

РЕЦЕПТОРНЫЕ ФУНКЦИИ SEMA4D В КОНТРОЛЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

© 2019 г. Е. М. Куклина

E-mail: ibis_07@mail.ru

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 12.03.2019

Семафорин IV класса Sema4D широко представлен в иммунной системе как в мембранной, так и в растворимой форме, и контролирует иммунные процессы, реализуя свои эффекты через специфические рецепторы — таковы общепринятые представления. В настоящей работе приведены данные, указывающие на наличие альтернативного способа участия Sema4D в иммунорегуляции: этот способ предполагает функционирование мембранного семафорина в качестве рецептора, проводящего сигнал в клетку, на которой экспрессирован. Обсуждаются возможные механизмы сигнализации с мембранного Sema4D.

Ключевые слова: мембранный Sema4D, Т-лимфоциты, пролиферация, CD45

DOI: 10.31857/S102872210006679-1

Адрес: 614081, Пермь, ул. Голева, д.13, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Куклина Елена Михайловна. Тел./факс: +7 (342) 2809211.

E-mail: ibis_07@mail.ru

Автор:

Куклина Е. М., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиала ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия.

Семафорин IV класса Sema4D широко представлен в иммунной системе — он конститутивно экспрессируется на мембране иммуноцитов, а при активации клеток переходит за счет протеолитического отщепления в растворимую форму, получая возможность реализации эффектов на системном уровне. Основным рецептором для Sema4D в иммунной системе служит низкоаффинный CD72, а основными мишенями действия семафорина считают клетки, экспрессирующие этот рецептор, — преимущественно В-лимфоциты, моноциты и дендритные клетки [1, 2]. CD72-зависимые эффекты Sema4D задействованы в ключевых событиях адаптивного иммунного ответа — в антигенной активации

В-лимфоцитов [1], в созревании дендритных клеток и в процессах примирования Т-лимфоцитов [2]. Однако участие Sema4D в иммунорегуляции не ограничивается использованием специфических рецепторов для реализации своих эффектов: в настоящей работе представлены данные, указывающие на наличие альтернативного способа участия семафорина в контроле активности лимфоцитов.

В работе исследовался пролиферативный ответ Т-клеток человека на поликлональную активацию на фоне различных форм блокады Sema4D. Т-лимфоциты (CD3⁺-клетки) выделяли из периферической крови здоровых доноров с помощью стандартных коммерческих наборов для фракционирования (“R&D Systems”) и культивировали в присутствии активатора (анти-CD3/CD28, “Invitrogen”) в течение 72 часов. Пролиферацию клеток оценивали по включению 5-бром-2’-дезоксинуридина (BrdU), с помощью коммерческой тест-системы (“Amersham”) — иммуноферментным анализом. BrdU вносили в пробу за 18 часов до окончания культивирования. Результаты представляли в виде индекса пролиферации, то есть отношения показателей для стимулированного и соответствующего спонтанного вариантов. Источником эндоген-

ного *Sema4D* служили сами Т-лимфоциты, конститутивно экспрессирующие его на мембране и отщепляющие его при активации. Участие эндогенного семафорина в пролиферативном ответе оценивали ингибиторным анализом, за счет внесения в культуру моноклональных антител к семафорину (NBP2-36736SS, “R&D Systems”) или рекомбинантного плексина B2 (5329-PB, “R&D Systems”), высокоаффинного семафоринного рецептора, эффективно связывающего растворимый *Sema4D* и блокирующего *Sema4D*-зависимый сигнал. Проведенные исследования выявили следующие закономерности: если блокада семафорина соответствующими моноклональными антителами приводила к ожидаемому снижению пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на поликлональную активацию (индекс пролиферации: $4,53 \pm 1,03$ для пробы без ингибитора и $2,68 \pm 0,729$ на фоне антител к *Sema4D*, $p=0,05$), подтверждая полученные нами ранее данные, то внесение в культуру рекомбинантного плексина B2 приводило к противоположному эффекту – усилению пролиферации Т-лимфоцитов (индекс пролиферации: $4,53 \pm 1,03$ для пробы без ингибитора и $6,04 \pm 0,883$ на фоне плексина B2, $p < 0,05$). Для объяснения этого противоречия важно разграничить эффекты рекомбинантного плексина и антител к семафорину: оба фактора нейтрализуют растворимый *Sema4D*, однако при связывании с мембранным семафоринным рекомбинантный плексин может не только блокировать его взаимодействие с рецепторами (как антитела к *Sema4D*), но и инициировать стимулирующий сигнал. Поэтому полученные результаты свидетельствуют о том, что *Sema4D* может участвовать в регуляции Т-клеточной пролиферации не только в качестве лиганда, но и как рецептор, проводя сигнал в клетку, на которой экспрессирован.

Существование такого механизма подтверждается и рядом данных литературы. Так, показано, что перекрестное связывание *Sema4D* на мембране Т-лимфоцитов вызывает активирующий сигнал в самих Т-клетках, в частности, усиливает пролиферацию этих клеток в ответ на субоптимальные дозы антител к CD3 (компоненту Т-клеточного рецепторного комплекса) и к CD2 (Т-клеточному мембранному антигену, взаимодействующему с LFA-3) [3], а в эпидермальных $\gamma\delta$ Т-лимфоцитах *Sema4D*-зависимый сигнал в ответ на связывание с плексином B2, представленным на мембране кератиноцитов, инициирует морфологические изменения, та-

кие как втягивание дендритов и округление клеток, что необходимо для их пролиферации и миграции в сайт повреждения [4]. По механизмам реализации сигнала с мембранного *Sema4D* на сегодняшний день данных очень мало. Фактически, имеется только одна работа, в которой сделана попытка их расшифровать – на эпидермальных $\gamma\delta$ Т-лимфоцитах: показано, что связывание *Sema4D* на мембране этих клеток сопровождается фосфорилированием экстраклеточно-регулируемой киназы (extracellular signal-regulated kinase, ERK), ключевого элемента каскада митоген-активируемых протеинкиназ, дефосфорилированием актин-связывающего белка кофилина и активацией α - и β 4-интегринов [4], причем активация ERK – необходимое условие для *Sema4D*-зависимых морфологических изменений в клетке, обеспечивающих ее миграцию и пролиферацию [4].

Теоретически, способность семафорина выступать в качестве рецептора может обеспечиваться как минимум двумя факторами: во-первых, цитоплазматический домен семафорина содержит консенсусные сайты для серинового фосфорилирования [5]; во-вторых, у Т-лимфоцитов *Sema4D* ассоциирован с тирозиновой фосфатазой CD45, которая также может участвовать в передаче семафорин-зависимого сигнала в клетку [3, 6]. А поскольку CD45 участвует в ответе лимфоцитов на антиген, мембранный *Sema4D* должен вносить вклад этот ответ. Представленные выше данные указывают на необходимость пересмотра роли семафорина в иммунорегуляции, с учетом вклада рецепторной функции *Sema4D* в этот процесс, а также изучения механизмов сигнализации с мембранного семафорина.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-015-00379 и в рамках государственного задания номер госрегистрации темы: 01201353248.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Kumanogoh A., Watanabe C., Lee I., Wang X., Shi W., Araki H., Hirata H., Iwahori K., Uchida J., Yasui T., Matsumoto M., Yoshida K., Yakura H., Pan C., Parnes J. R., Kikutani H. Identification of CD72 as a lymphocyte receptor for the class IV semaphorin CD100: a novel mechanism for regulating B cell signaling. *Immunity*. 2000, 13(5), 621–631.
2. Kumanogoh A., Shikina T., Watanabe C., Takegahara N., Suzuki K., Yamamoto M., Takamatsu H., Prasad D. V., Mizui M., Toyofuku T., Tamura M., Watanabe D., Parnes J. R., Kikutani H. Requirement for CD100-CD72 interactions in fine-tuning of B-cell an-

- tigen receptor signaling and homeostatic maintenance of the B-cell compartment. *Int Immunol.* 2005, 17(10), 1277–1282.
3. Herold C., Elhabazi A., Bismuth G., Bensussan A., Boumsell L. CD100 is associated with CD45 at the surface of human T lymphocytes. Role in T cell homotypic adhesion. *J Immunol.* 1996, 157(12), 5262–5268.
 4. Witherden D.A., Watanabe M., Garijo O., Rieder S.E., Sarkisyan G., Cronin S.J., Verdino P., Wilson I.A., Kumanogoh A., Kikutani H., Teyton L., Fischer W.H., Havran W.L. The CD100 receptor interacts with its plexin B2 ligand to regulate epidermal $\gamma\delta$ T cell function. *Immunity.* 2012, 37(2), 314–325.
 5. Elhabazi A., Delaire S., Bensussan A., Boumsell L., Bismuth G. Biological activity of soluble CD100. I. The extracellular region of CD100 is released from the surface of T lymphocytes by regulated proteolysis. *J Immunol.* 2001, 166(7), 4341–4347.
 6. Billard C., Delaire S., Raffoux E., Bensussan A., Boumsell L. Switch in the protein tyrosine phosphatase associated with human CD100 semaphorin at terminal B-cell differentiation stage. *Blood.* 2000, 95(3), 965–972.

RECEPTOR FUNCTIONS OF SEMA4D IN THE CONTROL OF T-LYMPHOCYTE PROLIFERATION

© 2019 E. M. Kuklina

E-mail: ibis_07@mail.ru

“Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences”, Perm, Russia

Received: 01.03.2019. **Accepted:** 12.03.2019

Class IV semaphoring Sema4D is widely represented in the immune system, both in membrane and in soluble form, and controls immune processes, realizing its effects through specific receptors – these are generally accepted ideas. This paper presents data indicating the presence of an alternative way of Sema4D involving immunoregulation: this way suggests the functioning of membrane semaphorin as a receptor, which conducts a signal into the cell it is expressed on. Possible signaling mechanisms from membrane Sema4D are discussed.

Key words: membrane Sema4D, T lymphocytes, proliferation, CD45

Author:

Kuklina E. M., Doctor of Biology, Leading Researcher, Laboratory of Immunoregulation, «Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences», Perm, Russia.