

УДК 616.8;612.017

СЕМАФОРИН 3А В ИММУННОЙ СИСТЕМЕ: ДВАДЦАТЬ ЛЕТ ИЗУЧЕНИЯ

Обзор

© 2022 Е.П. Киселева^{1,2*}, К.В. Рутто¹

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,
197376 Санкт-Петербург, Россия; электронная почта: ekissele@yandex.ru

² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова,
195067 Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 19.02.2022

После доработки 15.05.2022

Принята к публикации 17.05.2022

Семафорин 3А – секретируемый гликопротеин, который первоначально был описан в нервной системе как фактор, направляющий рост аксонов, но он также является и иммунорегуляторным фактором. В обзоре приводится систематический анализ всех публикаций, имеющихся в доступной литературе за последние 20 лет, в которых изучалось действие семафорина 3А на Т-лимфоциты, миелоидные дендритные клетки и макрофаги. Детально описана экспрессия рецепторов семафорина 3А – нейропилина-1 и плексинов А-класса – на этих клетках. Данные, полученные на клетках человека и мыши, рассмотрены в сравнительном аспекте. Впервые представлена подробная характеристика действия семафорина 3А на клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы. Основной точкой приложения действия семафорина 3А является изменение цитоскелета и морфологии клетки, посредством чего осуществляется регуляция процессов миграции, адгезии и межклеточной кооперации клеток иммунной системы. Этот фактор контролирует различные этапы иммунного ответа, включающие фазу инициации иммунного ответа, презентацию антигена, функционирование эффекторных Т-клеток, фазу воспаления, активацию и поляризацию макрофагов. В последние годы интерес к семафорину 3А значительно возрос, поскольку было установлено, что он участвует в патогенезе многих заболеваний человека и может быть использован для их лечения в эксперименте. Изучение иммунорегуляторного действия семафорина 3А имеет важное значение, поскольку этот фактор и его рецепторы можно рассматривать в качестве перспективных мишеней для создания новых средств терапии аутоиммунных, аллергических и онкологических заболеваний.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: семафорин 3А, нейропилин-1, плексин, Т-лимфоциты, дендритные клетки, макрофаги.

DOI: 10.31857/S0320972522060057, **EDN:** AUERQN

ВВЕДЕНИЕ

Первая работа по иммунорегуляторному действию семафорина 3А была опубликована чуть более 20 лет назад – в 2001 г. [1]. С тех пор этот фактор прочно занял одно из главных мест

среди так называемых иммунных семафоринов. За последние 10 лет интерес к этому белку значительно возрос: по данным базы PubMed ежегодно публикуется более 60 статей по семафорину 3А и более 120 – по его рецептору нейропилину-1 (Nrp-1). Повышенное внимание к этому фактору объясняется тем, что он участвует в патогенезе аутоиммунных, аллергических, а также онкологических заболеваний и может быть успешно использован для их лечения в эксперименте [2–4].

Семафорин 3А – гликопротеин, секретируемый многими клетками человеческого организма. С точки зрения иммунолога, это очень необычный фактор. Он является одновременно

Принятые сокращения: Ig-домен – иммуноглобулин-подобный домен; HGF – фактор роста гепатоцитов; KGF – фактор роста кератиноцитов; LPS – липополисахарид; M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор; Nrp-1 – нейропилин-1; PlexA – плексин класса А; PSI-домен – плексин-семафорин-интегриновый домен; Sema-домен – семафорин-интегриновый домен; TGF-β – трансформирующий фактор роста β; TLR – толл-подобный рецептор.

* Адресат для корреспонденции.

и нейрональным, и иммунорегуляторным фактором, а кроме того, проявляет ещё и анти-ангиогенную активность. Одной из характерных особенностей семафорина 3А является его способность оказывать хеморепеллентное воздействие, при котором направленная миграция клеток происходит по отрицательному градиенту, т.е. в противоположную сторону от фактора.

Строение и характер функционирования семафорина 3А также заметно отличаются от других известных иммунорегуляторных молекул. Например, семафорин 3А имеет сходство в строении со своим рецептором, плексином, что предполагает их общее происхождение в эволюции. Для взаимодействия с клеткой семафорину 3А необходим не один, а два рецептора, объединённые в единый функциональный комплекс, голорецептор, в котором один из рецепторов – Nrp-1, связывает лиганд, а другой – плексин А-класса, осуществляет проведение сигнала.

Сигнальные пути тоже достаточно уникальны, поскольку плексин является единственным рецептором, содержащим GAP-домен. Он взаимодействует с G-белками, в результате чего осуществляется регуляция адгезии, миграции, пролиферации или выживания различных клеток.

В литературе можно найти немало обзорных публикаций, касающихся иммунорегуляторного действия семафорина 3А, однако одни из них посвящены семафоринам разных клас-

сов и рассматривают данный фактор довольно кратко [5–7], другие – описывают роль семафорина 3А в условиях патологии [2, 3], третьи – представляют данные только по его рецептору Nrp-1 [8, 9].

Настоящий обзор впервые целиком посвящён одному фактору – семафорину 3А и его главным образом физиологической роли в иммунной системе. Приводится систематический анализ всех публикаций, имеющихся в доступной литературе, в которых было изучено влияние семафорина 3А на Т-лимфоциты, миелоидные дендритные клетки и макрофаги. Детально описана экспрессия рецепторов семафорина 3А на этих клетках. Данные, полученные на клетках человека и мыши, рассмотрены в сравнительном аспекте. Впервые представлена подробная характеристика действия семафорина 3А на клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы.

КЛАССИФИКАЦИЯ

Семафорин 3А принадлежит к большому семейству семафоринов (колапсинамов), состоящему из 30 гликопротеинов, подразделяемых на 8 классов [5]. Первые два класса (1–2) обнаружены у беспозвоночных, классы 3–7 – у позвоночных (рыб, птиц, земноводных и млекопитающих), а V – представляет собой отдельный класс вирусных семафоринов. Семафорины не

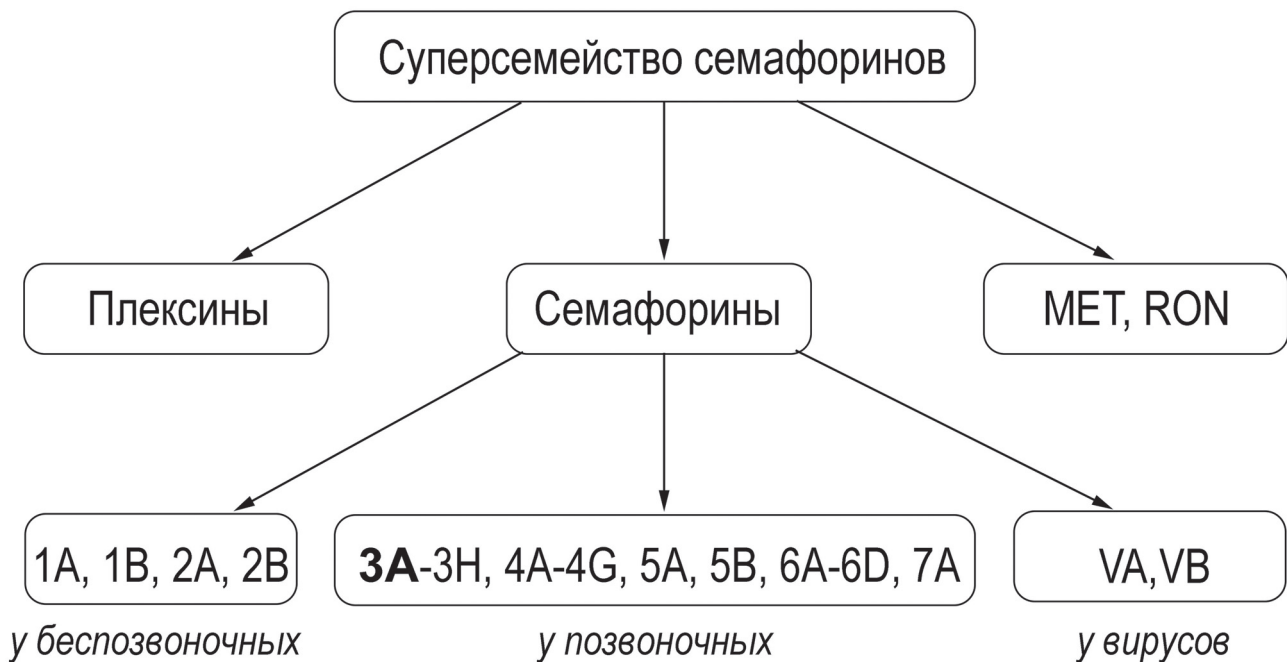


Рис. 1. Классификация семафоринов

встречаются у одноклеточных эукариот и прокариот.

Основным отличительным признаком семафоринов является наличие на *N*-конце молекулы высококонсервативного семафоринового домена (Sema-домена), который также имеется в составе плексинов (рецепторов семафоринов) и двух тирозинкиназных рецепторов MET и RON, являющихся рецепторами ростовых факторов — фактора роста гепатоцитов (HGF) и HGF-подобного фактора (HGF1) соответственно. Все три семейства белков (семафорины, плексины, а также MET и RON) образуют суперсемейство семафоринов (рис. 1).

Если *N*-концевая часть у всех семафоринов схожа по строению, то *C*-конец молекулы значительно различается, и от его строения зависит возможность связывания с клеточной мембраной. Семафорины могут быть секреторируемыми, трансмембранными или заякоренными на плазматической мембране.

Семафорины 3-класса отличаются от всех других семафоринов у позвоночных тем, что они являются секреторируемыми и имеют на *C*-конце молекулы основной, положительно заряженный, домен. Известно 7 белков 3-класса (3A–3H), из которых наиболее хорошо изучен семафорин 3A.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И СТРОЕНИЕ

Семафорины 3-класса были первоначально описаны как факторы, регулирующие направление роста аксонов. В 1990 г. из мозга эмбриона цыпленка был выделен белок, который вызывал коллапс конусов роста нейронов в культуре, он получил название коллапсин-1 [10] и позднее был переименован в семафорин 3A.

Семафорин 3A представляет собой гомодимер, состоящий из мономеров с молекулярной массой 110 кДа, имеющих мультидоменное строение. Каждый мономер состоит из 4 доменов.

На *N*-конце молекулы семафорина 3A, как и у всех семафоринов, имеется Sema-домен. Он состоит из 500 аминокислот, имеет форму 7-лопастного β -пропеллера, богат дисульфидными связями. Топологическая структура в виде β -пропеллера широко распространена среди различных внеклеточных и цитозольных белков, однако β -пропеллер семафоринов является самой большой из известных молекул подобного рода.

Рядом с Sema-доменом расположен небольшой богатый цистеином плексин-семафорин-интегриновый (PSI) домен, за которым следует иммуноглобулиноподобный (Ig) домен. На *C*-конце молекулы находится основной (basic) домен.

Sema-домен важен для передачи сигнала и биологической специфичности семафорина, связанные дисульфидным мостиком Ig-домены физически стабилизируют гомодимерную молекулу, а *C*-конец определяет сродство к рецептору — Nrp-1 [3, 5, 6].

РЕЦЕПТОРЫ СЕМАФОРИНА 3A

Семафорин 3A взаимодействует с клетками через функциональный рецепторный комплекс, состоящий из Nrp-1 и плексина класса A (PlexA).

Nrp-1 (CD304) — трансмембранный белок с молекулярной массой 120–130 кДа. Внеклеточная часть нейропиллина-1 содержит два комплементсвязывающих домена — a1/a2 (CUB-домен), два домена, гомологичных факторам свёртывания V/VIII — b1/b2, и с-домен (MAM, меприн) (рис. 2). Nrp-1 имеет короткий цитоплазматический домен (около 40 аминокислот), не имеющий явных сигнальных последовательностей, поэтому для передачи сигнала необходимо образование комплекса Nrp-1 с плексином класса A (PlexA1–A4).

В данном комплексе Nrp-1 выступает в роли рецептора, связывающего семафорин 3A, а плексин — передает сигнал в клетку. При проведении сигнала от семафорина 3A формируется голорецептор — гетеротетрамер, состоящий из двух молекул Nrp-1 и двух молекул PlexA, которые объединены в единый функциональный комплекс с помощью гомодимерной молекулы семафорина 3A [11]. При этом оба PlexA могут быть гомологичными (например, димер плексинов PlexA2) или гетерологичными (например, PlexA1 и PlexA4) в зависимости от степени их экспрессии в клетке [3]. Они даже могут заменять друг друга в рецепторном комплексе, проявляя при этом высокую пластичность при проведении сигнала в разных условиях.

Плексины класса A представляют собой большие трансмембранные гликопротеины с молекулярной массой около 200 кДа, состоящие из двух частей — внеклеточной и внутриклеточной. Внеклеточная часть PlexA по строению схожа с семафорин 3A и состоит из *N*-конце-

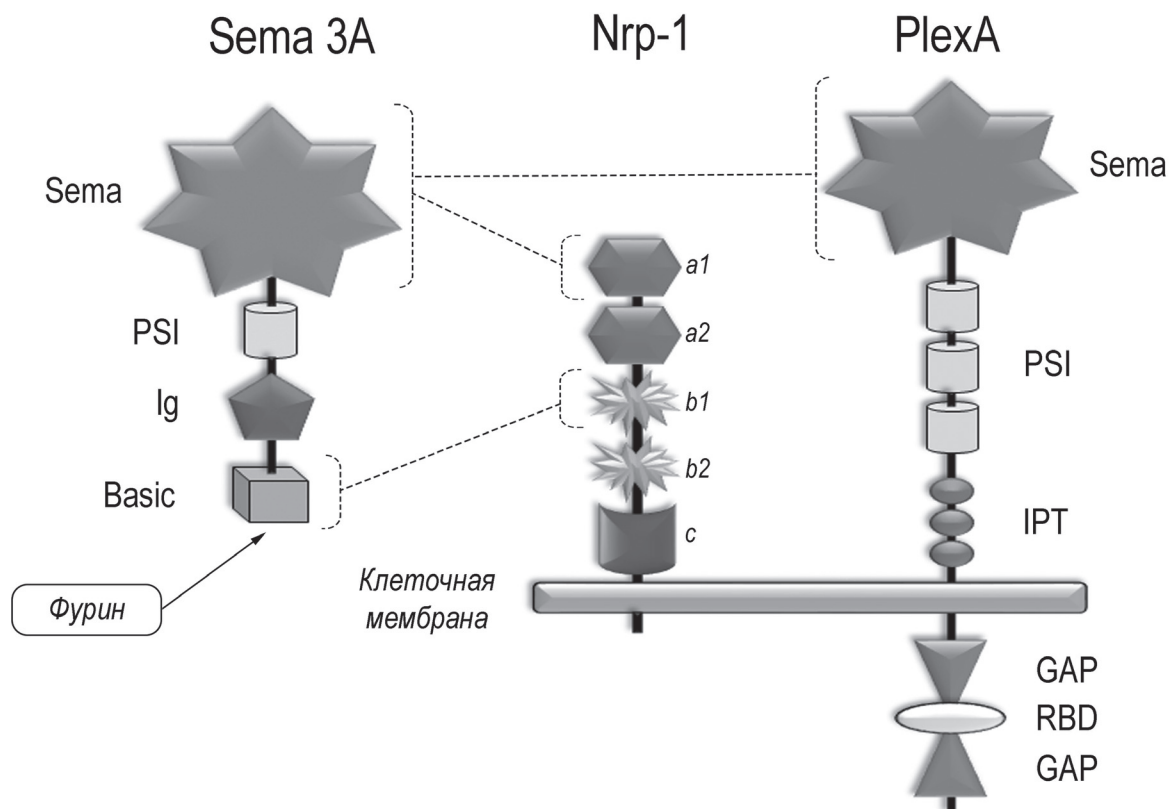


Рис. 2. Строение семафорина 3А (Sema 3А) и его рецепторов Nrp-1 и PlexA. Взаимодействия между молекулами показаны пунктиром (пояснения в тексте)

вого Sema-домена, к которому присоединены три PSI-домена; за ними следуют три IPT-домена (иммуноглобулин-плексин-транскрипционный фактор).

При взаимодействии семафорина 3А с Nrp-1 происходит дивалентное связывание Sema-домена семафорина 3А с a1-доменом Nrp-1 (с низкой аффинностью) и основного (basic) домена семафорина 3А с b1-доменом Nrp-1 (с высокой аффинностью) (рис. 2). Причём последнее осуществляется только после воздействия на семафорин 3А тканевой эндопептидазы — фурина [12]. Протеолитическая обработка ферментом является важным этапом созревания молекул семафоринов 3-класса, которые синтезируются в неактивной форме. В результате протеолиза на С-конце семафорина высвобождается концевой аргинин, необходимый для взаимодействия с b1-доменом Nrp-1.

Семафорин 3А не может связываться с молекулой плексина с высокой аффинностью, однако описана возможность низкоаффинного взаимодействия Sema-доменов плексина и семафорина 3А («голова к голове»), способствующего димеризации и активации рецептора [12].

ПРОВЕДЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СИГНАЛА

Цитоплазматический сегмент PlexA не содержит тирозинкиназного домена, характерного для рецепторов ростовых факторов, но содержит высококонсервативный GAP-домен (белок, активирующий или связывающий ГТФазу). Он относится к регуляторным белкам, которые могут связываться с активированными G-белками и стимулировать их ГТФазную активность, т.е. ускорять процесс дефосфорилирования ГТФ с образованием ГДФ, в результате чего сигнальное событие прекращается.

Цитоплазматический фрагмент плексинов А обладает способностью активировать мономерные малые ГТФазы, G-белки, принадлежащие двум семействам Ras и Rho. Они представляют собой сигнальные молекулы, регулирующие адгезию, миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживание клеток. Проведение сигнала от комплекса семафорина 3А с рецепторами наиболее подробно изучено в нервной системе, и показано, что в нём участвуют молекулы R-Ras, M-Ras и Rap, принад-

лежащие к семейству Ras, а также RhoA, Rac1 и Rnd – из семейства Rho.

ГТФазы Ras и Rap воздействуют на функцию интегрина и контролируют клеточную адгезию, Rho-белки влияют на морфологию и подвижность клетки, и так же, как и Ras-белки, играют важную роль в перестройке актинового цитоскелета [5]. Активация R-Ras и Rap1 может запускать различные ингибиторные эффекты семафорина 3А в нервной и сосудистой тканях [5, 12]. В иммунной системе активация Rap1 участвует в подавлении семафоринами 3А пролиферации Т-лимфоцитов человека [13] (таблица).

В неактивном состоянии два GAP-домена разделены RBD-доменом, который сам является Rho-связывающей ГТФазой (Rho-GTPase binding domain) (рис. 2). При взаимодействии с семафоринами происходит связывание RBD-домена с Rho-ГТФазами, в результате чего происходят конформационные изменения, которые позволяют разделённым частям GAP взаимодействовать и активироваться. Таким образом, и RBD-, и GAP-домены взаимодействуют со своими G-белками, запуская сложные каскады проведения внутриклеточного сигнала, приводящие не только к ингибиторным, но и к активирующим эффектам.

С участием Rho-связывающих ГТФаз осуществляются PlexA1-опосредованные изменения цитоскелета дендритных клеток, необходимые для их способности активировать Т-лимфоциты [14], а также PlexA4-опосредованная активация провоспалительной активности макрофагов в присутствии липополисахарида (LPS) [15] (таблица). Кроме того, через RhoA–ROCK (Rho-associated coiled-coil-forming serine/threonine specific protein kinase) сигнальный путь под действием семафорина 3А происходит усиление миграции дендритных клеток [16] и макрофагов [17]. В том случае, если Rho-связывающие ГТФазы активируются другим фактором, например, макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF), семафорин 3А может подавлять этот эффект и ингибировать миграцию макрофагов [18].

Во всех перечисленных, а также во многих других случаях основными мишенями действия семафорина 3А являются актиновый цитоскелет и фокальная адгезия. Их изменения влияют на морфологию клеток, межклеточные взаимодействия, адгезию и миграцию Т-лимфоцитов [19–21] и дендритных клеток [14, 16, 22].

Кроме активации малых ГТФаз, в нервных клетках описаны также и другие пути проведения сигнала, которые мало изучены в клетках иммунной системы. Действие семафорина 3А на клеточный цитоскелет может осуществляться путём взаимодействия цитоплазматического конца PlexA с двумя группами молекул – белками семейства MICAL (molecules interacting with CasL) и нерецепторными внутриклеточными тирозинкиназами Fes и Fyn [3]. Белки семейства MICAL являются ферментами, обладающими монооксигеназной активностью, благодаря чему они окисляют актин и вызывают диссоциацию актиновых нитей. Кроме того, белки MICAL и тирозинкиназы Fes и Fyn могут приводить к фосфорилированию сигнальной

хариды (LPS) [15] (таблица). Кроме того, через RhoA–ROCK (Rho-associated coiled-coil-forming serine/threonine specific protein kinase) сигнальный путь под действием семафорина 3А происходит усиление миграции дендритных клеток [16] и макрофагов [17]. В том случае, если Rho-связывающие ГТФазы активируются другим фактором, например, макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF), семафорин 3А может подавлять этот эффект и ингибировать миграцию макрофагов [18].

Участие малых ГТФаз в передаче сигнала, запускаемого семафоринами 3А в клетках иммунной системы

Рецептор из комплекса Nrp-1/PlexA	Клетка	Сигнальные молекулы	Функция	Ссылка
Nrp-1	Т-лимфоциты человека	Rap1	подавление пролиферации и синтеза цитокинов	[13]
PlexA1	дендритные клетки мыши	Rho/ROCK-киназа	поддержание способности дендритных клеток активировать Т-лимфоциты*	[14]
PlexA4	макрофаги мыши	Rac1	усиление синтеза провоспалительных цитокинов, индуцированного LPS	[15]
Nrp-1/PlexA1	дендритные клетки мыши	RhoA/ROCK-киназа	усиление трансмиграции через лимфатический эндотелий	[16]
Nrp-1	макрофаги мыши	RhoA/ROCK-киназа	стимуляция миграции макрофагов	[17]
Nrp-1	макрофаги мыши	подавление RhoA-пути, активированного M-CSF	подавление миграции, индуцированной M-CSF	[18]

Примечание. * Непосредственное участие семафорина 3А не показано, но предполагается.

молекулы CRMP2 (collapsin response mediator protein 2), что вызывает деполимеризацию тубулина и подавляет сборку микротрубочек. Тем самым оказывается влияние на морфологию клетки и направление роста аксонов [5].

CRMP2 присутствует в цитоплазме CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, а также моноцитов крови человека [23]. CRMP2 играет существенную роль в биполярной реорганизации цитоскелета при спонтанной и хемокин-индуцированной миграции Т-лимфоцитов, однако не участвует в проведении сигнала от семафорина 3А, который подавляет миграцию этих клеток [23].

Возможны и другие механизмы воздействия семафорина 3А на клетку, связанные, в частности, с развитием апоптоза. Показано, что этот фактор усиливает апоптоз в Т-клеточных линиях [24], а также в макрофагах человека [25] и крысы, что происходит с участием каспаз [26].

ДРУГИЕ ФУНКЦИИ РЕЦЕПТОРОВ (НЕ СВЯЗАННЫЕ С СЕМАФОРИНОМ 3А)

Nrp-1 является многофункциональным трансмембранным белком, который способен взаимодействовать с большим числом структурно неродственных лигандов. Nrp-1 через b1/b2-домены может взаимодействовать со многими ростовыми факторами, такими как ростовой фактор сосудистого эндотелия (VEGF), трансформирующий фактор роста β (TGF- β), плацентарный фактор роста (PLGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста кератиноцитов (KGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF-D) и др. При этом Nrp-1 образует с тирозинкиназными рецепторами этих факторов функциональные комплексы (голорецепторы) и влияет на передачу сигнала [3, 8].

Лигандами Nrp-1 также являются гепарин и гепарансульфат, галектин-1 и микроРНК [7, 8]. Nrp-1 был идентифицирован в качестве рецептора C4d, C3d и iC3b – компонентов комплемента, связывание с которыми осуществляется через b1-домен [27]. Недавно было показано, что Nrp-1 взаимодействует с S-белком вируса SARS-CoV-2 и способствует заражению клетки [28]. Все вышесказанное позволяет охарактеризовать Nrp-1, как многофункциональный узловой координирующий рецептор (scaffold receptor) [3].

Плексины А-класса также не являются рецепторами, специфичными для проведения сигнала только от семафорина 3А. Они могут

взаимодействовать с другими семафоринами 3-класса, а именно: с семафоринами 3В и 3С [3], а также с семафоринами 6-класса [5, 29].

Некоторые плексины, независимо от присутствия семафорина 3А, могут участвовать в процессах активации и дифференцировки макрофагов. Так, по неизвестному механизму PlexA4 вовлечён в проведение сигнала от толл-подобных рецепторов (TLRs) [15], а PlexA1 участвует в дифференцировке остеокластов под действием RANKL [18] (см. раздел, посвящённый макрофагам).

Ещё одно уникальное свойство Nrp-1 и плексинов А-класса – это возможность функционирования в качестве самостоятельных адгезионных молекул. Nrp-1 и PlexA первоначально были описаны как адгезионные молекулы [30, 31]. На различных клетках, не принадлежащих к иммунной системе, показано, что Nrp-1 взаимодействует с интегринами (β 1, α V β 3 и α 5 β 1) и другими адгезионными молекулами (например, L1-CAM, L1-cell adhesion molecule), находящимися латерально на мембране той же клетки, и влияет на процессы адгезии к внеклеточному матриксу и миграции [3, 9, 32]. В иммунной системе Nrp-1 и PlexA1, также независимо от присутствия семафорина 3А, принимают участие в адгезии тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса мыши [33].

Вызывают большой интерес сведения об участии Nrp-1 и PlexA1 в образовании иммунного синапса между наивными Т-лимфоцитами и антиген-презентирующими клетками. Оба рецептора выявляются в зоне контакта как со стороны дендритных клеток, так и Т-лимфоцитов человека [19, 20, 34] и мыши [14, 35]. Описана возможность гомофильного взаимодействия между двумя молекулами Nrp-1, одна из которых находится на Т-лимфоците, а другая – на дендритной клетке; блокирующие антитела к Nrp-1 подавляют образование конъюгатов между ними [34]. Nrp-1 пролонгирует контакт между Т-регуляторными и антиген-презентирующими клетками [35], поддерживает стабильность и функционирование Т-регуляторных клеток [36], а также способствует проведению сигнала от TGF- β , являющегося ключевым фактором их индукции [37].

Таким образом, Nrp-1 и PlexA являются не только рецепторами семафорина 3А, но и способны участвовать в осуществлении межклеточных контактов в иммунной системе в качестве самостоятельных молекул при отсутствии своего основного лиганда.

ЭКСПРЕССИЯ СЕМАФОРИНА 3А В ОРГАНИЗМЕ

Семафорин 3А играет важную роль в эмбриогенезе и участвует в формировании жизненно важных систем, таких как центральная нервная система, сердечно-сосудистая, бронхолёгочная, выделительная, костная и иммунная.

Во взрослом организме семафорин 3А участвует в функционировании и поддержании гомеостаза многих органов, принимает участие в различных регенераторных процессах. Он экспрессируется в нервной, лимфоидной, костной, жировой и соединительной тканях, сосудистом эндотелии, эпителии кишки и носоглотки человека [6].

В иммунной системе человека семафорин 3А синтезируется активированными CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами [13, 38], Т-регуляторными [38, 39] и В-регуляторными CD19⁺CD25^{high} клетками [2], а также макрофагами [19, 25, 38] и дендритными клетками [19, 20]. У мышей показана экспрессия мРНК семафорина 3А в Т- и В-лимфоцитах, НК-клетках, макрофагах и дендритных клетках [15].

Мишенями действия семафорина 3А в иммунной системе, экспрессирующими на своей поверхности рецепторный комплекс, состоящий из Nrp-1 и плексинов класса А, являются Т-лимфоциты, мононуклеарные фагоциты и дендритные клетки [4].

Т-ЛИМФОЦИТЫ

Основным иммунологическим эффектом семафорина 3А считается его супрессорное действие в отношении Т-лимфоцитов. Предполагают, что биологическая роль семафорина 3А — это осуществление негативного контроля [19], который заключается в селективном подавлении функций активированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих в данный момент рецепторы семафорина 3А.

Методом проточной цитометрии Nrp-1 практически не выявляется (0,1–0,5%) на мононуклеарах крови человека, а также на CD4⁺, CD8⁺ или CD3⁺ Т-лимфоцитах крови [20, 40–42], но обнаруживается в небольшом количестве на Т-лимфоцитах, полученных из вторичной лимфоидной ткани — периферических лимфоузлов (2,6%) и миндалин (5,4%) [40]. Процент выявления клеток Nrp-1⁺ становится значительно больше при патологии, что было

отмечено среди CD4⁺ Т-лимфоцитов крови [38] и CD3⁺ Т-клеток синовиальной ткани у больных ревматоидным артритом [43], а также среди CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, выделенных из различных опухолей человека [21, 41, 42].

Эти данные позволили ряду авторов высказать предположение о том, что Nrp-1 является активационным маркером Т-лимфоцитов человека [40, 41]. Nrp-1 коэкспрессируется на поверхности Т-лимфоцитов с другими активационными молекулами и, в частности, с молекулой CD25, что было показано для CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, выделенных из опухолей [41, 42]. Кроме того, экспрессия Nrp-1 повышается на Т-лимфоцитах крови при активации с помощью анти-CD3/CD28 антител *in vitro* [38, 40].

У мышей на покоящихся Т-лимфоцитах крови, селезёнки и лимфоузлов Nrp-1 также практически не выявляется [35, 44], но присутствует на CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах, выделенных из опухолей [21, 41] и CD8⁺ Т-лимфоцитах, активированных пептидами [21].

Поверхностная экспрессия PlexA1 на неактивированных Т-лимфоцитах человека также слабо выражена, рецептор локализуется в основном внутриклеточно, однако при взаимодействии с дендритными клетками перемещается в зону контакта и выявляется на 50% Т-клеток, образующих конъюгаты [20]. На поверхности неактивированных Т-лимфоцитов обнаружен также и PlexA4 [20]. Экспрессия мРНК генов, кодирующих PlexA1 и PlexA4, значительно выше в CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах, полученных из крови больных ревматоидным артритом, чем от здоровых доноров [38].

У мышей наблюдается та же закономерность — низкая экспрессия генов, кодирующих PlexA1 [35, 45], PlexA2 и PlexA4 в неактивированных Т-клетках [15, 21, 46], и значительное усиление мембранной экспрессии генов, кодирующих PlexA1, при активации CD8⁺ Т-клеток пептидами [21].

Таким образом, семафорин 3А не может взаимодействовать с покоящимися клетками, но приобретает способность оказывать воздействие на активированные Т-лимфоциты.

Nrp-1 и PlexA1 у человека участвуют в образовании иммунного синапса со стороны Т-лимфоцитов, причём и Nrp-1 [34], и PlexA1 колокализуются с CD3 [20]. Добавление экзогенного семафорина 3А подавляет транслокацию CD3 в зону контакта, вызывает кратковременную потерю F-актина и микроворсинок в Т-лимфоцитах, снижает частоту образования конъюгатов

между ними и дендритными клетками [20], хотя в другом сообщении влияние семафорина 3А на образование конъюгатов не подтверждено [19]. В Т-клетках происходит реорганизация актинового цитоскелета и перераспределение талина, нарушаются поляризация Т-клеточного рецептора (TCR) и передача от него сигнала, подавляется фосфорилирование ZAP-70 и FAK (focal adhesion kinase) киназ. Это приводит к ингибированию пролиферации Т-лимфоцитов, индуцированной контактом с дендритными клетками [19].

Источником семафорина 3А в данном случае являются активированные дендритные клетки, участвующие в презентации антигена. В супернатантах смешанной аллогенной культуры дендритных клеток и Т-лимфоцитов человека семафорин 3А появляется в небольших количествах (5 нг/мл) уже через 1 сутки, после чего его концентрация возрастает до 60 нг/мл на 4–6 сутки, что было показано с помощью ИФА [19]. В другой работе в аналогичных условиях семафорин 3А был обнаружен методом иммунопреципитации на 3 сутки [20]. Иммуносупрессорное действие эндогенного семафорина 3А (подавление пролиферации Т-лимфоцитов в смешанной аллогенной культуре) можно заблокировать с помощью моноклональных антител к этому фактору [19].

Помимо подавления активации на начальном этапе, семафорин 3А оказывает негативное воздействие и на другие функции Т-лимфоцитов, такие как пролиферация и синтез цитокинов. В экспериментах *in vitro* показано, что семафорин 3А ингибирует пролиферативную активность Т-лимфоцитов человека, индуцированную анти-CD3/CD28 антителами [13, 19], но не влияет на пролиферацию, индуцированную РНА/IL-2 [19] или форболовым эфиром [13]. Подавление пролиферации в Т-лимфоцитах сопровождается индукцией синтеза молекулы p27^{kip1}, являющейся негативным регулятором клеточного цикла. В мононуклеарах крови человека, стимулированных анти-CD3/CD28 антителами, происходит также и снижение синтеза цитокинов, таких как IL-2, IL-4, IL-10 и IFN- γ [13, 38]. Действие семафорина 3А на Т-клетки связано с ингибированием активации ERK1/2-киназ и блокадой Ras/MAPK (mitogen activated protein kinase) сигнального пути через активацию ГТФазы Rap1 [13].

Семафорин 3А оказывает негативный эффект в отношении Т-системы лимфоцитов и у мышей. У животных с дефицитом семафо-

рина 3А (Sema 3A^{-/-}), а также его рецепторов – плексина А4 (PlexA4^{-/-}) или нейропиллина-1 (с мутацией рецептора, не позволяющей ему взаимодействовать с семафоорином 3А, Nrp-1^{Sema-}) наблюдается гиперпролиферативный ответ Т-лимфоцитов на антигенную или анти-CD3 стимуляцию *in vitro* [46]. Т-лимфоциты от мышей с дефицитом PlexA4 проявляют повышенную способность к синтезу провоспалительных цитокинов IFN- γ и IL-17 в ответ на стимуляцию. Авторы считают, что PlexA4 у мышей является основным плексиновым рецептором Т-лимфоцитов, проводящим негативный сигнал от семафорина 3А [46].

В литературе также имеются данные об ингибирующем влиянии семафорина 3А на миграцию и адгезию Т-лимфоцитов. Показано, что этот фактор подавляет миграцию Т-лимфоцитов крови человека, предварительно активированных с помощью РНА и IL-2 [23], но при этом не влияет на скорость миграции неактивированных Т-лимфоцитов в присутствии хемокинов [20]. Кроме того, семафорин 3А ингибирует адгезию Т-лимфоцитов к опухолевым клеткам [13] и цитотоксическую активность лимфоцитов из смешанных лимфоцитарных культур (MLC) в отношении клеток K562 [13]. У мышей семафорин 3А парализует CD8⁺ Т-лимфоциты – вызывает блокаду актинового цитоскелета, приводящую к подавлению их миграции, адгезии и цитотоксического действия на опухолевые клетки [21, 41].

Кроме того, данный фактор повышает чувствительность клеток к развитию Fas-опосредованного апоптоза, что было показано на Т-клеточных линиях лейкоза человека. При этом через PlexA1 оказывается воздействие на белки, регулирующие активность актина, происходит перестройка цитоскелета и транслокация Fas в область липидных рафт [24].

Помимо прямого действия на Т-лимфоциты, семафорин 3А может подавлять их активность через Т-регуляторные клетки. Эти клетки экспрессируют транскрипционный фактор Foxp3 (forkhead box p3) и обладают способностью ингибировать функции эффекторных Т-лимфоцитов путём продукции противовоспалительных цитокинов, таких как TGF- β и IL-10. Ряд исследователей считает, что семафорин 3А также является супрессорным медиатором Т-регуляторных клеток человека [38, 39]. Он не только ими синтезируется, но и повышает в них экспрессию Foxp3 [39], а также продукцию IL-10, что приводит к уси-

лению супрессорной активности CD4⁺ Nrp-1⁺ T-reg-подобных клеток [38].

Поскольку Nrp-1 на CD3⁺CD4⁺Foxp3⁺CD25⁺ T-регуляторных клетках крови практически отсутствует, но определяется на клетках, полученных из вторичной лимфоидной ткани — лимфатических узлов и миндалин [40, 47], было высказано предположение о том, что Nrp-1 маркирует особую субпопуляцию T-регуляторных клеток человека. Эти клетки обладают наиболее выраженной супрессорной способностью и выявляются не в крови, а в тканях, особенно в условиях воспалительного микроокружения [8, 48]. Их обнаруживают в синовиальной жидкости у больных ревматоидным артритом [49], в бронхиальном лаваже пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями лёгких [50], в первичных опухолях и лимфогенных метастазах [42, 47, 48].

В то же время у мышей экспрессия Nrp-1 на T-регуляторных клетках существенным образом отличается от таковой у человека. У этих животных Nrp-1 высоко экспрессируется на CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ клетках крови, а также селезёнки, тимуса и лимфатических узлов [40] и рассматривается, как важный функциональный маркер T-регуляторных клеток [35]. Его экспрессия тесно коррелирует с экспрессией Foxp3 и супрессорной функцией T-регуляторных клеток у мышей [51]. Причём считается, что экспрессия Nrp-1 является характерным признаком тимусных, а не индуцированных на периферии T-регуляторных клеток [52].

Если удалить ген, кодирующий Nrp-1 с помощью кондиционного нокаута в T-клетках, то ни содержание T-регуляторных клеток в селезёнке мышей [44], ни экспрессия в этих клетках Foxp3 не изменятся [53]. Однако в них обнаружится существенный функциональный дефект — снижение способности подавлять пролиферацию эффекторных CD4⁺ T-клеток *in vivo* и *in vitro*. При этом CD4⁺ T-клетки будут дифференцироваться предпочтительно по Th17-пути иммунного ответа. Отсутствие Nrp-1 в T-регуляторных клетках мышей предрасполагает к развитию аутоиммунных заболеваний [53]. Как считают некоторые исследователи, Nrp-1 не вовлечён в T-клеточный гомеостаз в нормальных условиях, однако его роль существенно возрастает при патологии [21].

Таким образом, семафорин 3A в настоящее время рассматривается как эндогенный иммуносупрессорный фактор для T-лимфоцитов. При этом он избирательно действует лишь на

небольшую часть клеток, несущих соответствующие рецепторы, в том числе и на T-регуляторные лимфоциты, которые потенцируют его ингибирующее влияние на эффекторные клетки. Семафорин 3A осуществляет своё подавляющее действие на активированные T-лимфоциты через рецепторы Nrp-1, PlexA1 и PlexA4 с использованием блокады ERK1/2-киназ и Ras/MAPK-сигнального пути.

Помимо клеток периферической иммунной системы, экспрессия семафорина 3A была также обнаружена и в центральном органе иммуногенеза — тимусе. Этот фактор конститутивно синтезируется стромальными клетками тимуса человека [54] и мыши [55]. *In vitro* было показано, что семафорин 3A оказывает ряд негативных эффектов в отношении тимоцитов и эпителиальных клеток — ингибирует адгезию тимоцитов человека к эпителиальным клеткам [54], а также миграцию тимоцитов, индуцированную хемокином SDF-1/CXCL12. При этом нейрональный фактор снижает экспрессию рецептора SDF-1 и подавляет фосфорилирование FAK- и ZAP-70-киназ в мигрирующих клетках, что указывает на существование функционального антагонизма между SDF-1 и семафорин 3A [56]. Кроме того, этот фактор ингибирует пролиферативную активность тимоцитов [57] и эпителиальных клеток тимуса мыши [58]. Причём в последнем случае семафорин 3A способен отменять стимулирующий эффект ростовых факторов KGF и HGF на пролиферацию эпителиальных клеток, что позволяет его рассматривать в качестве потенциального антагониста также и этих двух факторов.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ

Дендритные клетки не только активно синтезируют семафорин 3A, но и сами являются мишенью действия семафорина, продуцируемого другими клетками. В отличие от супрессорного действия в отношении T-лимфоцитов, семафорин 3A стимулирует функциональную активность дендритных клеток и играет важную роль в инициации иммунного ответа. При этом нейрональный фактор действует достаточно избирательно и влияет главным образом на миграцию дендритных клеток и, возможно, на их контакт с T-лимфоцитами, не затрагивая при этом собственно процесс презентации антигена.

В данный обзор включены работы по изучению миелоидных дендритных клеток, которые

получали из костного мозга мышей или моноцитов крови человека и инкубировали в присутствии цитокинов GM-CSF и IL-4 (незрелые дендритные клетки) с последующей активацией с помощью LPS, TNF или анти-CD40 (зрелые дендритные клетки).

В незрелых дендритных клетках человека экспрессия мРНК семафорина 3А слабо выражена, а в зрелых, активированных с помощью LPS, TNF- α /IL-1 β или CD40L, экспрессия значительно усиливается [19, 22]. У мышей дендритные клетки также экспрессируют мРНК семафорина 3А [15].

Для взаимодействия с семафоринем 3А дендритные клетки человека экспрессируют соответствующие рецепторы. Моноциты крови не экспрессируют Nrp-1 [19, 22] и очень слабо экспрессируют PlexA1 и PlexA3 [22]. В процессе дифференцировки моноцитов в незрелые дендритные клетки экспрессия всех трёх рецепторов заметно усиливается [22, 34]. Однако при дальнейшем созревании дендритных клеток в присутствии LPS мембранная экспрессия Nrp-1 и PlexA1 снижается, что происходит путём эндоцитоза рецепторов. При этом экспрессия Nrp-1 на уровне мРНК также снижается, а PlexA1 – не меняется [20, 22].

На дендритных клетках мышей также обнаружен Nrp-1 [16, 44]. Из плексинов экспрессируется главным образом мРНК PlexA1, а мРНК других плексинов А-класса слабо выражена [29]. В отличие от клеток человека, по мере созревания дендритных клеток мышей в присутствии LPS или TNF экспрессия обоих рецепторов – Nrp-1 [16, 44] и PlexA1, как мембранная, так и на уровне мРНК, усиливается [14, 16, 45]. При этом цитоплазматическая локализация PlexA1 переходит в мембранную форму [14].

Значительные межвидовые различия в экспрессии рецепторов семафорина 3А между человеком и мышью характерны не только для дендритных клеток, но наблюдаются также в тимоцитах [57, 59] и периферических Т-лимфоцитах [40].

PlexA1 является основным плексиновым рецептором дендритных клеток. Его высокая экспрессия является отличительной особенностью дендритных клеток по сравнению с другими антиген-презентирующими клетками, в частности макрофагами [45].

Другой рецептор – PlexA4, не играет существенной роли в презентации антигена и способности дендритных клеток мышей активи-

ровать Т-лимфоциты [15]. Дефицит PlexA4 не влияет на экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости МНС-II и костимулирующих молекул дендритными клетками и даже усиливает их способность активировать пролиферацию аллогенных Т-лимфоцитов [46]. Однако PlexA4 всё же принимает участие в регуляции некоторых функций дендритных клеток, в частности синтеза цитокинов. Дендритные клетки, полученные от мышей PlexA4^{-/-} и активированные с помощью LPS, обладают сниженной способностью синтезировать TNF- α и IL-6 [15], хотя продукция IL-12 p40 в аналогичных условиях не снижалась [46].

Наиболее детально изучен вопрос о влиянии семафорина 3А на миграцию дендритных клеток из периферических тканей в регионарные лимфоузлы [16]. Оказалось, что нагруженные антигеном дендритные клетки, полученные от мышей с дефицитом PlexA1 (PlexA1^{-/-}) или с функциональным дефектом Nrp-1 (Nrp-1^{Sema-}), аккумулируются в дренирующих лимфатических узлах в значительно меньшем количестве, чем клетки, полученные от мышей дикого типа. Аналогичный эффект наблюдали и в том случае, если дендритные клетки от мышей дикого типа вводили в организм животных с дефицитом семафорина 3А. При детальном изучении механизма данного явления оказалось, что семафорин 3А, продуцируемый клетками лимфатического эндотелия, необходим для трансмиграции дендритных клеток в эфферентные лимфатические сосуды. Этот фактор проявляет в отношении дендритных клеток хеморепеллентное действие, повышает их подвижность и скорость движения, что показано *in vitro* в присутствии хемокинов, а также усиливает собственно процесс трансмиграции через монослой лимфатического эндотелия.

Основной точкой приложения семафорина 3А в этом случае является перестройка актинового цитоскелета. Известно, что для клетки, движущейся по хемокиновому градиенту, характерно состояние поляризации, при этом экспрессия рецепторов на переднем и заднем её концах может быть различной. Оказалось, что семафорин 3А действует через PlexA1, находящийся на хвостовой части дендритной клетки, и вызывает сокращения актомиозина, что способствует прохождению клеток через узкие щели. При этом через форфорилирование лёгких цепей миозина происходит воздействие на миозин II, а в проведении сигнала участвуют ROCK-киназа и ГТФаза RhoA [16].

Усиление миграции по типу хеморепелленции под действием семафорина 3А было показано и в отношении дендритных клеток человека в присутствии хемокина CCL19 или без него [22]. При этом наблюдали реорганизацию цитоскелета и полярное перераспределение F-актина в фокальные зоны, совпадающие с ламеллами, что характерно для морфологии мигрирующей клетки.

На этапе презентации антигена прямое воздействие семафорина 3А на дендритные клетки не установлено, однако показано, что PlexA1 и Nrp-1 у мышей являются компонентами иммунного синапса и локализуются в зоне контакта со стороны дендритных клеток [14, 35]. Дендритные клетки, полученные от мышей с дефицитом PlexA1 (PlexA1^{-/-}), обладают сниженной способностью активировать антиген-специфические или аллогенные Т-клетки *in vivo* и *in vitro* [29, 45]. При этом снижение экспрессии PlexA1 не влияет на захват и процессирование антигена, экспрессию молекул МНС классов I и II, а также костимулирующих молекул CD40, CD80 и CD86 на мембране дендритных клеток [14, 16, 29, 45]. Присутствие в них PlexA1 необходимо для перестройки актинового цитоскелета в зоне их контакта с Т-лимфоцитами и активации в дендритных клетках Rho ГТФаз; нокаут гена, кодирующего PlexA1 в дендритных клетках, подавляет их способность антиген-специфически активировать Т-лимфоциты [14].

Похожие данные были также получены на клетках человека. С помощью иммунофлуоресцентной и сканирующей микроскопии было показано, что Nrp-1 и PlexA1 являются компонентами иммунного синапса со стороны дендритных клеток и у человека [20, 34]. Добавление антител, блокирующих PlexA1 [20] или Nrp-1 [34], в смешанную аллогенную культуру подавляло способность зрелых дендритных клеток активировать пролиферативный ответ Т-лимфоцитов.

В чем заключается биологическое значение присутствия рецепторов семафорина 3А на мембране дендритных клеток в иммунном синапсе, пока не ясно. Предполагают, что присутствие PlexA1 может влиять на процесс адгезии (или деадгезии), формирование дендритов и на способность дендритных клеток взаимодействовать с большим числом Т-лимфоцитов [14].

Таким образом, дендритные клетки являются мишенью действия семафорина 3А на ранних этапах иммунного ответа, и этот фактор оказывает на них стимулирующее действие, спо-

собствуя их миграции в лимфатический узел. В отличие от Т-лимфоцитов, у которых взаимодействие с семафоринем 3А реализуется через два плексиновых рецептора, PlexA1 и PlexA4, в дендритных клетках используется главным образом PlexA1.

МАКРОФАГИ

В отношении макрофагов, так же как и в отношении дендритных клеток, семафорин 3А известен в основном как положительный регулятор. Зрелые макрофаги сами синтезируют этот белок, а также его рецепторы, благодаря чему являются не только источником семафорина 3А, но и его мишенями.

В моноцитах крови человека экспрессия мРНК семафорина 3А практически не выявляется [19, 22, 25], однако она начинает появляться при созревании клеток в присутствии М-CSF [25] и значительно усиливается при их последующей активации LPS [38]. Аналогичная картина наблюдается и у мышей – в неактивированных перитонеальных, селезеночных и костномозговых макрофагах выявляется лишь слабая экспрессия мРНК семафорина 3А, которая заметно усиливается при активации клеток с помощью LPS или других агонистов TLR [15].

Методами ОТ-ПЦР и проточной цитометрии показано, что моноциты крови человека не экспрессируют Nrp-1 [22, 25, 34] и слабо экспрессируют плексины А-класса [22, 25, 38]. Экспрессия мРНК этих рецепторов (кроме PlexA4) значительно усиливается при созревании макрофагов в присутствии М-CSF [25, 38]. При дальнейшей активации макрофагов человека в присутствии IFN- γ экспрессия мРНК Nrp-1 может снижаться, так же как и экспрессия мРНК PlexA1 в присутствии LPS [25].

Несколько иная картина отмечается у мышей. Экспрессия Nrp-1 отмечается уже на ранних костномозговых предшественниках моноцитов/макрофагов [60] и на моноцитах крови [61]. В этих же Nrp-1⁺ костномозговых предшественниках экспрессируется мРНК PlexA1 и PlexA3 [60]. При созревании костномозговых макрофагов в присутствии М-CSF в них можно обнаружить мРНК PlexA1, A2, A4 (но не A3) и Nrp-1 [18, 61].

В резидентных перитонеальных макрофагах выявляется мРНК рецепторов Nrp-1 [62] и PlexA4, а также их присутствие на мембране [15, 46]. С помощью проточной цитометрии

Nrp-1 обнаруживается на классически (M1) и альтернативно (M2) активированных макрофагах [63]. Экспрессия Nrp-1 и PlexA1 заметно усиливается в присутствии IFN- γ *in vitro* и после введения LPS *in vivo* в микроглию – резидентных макрофагах головного мозга новорождённых крыс [26]. Таким образом, у грызунов экспрессия рецепторов семафорина 3А выявляется не только на зрелых, но и на незрелых мононуклеарных фагоцитах, а при активации макрофагов экспрессия рецепторов усиливается.

Семафорин 3А является хемоаттрактантом для макрофагов – повышает их спонтанную миграцию по положительному градиенту концентрации. Это показано *in vitro* в отношении костномозговых предшественников моноцитов [60, 64], костномозговых [61] и перитонеальных макрофагов мышей [17], а также CD14⁺ макрофагов человека, выделенных из печени больных гепатоклеточной карциномой [65]. Усиление миграционной активности костномозговых макрофагов мышей под влиянием семафорина 3А наблюдали также на модели локального повреждения монослоя в тесте «царапина» [63].

Усиление хемотаксиса под действием семафорина 3А опосредуется участием рецептора Nrp-1 [17, 60, 61, 64], и этот эффект можно отменить добавлением Y-27632 – ингибитора ROCK-киназы [17]. Кроме того, в реализации стимулирующего действия семафорина 3А на миграцию макрофагов мышей участвуют PlexA1 и PlexA4, поскольку посттрансляционная инактивация их генов с помощью малых интерферирующих РНК (siRNA) отменяет эффект данного фактора [61].

Однако существует одна работа, противоречащая этим данным, в которой было показано, что семафорин 3А ингибирует спонтанную миграцию моноцитов крови человека *in vitro* [1]. Она была выполнена в 2001 г. и является первой работой по изучению миграции клеток иммунной системы в присутствии семафорина 3А. В ней был использован не рекомбинантный белок, а супернатант трансфицированных COS7-клеток, который мог содержать другие факторы, кроме семафорина 3А. На это указывают несколько фактов, в том числе и то, что эффект, приписываемый семафорину 3А, не был связан с Nrp-1 [1].

Способность семафорина 3А привлекать макрофаги мышей была также подтверждена *in vivo*. Это было показано путём подкожного введения Матригеля, содержащего семафорин 3А [61], или с помощью переноса гена

данного фактора в скелетную мышцу с последующим количественным учётом числа мононуклеаров на тканевых срезах [64]. В организме семафорин 3А может привлекать макрофаги в ткани с его повышенным содержанием, например, в опухоли [61] или патологически изменённую сетчатку глаза [17].

Таким образом, можно заключить, что сам семафорин 3А является для макрофагов хемоаттрактантом. Однако в комбинации с другими индукторами миграционной активности он может вести себя по-разному. Так, в присутствии хемокина CCL21 *in vitro* нейрональный фактор стимулирует миграцию костномозговых макрофагов мышей [61], а в сочетании с ростовым фактором M-CSF – подавляет [18]. Этот эффект реализуется через Nrp-1 и связан с подавлением RhoA-сигнального пути, активированного M-CSF.

Другой важный аспект влияния семафорина 3А на функционирование макрофагов – регуляция синтеза цитокинов. Если макрофаги не активированы, то нейрональный фактор не влияет на продукцию и синтез TNF- α и IL-6 *in vitro* [15], а также на экспрессию мРНК других цитокинов (IL-1 β , IL-12a, IL-10, TGF- β) и хемокинов [63]. Однако в случае активации макрофагов семафорин 3А оказывает действие на синтез цитокинов, причём разнонаправленное.

Так, при одновременном добавлении семафорина 3А и LPS был получен стимулирующий эффект семафорина 3А на синтез TNF- α и IL-6, усиливающий действие LPS [15]. Действие семафорина 3А было опосредовано рецептором PlexA4 и усиливало активацию малой ГТФазы Rac1. Семафорин 3А и LPS активировали Rac1 каждый в отдельности, а при их совместном добавлении происходила суммация эффектов. В этих экспериментах использовали субоптимальную дозу LPS (50 нг/мл).

В другой работе, где применяли полную активацию макрофагов мышей с помощью двух стимулов (LPS и INF- γ), добавление семафорина 3А на экспрессию мРНК TNF- α , IL-6 и IL-12a уже не влияло [63]. Это согласуется с данными об отсутствии влияния нейронального фактора на продукцию TNF- α в макрофагах человека, стимулированных с помощью 1 мкг/мл LPS [38].

Ещё в одной работе речь идёт уже об ингибирующем действии семафорина 3А. С использованием костномозговых макрофагов мышей показано, что добавление семафорина 3А вызывает подавление синтеза провоспалительных

цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α , индуцированного LPS/IFN- γ [66]. Существенное отличие данной работы заключается в том, что в ней была изменена последовательность внесения факторов – сначала макрофаги прединкубировали с семафоринами в течение 1 суток, а затем уже вносили LPS/IFN- γ [66].

Можно предположить, что при работе *in vitro* с комбинацией нескольких факторов, конкурирующих за общие сигнальные пути, важную роль играет последовательность внесения препаратов, и это во многом объясняет описанные выше различия при анализе модулирующего действия семафорина 3А. При этом существенна и концентрация вносимых препаратов, от которой зависит степень активации клеток, а также тканевой источник получения клеток и степень их зрелости. Для уточнения этого вопроса необходимо использовать разные варианты постановки эксперимента в одной работе. В настоящее время оценка влияния семафорина 3А на синтез провоспалительных цитокинов макрофагами *in vitro* крайне неоднозначна, и критерием её релевантности могут служить результаты, полученные *in vivo*.

Одной из ключевых работ по исследованию влияния семафорина 3А на макрофаги является работа Wen et al. [15], в которой было показано, что нейрональный фактор способен стимулировать синтез цитокинов также и в организме. Внутривентрикулярное введение семафорина 3А мышам с экспериментальным полимикробным перитонитом (частичная перевязка слепой кишки с последующим прокалыванием) вызывало повышение содержания провоспалительных цитокинов и хемокинов в перитонеальном лаваже, чего не наблюдалось у животных (PlexA4^{-/-}) с дефицитом рецептора. Эти же мыши были более резистентными к развитию сепсиса, вызываемого летальной дозой LPS, и у них выявляли значительно меньшие концентрации провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-12p70 в сыворотке крови [15].

В этой же работе был установлен неизвестный ранее факт участия PlexA4 в проведении сигнала от TLR. В макрофагах, полученных от мышей (PlexA4^{-/-}) с дефицитом рецептора, была снижена продукция провоспалительных цитокинов в ответ на стимуляцию агонистами TLR или бактериями [15]. При этом в макрофагах PlexA4^{-/-} происходило подавление активации Ras1, индуцированной TLR, с последующим снижением активации JNK (с-Jun N-terminal kinase) и NF- κ B (nuclear factor- κ B).

Тем самым было показано, что PlexA4 не только проводит сигнал от семафорина 3А, усиливающий ответ на LPS, но и по неизвестному механизму вовлечён в проведение сигнала от TLR вне связи с семафоринами.

Данные о том, что семафорин 3А может дополнительно активировать макрофаги при развитии бактериальной инфекции, позволили обосновать новый подход к лечению и предупреждению развития сепсиса у экспериментальных животных [15], который был использован в дальнейшем. Внутривенное введение моноклональных антител к семафорину 3А дозозависимо снижало летальность у мышей с сепсисом, который вызывали введением LPS [67]. Несколько неожиданным оказался результат, свидетельствующий о том, что уровень содержания TNF- α в сыворотке крови таких животных не снижался.

Таким образом, по имеющимся в литературе данным можно заключить, что сам семафорин 3А на синтез провоспалительных цитокинов макрофагами не влияет, но может модулировать действие других активаторов.

Поскольку синтез провоспалительных цитокинов является лишь частью активационного статуса макрофагов, исследовали также влияние семафорина 3А и на другие показатели. В настоящее время описано несколько вариантов активации макрофагов, среди которых выделяют M1 или классически активированные макрофаги (под действием LPS и IFN- γ) и M2 или альтернативно активированные (под влиянием IL-4, IL-13 или IL-10) [68]. M1-макрофаги характеризуются выраженной микробицидной и туморицидной активностью, M2 – способствуют ангиогенезу и репаративным процессам. Влияние семафорина 3А на поляризацию макрофагов исследовано в двух работах.

В работе Teng et al. [66] было показано, что прединкубация костномозговых макрофагов мышей с семафоринами 3А в течение 1 суток ингибирует образование M1-макрофагов, но положительно влияет на формирование M2-фенотипа макрофагов. При этом семафорин 3А снижает индуцированное LPS фосфорилирование STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), сигнальной молекулы, имеющей значение для поляризации M1-макрофагов.

В другой работе исследовали, как уже поляризованные M1- и M2-макрофаги, обработанные LPS/IFN- γ или IL-4/TGF- β соответственно, отвечают на семафорин 3А. Оказалось, что в этом случае добавление нейронального фактора

не влияет ни на экспрессию мРНК цитокинов и хемокинов в макрофагах мышей, ни на их миграцию *in vitro* [63]. Однако семафорин 3А существенным образом влияет на пролиферативную активность макрофагов — стимулирует, если они имеют фенотип М1, и подавляет — в случае М2-клеток. При этом семафорин 3А также усиливает индуцированное CSF1 фосфорилирование Akt и MAPK в М1-макрофагах и подавляет — в М2-клетках; данный эффект осуществляется через Nrp-1 [63].

Таким образом, в одной работе было показано, что семафорин 3А подавляет сигнальные пути, характерные для поляризации М1-макрофагов и способствует формированию М2-фенотипа [66], в другой — наоборот [63]. Дальнейшие исследования позволяют внести большую ясность в этот вопрос.

Семафорин 3А не влияет на фагоцитоз опсонизированных эритроцитов макрофагами человека, но стимулирует в них развитие Fas-независимого апоптоза [25]. Нейрональный фактор также способен индуцировать апоптоз в культуре обогащённых клеток микроглии (резидентных макрофагов центральной нервной системы), полученных из мозга новорождённых крыс. Эффект отменяется при добавлении антител, блокирующих Nrp-1, и усиливается, если клетки микроглии активировать с помощью IFN- γ [26]. Также показано, что нейроны, находящиеся в состоянии стресса, синтезируют семафорин 3А, который вызывает апоптоз активированной микроглии. Авторы предполагают, что при травме нервной ткани данная реакция может подавлять избыточное воспаление, связанное с активацией макрофагов, и защищать нейроны от дополнительного повреждения.

Ещё одно важное направление изучения макрофагов — влияние семафорина 3А на дифференцировку остеокластов. Эти клетки также относятся к системе мононуклеарных фагоцитов. Они представляют собой макрофаги костной ткани, ответственные за резорбцию кости. Одним из основных факторов дифференцировки остеокластов является RANKL (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand), цитокин семейства факторов некроза опухоли, который взаимодействует с клетками через рецептор RANK.

Дифференцировку остеокластов изучали на модели костномозговых предшественников моноцитов/макрофагов, культивируемых в присутствии M-CSF и RANKL. Было показано, что добавление семафорина 3А подавляет

их дифференцировку *in vitro* [66], и этот эффект реализуется через Nrp-1 и PlexA1 [18]. При этом семафорин 3А подавляет дифференцировку остеокластов только в том случае, если его добавляют до внесения активирующего фактора RANKL, но не наоборот [18]. Было показано, что семафорин 3А и RANKL находятся в конкурентных взаимоотношениях за использование PlexA1 для проведения сигнала, поскольку для дифференцировки остеокластов при участии RANKL необходимо формирование комплекса PlexA1–TREM2–DAP12.

Если на мембране остеокластов присутствует Nrp-1, он конститутивно формирует комплекс с PlexA1, и при наличии семафорина 3А взаимодействует с ним. Добавление RANKL после этого оказывается неэффективным, а образование остеокластов нарушается. Если же сначала добавлять RANKL, то семафорин 3А не будет проявлять своё ингибирующее действие, поскольку RANKL обладает способностью подавлять экспрессию Nrp-1. В результате этого PlexA1 будет использован для образования комплекса PlexA1–TREM2–DAP12 и осуществится дифференцировка остеокластов [18].

Описанный механизм является примером того, как последовательность внесённых факторов влияет на результат экспериментов, в том случае, если эти факторы конкурируют между собой за общие рецепторы или сигнальные пути, и отчасти объясняет противоречивые результаты по изучению действия семафорина 3А *in vitro*.

Ингибирующее действие семафорина 3А на дифференцировку остеокластов было также продемонстрировано и в организме мышей. У животных с дефицитом как самого фактора (Sema 3a^{-/-}), так и с функциональным дефектом его рецептора (Nrp-1^{Sema-}) наблюдали увеличение количества остеокластов и выраженную остеопению костей [18]. Локальное введение семафорина 3А мышам с экспериментальной травмой ускоряло процесс восстановления кости, а внутривенное введение мышам с удалёнными яичниками (модель остеопороза после менопаузы) оказывало остеопротективный эффект. Это позволяет рассматривать семафорин 3А как перспективный препарат для лечения заболеваний костей [18] и суставов [66].

Таким образом, основные эффекты семафорина 3А в отношении макрофагов — это стимуляция миграции, модуляция синтеза цитокинов, а также влияние на поляризацию и дифференцировку этих клеток.

ОТКРЫТИЕ ХЕМОРЕПЕЛЛЕНЦИИ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ИММУНОЛОГИИ

Хемотаксис — направленная миграция клеток по градиенту химического вещества — является одним из фундаментальных процессов живых организмов. В настоящее время хемотаксис считается двунаправленным процессом и может происходить как в сторону повышения градиента химического вещества (хемоттракция), так и в противоположную сторону (хемореппелляция), что регулируется балансом хемоттрактантов и хемореппеллентов в клеточном микроокружении [69].

Однако в течение длительного времени хемотаксис клеток иммунной системы рассматривали только с позиций хемоттракции. Несмотря на то что ещё в ранних работах (1939 г.) было описано хемореппеллентное действие силиката алюминия на лейкоциты человека и кролика [70], этот эффект практически не изучался.

Открытие хемореппелляции в конце 1990-х гг. в нервной системе, где семафорин-3 класса и некоторые другие нейрональные факторы оказывают отталкивающее действие на конус роста аксона, отклоняя его от прорастания в не предусмотренные для этого области [71], послужило стимулом для исследований хемореппелляции клеток иммунной системы уже на новом уровне.

Первыми иммунологическими факторами, для которых был показан хемореппеллентный эффект, оказались два известных хемокина — SDF-1/CXCL12 и IL-8. В повышенных концентрациях SDF-1 проявлял свою активность не как хемоттрактант, а как хемореппеллент в отношении Т-лимфоцитов [72], в то время как IL-8 оказывал аналогичный эффект в отношении своих клеток-мишеней — нейтрофилов человека [73]. Появилось новое представление о направленной миграции клеток иммунной системы от химического вещества, для обозначения которого был предложен специальный термин — «фугетаксис» (от греческого *fugere* — избегать и *taxis* — движение), который, однако, не получил большого распространения [74].

Хемореппеллентный эффект самого семафорина 3А был также продемонстрирован не только в нервной, но и в иммунной системе. Впервые это было показано на тимоцитах человека [54], затем — на тимоцитах мыши [55] и дендритных клетках [16].

Явление хемореппелляции в иммунной системе играет важную роль как в норме, так и при патологии. Предполагают, что сортировка клеток на входе в различные органы может иметь значение для создания иммунологически привилегированных зон в организме; хемореппелленты могут регулировать выход Т-лимфоцитов из лимфоузлов и тимуса, а также их предшественников из костного мозга [74].

Имеются сведения об участии семафорин-3 класса, синтезируемых стромой тимуса, в процессе сортировки лимфоидных предшественников на входе в этот орган у мышей во время эмбрионального и раннего постнатального развития [75].

Изучался вопрос об участии семафорина 3А, как хемореппеллента, в эмиграции тимоцитов на периферию при росте перевиваемой опухоли [55]. Однако данных, подтверждающих это предположение, получено не было, поскольку ни экспрессия самого фактора, ни экспрессия его рецепторов в тимусе при росте гепатомы 22а не изменялись, так же как и трансэндотелиальная миграция тимоцитов в присутствии семафорина 3А.

Семафорин 3А, синтезируемый во многих опухолях, может оказывать выраженное негативное действие как хемореппеллент. Он способен усиливать выход малигнизированных клеток из опухолевого узла и повышать риск метастазирования [65]. Кроме того, семафорин 3А блокирует миграцию цитотоксических Т-лимфоцитов в опухоль, чем способствует её ускользанию от иммунного надзора [21].

Изучение хемореппелляции не только существенным образом обогащает наши представления о процессах миграции клеток в организме, но имеет и практическое значение. Хемореппелленты различного происхождения можно использовать для лечения воспалительных заболеваний с целью предотвращения избыточной миграции лейкоцитов в ткани [76], а также для подавления иммунологической атаки после трансплантации органов [74].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В начале 2000 гг. в научной литературе сформировалось представление об «иммунных семафоринах», как о группе нейрональных факторов с иммунорегуляторными свойствами [77]. Основное внимание было уделено семафоринам 4- и 7-классов, а семафорину 3А отводилось в этой категории очень скромное место. Его

рассматривали только как фактор, регулирующий миграцию лейкоцитов [1].

В 2012 г. появилась более полная характеристика семафорина 3А, которая является общепринятой и в настоящее время [3, 4, 7]. Семафорин 3А был представлен как фактор, осуществляющий двунаправленную регуляцию иммунного ответа – подавление функций Т-лимфоцитов и стимуляцию врождённого иммунитета [78]. В этой же публикации был приведён анализ первых сообщений о применении нейронального фактора для терапии иммуноопосредованных заболеваний в эксперименте и сформулировано новое представление о семафорине 3А, как о перспективном терапевтическом средстве для их лечения.

За последующие 10 лет изучение семафорина 3А происходило именно в этом направлении. В многочисленных экспериментальных работах нейрональный фактор, обладающий иммунорегуляторными и анти-ангиогенными свойствами, стали рассматривать как средство от многих болезней человека, включающих аллергические, аутоиммунные и онкологические заболевания [2–4]. При этом не было получено существенно новых данных о роли семафорина 3А в регуляции иммунного ответа при отсутствии патологии, единая концепция его влияния на иммунологические процессы не была сформирована, и наши знания об этом и сегодня имеют фрагментарный характер. В настоящем обзоре мы впервые попытались объединить все имеющиеся сведения по иммунорегуляторному действию семафорина 3А, полученные за последние 20 лет, и обсудить их с разных точек зрения.

Если рассматривать основные механизмы действия семафорина 3А на клетки иммунной системы, то основной точкой приложения является перестройка актинового цитоскелета и связанная с ней регуляция процессов миграции, адгезии и межклеточной кооперации.

Другим важным звеном иммунорегуляторного действия семафорина 3А является способность Nrp-1 и плексинов участвовать в проведении сигналов от неродственных семафорину факторов. Тем самым семафорин 3А может оказывать модулирующее действие в отношении различных клеточных активаторов, включающих ростовые факторы, хемокины или бактериальные продукты.

В одних случаях между семафоринем 3А и другими факторами возникают антагонистические взаимодействия. Так, например, семафорин 3А подавляет миграцию тимоцитов,

индуцированную SDF-1 [56] и миграцию макрофагов, индуцированную M-CSF [18], ингибирует пролиферацию клеток эпителия тимуса, активированную ростовыми факторами KGF и HGF [58], а также оказывает негативное влияние на дифференцировку остеокластов в присутствии RANKL [18]. В других случаях могут возникать синергические взаимодействия – семафорин 3А усиливает синтез провоспалительных цитокинов, индуцированных LPS, в макрофагах мышей [15].

Если проанализировать, на какие функции клеток иммунной системы влияет семафорин 3А, то основным действием этого фактора остаётся контроль миграции. Семафорин 3А регулирует миграцию всех рассматриваемых клеток, включая Т-лимфоциты [21, 23, 41], дендритные клетки [16, 22] и макрофаги [17, 60, 61, 63–65]. При этом, как и в нервной системе, это может происходить в виде хемоаттракции (для макрофагов) или в виде хемореппелленции (для дендритных клеток). Предполагается, что выбор направления движения по положительному или отрицательному градиенту определяется поляризацией клетки, асимметричным расположением рецепторов и адгезионных молекул, а также концентрацией вторичных мессенджеров – Ca^{2+} и циклических нуклеотидов [69, 79].

Кроме миграции, семафорин 3А влияет также на адгезию и межклеточную кооперацию в иммунной системе. Он подавляет адгезию тимоцитов [80] и $CD8^+$ Т-лимфоцитов мышей [21] к субстрату, формирование контактов между тимоцитами и эпителиальными клетками тимуса [54], а также между Т-лимфоцитами и дендритными клетками [20]. Кроме того, семафорин 3А проявляет ингибирующую активность при взаимодействии Т-лимфоцитов с опухолевыми клетками, которая выражается в подавлении адгезии [13] и цитотоксической активности Т-лимфоцитов [41].

Из других функций следует отметить негативное влияние семафорина 3А на пролиферативную активность Т-лимфоцитов [13, 19, 38] и тимоцитов [57], а также усиление апоптоза в Т-клеточных линиях [24] и макрофагах человека [25].

Немаловажный вопрос – где и при каких условиях в организме проявляется действие семафорина 3А. Этот фактор конститутивно экспрессируется в органах иммунной системы (тимусе, селезёнке, лимфатических узлах) [18, 54, 55], что предполагает его важную гомеостатическую роль. Концентрация семафорина 3А в сыворотке крови здоровых людей колеблется в

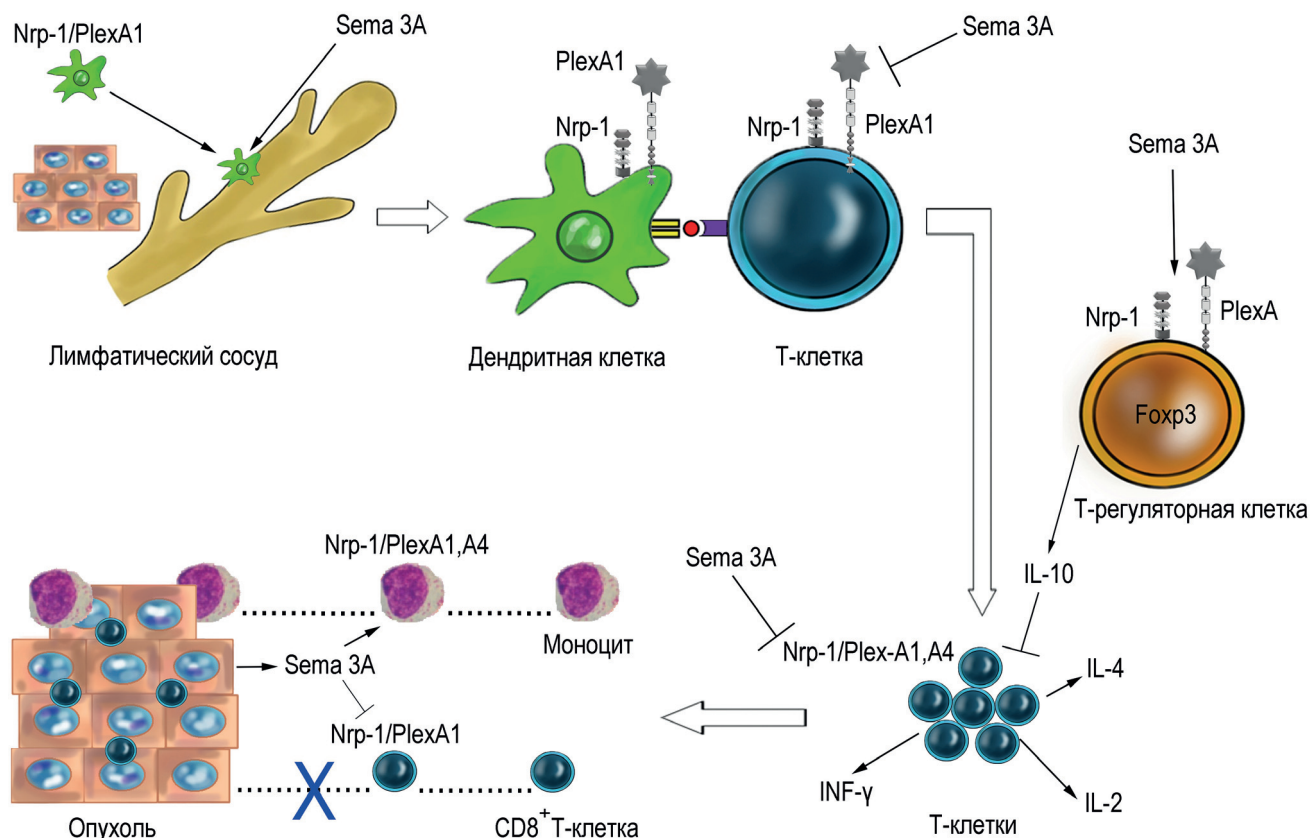


Рис. 3. Гипотетическая схема основных точек приложения действия семафорина 3A (Sema 3A) в иммунной системе (пояснения в тексте)

широких пределах (от 10 до 90 нг/мл и более) [2]. Приблизительно такие же концентрации (50–100 нг/мл) большинство авторов использует для изучения действия семафорина 3A *in vitro*. Из этого следует, что концентрация семафорина 3A в циркуляции достаточна для проявления его биологической активности. Однако находящиеся в периферической крови Т-лимфоциты и моноциты не имеют рецепторов семафорина 3A и, следовательно, не подвергаются его действию. Рецепторы появляются при активации клеток, и тогда они приобретают способность отвечать на семафорин 3A [25, 38, 40].

Кроме того, рецепторы семафорина 3A обнаруживаются на клетках иммунной системы, находящихся в тканях — на тканевых макрофагах и небольшой части Т-лимфоцитов. По-видимому, при отсутствии патологии этот фактор главным образом регулирует внутриканальную миграцию клеток, а также выход клеток из тканей в лимфоток, как это показано для дендритных клеток [16].

Роль семафорина 3A как внутриканального клеточного регулятора лучше всего изучена в

тимусе. Этот фактор конститутивно синтезируется эпителиальными клетками тимуса, а мишенями для действия семафорина 3A являются сами эпителиальные клетки и тимоциты [54, 55, 57–59]. Он регулирует миграцию тимоцитов, процесс адгезии/деадгезии тимоцитов и эпителиальных клеток, а также пролиферацию тимоцитов и эпителиальных клеток.

В условиях патологии локальные концентрации семафорина 3A в тканях могут существенно меняться. В таких случаях семафорин 3A, наряду с хемокинами и ростовыми факторами, может контролировать клеточный состав воспалительного инфильтрата, привлекая одни клетки и блокируя миграцию других. Например, при повышении содержания семафорина 3A в опухолях наблюдается усиленный приток туда макрофагов [60, 61, 63, 65] и подавление миграции CD8⁺ Т-лимфоцитов [21, 41].

Действие семафорина 3A, систематизированное по фазам иммунного ответа, представлено на рис. 3.

На этапе инициации иммунного ответа семафорин 3A действует как положительный

фактор, поскольку способствует выходу дендритных клеток из периферических тканей в лимфоток для их дальнейшей миграции в регионарные лимфатические узлы и презентации антигена Т-лимфоцитам [16].

На всех последующих этапах, связанных с участием Т-лимфоцитов, семафорин 3А оказывает негативный эффект: подавляет активацию Т-лимфоцитов и передачу сигнала от TCR во время презентации антигена [19, 20], ингибирует пролиферацию эффекторных CD4⁺ Т-лимфоцитов и синтез цитокинов [38, 46], активирует Т-регуляторные клетки, которые, в свою очередь, оказывают супрессорное действие [38, 39]. Предполагают, что эффект семафорина 3А вызывает терминацию процесса или предотвращение гиперактивации Т-лимфоцитов [19], однако конкретная роль этого фактора не установлена.

В ряде случаев при развитии патологии иммуносупрессорное действие семафорина 3А рассматривают как положительный фактор и предлагают использовать его экзогенное введение для лечения аутоиммунных и аллергических заболеваний в эксперименте [2, 4]. В то же время при росте опухолей, продуцирующих этот фактор (рис. 3), его ингибирующее действие может играть негативную роль — подавлять противоопухолевый иммунитет, вызывая ингибицию миграции, адгезии и цитотоксической активности CD8⁺ Т-лимфоцитов [13, 21, 41]. В этом случае применяют противоположную тактику и разрабатывают способы блокирования семафорина 3А и его рецепторов в организме [21, 41]. Клинические запросы обуславливают необходимость проведения дальнейших исследований для определения значимости вклада семафорина 3А в регуляцию Т-клеточного иммунного ответа.

Остаётся нерешённым вопрос о биологической роли рецепторов семафорина 3А (Ngr-1 и PlexA1) в иммунном синапсе, которые являются его компонентами как со стороны Т-лимфоцитов, так и дендритных клеток [14, 19, 20, 34, 35]. Если для Т-лимфоцитов взаимодействие этих рецепторов с семафорин 3А и его негативный эффект показаны, то лиганды, с которыми взаимодействуют эти рецепторы на дендритных клетках, ещё не определены. Необходимость присутствия этих рецепторов на дендритных клетках для проявления их способности активировать Т-лимфоциты, возможно, и не связана с семафорин 3А, что, однако, требует экспериментального подтверждения.

В настоящий момент предположение о том, что при взаимодействии двух клеток друг с другом некий фактор одну из них мог бы подавлять, а другую — стимулировать, представляется весьма сомнительным.

Отличительной особенностью семафорина 3А является его способность, параллельно с ингибацией Т-клеточного звена иммунитета, оказывать стимулирующее действие на клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы. Этот фактор, прежде всего, является хемоаттрактантом для моноцитов и макрофагов, что показано у мышей *in vivo* и *in vitro* [17, 60, 61, 63]. Однако мы не можем прямо переносить эти экспериментальные данные на организм человека, поскольку в экспрессии рецепторов семафорина 3А существуют межвидовые различия. У человека, в отличие от мышей [60, 61], рецепторы семафорина 3А на моноцитах крови практически отсутствуют [22, 25, 34, 38], что указывает на потенциальную возможность взаимодействия данного фактора только с активированными моноцитами.

Семафорин 3А не является стимулятором таких функций макрофагов, как продукция провоспалительных цитокинов и хемокинов [15, 38, 63], но может модулировать ответ макрофагов на другие активирующие стимулы (например, на LPS и IFN- γ) [15, 63, 66]. Однако результаты этих работ противоречат друг другу и не позволяют однозначно охарактеризовать семафорин 3А как провоспалительный или как противовоспалительный фактор. Кроме того, в настоящее время не представляется возможным дать утвердительный ответ на вопрос, способствует ли семафорин 3А поляризации макрофагов в направлении M1- [66] или M2-фенотипа [63].

Между тем ответы на нерешённые вопросы по влиянию семафорина 3А на макрофаги важны для оценки роли этого фактора в патогенезе таких заболеваний, как ревматоидный артрит [66], сепсис [15] и опухолевый рост [60, 63], поскольку определяют стратегию применения семафорина 3А в качестве лечебного средства. Пока здесь нет единого мнения: одни авторы предлагают вводить семафорин 3А в организм как противовоспалительный фактор, как, например, при ревматоидном артрите [66], другие считают, что с этой же целью нужно нейтрализовать действие семафорина 3А, как это показано при экспериментальном сепсисе [15, 67].

В настоящее время не вызывает сомнения, что семафорин 3А играет важную иммуно-

регуляторную роль в организме в нормальных и патологических условиях, что позволяет рассматривать этот фактор и его рецепторы как перспективные мишени для терапевтического воздействия. Дальнейшие исследования прольют свет на нерешённые вопросы и позволят обосновать новые подходы для лечения многих заболеваний человека.

Финансирование. Работа выполнена в рамках плановой темы НИР ФГБНУ «ИЭМ» FGWG-2022-0005 (рег. № 122020300186-5).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Delaire, S., Billard, C., Tordjman, R., Chedotal, A., Elhabazi, A., et al. (2001) Biological activity of soluble CD100. II. Soluble CD100, similarly to H-SemaIII, inhibits immune cell migration, *J. Immunol.*, **166**, 4348-4354.
2. Vadasz, Z., and Toubi, E. (2018) Semaphorin3A: A potential therapeutic tool in immune-mediated diseases, *Eur. J. Rheumatol.*, **5**, 58-61.
3. Toledano, S., Nir-Zvi, I., Engelman, R., Kessler, O., and Neufeld, G. (2019) Class-3 semphorins and their receptors: potent multifunctional modulators of tumor progression, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 556, doi: 10.3390/ijms20030556.
4. Kalmarzi, R. N., Rajabinejad, M., and Lotfi, R. (2020) Immune semaphorins: Crucial regulatory signals and novel therapeutic targets in asthma and allergic diseases, *Eur. J. Pharmacol.*, **881**, 173209, doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173209.
5. Alto, L. T., and Terman, J. R. (2017) Semaphorins and their signaling mechanisms, *Methods Mol. Biol.*, **1493**, 1-25, doi: 10.1007/978-1-4939-6448-2_1.
6. Chapoval, S. P. (2018) Neuroimmune semaphorins as costimulatory molecules and beyond, *Mol. Med.*, **24**, 13, doi: 10.1186/s10020-018-0014-9.
7. Nakanishi, Y., Kang, S., and Kumanogoh, A. (2021) Neural guidance factors as hubs of immunometabolic cross-talk, *Int. Immunol.*, **33**, 749-754, doi: 10.1093/intimm/dxab035.
8. Chuckran, C. A., Liu, C., Bruno, T. C., Workman, C. J., and Vignali, D. A. A. (2020) Neuropilin-1: A checkpoint target with unique implications for cancer immunology and immunotherapy, *J. Immunother. Cancer*, **8**, e000967, doi: 10.1136/jitc-2020-000967.
9. Niland, S., and Eble, J. A. (2020) Neuropilin: Handyman and power broker in the tumor microenvironment, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1223**, 31-67.
10. Raper, J. A., and Kapfhammer, J. P. (1990) The enrichment of a neuronal growth cone collapsing activity from embryonic chick brain, *Neuron*, **4**, 21-29.
11. Janssen, B. J., Malinauskas, T., Weir, G. A., Cader, M. Z., Siebold, C., et al. (2012) Neuropilins lock secreted semaphorins onto plexins in a ternary signaling complex, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **19**, 1293-1299, doi: 10.1038/nsmb.2416.
12. Valdembrì, D., Regano, D., Maione, F., Giraudò, E., and Serini, G. (2016) Class 3 semaphorins in cardiovascular development, *Cell Adhes. Migr.*, **10**, 641-651.
13. Catalano, A., Caprari, P., Moretti, S., Faronato, M., Tamagnone, L., et al. (2006) Semaphorin-3A is expressed by tumor cells and alters T-cell signal transduction and function, *Blood*, **107**, 3321-3329.
14. Eun, S.-Y., O'Connor, B. P., Wong, A. W., van Deventer, H. W., Taxman, D. J., et al. (2006) Cutting edge: Rho activation and actin polarization are dependent on Plexin-A1 in dendritic cells, *J. Immunol.*, **177**, 4271-4275.
15. Wen, H., Lei, Y., Eun, S.-Y., and Ting, J. P. (2010) Plexin-A4-semaphorin 3A signaling is required for Toll-like receptor and sepsis-induced cytokine storm, *J. Exp. Med.*, **207**, 2943-2957.
16. Takamatsu, H., Takegahara, N., Nakagawa, Y., Tomura, M., Taniguchi, M., et al. (2010) Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II, *Nat. Immunol.*, **11**, 594-600.
17. Dejda, A., Mawambo, G., Cerani, A., Miloudi, K., Shao, Z., et al. (2014) Neuropilin-1 mediates myeloid cell chemoattraction and influences retinal neuroimmune crosstalk, *J. Clin. Invest.*, **124**, 4807-4822, doi: 10.1172/JCI76492.
18. Hayashi, M., Nakashima, T., Taniguchi, M., Kodama, T., Kumanogoh, A., et al. (2012) Osteoprotection by semaphorin 3A, *Nature*, **485**, 69-74.
19. Lepelletier, Y., Moura, I. C., Hadj-Slimane, R., Renand, A., Fiorentino, S., et al. (2006) Immunosuppressive role of semaphorin-3A on T cell proliferation is mediated by inhibition of actin cytoskeleton reorganization, *Eur. J. Immunol.*, **36**, 1782-1793.
20. Tran-Van, H., Avota, E., Bortlein, C., Mueller, N., and Schneider-Schaulies, S. (2011) Measles virus modulates dendritic cell/T-cell communication at the level of plexinA1/neuropilin-1 recruitment and activity, *Eur. J. Immunol.*, **41**, 151-163, doi: 10.1002/eji.201040847.
21. Barnkob, M., Michaels, Y. S., André, V., Macklin, P. S., Gileadi, U., et al. (2019) Semaphorin 3A induces cytoskeletal paralysis in tumor-specific CD8⁺ T cells, *BioRxiv*, doi: 10/1101/849083.

22. Curreli, S., Wong, B. S., Latinovic, O., Konstantopoulos, K., and Stamatou, N. M. (2016) Class 3 semaphorins induce F-actin reorganization in human dendritic cells: role in cell migration, *J. Leukoc. Biol.*, **100**, 1323-1334.
23. Vincent, P., Collette, Y., Marignier, R., Vuillat, C., Rogemond, V., et al. (2005) A role for the neuronal protein collapsin response mediator protein 2 in T lymphocyte polarization and migration, *J. Immunol.*, **175**, 7650-7660.
24. Moretti, S., Procopio, A., Lazzarini, R., Rippo, M. R., Testa, R., et al. (2008) Semaphorin3A signaling controls Fas (CD95)-mediated apoptosis by promoting Fas translocation into lipid rafts, *Blood*, **111**, 2290-2299.
25. Ji, J. D., Park-Min, K. H., and Ivashkiv, L. B. (2009) Expression and function of semaphorin 3A and its receptors in human monocyte-derived macrophages, *Hum. Immunol.*, **70**, 211-217.
26. Majed, H. H., Chandran, S., Niclou, S. P., Nicholas, R. S., Wilkins, A., et al. (2006) A novel role for Sema3A in neuroprotection from injury mediated by activated microglia, *J. Neurosci.*, **26**, 1730-1738, doi: 10.1523/jneurosci.0702-05.2006.
27. Battin, C., Linhares, A. D. S., Paster, W., Isenman, D. E., Wahrman, M., et al. (2019) Neuropilin-1 acts as a receptor for complement split products, *Front. Immunol.*, **10**, 2209, doi: 10.3389/fimmu.2019.02209.
28. Daly, J. L., Simonetti, B., Klein, K., Chen, K. E., Williamson, M. K., et al. (2020) Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection, *Science*, **370**, 861-865, doi: 10.1126/science.abd3072.
29. Takegahara, N., Takamatsu, H., Toyofuku, T., Tsujimura, T., Okuno, T., et al. (2006) Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis, *Nat. Cell Biol.*, **8**, 615-622, doi: 10.1038/ncb1416.
30. Fujisawa, H., Ohta, K., Kameyama, T., and Murakami, Y. (1997) Function of a cell adhesion molecule, plexin, in neuron network formation, *Dev. Neurosci.*, **9**, 101-105.
31. Takagi, S., Kasuya, Y., Shimizu, M., Matsuura, T., Tsuboi, M., et al. (1995) Expression of a cell adhesion molecule, neuropilin, in the developing chick nervous system, *Dev. Biol.*, **170**, 207-222.
32. Valdembrì, D., Caswell, P. T., Anderson, K. I., Schwarz, J. P., König, I., et al. (2009) Neuropilin-1/GIPC1 signaling regulates $\alpha 5 \beta 1$ integrin traffic and function in endothelial cells, *PLoS Biol.*, **7**, e1000025.
33. Rutto, K. V., Kudryavtsev, I. V., and Kisseleva, E. P. (2018) Adhesion of thymocytes to the thymic epithelial cells and participation of neuropilin-1 and plexin A1 in the adhesion, *Cell Tissue Biol.*, **12**, 373-381, doi: 10.1134/S1990519X18050073.
34. Tordjman, R., Lepelletier, Y., Lemarchandel, V., Cambot, M., Gaulard, P., et al. (2002) A neuronal receptor, neuropilin-1, is essential for the initiation of the primary immune response, *Nat. Immunol.*, **3**, 477-482.
35. Sarris, M., Andersen, K. G., Randow, F., Mayr, L., and Betz, A. G. (2008) Neuropilin-1 expression on regulatory T cells enhances their interactions with dendritic cells during antigen recognition, *Immunity*, **28**, 402-413.
36. Delgoffe, G. M., Woo, S.-R., Turnis, M. E., Gravano, D. M., Guy, C., et al. (2013) Stability and function of regulatory T cells is maintained by a neuropilin-1-semaphorin-4a axis, *Nature*, **501**, 252-256, doi: 10.1038/nature12428.
37. Glinka, Y., and Prud'homme, G. J. (2008) Neuropilin-1 is a receptor for transforming growth factor β -1, activates its latent form, and promotes regulatory T cell activity, *J. Leukoc. Biol.*, **84**, 302-310.
38. Catalano, A. (2010) The neuroimmune semaphorin-3A reduces inflammation and progression of experimental autoimmune arthritis, *J. Immunol.*, **185**, 6373-6383, doi: 10.4049/jimmu.nol.0903527.
39. Cozakov, R., Halasz, K., Haj, T., and Vadasz, Z. (2017) Semaphorin 3A: Is a key player in the pathogenesis of asthma, *Clin. Immunol.*, **184**, 70-72, doi: 10.1016/j.clim.2017.05.011.
40. Milpied, P., Renand, A., Bruneau, J., Mendes-da-Cruz, D. A., Jacquelin, S., et al. (2009) Neuropilin-1 is not a marker of human Foxp3⁺ Treg, *Eur. J. Immunol.*, **39**, 1466-1471.
41. Leclerc, M., Voilin, E., Gros, G., Cognac, S., de Montpréville, V., et al. (2019) Regulation of antitumour CD8 T-cell immunity and checkpoint blockade immunotherapy by Neuropilin-1, *Nat. Commun.*, **10**, 3345, doi: 10.1038/s41467-019-11280-z.
42. Chaudhary, B., and Elkord, E. (2015) Novel expression of Neuropilin 1 on human tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer liver metastases, *Expert Opin. Ther. Targets*, **19**, 147-161.
43. Takagawa, S., Nakamura, F., Kumagai, K., Nagashima, Y., Goshima, Y., et al. (2013) Decreased Semaphorin3A expression correlates with disease activity and histological features of rheumatoid arthritis, *BMC Musculoskelet. Disord.*, **14**, 40, doi: 10.1186/1471-2474-14-40.
44. Corbel, C., Lemarchandel, V., Thomas-Vaslin, V., Pelus, A. S., Agboton, C., et al. (2007) Neuropilin 1 and CD25 co-regulation during early murine thymic differentiation, *Dev. Comp. Immunol.*, **31**, 1082-1094.
45. Wong, A. W., Brickey, W. J., Taxman, D. J., van Deventer, H. W., Reed, W., et al. (2003) CHITA-regulated plexin-A1 affects T-cell-dendritic cell interactions, *Nat. Immunol.*, **4**, 891-898.
46. Yamamoto, M., Suzuki, K., Okuno, T., Ogata, T., Takegahara, N., et al. (2008) Plexin-A4 negatively regulates T lymphocyte responses, *Int. Immunol.*, **20**, 413-420.
47. Battaglia, A., Buzzonetti, A., Monego, G., Peri, L., Ferrandina, G., et al. (2008) Neuropilin-1 expression identifies a subset of regulatory T cells in human lymph nodes that is modulated by preoperative chemoradiation therapy in cervical cancer, *Immunology*, **123**, 129-138.

48. Jung, K., Kim, J.-A., Kim, Y.-J., Lee, H. W., Kim, C.-H., et al. (2020) A Neuropilin-1 antagonist exerts antitumor immunity by inhibiting the suppressive function of intratumoral regulatory T cells, *Cancer Immunol. Res.*, **8**, 46-56.
49. E, X. Q., Meng, H. X., Cao, Y., Zhang, S. Q., Bi, Z. G., et al. (2012) Distribution of regulatory T cells and interaction with dendritic cells in the synovium of rheumatoid arthritis, *Scand. J. Rheumatol.*, **41**, 413-420, doi: 10.3109/03009742.2012.696135.
50. Smyth, L. J., Starkey, C., Vestbo, J., and Singh, D. (2007) CD4-regulatory cells in COPD patients, *Chest*, **132**, 156-163, doi: 10.1378/chest.07-0083.
51. Bruder, D., Probst-Kepper, M., Westendorf, A. M., Geffers, R., Beissert, S., et al. (2004) Neuropilin-1: A surface marker of regulatory T cells, *Eur. J. Immunol.*, **34**, 623-630.
52. Weiss, J. M., Bilate, A. M., Gobert, M., Ding, Y., Curotto de Lafaille, M. A., et al. (2012) Neuropilin 1 is expressed on thymus-derived natural regulatory T cells, but not mucosa-generated induced Foxp3⁺ T reg cells, *J. Exp. Med.*, **209**, 1723-1742.
53. Solomon, B. D., Mueller, C., Chae, W. J., Alabanza, L. M., and Bynoe, M. S. (2011) Neuropilin-1 attenuates autoreactivity in experimental autoimmune encephalomyelitis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 2040-2045, doi: 10.1073/pnas.1008721108.
54. Lepelletier, Y., Smaniotto, S., Hadj-Slimane, R., Villa-Verde, D. M., Nogueira, A. C., et al. (2007) Control of human thymocyte migration by Neuropilin-1/Semaphorin-3A-mediated interactions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 5545-5550.
55. Киселева Е. П., Лямина И. В., Цвиркун С. А., Рутто К. В., Кудрявцев И. В., и др. (2013) Изучение роли семафорина 3А в тимусе в норме и при опухолевом росте, *Мед. академ. журн.*, **13**, 42-48.
56. Garcia, F., Lepelletier, Y., Smaniotto, S., Hadj-Slimane, R., Dardenne, M., et al. (2012) Inhibitory effect of semaphorin-3A, a known axon guidance molecule in the human thymocyte migration induced by CXCL12, *J. Leukoc. Biol.*, **91**, 7-13.
57. Rutto, K. V., Lyudyno, V. I., Kudryavtsev, I. V., and Kiseleva, E. P. (2020) Semaphorin-3A inhibits proliferation, but does not affect apoptosis of mouse thymocytes *in vitro*, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **168**, 352-355, doi: 10.1007/s10517-020-04707-x.
58. Rutto, K. V., Ovsyukov, K. S., Kudryavtsev, I. V., and Kiseleva, E. P. (2019) Semaphorin 3A negatively affects proliferation of mouse thymus epithelial cell *in vitro*, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **166**, 339-343, doi: 10.1007/s10517-019-04346-x.
59. Mendes-da-Cruz, D. A., Lepelletier, Y., Brignier, A. C., Smaniotto, S., et al. (2009) Neuropilins, semaphorins, and their role in thymocyte development, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1153**, 20-28.
60. Carrer, A., Moimas, S., Zacchigna, S., Pattarini, L., Zentilin, L., et al. (2012) Neuropilin-1 identifies a subset of bone marrow Gr1 monocytes that can induce tumor vessel normalization and inhibit tumor growth, *Cancer Res.*, **72**, 6371-6381, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0762.
61. Casazza, A., Laoui, D., Wenes, M., Rizzolio, S., Bassani, N., et al. (2013) Impeding macrophage entry into hypoxic tumor areas by Sema3A/Nrp1 signaling blockade inhibits angiogenesis and restores antitumor immunity, *Cancer Cell*, **24**, 695-709.
62. Stepanova, O. I., Krylov, A. V., Liudyno, V. I., and Kisseleva, E. P. (2007) Gene expression for VEGF-A, VEGF-C, and their receptors in murine lymphocytes and macrophages, *Biochemistry (Moscow)*, **72**, 1194-1198.
63. Wallerius, M., Wallmann, T., Bartish, M., Ostling, J., Mezheyeuski, A., et al. (2016) Guidance molecule SEMA3A restricts tumor growth by differentially regulating the proliferation of tumor-associated macrophages, *Cancer Res.*, **76**, 3166-3178.
64. Zacchigna, S., Pattarini, L., Zentilin, L., Moimas, S., Carrer, A., et al. (2008) Bone marrow cells recruited through the neuropilin-1 receptor promote arterial formation at the sites of adult neoangiogenesis in mice, *J. Clin. Invest.*, **118**, 2062-2075, doi: 10.1172/JCI32832.
65. Hu, Z.-Q., Zhou, S.-L., Zhou, Z.-J., Luo, C.-B., Chen, E.-B., et al. (2016) Overexpression of semaphorin 3A promotes tumor progression and predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma after curative resection, *Oncotarget*, **7**, 51733-51746.
66. Teng, Y., Yin, Z., Li, J., Li, K., Li, X., and Zhang, Y. (2017) Adenovirus-mediated delivery of Sema3A alleviates rheumatoid arthritis in a serum-transfer induced mouse model, *Oncotarget*, **8**, 66270-66280.
67. Yamashita, N., Jitsuki-Takahashi, A., Ogawara, M., Ohkubo, W., Araki, T., et al. (2015) Anti-Semaphorin 3A neutralization monoclonal antibody prevents sepsis development in lipopolysaccharide-treated mice, *Int. Immunol.*, **27**, 459-466, doi: 10.1093/intimm/dxv014.
68. Martinez, F. O., and Gordon, S. (2014) The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment, *F1000Prime Rep.*, **6**, 13, doi: 10.12703/P6-13.
69. Huttenlocher, A., and Poznansky, M. C. (2008) Reverse leukocyte migration can be attractive or repulsive, *Trends Cell Biol.*, **18**, 298-306, doi: 10.1016/j.tcb.2008.04.001.
70. McCutcheon, M., Coman, D. R., and Dixon, H. M. (1939) Negative chemotropism in leukocytes, *Arch. Pathol.*, **17**, 61-68.
71. Polleux, F., Giger, R. J., Ginty, D. D., Kolodkin, A. L., and Ghosh, A. (1998) Patterning of cortical efferent projections by semaphorin-neuropilin interactions, *Science*, **282**, 1904-1906.
72. Poznansky, M. C., Olszak, I. T., Foxall, R., Evans, R. H., Luster, A. D., et al. (2000) Active movement of T cells away from a chemokine, *Nat. Med.*, **6**, 543-548.
73. Tharp, W. G., Yadav, R., Irimia, D., Upadhyaya, A., Samadani, A., et al. (2006) Neutrophil chemorepulsion in defined interleukin-8 gradients

- in vitro* and *in vivo*, *J. Leukoc. Biol.*, **79**, 539-554, doi: 10.1189/jlb.0905516.
74. Vianello, F., Olszak, I. T., and Poznansky, M. C. (2005) Fugetaxis: Active movement of leukocytes away from chemokinetic gradient, *J. Mol. Med.*, **83**, 752-763.
 75. Takahashi, K., Ishida, M., Hirokawa, K., and Takahashi, H. (2008) Expression of the semaphorins Sema 3D and Sema 3F in the developing parathyroid and thymus, *Dev. Dyn.*, **237**, 1699-1708.
 76. Herlihy, S. E., Brown, M. L., Pilling, D., Weeks, B. R., Myers, L. K., et al. (2015) Role of the neutrophil chemorepellent soluble dipeptidyl peptidase IV in decreasing inflammation in a murine model of arthritis, *Arthritis Rheumatol.*, **67**, 2634-2638, doi: 10.1002/art.39250.
 77. Kumanogoh, A., and Kikutani, H. (2003) Immune semaphorins: a new area of semaphorin research, *J. Cell Sci.*, **116** (Pt 17), 3463-3470, doi: 10.1242/jcs.00674.
 78. Takamatsu, H., and Kumanogoh, A. (2012) Diverse roles for semaphorin-plexin signaling in the immune system, *Trends Immunol.*, **33**, 127-135, doi: 10.1016/j.it.2012.01.008.
 79. Tojima, T., Hines, J. H., Henley, J. R., and Kamiguchi, H. (2011) Second messengers and membrane trafficking direct and organize growth cone steering, *Nat. Rev. Neurosci.*, **12**, 191-203, doi: 10.1038/nrn2996.
 80. Lins, M. P., Silva, E. C. O., Silva, G. R., Souza, S. T., Medeiros, N. C., et al. (2018) Association between biomechanical alterations and migratory ability of semaphorin-3A-treated thymocytes, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.*, **1862**, 816-824, doi: 10.1016/j.bbagen.2018.01.001.

SEMAPHORIN 3A IN THE IMMUNE SYSTEM: TWENTY YEARS OF STUDY

Review

E. P. Kiseleva^{1,2*} and K. V. Rutto¹

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine", 197376 St. Petersburg, Russia; e-mail: ekissele@yandex.ru

² North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, 195067 St. Petersburg, Russia

Semaphorin 3A is a secreted glycoprotein, which was originally identified as axon guidance factor in the neuronal system, but it also possesses immunoregulatory properties. Here, the effect of semaphorin 3A on T-lymphocytes, myeloid dendritic cells and macrophages is systematically analysed on the bases of all publications available in the literature for 20 years. Expression of semaphorin 3A receptors – neuropilin-1 and plexins A – in these cells is described in details. The data obtained on human and murine cells are considered at a comparative aspect. Here for the first time we presented a comprehensive overview on the interaction of semaphorin 3A with mononuclear phagocyte system. Semaphorin signaling mostly results in changes of the cytoskeletal machinery and cellular morphology that regulate pathways involved in migration, adhesion and cell-cell cooperation of immune cells. Accumulating evidence indicates that this factor is crucially involved in various phases of immune responses, including the initiation phase, antigen presentation, effector T-cell function, inflammation phase, macrophage activation and polarization. In recent years, the interest in this field has increased significantly because semaphorin 3A participates in the pathogenesis of many human diseases and therefore can be used for treatment. Its involvement in the immune responses is important to study, because semaphorin 3A and its receptors turn to be a promising new therapeutic tools to be applied in many autoimmune, allergic and oncology diseases.

Keywords: semaphorin 3A, neuropilin-1, plexin, T-lymphocytes, dendritic cells, macrophages