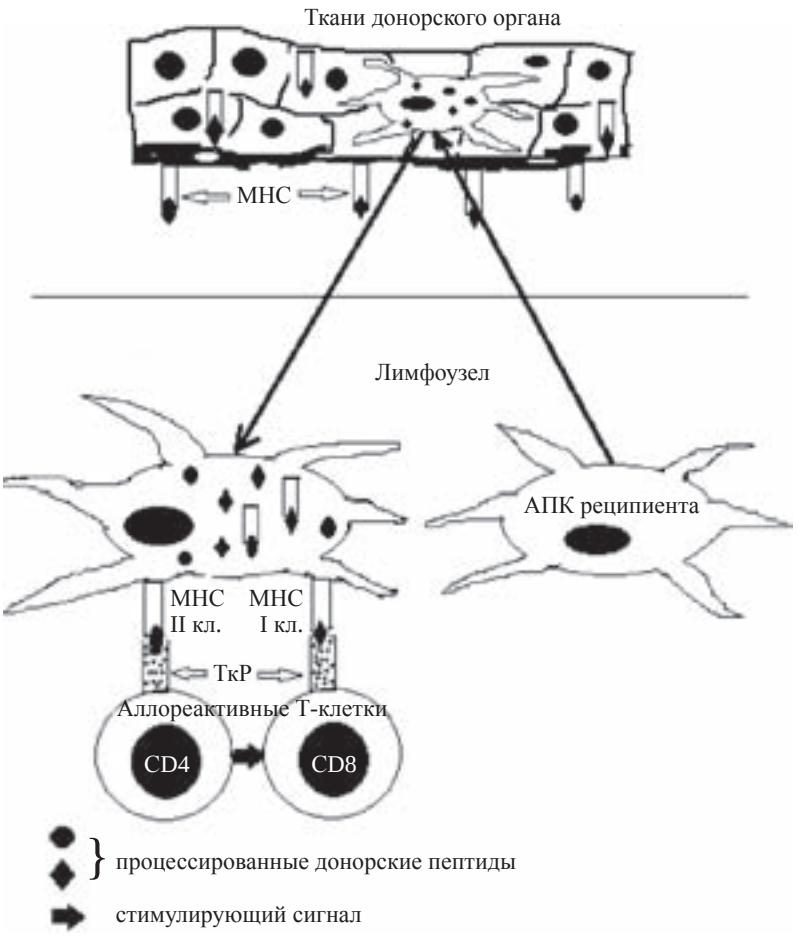

Рис. 8. Механизм презентации аллогенного антигена при непрямом распознавании (третий путь)

Fig. 8. The mechanism of allogeneic antigen presentation in indirect recognition (the third way)

ределяется как перекрестное примирование [3, 24] и напоминает трехклеточную модель прямого распознавания [1]. Однако в первом случае аллогенный донорский пептид находится в антигенсвязывающей полости собственной молекулы МНС, а во втором – в комплексе с донорской МНС-молекулой. В результате активации Т-хелперов при непрямом распознавании они преимущественно дифференцируются в провоспалительные тип-1 цитокин-секретирующие клетки, передающие вспомогательные сигналы для активации цитотоксических $CD8^+$-клеток, а также стимуляции В-лимфоцитов к их трансформации в плазматические клетки и выработке аллоантител [1, 3, 22, 31]. Вместе с тем не совсем ясно, каким образом примированные «непрямые» $CD8^+$-клетки могут связываться с клетками трансплантата и вызывать их лизис, если их ТкР распознают донорский пептид только в контексте собственной, но не донорской молекулы МНС I класса. Предполагается, что цитотоксическое воздействие $CD8^+$Т-лимфоцитов на клетки донорских тканей при непрямом распознавании происходит во время взаимодействия этих клеток с собственными АПК, активно «заселяющими» трансплантат, в результате чего происходит высвобождение в окружающую среду различных цитокинов, повреждающих клетки донорского органа («эффект свидетеля») [13, 32]. Установлено, что в отличие от прямого распознавания, характеризующегося своей поликлональностью и полиспецифичностью, главным результатом непрямого распознавания аллоантигенов является активизация ограниченного количества аллореактивных Т-клеточных клонов, способных распознавать достаточно тонкие различия в аминокислотных последовательностях ограниченного круга презентированных донорских пептидов [24, 33]. В то время как прямой путь распознавания определяет развитие острого отторжения трансплантата, непрямое распознавание играет определяющую роль в развитии хронического повреждения тканей донорского органа [11].

Таким образом, можно заметить сходство механизма непрямого аллораспознавания с реакцией иммунной системы организма на экзогенную инфекцию. В обоих случаях происходит выявление наиболее тонких отличий в строении процессированного АПК антигенного пептида с дальнейшим подключением гуморального звена иммунного ответа. В связи с этим основную роль в реализации этих

механизмов играют активированные $CD4^+$ Т-клетки, обеспечивающие взаимодействие с В-лимфоцитами, активированными соответствующими антигенами, для их дифференцировки в плазматические клетки и выработки антигенспецифичных антител. Роль клеточного звена в случае непрямого аллораспознавания, по-видимому, носит преимущественно неспецифический характер («эффект свидетеля»), что определенно отличает его от классического ответа на экзогенную инфекцию. Постоянный контакт АПК реципиента с аллоантигенами тканей трансплантата и последующая презентация процессированных антигенных пептидов аллореактивным Т-клеткам обусловливает определяющую роль непрямого пути распознавания в развитии хронического отторжения аллогенного трансплантата.

2.3. Смешанный путь распознавания аллоантигенов

Механизм смешанного распознавания заключается в одновременном презентировании АПК реципиента как процессированного аллоантигена в комплексе с собственной МНС II класса для распознавания непрямыми аллореактивными $CD4^+$ клетками, так и интактной донорской молекулы МНС I класса для распознавания прямыми аллореактивными $CD8^+$-клетками. Гипотеза о таком, на первый взгляд, невероятном способе передачи иммунологической информации возникла в результате обнаружения способности многих типов клеток обмениваться поверхностными молекулами [34, 35]. Одним из первых явилось наблюдение межклеточного трансфера молекул МНС от В-клеток Т-клеткам [36]. Имеются данные о передаче молекул МНС II класса от эпителиальных клеток Т-клеткам [37]. Также было установлено, что дендритные клетки могут захватывать молекулы МНС соседних ДК и эндотелиальных клеток и примировать ими Т-хелперы и цитотоксические Т-клетки [1, 10, 11, 35, 38, 39]. Одним из способов обмена интактными МНС-молекулами при прямом контакте между клетками является трогоцитоз [1, 34, 40] (рис. 9). Термин «трогоцитоз» происходит от греческого «грызть» и очень точно отражает механизм захвата поверхностного протеина одной клеткой у другой. При этом процесс трогоцитоза протекает очень быстро, в течение нескольких минут после контакта клеток, и при определенных условиях может носить двунаправленный характер. Обмен поверхностными протеинами с помощью нанотрубок, представляющих собой уникальную мембранную структуру, также свойственен многим типам клеток, включая Т- и В-лимфоциты и макрофаги [34] (рис. 10). Существует также способ обмена молекулами клеточной поверхности без непосредственного контакта, который свойственен многим иммунным клеткам, включая ДК, Т и В лимфоциты, тучные клетки. Данный способ осуществляется через высвобождение и захват микровезикул (экзосомы) [1, 34, 41] (рис. 11).

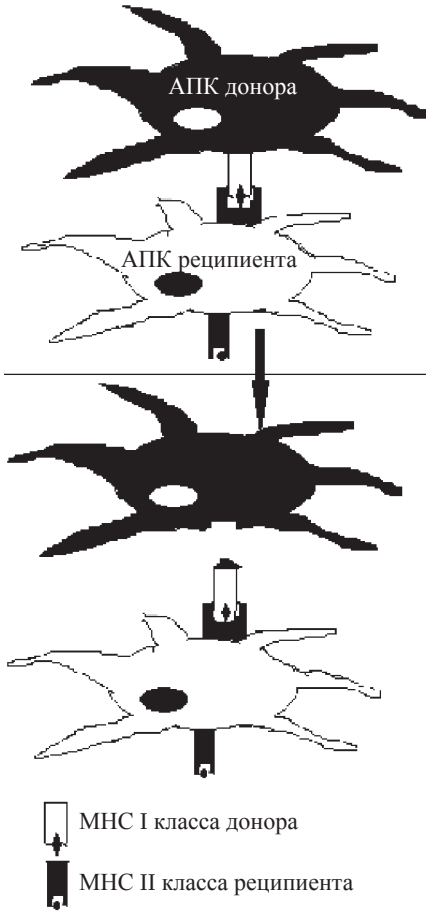

Рис. 9. Межклеточный обмен протеинами с помощью трогоцитоза

Fig. 9. Intercellular exchange of proteins by trogocytosis

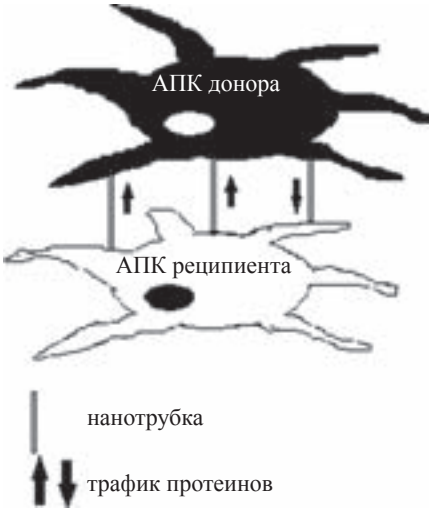

Рис. 10. Межклеточный обмен протеинами с помощью нанотрубок

Fig. 10. Intercellular exchange of proteins by nanotubes

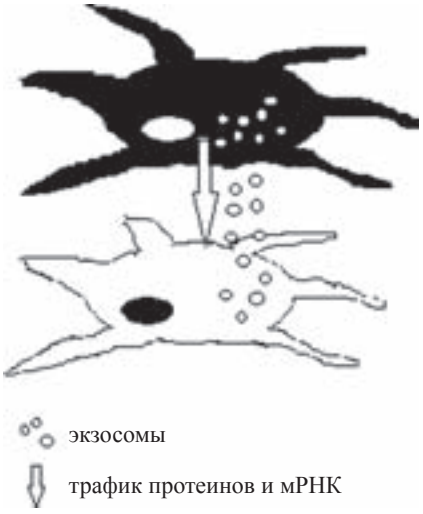

Рис. 11. Межклеточный обмен протеинами с помощью экзосом

Fig. 11. Intercellular exchange of proteins by exosomes

Экзосомы представляют собой наноразмерные (40–200 нм), связанные с мембраной пузырьки, содержащие в себе протеины, липиды и микро-РНК [34]. Экзосомы обладают специфическими поверхностными маркерами CD9 и CD63 и несут на своей поверхности МНС-молекулы [4, 42, 43]. Следует отметить, что захват ДК секретированных экзосом является рецептор-лиганд-специфическим процессом и требует участия молекул клеточной адгезии [34, 41, 44]. Механизм, с помощью которого ДК сохраняет непроцессированный антигенный материал, полученный с поглощенной экзосомой, остается неясным. Предполагается, что ДК содержат лизосомы с низкой протеолитической активностью, где антиген может не подвергаться деградации и затем в неизменном виде переноситься на мембрану [10, 45]. Важно подчеркнуть, что захват ДК микро-РНК, содержащейся в экзосомах, приводит к перепрограммированию данной клетки и продуцированию соответствующих новой программе протеинов [4, 46]. Считается, что такой механизм обмена информацией между иммунокомпетентными клетками позволяет значительным образом увеличить (амплифицировать) и ускорить презентацию вирусного антигена Т-клеткам в лимфоузлах [4, 10]. Кроме того, установлено, что именно обмен поверхностными протеинами, включая молекулы МНС, между клетками матери и плода является основным фактором, определяющим развитие толерантности материнского организма к IPA плода [4].

Таким образом, приобретение и представление на мембране АПК реципиента интактной донорской МНС-молекулы одним из вышеперечисленных способов является вполне вероятным событием. В результате АПК реципиента становится способной одновременно презентировать процессированный донорский МНС-пептид в комплексе с собственной МНС II класса для непрямого распознавания аллореактивными $CD4^+$-клетками и интактную донорскую молекулу МНС I класса для прямого распознавания $CD8^+$ аллореактивными Т-клетками (рис. 12). При этом контакт данных клеток с одной и той же АПК обеспечивает при данном виде аллораспознавания передачу стимулирующего сигнала от Т-хелпера цитотоксической Т-клетке, что соответствует трехклеточной модели взаимодействия. Следует подчеркнуть, что в отличие от непрямого аллораспознавания при смешанном пути активированные аллореактивные $CD8^+$-клетки способны специфично связываться с антигенными детерминантами клеток-мишеней, причиняя, по-видимому, более серьезные повреждения тканям донорского органа. Несмотря на достаточное количество исследований, подтверждающих существование смешанного пути распознавания аллоантигенов, нет прямых доказательств его роли в развитии процессов отторжения трансплантата. Однако клинические проявления острого клеточного отторжения на поздних сроках после трансплантации, когда донорские АПК («клетки-пассажиры») должны отсутствовать, вполне вероятно, связаны с эффектом смешанного распознавания донорских антигенов.

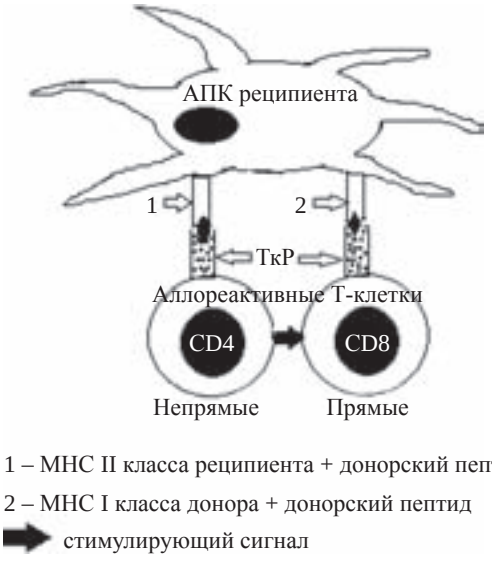

Рис. 12. Механизм презентации аллогенного антигена при смешанном распознавании

Fig. 12. The mechanism of allogeneic antigen presentation in semidirect recognition

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанные в нашем обзоре пути распознавания донорских антигенов при аллогенной трансплантации, анализ и осмысление механизмов, обеспечивающих их реализацию, позволяют сделать следующие выводы. В основе аллораспознавания лежат

механизмы развития иммунного ответа на экзогенную и эндогенную инфекцию. Причем при сходстве в базовых механизмах имеется ряд различий, характерных для каждого из видов аллораспознавания. Главным, что фундаментально отличает прямое аллораспознавание от распознавания инфекционных антигенов, является отсутствие строгой рестрикции по собственному МНС-гаплотипу, что в определенной степени противоречит догмату «двойного распознавания». Однако этому есть логичное объяснение, основывающееся на особенностях механизмов позитивной и негативной селекции Т-клеток в тимусе, в результате которой зрелые наивные Т-клетки обладают ТкР-репертуаром, способным распознавать множество аллоантигенов в результате перекрестного реагирования с аллогенными МНС-молекулами. Иммунный ответ на аллотрансплантат по своей интенсивности, скорости развития и продолжительности значительно превышает ответ на любую инфекцию. Это связано, во-первых, с наличием в циркуляции в норме большого количества аллореактивных наивных Т-клеток и Т-клеток памяти, а во-вторых, с одновременным включением всех трех упомянутых механизмов аллораспознавания, которые в дальнейшем принимают перманентный характер, обусловливая проявления как острого, так и хронического отторжения на протяжении всей жизни трансплантата.

В нашем обзоре мы сознательно подробно не останавливались на описании механизмов эффекторного воздействия на ткань трансплантата в результате развития аллоиммунитета, в том числе на особенностях гуморального ответа. Также не акцентировалось внимания на механизмах развития толерантности к аллоантигенам в процессе распознавания. Эти проблемы настолько важны и обширны, что их анализу следует посвятить отдельные публикации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Afzali B, Lombardi G and Lechler R.* Pathways of major histocompatibility complex allorecognition. *Curr Opin Organ Transplant.* 2008; 13 (4): 1–12.
2. *D'Orsogna LJ, Roelen DL, Doxiadis IIN and Claas FHG.* TCR cross-reactivity and allorecognition: new insights into the immunogenetics of allorecognition. *Immunogenetics.* 2012; 64: 77–85.
3. *Heeger PS.* T-Cell Allorecognition and Transplant Rejection: A Summary and Update. *American Journal of Transplantation.* 2003; 3: 525–533.
4. *Bracamonte-Baran W, Burlingham W.* Non-inherited Maternal Antigens, Pregnancy and Allotolerance. *Biomed J.* 2015; 38 (1): 39–51.
5. *Zinkernagel RM, Doherty PC.* Immunological surveillance against alteredself components by sensitized T-lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature.* 1974; 251: 547–548.
6. *Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF et al.* Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens.* 2010; 75: 291–455.
7. *Шевченко ОП, Орлова ОВ, Халилулин ТА.* Иммуносупрессия, иммунная толерантность и костимуляция Т-лимфоцитов. *Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов* / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2008: 472. *Shevchenko OP, Orlova OV, Halilulin TA.* Immunosupressija, immunnaja tolerantnost' i kostimuljacija T-limfocitov. *Immunosupressija pri transplantacii solidnyh organov* / Pod red. S.V. Got'e. M.–Tver': Triada, 2008: 472.
8. *Рабсон А, Ройт А, Делвз П.* Основы медицинской иммунологии. М.: Мир, 2006. *Rabson A, Roitt A, Delvz P.* Osnovi medizinskoy immunologii. M.: Mir, 2006.
9. *Rolls HK, Kishimoto K, Dong VM et al.* T-cell response to cardiac myosin persists in the absence of an alloimmune response in recipients with chronic cardiac allograft rejection. *Transplantation.* 2002; 74 (7): 1053–1057.
10. *Sivaganesh S, Harper SJ, Conlon TM et al.* Co-presentation of intact and processed MHC alloantigen by recipient dendritic cells enables delivery of linked help to alloreactive CD8 T-cells by indirect-pathway CD4 T-cells. *J. Immunol.* 2013; 190 (11): 5829–5838.
11. *Benichou G, Yamada Y, Yun S et al.* Immune recognition and rejection of allogeneic skin grafts. *Immunotherapy.* 2011; 3 (6): 757–770.
12. *Gould DS, Auchincloss HJr.* Direct and indirect recognition: the role of MHC antigens in graft rejection. *Immunol. Today.* 1999; 20 (2): 77–82.
13. *Ingulli E.* Mechanism of cellular rejection in transplantation. *Pediatr. Nephrol.* 2010; 25: 61–74.
14. *Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA.* Positive and negative selection of T-cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2003; 21: 139–176.
15. *Ross JO, Melichar HJ, Au-Yeung BB et al.* Distinct phases in the positive selection of CD8 T cells distinguished by intrathymic migration and T-cell receptor signaling patterns. *PNAS.* 2014; 2550–2558.
16. *Reiser JB, Darnault C, Gregoire C et al.* CDR3 loop flexibility contributes to the degeneracy of TCR recognition. *Nat. Immunol.* 2003; 4 (3): 241.
17. *Salomon B, Bluestone JA.* Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annu. Rev. Immunol.* 2001; 19: 225–252.
18. *Lee KH, Holdorf AD, Dustin ML et al.* T-cell receptor signaling precedes immunological synapse formation. *Science.* 2002; 295: 1539–1542.
19. *Lopez-Neblina F, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH.* Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. *J. Invest. Surg.* 2005; 18: 335–350.
20. *Warger T, Hilf N, Rechtsteiner G et al.* Interaction of TLR2 and TLR4 ligands with the N-terminal domain of Gp96 amplifies innate and adaptive immune responses. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 22 545–22 553.
21. *Piotti G, Palmisano A, Maggiore U et al.* Vascular endothelium as a target of immune response in renal transplant rejection. *Frontiers in immunology.* 2014; 505 (5): 1–9.
22. *Lee RS, Grusby MJ, Glimcher LH et al.* Indirect recognition by helper cells can induce donor-specific cytoto-

xic T-lymphocytes *in vivo*. *J. Exp. Med.* 1994; 179 (3): 865–872.
23. *Schoenberger SP, Toes RE, van der Voort EI et al.* T-cell help for cytotoxic T-lymphocytes is mediated by CD40–CD40L interactions. *Nature.* 1998; 393 (6684): 480–483.
24. *Bharat A and Mohanakumar T.* Allopeptides and the Alloimmune Response. *Cell Immunol.* 2007; 248 (1): 31–43.
25. *Jiang S, Herrera O, Lechler RI.* New spectrum of allorecognition pathways: implications for graft rejection and transplantation tolerance. *Curr. Opin. Immunol.* 2004; 16: 550–557.
26. *Benichou G, Fedoseyeva E, Lehmann PV et al.* Limited T-cell response to donor MHC peptides during allograft rejection. Implications for selective immune therapy in transplantation. *J. Immunol.* 1994; 153 (3): 938–945.
27. *Demaria S, Bushkin Y.* Soluble HLA proteins with bound peptides are released from the cell surface by the membrane metalloproteinase. *Hum. Immunol.* 2000: 61 (12): 1332–1338.
28. *Denton MD, Geehan CS, Alexander SI et al.* Endothelial cells modify the costimulatory capacity of transmigrating leukocytes and promote CD28-mediated CD4 (+) T-cell alloactivation. *J. Exp. Med.* 1999; 190 (4): 555–566.
29. *Rogers NJ and Lechler RI.* Allorecognition. *American Journal of Transplantation.* 2001; 1: 97–102.
30. *Albert ML, Sauter B, Bhardwaj N.* Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I- restricted CTLs. *Nature.* 1998; 392: 86–89.
31. *Taylor AL, Negus SL, Negus M et al.* Pathways of helper CD4 T-cell allorecognition in generating alloantibody and CD8 T-cell alloimmunity. *Transplantation.* 2007; 83: 931–937.
32. *Arakelov A, Lakkis FG.* The alloimmune response and effector mechanisms of allograft rejection. *Semin Nephrol.* 2000; 20: 95–102.
33. *Benichou G, Tam RC, Soares LR et al.* Indirect T-cell allorecognition: perspectives for peptide-based therapy in transplantation. *Immunol. Today.* 1997; 18 (2): 67–71.
34. *Rechavi O, Goldstein I, Kloog Y.* Intercellular exchange of proteins: The immune cell habit of sharing. *FEBS Letters.* 2009; 583: 1792–1799.
35. *Smyth LA, Afzali B, Tsang J et al.* Intercellular Transfer of MHC and Immunological Molecules: Molecular Mechanisms and Biological Significance. *Am. J. Transplant.* 2007; 7 (6): 1–14.
36. *Hudson L, Sprent J, Miller JF et al.* B cell-derived immunoglobulin on activated mouse T-lymphocyte. *Nature.* 1974; 251: 60–62.
37. *Merkenschlager M.* Tracing interactions of thymocytes with individual stromal cell partners. *Eur. J. Immunol.* 1996; 26: 892–896.
38. *Herrera OB, Golshayan D, Tibbott R et al.* A novel pathway of alloantigen presentation by dendritic cells. *J. Immunol.* 2004; 173: 4828–4837.
39. *Smyth LA, Herrera OB, Golshayan D et al.* A novel pathway of antigen presentation by dendritic and endothelial cells: implications for allorecognition and infectious diseases. *Transplantation.* 2006; 82: S15–S18.
40. *Game DS, Rogers NJ, Lechler RI.* Acquisition of HLA-DR and costimulatory molecules by T-cells from allogeneic antigen presenting cells. *Am. J. Transplant.* 2005; 5: 1614–1625.
41. *Morelli AE, Larregina AT, Shufesky WJ et al.* Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells. *Blood.* 2004; 104: 3257–3266.
42. *de Candia P, Torri A, Pagani M et al.* Serum microRNAs as biomarkers of human lymphocyte activation in health and disease. *Front Immunol.* 2014; 5: 43.
43. *Raposo G, Stoorvogel W.* Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles and friends. *J. Cell Biol.* 2013; 200: 373-83.
44. *Fevrier B and Raposo G.* Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2004; 16: 415–442.
45. *Delamarre L, Pack M, Chang H et al.* Differential lysosomal proteolysis in antigen-presenting cells determines antigen fate. *Science.* 2005; 307: 1630–1634.
46. *Montecalvo A, Larregina AT, Morelli AE.* Methods of analysis of dendritic cell-derived exosomes-shuttle micro RNA and its horizontal propagation between dendritic cells. *Methods Mol. Biol.* 2013; 1024: 19–40.

Статья поступила в редакцию 18.05.2015 г.
The article was submitted to the journal on 18.05.2015