

# КОИНГИБИРУЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ. КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ (CHECKPOINT) ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ

## Часть 1. Роль коингибирующих молекул в нормальном иммунном ответе, при аллергии и аутоиммунных заболеваниях

© 2017 г. А. П. Топтыгина

<sup>1</sup>ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Кафедра иммунологии Биологического факультета ФГБОУ ВПО «Московский  
государственный университет им. М. В. Ломоносова», Москва, Россия

Поступила: 16.01.2017. Принята: 25.06.2017

Дифференцировка и протективные свойства антиген-специфических Т-клеток регулируются как позитивными, так и негативными сигналами. Молекулы семейства В7/CD 28 очень важны для регуляции Т-клеточной активации и периферической толерантности. Особенно PD-1, CTLA-4 и другие ко-ингибирующие молекулы играют активную роль в ограничении чрезмерной иммунной активации, что чрезвычайно важно для успешного очищения от патогена без нанесения ущерба организму хозяина. Эти ко-ингибирующие молекулы (иммунологические контрольные точки) необходимы для дифференцировки индуцированных Treg и их функционирования. С другой стороны, гиперэкспрессия ко-ингибирующих молекул может приводить к формированию состояния «утомления» – exhaustion Т-клеток – адаптивного состояния Т-клеток, которое возникает при системной персистенции антигена. Такие «утомленные» Т-клетки описывают как Т-эффекторы с резко сниженной продукцией цитокинов и эффекторной функцией. В данном обзоре мы рассматриваем критически важную роль ко-ингибирующих молекул, которую они играют в иммунопатогенезе четырех иммунологических синдромов: аллергии, аутоиммунных заболеваний, хронических инфекций и рака. Обратимость состояния exhaustion Т-клеток с помощью блокады ко-ингибирующих путей открывает важную область терапевтического использования таких блокаторов в онкологии и при хронических вирусных инфекциях.

**Ключевые слова:** PD-1, CTLA-4, иммунные контрольные точки, exhaustion Т-клеток, аллергия, аутоиммунные заболевания, хронические инфекции, рак

### ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям, для индукции иммунного ответа необходимо 3 сигнала [1,2]. Первый сигнал – это распознавание антигенного пептида, представленного главным комплексом тканевой совместимости (major histocompatibility complex: МНС) на поверхности антигенпрезентирующей клетки (antigen presenting cells: APC).

**Адрес:** 125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова 10, МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского, Топтыгина Анна Павловна. Тел.: +7(495) 452-18-01 (раб.), +7(916)389-66-04.  
**E-mail:** toptyginaanna@rambler.ru

#### Авторы:

**Топтыгина А. П.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, профессор кафедры иммунологии Биологического факультета ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», Москва, Россия.

Этот сигнал приводит к активации наивного Т-лимфоцита. Вторым необходимым сигналом является связывание костимулирующих молекул и их лигандов, экспрессированных на APC и Т-лимфоцитах и принадлежащих, в основном к семействам В7 и фактора некроза опухолей (tumor necrosis factor: TNF). Эти сигналы обеспечивают выживание активированных лимфоцитов. Без сигнала от костимулирующих молекул Т-лимфоциты, распознавшие антиген переходят в состояние анергии [3]. Третий необходимый сигнал поступает от провоспалительных цитокинов, которые продуцируют APC в зависимости от сигналов, поступивших от их толл-подобных рецепторов (Toll like receptors: TLR). Именно сигналы от TLR, обеспечивающие первичное распознавание паттернов патогенов (бактерии, грибы, вирусы и т.п.) позволяют антиген-презентирующей клетке синтезировать определенный спектр цитокинов, направляющих дифференцировку CD4<sup>+</sup> Т-хелперов (T-helper: Th) в сторону Th1, Th2 или Th17, обеспечивая формирование адекватного иммунного ответа на патоген [4].

Наиболее хорошо исследована костимулирующая молекула CD28 – гликопротеин, конститутивно присутствующий на поверхности наивных Т-лимфоцитов [5]. Молекула CD28 формирует гомодимер на клеточной поверхности и связывает В7-1 (CD80) и В7-2 (CD86) на поверхности APC [6]. Сигналинг через CD28 приводит к связыванию тирозина в (immunoreceptor tyrosine activating motif: ITAM), расположенного во внутриклеточной части молекулы. В результате, этот сигнал индуцирует клеточную пролиферацию, повышает продукцию интерлейкина 2 (IL-2) и усиливает экспрессию антиапоптотических молекул (Bcl-XL) [7]. Достаточно хорошо известна костимулирующая пара индуцибельной костимуляторной молекулы (inducible costimulatory molecule: ICOS; CD278) – и ее лиганда ICOSL (В7-Н2, CD275). Сигналинг через эти рецепторы особенно важен для индукции транскрипционного фактора Bcl6, необходимого для образования фолликулярных Т-хелперов (Tfh) и формирования зародышевых центров [8]. Также к костимулирующим молекулам следует отнести OX40, Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor family-related protein (GITR), CD137, CD27 и herpes virus entry mediator (HVEM).

### Роль коингибирующих молекул в иммунном ответе

Относительно недавно были обнаружены коингибирующие молекулы, позволяющие регулировать интенсивность и продолжительность иммунного ответа [9]. К коингибирующим молекулам следует отнести Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA-4 или CD152), programmed cell death protein 1 (PD-1; CD279) и его лиганды PD-L1 PD-L2, B- and T-lymphocyte attenuator (BTLA; CD272) [10], T-cell immunoglobulin mucin-3 (TIM-3) [11], lymphocyte-activation gene 3 (Lag-3; CD223) [12], CD160 [13], V-domain immunoglobulin suppressor of T-cell activation (VISTA).

#### *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*

Одна из наиболее хорошо известных коингибирующих молекул CTLA-4 представляет собой трансмембранный протеин I типа, появляющийся на поверхности Т-клеток через 48 часов после активации и конститутивно экспрессированный на поверхности Т-регуляторных клеток (Treg). Эта молекула формирует на поверхности клеток гомодимер и конкурирует с CD28 за связывание с В7-1 и В7-2 за счет более высокой avidности связывания. Внутриклеточная часть CTLA-4, по-видимому, утратила immunoreceptor tyrosine inhibitory motif (ITIM), а содержит Tyr-Хаа-Хаа-Met мотив [14], который обеспечивает угнетение пролиферации Т-лимфоцитов за счет повышения синтеза индоламин 2,3 диоксигеназы (IDO) и снижения продукции IL-2 [15]. CTLA-4 появляется на поверхности активированного Т-лимфоцита к моменту, когда сигнал активации уже прошел и CD28 перемещается из центральной части иммунологического синапса cSMAC, где остается только CD3, на периферию в pSMAC. CTLA-4 перехватывает на себя взаимодействие с В7-1 и В7-2, чьи внутриклеточные участки взаимодействуют с цитоскелетом APC, что приводит разъединению синапса [16]. С другой стороны, вытеснение CD28 из связи с В7, стабилизовавшей иммунологический синапс, также способствует завершению взаимодействия APC и активированного Т-лимфоцита [17]. Кроме того, связывание CTLA-4 с CD80/86 приводит к снижению экспрессии последних на поверхности APC за счет механизма транс-эндоцитоза [18].

После элиминации патогена иммунный ответ должен быть завершён, дабы избежать

повреждения собственных тканей и формирования аутоиммунного воспаления [19,20]. Известно два основных механизма, вовлеченных в торможение эффекторной фазы иммунного ответа, это – торможение Т-клеточной экспансии [21] или элиминация активированных Т-клеток путем апоптоза [22]. Малая часть клеток-эффекторов, образовавшихся в процессе иммунного ответа, превращается в клетки памяти. Сокращение пула антигенспецифических Т-эффекторов при завершении иммунного ответа на данный антиген и судьба той или иной конкретной клетки зависит от нескольких транскрипционных факторов, включение или выключение которых также регулируется за счет сигналинга через CTLA-4 [23].

Еще одним уровнем контроля безопасности иммунного ответа является предупреждение развития аутоиммунного ответа, активация которого возможна как в процессе гомеостатической поддержки Т-лимфоцитов во вторичных лимфоидных органах, так и при нарушении завершения иммунного ответа на патоген. В регуляции этих процессов активное участие принимает CTLA-4, экспрессированная на Treg [24]. Treg с помощью CTLA-4 перехватывают взаимодействие CD28 – B7 на себя при попытке активироваться аутореактивного Т-лимфоцита за счет более высокого аффинитета Т-клеточного рецептора Treg к аутоантигенам и CTLA-4 к комплексу B7. Показано, что протеинкиназа тета контролирует передачу регуляторного сигнала Treg [25]. Treg за счет взаимодействия CTLA-4 – B7 формируют более тесный и продолжительный контакт с APC [26]. Натуральные Treg формируют тесные агрегаты с APC, препятствуя их созреванию и ограничивая возможность передачи ко-стимулирующего сигнала при распознавании аутоантигена [27, 28].

### *Programmed cell death protein 1*

Другая хорошо изученная коингибирующая молекула PD-1 экспрессируется на активированных CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитах, НКТ-, В-клетках и активированных макрофагах [29] и ее экспрессия индуцируется сигналами через Т- или В-клеточный рецептор [30]. Внутриклеточный участок PD-1 имеет ITIM-мотив и immunoreceptor tyrosine-based switch motif (ITSM), вовлекающий в процесс передачи сигнала тирозин фосфатазы SHP-1 and SHP-2 [31]. Молекула PD-1 имеет 2 собственных лиган-

да: PD-L1 (B7-H1, CD274) экспрессирован на большинстве клеток, в том числе, на клетках эндотелия сосудов, эпителиальных, мышечных клетках, гепатоцитах, APC, в плаценте и гемопоэтических клетках; тогда как PD-L2 (B7-DC, CD273) экспрессирован только на гемопоэтических клетках: дендритных клетках (DC), макрофагах, тучных клетках [32]. Интересно, что PD-L1 способен также связываться с B7-1 (CD80), который обычно взаимодействует с CD28 или CTLA-4 [33]. Экспрессия PD-L1 и PD-L2 зависит от микроокружения. Так интерфероны 1 и 2 типа и TNF- $\alpha$  индуцируют PD-L1 на Т- и В-лимфоцитах, эпителиальных и эндотелиальных клетках [31]. Цитокины IL-2, IL-7 и IL-15 повышают экспрессию PD-L1 на Т-клетках человека, а IL-21 – на В-лимфоцитах. IL-10 индуцирует PD-L1 на моноцитах. Интерфероны, IL-4, и гранулоцит-макрофаг колониестимулирующий фактор (GM-CSF) стимулирует экспрессию PD-L2 на DC *in vitro*, а общая  $\gamma$ -цепь цитокинов индуцирует PD-L1 и, в меньшей степени, PD-L2 на моноцитах и макрофагах человека [34]. Связывание пары лиганд – рецептор приводит к фосфорилированию ингибирующих мотивов и снижению экспрессии Bcl-XL и активации клеточной дифференцировки [31]. Известно, что PD-1 достаточно высоко экспрессирована на Tfh [35]. Полагают, что сигналинг через эту молекулу помогает Tfh зародышевого центра избежать ненужной пролиферации, индуцируемой частыми контактами их Т-клеточного рецептора с комплексом MHCII-пептид на поверхности В-лимфоцитов зародышевого центра, а стимулирует при этом созревание Tfh, повышает выживание В-клеток в зародышевом центре и способствует повышению аффинитета антител [36]. Сигналинг через PD-1 необходим для формирования индуцированных Treg (iTreg). Связывание PD-1/PD-L1 блокирует phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)-АКТ внутриклеточный путь в наивных клетках, что приводит к инактивации наивных Т-клеток и ингибированию их дифференцировки в Т-эффекторы [37]. В присутствии TGF- $\beta$  блокировка пути PI3K-АКТ приводит к перепрограммированию дифференцировки активированных Т-клеток в сторону iTreg [38]. Сопоставление внутриклеточных путей передачи сигнала от CTLA-4 и PD-1 выявило различия: если CTLA-4 негативно влияет непосредственно на АКТ, то воздействие PD-1

блокирует PI3K, которая расположена выше в цепочке передачи сигнала. Это приводит к тому, что ингибция, вызванная PD-1, оказывается более глубокой. Так показано, что CTLA-4 подавляет примерно 67% транскрипций, вызванных связыванием CD3/CD28 рецепторов, тогда как PD-1 подавляет до 90% таких транскрипций [37].

Достаточно хорошо изучена роль PD-1 в поддержании нормальной беременности. Т-лимфоциты, распознающие отцовские антигены, повышено экспрессируют PD-1 во время беременности, а блокада PD-L1 приводит к резорбции плода [39].

#### *Другие коингибирующие молекулы*

К менее известными коингибирующим молекулам относится BTLA (CD272), представляющая собой гликозилированный трансмембранный гликопротеин I типа и являющаяся членом суперсемейства иммуноглобулинов. BTLA конститутивно экспрессируется на наивных Т-лимфоцитах, Th1, Tfh, NK- и NKT-клетках, В-лимфоцитах, DC и макрофагах [40]. Сигналинг через BTLA активно участвует во взаимодействии Tfh/В-клеток и в созревании аффинитет антител. BTLA конкурирует с CD160 и LIGHT (TNFSF14; CD258) за связывание с HVEM [41]. При этом результат сигналинга зависит от того, как сформировалась данная связь. Так сигналинг BTLA-HVEM оказывает угнетающее действие при связывании в положении транс и, напротив, повышает выживание клетки при связывании в положении цис, хотя до сих пор непонятен механизм такого эффекта [42].

Другая коингибирующая молекула Tim-3 экспрессируется на терминально дифференцированных Th1 и при связывании со своим лигандом,  $\beta$ -галактозид связывающим белком галектином-9, индуцирует апоптоз в Th1 клетках [43]. Галектин-9 экспрессирован на клетках печени, а также в тимусе, где участвует в делеции развивающихся тимоцитов [44]. Показано, что галектин-9 экспрессируется на Treg и, возможно, Tim-3 является одним из механизмов более сильного ингибирования Th1 [45]. Также показано, что Tim-3 может негативно регулировать аллореактивные CD8<sup>+</sup>, участвуя, таким образом, в регуляции трансплантационного иммунитета [46].

Коингибирующая молекула LAG-3 представляет собой трансмембранный белок I типа

и относится к белкам семейства CD4<sup>+</sup>. Лигандом для этого белка является молекула MHC класса II [47]. Показано, что LAG-3 угнетает функции CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток и плазматических DC [48,49], а также регулирует гомеостатическую пролиферацию CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и супрессивную активность Treg [48]. LAG-3 способен подавлять антигенную стимуляцию как CD4<sup>+</sup>, так и CD4<sup>-</sup> лимфоцитов, что свидетельствует о том, что конкурирование с CD4 за связывание с MHC II не является главным ингибиторным механизмом действия LAG-3. Более того, цитоплазматический хвост не содержит ни один из известных ингибирующих мотивов, что дает основание думать, что эта молекула использует какой-то уникальный, до сих пор неизвестный механизм передачи ингибирующего сигнала [50].

Следующая коингибирующая молекула VISTA является мембранным протеином I типа и относится к суперсемейству иммуноглобулинов. Структурный анализ свидетельствует, что экстрацеллюлярный домен VISTA несет черты гомологии с PD-L1, ее даже называют PD-L1homolog (PD-1H). Тем не менее, поскольку IgV домен VISTA содержит три дополнительных цистеина, он оказался уникальным во всем суперсемействе иммуноглобулинов. Поэтому форма VISTA в пространстве совсем не похожа на PD-L1, не связывается с PD-1, и лиганд для VISTA неизвестен. Эта молекула экспрессируется только на гемопоэтических клетках, ее много на зрелых миелоидных APC и несколько меньше – на Т-клетках и Treg [51]. Этими представителями далеко не ограничивается список коингибирующих молекул. Есть еще B7-H3, B7-H4, B7-H6, 2B4 и некоторые другие, но про них известно еще меньше. Однако это оставляет надежду, что в ближайшем будущем мы узнаем много нового о тонких механизмах иммунорегуляции.

#### **Участие коингибирующих молекул в патогенезе заболеваний**

В англоязычной литературе сигналинг через коингибирующие молекулы часто именуется immunological checkpoints, что переводят как контрольные точки, сигнальные точки и даже непосредственно КПП (контрольно-пропускной пункт). Все варианты перевода нельзя признать очень удачными. Смысл названия состоит в том, что после взаимодей-

ствия коингибирующей молекулы с ее лигандом коренным образом меняется судьба получившей сигнал клетки. Она прекращает пролиферировать и может начать дифференцироваться, созревать, перейти в состояние апоптоза или анергии, одним словом, она уже не будет такой, как прежде. С другой стороны, в названии «контрольные точки» заложен контекст иммунорегуляции и подчеркивается тот факт, что после взаимодействия лиганд-рецептор возможны разные состояния клетки, как негативные (апоптоз или анергия), так и позитивные (дифференцировка или созревание), тогда как термин «коингибирующие молекулы» подразумевает только негативный сигналинг.

Традиционно клиническая иммунология занимается четырьмя основными синдромами: аллергия, аутоиммунная патология, хронические рецидивирующие инфекции и опухоли (онкология). При этом два первых синдрома связаны с избыточной активностью иммунной системы на безобидные антигены окружающей среды, например пищевые или пыльцевые аллергены, или на нормальные аутоантигены; два последних синдрома связаны, напротив, с недостаточной активностью иммунной системы на патогены, что позволяет им персистировать в организме или на собственные измененные опухолевым процессом антигены, что способствует прогрессированию онкологического заболевания. Понятно, что все четыре синдрома опосредованы нарушением иммунорегуляции в ту или иную сторону, поэтому особенно важно проследить, какое влияние оказывают коингибирующие молекулы (контрольные точки) на развитие этих четырех синдромов.

#### *Аутоиммунная патология*

Толерантность к антигенам собственного организма является ключевым принципом функционирования иммунной системы. Существует несколько уровней формирования ауто толерантности. Так механизмы центральной толерантности направлены на делецию аутореактивных клонов еще в процессе формирования Т-лимфоцитов в тимусе [1, 2]. Однако некоторые аутореактивные клоны все-таки оказываются на периферии [52, 53]. За дальнейший контроль, позволяющий избежать аутоиммунных процессов, отвечают различные механизмы периферической толерантности, включающие делецию или анергию ауто-

реактивных клонов и подавляющее действие Treg. Нарушение любого из этих механизмов чревато развитием аутоиммунного заболевания. Тем не менее, именно Treg отвечают за баланс Т-клеточной активации, толерантности и иммуноопосредованного повреждения тканей организма. Выделяют две основных субпопуляций Foxp3<sup>+</sup> Treg: натуральные (центральные, тимические), образующиеся в тимусе, (nTreg) [54] и индуцируемые (периферические), развивающиеся на периферии из CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> наивных Т-лимфоцитов под действием TGF- $\beta$  и IL-2 (iTreg) [55]. Также важными регуляторными цитокинами являются IL-10 и IL-35 [56, 57]. С помощью своих цитокинов Treg оказывают регуляторное воздействие на многие субпопуляции иммунокомпетентных клеток, однако в настоящем обзоре мы сосредоточимся преимущественно на контактных механизмах действия Treg. Выше мы уже обсуждали, что Treg способны тормозить активность APC, представляющих аутоантигены, за счет более высокоаффинного распознавания Т-клеточным рецептором Treg аутоантигенов и более интенсивного взаимодействия CTLA-4, конститутивно экспрессированного на поверхности Treg с B7-1 и B7-2, а также за счет элиминации последних с поверхности APC путем транс-эндоцитоза. Более того, Treg способны оказывать негативное воздействие за счет Treg-опосредованного цитолиза APC, Т-эффекторов и NK-клеток, поскольку имеют гранулы, содержащие перфорин и гранзимы А и В [58]. Интересно, что презентация антигенного пептида APC наивному Т-лимфоциту при одновременном сигналинге через PD-1/PD-L1 взаимодействие и в присутствии TGF- $\beta$  приводит к формированию из этих наивных Т-лимфоцитов не Т-эффекторов, а iTreg [59]. В то же время, экспрессия PD-1 на APC позволяет Treg угнетать функции APC [60]. Таким образом, можно констатировать, что периферическая толерантность обеспечивается несколькими субпопуляциями регуляторных клеток (в этом обзоре мы не касались CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> и других типов регуляторных клеток) и за счет нескольких различных механизмов: продукция противовоспалительных цитокинов (IL-10, TGF- $\beta$  и IL-35), прямое уничтожение Т-эффекторов, контактное ингибирование активированных Т-лимфоцитов и модуляция активности APC [61]. Тем не менее, при срыве периферической толерантности возникает

аутоиммунное воспаление в том или ином органе или ткани, что случается, к сожалению, отнюдь не редко.

При многих аутоиммунных заболеваниях показана ключевая роль Treg в предотвращении развития заболевания и нарушение функций этих клеток в случае его возникновения. Так при аутоиммунном диабете 1 типа (Д1Т) и на мышинных моделях и у пациентов были выявлены нарушения функций Treg [62, 63]. При моделировании на мышах рассеянного склероза с помощью экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE) доказана ведущая роль Treg как в предотвращении развития заболевания, так и в скорости прогрессирования, если заболевание все-таки состоялось [64]. В случае воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), таких как болезнь Крона и язвенный колит четко показан сдвиг баланса Treg/Th17 в сторону Th17 [65]. Для ревматоидного артрита (РА) показано, что деплеция Treg при моделировании РА на мышах приводит к резкому обострению заболевания, а избирательное накопление антигенспецифических Treg в пораженном суставе способствует излечению животного [66]. У пациентов с РА обнаружено накопление Treg в пораженном суставе, но функции их снижены. В то же время при лечении РА с помощью анти-TNF антител отмечено восстановление и количества, и функций Treg [67].

Накоплено достаточный объем сведений о роли сигнального пути контрольной точки PD-1/PD-L1 в развитии аутоиммунной патологии. Так, при блокаде антителами контрольных точек PD-1 или PD-L1 диабет у non-obese diabetic мышей, которые считаются лучшей моделью Д1Т человека, развивался с катастрофической скоростью, тогда как блокада PD-L2 не влияет на скорость развития заболевания [68]. Поскольку PD-L1 широко экспрессирован на многих типах клеток организма, например на  $\beta$ -клетках островков поджелудочной железы, при взаимодействии с аутоагрессивными T-эффекторами,  $\beta$ -клетки островков через сигналинг PD-1/PD-L1 могут не только затормозить атаку T-эффекторов, но и за счет свойства пластичности CD4<sup>+</sup> лимфоцитов трансформировать их при дополнительной стимуляции через TGF- $\beta$  в iTreg. Таким же свойством обладают клетки эндотелия сосудов и стромы органа [59].

В головном мозге PD-L1 экспрессирован на нейронах, астроцитах и сосудистом эндотелии, а экспрессию PD-L1 на CD11b<sup>+</sup> APC у мышей с EAE индуцирует IL-12 [69]. Также показано, что клетки микроглии экспрессируют PD-L1 под действием IFN- $\gamma$  [70]. Более того, у пациентов с рассеянным склерозом была обнаружена мутация в энхансере гена PD-1, которая нарушает связывание Runx1 и приводит к снижению возможности PD-1 ингибировать продукцию IFN- $\gamma$  [71]. Интересно, что коклюшный токсин, необходимый для индукции EAE у мышей снижает экспрессию PD-1 на iTreg. Ране предполагалось, что коклюшный токсин повышает проницаемость гематоэнцефалического барьера, что необходимо для индукции EAE. Оказалось, что хотя коклюшный токсин не нарушает экспрессию основных маркеров Treg, таких как CD45RB, CD103, GITR и CTLA-4, он прямо снижает экспрессию PD-1 на Treg [72]. Все эти исследования свидетельствуют, что Treg и особенно сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1 играют ключевую роль в регуляции аутоиммунного воспаления в ЦНС.

У больных с ВЗК экспрессия PD-L1 резко повышена на эпителиальных клетках кишечника по сравнению со здоровыми добровольцами, что свидетельствует о том, что сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1 регулирует мукозальную толерантность *in situ* [73]. На мышинных моделях ВЗК показано, что именно адоптивный перенос PD-1 несущих Treg способен затормозить развитие колита [74]. Более того, описана конверсия колитогенных CD4<sup>+</sup> клеток-эффекторов под воздействием сигналинга PD-1/PD-L1 в iTreg, что приводило к излечению от колита [75].

Обнаружена высокая экспрессия PD-L1 и PD-1 на синовиальных T-лимфоцитах и макрофагах у пациентов с РА до лечения по сравнению со здоровыми индивидуумами, однако, несмотря на эту высокую экспрессию коингибирующих молекул сохраняется высокая активность T-эффекторов в пораженном суставе. Интересно, что у пациентов с РА в суставной жидкости пораженных суставов был выявлен вариант альтернативного сплайсинга PD-1 (PD-1 $\Delta$ ex3). Этот вариант сплайсинга приводил к образованию растворимых молекул PD-1, которые конкурировали за связывание с PD-L1 и блокировали как формирование iTreg, так и подавляющее воздействие имеющих iTreg на T-эффекторы [76].

Таким образом, приведенные здесь данные свидетельствуют о том, что сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1 является ключевым в развитии аутоиммунной патологии не только по причине непосредственного участия в подавлении активности аутореактивных клонов, но также и за счет поддержания и развития функций Treg и особенно iTreg. Предпринимаются попытки использовать воздействие на сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1 с лечебной целью. Так, например, введение мышам анти-PD-L1 антител ингибировало развитие коллаген-индуцированного артрита (лучшая мышинная модель РА) [77]. Предпринимаются попытки наработки Treg *ex vivo* для терапии аутоиммунных заболеваний и предотвращения отторжения трансплантата [78]. Несомненно, создание терапевтического агониста PD-L1 могло бы открыть новое направление в терапии аутоиммунных заболеваний за счет поддержания и усиления функций собственных Treg и подавления активности и экспансии аутореактивных T-эффекторов.

### Аллергия

Аллергические заболевания также служат примером сниженной толерантности, но не к аутоантигенам, а к безобидным антигенам окружающей среды. Действительно, антигены пищи, шерсть животных, пыльца растений и даже домашняя пыль не представляют такой опасности для организма, как бурная аллергическая реакция на них. Аллергические заболевания остаются в числе наиболее распространенных, особенно в развитых странах. Наиболее типичным для аллергии, например для бронхиальной астмы, является гиперпродукция цитокинов типа Th2 (IL-4, IL-5 и IL-13) вслед за распознаванием специфического аллергена. Это приводит к повышению уровня IgE, эозинофильному воспалению и гиперреактивности бронхов (ГРБ) [79]. В то же время, другие субпопуляции T-лимфоцитов могут влиять на течение заболевания. Так, например, показано, что Treg оказывают протективное действие как на мышинных моделях заболевания, так и у пациентов [80, 81]. Тогда как цитокины типа Th17 могут наоборот утяжелять течение заболевания [82]. Показано, что способность плазмацитоидных DC индуцировать Treg и ограничивать развитие астмы связана с повышенным уровнем экспрессии на них

PD-L1 [83], однако нет единого мнения оказывает ли сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1(2) протективное воздействие на течение бронхиальной астмы или нет [84, 85]. Более того, оказалось, что результат сигналинга зависит от того, через какой из двух лигандов (PD-L1 или PD-L2) прошел сигнал и может различаться диаметрально. Так если задействован сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1, то наблюдается усиление продукции цитокинов типа Th2, усиление экспрессии транскрипционного фактора GATA3. Полагают, что свой вклад в изменение баланса в сторону Th2 привносят плазмацитоидные DC, хотя этим не исчерпываются все механизмы активации Th2 при сигналинге PD-1/PD-L1. С другой стороны, блокада PD-1/PD-L1 приводит к повышению синтеза цитокинов типа Th1, например, IFN- $\gamma$  и активации дифференцировки в сторону Th17, что приводит к более выраженной ГРБ, нейтрофильной инфильтрации легких и продукции IL-17A, тогда как продукция Th2 цитокинов, уровень IgE и метаплазия бокаловидных клеток слизистой никак не реагирует на такую блокаду [86].

Показано, что PD-L2 высоко экспрессируется на DC и макрофагах в легких сенсibilизированных мышей, а введение антител, блокирующих PD-L2, но не PD-1 или PD-L1, при введении разрешающей дозы аллергена, усиливает ГРБ и продукцию цитокинов типа Th2 [87]. Этот эффект опосредуется IFN- $\gamma$ , поскольку у IFN- $\gamma$  дефицитных мышей данный феномен не воспроизводится [88]. Различия в эффектах при проведении сигнала через PD-L1 или PD-L2 на выраженность симптомов ГРБ были обнаружены при введении  $\alpha$ -GalCer. PD-L1 дефицитные мыши демонстрировали слабовыраженную ГРБ и минимальное воспаление воздухоносных путей, что сопровождалось усилением продукции IFN- $\gamma$  iNKT-клетками. Напротив, PD-L2 дефицитные мыши развивали сильно выраженную ГРБ, по сравнению с контрольной группой мышей дикого типа, и это сопровождалось усилением продукции IL-4 iNKT-клетками. Интересно, что двойной нокаут (PD-L1/PD-L2) приводил к нейтрализации эффектов и такие мыши развивали ГРБ, сопоставимую с контрольной группой [85]. Показано, что культивирование DC мышей в присутствии IL-4 и LPS приводит к повышению на них экспрессии PD-L2, а если в культуральную среду добавлять

IFN- $\gamma$ , то это способствует повышению экспрессии PD-L1 [85]. Кроме того, показано, что сигналинг через PD-L2 снижает продукцию IL-12 APC, и этот эффект независим от PD-1 молекулы. По-видимому, у PD-L2 имеется еще один рецептор помимо PD-1 [89]. Более того, разные субпопуляции CD4<sup>+</sup> T-клеток задействуют разные варианты комплекса mTOR. Так дифференцировку в сторону Th1 и Th17 поддерживает mTOR комплекс 1 (mTORC1), а дифференцировку в сторону Th2 обеспечивает mTORC2 [90,91]. Активация mTORC1 в T-клетках происходит по классическому пути активации mTOR, который зависит от пути PI3K/AKT, тогда как механизм активации mTORC2 в Th2 лимфоцитах еще не вполне ясен, но он, по-видимому, не зависит от пути активации PI3K/AKT [92]. Поскольку PD-1 ингибирует активацию пути PI3K/AKT в CD4<sup>+</sup> T-клетках [59], возможно, что сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1 ингибирует mTORC1, тогда как mTORC2 может оставаться нечувствительным к действию PD-1. Эти данные свидетельствуют, что передача сигнала через PD-L1 или PD-L2 неравнозначна и эти лиганды могут играть противоположную роль в патогенезе аллергических заболеваний. Если PD-L1 способствует усилению Th2-ответа, то PD-L2, возможно, играет протективную роль.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ярилин А. А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медия, 2010. – 752. [Yarilin A. A. Immunology. M.: GEOTAR-Media, 2010, 752].
2. Kenneth P., Murphy P. T., Walport M., Janeway C. Immunobiology. New York, NY: Garland Science, Taylor and Francis Group, LLC, 2008.
3. Jenkins M. K. The ups and downs of T cell costimulation. *Immunity*. 1994, 1, 443-446.
4. Yamane H., W. E. Paul Cytokines of the [gamma] c family control CD4<sup>+</sup> T cell differentiation and function. *Nat. Immunol.* 2012, 13, 1037-1044.
5. Green J. M., Noel P. J., Sperling A. I., Walunas T. L., Lenschow D. J., Stack R., Gray G. S., Bluestone J. A., Thompson C. B. T cell costimulation through the CD28 receptor. *Proceedings of the Association of American Physicians*. 1995, 107, 41-46.
6. Greenfield E. A., Nguyen K. A., Kuchroo V. K. CD28/B7 costimulation: a review. *Critical reviews in immunology*. 1998, 18, 389-418.
7. Boise L. H., Minn A. J., Noel P. J., June C. H., Accavitti M. A., Lindsten T., Thompson C. B. CD28 costimulation can promote T cell survival by enhancing the expression of Bcl-XL. *Immunity*. 1995, 3, 87-98.
8. Choi YS, Kageyama R., Eto D., Escobar T. C., Johnston R. J., Monticelli L., Lao C., Crotty S. ICOS receptor instructs T follicular helper cell versus effector cell differentiation via induction of the transcriptional repressor Bcl6. *Immunity*. 2011, 34, 932-946.
9. Leibson P. J. The regulation of lymphocyte activation by inhibitory receptors. *Current Opinion in Immunology*. 2004, 16(3), 328-336.
10. Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2004, 4(5), 336-347.
11. Zhu C., Anderson A. C., Kuchroo V. K. TIM-3 and its regulatory role in immune responses. *Current topics in microbiology and immunology*. 2011, 350, 1-15.
12. Huard B., Gaulard P., Faure F., Hercend T., Triebel F. Cellular expression and tissue distribution of the human LAG-3-encoded protein, an MHC class II ligand. *Immunogenetics*. 1994, 39(3), 213-217.
13. Cai G., Freeman G. J. The CD160, BTLA, LIGHT/HVEM pathway: a bidirectional switch regulating T-cell activation. *Immunological Reviews*. 2009, 229(1), 244-258.
14. Rudd C. E., Schneider H. Unifying concepts in CD28, ICOS and CTLA4 co-receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2003, 3, 544-556.
15. Walunas T. L., Lenschow D. J., Bakker C. Y., Linsley P. S., Freeman G. J., Green J. M., Thompson C. B., Bluestone J. A. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity*. 1994, 1, 405-413.
16. Doty R. T., Clark E. A. Two regions in the CD80 cytoplasmic tail regulate CD80 redistribution and T cell costimulation. *J Immunol*. 1998, 161, 2700-2707.
17. Yokosuka T., Kobayashi W., Takamatsu M., Sakata-Sogawa K., Zeng H., Hashimoto-Tane A., Yagita H., Tokunaga M., Saito T. Spatiotemporal basis of CTLA-4 costimulatory molecule-mediated negative regulation of T cell activation. *Immunity* 2010, 33, 326-39.
18. Qureshi O. S., Zheng Y., Nakamura K., Attridge K., Manzotti C., Schmidt E. M., Baker J., Jeffery L. E., Kaur S., Briggs Z., Hou T. Z., Futter C. E., Anderson G., Walker L. S., Sansom D. M. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science* 2011, 332, 600-603.
19. Mackay C. R., Marston W. L., Dudler L. Naive and memory T cells show distinct pathways of lymphocyte recirculation. *Journal of Experimental Medicine*. 1990, 171(3), 801-817.
20. Badovinac V. P., Harty J. T. Programming, demarcating, and manipulating CD8<sup>+</sup> T-cell memory. *Immunological Reviews*. 2006, 211, 67-80.
21. Chambers C. A., Kuhns M. S., Egen J. G., Allison J. P. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annual Review of Immunology*. 2001, 19, 565-594.
22. Hildeman D. A., Zhu Y., Mitchell T. C., Kappler J., Marrack P. Molecular mechanisms of activated



- T cell death *in vivo*. *Current Opinion in Immunology*. 2002, 14(3), 354-359.
23. Iezzi G., Karjalainen K., Lanzavecchia A. The duration of antigenic stimulation determines the fate of naive and effector T cells. *Immunity*. 1998, 8(1), 89-95.
  24. Salomon B., Bluestone J. A. Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annual Review of Immunology*. 2001, 19, 225-252.
  25. Kong K. F., Fu G., Zhang Y., Yokosuka T., Casas J., Canonigo-Balancio A. J., Becart S., Kim G., Yates 3rd J. R., Kronenberg M., Saito T., Gascoigne N. R., Altman A. Protein kinase C- $\theta$  controls CTLA-4-mediated regulatory T cell function. *Nat Immunol*. 2014, 15, 465-472.
  26. Miska J., Abdulreda M. H., Devarajan P., Lui J. B., Suzuki J., Pileggi A., Berggren P. O., Chen Z. Real-time immune cell interactions in target tissue during autoimmune-induced damage and graft tolerance. *J Exp Med*. 2014, 211, 441-456.
  27. Onishi Y., Fehervari Z., Yamaguchi T., Sakaguchi S. Foxp3<sup>+</sup> natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells *in vitro* and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008, 105, 10113-10118.
  28. Oderup C., Cederbom L., Makowska A., Cilio C. M., Ivars F. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4-dependent down-modulation of costimulatory molecules on dendritic cells in CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T-cell-mediated suppression. *Immunology*. 2006, 118, 240-249.
  29. Greenwald R. J., Freeman G. J., Sharpe A. H. The B7 family revisited. *Annual Review of Immunology*. 2005, 23, 515-548.
  30. Nakae S., Suto H., Iikura M., Kakurai M., Sedgwick J. D., Tsai M., Galli S. J. Mast cells enhance T cell activation: importance of mast cell costimulatory molecules and secreted TNF. *Journal of Immunology*. 2006, 176(4), 2238-2248.
  31. Keir M. E., Butte M. J., Freeman G. J., Sharpe A. H. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annual review of immunology*. 2008, 26, 677-704.
  32. Ishida M., Iwai Y., Tanaka Y., Okazaki T., Freeman G. J., Minato N., Honjo T. Differential expression of PD-L1 and PD-L2, ligands for an inhibitory receptor PD-1, in the cells of lymphohematopoietic tissues. *Immunology Letters*. 2002, 84(1), 57-62.
  33. Butte M. J., Keir M. E., Phamduy T. B., Sharpe A. H., Freeman G. J. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity*. 2007, 27, 111-122.
  34. Kinter A. L., Godbout E. J., McNally J. P., Sereti I., Roby G. A., O'Shea M. A., Fauci A. S. The common gamma-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J Immunol*. 2008, 181, 6738-6746.
  35. Yusuf I., Kageyama R., Monticelli L., Johnston R. J., Ditoro D., Hansen K., Barnett B., Crotty S. Germinal center T follicular helper cell IL-4 production is dependent on signaling lymphocytic activation molecule receptor (CD150). *J Immunol*. 2010, 185, 190-202.
  36. Good-Jacobson K. L., Szumilas C. G., Chen L., Sharpe A. H., Tomayko M. M., Shlomchik M. J. PD-1 regulates germinal center B cell survival and the formation and affinity of long-lived plasma cells. *Nat Immunol*. 2010, 11, 535-542.
  37. Parry R. V., Chemnitz J. M., Frauwirth K. A., Lanfranco A. R., Braunstein I., Kobayashi S. V., Linsley P. S., Thompson C. B., Riley J. L. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Molecular and cellular biology*. 2005, 25, 9543-9553.
  38. Wang L., Pino-Lagos K., de Vries V. C., Guleria I., Sayegh M. H., Noelle R. J. Programmed death 1 ligand signaling regulates the generation of adaptive Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008, 105, 9331-9336.
  39. Guleria I., Khosroshahi A., Ansari M. J., Habicht A., Azuma M., Yagita H., Noelle R. J., Coyle A., Mellor A. L., Khoury S. J., Sayegh M. H. A critical role for the programmed death ligand 1 in fetomaternal tolerance. *J Exp Med*. 2005, 202, 231-237.
  40. Watanabe N., Gavrieli M., Sedy J. R., Yang J., Fallarino F., Loftin S. K., Hurchla M. A., Zimmerman N., Sim J., Zang X., Murphy T. L., Russell J. H., Allison J. P., Murphy K. M. BTLA is a lymphocyte inhibitory receptor with similarities to CTLA-4 and PD-1. *Nature immunology*. 2003, 4, 670-679.
  41. Steinberg M. W., Cheung T. C., Ware C. F. The signaling networks of the herpesvirus entry mediator (TNFRSF14) in immune regulation. *Immunological reviews*. 2011, 244, 169-187.
  42. Cheung T. C., Osborne L. M., Steinberg M. W., Macaulley M. G., Fukuyama S., Sanjo H., D'Souza C., Norris P. S., Pfeffer K., Murphy K. M., Kronenberg M., Spear P. G., Ware C. F. T cell intrinsic heterodimeric complexes between HVEM and BTLA determine receptivity to the surrounding microenvironment. *J Immunol*. 2009, 183, 7286-7296.
  43. Zhu C., Anderson A. C., Schubart A., Xiong H., Imitola J., Khoury S. J., Zheng X. X., Strom T. B., Kuchroo V. K. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol*. 2005, 6, 1245-1252.
  44. Wada J., Ota K., Kumar A., Wallner E. I., Kanwar Y. S. Developmental regulation, expression, and apoptotic potential of galectin-9, a beta-galactoside binding lectin. *J Clin Invest*. 1997, 99, 2452-2461.
  45. Wang F., Wan L., Zhang C., Zheng X., Li J., Chen Z. K. Tim-3-Galectin-9 pathway involves the suppression induced by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Immunobiology*. 2009, 214, 342-349.
  46. Wang F., He W., Zhou H., Yuan J., Wu K., Xu L., Chen Z. K. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates CD8<sup>+</sup> alloreactive T cell and prolongs survival of skin graft. *Cell Immunol*. 2007, 250, 68-74.
  47. Baixeras E., Huard B., Miossec C., Jitsukawa S., Martin M., Hercend T., Auffray C., Triebel F., Piatier

- Tonneau D. Characterization of the lymphocyte activation gene 3–encoded protein. A new ligand for human leukocyte antigen class II antigens. *J. Exp. Med.* 1992, 176, 327-337.
48. Workman C. J., Vignali D. A. Negative regulation of T cell homeostasis by lymphocyte activation gene-3 (CD223). *J. Immunol.* 2005, 174, 688-695.
  49. Workman C. J., Wang Y., El Kasm K. C., Pardoll D. M., Murray P. J., Drake C. G., Vignali D. A. LAG-3 regulates plasmacytoid dendritic cell homeostasis. *J. Immunol.* 2009, 182, 1885-1891.
  50. Workman C. J., Dugger K. J., Vignali D. A. Cutting edge: molecular analysis of the negative regulatory function of lymphocyte activation gene-3. *J. Immunol.* 2002, 169, 5392-5395.
  51. Wang L., Rubinstein R., Lines J. L., Wasiuk A., Ahonen C., Guo Y., Lu L. F., Gondek D., Wang Y., Fava R. A., Fiser A., Almo S., Noelle R. J. VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses. *J. Exp. Med.* 2011, 208, 577-592.
  52. van Noort J. M., van Sechel A., Boon J., Boersma W. J., Polman C. H., Lucas C. J. Minor myelin proteins can be major targets for peripheral blood T cells from both multiple sclerosis patients and healthy subjects. *J. Neuroimmunol.* 1993, 46, 67-72.
  53. Lohmann T., Leslie R. D., Londei M. T cell clones to epitopes of glutamic acid decarboxylase 65 raised from normal subjects and patients with insulin-dependent diabetes. *J. Autoimmun.* 1996, 9, 385-389.
  54. Fontenot J. D., Rasmussen J. P., Williams L. M., Doolley J. L., Farr A. G., Rudensky A. Y. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity.* 2005, 22, 329-341.
  55. Rubtsov Y. P., Rudensky A. Y. TGFbeta signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity. *Nat Rev Immunol.* 2007, 7, 443-453.
  56. Rubtsov Y. P., Rasmussen J. P., Chi E. Y., Fontenot J., Castelli L., Ye X., Treuting P., Siewe L., Roers A., Henderson Jr W. R., Muller W., Rudensky A. Y. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces. *Immunity.* 2008, 28, 546-558.
  57. Collison L. W., Workman C. J., Kuo T. T., Boyd K., Wang Y., Vignali K. M., Cross R., Sehy D., Blumberg R. S., Vignali D. A. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature.* 2007, 450, 566-569.
  58. Gondek D. C., Lu L. F., Quezada S. A., Sakaguchi S., Noelle R. J. Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J. Immunol.* 2005, 174, 1783-1786.
  59. Francisco L. M., Salinas V. H., Brown K. E., Vanguri V. K., Freeman G. J., Kuchroo V. K., Sharpe A. H. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 2009, 206, 3015-3029.
  60. Yao S., Wang S., Zhu Y., Luo L., Zhu G., Flies S., Xu H., Ruff W., Broadwater M., Choi I. H., Tamada K., Chen L. PD-1 on dendritic cells impedes innate immunity against bacterial infection. *Blood.* 2009, 113, 5811-5818.
  61. Vignali D. A., Collison L. W., Workman C. J. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol.* 2008, 8, 523-532.
  62. Green E. A., Gorelik L., McGregor C. M., Tran E. H., Flavell R. A. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T regulatory cells control anti-islet CD8<sup>+</sup> T cells through TGF-beta-TGF-beta receptor interactions in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003, 100, 10878-10883.
  63. Kukreja A., Cost G., Marker J., Zhang C., Sun Z., Lin-Su K., Ten S., Sanz M., Exley M., Wilson B., Porcelli S., Maclaren N. Multiple immuno-regulatory defects in type-1 diabetes. *J. Clin Invest.* 2002, 109, 131-140.
  64. McGeachy M. J., Stephens L. A., Anderson S. M. Natural recovery and protection from autoimmune encephalomyelitis: contribution of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory cells within the central nervous system. *J. Immunol.* 2005, 175, 3025-3032.
  65. Eastaff-Leung N., Mabarrack N., Barbour A., Cummins A., Barry S. Foxp3(+) Regulatory T Cells, Th17 Effector Cells, and Cytokine Environment in Inflammatory Bowel Disease. *J. Clin Immunol.* 2010, 30, 80-89.
  66. Wright G. P., Notley C. A., Xue S. A., Bendle G. M., Holler A., Schumacher T. N., Ehrenstein M. R., Stauss H. J. Adoptive therapy with redirected primary regulatory T cells results in antigen-specific suppression of arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009, 106, 19078-19083.
  67. Ehrenstein M. R., Evans J. G., Singh A., Moore S., Warnes G., Isenberg D. A., Mauri C. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy. *J. Exp. Med.* 2004, 200, 277-285.
  68. Martin-Orozco N., Wang Y. H., Yagita H., Dong C. Cutting Edge: Programmed death (PD) ligand-1/PD-1 interaction is required for CD8<sup>+</sup> T cell tolerance to tissue antigens. *J. Immunol.* 2006, 177, 8291-8295.
  69. Cheng X., Zhao Z., Ventura E., Gran B., Shindler K. S., Rostami A. The PD-1/PD-L pathway is up-regulated during IL-12-induced suppression of EAE mediated by IFN-gamma. *J. Neuroimmunol.* 2007, 185, 75-86.
  70. Magnus T., Schreiner B., Korn T., Jack C., Guo H., Antel J., Ifergan I., Chen L., Bischoff F., Bar-Or A., Wiendl H. Microglial expression of the B7 family member B7 homolog 1 confers strong immune inhibition: implications for immune responses and autoimmunity in the CNS. *J. Neurosci.* 2005, 25, 2537-2546.
  71. Kroner A., Mehling M., Hemmer B., Rieckmann P., Toyka K. V., Mäurer M., Wiendl H. A PD-1 polymorphism is associated with disease progression in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2005, 58, 50-57.
  72. Wang C., Li Y., Proctor T. M., Vandenbark A. A., Offner H. Down-modulation of programmed death 1

- alters regulatory T cells and promotes experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci Res.* 2010, 88, 7-15.
73. Nakazawa A., Dotan I., Brimnes J., Allez M., Shao L., Tsushima F., Azuma M., Mayer L. The expression and function of costimulatory molecules B7H and B7-H1 on colonic epithelial cells. *Gastroenterology.* 2004, 126, 1347-1357.
74. Totsuka T., Kanai T., Makita S., Fujii R., Nemoto Y., Oshima S., Okamoto R., Koyanagi A., Akiba H., Okumura K., Yagita H., Watanabe M. Regulation of murine chronic colitis by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> programmed death-1<sup>+</sup> T cells. *Eur J Immunol.* 2005, 35, 1773-1785.
75. Totsuka T., Kanai T., Nemoto Y., Tomita T., Tsuchiya K., Sakamoto N., Okamoto R., Watanabe M. Immunosenescent colitogenic CD4(+) T cells convert to regulatory cells and suppress colitis. *Eur J Immunol.* 2008, 38, 1275-1286.
76. Wan B., Nie H., Liu A., Feng G., He D., Xu R., Zhang Q., Dong C., Zhang J.Z. Aberrant regulation of synovial T cell activation by soluble costimulatory molecules in rheumatoid arthritis. *J Immunol.* 2006, 177, 8844-8850.
77. Wang G., Hu P., Yang J., Shen G., Wu X. The effects of PDL-Ig on collagen-induced arthritis. *Rheumatol Int.* 2009, 177(12), 8844-8850.
78. Roncarolo M. G., Battaglia M. Regulatory T-cell immunotherapy for tolerance to self antigens and alloantigens in humans. *Nat Rev Immunol.* 2007, 7, 585-598.
79. Galli S. J., Tsai M., Piliponsky A. M. The development of allergic inflammation. *Nature.* 2008, 454(7203), 445-454.
80. Lewkowich I. P., Herman N. S., Schleifer K. W., Dance M. P., Chen B. L., Dienger K. M., Sproles A. A., Shah J. S., Kohl J., Belkaid Y., Wills-Karp M. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells protect against experimentally induced asthma and alter pulmonary dendritic cell phenotype and function. *J Exp Med.* 2005, 202, 1549-1561.
81. Ling E. M., Smith T., Nguyen X. D., Pridgeon C., Dallman M., Arbery J., Carr V. A., Robinson D. S. Relation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet.* 2004, 363, 608-615.
82. Lajoie S., Lewkowich I. P., Suzuki Y., Clark J. R., Sproles A. A., Dienger K., Budelsky A. L., Wills-Karp M. Complement-mediated regulation of the IL-17A axis is a central genetic determinant of the severity of experimental allergic asthma. *Nat Immunol.* 2010, 11, 928-935.
83. Kool M., van Nimwegen M., Willart M. A., Muskens F., Boon L., Smit J. J., Coyle A., Clausen B. E., Hoogsteden H. C., Lambrecht B. N., Hammad H. An anti-inflammatory role for plasmacytoid dendritic cells in allergic airway inflammation. *J Immunol.* 2009, 183, 1074-1082.
84. McGee H.S., Yagita H., Shao Z., Agrawal D. K. PD-1 Antibody Blocks Therapeutic Effects of T-regulatory Cells in Cockroach Antigen-induced Allergic Asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009, 43(4), 432-442.
85. Akbari O., Stock P., Singh A. K., Lombardi V., Lee W. L., Freeman G. J., Sharpe A. H., Umetsu D. T., Dekruyff R. H. PD-L1 and PD-L2 modulate airway inflammation and iNKT-cell-dependent airway hyperreactivity in opposing directions. *Mucosal Immunol.* 2010, 3, 81-91.
86. McAlees J. W., Lajoie S., Dienger K., Sproles A. A., Richgels P. K., Yang Y., Khodoun M., Azuma M., Yagita H., Fulkerson P. C., Wills-Karp M., Lewkowich I. P. Differential control of CD4<sup>+</sup> T cell subsets by the PD-1/PD-L1 axis in allergic asthma. *Eur J Immunol.* 2015, 45(4), 1019-1029
87. Matsumoto K., Fukuyama S., Eguchi-Tsuda M., Nakano T., Matsumoto T., Matsumura M., Moriwaki A., Kan-o K., Wada Y., Yagita H., Shin T., Pardoll D. M., Patcharee R., Azuma M., Nakanishi Y., Inoue H. B7-DC induced by IL-13 works as a feedback regulator in the effector phase of allergic asthma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008, 365(1), 170-175.
88. Matsumoto K., Inoue H., Nakano T., Tsuda M., Yoshiura Y., Fukuyama S., Tsushima F., Hoshino T., Aizawa H., Akiba H., Pardoll D., Hara N., Yagita H., Azuma M., Nakanishi Y. B7-DC regulates asthmatic response by an IFN-gamma-dependent mechanism. *J Immunol.* 2004, 172(4), 2530-2541.
89. Lewkowich I. P., Lajoie S., Stoffers S. L., Suzuki Y., Richgels P. K., Dienger K., Sproles A. A., Yagita H., Hamid Q., Wills-Karp M. PD-L2 modulates asthma severity by directly decreasing dendritic cell IL-12 production. *Mucosal Immunol.* 2013, 6(4), 728-739.
90. Delgoffe G. M., Pollizzi K. N., Waickman A. T., Heikamp E., Meyers D. J., Horton M. R., Xiao B., Worley P. F., Powell J. D. The kinase mTOR regulates the differentiation of helper T cells through the selective activation of signaling by mTORC1 and mTORC2. *Nat Immunol.* 2011, 12, 295-303.
100. Lee K., Gudapati P., Dragovic S., Spencer C., Joyce S., Killeen N., Magnuson M. A., Boothby M. Mammalian target of rapamycin protein complex 2 regulates differentiation of Th1 and Th2 cell subsets via distinct signaling pathways. *Immunity.* 2010, 32, 743-753.
101. Powell J. D., Pollizzi K. N., Heikamp E. B., Horton M. R. Regulation of immune responses by mTOR. *Annu Rev Immunol.* 2012, 30, 39-68.

## CO-INHIBITORY MOLECULES IN NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS. IMMUNOLOGICAL CHECKPOINTS

### Part 1. Role of co-inhibitory molecules in normal immune response and in allergy and autoimmune diseases

© 2017 A.P. Toptygina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>G.N.Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Chair of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**Received:** 16.01.2017. **Accepted:** 25.06.2017

The differentiation and protective capacity of antigen-specific T-cells are regulated by both positive and negative signals. Molecules of the B7/CD28 family are very important for regulating T-cell activation and peripheral tolerance. In particular, PD-1, CTLA-4 and other co-inhibitory molecules play an active role in dampening of excessive immune activation which is critical for successful clearance of a pathogen without harm to the host. These co-inhibitory molecules (immunological checkpoints) are essential for inducible Treg differentiation and function. On the other hand, overexpression of co-inhibitory molecules can lead to T-cell exhaustion, an adaptive property that occurs in T-cells due to persistent systemic antigen exposure. Exhausted T-cells are described as effector T-cells with decreased cytokine expression and effector function. Here, we review a critical role of co-inhibitory molecules which they play in immunopathogenesis of four immunological syndromes: allergy, autoimmune diseases, chronic infection, and cancer. Reversal of exhausted T-cells by blocking co-inhibitory pathways has become an important area due to its therapeutic applications in oncology and chronic viral infections.

*Key words:* PD-1, CTLA-4, immunological checkpoints, T-cell exhaustion, allergy, autoimmune diseases, chronic infection, cancer

#### Authors:

**Toptygina A. P.**, ✉ PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology; Professor Chair of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow, Russia. 125212 Moscow, Admirala Makarova ul., 10, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology. Tel.: +7(495) 452-18-01 (off.), +7(916)389-66-04 (mob.). E-mail: toptyginaanna@rambler.ru