

ПАРАМЕТРЫ ИММУНИТЕТА У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ КОРЬЮ В СРАВНЕНИИ СО ЗДОРОВЫМИ

Топтыгина А.П.^{1,2}, Андреев Ю.Ю.¹

¹ ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Резюме. Корь – высококонтагиозная вирусная инфекция, передающаяся воздушно-капельным путем и характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и специфическими высыпаниями на коже и слизистых. Несмотря на наличие высокоэффективных вакцин и многолетние усилия мирового медицинского сообщества, проводящего под эгидой ВОЗ активную иммунизацию населения земного шара против этой инфекции, корь все еще остается серьезной проблемой. Целью настоящей работы было исследовать влияние коревой инфекции у взрослых на широкий спектр субпопуляций лимфоцитов и цитокновый профиль крови в сравнении со здоровым контролем.

Исследовали пробы венозной крови от 50 взрослых больных корью в возрасте от 20 до 55 лет, взятые на 6 ± 1 день после появления сыпи, в сравнении с пробами крови от 50 здоровых взрослых, сопоставимых по возрасту. В пробирку типа эппендорф отбирали 200 мкл плазмы, образовавшейся в результате самопроизвольного оседания форменных элементов, замораживали при -30°C и использовали в течение 3 месяцев для исследования цитокинового профиля. 15 цитокинов тестировали мультиплексным методом (MagPlex, BioRad, США). Мононуклеары выделяли методом градиентного центрифугирования и иммунофенотипировали с помощью четырехцветного окрашивания, технологии и реактивы BD Biosciences (США).

В группе больных корью обнаружена активация врожденного иммунитета: значимо повышены цитокины IL-1, IL-6, IL-23, IL-31 и TNF, относящиеся к ранним провоспалительным цитокинам. У больных корью впервые выявлено значимое повышение цитокинов, свидетельствующее об активном участии клеток эпителия в иммунном ответе на вирус кори. Они выделяют сигналы опасности (IL-25 и IL-33), индуцируя развитие адаптивного иммунитета, активизируют свои защитные способности через продукцию IL-17F и занимаются репарацией под действием IL-22. Клетки адаптивного иммунитета подвергаются инфицированию вирусом кори и гибнут, одновременно они активно отвечают на вирусную инфекцию и пролиферируют, что приводит к изменению соотношения их субпопуляций. Так у больных выявлено значимое снижение T-лимфоцитов за счет снижения CD4^+ клеток, повышение процента клеток в состоянии senescent и exhaustion, значимое снижение субпопуляций T_{EMRO} как среди CD4^+ , так и CD8^+ лимфоцитов, повышение $\text{CD8}^+\text{T}_{\text{CM}}$. Уровень субпопуляций В-клеток (V_m, V₁, V_{reg}) у больных корью не отличался от здоровых, а уровень плазмобластов был значимо повышен. Уровень субпопуляций CD4^+ лимфоцитов и продукция ими цитокинов-маркеров сильно различалась. В группе больных обнаружен сдвиг типа иммунного ответа в сторону Th2 и Th17, выявлена активация Tfh и Treg, обнаружена повышенная экспрессия маркеров активации HLA-DR и CD38.

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.
Тел.: 8 (495) 452-18-01.
Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Address for correspondence:

Toptygina Anna P.
G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology
125212, Russian Federation, Moscow,
Admiral Makarov str., 10.
Phone: 7 (495) 452-18-01.
Fax: 7 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Образец цитирования:

А.П. Топтыгина, Ю.Ю. Андреев «Параметры иммунитета у взрослых больных корью в сравнении со здоровыми» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 63-72.

doi: 10.46235/1028-7221-1084-IPI

© Топтыгина А.П., Андреев Ю.Ю., 2022

For citation:

A.P. Toptygina, Yu. Yu. Andreev "Immunity parameters in adults with measles compared with healthy persons", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 63-72.

doi: 10.46235/1028-7221-1084-IPI

DOI: 10.46235/1028-7221-1084-IPI

В ответ на коревую инфекцию в организме больного идет несколько независимых, разнонаправленных процессов. С одной стороны, вирус кори атакует эпителиальные клетки слизистых и кожи и иммунокомпетентные клетки, оказывая цитопатическое действие и приводя к лимфопении и избирательному снижению различных субпопуляций лимфоцитов. С другой стороны, вирус кори инициирует активацию как врожденного, так и адаптивного иммунитета, что приводит к продукции соответствующих цитокинов, экспрессии маркеров активации и увеличению субпопуляций клеток-эффекторов. Лучшее понимание иммунопатогенеза коревой инфекции и ассоциированной с ним иммуносупрессии помогут улучшить результаты вакцинации от этой инфекции и предотвратить ассоциированные с корью смертельные исходы.

Ключевые слова: корь, цитокины, субпопуляции лимфоцитов, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, иммунологическая память

IMMUNITY PARAMETERS IN ADULTS WITH MEASLES COMPARED WITH HEALTHY PERSONS

Toptygina A.P.^{a, b}, Andreev Yu.Yu.^a

^a G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Measles is a highly contagious viral infection transmitted by airborne droplets, characterized by fever, intoxication and specific rashes on the skin and mucous membranes. Despite the availability of highly effective vaccines and many years of efforts by the world medical community with active immunization of the world's population against this infection under the auspices of WHO, measles still remains a serious problem. The aim of this work was to investigate the effect of measles infection in adults upon the wide range of lymphocyte subsets and blood cytokine profile in comparison with healthy controls.

The venous blood samples from 50 adult measles patients aged 20 to 55 years, were taken 6 ± 1 days after the onset of skin rash, being compared with blood samples from 50 healthy adults of similar age group. The 200 μ L plasma aliquotes resulting from spontaneous sedimentation of the formed elements in an Eppendorf tube were taken, frozen at -30 °C and used within 3 months for the cytokine profile assays. 15 cytokines were tested by multiplex technique (MagPix, BioRad, USA). Mononuclear cells were isolated by gradient centrifugation and immunophenotyped using four-color staining by means of equipment and reagents from BD Biosciences (USA).

In the group of measles patients, activation of innate immunity was revealed, i.e., the IL-1, IL-6, IL-23, IL-31 cytokines and TNF, which belong to early pro-inflammatory cytokines, were significantly increased. In measles patients, a significant increase in cytokines was found, suggesting active participation of epithelial cells in immune response to the measles virus. They produce danger signals (IL-25 and IL-33), inducing the development of adaptive immunity, activate their protective abilities via IL-17F production, and are involved in repair under the influence of IL-22. Some cells of adaptive immunity are infected with the measles virus and die, others actively respond to the viral infection and proliferate, thus leading to changing ratio of their subsets. Hence, the patients showed a significant decrease in T lymphocytes due to a decrease in CD4⁺ cells, an increased percentage of cells in "senescent" and "exhaustion" state, a significant decrease in T_{EMRO} subpopulations, both among CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes, and an increase in CD8⁺T_{CM}. The levels of B cell subpopulations (Bm, B1, Breg) in measles patients did not differ from healthy ones, and the level of plasmablasts was significantly increased. The level of CD4⁺ lymphocyte subpopulations and production of their cytokine markers varied greatly. In the patient group, a shift in the type of immune response towards Th2 and Th17 was found, activation of Tfh and Treg was detected, and increased expression of HLA-DR and CD38 activation markers was found.

In response to measles infection, there are several independent, multidirectional processes observed in the patients. On the one hand, the measles virus attacks epithelial cells of mucous membranes and skin and immunocompetent cells, exerting a cytopathic effect and leading to lymphopenia and selective decrease in various lymphocyte subsets. On the other hand, the measles virus initiates activation of both innate and adaptive immunity, thus causing production of the corresponding cytokines, expression of activation markers, and an increase in effector cell subsets. Better understanding of the immunopathogenesis of measles infection and associated immunosuppression will help us to improve vaccination outcomes against this infection and prevent measles-related mortality.

Keywords: measles, cytokines, lymphocyte subsets, T lymphocytes, B lymphocytes, immunological memory

Введение

Корь – высококонтагиозная вирусная инфекция, передающаяся воздушно-капельным путем и характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и специфическими высыпаниями на коже и слизистых [11]. Несмотря на наличие высокоэффективных вакцин и многолетние усилия мирового медицинского сообщества, проводящего под эгидой ВОЗ активную иммунизацию населения земного шара против этой инфекции, корь все еще остается серьезной проблемой. Так, в 2019 г. корью заболело около 870 тыс. человек и умерло от кори и ее последствий более 200 тыс. человек [31]. Накрывшая мир пандемия COVID-19 привела к сбою в диагностике и учете коревой инфекции. Но еще более серьезными последствиями этой пандемии явились нарушения в графике прививок детей и, в частности, прививок против кори. Несомненно, увеличение количества не привитых детей чревато вспышками этой инфекции. Известно, что в результате заболевания корью формируется длительное состояние иммуносупрессии, которое может привести к смертельным исходам даже спустя 2 года после перенесенного заболевания [10, 23]. Но вирус кори может также приводить и к активации иммунной системы [12]. Более того, вирус кори индуцирует сильный гуморальный и клеточный иммунитет, который сохраняется многие десятилетия, защищая от повторного заражения [24]. Над разрешением этого парадокса работают лучшие умы мировой медицинской науки. Описана депляция лимфоцитов и истощение лимфоидных фолликулов в начале коревой инфекции [8]. Было показано, что Т-клетки памяти более чувствительны к поражению коревым вирусом, чем наивные лимфоциты. В то же время В-клетки, как наивные, так и клетки памяти, одинаково чувствительны к заражению этим вирусом [8, 20]. Используя в качестве рецептора signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) – CD150, вирус кори поражает активированные Т- и В-лимфоциты, лимфоциты памяти, тимоциты, дендритные клетки и макрофаги. Для внедрения в эпителиальные клетки кожи и слизистых вирус кори использует другой рецептор – nectin-4 [26, 29]. Известно, что SLAM опосредует TCR-индуцированную CD28-независимую пролиферацию Т-клеток памяти, дифференцировку хелперов в сторону Th1, продукцию интерферона ($IFN\gamma$) и интерлейкина (IL-17), пролиферацию и цитотоксичность CD8⁺ лимфоцитов, пролиферацию В-клеток и синтез антител [14, 32]. Репликация вируса кори в В-клетках и Т-клетках памяти и пролиферация лимфоцитов в ответ на атаку вируса приводит к лимфопении и изменению соотношения субпопуляций лимфоцитов в крови больного [18]. Активное вмешательство вируса кори в формирование иммунного ответа на этот

вирус приводит к изменению цитокинового профиля сыворотки крови. Так, при кори показано переключение с продукции $IFN\gamma$ на IL-5, IL-10 и IL-17 [25]. Несмотря на активное изучение особенностей иммунного ответа при коревой инфекции, далеко не все еще ясно. Лучшее понимание иммунопатогенеза коревой инфекции и ассоциированной с ним иммуносупрессии помогут улучшить результаты вакцинации от этой инфекции и предотвратить ассоциированные с корью смертельные исходы.

Целью настоящей работы было исследовать влияние коревой инфекции у взрослых на широкий спектр субпопуляций лимфоцитов и цитокиновый профиль крови в сравнении со здоровым контролем.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 50 взрослых больных корью в возрасте от 20 до 55 лет. У всех больных диагноз был подтвержден клинически и лабораторно по наличию противокоревых IgM-антител. В контрольную группу вошли 50 условно здоровых взрослых, сопоставимых по возрасту. Обследованные лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Кровь из локтевой вены в количестве 4 мл в вакуумную пробирку с ЭДТА брали у здоровых и у больных корью на 6 ± 1 день после появления сыпи. Из пробирок с кровью отбирали 200 мкл плазмы, образовавшейся в результате самопроизвольного оседания клеточных элементов, замораживали при $-30^{\circ}C$ и использовали в течение 3 месяцев для исследования цитокинового профиля. Затем из крови выделяли мононуклеары методом градиентного центрифугирования. Иммунофенотипирование лимфоцитов крови проводили методом проточной цитофлюорометрии с четырехцветным окрашиванием. Использовали технологию и реактивы BD Biosciences (США) – проточный цитометр BD FACS Canto II, программу сбора и обработки информации FACSDiva. Выделение лимфоидного региона проводилось по показателям прямого и бокового светорассеяния с учетом экспрессии CD45. Для определения субпопуляций лимфоцитов использовали следующие поверхностные маркеры: CD3-FITC, CD45-FITC, CD8-FITC, CD45RA-FITC, CD25-FITC, CD27-FITC, CD57-FITC, CD14-PE, CD(16+56)-PE, CD38-PE, CD122-PE, CD45R0-PE, CD127-PE, CD1d-PE, CD3-PerCP, CD4-PerCP, CD8-PerCP, CD5-PerCP, HLA-DR-APC, CD19-APC, CD279-APC, CD161-APC, CD62L-APC, CXCR5-APC.

Содержание 15 цитокинов (IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IL-31, IL-33, TNF, $IFN\gamma$, sCD40L) в плазме крови определяли мультиплексным методом на автоматизированном LED-анализаторе (MagPix,

Luminex, США), Количество цитокинов в исследуемых образцах определяли с использованием стандартных калибровочных разведений, концентрации цитокинов высчитывали автоматически с использованием программ Ехponent и Analist. Использовали коммерческую панель Th17 (BioRad, США), определяемый динамический диапазон 0,2-3200 пг/мл.

Результаты исследования были подвергнуты статистической обработке. Полученные результаты были исследованы на предмет нормальности распределение признака по методу Колмагорова—Смирнова. В случае подтверждения нормальности распределения использовали параметрическую статистику с вычислением средней и ее ошибки ($M \pm SE$). Различия между группами анализировали с помощью критерия t Стьюдента. Если нормальность распределения признака не была подтверждена, результаты представляли в виде медианы, первого и третьего квартилей — Me ($Q_{0,25}$ — $Q_{0,75}$). Использовали критерий Манна—Уитни для анализа различий. Уровень $p < 0,05$ считали значимым.

Результаты

В таблице 1 представлены основные крупные субпопуляции лимфоцитов. Из таблицы видно, что в крови больных корью значимо снижено количество Т-лимфоцитов. Разница с группой здоровых составила — 9,73% ($p < 0,05$). Это снижение происходит, по-видимому, за счет $CD3^+CD4^+$ лимфоцитов, разница между группой больных и здоровых составила 8,19% ($p < 0,05$). Также значимо были снижены наивные Т-хелперы $CD4^+CD127^+$ на 8,95% по сравнению с группой здоровых ($p < 0,01$). В то же время уровни $CD3^+CD8^+$ ци-

тотоксических клеток, $CD19^+$ В-клеток и $CD3^+CD16/56^+$ натуральных киллеров не различались в этих двух группах. Процент наивных лимфоцитов, несущих маркер $CD45RA$, был значимо снижен у больных корью на 6,9% ($p < 0,05$), тогда как уровень клеток памяти ($CD45RO$) в группе больных не отличался от здоровых. Также в группе больных была в 2,65 раза повышена субпопуляция активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$), разница составила 2,18% ($p < 0,01$).

Сопоставление малых субпопуляций $CD3^+CD4^+$ хелперов представлено на рисунке 1А. Разные субпопуляции $CD3^+CD4^+$ по-разному отвечают на коревую инфекцию. Так, хелперы, экспрессирующие $CD25$, демонстрируют лишь тенденцию к снижению у больных корью, фолликулярные хелперы — Tfh ($CD4^+CXCR5^+$) и регуляторные клетки — Treg ($CD4^+CD25^+CD127^-$) не различаются в 2 исследованных группах. В то же время значимо повышена субпопуляция Treg, экспрессирующая супрессорную молекулу PD-1 ($CD4^+CD25^+CD127^-CD279^+$), составившая у больных 0,24% против 0,1% у здоровых ($p < 0,05$). Также в группе больных оказались значимо снижены Th17 с 5,37% в группе здоровых до 2,95% у больных ($p < 0,01$). Интересно, что в группе больных корью оказались значимо повышены субпопуляция хелперов, экспрессирующая супрессорную молекулу PD-1: 1,83% у здоровых против 3,13% у больных ($p < 0,05$), и субпопуляция $CD4^+CD57^+$ лимфоцитов: 0,27% и 0,97% соответственно ($p < 0,01$). Это маркеры зрелых, высоко дифференцированных клеток.

Цитотоксические $CD3^+CD8^+$ лимфоциты тоже оказались вовлечены в инфекционный процесс (рис. 1Б). Так, в группе больных оказалась резко повышенной субпопуляция $CD8^+CD38^+$

ТАБЛИЦА 1. ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОРЬЮ ПО СРАВНЕНИЮ СО ЗДОРОВЫМИ, %

TABLE 1. MAIN SUBSETS OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN MEASLES PATIENTS COMPARED WITH HEALTHY ONES, %

	Здоровые Healthy people	Больные корью Measles patients
CD3⁺	64,22±2,44	54,49±5,31*
CD3⁺CD4⁺	38,88±2,07	30,69±2,68*
CD3⁺CD8⁺	22,08±1,58	20,41±1,98
CD19⁺	5,81±0,67	5,09±0,69
CD3⁺CD16⁺CD56⁺	26,42±2,07	29,59±3,02
CD127⁺	66,33±2,10	41,93±6,17*
45RA⁺	55,17±1,75	48,27±3,17*
45RO⁺	27,15±1,97	24,03±1,34
CD4⁺CD127⁺	35,12±1,93	26,17±2,39*

Примечание. * — $p < 0,05$.

Note. *, $p < 0.05$.

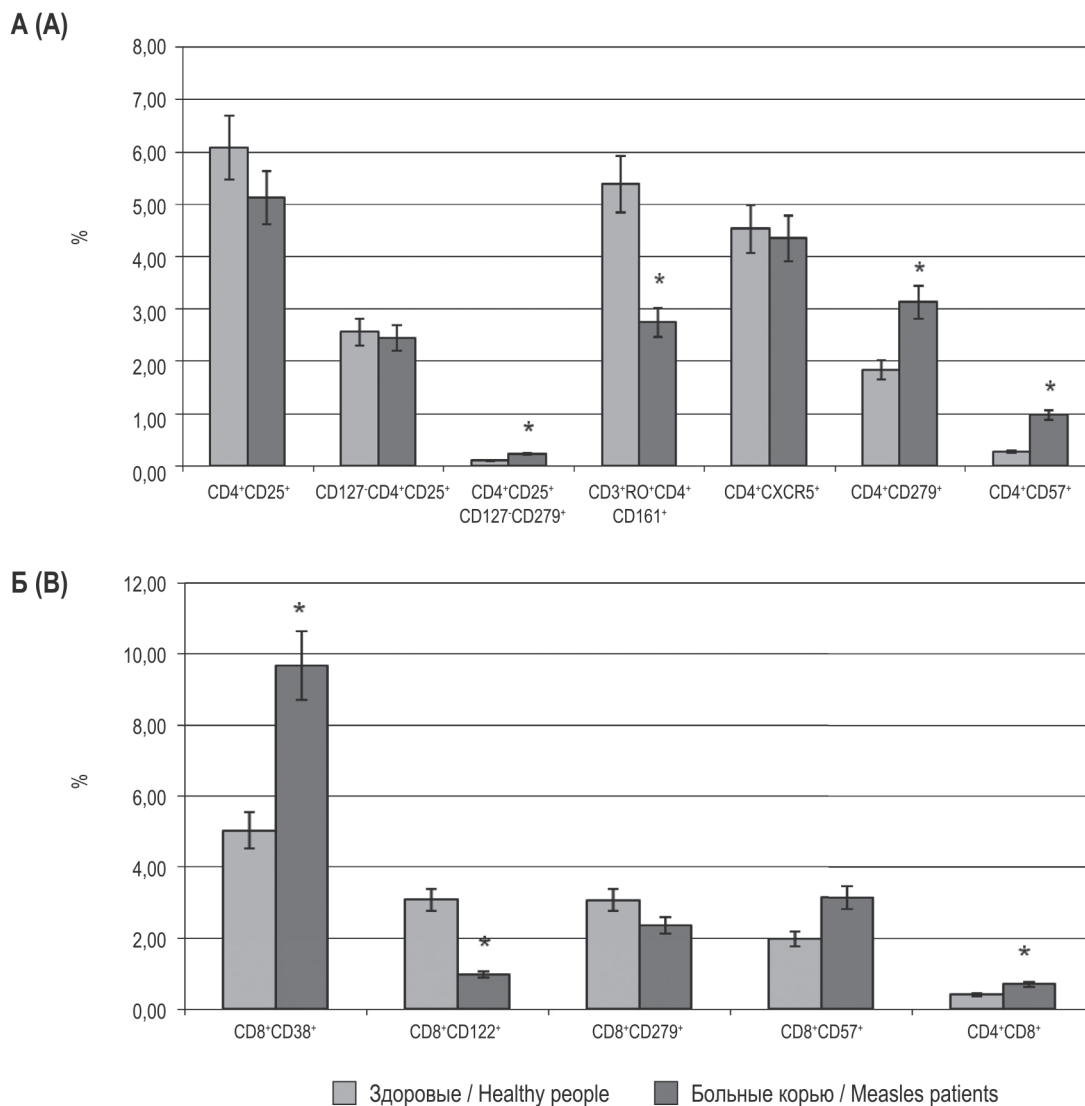


Рисунок 1. Сопоставление малых субпопуляций хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов в крови здоровых и больных корью

Примечание. А – субпопуляции CD3⁺CD4⁺Т-лимфоцитов. Б – субпопуляции CD3⁺CD8⁺Т-лимфоцитов. * – p < 0,05.

Figure 1. Comparison of small subsets of helpers and cytotoxic T lymphocytes in the blood of healthy and measles patients

Note. A, subpopulations of CD3⁺CD4⁺T lymphocytes. B, subpopulations of CD3⁺CD8⁺T lymphocytes. *, p < 0.05.

до 9,68% по сравнению с контрольной группой – 5,03% (p < 0,05), тогда как субпопуляция, экспрессирующая β-цепь рецептора интерлейкина 2 (CD8⁺CD122⁺), оказалась значимо снижена у больных до 0,97% против 3,08% у здоровых (p < 0,05). Также в группе больных обнаружено значимое повышение дважды положительных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов до 0,69% против 0,40% у здоровых (p < 0,05).

На рисунке 2 представлены субпопуляции наивных лимфоцитов и Т-клеточной памяти. Отмечается тенденция к снижению наивных клеток (CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ и CD8⁺CD45RA⁺CD62L⁺). Однако значимое снижение в группе больных корью было выявлено в субпопуляции хелперов эффекторов памяти

ти – CD4⁺T_{EMRO} (CD4⁺CD45R0⁺CD62L⁻) с 5,46% у здоровых до 3,37% у больных (p < 0,05) и цитотоксических эффекторов памяти – CD8⁺T_{EMRO} (CD8⁺CD45R0⁺CD62L⁻) с 2,87% до 1,76%, соответственно (p < 0,05). В то же время субпопуляция цитотоксических центральных клеток памяти – CD8⁺T_{CM} (CD8⁺CD45R0⁺CD62L⁺), напротив, оказалась повышенной в группе больных корью до 3,79% против 1,73% у здоровых (p < 0,05).

Субпопуляции В-клеточного звена представлены на рисунке 3. Имеется тенденция к снижению В-клеток, однако ни субпопуляция В-клеточной памяти – V_m (CD19⁺CD27⁺), ни В1-клетки (CD19⁺CD5⁺), ни V_{reg} (CD19⁺CD5⁺CD1d⁺) не демонстрировали различий в 2 обследованных

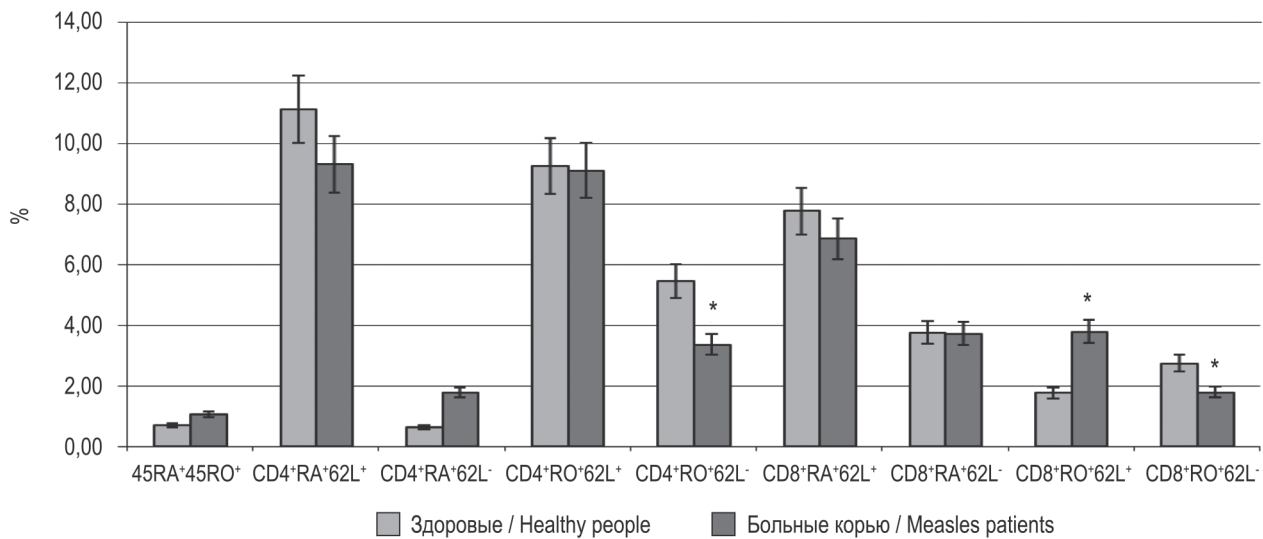


Рисунок 2. Субпопуляции наивных лимфоцитов и Т-клеток памяти у больных корью по сравнению со здоровыми
 Примечание. * – $p < 0,05$.

Figure 2. Subsets of naive lymphocytes and memory T cells in measles patients compared with healthy ones

Note. *, $p < 0.05$.

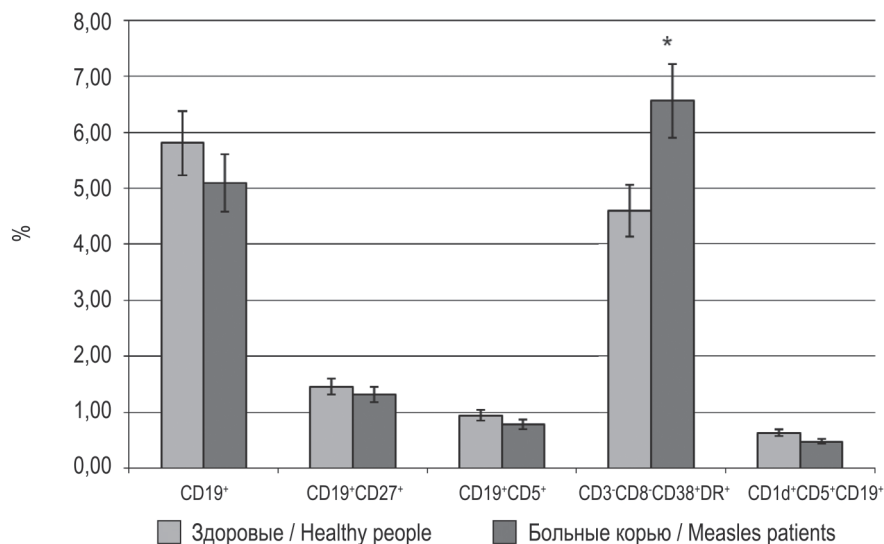


Рисунок 3. Сравнение субпопуляций В-клеточного звена в крови здоровых и больных корью

Примечание. * – $p < 0,05$.

Figure 3. Comparison of the B cell subsets in the blood of healthy and measles patients

Note. *, $p < 0.05$.

группах. Только субпопуляция плазмобластов (CD3-CD8-CD38+HLA-DR+) в группе больных корью (6,56%) значительно превышала соответствующий параметр группы здоровых – 4,59% ($p < 0,05$).

В таблице 2 представлены результаты определения содержания цитокинов в плазме крови больных корью по сравнению с группой здоровых. В группе больных корью оказались значительно повышены провоспалительные цитокины. Так, IL-1 и IL-23 были повышены в 2 раза, IL-6 и IL-31 превышали уровень контрольной группы

в 3 раза, а TNF – в 10 раз ($p < 0,001$). Цитокины-маркеры основных субпопуляций хелперов вели себя по-разному. Так, уровень $IFN\gamma$ (Th1-маркер) был снижен в 1,5 раза ($p < 0,05$), тогда как уровень маркеров Th2 – IL-4 и Th17 – IL-17A был повышен в 4 раза ($p < 0,001$). Цитокин-маркер Tfh – IL-21 был повышен в 2 раза ($p < 0,01$), а IL-10, продуцируемый Treg, был снижен в 1,5 раза ($p < 0,05$). В группе больных корью IL-25 был повышен в 2,9 раза, а IL-33 – в 1,7 раза ($p < 0,01$). Также и IL-22, производный субпопуляции Th22 и IL-17F у больных корью превышали уровень

ТАБЛИЦА 2. ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОРЬЮ ПО СРАВНЕНИЮ СО ЗДОРОВЫМИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})
TABLE 2. BLOOD CYTOKINE PROFILE OF MEASLES PATIENTS COMPARED WITH HEALTHY, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Цитокины Cytokines	Здоровые, пкг/мл Healthy people, pg/ml	Больные корью, пкг/мл Measles patients, pg/ml
IL-1 β	2,39 (2,14-2,73)	5,18 (4,51-5,81)
IL-6	7,22 (6,48-7,71)	23,18 (21,48-26,11)
TNF	1,16 (1,06-1,22)	10,32 (9,06-10,96)
IL-23	99,32 (92,08-108,50)	226,13 (201,44-244,97)
IL-31	5,71 (5,17-6,33)	15,96 (13,26-17,73)
IFN γ	13,03 (11,98-14,03)	8,28 (7,79-8,66)
IL-4	2,77 (2,53-3,01)	8,31 (7,71-8,76)
IL-17A	10,20 (9,03-10,90)	38,35 (35,40-40,90)
IL-21	7,89 (6,79-8,85)	16,57 (14,89-18,64)
IL-10	2,13 (1,92-2,31)	1,51 (1,30-1,68)
IL-25	1,87 (1,61-2,08)	5,37 (4,79-5,57)
IL-33	46,43 (43,68-49,65)	78,59 (75,27-81,98)
IL-22	12,22 (10,35-13,27)	25,16 (22,37-27,75)
IL-17F	44,23 (40,75-46,80)	103,64 (98,73-109,31)
sCD40L	340,34 (312,00-366,25)	160,97 (142,75-179,63)

здоровых в 2 раза ($p < 0,01$). Интересно, что в группе больных растворимый CD40L был снижен в 2 раза ($p < 0,01$).

Обсуждение

В результате проведенной работы было показано, что воздействие вируса кори на иммунитет проявились уже на уровне врожденного иммунитета. Так, в крови больных корью через 6 дней после появления сыпи оказались значимо повышены цитокины IL-1, IL-6, IL-23, IL-31 и TNF, относящиеся к ранним провоспалительным цитокинам и говорящие об активации клеток врожденного иммунитета. Ранее у детей, больных корью, также было показано повышение уровней IL-1, IL-6 и TNF [21], однако уровни IL-23 и IL-31 не были исследованы. Показано, что в процессе коревой инфекции возрастает активация NLRP3, необходимая для формирования инфламмосомы и созревания цитокинов семейства IL-1 [17]. Также была доказана активация дендритных клеток и макрофагов в ответ на вирус кори и повышение продукции цитокинов, индуцируемых NF κ B через связывание TLR2 с гемагглютинином вируса кори [33]. Выявленное нами повышение уровней провоспалительных цитокинов способствует активации клеток врожденного иммунитета и индукции адаптивного иммунного ответа на вирус кори.

Известно, что вирус кори поражает эпителиальные клетки слизистых и кожи [13]. Эпителиальные клетки сигнализируют о своем повреждении патогенами, продуцируя IL-25 и IL-33 [16, 28]. Являясь членом семейства IL-17

(другое его название IL-17E), IL-25 индуцирует эозинофилию и продукцию IgE, т.е. способствует Th2-типу иммунного ответа [9]. Интересно, что IL-33 является членом семейства IL-1. Он локализуется в ядре клеток и функционирует как гетерохроматин-ассоциированный транскрипционный репрессор. При процессировании его каспазами, он инактивируется при апоптозе, тогда как целая молекула, выделяясь при разрушении клеток, является алармином [6]. При этом IL-33 также склоняет тип иммунного ответа в сторону Th2 [15]. Оба этих цитокина оказались значимо повышены в группе больных корью по сравнению со здоровыми. Известно, что IL-22, производный субпопуляции Th22, принадлежит к семейству IL-10 и является одним из главных цитокинов, обеспечивающих гомеостаз и репарацию эпителиальных клеток [30]. В то же время IL-17F, синтезируемый эпителиальными клетками в ответ на инфицирование, активирует эпителиальные клетки и повышает защитные и барьерные функции этих клеток [22]. Оба эти цитокина оказались значимо повышены в группе больных корью. Воздействие вируса кори на эпителий и иммунную систему кожи является предметом серьезного изучения [19], однако нам не удалось найти исследования уровней этих цитокинов при кори в мировой литературе. Описанные выше данные, взятые вместе, свидетельствуют о том, что клетки эпителия активно участвуют в иммунном ответе на вирус кори. Будучи пораженными вирусом, они выделяют сигналы опасности (IL-25 и IL-33), индуцируя развитие адаптивного иммунитета, активизируют свои собственные за-

щитные способности через продукцию IL-17F и занимаются репарацией под действием IL-22.

Адаптивный иммунитет также подвергается атаке вирусов кори. В группе больных корью снижено количество Т-клеток, преимущественно за счет снижения Т-хелперов. Это снижение касается в основном наивных Т-клеток, тогда как Т-клетки памяти демонстрируют лишь тенденцию к снижению. Аналогичные данные были получены и другими авторами, что соответствует, по-видимому, описанной ранее лимфопении при коревой инфекции [8]. Видимо, обнаруженное нами значимое повышение субпопуляций CD4⁺, экспрессирующих PD-1 и CD4⁺CD57⁺ (такая экспрессия характерна для клеток в состоянии senescent и exhaustion) также вызвано повреждением вирусом Т-клеток и готовностью этих клеток уйти в апоптоз.

Количество В-клеток осталось неизменным, а повышение уровня НК-клеток оказалось не значимым. Интересно, что уровень субпопуляций В-клеток (V_m, V₁, V_{reg}) у больных корью не отличался от здоровых, хотя известно, что вирус кори активно заражает и наивные, и V_m [20]. Возможно, это связано с тем, что помимо заражения и уничтожения В-клеток, вирус кори стимулирует В-клеточный противовирусный иммунный ответ, что сопровождается клеточной пролиферацией. Поэтому на уровне всего пула В-клеток изменения не так заметны. О результатах такой стимуляции свидетельствует обнаруженное нами повышение уровня плазмобластов в крови больных. Однако исследование специфических V_m после коревой инфекции выявляет существенные потери в спектре, например, поствакцинальных V_m, которые были до заболевания корью и не выявлялись после. Эти потери столь существенны, что в мировой литературе этот феномен называют «иммунной амнезией» [7, 8].

Детальное исследование различных субпопуляций Т-клеток памяти позволило обнаружить значимое снижение субпопуляций T_{EMRO} как среди CD4⁺, так и CD8⁺ лимфоцитов. В то же время субпопуляция CD8⁺T_{CM} была значимо повышена в группе больных. Похожие изменения в этих субпопуляциях обнаруживались и ранее [18, 20]. По-видимому, эти изменения соответствуют эффекторной фазе развития иммунного ответа, характеризующейся активацией CD8⁺T_{CM} и миграцией субпопуляций T_{EMRO} в органы и ткани для разрешения воспаления. И именно из-за разнонаправленных изменений в уровнях разных субпопуляций Т-клеток памяти не удалось обнаружить значимого снижения на уровне всего пула клеток памяти, которые, как говорилось выше, поражаются вирусом кори. Похожие соотношения в субпопуляциях Т-клеток памяти были получены при изучении иммунного ответа на прививку против кори [3].

Нами были выявлены изменения в уровнях малых субпопуляций лимфоцитов и цитокинов-маркеров этих субпопуляций. Так, уровни субпопуляций T_{fh} и T_{reg} у больных корью, выявленные по поверхностным маркерам, значимо не отличались от группы здоровых. Однако IL-21, типичный для T_{fh}, был значимо повышен в 2 раза, а IL-10, характерный для T_{reg}, напротив, снижен в 1,5 раза. Одновременно была значимо повышена экспрессия регуляторной молекулы PD-1 на T_{reg}. Это говорит о повышении супрессорной активности T_{reg}, осуществляемой контактным способом. Интересно, что в крови больных корью было выявлено значимое снижение Th17, но при этом уровень их цитокина-маркера IL-17A был повышен в 4 раза, что значимо отличалось от группы здоровых. Эти различия говорят о вовлеченности и функциональной активности обсуждаемых субпопуляций, тогда как снижение численности в периферической крови может свидетельствовать о перераспределении той или иной субпопуляции из крови в ткани, где и происходит борьба с вирусом. Ранее было показано, что повышенный уровень IL-17 у больных корью по мере затухания инфекционного процесса снижается, а уровень IL-10, напротив, растет. Аналогичные изменения были выявлены и у привитых от этой инфекции [4, 27]. При сопоставлении уровней IFN γ /IL-4 оказалось, что этот индекс в группе здоровых составил 4,7, а в группе больных – 0,996, что явно свидетельствует о сдвиге типа иммунного ответа в сторону Th2. Сходные результаты были получены у детей, больных корью. Было выявлено повышение IFN γ , IL-2, IL-10 и IL-17 [21]. Ранее было показано, что превалирование в начале инфицирования Th1-типа иммунного ответа (повышение уровня IFN γ) быстро сменяется Th2-типом (повышение IL-4) [2, 12]. Понятно, что соотношение IFN γ /IL-4 постепенно снижается с течением времени от начала заболевания. Возможно, переключению типа иммунного ответа с Th1 на Th2 способствует также активная продукция поврежденными клетками эпителия IL-25 и IL-33, которые индуцируют продукцию цитокинов второго типа [9, 15].

В группе больных корью были выявлены повышенные уровни маркеров активации. Так, был значимо повышен уровень активированных Т-клеток (CD3⁺HLA-DR⁺) и субпопуляции CD8⁺CD38⁺, что свидетельствует об активном Т-клеточном ответе на инфекцию. Похожие данные были ранее получены нами при исследовании маркеров активации у детей, привитых против кори [5].

Обнаруженное нами снижение в группе больных растворимого CD40L, связано, по-видимому, с вовлечением в патогенез заболевания тромбоцитов [1], которые активно сорбируют эту молекулу и выделяют при необходимости.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что в ответ на коревую инфекцию в организме больного идет несколько независимых, разнонаправленных процессов. С одной стороны, используя рецепторы CD150 (SLAM) и *nectin-4*, вирус кори атакует эпителиальные клетки слизистых и кожи и иммунокомпетентные клетки (дендритные клетки, макрофаги, различные субпопуляции наивных Т- и В-клеток и клеток памяти), оказывая цитопатическое действие

и приводя к лимфопении и избирательному снижению различных субпопуляций лимфоцитов. С другой стороны, вирус кори инициирует активацию как врожденного, так и адаптивного иммунитета, что приводит к продукции соответствующих цитокинов, экспрессии маркеров активации и увеличению субпопуляций клеток – эффекторов. Дальнейшие исследования иммунопатогенеза кори помогут понять причины формирования «иммунной амнезии», вакцинальных неудач и особенностей формирования и поддержания специфического противокорьевого иммунитета.

Список литературы / References

1. Малеев В.В., Лазарева Е.Н., Астрина О.С., Алешина Н.И., Цветкова Н.А., Вдовина Е.Т., Наврузова Л.Н. Современные аспекты нарушений сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза у больных корью // Русский медицинский журнал, 2019. Т. 27, № 10. С. 4-7. [Maleev V.V., Lazareva E.N., Astrina O.S., Aleshina N.I., Tsvetkova N.A., Vdovina E.T., Navruzova L.N. Abnormalities of vascular and platelet responses in measles: state-of-the-art. *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2019, Vol. 27, no. 10, pp. 4-7. (In Russ.)]
2. Топтыгина А.П., Алешкин В.А. Продукция цитокинов у интактных детей и привитых вакциной «Приорикс» в ответ на стимуляцию антигенами вирусов кори и краснухи // Иммунология, 2011. Т. 32, № 4. С. 200-205. [Toptygina A.P., Aleshkin V.A. Production of cytokines in intact children and children vaccinated with Priorix vaccine in response to stimulation by measles and rubella virus antigens. *Immunologiya = Immunology*, 2011, Vol. 32, no. 4, pp. 200-205. (In Russ.)]
3. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Алешкин В.А. Изменение количества Т клеток памяти в ответ на вакцинацию «Приорикс» // Российский иммунологический журнал, 2012. Т. 6 (15), № 3. С. 253-258. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Alioshkin V.A. Changing of T-memory cell number after “Priorix” vaccination. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2012, Vol. 6 (15), no. 3, pp. 253-258. (In Russ.)]
4. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Алешкин В.А. Регуляция иммунного ответа у детей, привитых против кори, краснухи и эпидемического паротита // Иммунология, 2012. Т. 33, № 4. С. 177-180. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Alioshkin V.A. Immune response regulation in children vaccinated with Priorix. *Immunologiya = Immunology*, 2012, Vol. 33, no. 4, pp. 177-180. (In Russ.)]
5. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Алешкин В.А. Экспрессия маркеров активации на лимфоцитах периферической крови детей, привитых и ревакцинированных «Приориксом» // Иммунология, 2016. Т. 37, № 4. С. 215-218. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Aleshkin V.A. Markers of activation expression on the blood lymphocytes in children vaccinated with Priorix. *Immunologiya = Immunology*, 2016, Vol. 37, no. 4, pp. 215-218. (In Russ.)]
6. Cayrol C., Girard J.P. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2009, Vol. 106, pp. 9021-9026.
7. de Vries R.D., de Swart R.L. Measles immune suppression: Functional impairment or numbers game? *PLoS Pathog.*, 2014, Vol. 10, no. 12, e1004482. doi: 10.1371/journal.ppat.1004482.
8. de Vries R.D., McQuaid S., van Amerongen G., Yüksel S., Verburgh R.J., Osterhaus A.D., Duprex W.P., de Swart R.L. Measles immune suppression: lessons from the macaque model. *PLoS Pathog.*, 2012, Vol. 8, no. 8, e1002885. doi: 10.1371/journal.ppat.1002885.
9. Fort M.M., Cheung J., Yen D., Li J., Zurawski S.M., Lo S., Menon S., Clifford T., Hunte B., Lesley R., Muchamuel T., Hurst S.D., Zurawski G., Leach M.W., Gorman D.M., Rennick D.M. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies *in vivo*. *Immunity*, 2001, Vol. 15, pp. 985-995.
10. Gidroen K., Dodd C.N., Masclee G.M.C., de Ridder M.A.J., Weibel D., Mina M.J., Grenfell B.T., Sturkenboom M.C.J.M., van de Vijver D.A.M.C., de Swart R.L. Impact and longevity of measles-associated immune suppression: a matched cohort study using data from the THIN general practice database in the UK. *BMJ Open*, 2018, Vol. 8, no. 11, e021465. doi: 10.1136/bmjopen-2017-021465.
11. Griffin D.E. The immune response in measles: virus control, clearance and protective immunity. *Viruses*, 2016, Vol. 8, pp. 282-289.
12. Griffin D.E., Ward B.J., Juaregui E., Johnson R.T., Vaisberg A. Immune activation during measles: beta 2-microglobulin in plasma and cerebrospinal fluid in complicated and uncomplicated disease. *J. Infect. Dis.*, 1992, Vol. 166, pp. 1170-1173.
13. Gourru-Lesimple G., Mathieu C., Thevenet T., Guillaume-Vasselín V., Jegou J.F., Boer C.G., Tomczak K., Bloyet L.-M., Giraud C., Grande S., Goujon C., Cornu C., Horvat B. Measles virus infection of human keratinocytes: Possible link between measles and atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.*, 2017, Vol. 86, no. 2, pp. 97-105.
14. Huang Y.H., Tsai K., Ma C., Vallance B.A., Priatel J.J., Tan R. SLAM-SAP signaling promotes differentiation of IL-17-producing T cells and progression of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 193, pp. 5841-5853.

15. Humphreys N.E., Xu D., Hepworth M.R., Liew F.Y., Grecis R.K. IL-33, a potent inducer of adaptive immunity to intestinal nematodes. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 180, pp. 2443-2449.
16. Hurst S.D., Muchamuel T., Gorman D.M., Gilbert J.M., Clifford T., Kwan S., Menon S., Seymour B., Jackson C., Kung T.T., Brieland J.K., Zurawski S.M., Chapman R.W., Zurawski G., Coffman R.L. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses in the lung: *in vivo* function of the novel cytokine IL-25. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 169, pp. 443-453.
17. Komune N., Ichinohe T., Ito M., Yanagi Y. Measles virus V protein inhibits NLRP3 inflammasome-mediated interleukin-1beta secretion. *J. Virol.*, 2011, Vol. 85, pp. 13019-13026.
18. Laksono B.M., de Vries R.D., Verburgh R.J., Visser E.G., de Jong A., Fraaij P.L.A., Ruijs W.L.M., Nieuwenhuijse D.F., van den Ham H.J., Koopmans M.P.G. Studies into the mechanism of measles-associated immune suppression during a measles outbreak in the Netherlands. *Nat. Commun.*, 2018, Vol. 9, pp. 4944-4954.
19. Laksono B.M., Fortugno P., Nijmeijer B.M., de Vries R.D., Cordisco S., Kuiken T., Geijtenbeek T.B.H., Duprex W.P., Brancati F., de Swart R.L. Measles skin rash: Infection of lymphoid and myeloid cells in the dermis precedes viral dissemination to the epidermis. *PLoS Pathog.*, 2020, Vol. 16, no. 10, e1008253. doi: 10.1371/journal.ppat.1008253.
20. Laksono B.M., Grosserichter-Wagener C., de Vries R.D., Langeveld S.A.G., Brem M.D., van Dongen J.J.M., Katsikis P.D., Koopmans M.P.G., van Zelm M.C., de Swart R.L. *In vitro* measles virus infection of human lymphocyte subsets demonstrates high susceptibility and permissiveness of both naive and memory B-cells. *J. Virol.*, 2018, Vol. 92, e00131-18. doi: 10.1128/JVI.00131-18.
21. Lin W.-H.W., Nelson A.N., Ryon J.J., Moss W.J., Griffin D.E. Plasma cytokines and chemokines in Zambian children with measles: innate responses and association with HIV-1 coinfection and in-hospital mortality. *J. Infect. Dis.*, 2017, Vol. 215, pp. 830-839.
22. Matsuzaki G., Umemura M. Interleukin-17 family cytokines in protective immunity against infections: role of hematopoietic cell-derived and non-hematopoietic cell-derived interleukin-17s. *Microbiol. Immunol.*, 2018, Vol. 62, Iss. 1, pp. 1-13.
23. Mina M.J., Metcalf C.J., de Swart R.L., Osterhaus A.D., Grenfell B.T. Long-term measles-induced immunomodulation increases overall childhood infectious disease mortality. *Science*, 2015, Vol. 348, pp. 694-699.
24. Moss W.J. Measles. *Lancet*, 2017, Vol. 390, pp. 2490-2502.
25. Moss W.J., Ryon J.J., Monze M., Griffin D.E. Differential regulation of interleukin (IL)-4, IL-5, and IL-10 during measles in Zambian children. *J. Infect. Dis.*, 2002, Vol. 186, pp. 879-887.
26. Muhlebach M.D., Mateo M., Sinn P.L., Prufer S., Uhlig K.M., Leonard V.H., Navaratnarajah C.K., Frenzke M., Wong X.X., Sawatsky B., Ramachandran S., McCray P.B. Jr, Cichutek K., von Messling V., Lopez M., Cattaneo R. Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature*, 2011, Vol. 480, pp. 530-533.
27. Nelson A.N., Putnam N., Hauer D., Baxter V.K., Adams R.J., Griffin D.E. Evolution of T cell responses during measles virus infection and RNA clearance. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, no. 1, 11474. doi: 10.1038/s41598-017-10965-z.
28. Sanada S., Hakuno D., Higgins L.J., Schreiter E.R., McKenzie A.N.J., Lee R.T. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J. Clin. Invest.*, 2007, Vol. 117, pp. 1538-1549.
29. Schwartzberg P.L., Mueller K.L., Qi H., Cannons J.L. SLAM receptors and SAP influence lymphocyte interactions, development and function. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 9, pp. 39-46.
30. Wolk K., Witte E., Warszawska K., Sabat R. Biology of interleukin-22. *Semin. Immunopathol.*, 2010, Vol. 32, pp. 17-31.
31. World Health Organization. Worldwide measles deaths from 2016 to 2019. Available at: <https://www.who.int/ru/news/item/12-11-2020-worldwide-measles-deaths-climb-50-from-2016-to-2019-claiming-over-207-500-lives-in-2019> (Date of application 11.08.2021).
32. Yurchenko M., Shlapatska L.M., Romanets O.L., Ganshevskiy D., Kashuba E., Zamoshnikova A., Ushenin Y.V., Snopok B.A., Sidorenko S.P. CD150-mediated Akt signalling pathway in normal and malignant B cells. *Exp. Oncol.*, 2011, Vol. 33, pp. 9-18.
33. Zilliox M.J., Moss W.J., Griffin D.E. Gene expression changes in peripheral blood mononuclear cells during measles virus infection. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007, Vol. 14, pp. 918-923.

Авторы:

Топтыгина А.П. — д.м.н., ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Андреев Ю.Ю. — аспирант лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Authors:

Toptygina A.P., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Head of Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Andreev Yu. Yu., PhD Student, Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Поступила 17.08.2021
Принята к печати 13.02.2022

Received 17.08.2021
Accepted 13.02.2022