

ЭКСПРЕССИЯ «НЕКЛАССИЧЕСКИХ» МОЛЕКУЛ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ И БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Боева О.С.^{1, 2}, Борисевич В.И.³, Козлов В.А.¹, Демина Д.В.¹,
Сизиков А.Э.¹, Пашкина Е.А.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

² ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»,
г. Новосибирск, Россия

³ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Резюме. Одним из малочисленно изученных «неклассических» генов HLA, представляется HLA-E. Транскрипция HLA-E обнаружена во многих типах клеток, в особенности в иммунных клетках, таких как Т- и В-лимфоцитах, моноцитах и макрофагах. В данной работе была оценена экспрессия HLA-E на CD8⁺, CD4⁺ и CD14⁺ клетках у условно здоровых доноров и пациентов с бронхиальной астмой и ревматоидным артритом. В качестве материала для исследования использовались мононуклеарные клетки периферической крови (МНК ПК) пациентов с иммунопатологиями и соматически здоровых доноров. МНК ПК пациентов с РА (n = 15), БА (n = 11) и условно здоровых доноров (n = 14) выделяли из периферической крови в градиенте плотности фиколл-урографина (1,077 г/мл). Затем клетки окрашивали моноклональными антителами, конъюгированными с флюорохромами: анти-CD3-APC, анти-CD4-APC-Cy7, анти-CD-14-FITC и анти-HLA-E-PerCP/Cy5. Фенотип клеток анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (BD Biosciences, США). Нами было обнаружено, что при РА увеличивается экспрессия HLA E CD8⁺, CD4⁺Т-лимфоцитах, а также на CD14⁺ (моноциты), по сравнению с пациентами с БА. Также были показаны достоверные различия экспрессии HLA E на CD8⁺Т-клетках между условно здоровыми донорами и пациентами с РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, бронхиальная астма, неклассические молекулы главного комплекса гистосовместимости, аутоиммунные заболевания, аллергические заболевания

Адрес для переписки:

Боева Ольга Сергеевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 227-01-35.
E-mail: starchenkova97@gmail.com

Address for correspondence:

Olga S. Boeva
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrintsevskaya St
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (383) 227-01-35.
E-mail: starchenkova97@gmail.com

Образец цитирования:

О.С. Боева, В.И. Борисевич, В.А. Козлов,
Д.В. Демина, А.Э. Сизиков, Е.А. Пашкина
«Экспрессия «неклассических» молекул главного
комплекса гистосовместимости при ревматоидном
артрите и бронхиальной астме» // Российский
иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 527-532.
doi: 10.46235/1028-7221-13919-EON

© Боева О.С. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.S. Boeva, V.I. Borisevich, V.A. Kozlov, D.V. Demina,
A.E. Sizikov, E.A. Pashkina "Expression of "non-classical"
molecules of the main histocompatibility complex in
rheumatoid arthritis and bronchial asthma", Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023,
Vol. 26, no. 4, pp. 527-532.
doi: 10.46235/1028-7221-13919-EON

© Boeva O.S. et al., 2023

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-13919-EON

EXPRESSION OF “NON-CLASSICAL” MOLECULES OF THE MAIN HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX IN RHEUMATOID ARTHRITIS AND BRONCHIAL ASTHMA

Boeva O.S.^{a, b}, Borisevich V.I.^c, Kozlov V.A.^a, Demina D.V.^a, Sizikov A.E.^a, Pashkina E.A.^a

^a Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

^b Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

^c Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. HLA-E is a minor understudied non-classical HLA genes. HLA-E transcription is revealed in many cell types, especially, in immune cells, e.g., T and B cells monocytes, macrophages. In this work, we evaluated expression of HLA-E on CD8⁺, CD4⁺ and CD14⁺ cells in conditionally healthy donors and in the patients with bronchial asthma (BA) and rheumatoid arthritis (RA). Peripheral blood mononuclears (PBMNC) were used as initial biomaterial. PBMNC from RA patients (n = 15), BA (n = 11) and healthy donors were separated from peripheral blood in Ficoll-Urographin density gradient (1.077 g/mL). The cells were then stained with fluorochrome-conjugated monoclonal antibodies: anti-CD3-APC, anti-CD4-APC-Cy7, anti-CD-14-FITC, and anti-HLA-E-PerCP/Cy5. The cell phenotype was analyzed by flow cytometry with FACS Canto II (BD Biosciences, USA). We have found an increased expression of HLA-E on CD8⁺, CD4⁺T cells, like as on CD14⁺ cells (monocytes) in the RA patients, when compared with BA patients. We have also shown significant differences of HLA-E expression on CD8⁺T cells between the conditionally healthy donors and RA patients.

Keywords: rheumatoid arthritis, bronchial asthma, major histocompatibility complex molecules, non-classical, autoimmune diseases, allergic diseases

Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета для выполнения государственного задания на научно-исследовательскую работу «Разработка новых критериев эффективности таргетной иммунотерапии тяжелых форм аллергических заболеваний на основе оценки биомаркеров клеток, участвующих в иммунном ответе на аллерген (код тематики 0415-2023-0005).

Введение

На сегодняшний день в дополнение к высокополиморфным генам «классических» МНС класса I и класса II существует множество генов «неклассических» МНС [1]. Одним из «неклассических» генов представляется HLA-E, который является членом неклассических генов HLA класса Ib и расположен в локусе главного комплекса гистосовместимости (МНС) на хромосоме 6 между HLA-A и HLA-C. Структура HLA-E практически идентична классическим молекулам HLA класса Ia с соединением тяжелой цепи с инвариантной легкой цепью β-2-микроглобулина [5]. В мировой популяции доминируют только две изоформы, совокупная частота аллелей которых превышает 99%: *HLA-E*01:01* и *HLA-E*01:03*, которые различаются по положению 107 аминокислоты в белковой молекуле HLA-E, в *HLA-E*01:01* на данной позиции находится аргинин (R), а в *HLA-E*

**01:03* – глицин (G) [12]. На сегодняшний день до конца не изучена роль данных молекул, в особенности, при аллергических и аутоиммунных заболеваниях.

Транскрипция HLA-E была обнаружена почти во всех типах клеток, хотя экспрессия соответствующего белка на поверхности клеток в основном ограничена эндотелиальными клетками, Т- и В-лимфоцитами, моноцитами и макрофагами. Интересно, что, в то время как клетки иммунной системы экспрессируют HLA-E на высоком уровне, эндотелиальные клетки, наоборот, имеют сниженный уровень HLA-E на своей поверхности. Экспрессия HLA-E на эндотелиальных клетках усиливается после воздействия провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли, интерлейкин-1β, интерферон γ [4, 5, 11]. Также было продемонстрировано, что другая «неклассическая» молекула МНС, HLA-G может модулировать экспрессию HLA-E. Экспрессия различных изоформ HLA-G может влиять на поверхностную экспрессию HLA-E, которая зависит от доступности пептидов, полученных из молекул HLA-G и других молекул HLA-класса I [10].

У человека МНС класса Ib молекула HLA-E играет необычную роль в распознавании НК-клетками и CD8⁺T-лимфоцитами. Комплекс из HLA-E и презентруемого пептида может свя-

зываются с ингибирующим рецептором NKG2A: CD94, экспрессированным на NK-клетках, и ингибировать цитотоксическую активность NK-клеток [1]. Но помимо NKG2A, HLA-E также может связываться с NKG2C. NKG2C экспрессируется как на NK-клетках, так и на Т-клетках, и, по-видимому, играет роль активирующего рецептора. В белке NKG2C по сравнению с NKG2A имеются некоторые аминокислотные различия, что приводит к 6-кратному снижению сродства к HLA-E NKG2C, в связи с чем взаимодействие экспрессирующей HLA-E клетки и NK зачастую приводит к ингибированию цитотоксической активности [13]. HLA-E также может связывать лидерные пептиды с белком теплового шока Hsp60sp [6], являющегося одним из аларминов и способного вызвать активацию иммунной системы, что может способствовать развитию воспалительного процесса при различных иммунопатологиях. Следовательно, представляется актуальным исследование уровня экспрессии HLA-E при различных видах иммунопатологий, в том числе при аутоиммунной патологии – ревматоидном артрите (РА) и аллергической форме бронхиальной астмы (БА).

Материалы и методы

В качестве материала для исследования использовались мононуклеарные клетки периферической крови (МНК ПК) пациентов с иммунопатологиями, находившихся на лечении в клинике иммунопатологии НИИФКИ, и соматически здоровых доноров, после подписания указанными лицами информированного согласия. МНК ПК пациентов с РА (n = 15), БА (n = 11) и условно здоровых доноров (n = 14) выделяли из периферической крови в градиенте плотности фиколл-урографина (1,077 г/мл). Затем клетки окрашивали моноклональными антителами, конъюгированными с флюорохромами: анти-CD3-APC, анти-CD4-APC-Cy7, анти-CD14-FITC и анти-HLA-E-PerCP/Cy5. Фенотип клеток анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (BD Biosciences, США). Анализ проводился с помощью GraphPad Prism 9.3.1, с использованием критерия Краскела–Уоллиса. Значение p (p < 0,05) считалось минимальным критерием для статистической значимости.

Результаты и обсуждение

Нами было обнаружено, что при РА увеличивается экспрессия HLA E CD8⁺, CD4⁺Т-лимфоцитах, а также на CD14⁺ (моноциты), по сравнению с пациентами с БА (рис 1, 2). Также были показаны достоверные различия экспрессии HLA E на CD8⁺Т-клетках между условно здоровыми донорами и пациентами с РА (рис. 3).

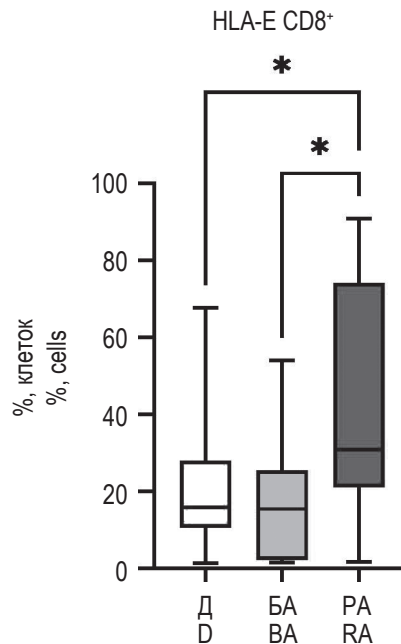


Рисунок 1. Экспрессия молекул HLA-E на CD8⁺Т-клетках у условно здоровых доноров и пациентов с бронхиальной астмой и при ревматоидном артрите
Примечание. * – достоверные различия по сравнению с донорами.

Figure 1. Expression of HLA-E molecules on CD8⁺T cells in healthy donors and patients with bronchial asthma and rheumatoid arthritis

Note. *, significant differences compared with donors.

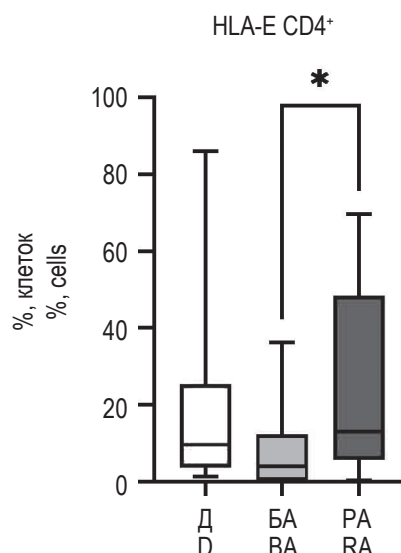


Рисунок 2. Экспрессия молекул HLA-E на CD4⁺Т-клетках у условно здоровых доноров и пациентов с бронхиальной астмой и при ревматоидном артрите
Примечание. * – достоверные различия по сравнению с донорами.

Figure 2. Expression of HLA-E molecules on CD4⁺T cells in healthy donors and patients with bronchial asthma and rheumatoid arthritis

Note. *, significant differences compared with donors.

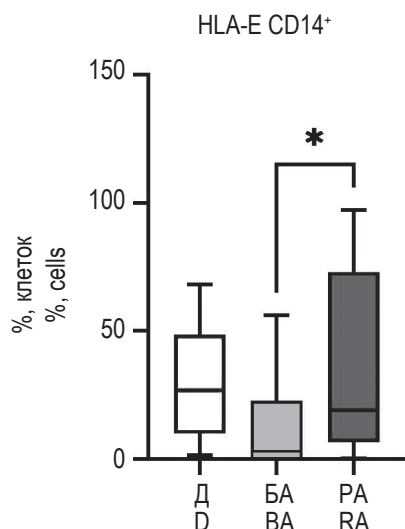


Рисунок 3. Экспрессия молекул HLA-E на CD14⁺T-клетках у условно здоровых доноров и пациентов с бронхиальной астмой и при ревматоидном артрите

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с донорами.

Figure 3. Expression of HLA-E molecules on CD14⁺T cells in healthy donors and patients with bronchial asthma and rheumatoid arthritis

Note. *, significant differences compared with donors.

В настоящее время многие исследования направлены на изучение влияния взаимодействия молекул HLA-E с ингибирующими рецепторами NKG2A/CD94 при аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит, аутоиммунный энцефаломиелит и другие.

NK-клетки способны уничтожать аутореактивные T-клетки, однако при высокой экспрессии NKG2A в NK-клетках, наоборот, предотвращается этот процесс. Следовательно, блокада взаимодействия NKG2A с лигандом является эффективным подходом для лечения аутоиммунных заболеваний. Взаимодействие NKG2A с лигандом приводит к развитию иммунологической памяти и клональной экспансии аутореактивных T-клеток, а также способствует защите активированных CD4⁺T-клеток от лизиса NKG2A⁺ NK-клетками [7].

Также повышение экспрессии NKG2A наблюдалось в NK-клетках пациентов с болезнью Грейвса и впервые выявленным псориазом, а также у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) и у пациентов с ревматоидным артритом (РА), что указывает на то, что отсутствие ингибирующих сигналов может привести к гиперактивации T-клеток и иммунологическим нарушениям [13].

Есть данные о том, что NK-клетки проявляют более высокую цитотоксическую активность против активированных CD4⁺T-клеток, которые были получены от мышей с дефицитом Qa-1 (аналог «неклассических» молекул MHC I клас-

са у мышей). Также было показано на мышинной модели ревматоидного артрита (РА), что блокирование NKG2A ускоряло опосредованное NK-клетками уничтожение патогенных T-хелперов 17 (Th17) клеток, а также фолликулярных T-хелперов (Tfh) клеток, тем самым останавливало прогрессирование заболевания [7].

Исследования, направленные на изучение экспрессии молекул HLA-G и HLA-E в бронхиальном эпителии, подтверждают гипотезу об участии этих молекул в ремоделировании ткани бронхов при бронхиальной астме. Все изоформы HLA-G экспрессировались в полностью дифференцированных НВЕС (клетках бронхиального эпителия человека) у здоровых доноров и пациентов с БА, как со средней степенью тяжести, так и с тяжелой БА. Экспрессия мРНК HLA-G была значительно снижена у пациентов с БА по сравнению с со здоровыми донорами [17]. Также было показано сверхэкспрессия HLA-E в опухолевых клетках при колоректальном раке, которая была связана с ингибированием NK или CD94⁺/NKG2A⁺/CD8⁺T-клеток, инфильтрирующих опухолевую ткань [2].

Вышеупомянутые результаты могут подтвердить участие HLA-G в пролиферации и дифференцировке эпителиальных клеток [8, 9]. Согласно литературным данным, структурное ремоделирование бронхиального эпителия и нарушение разрешения воспаления, которое наблюдается при бронхиальной астме, могут быть результатом внутренних дефектов клеток бронхиального эпителия человека, что проявляется в экспрессии изоформы «неклассических» молекул HLA-G, а не дисфункции иммунных клеток.

Таким образом, группа «неклассических» молекул главного комплекса гистосовместимости, в частности HLA-E, является перспективным направлением для дальнейшего изучения. Накопленные данные позволяют утверждать об их роли в патогенезе различных заболеваний иммунной природы. На экспериментальных моделях продемонстрированы положительные результаты, указывающие на возможные терапевтические подходы в лечении аутоиммунных заболеваний. Особый интерес представляет значение генов HLA-E при бронхиальной астме, поскольку на данный момент небольшое количество исследований подчеркивают их участие в развитии данного заболевания и пока указывается лишь их косвенное влияние.

Выводы

Было обнаружено увеличение экспрессии HLA-E на иммунокомпетентных клетках при РА, что свидетельствует о возможной роли данной молекулы в патогенезе данного заболевания.

Список литературы / References

1. Мерфи К., Уивер К. Иммунобиология по Джанвю: пер. с англ.; под ред. Г.А. Игнатъевой, О.А. Сви-тич, И.Н. Дьякова. М.: Логосфера, 2020. 1184 с. [Murphy K., Weaver K. Janway Immunobiology. Transl. from English; ed. G.A. Ignatieva, O.A. Svitich, I.N. Dyakova]. Moscow: Logosfera, 2020. 1184 p.
2. Carlini F., Picard C., Garulli C., Piquemal D., Roubertoux P., Chiaroni J., Chanez P., Gras D., di Cristofaro J. Bronchial epithelial cells from asthmatic patients display less functional HLA-G isoform expression. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 6. doi: 10.3389/fimmu.2017.00006.
3. Coupel S., Moreau A., Hamidou M., Horejsi V., Souillou J.P., Charreau B. Expression and release of soluble HLA-E is an immunoregulatory feature of endothelial cell activation. *Blood*, 2007, Vol. 109, no. 7, pp. 2806-2814.
4. Iwaszko M., Bogunia-Kubik K. Clinical significance of the HLA-E and CD94/NKG2 interaction. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 2011, Vol. 59, no. 5, pp. 353-367.
5. Kochan G., Escors D., Breckpot K., Guerrero-Setas D. Role of non-classical MHC class I molecules in cancer immunosuppression. *Oncimmunology*, 2013, Vol. 2, no. 11, e26491. doi: 10.4161/onci.26491.
6. Kraemer T., Celik A.A., Huyton T., Kunze-Schumacher H., Blaszczak R., Bade-Döding C. HLA-E: Presentation of a broader peptide repertoire impacts the cellular immune response-implications on HSCT outcome. *Stem Cells Int.*, 2015, Vol. 2015, 346714. doi: 10.1155/2015/346714.
7. Leavenworth J.W., Wang X., Wenander C.S., Spee P., Cantor H. Mobilization of natural killer cells inhibits development of collagen-induced arthritis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2011, Vol. 108, no. 35, pp. 14584-14589.
8. Lim R., Chan S.T., Tan J.L., Mockler J.C., Murphy S.V., Wallace E.M. Preterm human amnion epithelial cells have limited reparative potential. *Placenta*, 2013, Vol. 34, no. 6, pp. 486-492.
9. Melén E., Kho A.T., Sharma S., Gaedigk R., Leeder J.S., Mariani T.J., Carey V.J., Weiss S.T., Tantisira K.G. Expression analysis of asthma candidate genes during human and murine lung development. *Respir. Res.*, 2011, Vol. 12, no. 1, 86. doi: 10.1186/1465-9921-12-86.
10. Morandi F., Pistoia V. Interactions between HLA-G and HLA-E in physiological and pathological conditions. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, 394. doi: 10.3389/fimmu.2014.00394.
11. Paech C., Albrecht V., Putke K., Schöfl G., Schöne B., Schmidt A.H., Lange V., Klussmeier A. HLA-E diversity unfolded: Identification and characterization of 170 novel HLA-E alleles. *HLA*, 2021, Vol. 97, no. 5, pp. 389-398.
12. Sauter J., Putke K., Schefzyk D., Pruschke J., Solloch U.V., Bernas S.N., Massalski C., Daniel K., Klussmeier A., Hofmann J.A., Lange V., Schmidt A.H. HLA-E typing of more than 2.5 million potential hematopoietic stem cell donors: Methods and population-specific allele frequencies. *Hum. Immunol.*, 2021, Vol. 82, no. 7, pp. 541-547.
13. Wang X., Xiong H., Ning Z. Implications of NKG2A in immunity and immune-mediated diseases. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 960852. doi: 10.3389/fimmu.2022.960852.

Авторы:

Боева О.С. — студентка ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»; лаборант-исследователь лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Борисевич В.И. — студент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Козлов В.А. — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Boeva O.S., Student, Novosibirsk State University; Assistant Researcher, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Borisevich V.I., Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Kozlov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Director, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Демина Д.В. — к.м.н., врач-аллерголог, заведующая отделением аллергологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Сизиков А.Э. — к.м.н., врач-ревматолог, заведующий отделением ревматологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Пашкина Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Demina D.V., PhD (Medicine), Allergologist, Head, Department of Allergology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Sizikov A.E., PhD (Medicine), Rheumatologist, Head, Department of Rheumatology Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Pashkina E.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 10.07.2023
Принята к печати 12.07.2023

Received 10.07.2023
Accepted 12.07.2023