

## МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА. РОЛЬ НКТ-КЛЕТОК

### Обзор

© 2019 С.В. Ширшев

*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, 614081 Пермь, Россия; электронная почта: shirshov@iegm.ru*

Поступила в редакцию 04.03.2019

После доработки 03.06.2019

Принята к публикации 03.06.2019

В данном обзоре рассматриваются механизмы потенциального участия натуральных киллерных Т-клеток (НКТ) в индукции антифосфолипидных антител, играющих основную патогенетическую роль в формировании антифосфолипидного синдрома. На основании литературных данных рассматриваются патогенез антифосфолипидного синдрома и современные аспекты формирования антител с участием фолликулярных хелперных НКТ-клеток II типа. Представлено несколько потенциальных механизмов участия НКТ-клеток в индукции антифосфолипидных антител.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** антифосфолипидный синдром, антифосфолипидные антитела, НКТ-клетки, В-лимфоциты, гуморальный иммунный ответ.

**DOI:** 10.1134/S0320972519090021

Антифосфолипидный синдром (АФС), также известный как синдром Хьюза, представляет собой системное аутоиммунное заболевание, которое характеризуется возникновением тром-

боза, синдромом потери плода (повторные выкидыши), иммунной тромбоцитопенией и неврологическими расстройствами [1, 2]. Этиологическим фактором АФС считается появление антифосфолипидных антител (АФА), включая волчаночный антикоагулянт (ВА), антикардиолипидные антитела (АКА) и антитела против  $\beta_2$ -гликопротеина I ( $\beta_2$ GPI) [3, 4]. Установлена тесная взаимосвязь между АФА, тромбозами сосудов и множеством акушерских осложнений [1]. Практически все АФА являются аутореактивными по отношению не только к фосфолипидам, но и к фосфолипидсвязывающим белкам, таким как  $\beta_2$ GPI и протромбин [5]. Большинство исследований показало, что  $\beta_2$ GPI является основной антигенной мишенью [6], а анти- $\beta_2$ GPI-аутоантитела преимущественно отвечают за клинические проявления АФС [7]. АФА, как правило, связываются с анионными фосфолипидами и белковыми комплексами сыворотки [6]. Взаимодействие между антителами и сосудистыми эндотелиальными клетками (ЕС), как полагают, играет важную роль в патогенезе АФС [8].  $\beta_2$ GPI является основной фосфолипидсвязывающей молекулой, распознаваемой АФА. Данный белок продуцируется преимущественно гепатоцитами, хотя некоторые ЕС кровеносных сосудов и трофобласт также экспрессируют этот гликопротеин [9]. Когда  $\beta_2$ GPI связывается с анионными фосфолипида-

Принятые сокращения: АКА – антикардиолипидные антитела; АФА – антифосфолипидные антитела; АФС – антифосфолипидный синдром; ВА – волчаночный антикоагулянт; КАФС – катастрофический АФС; ТФ – тканевой фактор; AP-1 – активаторный белок 1; APC – антиген-презентирующая клетка; ApoER2 – аполипопротеин E2; APRIL – лиганд, индуцирующий пролиферацию; VAFF – фактор активации В-клеток; Vcl-6 – транскрипционный фактор В-клеточной лимфомы 6; BCR – В-клеточный рецептор; Blimp-1 – белок 1, индуцирующий созревание В-лимфоцита; CD – лейкоцитарный антиген; DC – дендритная клетка; EC – эндотелиальная клетка; FDC – фолликулярная дендритная клетка; FRC – фолликулярная ретикулярная клетка; GC – герминативный центр;  $\beta_2$ GPI –  $\beta_2$ -гликопротеин I; HLA-DR – антиген лейкоцитов человека DR; ICOS – индуцибельный костимулятор; ICOS-L – ICOS-лиганд; IFN- $\gamma$  – интерферон  $\gamma$ ; Ig – иммуноглобулин; IL – интерлейкин; LDL-R – рецептор липопротеина низкой и очень низкой плотности; mB – В-клетка памяти; MHC – главный комплекс гистосовместимости; NF- $\kappa$ B – фактор транскрипции  $\kappa$ B; НКТ – натуральная киллерная Т-клетка; p38MAPK – митогенактивирующая протеинкиназа p38; PC – плазматическая клетка; PD-1 – молекула программы смерти 1; PT – протромбин; SAP – адапторный белок рецепторов семейства молекул CD150 и PD-1; TCR – Т-клеточный рецептор; TD – тимусзависимый иммунный ответ; TFH – фолликулярный Т-хелпер; TFPI – ингибитор ТФ; Th – Т-хелпер; TI – тимуснезависимый иммунный ответ; TLR – Toll-подобные рецепторы; TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$ .

ми, такими как кардиолипид, круговая структура плазматического  $\beta_2$ GPI преобразуется в линейную форму, что приводит к экспонированию основного эпитопа для АФА [10]. Однако аутоантитела против  $\beta_2$ GPI, связанные с фосфолипидами, обнаруживаются менее чем у половины пациентов с клиническими проявлениями АФС [11], что предполагает наличие дополнительных мишеней для АФА.

В 2006 г. в Сиднее на XI Международном конгрессе были представлены новые диагностические критерии АФС [4]. Был достигнут консенсус, что диагноз АФС ставится, если у пациента выявлен хотя бы один из двух клинических критериев (сосудистый тромбоз или осложнения беременности) и один из двух лабораторных критериев, включая наличие ВА, АКА или анти- $\beta_2$ GPI-антител (Ig) изотипов G или M в диагностическом титре [4]. Ранее АФС подразделяли на первичный и вторичный, однако пересмотренные в Сиднее критерии классификации не рекомендуют использовать термин «вторичный». В последнее десятилетие получены новые данные о роли воспаления в патогенезе АФС, что позволяет рассматривать его также как воспалительное протромботическое расстройство [1]. Наиболее тяжелой формой АФС является так называемый катастрофический АФС (КАФС). Этот синдром также иначе именуется как синдром Ашерсона, который в 1992 г. впервые ввел в клиническую практику термин КАФС. Под влиянием АФА происходит формирование прокоагулянтного и провоспалительного состояния, на фоне которого под действием дополнительных провоцирующих факторов развивается КАФС, т.е. реализуется декомпенсация системы гемостаза, запускается системный воспалительный ответ и формируется полиорганная недостаточность вследствие развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания [12].

### ПАТОГЕНЕЗ АФС

Этиологическим фактором АФС является появление АФА, чаще всего направленных против кардиолипина (дифосфатидилглицерола) — эндогенного фосфолипида клеточных мембран, поэтому данное заболевание относят к аутоиммунным патологиям. В обычных условиях кардиолипид (анион) может взаимодействовать с лизинбогатыми белками (катион), такими как  $\beta_2$ GPI. В этом случае закольцованная молекула  $\beta_2$ GPI приобретает развернутую конформацию и также становится доступной в качестве аутоантигена [10].

Появление анти- $\beta_2$ GPI-антител приводит к возникновению протромботического статуса. Патогенез АФС связан с нарушением микроциркуляции, гемостаза и деструктивными изменениями в сосудистой стенке [1, 2]. Ведущим патогенетическим фактором АФС является тромбоз, определяющий клинику синдрома, который может возникнуть в любом органе [13]. Формирование протромботического состояния при АФС связано с генерацией тканевого фактора (ТФ) [14], активацией ЕС и системы комплемента [15]. Важную роль в патогенезе АФС играет воспаление, которое считается основным механизмом, лежащим в основе протромботической и прокоагулянтной активности эндотелия [16]. В сыворотке больных с АФС присутствуют высокие уровни IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 и TNF- $\alpha$  [17]. Кроме того, АФА индуцируют у моноцитов и ЕС экспрессию молекул адгезии (VCAM-1, ICAM-1 и E-селектина) и ТФ, что определяется как провоспалительный фенотип [17]. Все это приводит к усилению агрегантных свойств ЕС [7]. Связывание АФА с  $\beta_2$ GPI уменьшает его регуляторную функцию в отношении системы комплемента с последующим нарушением клиренса апоптотических клеток [18]. Показано, что активация комплемента АФА провоцирует тромбоз при АФС [19]. Активация коагуляционного каскада осуществляется через молекулы мембраноатакующего комплекса, формирующегося после взаимодействия АФА с антигеном, или опосредованно через взаимодействие C5a с его рецептором (C5aR), что также приводит к повышению уровня экспрессии ТФ и, таким образом, к активации коагуляционного процесса [20]. Дополнительно АФА ингибируют антикоагулянтные свойства активированного белка С [21], что угнетает фибринолиз [22], снижает активность ингибитора ТФ (TFPI) [23] и нарушает антикоагулянтную активность аннексина А5 [24].

В основе перечисленных выше механизмов АФС лежит способность АФА связываться с мембраноассоциированными молекулами и рецепторами на клетках-мишенях, вызывая их активацию и приводя к тромбозу различных сосудов [25]. Такими молекулами/рецепторами могут быть аннексин А2 [26], рецептор аполипротеина Е2 (ApoER2) [27], рецептор липопротеина низкой (LDL-R) и очень низкой плотности [28], Toll-подобные рецепторы TLR-2 [29] и TLR-4 [30], а также адгезивный рецептор тромбоцитов GPIb $\alpha$  [31] и фактор тромбоцитов 4 (PF4) [8]. Кроме того, в качестве мишени могут выступать молекулы  $\beta_2$ GPI, связанные с HLA-DR7 и HLA-DR4 [32]. Известно, что пациенты, в клетках которых экспрессируются аллели MHC-II — HLA-DR7 и DR4, наиболее часто

страдают от аутоиммунных заболеваний, в частности от АФС [33]. Помимо клеток иммунной системы, экспрессия МНС-II индуцируется на ЕС благодаря провоспалительным цитокинам, таким как IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  [34]. Установлено, что 83,3% пациентов с АФС обладают аутоантителами против комплекса  $\beta_2$ GPI/HLA-DR. Кроме того, эти аутоантитела способны реализовывать комплементзависимую цитотоксичность [32], что приводит к повреждению ЕС и, как следствие, к тромбозу [8]. Поэтому цитокины, продуцируемые в ответ на провоспалительные стимулы, например, вызванные вирусной инфекцией, могут индуцировать образование комплексов  $\beta_2$ GPI/HLA-DR на поверхности ЕС, в частности, на децидуальных ЕС у женщин с АФС, приводя к активации комплемента и тромбозу во время беременности [35]. Круговая структура  $\beta_2$ GPI в плазме сменяется линейной при взаимодействии белка с отрицательно заряженными фосфолипидами, что приводит к экспонированию эпитопа, распознаваемого АФА [10]. По-видимому,  $\beta_2$ GPI, связанные с молекулами HLA-DR, имеют сходную конформацию и распознаются аутоантителами пациентов с АФС. Кроме того, комплексы  $\beta_2$ GPI/HLA-DR7 также обладают уникальными эпитопами для аутоантител при АФС, которые отсутствуют у  $\beta_2$ GPI, связанного с фосфолипидом. Показано, что домены IV (DIV) и V (DV)  $\beta_2$ GPI являются мишенями для АФА [36], так же как и домен I (DI) комплексов  $\beta_2$ GPI/HLA-DR [32]. Взаимодействия АФА с  $\beta_2$ GPI, связанным с моноцитами и ЕС, приводят к активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B и митогенактивированной протеинкиназы p38 (p38MAPK). Последняя приводит к стимуляции активаторного белка 1 (AP-1), который, как и NF- $\kappa$ B, инициирует экспрессию ТФ [37], т.к. промотор гена ТФ содержит два AP-1-сайта и сайт NF- $\kappa$ B [38]. Экспрессия ТФ циркулирующими моноцитами крови и клетками сосудистого эндотелия приводит к повышенной свертываемости крови [39].

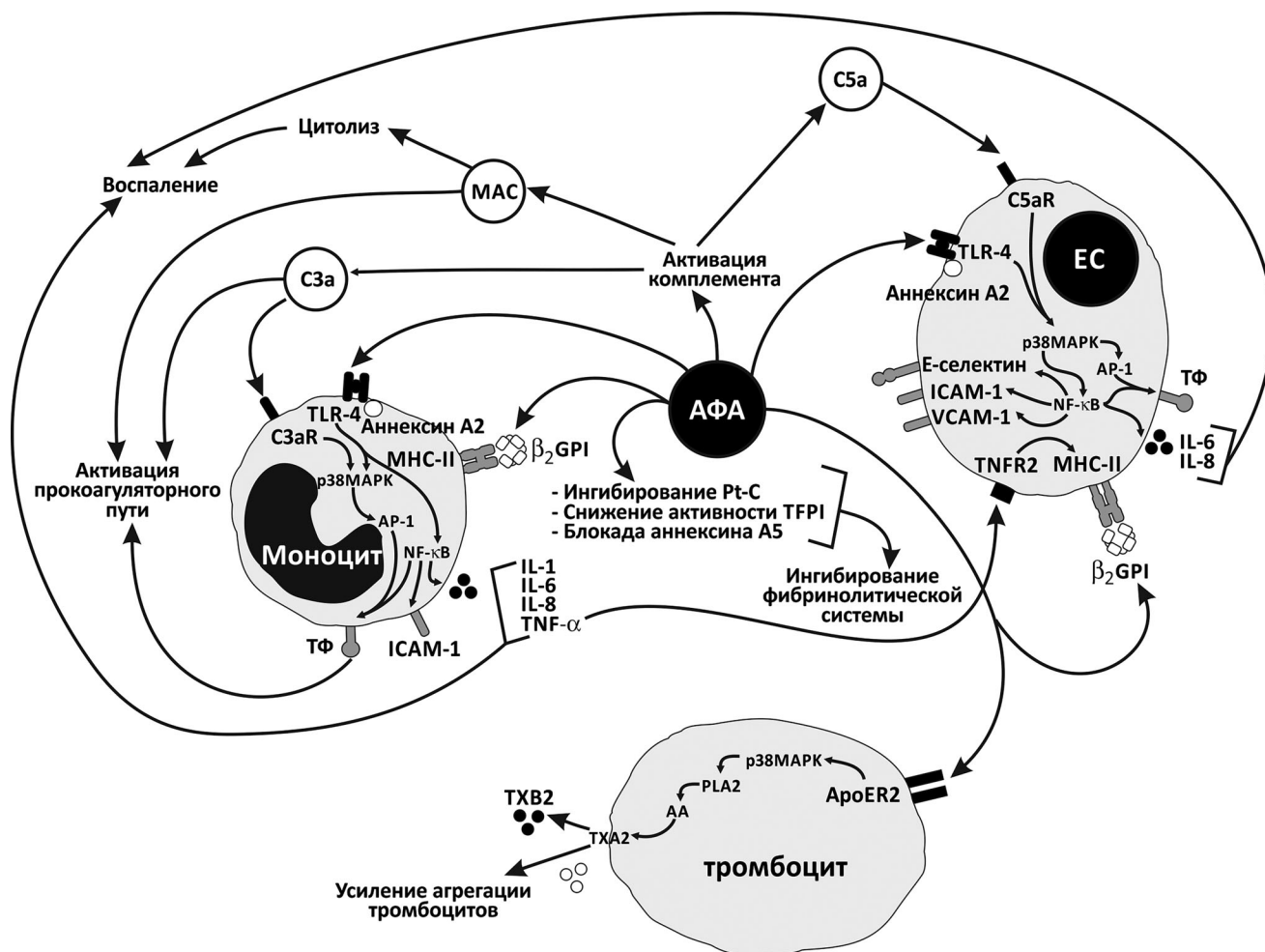
Взаимодействие АФА с тромбоцитами через ApoER2 активирует p38MAPK, которая фосфорилирует фосфолипазу A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), высвобождающую арахидоновую кислоту — субстрат для синтеза тромбоксана B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>), способного усиливать агрегацию тромбоцитов [40]. Взаимодействие АФА с молекулами TLR-4 также активирует NF- $\kappa$ B-путь, который участвует в реализации патогенных эффектов анти- $\beta_2$ GPI-антител на уровне ЕС и моноцитов [41]. Как правило, трансдукция сигнала осуществляется через мультибелковый комплекс, включающий не только TLR-4, но и аннексин A2 [7, 42]. В результате усиливается экспрессия молекул адге-

зии и провоспалительных цитокинов в данных клетках [42]. Таким образом, активации NF- $\kappa$ B и/или AP-1 приводит к взаимодействию лейкоцитов и тромбоцитов с эндотелием *in vivo*, инициируя воспалительный ответ и усиление коагуляционной активности [17]. Также было показано, что АФА, взаимодействуя с ЕС, активируют сигнальный путь фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/АКТ (протеинкиназы B). Активация этого сигнального каскада задействует mTOR (мишень для рапамицина млекопитающих), что приводит к пролиферации клеток и повышает их выживаемость. В конечном счете это запускает процессы гиперплазии интимы и хронической васкулопатии, наблюдаемой при АФС [43].

Завершая краткое рассмотрение патогенеза АФС, можно с уверенностью сказать, что АФА влияют на все механизмы регуляции свертывания крови, полностью смещая баланс в пользу прокоагулянтного потенциала, включая функцию естественных антикоагулянтов, регуляцию фибринолиза, первичный и вторичный гемостаз, защитные свойства эндотелия. При этом АФА активируют процессы воспаления, включая синтез провоспалительных цитокинов и молекул адгезии, и запускают эффекторные и регуляторные механизмы системы комплемента, формируя «порочный круг», усиливающий патогенное воздействие АФА (рис. 1). В то же время практически ничего не известно о механизмах, инициирующих синтез данных антител иммунной системой. Прежде чем рассмотреть механизм индукции АФА, необходимо кратко остановиться на характеристике АФА и механизмах генерации этих антител.

#### АНТИФОСФОЛИПИДНЫЕ АНТИТЕЛА (АФА)

Практически все научные работы по проблеме АФС ограничиваются констатацией того, что этиологическим фактором является появление АФА, которые реализуют патогенное действие на разные клетки и системы организма. При этом учитываются только несколько наиболее информативных с точки зрения клиники и диагностики разновидностей АФА. В качестве диагностических принимаются три теста для документирования наличия этих антител в крови пациентов: появление ВА, анти- $\beta_2$ GPI-антител и АКА [3, 4]. Однако аутоантитела против  $\beta_2$ GPI, связанного с фосфолипидом, обнаруживаются менее чем у половины пациентов с клиническими проявлениями АФС [11], что предполагает наличие дополнительных мишеней для АФА. Так, у больных АФС выявляются антитела дру-



**Рис. 1.** Основные патогенетические механизмы развития антифосфолипидного синдрома. AA – арахидоновая кислота; C3a, C5a – анафилатоксины; C3aR, C5aR – рецепторы для анафилатоксинов; ICAM – молекула межклеточной адгезии; MAC – мембраноатакующий комплекс; PLA2 – фосфолипаза A2; Pt-C – протеин C; TXA2 – тромбоксан A2; TXB2 – тромбоксан B2; VCAM – молекула адгезии EC

гого изотипа и специфичности, например, IgA к кардиолипину, IgA анти- $\beta_2$ GPI, антифосфатидилсерин, антифосфатидилэтаноламин, антифосфатидилсерин/протромбин и пр. [1]. Таким образом, АФА представляют собой гетерогенную группу аутоантител, определяющих полиморфизм клинической картины. С точки зрения патогенеза АФС, АФА можно подразделить на два типа: патогенные (критичные) и малопатогенные (некритичные). К патогенным АФА относятся ВА, IgG и IgM против кардиолипина и  $\beta_2$ GPI. Их первичными мишенями являются фосфолипидсвязывающие белки и сами фосфолипиды [2]. К некритичным относятся антитела, направленные против протромбина (PT), комплекса фосфатидилсерин/протромбин (PS/PT) [44], фосфатидной кислоты, комплекса виментин/кардиолипин, белков C/S, и множество других аутоантител, направленных против коа-

гуляционных факторов XII и X, а также аннексинов A5 и A2 [2].

Считается, что антитела против  $\beta_2$ GPI могут быть результатом молекулярной мимикрии между  $\beta_2$ GPI человека и аналогичными молекулами патогенных бактерий [45]. Мыши, иммунизированные некоторыми бактериями, продуцировали анти- $\beta_2$ GPI-антитела, которые при переносе беременным мышам приводили к потере эмбриона [46]. Гетерогенность АФА коррелирует с различными механизмами патогенного действия: активацией тромбоцитов, EC и моноцитов, ингибированием фибринолитической системы, активацией коагуляционного каскада и системы комплемента [1]. Наиболее важными с точки зрения патогенеза АФС являются антитела, направленные против гликопротеина  $\beta_2$ GPI. Данный белок был идентифицирован как главная мишень аутоантител против кардио-

липина у пациентов с АФС [6].  $\beta_2$ GPI представляет собой одноцепочечный белок, содержащий пять доменов. DV необходим для связывания с анионными фосфолипидными мембранами, тогда как DI служит мишенью для аутоантител [47]. Создание рекомбинантных молекул  $\beta_2$ GPI позволило Iverson et al. оценить значение аутоантител к каждому из пяти доменов  $\beta_2$ GPI [48]. Установлено, что наличие антител против DI напрямую коррелирует с клиническими симптомами АФС [49], в частности показано, что введение анти-DI-антител приводит к гибели плода у беременных мышей [50]. В то же время рекомбинантный DI человека ингибирует способность поликлональных АФА вызывать тромбоз или повышать активность ТФ [51].

Итак, АФС вызывают три типа антител: 1) антитела, специфически связывающие эндогенные фосфолипиды; 2) антитела, нейтрализующие белки, связавшие фосфолипиды; 3) антитела, взаимодействующие с белками, принимающими участие в гемокоагуляции. В настоящее время превалирует мнение о том, что АФА направлены против фосфолипидсвязывающих белков, а не фосфолипидов как таковых [1]. Однако первые тест-системы, определяющие АФА [52] в качестве антигена, использовали именно кардиолипид или другие фосфолипиды [53, 54], что и послужило основанием называть антитела антифосфолипидными. По-видимому, распознаваемая антигенная детерминанта включает как часть  $\beta_2$ GPI, так и фрагменты кардиолипина или, возможно, DV молекулы  $\beta_2$ GPI, и имеет перекрестные антигенные детерминанты с фосфолипидами, поскольку антитела распознают конформацию антигена, а не его химическую природу. Так или иначе, антитела к эндогенным фосфолипидам играют существенную роль в патогенезе АФС.

### МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Гуморальный иммунный ответ может быть инициирован несколькими популяциями и субпопуляциями клеток иммунной системы, каждая из которых распознает антиген определенной физико-химической структуры. В связи с этим гуморальный иммунный ответ подразделяют на тимусзависимый (TD) и тимуснезависимый (TI). Тимусзависимый гуморальный иммунный ответ инициируется фолликулярными Т-хелперами (ТФН) – тип TD-1, а также натуральными киллерными Т-клетками (НКТ) ФН, которые генерируются в тимусе, но относятся к врожденному иммунитету – тип TD-2. Тимусне-

зависимый гуморальный иммунный ответ не требует помощи Т-клеток и подразделяется на TI-1 (активация В-лимфоцитов через TLR) и TI-2 при перекрестной сшивке В-клеточных рецепторов (BCR), а также на TI-3-ответ, при котором помощь В-лимфоцитам оказывают миелоидные клетки: нейтрофил В-хелпер (NBH), моноцит ВН (MBH), мастоцит ВН (MasBH) и базофил ВН (BasBH) [55].

TD-1-ответы инициируются, как правило, белково-пептидными антигенами, поступающими в зону вторичных лимфоидных органов (лимфатические узлы, селезенка, лимфоидные образования слизистой), в которых выделяют В- и Т-зависимые зоны. В-Зависимая зона содержит наивные (n) В-лимфоциты и фолликулярные дендритные клетки (FDC), которые продуцируют хемокины CXCL13, определяющие присутствие nВ-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор для данного хемокина – CXCR5 [56]. Т-Зависимая зона содержит nТ-лимфоциты и ретикулярные фолликулярные клетки (FRC). Выделяемые FRC хемокины CCL19 и CCL21 привлекают в Т-зависимую зону nТ-лимфоциты, экспрессирующие на своей поверхности специфические хемокиновые рецепторы CCR7 [57]. nВ-клетки сталкиваются с растворимым антигеном в своем компартменте, и, если произошло *специфическое* взаимодействие BCR с молекулами антигена, В-лимфоцит активируется, и комплекс BCR–антиген (pBCR) интернализируется. После этого антиген процессируется и экспрессируется на поверхности В-лимфоцитов в комплексе с молекулами МНС II класса – рМНС-II [58]. Одновременно, благодаря активации, повышается экспрессия костимулирующих молекул и CCR7 при наличии CXCR5, что позволяет активированной антигеном В-клетке переместиться к границе Т-зависимой зоны [59]. В свою очередь, антиген захватывается дендритными клетками (DC) и презентуется в виде рМНС-II. Это приводит к созреванию DC и их миграции в Т-зависимую зону. В ходе миграции DC продуцируют хемокины CCL19 и CCL21, благодаря чему nТ-клетки контактируют с антиген-презентирующей клеткой. Непосредственное (когатное) взаимодействие  $CD4^+$ -nТ-лимфоцитов с DC обусловлено Т-клеточным рецептором (TCR), специфически распознающим процессированный антиген в комплексе с молекулами МНС (pМНС-II) [60]. Как и в случае с В-лимфоцитом,  $CD4^+$ -nТ-клетка активируется, трансформируясь в преТ-фолликулярный хелпер (преТФН), что также приводит к миграции преТФН в В-зону [61, 62]. На границе Т- и В-зон происходит непосредственное взаимодействие активированного

антигеном В-лимфоцита с преТФН, что приводит к образованию клеточных пар, которые перемещаются в первичный фолликул [63]. Данное взаимодействие способствует выживанию и дифференцировке этих клеток [64, 65].

Межклеточное взаимодействие приводит к подавлению экспрессии CCR7 и EB12 (орфановый G-протеин-связанный рецептор) [66], одновременно в обоих типах клеток появляется фактор Bcl-6 (B-cell leukemia/lymphoma-6), что усиливает миграцию клеток внутри фолликула, их пролиферацию и формирование GC [67]. Такие В-клетки, находящиеся в темной зоне фолликула, получили название центробласты [68]. Центробласты, экспрессирующие молекулы CXCR4, локализуются рядом с CXCL12-экспрессирующими FRC в темной зоне GC, пролиферируют и подвергаются соматическим гипермутациям, что приводит к образованию centroцитов, локализованных в светлой зоне, экспрессирующих антигенспецифичные BCR с варибельной аффинностью [69]. Селекция centroцитов осуществляется FDC, которые отбирают В-лимфоциты с высокоаффинными BCR [64]. В отличие от центробластов, centroциты являются непролиферирующими клетками, склонными к апоптозу, и в случае отсутствия контакта с TFHGC-клетками они подвергаются апоптозу [64].

Непосредственный контакт TFHGC-лимфоцитов с рМНС-II<sup>+</sup>-В-лимфоцитами светлой зоны (centroциты) с помощью TCR дополнительно осуществляется посредством костимулирующих молекул и их рецепторов. В результате этого контакта образуются молекулярные пары, такие как CD86/CD28, PD-L1/PD-1, CD40/CD40L и ICOS-лиганд (ICOS-L)/ICOS (inducible costimulator) [61, 70]. Данное взаимодействие приводит к дополнительной активации В-клеток и запуску программы выживания с последующей индукцией переключения классов Ig centroцитами [71]. Затем В-клетки покидают фолликулы и дифференцируются либо в циркулирующие В-клетки памяти (mB), либо в долгоживущие PC, секретирующие высокоаффинные антитела [72]. TFH-клетки GC также покидают фолликулы и становятся циркулирующими клетками (рис. 2).

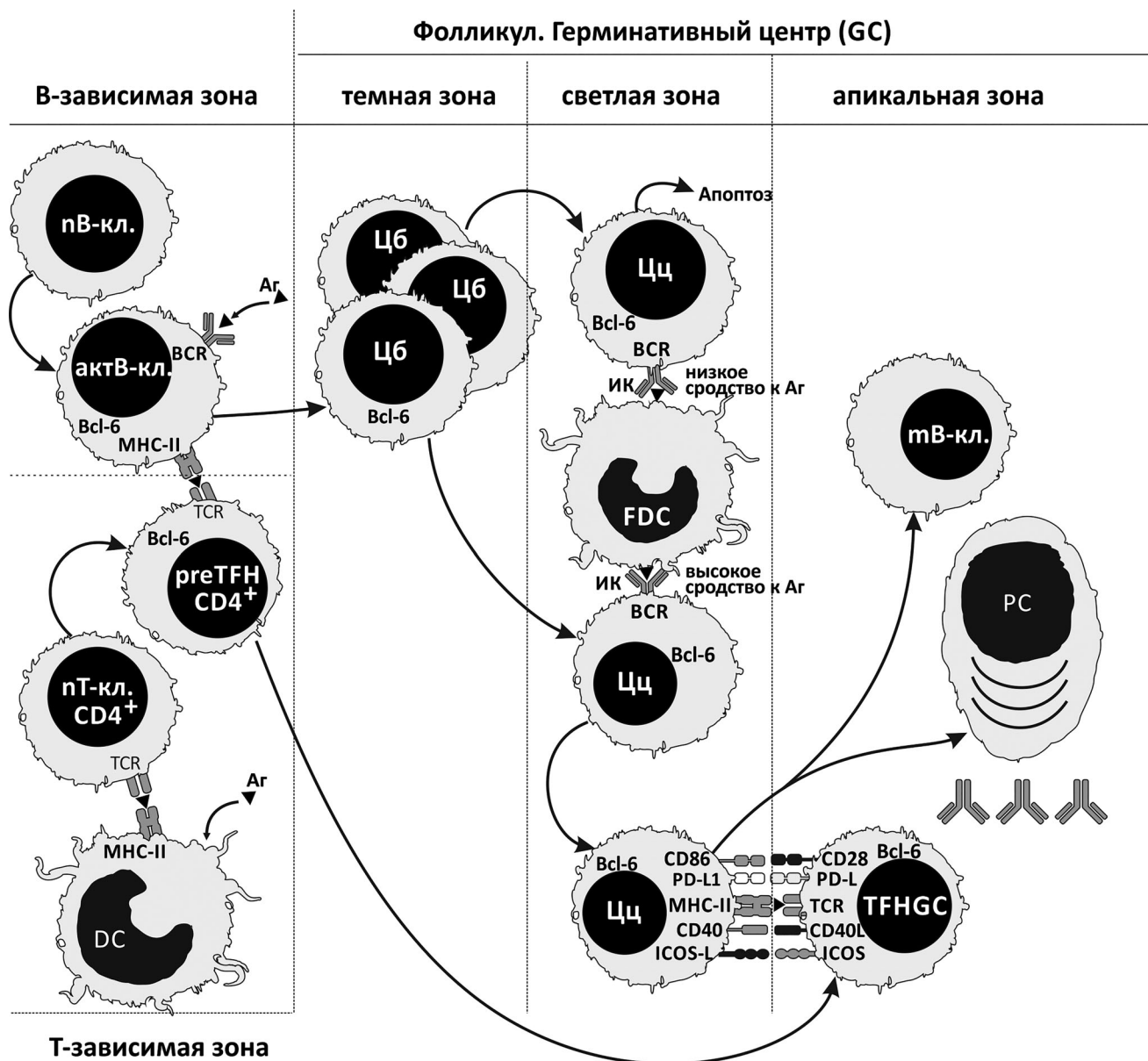
При отсутствии GC рМНС-II-В-клетка может после первичного контакта с преТФН дифференцироваться в короткоживущие PC – экстрафолликулярный путь развития. Образующиеся в этом случае PC будут секретировать низкоаффинные антитела четырех классов: IgM, IgG, IgA и IgE [64].

На молекулярном уровне процесс выбора пути дифференцировки В- или Т-клеток зави-

сит от активности транскрипционных факторов Bcl-6 или Blimp-1 (B-lymphocyte-induced maturation protein 1) [67, 73]. Данные факторы составляют антагонистическую пару, они не только оказывают разнонаправленное действие на функции лимфоцитов, но и подавляют экспрессию друг друга [74]. Экспрессия Bcl-6 необходима для пролиферации В-лимфоцитов, формирования GC и индукции процессов переключения классов антител и повышения их аффинности [67]. Blimp-1, напротив, стимулирует дифференцировку PC, связанную с развитием секреторного аппарата для продукции антител, и блокирует процессы пролиферации В-клеток [73, 75]. Кроме того, Bcl-6 необходим для дифференцировки CD4<sup>+</sup>-Т-клетки в TFH, а появление Blimp-1, напротив, препятствует этой дифференцировке, подавляя экспрессию Bcl-6 [65]. Наиболее эффективным путем развития активированной антигеном В-клетки является формирование GC-фолликула, в который устремляются как В-клетки, так и преТФН-лимфоциты – «моногамные пары» [61]. Этот путь приводит к формированию долгоживущих PC или mB-клеток. Спектр цитокинов TFHCG в этой паре определяет, какой изотип специфических антител будет синтезировать PC [76].

TFH характеризуются высокой экспрессией молекулы программы смерти 1 (PD-1) и рецептора хемокинов CXCR5. С одной стороны, низкая (low) экспрессия CCR7 и высокая (high) CXCR5 позволяет этим клеткам локализоваться в области лимфоидных фолликулов [77]. С другой стороны, экспрессия молекул PD-1 не дает пролиферировать TFH-клеткам, которые постоянно контактируют с В-лимфоцитами и DC [78]. Помимо этого, TFH-клетки также на высоком уровне экспрессируют молекулы ICOS, которые взаимодействуют с ICOSL В-лимфоцитов, в результате чего поддерживается дифференцировка TFH-клетки и синтез ею IL-21 [70]. Главной функцией TFH-клетки является обеспечение развития В-клеток посредством секреции IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-21 и фактора активации В-клеток (BAFF) [70]. IL-21 играет основную роль в регуляции реакций GC и дифференцировки В-клеток [79]. С помощью высокоактивированных TFH-клеток (CXCR5<sup>high</sup>, PD1<sup>high</sup>, ICOS<sup>high</sup>, Bcl-6<sup>high</sup>) формируются высокоаффинные PC с различными изотипами Ig и mB-клетки [70].

Таким образом, TFH-клетки контролируют первичное распознавание антигена, дифференцировку В-лимфоцитов как в экстрафолликулярные, короткоживущие PC, так и в долгоживущие PC GC, продуцирующие специфические антитела.



**Рис. 2.** Схематическое изображение основных этапов формирования гуморального иммунного ответа во вторичных лимфоидных органах. Ag – антиген; актВ-кл. – активированная В-клетка; ИК – иммунный комплекс; Цб – центробласт; Цц – центроцит; DC – дендритная клетка; FDC – фолликулярная дендритная клетка; мВ-кл. – В-клетки памяти; пВ-кл. – наивная В-клетка; пТ-кл. – наивная Т-клетка; PC – плазматическая клетка; preTFH – предшественник TFH-клетки

### НАТУРАЛЬНЫЕ КИЛЛЕРНЫЕ Т-КЛЕТКИ (NKT) И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА (АФА)

Липидные и липидсодержащие молекулы экзогенного и/или эндогенного происхождения могут выступать в качестве антигенов. Их презентация осуществляется в комплексе с MHC-I-подобной  $\beta_2$ -микроглобулин-ассоциированной молекулой CD1d [80]. Первая группа прототип-

ных лигандов для CD1d была идентифицирована как гликофинголипидные соединения, аге-ласфины, полученные из морской губки *Agelas mauritianus*. Структура этого соединения представляет собой разветвленный  $\alpha$ -галактозилцерамид ( $\alpha$ GalCer) [81]. Несмотря на то что  $\alpha$ GalCer активирует CD1d-рестриктированные Т-лимфоциты, он не обнаружен у позвоночных и микроорганизмов [82].

Все CD1 белки подразделяются на три группы: 1) CD1a, CD1b и CD1c; 2) CD1d; 3) CD1e [83].

У человека и большинства млекопитающих экспрессируются все изоформы CD1 (CD1a–e), тогда как у мышей – только изоформа CD1d [84], которая, в отличие от остальных, является высококонсервативной молекулой [85]. CD1e принимает участие во внутриклеточном липидном трафике и не экспонирована на клеточной мембране [86]. Необходимо отметить, что молекулы CD1a, CD1b и CD1c презентируют только микробные липидные антигены обычным Т-лимфоцитам, в то время как CD1d презентируют липиды, гликолипиды и липопротеины как микробного (экзогенного), так и эндогенного происхождения. В свою очередь, молекулы CD1d, связанные с антигеном, распознаются только NKT-клетками и особой группой CD1d-рестриктированных Т-лимфоцитов, которые используют  $\gamma\delta$ - или  $\delta/\alpha\beta$ -TCR [87]. Молекулы CD1d экспрессируются на DC, макрофагах (включая резидентные клетки Купфера в печени), В-клетках, тимоцитах, гепатоцитах [80], эпителиальных [88] и раковых клетках [89]. Кроме того, CD1d присутствует на ворсинчатых и экстраворсинчатых трофобластах, экспрессия которых возрастает в ходе беременности [90].

У человека все CD1d-рестриктированные Т-лимфоциты могут быть разделены на четыре основных типа по структуре TCR и способности распознавать два маркерных антигена – либо  $\alpha$ -GalCer, либо сульфатид (таблица). Говоря о патогенезе АФС, следует рассматривать данный синдром как проявление специфического гуморального иммунного ответа, направленного против собственных фосфолипидов и, прежде всего, кардиолипина, который также обозначают как дифосфатидилглицерол (DPG). Данный фосфолипид является наиболее важной мишенью для АФА и может распознаваться в комплексе с молекулами CD1d тремя типами CD1d-рестриктированных Т-лимфоцитов. Это NKT-клетки I и II типов, а также CD1d-зависимые  $\gamma\delta$ - или  $\delta/\alpha\beta$ -TCR-Т-клетки. Однако только NKT-клетки I и II типов способны дифференцироваться в фолликулярные клетки-хелперы (NKTfh), и, следовательно, CD1d-зависимыми  $\gamma\delta$ - или  $\delta/\alpha\beta$ -TCR-Т-клетками, как индукторами АФА, можно пренебречь (таблица). Таким образом, основными претендентами на роль полноценных индукторов антикардиолипиновых Tfh-клеток можно считать NKT-лимфоциты

Характеристика CD1d-рестриктированных Т-лимфоцитов человека (суммировано по данным работы Macho-Fernandez и Brigl [87])

Тип CD1d-рестриктированных Т-клеток	Репертуар молекул TCR	Распознаваемые антигены	Функциональный тип
NKT-клетки I типа, распознающие молекулы $\alpha$ GalCer (но не сульфатид)			
Инвариантные (i) NKT-клетки	инвариантная $\alpha$ -цепь (V $\alpha$ 24, J $\alpha$ 18)	микробные гликолипиды: $\alpha$ -GSL, $\alpha$ -GDAG эндогенные глико- и фосфолипиды: $\beta$ -GSL, фосфолипид, лизофосфолипиды, плазмалогены	Th1-подобный, Th2-подобный, Th17-подобный, Tfh-подобный, цитотоксический
V $\alpha$ 24-iNKT-клетки	расширенный репертуар TCR (V $\alpha$ 10, V $\alpha$ 2, V $\alpha$ 3, V $\beta$ 11)	микробный $\alpha$ -GSL эндогенные гликолипиды: $\beta$ -GSL, $\beta$ -GlcSph	Th1-подобный, Th2-подобный, Th17-подобный
NKT-клетки II типа, распознающие сульфатид (но не $\alpha$ GalCer)			
Разнообразные (d) или варианты (v) NKT-клетки	вариантный тип $\alpha\beta$ TCR	микробные и эндогенные фосфолипиды: PG, DPG (кардиолипин), PI лизофосфолипиды: LPC, LSM, LPE, $\beta$ -GlcSph	Th1-подобный, Th2-подобный, Th17-подобный, Tfh-подобный, цитотоксический
$\gamma\delta$ - и $\delta/\alpha\beta$ -Т-клетки, распознающие сульфатид и $\alpha$ GalCer			
$\gamma\delta$ -Т-клетки, $\delta/\alpha\beta$ -Т-клетки	$\gamma\delta$ -TCR, $\delta/\alpha\beta$ -TCR (V $\delta$ 1, V $\delta$ 3)	гликолипиды пыльцы эндогенные фосфолипиды: PE, PC, DPG	Th1-подобный, Th2-подобный

Примечание. DPG – дифосфатидилглицерол (кардиолипин);  $\alpha$ -GDAG –  $\alpha$ -глико(Gal/Glc)диацилглицерол;  $\beta$ -GlcSph –  $\beta$ -гликозилфингозин;  $\alpha$ -GSL –  $\alpha$ -гликофинголипид; LPC – лизофосфатидилхолин; LPE – лизофосфатидилэтаноламин; LSM – лизосфингомиелин; PC – фосфатидилхолин; PE – фосфатидилэтаноламин; PG – фосфатидилглицерол; PI – фосфоинозитол.



I и II типов. Данные клетки являются основными лимфоцитами иммунной системы, распознающими аутофосфолипидные детерминанты [82], обладающие способностью усиливать пролиферацию и продукцию антител В-клетками [91, 92] благодаря фенотипическим и функциональным качествам ТФН-клеток [93, 94].

Для детального рассмотрения роли НКТ-клеток в качестве индукторов АФА необходимо последовательно охарактеризовать молекулярные механизмы хелперной функции НКТ-клеток I и II типов у человека.

НКТ-клетки I типа, которые помогают В-клеткам трансформироваться в РС, получили название фолликулярные хелперные iНКТ-клетки (iНКТФН) [95]. Они локализуются внутри GC после иммунизации как одним гликолипидом  $\alpha$ GalCer, так и в комплексе с пептидом [70, 95]. Как и классические ТФН-клетки, iНКТФН-клетки экспрессируют поверхностные молекулы PD-1, CD40L и CXCR5, содержат транскрипционный фактор Bcl-6, секретируют такие цитокины, как IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-21 и BAFF [95, 96]. Другими молекулами, необходимыми для формирования GC и конечной дифференцировки ТФН-клеток, являются PD-1 и SAP – адапторный белок рецепторов семейства SLAM (CD150) [70]. Известно, что экспрессия SAP необходима не только для обеспечения непосредственной помощи В-клеткам, но и для развития НКТ-клеток в тимусе [70, 95].

Выделяют два основных механизма помощи В-лимфоцитам: контактный (когнатный, врожденный) и опосредованный или неконтактный (некогнатный, адаптивный) [93, 94]. Первоначально эти две формы помощи были установлены только для НКТ-клеток I типа. *In vivo* и *in vitro* было показано, что иммунизация комплексными антигенами, состоящими из белков, конъюгированных с гликолипидами, такими как  $\alpha$ GalCer [91, 92], или бактериальными гликолипидами [97] приводит к формированию специфических противобелковых антител благодаря контактной помощи iНКТ-клеток [93, 94]. Кроме того, при контактном взаимодействии В-лимфоцитов с НКТФН-клетками I типа формируются экстрафолликулярные РС, которые продуцируют антитела только против гликолипидных детерминант [92, 95, 96].

При использовании  $\alpha$ GalCer в качестве адъюванта белковых антигенов iНКТ-клетки привлекают  $\alpha$ GalCer-презентирующие DC и инициируют рекрутирование ими пептидспецифичных CD4<sup>+</sup>-Т-клеток. Такое действие iНКТ-клеток относится к некогнатной или неконтактной или адаптивной помощи, поскольку в качестве ТФН-клеток используются CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоциты

[98]. Под воздействием iНКТ-клеток DC активируют наивные CD4<sup>+</sup>-Т-клетки, которые подвергаются клональной экспансии, дифференцируются в ТФН-клетки и оказывают помощь В-лимфоцитам, что приводит к формированию GC, специфических РС и образованию mB-клеток [96].

В дальнейшем были получены доказательства того, что и НКТ-клетки II типа способны оказывать помощь В-лимфоцитам в продукции РС специфических антител против эндогенных липидных детерминант [99]. Показано, что гликозилсфингозинспецифические НКТФН-клетки II типа (в т.ч. у пациентов с болезнью Гоше) также приводят к формированию GC и В-клеточной активации с выработкой специфических антител [100]. В отличие от НКТ-клеток I типа, гликолипидспецифические НКТ-клетки II типа конститутивно экспрессируют ТФН-фенотип, в то время как НКТ-клетки I типа имеют слабый ТФН-фенотип [101] и дифференцируются в ТФН-клетки только после активации  $\alpha$ GalCer, который, как известно, не встречается у позвоночных и микроорганизмов [99]. Кроме того, в организме человека CD1d-зависимые НКТ-клетки II типа встречаются чаще, чем НКТ-клетки I типа. В костном мозге человека ~25% CD3<sup>+</sup>-Т-клеток экспрессируют CD161 (маркер НКТ-клеток) и половина CD161<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>-клеток распознает CD1d [102].

Многие НКТ-клетки II типа схожи по фенотипу и функциям с НКТ-клетками I типа. Так, им, как и НКТ-клеткам I типа, присуща высокая аутореактивность [103], зависимость развития клеток в тимусе от транскрипционного фактора PLZF и адаптерного белка SAP, конститутивная экспрессия мРНК IL-4, а также способность секретировать широкий спектр цитокинов сразу после стимуляции антигеном [104, 105]. Конститутивная аутореактивность НКТ-клеток позволяет им контролировать появление «нефизиологических» липидных структур [106], инициируя, по-видимому, и гуморальный иммунный ответ в виде АФА при АФС. У человека субпопуляции НКТ-клеток II типа экспрессируют V $\alpha$ 24<sup>-</sup>/V $\beta$ 11<sup>-</sup>-TCR с варибельными цепями V $\beta$  и имеют фенотип CD45RA<sup>+</sup>CD45RO<sup>-</sup>CD62<sup>high</sup>CD69<sup>-/low</sup>. Большинство этих клеток экспрессируют устойчивый ТФН-подобный фенотип – CXCR5<sup>+</sup>PD-1<sup>high</sup>ICOS<sup>high</sup>Bcl-6<sup>high</sup>FoxP3<sup>-</sup>IL-21<sup>+</sup>. Данные клетки после CD1d-рестриктированной активации способны к индукции GC для В-клеток и липидспецифических антител *in vivo* [99].

Таким образом, у человека основными помощниками в формировании РС из В-лимфоцитов являются НКТ-клетки II типа [102].

Принципиально важно то, что кардиолипид, как эндогенный липид, может распознаваться только НКТФН-клетками II типа. Поэтому наиболее эффективным и вероятным индуктором АФА при АФС являются НКТ-клетки II типа. Эти лимфоциты могут оказывать контактную или непосредственную (когнатную) антигенспецифическую помощь В-лимфоцитам для продукции АКА, поскольку НКТ-клетки I типа не распознают молекулы кардиолипина [87]. Кроме того, важную роль здесь играет способность  $\beta_2$ GPI связываться с кардиолипином и возможность данного комплекса презентироваться молекулами МНС-II [32]. Все это позволяет НКТФН-клеткам II типа инициировать анти- $\beta_2$ GPI-ответ наподобие  $\alpha$ GalCer/белок контактным способом. Кроме того,  $v$ НКТ-клетки, как и  $i$ НКТ, оказывают и неконтактную (некогнатную) помощь В-лимфоцитам, выступая усилителями ТФН-клеток, реагирующими на комплексную фосфолипид-белковую конструкцию или только белковый фрагмент молекулы  $\beta_2$ GPI – DI, появляющийся при взаимодействии с кардиолипином [2].

Принципиальная разница в механизмах контактной и неконтактной помощи, которую оказывают НКТФН-клетки В-лимфоцитам, заключается в том, что в первом случае презентация структуры CD1d/липид осуществляется В-клеткой. При этом НКТФН-клетка вступает в контакт с В-лимфоцитом, формируя своеобразный иммунный синапс при помощи корцепторов – CD40L и CD28, что приводит к секреции IL-21 и IFN- $\gamma$ , усиливающих дифференцировку В-клетки в РС [92]. В ряде случаев предварительно НКТ-клетка может быть активирована аналогичным контактом с DC [93]. Важно, что другой помощи от классических ТФН-клеток В-лимфоцит не получает. Во втором случае НКТФН-клетка является усилителем обычной (классической) реакции помощи В-клетке со стороны рМНС-II рестриктированного ТФН-лимфоцита [93, 107]. При этом активация НКТФН-клетки осуществляется, как правило, только DC по CD1d-рестриктированному механизму [93, 94].

В первом случае будут развиваться экстрафолликулярные быстрые и недолговременные иммунные ответы без формирования mB-клеток (TD2-ответы) [95, 96], во втором – классические фолликулярные иммунные реакции с формированием клеток памяти, поскольку основными дирижерами будут выступать ТФН-клетки (TD1-ответы) [55]. Необходимо отметить, что созревание аффинности антител после контактной помощи существенно ниже, чем при неконтактной помощи [95].

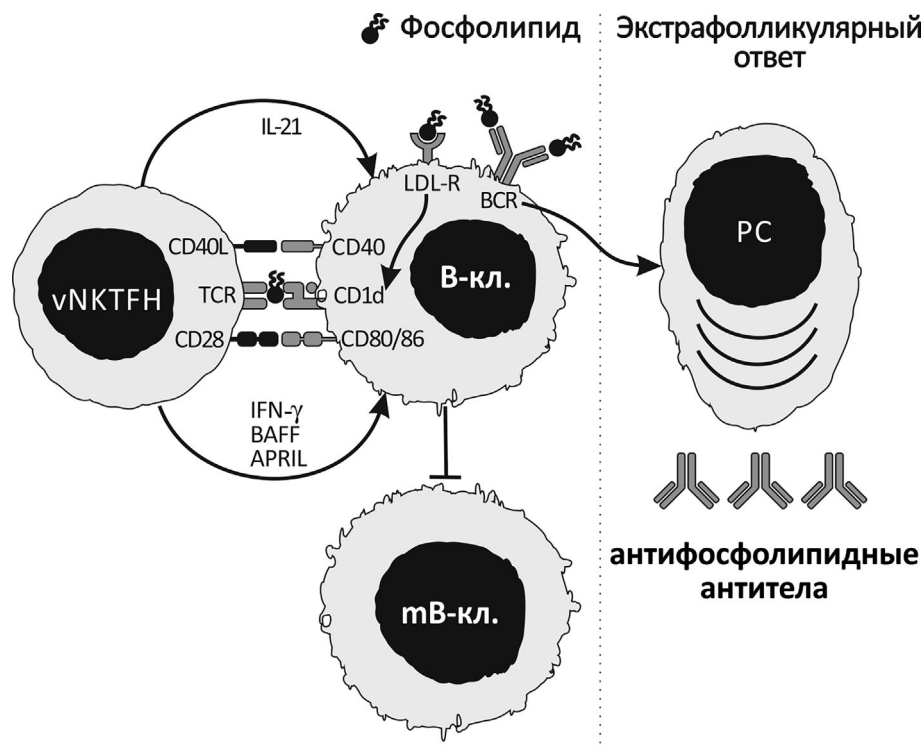
Таким образом, в зависимости от активационного сигнала В-клетки могут получать помощь от НКТФН-клеток либо для формирования РС, секретирующих антитела против одного уникального гликолипида/липиды или белкового носителя, либо адаптивную форму помощи от НКТФН-клеток благодаря гликолипид-активированным DC и адаптивным CD4<sup>+</sup>-ТФН-клеткам [107]. В этом случае НКТ-клетки будут усиливать эффект ТФН-лимфоцитов для трансформации В-клеток в РС с последующим синтезом антител только к белковым антигенам [93, 94].

### МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ РАЗВИТИЯ ГУМОРАЛЬНЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ АФС

Учитывая все вышесказанное, можно с высокой долей вероятности утверждать, что АФА при АФС индуцируются НКТ-клетками II типа. В то же время нельзя исключать, что индукторами могут быть и НКТ-клетки I типа, особенно когда речь идет об индукции «некритичных» антител. Можно предложить три основных механизма индукции АФА НКТФН-клетками II типа:

1) контактная помощь НКТФН-клеток II типа, реализующих специфический иммунный ответ на эндогенные фосфолипиды, такие как кардиолипид (DPG), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилэтаноламин (PE), появление антител к которым приводит к развитию АФС [1]. Фосфолипиды могут взаимодействовать как с молекулами BCR В-лимфоцитов [94], так и с рецептором липопротеинов низкой плотности (LDL-R) [108]. В том и другом случае это приводит к поглощению В-клеткой фосфолипида и последующей его презентации с помощью CD1d-молекулы НКТФН-клетке для их контактной активации [91, 92]. В-лимфоцит, распознавший фосфолипид через BCR, получает помощь для продукции АФА. Так, у больных АФС выявляются и антитела другого изотипа и специфичности, например, антифосфатидилсериновые и антифосфатидилэтаноламиновые [1]. В этом случае преимущественно будут генерироваться экстрафолликулярные РС, продуцирующие патогенные низкоаффинные антикардиолипиновые иммуноглобулины разного изотипа и низкопатогенные Ig, связывающие PS и PE без формирования mB-клеток (рис. 3);

2) контактная помощь НКТФН-клеток II типа, реализующих специфический ответ на эндогенные белки, конъюгированные с патогенетически значимыми молекулами – критическими ( $\beta_2$ GPI/кардиолипид) [2] и/или некритическими белковыми и/или липидными молекулами



**Рис. 3.** Вероятный механизм индукции специфического антифосфолипидного (антикардиолипинового) гуморального иммунного ответа с участием NKTФН-клеток II типа (vNKTФН), реализующих контактный механизм помощи В-лимфоцитам. Кардиолипин или другой фосфолипид специфически связывается с BCR В-клетки (В-кл.) и/или LDL-R, что приводит к селекции и последующей активации В-лимфоцита, одновременно фосфолипид (кардиолипин) презентуется vNKTФН-клетке с помощью молекулы CD1d. Иммунный синапс, включающий пары рецептор–лиганд (TCR/фосфолипид CD1d; CD28/CD80 или CD86; CD40L/CD40), активирует vNKTФН-клетку, что приводит к секреции ею IFN- $\gamma$ , BAFF, APRIL и IL-21, которые наряду с когнатным взаимодействием способствуют трансформации В-лимфоцита в плазматическую клетку (PC) экстрафолликулярной зоны. В результате PC продуцирует и секретирует специфические антифосфолипидные антитела. Клетки памяти (mВ-кл.) при этом не образуются

(PS/протромбин (PS/PT), виментин/кардиолипин) [44]. В данном случае важную роль будет играть физическая связь между белковыми молекулами и фосфолипидами, которая необходима для эффективного контакта между NKTФН-клеткой и В-лимфоцитом. Специфические BCR, связавшие белковый фрагмент комплекса, например, DI, при условии эффективной сшивки рецептора [91] будут поглощаться вместе со связанными фосфолипидами. Затем интернализованный фосфолипид будет презентироваться В-лимфоцитами в комплексе с CD1d-молекулами для контактной активации NKTФН-клеток [91, 92]. В этом случае также формируются экстрафолликулярные PC, секретирующие антитела против белковых антигенов (рис. 4);

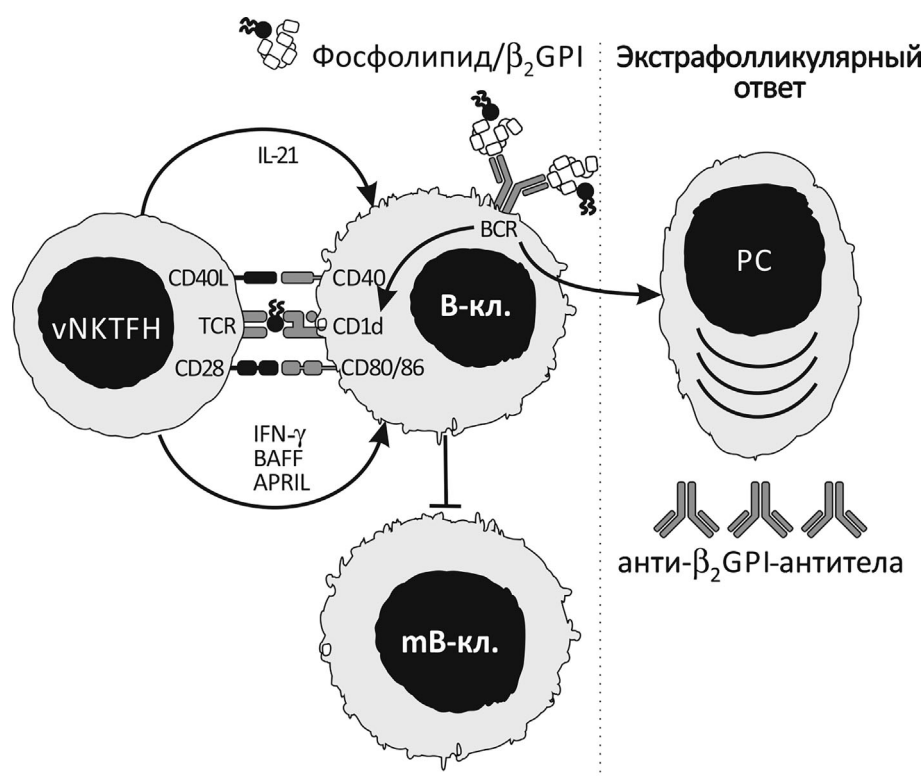
3) неконтактная помощь NKTФН-клеток II типа, реализующих специфический ответ на эндогенные белки, прежде всего  $\beta_2$ GPI, в присутствии фосфолипидов и их лизоформ. В этом механизме, как было сказано выше, NKT-клетки выступают в качестве усилителей адаптивной реакции. Неконтактная помощь NKT-клетками

осуществляется дистанционно без непосредственного взаимодействия с В-лимфоцитом, когда, в силу условий поступления антигена, В-лимфоцит не презентует фосфолипидный антиген CD1d-молекулой. Однако помощь NKT-клеток реализуется благодаря коэкспрессии CD1d и MHC-II на DC [109]. В этом случае, при поступлении во вторичные лимфоидные органы смеси белковых и фосфолипидных молекул, они неселективно поглощаются CD8 $\alpha^+$ -DC, которые затем активируют NKT- и/или NKTФН-клетки II типа, представляя комплексы фосфолипид/CD1d. Таким образом, DC будут играть ключевую роль в запуске первичной активации NKT-клеток [110]. Взаимодействие DC с NKT-клетками осуществляется при непосредственном контакте и приводит к костимуляции NKT-лимфоцита благодаря взаимодействию CD40L/CD40 и антиген-презентирующей функции DC, что приводит к усилению активации CD4 $^+$ -Th-клеток, которые специфичны к конкретному белковому антигену [109]. При этом DC продуцируют IL-12, дополнительно ак-

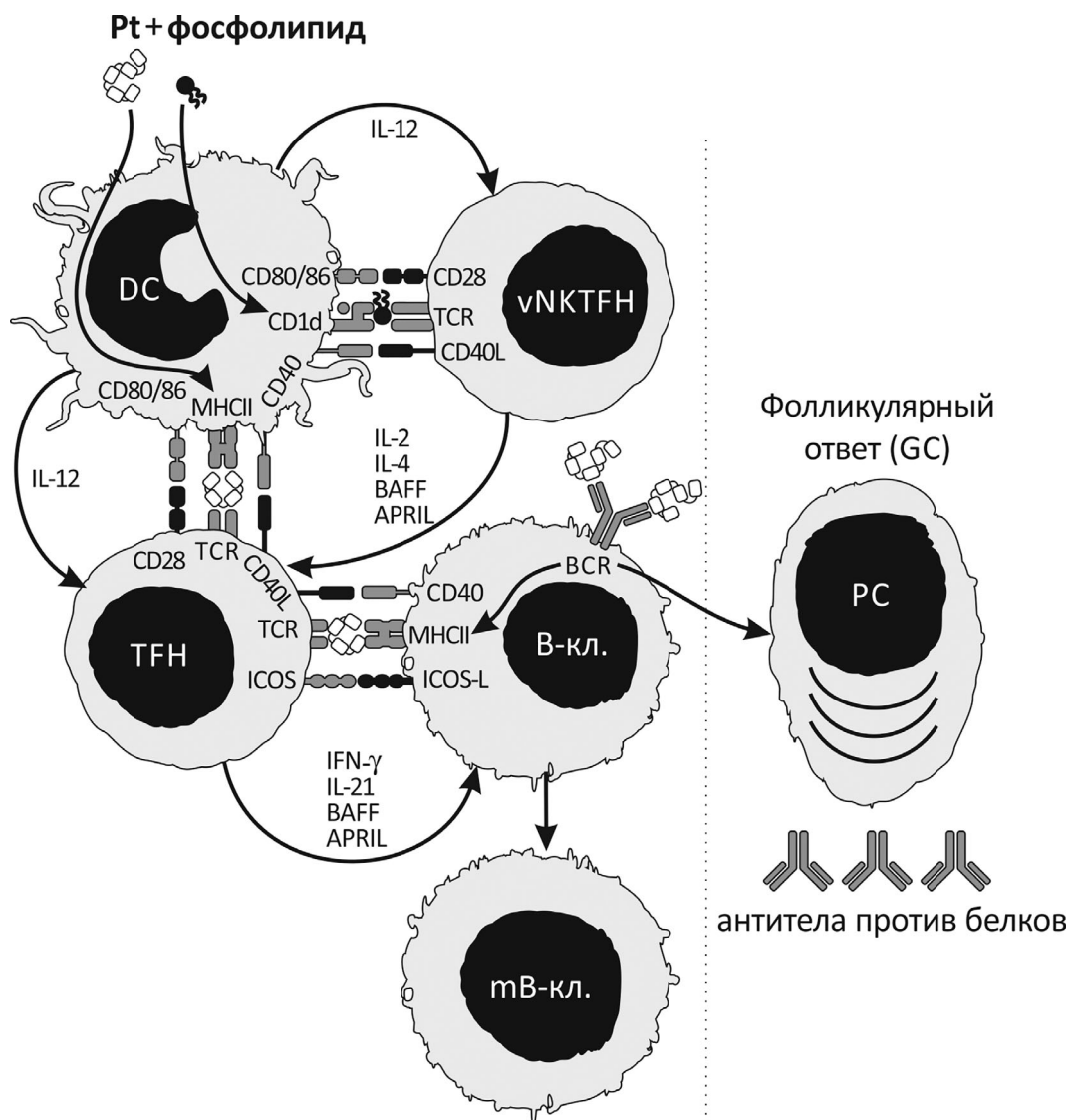
тивирующий как NKTФН-клетки, так и CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоциты, запуская полноценный гуморальный ответ и формируя иммунную память [94]. Активированные таким образом Th-клетки приобретают функции TFH-клеток и мигрируют к границе зоны Т/В-клеток, где они обеспечивают эффективную помощь селекционированным В-лимфоцитам. Это происходит независимо от экспрессии CD1d на В-клетках. TFH/В-клеточные взаимодействия индуцируют типичный TD-1-ответ с образованием GC, созреванием аффинности Ig и переключением изотипов иммуноглобулинов, а также генерацией долгоживущих PC и mB-клеток [109]. Дополнительно NKT-клетки способствуют формированию mT-клеток благодаря секреции IL-2, IL-4, BAFF и лиганда, индуцирующего пролиферацию (APRIL) [111]. Таким образом, неконтактная помощь NKT-клеток реализует адьювантную функцию, которая поддерживает адаптивные иммунные реакции (рис. 5).

Эндогенные липиды, которые могут распознавать NKT-клетки I типа, не принимают участия в патогенезе АФА. Однако если будет иметь место индукция экзогенными гликолипидами бактериальной природы, iNKT-клетки смогут выступать как в механизме когнатной, так и некогнатной помощи, но только для индукции противобелковых антител, например,  $\beta_2$ GPI. Остальные CD1d-рестриктированные Т-лимфоциты не могут быть индукторами, поскольку для них установлена только функциональная активность Th2, т.е. они могут лишь создавать цитокиновый фон для дифференцировки В-лимфоцитов.

Индукция АФА приводит к множественным патологическим реакциям, формирующим клиническую картину АФС. Основными антителами, запускающими патологический процесс, являются два патогенетически значимых типа иммуноглобулинов: критические и некритические. К критическим антителам относят ВА,



**Рис. 4.** Вероятный механизм индукции специфических анти- $\beta_2$ GPI-антител с участием NKTФН-клеток II типа (vNKTФН), реализующих контактный механизм помощи В-лимфоцитам. Взаимодействие кардиолипина с молекулой  $\beta_2$ GPI приводит к изменению конформации гликопротеина, делая доступным к распознаванию молекулами BCR один из его доменов. Специфически связываясь с В-клеткой (В-кл.), молекула  $\beta_2$ GPI, с одной стороны, запускает каскад активации В-лимфоцита, с другой – приводит к процессингу и презентации кардиолипина vNKTФН-клетке в комплексе с молекулой CD1d. Иммунный синапс, включающий пары рецептор–лиганд (TCR/фосфолипид CD1d; CD28/CD80 или CD40L/CD40), активирует vNKTФН-клетку, что приводит к секреции ею IFN- $\gamma$ , BAFF, APRIL и IL-21, которые наряду с когнатным взаимодействием способствуют трансформации В-лимфоцита в плазматическую клетку (PC) экстрафолликулярной зоны. В результате PC продуцирует и секретирует специфические анти- $\beta_2$ GPI-антитела. Клетки памяти (mB-кл.) при этом не образуются



**Рис. 5.** Вероятный механизм индукции специфических антител к белкам-мишеням при АФС с участием НКТfH-клеток II типа (vNKТfH), реализующих неконтактный механизм помощи В-лимфоцитам. Одновременное поглощение DC белковой (Pt) и фосфолипидной молекул приводит к презентации белкового антигена при помощи молекул МНС-II и фосфолипида в комплексе с молекулой CD1d, что активирует DC (секреция IL-12). При этом vNKТfH-клетка распознает фосфолипид совместно с молекулой CD1d, а TFH-клетка распознает секвенциальную белковую антигенную детерминанту в комплексе с молекулой МНС-II. Это приводит к активации обоих хелперов. Активированный антигеном (Pt) В-лимфоцит выступает в качестве дополнительной APC, с которой взаимодействует классический TFH. vNKТfH-клетка выступает в качестве усилителя, продуцируя цитокины, повышающие активацию адаптивного хелпера, который и оказывает помощь В-лимфоциту, переводя его в PC. Данный процесс осуществляется в GC, что создает условия для развития долговременного гуморального иммунного ответа и формирования В-клеток памяти (mB-кл.)

анти- $\beta_2$ GPI и антикардиолипиновые антитела, которые запускают каскад патологических реакций, формирующих симптомокомплекс АФС. К некритическим антителам относят анти-PS/протромбин, антивиментин/кардиолипин, анти-PT, анти-PS/PT [44], анти-C/S белки и множество других аутоантител, направленных против коагуляционных факторов и аннексинов [2]. Таким образом, все АФА связывают либо от-

дельные фосфолипиды, либо комплексы фосфолипид/белок, либо непосредственно запускают коагуляцию при контакте с аннексинами или факторами коагуляционного гемостаза. Чем больше антител, тем больше мишеней и, следовательно, активнее и быстрее протекает клиника АФС, вплоть до КАФС. В силу физико-химических особенностей TCR НКТ-клеток, именно их функциональные субтипы способны как рас-

познавать эндогенные фосфолипиды, так и оказывать непосредственную или опосредованную помощь в индукции АФА В-лимфоцитами, трансформируясь в НКТГН-клетки. Физиология НКТ-клеток II типа позволяет им реагировать на фосфолипиды клеточных мембран при стрессорных воздействиях (нефизиологические фосфолипиды) и быстро формировать цитокиновую сеть, активирующую гуморальные иммунные реакции, что определяет их аутоиммунный потенциал. Учитывая патогенез АФС, наиболее значимыми механизмами индукции АФА являются те, в которых принимают участие НКТ-клетки II типа. Другие CD1d-рестриктированные Т-лимфоциты могут помогать создавать полиморфизм клинической картины и отвечать за индукцию поливалентных антител к

некритическим молекулам-мишеням. По-видимому, индукция АФА может осуществляться с использованием всех приведенных механизмов или их некоторых сочетаний, что и будет определять тяжесть клинических проявлений АФС.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках госзадания № 01201353248 «Механизмы регуляции иммунной системы».

**Конфликт интересов.** Конфликт интересов в финансовой или какой-либо иной сфере отсутствует.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания выполненных автором исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Mehdi, A.A., Uthman, I., and Khamashta, M. (2010) Antiphospholipid syndrome: pathogenesis and a window of treatment opportunities in the future, *Eur. J. Clin. Invest.*, **40**, 451–464, doi: 10.1111/j.1365-2362.2010.02281.x.
- Arachchilage, D.R.J., and Laffan, M. (2017) Pathogenesis and management of antiphospholipid syndrome, *Br. J. Haematol.*, **178**, 1–15, doi: 10.1111/bjh.14632.
- Ruiz-Irastorza, G., Crowther, M., Branch, W., and Khamashta, M.A. (2010) Antiphospholipid syndrome, *Lancet*, **376**, 1498–1509, doi: 10.1016/S0140-6736(10)60709-X.
- Miyakis, S., Lockshin, M.D., Atsumi, T., Branch, D.W., Brey, R.L., Cervera, R., Derksen, R.H., de Groot, P.G., Koike, T., Meroni, P.L., Reber, G., Shoenfeld, Y., Tincani, A., Vlachoyiannopoulos, P.G., and Krilis, S.A. (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS), *J. Thromb. Haemost.*, **4**, 295–306, doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x.
- Willis, R., and Pierangeli, S.S. (2013) Anti- $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1285**, 44–58, doi: 10.1111/nyas.12080.
- Bas de Laat, H., Derksen, R.H., and de Groot, P.G. (2004)  $\beta$ 2-glycoprotein I, the playmaker of the antiphospholipid syndrome, *Clin. Immunol.*, **112**, 161–168, doi: 10.1016/j.clim.2004.02.012.
- Allen, K.L., Fonseca, F.V., Betapudi, V., Willard, B., Zhang, J., and McCrae, K.R. (2012) A novel pathway for human endothelial cell activation by antiphospholipid/anti- $\beta$ 2 glycoprotein I antibodies, *Blood*, **119**, 884–893, doi: 10.1182/blood-2011-03-344671.
- Sikara, M.P., Routsias, J.G., Samiotaki, M., Panayotou, G., Moutsopoulos, H.M., and Vlachoyiannopoulos, P.G. (2010)  $\beta$ 2 Glycoprotein I ( $\beta$ 2GPI) binds platelet factor 4 (PF4): implications for the pathogenesis of antiphospholipid syndrome, *Blood*, **115**, 713–723, doi: 10.1182/blood-2009-03-206367.
- Chamley, L.W., Allen, J.L., and Johnson, P.M. (1997) Synthesis of  $\beta$ 2 glycoprotein 1 by the human placenta, *Placenta*, **18**, 403–410, doi: 10.1016/S0143-4004(97)80040-9.
- Agar, C., van Os, G.M., Morgelin, M., Sprenger, R.R., Marquart, J.A., Urbanus, R.T., Derksen, R.H., Meijers, J.C., and de Groot, P.G. (2010)  $\beta$ 2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome, *Blood*, **116**, 1336–1343, doi: 10.1182/blood-2009-12-260976.
- Gardiner, C., Hills, J., Machin, S.J., and Cohen, H. (2013) Diagnosis of antiphospholipid syndrome in routine clinical practice, *Lupus*, **22**, 18–25, doi: 10.1177/0961203312460722.
- Vora, S.K., Asherson, R.A., and Erkan, D. (2006) Catastrophic antiphospholipid syndrome, *J. Intensive Care Med.*, **21**, 144–159, doi: 10.1007/s11420-008-9103-6.
- Cervera, R., Serrano, R., Pons-Estel, G.J., Cervera, R., Hualde, L., Shoenfeld, Y., de Ramon, E., Buonaiuto, V., Jacobsen, S., Zeher, M.M., Tarr, T., Tincani, A., Taglietti, M., Theodossiadis, G., Nomikou, E., Galeazzi, M., Bellisai, F., Meroni, P.L., Derksen, R.H., de Groot, P.G., Baleva, M., Mosca, M., Bombardieri, S., Houssiau, F., Gris, J.C., Quere, I., Hachulla, E., Vasconcelos, C., Fernandez-Nebro, A., Haro, M., Amoura, Z., Miyara, M., Tektonidou, M., Espinosa, G., Bertolaccini, M.L., and Khamashta, M.A. (2015) Euro-Phospholipid Project, morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients, *Ann. Rheum. Dis.*, **74**, 1011–1018, doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204838.
- Cuadrado, M.J., Lopez-Pedreira, C., Khamashta, M.A., Camps, M.T., Tinahones, F., Torres, A., Hughes, G.R., and Velasco, F. (1997) Thrombosis in primary antiphospholipid syndrome: a pivotal role for monocyte tissue factor expression, *Arthritis Rheum.*, **40**, 834–841, doi: 10.1002/1529-0131(199705)40:5<834::AID-ART8>3.0.CO;2-#.
- Breen, K.A., Seed, P., Parmar, K., Moore, G.W., Stuart-Smith, S.E., and Hunt, B.J. (2012) Complement activation in patients with isolated antiphospholipid antibodies or primary antiphospholipid syndrome, *Thromb. Haemost.*, **107**, 423–429, doi: 10.1160/TH11-08-0554.
- Colosanti, T., Alessandri, C., Capozzi, A., Sorice, M., Delunardo, F., Longo, A., Pierdominici, M., Conti, F., Truglia, S., Siracusano, A., Valesini, G., Ortona, E., and Margutti, P. (2012) Autoantibodies specific to a peptide of  $\beta$ 2-glycoprotein I cross-react with TLR4, inducing a proinflammatory phenotype in endothelial cells and monocytes, *Blood*, **120**, 3360–3370, doi: 10.1182/blood-2011-09-378851.
- Xia, L., Xie, H., Yu, Y., Zhou, H., Wang, T., and Yan, J. (2016) The effects of NF- $\kappa$ B and c-Jun/AP-1 on the

- expression of prothrombotic and proinflammatory molecules induced by anti- $\beta_2$ GPI in mouse, *PLoS One*, **11**, 1–17, doi: 10.1371/journal.pone.0147958.
18. Gropp, K., Weber, N., Reuter, M., Micklisch, S., Kopka, I., Hallstrom, T., and Skerka, C. (2011)  $\beta_2$ -glycoprotein I, the major target in antiphospholipid syndrome, is a special human complement regulator, *Blood*, **118**, 2774–2783, doi: 10.1182/blood-2011-02-339564.
  19. Fischetti, F., Durigutto, P., Pellis, V., Debeus, A., Macor, P., Bulla, R., Bossi, F., Ziller, F., Sblattero, D., Meroni, P., and Tedesco, F. (2005) Thrombus formation induced by antibodies to  $\beta_2$ -glycoprotein I is complement dependent and requires a priming factor, *Blood*, **106**, 2340–2346, doi: 10.1182/blood-2005-03-1319.
  20. Redecha, P., Tilley, R., Tencati, M., Salmon, J.E., Kirchhofer, D., Mackman, N., and Girardi, G. (2007) Tissue factor: a link between C5a and neutrophil activation in antiphospholipid antibody induced fetal injury, *Blood*, **110**, 2423–2431, doi: 10.1182/blood-2007-01-070631.
  21. Galli, M., Willems, G.M., Rosing, J., Janssen, R.M., Govers-Riemslog, J.W., Comfurius, P., Barbui, T., Zwaal, R.F., and Bevers, E.M. (2005) Anti-prothrombin IgG from patients with anti-phospholipid antibodies inhibits the inactivation of factor Va by activated protein C, *Br. J. Haematol.*, **129**, 240–247, doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05438.x.
  22. Ieko, M., Yoshida, M., Naito, S., Nakabayashi, T., Kanazawa, K., Mizukami, K., Mukai, M., Atsumi, T., and Koike, T. (2010) Increase in plasma thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor may not contribute to thrombotic tendency in antiphospholipid syndrome because of inhibitory potential of antiphospholipid antibodies toward TAFI activation, *Int. J. Hematol.*, **91**, 776–783, doi: 10.1007/s12185-010-0590-0.
  23. Lean, S.Y., Ellery, P., Ivey, L., Thom, J., Oostryck, R., Leahy, M., Baker, R.I., and Adams, M.J. (2006) The effects of tissue factor pathway inhibitor and anti- $\beta_2$ -glycoprotein-I IgG on thrombin generation, *Haematologica*, **91**, 1360–1366.
  24. Yunt, B.J., Wu, X.X., de Laat, B., Arslan, A.A., Stuart-Smith, S., and Rand, J.H. (2011) Resistance to annexin A5 anticoagulant activity in women with histories for obstetric antiphospholipid syndrome, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **205**, 485.e17–485.e23, doi: 10.1016/j.ajog.2011.06.019.
  25. Du, V.X., Kelchtermans, H., de Groot, P.G., and de Laat, B. (2013) From antibody to clinical phenotype, the black box of the antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanisms of the antiphospholipid syndrome, *Thromb. Res.*, **132**, 319–326, doi: 10.1016/j.thromres.2013.07.023.
  26. Romay-Penabad, Z., Montiel-Manzano, M.G., Shilagard, T., Papalardo, E., Vargas, G., Deora, A.B., Wang, M., Jacovina, A.T., Garcia-Latorre, E., Reyes-Maldonado, E., Hajjar, K.A., and Pierangeli, S.S. (2009) Annexin A2 is involved in antiphospholipid antibody-mediated pathogenic effects *in vitro* and *in vivo*, *Blood*, **114**, 3074–3083, doi: 10.1182/blood-2008-11-188698.
  27. Ulrich, V., Gelber, S.E., Vukelic, M., Sacharidou, A., Herz, J., Urbanus, R.T., de Groot, P.G., Natale, D.R., Harihara, A., Redecha, P., Abrahams, V.M., Shaul, P.W., Salmon, J.E., and Mineo, C. (2016) ApoE receptor 2 mediation of trophoblast dysfunction and pregnancy complications induced by antiphospholipid antibodies in mice, *Arthritis Rheumatol.*, **68**, 730–739, doi: 10.1002/art.39453.
  28. Pennings, M.T., van Lummel, M., Derksen, R.H., Urbanus, R.T., Romijn, R.A., Lenting, P.J., and de Groot, P.G. (2006) Interaction of  $\beta_2$ -glycoprotein I with members of the low density lipoprotein receptor family, *J. Thromb. Haemost.*, **4**, 1680–1690, doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02036.x.
  29. Satta, N., Kruihof, E.R., Fickentscher, C., Dunoyer-Geindre, S., Boehlen, F., Reber, G., Burger, D., and de Moerloose, P. (2011) Toll-like receptor 2 mediates the activation of human monocytes and endothelial cells by antiphospholipid antibodies, *Blood*, **117**, 5523–5531, doi: 10.1182/blood-2010-11-316158.
  30. Pierangeli, S.S., Vega-Ostertag, M.E., Raschi, E., Liu, X., Romay-Penabad, Z., De Micheli, V., Galli, M., Moja, M., Tincani, A., Borghi, M.O., Nguyen-Oghalai, T., and Meroni, P.L. (2007) Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: *in vivo* studies, *Ann. Rheum. Dis.*, **66**, 1327–1333, doi: 10.1136/ard.2006.065037.
  31. Urbanus, R.T., Pennings, M.T., Derksen, R.H., and de Groot, P.G. (2008) Platelet activation by dimeric  $\beta_2$ -glycoprotein I requires signaling via both glycoprotein Iba and apolipoprotein E receptor 2', *J. Thromb. Haemost.*, **6**, 1405–1412, doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03021.x.
  32. Tanimura, K., Jin, H., Suenaga, T., Morikami, S., Arase, N., Kishida, K., Hirayasu, K., Kohyama, M., Ebina, Y., Yasuda, S., Horita, T., Takasugi, K., Ohmura, K., Yamamoto, K., Katayama, I., Sasazuki, T., Lanier, L.L., Atsumi, T., Yamada, H., and Arase, H. (2015)  $\beta_2$ -Glycoprotein I/HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome, *Blood*, **125**, 2835–2844, doi: 10.1182/blood-2014-08-593624.
  33. Domenico Sebastiani, G., Minisola, G., and Galeazzi, M. (2003) HLA class II alleles and genetic predisposition to the antiphospholipid syndrome, *Autoimmun. Rev.*, **2**, 387–394, doi: 10.1016/S1568-9972(03)00068-5.
  34. Collins, T., Krman, A.J., Wake, C.T., Boss, J.M., Kappes, D.J., Fiers, W., Ault, K.A., Gimbrone, M.A., Jr., Strominger, J.L., and Pober, J.S. (1984) Immune interferon activates multiple class II major histocompatibility complex genes and the associated invariant chain gene in human endothelial cells and dermal fibroblasts, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 4917–4921, doi: 10.1073/pnas.81.15.4917.
  35. Girardi, G., Berman, J., Redecha, P., Spruce, L., Thurman, J.M., Kraus, D., Hollmann, T.J., Casali, P., Carroll, M.C., Wetsel, R.A., Lambris, J.D., Holers, V.M., and Salmon, J.E. (2003) Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome, *J. Clin. Invest.*, **112**, 1644–1654, doi: 10.1172/JCI18817.
  36. Kasahara, H., Matsuura, E., Kaihara, K., Yamamoto, D., Kobayashi, K., Inagaki, J., Ichikawa, K., Tsutsumi, A., Yasuda, S., Atsumi, T., Yasuda, T., and Koike, T. (2005) Antigenic structures recognized by anti- $\beta_2$ -glycoprotein I auto-antibodies, *Int. Immunol.*, **17**, 1533–1542, doi: 10.1093/intimm/dxh330.
  37. Xia, L., Zhou, H., Hu, L., Xie, H., Wang, T., Xu, Y., Liu, J., Zhang, X., and Yan, J. (2013) Both NF- $\kappa$ B and c-Jun/AP-1 involved in anti- $\beta_2$ GPI/ $\beta_2$ GPI-induced tissue factor expression in monocytes, *Thromb. Haemost.*, **109**, 643–651, doi: 10.1160/TH12-09-0655.
  38. Mackman, N. (1995) Regulation of the tissue factor gene, *FASEB J.*, **9**, 883–889, doi: 10.1096/fasebj.9.10.7615158.
  39. Boles, J., and Mackman, N. (2010) Role of tissue factor in thrombosis in antiphospholipid antibody syndrome, *Lupus*, **19**, 370–378, doi: 10.1177/0961203309360810.
  40. Vega-Ostertag, M., Harris, E.N., and Pierangeli, S.S. (2004) Intercellular events in platelet activation induced by antiphospholipid antibodies in the presence of low doses of thrombin, *Arthritis Rheum.*, **50**, 2911–2919, doi: 10.1002/art.20434.
  41. Vega-Ostertag, M., Casper, K., Swerlick, R., Ferrara, D., Harris, E.N., and Pierangeli, S.S. (2005) Involvement of p38 MAPK in the up-regulation of tissue factor on endothelial cells by antiphospholipid antibodies, *Arthritis Rheum.*, **52**, 1545–1554, doi: 10.1002/art.21009.
  42. Zhou, H., Sheng, L., Wang, H., Xie, H., Mu, Y., Wang, T., and Yan, J. (2013) Anti- $\beta_2$ GPI/ $\beta_2$ GPI stimulates activa-

- tion of THP-1 cells through TLR4/MD-2/MyD88 and NF- $\kappa$ B signaling pathways, *Thromb. Res.*, **132**, 742–749, doi: 10.1016/j.thromres.2013.09.039.
43. Canaud, G., Bienaime, F., Tabarin, F., Bataillon, G., Seilhean, D., Noel, L.H., Dragon-Durey, M.A., Snaoujdj, R., Friedlander, G., Halbwachs-Mecarelli, L., Legendre, C., and Terzi, F. (2014) Inhibition of the mTORC pathway in the antiphospholipid syndrome, *N. Engl. J. Med.*, **371**, 303–312, doi: 10.1056/NEJMoa1312890.
  44. Sciascia, S., Sanna, G., Murru, V., Roccatello, D., Khamashta, M.A., and Bertolaccini, M.L. (2014) Anti-prothrombin (aPT) and antiphosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. A systematic review, *Thromb. Haemost.*, **111**, 354–364, doi: 10.1160/TH13-06-0509.
  45. Gharavi, A.E., Wilson, W., and Pierangeli, S. (2003) The molecular basis of antiphospholipid syndrome, *Lupus*, **12**, 579–583, doi: 10.1191/0961203303lu448rr.
  46. Blank, M., Krause, I., Fridkin, M., Keller, N., Kopolovic, J., Goldberg, I., Tobar, A., and Shoefeld, Y. (2002) Bacterial induction of autoantibodies to  $\beta_2$ -glycoprotein-I accounts for the infectious etiology of antiphospholipid syndrome, *J. Clin. Invest.*, **109**, 797–804, doi: 10.1172/JCI12337.
  47. Miyakis, S., Giannakopoulos, B., and Krilis, S.A. (2004) Beta 2 glycoprotein I – function in health and disease, *Thromb. Res.*, **114**, 335–346, doi: 10.1016/j.thromres.2004.07.017.
  48. Iverson, G.M., Victoria, E.J., and Marquis, D.M. (1998) Anti- $\beta_2$  glycoprotein I ( $\beta_2$ GPI) autoantibodies recognize an epitope on the first domain of  $\beta_2$ GPI, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 15542–15546.
  49. Andreoli, L., Chighizola, C.B., Nalli, C., Gerosa, M., Borghi, M.O., Pregolato, F., Grossi, C., Zanola, A., Allegri, F., Norman, G.L., Mahler, M., Meroni, P.L., and Tincani, A. (2015) Clinical characterization of antiphospholipid syndrome by detection of IgG antibodies against  $\beta_2$ -glycoprotein I domain I and domain 4/5: ratio of anti-domain I to anti-domain 4/5 as a useful new biomarker for antiphospholipid syndrome, *Arthritis Rheumatol.*, **67**, 2196–2204, doi: 10.1002/art.39187.
  50. Agostinis, C., Durigutto, P., Sblattero, D., Borghi, M.O., Grossi, C., Guida, F., Bulla, R., Macor, P., Pregolato, F., Meroni, P.L., and Tedesco, F. (2014) A non-complement-fixing antibody to  $\beta_2$  glycoprotein I as a novel therapy for antiphospholipid syndrome, *Blood*, **123**, 3478–3487, doi: 10.1182/blood-2013-11-537704.
  51. Iannou, Y., Romay-Penabad, Z., Pericleous, C., Giles, I., Papalardo, E., Vargas, G., Shilagard, T., Latchman, D.S., Isenberg, D.A., Rahman, A., and Pierangeli S. (2009) *In vivo* inhibition of antiphospholipid antibody-induced pathogenicity utilizing the antigenic target peptide domain I of  $\beta_2$ -glycoprotein I: proof of concept, *J. Thromb. Haemost.*, **7**, 833–842, doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03316.x.
  52. Harris, E.N., Gharavi, A.E., Patel, S.P., and Hughes, G.R.V. (1987) Evaluation of the anti-cardiolipin antibody test: report of an international workshop held 4 April 1986, *Clin. Exp. Immunol.*, **68**, 215–222.
  53. Gharavi, A.E., Harris, E.N., Asherson, R.A., and Hughes, G.R.V. (1987) Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity, *Ann. Rheum. Dis.*, **46**, 1–6, doi: 10.1136/ard.46.1.1.
  54. Loizou, S., Mackworth-Young, C.G., Cofiner, C., and Walport, M.J. (1990) Heterogeneity of binding reactivity to different phospholipids of antibodies from patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and with syphilis, *Clin. Exp. Immunol.*, **80**, 171–176, doi: 10.1111/j.1365-2249.1990.tb05228.x.
  55. Vinuesa, C.G., and Chang, P.P. (2013) Innate B cell helpers reveal novel types of antibody responses, *Nat. Immunol.*, **14**, 119–126, doi: 10.1038/ni.2511.
  56. Ansel, K.M., Ngo, V.N., Hyman, P.L., Luther, S.A., Forster, R., Sedgwick, J.D., Browning, J.L., Lipp, M., and Cyster, J.G. (2000) A chemokine-driven positive feedback loop organizes lymphoid follicles, *Nature*, **406**, 309–314, doi: 10.1038/35018581.
  57. Gunn, M.D., Tangemann, K., Tam, C., Cyster, J.G., Rosen, S.D., and Williams, L.T. (1998) A chemokine expressed in lymphoid high endothelial venules promotes the adhesion and chemotaxis of naive T lymphocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 258–263, doi: 10.1073/pnas.95.1.258.
  58. Batista, F.D., and Harwood, N.E. (2009) The who, how and where of antigen presentation to B cells, *Nat. Rev. Immunol.*, **9**, 15–27, doi: 10.1038/nri2454.
  59. Ebert, L.M., Horn, M.P., Lang, A.B., and Moser, B. (2004) B cells alter the phenotype and function of follicular-homing CXCR5<sup>+</sup> T cells, *Eur. J. Immunol.*, **34**, 3562–3571, doi: 10.1002/eji.200425478.
  60. Celli, S., Lemaître, F., and Bousso, P. (2007) Real-time manipulation of T cell-dendritic cell interactions *in vivo* reveals the importance of prolonged contacts for CD4<sup>+</sup> T cell activation, *Immunity*, **27**, 625–634, doi: 10.1016/j.immuni.2007.08.018.
  61. Fazilleau, N., McHeyzer-Williams, L.J., Rosen, H., and McHeyzer-Williams, M.G. (2009) The function of follicular helper T cells is regulated by the strength of T cell antigen receptor binding, *Nat. Immunol.*, **10**, 375–384, doi: 10.1038/ni.1704.
  62. Walker, L.S., Gulbranson-Judge, A., Flynn, S., Brocker, T., Raykundalia, C., Goodall, M., Forster, R., Lipp, M., and Lane, P. (1999) Compromised OX40 function in CD28-deficient mice is linked with failure to develop CXC chemokine receptor 5-positive CD4 cells and germinal centers, *J. Exp. Med.*, **190**, 1115–1122, doi: 10.1084/jem.190.8.1115.
  63. Okada, T., Miller, M.J., Parker, I., Krummel, M.F., Neighbors, M., Hartley, S.B., O'Garra, A., Cahalan, M.D., and Cyster, J.G. (2005) Antigen-engaged B cells undergo chemotaxis toward the T zone and form motile conjugates with helper T cells, *PLoS Biol.*, **3**, e150, doi: 10.1371/journal.pbio.0030150.
  64. McHeyzer-Williams, L.J., Pelletier, N., Mark, L., Fazilleau, N., and McHeyzer-Williams, M.G. (2009) Follicular helper T cells as cognate regulators of cell immunity, *Curr. Opin. Immunol.*, **21**, 266–273, doi: 10.1016/j.coi.2009.05.010.
  65. Johnston, R.J., Poholek, A.C., DiToro, D., Yusuf, I., Eto, D., Barnett, B., Dent, A.L., Craft, J., and Crotty, S. (2009) Bcl6 and Blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper cell differentiation, *Science*, **325**, 1006–1010, doi: 10.1126/science.1175870.
  66. Suan, D., Nguyen, A., Moran, I., Bourne, K., Hermes, J.R., Arshi, M., Hampton, H.R., Tomura, M., Miwa, Y., Kelleher, A.D., Kaplan, W., Deenick, E.K., Tangye, S.G., Brink, R., Chtanova, T., and Phan, T.G. (2015) T follicular helper cells have distinct modes of migration and molecular signatures in naive and memory immune responses, *Immunity*, **42**, 704–718, doi: 10.1016/j.immuni.2015.03.002.
  67. Klein, U., and Dalla-Favera, R. (2008) Germinal centers: role in B-cell physiology and malignancy, *Nat. Rev. Immunol.*, **8**, 22–33, doi: 10.1038/nri2217.
  68. Victora, G.D., and Nussenzweig, M.C. (2012) Germinal centers, *Annu. Rev. Immunol.*, **30**, 429–457, doi: 10.1146/annurev.iy.12.040194.001001.
  69. Gitlin, A.D., Shulman, Z., and Nussenzweig, M.C. (2014) Clonal selection in the germinal centre by regulated proliferation and hypermutation, *Nature*, **509**, 637–640, doi: 10.1038/nature13300.



70. Crotty, S. (2011) Follicular helper CD4 T cells (TFH), *Annu. Rev. Immunol.*, **29**, 621–663, doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101400.
71. Dufaud, C.R., McHeyzer-Williams, L.J., and McHeyzer-Williams, M.G. (2017) Deconstructing the germinal center, one cell at a time, *Curr. Opin. Immunol.*, **45**, 112–118, doi: 10.1016/j.coi.2017.03.007.
72. Allen, C.D.C., Okada, T., Tang, H.L., and Cyster, J.G. (2007) Imaging of germinal center selection events during affinity maturation, *Science*, **315**, 528–531, doi: 10.1126/science.1136736.
73. Shapiro-Shelef, M., and Calame, K. (2005) Regulation of plasma-cell development, *Nat. Rev. Immunol.*, **5**, 230–242, doi: 10.1038/nri1572.
74. Mendez, L.M., Polo, J.M., Yu, J.J., Krupski, M., Ding, B.B., Melnick, A., and Ye, B.H. (2008) CtBP is an essential corepressor for BCL6 autoregulation, *Mol. Cell. Biol.*, **28**, 2175–2186, doi: 10.1128/MCB.01400-07.
75. Shapiro-Shelef, M., Lin, K.I., McHeyzer-Williams, L.J., Liao, J., McHeyzer-Williams, M.G., and Calame, K. (2003) Blimp-1 is required for the formation of immunoglobulin secreting plasma cells and pre-plasma memory B cells, *Immunity*, **19**, 607–620, doi: 10.1016/S1074-7613(03)00267-X.
76. Reinhardt, R., Liang, H., and Locksley, R. (2009) Cytokine-secreting follicular T cells shape the antibody repertoire, *Nat. Immunol.*, **10**, 385–393, doi: 10.1038/ni.1715.
77. Scaerli, P., Willmann, K., Lang, A.B., Lipp, M., Loetscher, P., and Moser, B. (2000) CXC chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function, *J. Exp. Med.*, **192**, 553–562, doi: 10.1084/jem.192.11.1553.
78. Good-Jacobson, K.L., Szumilas, C.G., Chen, L., Sharpe, A.H., Tomayko, M.M., and Shlomchik, M.J. (2010) PD-1 regulates germinal center B cell survival and the formation and affinity of long-lived plasma cells, *Nat. Immunol.*, **11**, 535–542, doi: 10.1038/ni.1877.
79. Linterman, M.A., Beaton, L., Yu, D., Ramiscal, R.R., Srivastava, M., Hogan, J.J., Verma, N.K., Smyth, M.J., Rigby, R.J., and Vinuesa, C.G. (2010) IL-21 acts directly on B cells to regulate Bcl-6 expression and germinal center responses, *J. Exp. Med.*, **207**, 353–363, doi: 10.1084/jem.20091738.
80. Bendelac, A., Savage, P.B., and Teyton, L. (2007) The biology of NKT cells, *Annu. Rev. Immunol.*, **25**, 297–336, doi: 10.1146/annurev-immunol.25.022106.141711.
81. Morita, M., Natori, T., Sakai, T., Sawa, E., Yamaji, K., Koezuka, Y., Kobayashi, E., and Fukushima, H. (1995) Structure-activity relationship of  $\alpha$ -galactosylceramides against B16-bearing mice, *J. Med. Chem.*, **38**, 2176–2187, doi: 10.1021/jm00012a018.
82. Kawano, T., Cui, J., Koezuka, Y., Toura, I., Kaneko, Y., Motoki, K., Ueno, H., Nakagawa, R., Sato, H., Kondo, E., Koseki, H., and Taniguchi, M. (1997) CD1d-restricted and TCR-mediated activation of  $\alpha$ 14 NKT cells by glycosylceramides, *Science*, **278**, 1626–1629, doi: 10.1126/science.278.5343.1626.
83. Barral, D.C., and Brenner, M.B. (2007) CD1 antigen presentation: how it works, *Nat. Rev. Immunol.*, **7**, 929–941, doi: 10.1038/nri2191.
84. Godfrey, D.I., Rossjohn, J., and McCluskey, J. (2008) The fidelity, occasional promiscuity, and versatility of T cell receptor recognition, *Immunity*, **28**, 304–314, doi: 10.1016/j.immuni.2008.02.004.
85. Brossay, L., Chioda, M., Burdin, N., Koezuka, Y., Casorati, G., Dellabona, P., and Kronenberg, M. (1998) CD1d-mediated recognition of an  $\alpha$ -galactosylceramide by natural killer T cells highly conserved through mammalian evolution, *J. Exp. Med.*, **188**, 1521–1528, doi: 10.1084/jem.188.8.1521.
86. De Libero, G., and Mori, L. (2006) Mechanisms of lipid-antigen generation and presentation to T cells, *Trends Immunol.*, **27**, 485–492, doi: 10.1016/j.it.2006.08.001.
87. Macho-Fernandez, E., and Brigl, M. (2015) The extended family of CD1d-restricted NKT cells: sifting through a mixed bag of TCRs, antigens, and functions, *Front. Immunol.*, **6**, 1–19, doi: 10.3389/fimmu.2015.00362.
88. Kronenberg, M. (2005) Toward an understanding of NKT cell biology: progress and paradoxes, *Annu. Rev. Immunol.*, **23**, 877–900, doi: 10.1146/annurev-immunol.23.021704.115742.
89. Fais, F., Morabito, F., Stelitano, C., Callea, V., Zanardi, S., Scudeletti, M., Varese, P., Ciccone, E., and Grossi, C.E. (2004) CD1d is expressed on B-chronic lymphocytic leukemia cells and mediates  $\alpha$ -galactosylceramide presentation to natural killer T lymphocytes, *Int. J. Cancer*, **109**, 402–411, doi: 10.1002/ijc.11723.
90. Boyson, J.E., Rybalov, B., Koopman, L.A., Exley, M., Balk, S.P., Racke, F.K., Schatz, F., Masch, R., Wilson, S.B., and Strominger, J.L. (2002) CD1d and invariant NKT cells at the human maternal-fetal interface, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 13741–13746, doi: 10.1073/pnas.162491699.
91. Barral, P., Exkl-Dorna, J., Harwood, N.E., De Santo, C., Salio, M., Illarionov, P., Besra, G.S., Cerundolo, V., and Batista, F.D. (2008) B cell receptor-mediated uptake of CD1d-restricted antigen augments antibody responses by recruiting invariant NKT cell help *in vivo*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 8345–8350, doi: 10.1073/pnas.0802968105.
92. Leadbetter, E.A., Brigl, M., Illarionov, P., Cohen, N., Luteran, M.C., Pillai, S., Besra, G.S., and Brenner, M.B. (2008) NK T cells provide lipid antigen-specific cognate help for B cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 8339–8344, doi: 10.1073/pnas.0801375105.
93. Dellabona, P., Abrignani, S., and Casorati, G. (2014) iNKT-cell help to B cells: a cooperative job between innate and adaptive immune responses, *Eur. J. Immunol.*, **44**, 2230–2237, doi: 10.1002/eji.201344399.
94. Vomhof-DeKrey, E.E., Yates, J., and Leadbetter, E.A. (2014) Invariant NKT cells provide innate and adaptive help for B cells, *Curr. Opin. Immunol.*, **28**, 12–17, doi: 10.1016/j.coi.2014.01.007.
95. Chang, P.P., Barral, P., Fitch, J., Pratama, A., Ma, C.S., Kallies, A., Hogan, J.J., Cerundolo, V., Tangye, S.G., Bittman, R., Nutt, S.L., Brink, R., Godfrey, D.I., Batista, F.D., and Vinuesa, C.G. (2012) Identification of Bcl-6-dependent follicular helper NKT cells that provide cognate help for B cell responses, *Nat. Immunol.*, **13**, 35–43, doi: 10.1038/ni.2166.
96. King, I.L., Fortier, A., Tighe, M., Dibble, J., Watts, G.F., Veerapen, N., Haberman, A.M., Besra, G.S., Mohrs, M., Brenner, M.B., and Leadbetter, E.A. (2012) Invariant natural killer T cells direct B cell responses to cognate lipid antigen in an IL-21-dependent manner, *Nat. Immunol.*, **13**, 44–50, doi: 10.1038/ni.2172.
97. Mattner, J., Savage, P.B., Leung, P., Oertelt, S.S., Wang, V., Trivedi, O., Scanlon, S.T., Pendem, K., Teyton, L., Hart, J., Ridgway, W.M., Wicker, L.S., Gershwin, M.E., and Bendelac, A. (2008) Liver autoimmunity triggered by microbial activation of natural killer T cells, *Cell Host Microbe*, **3**, 304–315, doi: 10.1016/j.chom.2008.03.009.
98. Fujii, S., Shimizu, K., Smith, C., Bonifaz, L., and Steinman, R.M. (2003) Activation of natural killer T cells by  $\alpha$ -galactosylceramide rapidly induces the full maturation of dendritic cells *in vivo* and thereby acts as an adjuvant for combined CD4 and CD8 T cell immunity to a coadministered protein, *J. Exp. Med.*, **198**, 267–279, doi: 10.1084/jem.20030324.
99. Nair, S., Boddupalli, C.S., Verma, R., Liu, J., Yang, R., Pastores, G.M., Mistry, P.K., and Dhodapkar, M.V. (2015) Type II NKT-TFH cells against Gaucher lipids regulate

- B-cell immunity and inflammation, *Blood*, **125**, 1256–1271, doi: 10.1182/blood-2014-09-600270.
100. Mistry, P.K., Taddei, T., von Dahl, S., and Rosenblom, B.E. (2013) Gaucher disease and malignancy: a model for cancer pathogenesis in an inborn error of metabolism, *Crit. Rev. Oncol.*, **18**, 235–246, doi: 10.1615/CritRevOncog.2013006145.
  101. Zeng, S.G., Ghnewa, Y.G., O'Reilly, V.P., Lyons, V.G., Atzberger, A., Hogan, A.E., Exley, M.A., and Doherty, D.G. (2013) Human invariant NKT cell subsets differentiation, antibody production, and T cell stimulation by B cells *in vitro*, *J. Immunol.*, **191**, 1666–1676, doi: 10.4049/jimmunol.1202223.
  102. Exley, M.A., Tahir, S.M., Cheng, O., Shaulov, A., Joyce, R., Avigan, D., Sackstein, R., and Balk, S.P. (2001) A major fraction of human bone marrow lymphocytes are Th2-like CD1d-reactive T cells that can suppress mixed lymphocyte responses, *J. Immunol.*, **167**, 5531–5534, doi: 10.4049/jimmunol.167.10.5531.
  103. Gumperz, J.E., Roy, C., Makowska, A., Lum, D., Sugita, M., Podrebarac, T., Koezukan, Y., Porcelli, S.A., Cardell, S., Brenner, M.B., and Behar, S.M. (2000) Murine CD1d-restricted T cell recognition of cellular lipids, *Immunity*, **12**, 211–221, doi: 10.1016/S1074-7613(00)80174-0.
  104. Zhao, J., Weng, X., Bagchi, S., and Wang, C.R. (2014) Polyclonal type II natural killer T cells require PLZF and SAP for their development and contribute to CpG-mediated antitumor response, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 2674–2679, doi: 10.1073/pnas.1323845111.
  105. Weng, X., Liao, C.M., Bagchi, S., Cardell, S.L., Stein, P.L., and Weng, C.R. (2014) The adaptor protein SAP regulates type II NKT cell development, cytokine production and cytotoxicity against lymphoma, *Eur. J. Immunol.*, **44**, 3634–3657, doi: 10.1002/eji.201444848.
  106. Sallo, M., Silk, J.D., Jones, E.Y., and Cerundolo, V. (2014) Biology of CD1-and MR1-restricted T cells, *Annu. Rev. Immunol.*, **32**, 323–366, doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120243.
  107. Liu, K., Idoyaga, J., Charalambous, A., Fujii, S., Bonito, A., Mordoh, J., Wainstok, R., Bai, X.F., Liu, Y., and Steinman, R.M. (2005) Innate NKT lymphocytes confer superior adaptive immunity via tumor-capturing dendritic cells, *J. Exp. Med.*, **202**, 1507–1516, doi: 10.1084/jem.20050956.
  108. Allan, L.L., Hoefl, K., Zheng, D.J., Chung, B.K., Kozak, F.K., Tan, R., and van den Elzen, P. (2009) Apolipoprotein-mediated lipid antigen presentation in B cells provides a pathway for innate help by NKT cells, *Blood*, **114**, 2411–2416, doi: 10.1182/blood-2009-04-211417.
  109. Tonti, E., Galli, G., Malzone, C., Abrignani, S., Casorati, G., and Dellabona, P. (2009) NKT-cell help to B lymphocytes can occur independently of cognate interaction, *Blood*, **113**, 370–376, doi: 10.1182/blood-2008-06-166249.
  110. King, I.L., Amiel, E., Tighe, M., Mohrs, K., Veerapen, N., Besra, G., Mohrs, M., and Leadbetter, E.A. (2013) The mechanism of splenic invariant NKT cell activation dictates localization *in vivo*, *J. Immunol.*, **191**, 572–582, doi: 10.4049/jimmunol.1300299.
  111. Shah, H.B., Joshi, S.K., Rampuria, P., Devera, T.S., Lang, G.A., Stohl, W., and Lang, M.L. (2013) BAFF- and APRIL-dependent maintenance of antibody titers after immunization with T-dependent antigen and CD1d-binding ligand, *J. Immunol.*, **191**, 1154–1163, doi: 10.4049/jimmunol.1300263.

## MECHANISMS OF THE INDUCTION OF ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME. ROLE OF NKT CELLS

S. V. Shirshv

*Perm Federal Research Center, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,  
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
614081 Perm, Russia; E-mail: shirshv@iegm.ru*

Received March 4, 2019

Revised June 3, 2019

Accepted June 3, 2019

The mechanisms of the potential participation of natural killer T cells (NKT) in the induction of antiphospholipid antibodies, which play a major pathogenetic role in the formation of antiphospholipid syndrome, are reviewed. Based on the literature data, the pathogenesis of antiphospholipid syndrome and modern aspects of antibody formation involving follicular helper NKT cells of type II are considered. Several potential mechanisms underlying participation of NKT cells in the induction of antiphospholipid antibodies are presented.

**Keywords:** antiphospholipid syndrome, antiphospholipid antibodies, NKT-cells, B-lymphocytes, humoral immune response