

Т-ЛИМФОЦИТЫ КАК МИШЕНИ ДЛЯ SARS-CoV-2

Обзор

© 2022 Е.М. Куклина

ФГБУН Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН,
«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН»,
614081 Пермь, Россия; электронная почта: ibis_07@mail.ru

Поступила в редакцию 19.04.2022

После доработки 17.05.2022

Принята к публикации 17.05.2022

Несмотря на многочисленные данные об отсутствии или слабой экспрессии Т-клетками главного функционального рецептора SARS-CoV-2, ангиотензин I-превращающего фермента 2 (ACE2), последние данные литературы демонстрируют способность нового коронавируса эффективно инфицировать Т-лимфоциты. Обзор посвящён анализу этих работ: он рассматривает альтернативные (ACE2-независимые) пути инфицирования клеток, определяет Т-клеточные субпопуляции, служащие наиболее вероятными мишенями SARS-CoV-2, обсуждает формат взаимодействия вируса с клеткой, включая как инфекционные, так и неинфекционные механизмы регуляции Т-лимфоцитов, а также оценивает роль вирус-зависимого поражения Т-лимфоцитов в патогенезе COVID-19. Особое внимание уделено регуляторным Т-клеткам, как потенциальным мишеням SARS-CoV-2, а также возможному участию экзосом в регуляции чувствительности к вирусу Т-лимфоцитов, присутствующих в периферических тканях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: SARS-CoV-2, Т-лимфоциты, ACE2, CD147, Treg.

DOI: 10.31857/S0320972522060069, **EDN:** AUEWQV

ВВЕДЕНИЕ

Коронавирус 2019 г., вызывающий тяжёлый острый респираторный синдром (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2), имеет тропность к широкому спектру клеток и тканей, прежде всего к эпителиальным клеткам лёгких и респираторного тракта, к сосудистому эндотелию, а также к клеткам кишечника, печени, почек, мозга [1], что обуславливает многообразие клинических проявлений и пост-ковидных осложнений. Тропность вируса определяется наличием на клетках-мишенях

рецепторов к различным поверхностным структурам вируса, в первую очередь к белку шипа (Spike, S-белок). Главным функциональным рецептором SARS-CoV-2 является ангиотензин I-превращающий фермент 2 (angiotensin I-converting enzyme 2, ACE2) – он распознает S-белок вируса, а сериновые протеазы клетки-мишени, выступая в роли корецепторов, обеспечивают проникновение вируса в клетку [1, 2]. Характер распределения ACE2 в тканях организма в целом совпадает с профилем инфицирования SARS-CoV-2 [1].

Клетки иммунной системы и, в частности Т-лимфоциты, первоначально не рассматривались в качестве потенциальных мишеней SARS-CoV-2, исходя из данных об отсутствии экспрессии рецептора для вируса (ACE2) в лимфоидных органах – селезёнке, тимусе и лимфатических узлах человека [3], а также в различных субпопуляциях циркулирующих Т-лимфоцитов [4]. Однако интенсивные исследования последних лет позволили идентифицировать альтернативные рецепторы SARS-CoV-2, некоторые из

Принятые сокращения: ACE2 – ангиотензин I-превращающий фермент 2; ASGR1 – асиалогликопротеиновый рецептор I; AXL – рецепторная тирозинкиназа; CD – мембранные маркёры лейкоцитов; COVID – болезнь, вызываемая коронавирусом; KREMEN1 – Kringle-домен-содержащий трансмембранный белок I; MOI – множественность заражения; N-белок – нуклеокапсидный белок; RBD – рецептор-связывающий домен; S-белок – белок шипа вируса; SARS-CoV – коронавирус, вызывающий тяжёлый острый респираторный синдром; TCR – Т-клеточный рецептор; Treg – регуляторные Т-лимфоциты.

которых представлены на мембране Т-клеток. Так, трансмембранный гликопротеин CD147 [5] конститутивно экспрессируется интактными CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитами периферической крови человека и существенно усиливает экспрессию в ответ на поликлональную активацию клеток [5], так же, как и другой кандидат на роль рецептора для SARS-CoV-2 – рецепторная тирозинкиназа AXL [6, 7]. А экспрессия гена Kringle-домен-содержащего трансмембранного белка 1 (Kringle containing transmembrane protein 1, KREMEN1) выявлена в субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) [8, 9]. И хотя в традиционных тканях-мишенях вируса эти рецепторы играют вспомогательную роль [7, 8], они могут выходить на первый план в ACE2-дефицитных клетках – например, в иммунных.

Эти данные подняли вопрос о Т-лимфоцитах, как о потенциальных мишенях нового коронавируса. На сегодняшний день имеется 6 независимых работ, с разной степенью детализации продемонстрировавших способность нового коронавируса SARS-CoV-2 инфицировать Т-лимфоциты человека. Настоящий обзор посвящён анализу данных работ, обсуждению возможных механизмов инфицирования Т-клеток и вклада этих механизмов в патогенез COVID-19.

РЕЦЕПТОРЫ SARS-CoV-2

Молекула ACE2, ключевой компонент ренин-ангиотензиновой системы, идентифицирована как основной входной рецептор для SARS-CoV-2 [1, 2], так же, как и для родственного коронавируса 2003 г., SARS-CoV-1 [10]. ACE2 связывается с S-белком SARS-CoV-2 через С-терминальный домен S1-субъединицы, так называемый рецептор-связывающий домен (receptor-binding domain, RBD) [1, 2]. Следующим шагом в ACE2-зависимом инфицировании клетки SARS-CoV-2 является протеолитическое расщепление S-белка вируса между S1/S2-субъединицами и при S2'-сайте, что приводит к высвобождению фузогена – фактора, обеспечивающего слияние оболочки вируса с мембраной клетки-мишени [2]. Слияние может происходить двумя путями – на клеточной мембране после связывания рецептора или в эндосоме после поглощения вириона. В последнем случае оболочка вируса сливается с эндосомальной мембраной. Расщепление S-белка осуществляется сериновыми протеазами клетки-хозяина, в пер-

вую очередь TMPRSS2 и фурином [2, 11]. Эндосомальные цистеиновые протеазы, катепсины В и L (CatB/L), также вносят вклад в этот процесс, хотя делают это только альтернативным путём, после эндоцитоза вириона [2]. Молекула ACE2 широко представлена в тканях человека с максимальной экспрессией на альвеолярных и бронхиальных эпителиальных клетках, энтероцитах, сосудистом эндотелии [1, 3]. Такой характер распределения рецепторов совпадает с профилем инфицирования SARS-CoV-2 [1], но не объясняет преимущественного повреждения клеток лёгких и дыхательных путей. Фурин также выявляется повсеместно, тогда как экспрессия TMPRSS2 носит ограниченный характер с максимумом как раз на пневмоцитах, что, как полагают, вносит вклад в распространение вируса и специфику патологии [12, 13].

Однако ACE2 – не единственный рецептор SARS-CoV-2. Недавние исследования выявили ещё целый ряд кандидатов на эту роль. Первый и главный из них – CD147, трансмембранный белок семейства иммуноглобулинов (известный также как басигин или EMMPRIN), участвующий в инвазии *Plasmodium falciparum* [14], некоторых бактериальных и вирусных инфекциях [15, 16], включая и коронавирус 2003 г., SARS-CoV-1 [17]. В 2020 г. Wang et al. [5] сообщили о прямом взаимодействии CD147 с S-белком SARS-CoV-2 и его участии в инфицировании клетки вирусом – на основе связи инфективности SARS-CoV-2 с уровнем экспрессии CD147 на клетках-мишенях. Правда, две работы 2021 г. не выявили прямого взаимодействия CD147 с рекомбинантным S-белком SARS-CoV-2 [18, 19], равно как и изменения уровня инфицирования клеток вирусом в случае подавления экспрессии гена, кодирующего CD147 [18], или функциональной блокады данной молекулы [19]. Тем не менее последняя работа по данной проблеме [20] подтвердила результаты, полученные Wang et al. [5]. Таким образом, вопрос о роли CD147 в инфицировании клеток SARS-CoV-2 до конца не решён и требует дальнейших исследований – возможно, CD147 участвует в этом процессе не напрямую. Молекула CD147 широко представлена в различных тканях: она экспрессируется эпителиальными и нейронными клетками, а также лейкоцитами – отсюда её название, CD147, в соответствии с номенклатурой лейкоцитарных дифференцировочных антигенов [4].

Другие кандидаты на роль рецепторов, обеспечивающих вход SARS-CoV-2 в клетку, –

рецепторная тирозинкиназа AXL [7], а также трансмембранный белок KREMEN1 и асиалогликопротеиновый рецептор 1 (Asialoglycoprotein receptor 1, ASGR1) [8].

Рецепторная тирозинкиназа AXL широко представлена в различных органах и тканях человека и регулирует многие физиологические процессы, включая клеточное выживание, пролиферацию и дифференцировку [21, 22]. Показано, что она специфически связывается с *N*-терминальным доменом S1-субъединицы S-белка SARS-CoV-2, но не с классическим RBD [7], и опосредует вход вируса в клетку: блокада экспрессии AXL существенно снижает инфицирование клеток лёгочной линии SARS-CoV-2, тогда как сверхэкспрессия этого фактора промотирует вирусную инфекцию [7]. Тем не менее репликация вируса в клетках лёгких лишь незначительно подавляется на фоне блокады AXL [7], указывая на второстепенную роль данного фактора в традиционных мишенях SARS-CoV-2.

Два дополнительных рецептора для вируса – трансмембранные белки ASGR1 и KREMEN1: ASGR1 опосредует эндоцитоз и лизосомальную деградацию ряда гликопротеинов, играя критическую роль в их гомеостазе [23], а KREMEN1 участвует в регуляции WNT-зависимого сигнала [24], и оба фактора служат входными рецепторами для многих вирусов [25], включая и новый коронавирус. Молекулы ASGR1 и KREMEN1 напрямую взаимодействуют с S-белком SARS-CoV-2 (как с *N*-терминальным доменом, так и с RBD), причём аффинность их связывания сопоставима с таковой для ACE2 [8, 26]. Эктопической экспрессии ASGR1 или KREMEN1 достаточно для входа SARS-CoV-2 в клетку [8], однако избыточная экспрессия этих рецепторов в ACE2-негативных клетках лишь частично восстанавливает инфективность SARS-CoV-2, с существенно меньшей эффективностью, чем в ACE2-позитивных [8].

Каждый из четырёх альтернативных рецепторов (CD147/AXL/KREMEN1/ASGR1) потенциально может опосредовать вход SARS-CoV-2 в клетку независимо от ACE2, обеспечивая дополнительные пути инфицирования вирусом различных тканей, хотя в традиционных ACE2-позитивных мишенях вируса их роль вторична.

В отличие от независимых рецепторов, есть ряд мембранных молекул, способных усиливать инфективность SARS-CoV-2, таких как нейропиплин-1 [27], сиаловые кислоты [28], гепаран-

сульфаты [29] или лектиновые рецепторы [30].

Нейропиплин-1 напрямую связывается с полиосновным мотивом в расщеплённой фурином S1-субъединице S-белка вируса и заметно усиливает инфицирование клетки: блокада такого взаимодействия с помощью РНК-интерференции или селективных ингибиторов снижает вход SARS-CoV-2 в клетку [27]. При этом нейропиплин-1 не способен вызывать инфицирование клетки вирусом самостоятельно, но эффективно делает это в случае коэкспрессии с ACE2 и TMPRSS2 [27]. Гепарансульфат – другой необходимый фактор, усиливающий инфицирование различных клеток-мишеней SARS-CoV-2 [29]. Он взаимодействует с RBD S-белка вируса в сайте, не перекрывающимся с мотивом, участвующим в контакте с ACE2. Связывание гепарансульфата инициирует трансформацию S-белка из закрытой конформации в открытую, повышая доступность RBD для связывания ACE2 [29]. Некоторые лектиновые рецепторы также участвуют в инфицировании клетки SARS-CoV-2 за счёт связывания гликанов, ассоциированных с S-белком [30]. Большинство лектинов С-типа взаимодействуют с сайтом S-белка за пределами RBD. И хотя такое связывание не способно напрямую индуцировать инфицирование клетки SARS-CoV-2, лектиновые рецепторы усиливают вход вируса в ACE2-позитивные клетки, выступая в качестве неспецифических «молекул прикрепления» для SARS-CoV-2 [30]. К тому же *N*-терминальный домен S1-субъединицы S-белка вируса содержит мотивы, связывающие сиаловые кислоты, и эти мотивы могут опосредовать взаимодействие вируса с различными сиалопротеинами, гликопротеинами или ганглиозидами на клеточной мембране [28]. Таким образом, хотя перечисленные выше неспецифические молекулы не являются самодостаточными, они вносят существенный вклад в инфицирование клетки SARS-CoV-2 – либо обеспечивая лучшее прикрепление вируса к поверхности клетки-мишени, либо изменяя конформацию S-белка, что приводит к появлению дополнительных сайтов связывания с рецептором или повышает доступность RBD для контакта с ACE2.

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ SARS-CoV-2 Т-ЛИМФОЦИТАМИ

Вопрос о наличии у Т-лимфоцитов главного функционального рецептора SARS-CoV-2 на

сегодняшний день является спорным. В 2004 г. Hamming et al. [3] продемонстрировали с помощью иммуногистохимического анализа отсутствие экспрессии ACE2 в лимфоцитах центральных и периферических лимфоидных органов человека, а именно: тимуса (число исследованных образцов, $n = 4$), селезёнки ($n = 4$) и лимфатических узлов ($n = 6$). Именно на эту работу до недавнего времени ссылались большинство авторов, высказывая сомнение в возможности инфицирования Т-клеток вирусом SARS-CoV-2 [31]. В подтверждение этих данных в 2020 г. Radzikowska et al. [4] показали отсутствие экспрессии генов, кодирующих ACE2 и TMPRSS2 в различных субпопуляциях Т-лимфоцитов периферической крови человека, включая наивные CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоциты и терминально дифференцированные эффекторные CD4⁺/CD8⁺ Т-клетки — правда, опять на ограниченной группе ($n = 4$). В то же время Bertram et al. [32] продемонстрировали, также с помощью иммуногистохимии, высокую стабильную экспрессию ACE2 и TMPRSS2 в лимфоидных клетках различных тканей респираторного и желудочно-кишечного тракта, включая респираторный синус, слизистые миндалины и ворсинки кишечника. А ещё в одном исследовании с помощью секвенирования РНК на уровне отдельного ядра (single-nuclei RNA sequencing analysis) [33] показана заметная экспрессия гена, кодирующего TMPRSS2, и в следовых количествах гена, кодирующего ACE2, Т-лимфоцитами, присутствующими в здоровой ткани лёгких онкологических пациентов ($n = 12$). Противоречия в представленных выше данных нет. В первом случае объектом исследования являлись преимущественно Т-клеточные предшественники или наивные Т-лимфоциты, тогда как во втором случае речь, по-видимому, идёт либо о лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми, либо об активированных Т-лимфоцитах, инфильтрирующих периферические ткани. Кроме того, размеры исследованных групп невелики, а экспрессия ACE2 генетически детерминирована. В итоге, имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют говорить об отсутствии конститутивной экспрессии ACE2 и TMPRSS2 основной популяцией Т-лимфоцитов, наивными $\alpha\beta$ Т-клетками, но не исключают присутствия данных молекул на отдельных Т-клеточных субпопуляциях, а также их появления в условиях стимуляции или провоспалительного окружения, особенно учитывая, что ген, кодирующий ACE2, является ин-

терферон-стимулируемым [34], а Т-лимфоциты активно отвечают на интерфероны.

Кроме того, возможен и ещё один механизм появления ACE2 на Т-клеточной мембране — он связан с экзосомами: клетки, не экспрессирующие или слабо экспрессирующие рецептор SARS-CoV-2, могут получать этот рецептор от других клеток с помощью экстраклеточных микровезикул, которые высвобождаются от поверхности любых клеток в норме или при стимуляции, содержат биомолекулы, такие как РНК и белки, и осуществляют межклеточную коммуникацию [35]. Известно, что ACE2 является традиционным компонентом микровезикул, которые способны переносить его в совместной культуре от клеток со сверхэкспрессией ACE2 клеткам-реципиентам, лишённым данного фактора [36]. Более того, в недавней работе показано присутствие ACE2⁺-микровезикул в плазме больных COVID-19 — их уровень имел высокую вариабельность и в целом был сопоставим с таковым у здоровых доноров, однако в группе больных COVID-19 количество ACE2⁺-микровезикул коррелировало с тяжестью заболевания [37].

В отличие от ACE2, недавно идентифицированный новый функциональный рецептор SARS-CoV-2, трансмембранный гликопротеин CD147 [5], конститутивно экспрессируется на мембране интактных CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов периферической крови человека и существенно усиливает экспрессию в ответ на поликлональную активацию клеток [5], так же, как и другой кандидат на роль рецептора для SARS-CoV-2 — рецепторная тирозинкиназа AXL [6]. А экспрессия гена трансмембранного белка KREMEN1 выявлена в субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов [9].

Таким образом, хотя вопрос об экспрессии Т-лимфоцитами главного функционального рецептора ACE2 не до конца ясен, убедительно подтверждено присутствие на мембране клеток альтернативных рецепторов SARS-CoV-2. И даже если в традиционных мишенях эти рецепторы играют второстепенную роль, они могут выходить на первый план в клетках с низкой экспрессией ACE2 или её отсутствием — например, в иммунных клетках.

Важно также отметить, что недавнее структурное компьютерное исследование иммунных рецепторов выявило целый ряд новых потенциальных мишеней SARS-CoV-2: показано, что молекулы CD26, CD2, CD56, CD7, CCR9, CD150, CD4, CD50, XCR1 и CD106, теоретиче-

ски, имеют более высокую аффинность связывания с RBD S-белка вируса, чем классический рецептор ACE2 [38]. Многие из этих молекул экспрессируются Т-лимфоцитами и даже служат маркерами Т-клеточных субпопуляций (например, CD2, CD7, CD4), но их участие в инфицировании требует экспериментального подтверждения.

Т-ЛИМФОЦИТЫ И SARS-CoV-2

Инфицирование Т-лимфоцитов SARS-CoV-2.

Несмотря на данные об отсутствии экспрессии Т-лимфоцитами молекулы ACE2 [3], для родственного коронавируса SARS-CoV-1, использующего тот же функциональный рецептор, показана способность эффективно инфицировать Т-клетки: у 27% пациентов с SARS-CoV-1 выявлено присутствие вирусных частиц (электронная микроскопия) и мРНК (гибридизация *in situ* и RT-PCR) в циркулирующих Т-лимфоцитах (CD3⁺-клетках), а также во вторичных лимфоидных органах – селезёнке и лимфатических узлах [39]. И лимфопению, сопровождающую данное заболевание, авторы связывают именно с поражением вирусом иммунной системы [39].

Неудивительно, что аналогичные исследования в отношении нового коронавируса SARS-CoV-2 начались с момента его идентификации.

Первой вышла работа Wang et al. [5]. Авторы выявили вирионы SARS-CoV-2 в Т-лимфоцитах (CD3⁺-клетках), инфильтрирующих лёгочные ткани больных COVID-19 [5], а в эксперименте *in vitro* с помощью люциферазного репортёрного анализа продемонстрировали дозозависимое инфицирование CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов периферической крови человека ($n = 6$) псевдовиром SARS-CoV-2, существенно более эффективное в случае предварительной поликлональной активации Т-клеток (анти-CD3/CD28) [5].

В марте 2022 г. была опубликована работа Shen et al. [40], которая, расширив спектр используемых методов исследования, в целом подтвердила представленные выше результаты. Так, показано присутствие антигена SARS-CoV-2 (нуклеокапсидного белка, N-белка) в Т-лимфоцитах (CD3⁺-клетках) периферической крови и постмортальных срезов лёгких больных COVID-19 [40], причём для клеток периферической крови показан существенно более высокий уровень N-белка в CD4⁺ Т-лимфоцитах по сравнению с таковым в CD8⁺-клетках

больных COVID-19 [40]. При инфицировании вирусом CD4⁺ Т-клеточных линий Jurkat или MT4 *in vitro* (множественность заражения (Multiplicity of infection, MOI) равна 0,01) в клетках регистрировали вирусную РНК (район, кодирующий RBD), субгеномную вирусную РНК (маркер репликации вируса в клетке), а также вирусный белок (N-белок – вестерн-блоттингом/проточной цитометрией) и вирусные частицы (электронной микроскопией). Оценка инфективности вируса в отношении первичных Т-лимфоцитов периферической крови здоровых доноров ($n = 3$) также продемонстрировала присутствие вирусной РНК (RBD), более высокое в предварительно активированных (CD3/CD28/IL-2) Т-клетках [40]. При этом авторы выявили массивный апоптоз в Т-лимфоцитах, инфицированных вирусом *in vitro*, а также повышенный уровень апоптотических Т-лимфоцитов в периферической крови больных COVID-19 по сравнению с Т-клетками здоровых доноров [40].

Ещё две работы, непосредственно относящиеся к обсуждаемой проблеме, находятся в настоящее время на этапе препринта, но определённо заслуживают обсуждения, поскольку перекликаются с предыдущими. В первой из них показана способность SARS-CoV-2 (MOI = 0,1) инфицировать *in vitro* CD4⁺, но не CD8⁺ Т-лимфоциты периферической крови здоровых доноров, что подтверждено на уровне вирусной РНК, вирусного белка (S-белка SARS-CoV-2, иммунофлуоресценцией), а также вирусных частиц (электронной микроскопией) [41]. При этом в инфицированных CD4⁺ Т-клетках выявлена негативная (антисмысловая) РНК SARS-CoV-2, что указывает на репликацию вируса [41]. В подтверждение этих результатов, исследования *ex vivo* выявили присутствие вирусной РНК в CD4⁺, но не в CD8⁺ Т-лимфоцитах периферической крови больных COVID-19, причём вирусная нагрузка напрямую зависела от тяжести заболевания [41].

Во второй работе, находящейся на этапе препринта, инфицирование мононуклеарных клеток периферической крови здоровых доноров ($n = 5$) вирусом SARS-CoV-2 (MOI = 1) *in vitro* выявило присутствие вирусных антигенов как в CD4⁺-, так и в CD8⁺ Т-клетках (~13–14%, проточной цитометрией с использованием гипериммунной сыворотки мышей, иммунизированных SARS-CoV-2) [42]. При этом процесс сопровождался выраженным апоптозом обеих Т-клеточных субпопуляций: до 70% SARS-CoV-

2-инфицированных клеток имели апоптотические изменения [42]. Кроме того, у больных COVID-19 ($n = 22$) показано присутствие вирус-инфицированных $CD4^+$ Т-лимфоцитов в периферической крови (иммунофлуоресцентным анализом с использованием для выявления вирусных антигенов сыворотки выздоровевших пациентов), и у основной части Т-клеток, несущих вирусные антигены, выявлена двунитевая РНК SARS-CoV-2, маркер репликации [42]. А данные посмертного иммуногистохимического исследования показали присутствие инфицированных вирусом $CD4^+$ Т-лимфоцитов в тканях лёгких больных COVID-19 [42].

Наряду с представленными выше работами, вирусная РНК регистрировалась в Т-лимфоцитах ($CD3^+$ -клетках), присутствующих в образцах бронхоальвеолярного лаважа ($n = 6$) и мокроты ($n = 2$) тяжёлых больных COVID-19 [43]. А белки SARS-CoV-2 и вирионы выявлялись в клетках селезёнки и лимфатических узлов при посмертном исследовании тканей больных COVID-19 [44], хотя в последнем случае тип инфицированных клеток не определялся.

Рецепторы, опосредующие инфицирование Т-лимфоцитов SARS-CoV-2. Практически во всех представленных выше работах по инфицированию Т-лимфоцитов SARS-CoV-2 основной вирусный рецептор и корецептор ACE2/TMPRSS2 либо не выявлялись на инфицированных Т-клетках [5, 43], либо не участвовали в инфицировании, что подтверждалось ингибиторным анализом с помощью подавления экспрессии гена, кодирующего ACE2, и/или функциональной блокады рецепторов [40]. Единственное исключение – работа Davanzo et al. [41], в которой инфицирование $CD4^+$ Т-лимфоцитов периферической крови SARS-CoV-2 *in vitro* эффективно снижалось на фоне блокады ACE2 и TMPRSS2. В то же время показано участие альтернативных рецепторов SARS-CoV-2 в этом процессе. Так, в клетках-мишенях вируса выявлена экспрессия CD147, существенно возрастающая в ответ на активацию [5, 43], а инфицирование *in vitro* $CD4^+/CD8^+$ Т-лимфоцитов человека псевдовиром SARS-CoV-2 отменялось моноклональными антителами к CD147 [5]. Другой альтернативный рецептор SARS-CoV-2, тирозинкиназа AXL, выявлен на уровне мРНК в вирус-инфицированных Т-лимфоцитах больных COVID, а в Т-клетках линии Jurkat сверхэкспрессия AXL усиливала (в 1,5 раза) инфицирование клеток вирусом, хотя нокдаун гена не оказывал влияния на этот

процесс, указывая на то, что AXL – не главный рецептор входа вируса в Т-клетки данной линии, но может вносить вклад в инфицирование [40].

Работа Davanzo et al. [41], продемонстрировавшая участие в процессе инфицирования Т-лимфоцитов маркера Т-хелперной субпопуляции, мембранной молекулы CD4, заслуживает особого внимания: показана копреципитация S-белка SARS-CoV-2 и рекомбинантной полноразмерной молекулы CD4, а инфицирование $CD4^+$ Т-лимфоцитов периферической крови SARS-CoV-2 *in vitro* дозозависимо подавлялось в случае предобработки клеток моноклональными антителами к CD4, хотя и менее эффективно, чем на фоне блокады традиционного для вируса рецептора ACE2 и протеазы TMPRSS2. Интересно, что те же моноклональные антитела против CD4 способны блокировать вход в $CD4^+$ Т-клетки вируса иммунодефицита человека (Human immunodeficiency virus, HIV) [45], причём в случае HIV-инфекции одного CD4 также недостаточно для входа вируса в клетку, он действует совместно с корецепторами, в частности, хемокиновыми рецепторами CCR5 или CXCR4 [46].

В итоге, на сегодняшний день имеется 6 независимых работ, с разной степенью детализации продемонстрировавших способность нового коронавируса SARS-CoV-2 инфицировать Т-лимфоциты человека. Как правило, речь идёт о Т-клетках, инфильтрирующих поражённые ткани больных COVID-19 [5, 40, 42, 43] или о периферической крови пациентов [40–42], однако в четырёх работах инфицирование вирусом [40–42] или псевдовиром [5] *in vitro* показано и для Т-лимфоцитов периферической крови здоровых доноров. Размер исследуемых групп невелик, но результаты хорошо согласуются друг с другом (таблица). Так, большинство авторов отмечает исключительное [41, 42] или преимущественное [40] инфицирование вирусом субпопуляции $CD4^+$ Т-лимфоцитов, и работа Davanzo et al. [41] даёт объяснение этому феномену, демонстрируя участие молекулы CD4 в инфицировании клетки SARS-CoV-2. Поражение вирусом обеих Т-клеточных субпопуляций ($CD4^+/CD8^+$ Т-клеток), показанное Pontelli et al. [42] в эксперименте *in vitro*, связано, по-видимому, с избыточным количеством вирионов, вносимых в культуру в расчёте на клетку-мишень ($MOI = 1,0$), поскольку в других работах этот показатель существенно ниже – $MOI = 0,1$ [41] или $MOI = 0,01$ [40].

Инфицирование Т-лимфоцитов* SARS-CoV-2

Тип Т-клеток	Локализация Т-клеток	Рецептор/ корцептор	Выявляемый вирусный материал	Ссылки
Т-лимфоциты в тканях больных COVID-19				
CD3 ⁺ Т-клетки	лёгкие	н/о	N-белок вируса	[40]
			антигены вируса**	[42]
			вирионы	[5]
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	бронхоальвеолярный лаваж, мокрота	н/о	РНК вируса	[43]
Т-клетки	периферическая кровь	н/о	РНК вируса	[41]
			двунитевая РНК вируса	[42]
CD4 ⁺ Т-клетки	периферическая кровь	н/о	антигены вируса	[42]
Т-лимфоциты здоровых доноров, инфицированные <i>in vitro</i>				
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	периферическая кровь	CD147***	РНК вируса	[5]
		AXL?	РНК вируса	[40]
Т-клетки		н/о	антигены вируса	[42]
CD4 ⁺ Т-клетки	периферическая кровь	ACE2/	РНК вируса	[41]
		TMPRSS2	антисмысловая РНК вируса	
		CD4	S-белок вируса, вирионы	

Примечание. N-белок – нуклеокапсидный белок, S-белок – белок шипа вируса; н/о – рецепторы/корцепторы не определялись.

* В таблице представлены данные только по инфицированию первичных Т-лимфоцитов, не Т-клеточных линий. Информация о методах выявления вирусного материала и оценки вклада конкретных рецепторов в инфицирование клетки, а также о размере исследуемых групп – в тексте.

** Вирусные антигены не идентифицировались, они выявлялись с помощью сывороток мышей, иммунизированных SARS-CoV-2, или выздоровевших пациентов.

*** Представлены только рецепторы/корцепторы, для которых экспериментально подтверждено участие в инфицировании Т-лимфоцитов SARS-CoV-2.

Т-клетки, инфицированные SARS-CoV-2 *in vitro*, подвергались выраженному апоптозу [40, 42], и в периферической крови больных COVID-19 уровень апоптотических Т-лимфоцитов также был повышен по сравнению с Т-клетками здоровых доноров [40]. Следует отметить, что апоптоз является закономерным результатом инфицирования клетки вирусом, он может быть как следствием прямого воздействия вируса, так и классическим ответом иммунной системы на появление в организме клетки, несущей чужеродные антигены.

В инфицированных вирусом первичных CD4⁺ Т-лимфоцитах и CD4⁺ Т-клеточных линиях Jurkat и MT4 различными способами регистрировали субгеномную вирусную РНК [40], негативную (антисмысловую) РНК SARS-CoV-2 [41] или двунитевую РНК вируса [42], то есть маркёры репликации вируса в клетке, однако данных о сборке вирусных частиц и их выходе из заражённой клетки пока нет. Ни одна из имеющихся на сегодняшний день работ не позволяет однозначно сказать, является ли инфицирование вирусом Т-лимфоцитов про-

дуктивным или abortивным. В исследовании Pontelli et al. [42] продуктивность инфекции подтверждена для нефракционированного пула мононуклеарных клеток периферической крови, но для Т-лимфоцитов таких данных нет.

Неинфекционные механизмы вирус-зависимой регуляции Т-лимфоцитов. Говоря об инфицировании Т-лимфоцитов SARS-CoV-2, следует учитывать, что даже в случае непродуктивного взаимодействия вируса с клеткой SARS-CoV-2-зависимый сигнал может регулировать клеточную активность — об этом свидетельствуют данные двух недавних исследований.

Так, с помощью структурного компьютерного моделирования показано, что S-белок SARS-CoV-2, но не других коронавирусов, содержит структурные мотивы, имеющие высокое сходство с таковыми у бактериальных суперантигенов (то есть антигенов, вызывающих массовую неспецифическую активацию Т-лимфоцитов), и способен напрямую связываться с антигенным рецептором Т-лимфоцита (T cell receptor, TCR) [47]. Следствием этого должна быть избыточная активация Т-клеточного звена иммунной системы, и данный механизм может вносить вклад в гипертрофический синдром, характерный для COVID-19. В подтверждение этого у больных COVID-19 с гипертрофическим воспалением выявлен нетипичный (искажённый) репертуар TCR, характерный для активации суперантигеном, в отличие от пациентов с лёгким или умеренным течением COVID-19 [47].

Другой кандидат на роль регулятора Т-клеточной активации — вирусный фузоген, или белок, обеспечивающий слияние оболочки вируса с мембраной клетки-мишени — вернее, не сам белок, а соответствующий домен в составе S-белка SARS-CoV-2. Известно, что фузоген родственного коронавируса 2003 г., SARS-CoV-1, участвует не только в инфицировании Т-клеток, но и в прямом ингибировании TCR-зависимого сигнала: анализ его первичной последовательности показал, что фузогенный домен S-белка SARS-CoV-1 имитирует трансмембранный домен α -цепи TCR и может нарушать взаимодействия между цепями TCR-комплекса, препятствуя антиген-зависимой сигнализации — его специфическая иммуносупрессивная активность подтверждена в эксперименте *in vivo* на модели коллаген-индуцированного артрита у мышей [48]. Учитывая близкое сходство аминокислотной последовательности фузогена SARS-CoV-2 с соответ-

ствующим белком SARS-CoV-1, а также с последовательностью трансмембранного домена α -цепи TCR, высокая вероятность такого механизма предполагается и для нового коронавируса, хотя это ещё нужно показать [49].

ИНФИЦИРОВАНИЕ Т-ЛИМФОЦИТОВ SARS-CoV-2 И ПАТОГЕНЕЗ COVID-19

Новая коронавирусная инфекция сопровождается существенными изменениями в работе иммунной системы, и потенциальная способность SARS-CoV-2 инфицировать Т-лимфоциты может иметь прямое отношение к целому ряду феноменов, ассоциированных с болезнью. Первый и наиболее очевидный — лимфопения, которая выявляется у большинства больных COVID-19 [50, 51] и ассоциирована с тяжестью заболевания [50, 51]. Инфицирование Т-клеток вирусом и индукция апоптоза в этих клетках вносит, по-видимому, существенный вклад в развитие лимфопении при COVID-19, а возможно, и является его основной причиной.

Функциональное истощение Т-лимфоцитов — также часто регистрируемая ситуация у больных COVID-19 [52, 53]. Это вариант Т-клеточной дисфункции, при котором кратковременная гиперактивация Т-лимфоцита в ответ на антиген сменяется прогрессивным снижением пролиферативной активности, утратой эффекторных функций, экспрессией ингибиторных рецепторов, таких как PD-1 и CTLA, эпигенетическим и транскрипционным репрограммированием [52, 53]. Частично за снижение функций Т-клеток при COVID-19 может быть ответственна их непродуктивная инфекция SARS-CoV-2, а также неинфекционные механизмы регуляции вирусом Т-лимфоцитов, связанные с непосредственным взаимодействием вирусного S-белка с TCR и блокадой или искажением антиген-зависимого сигнала.

Третий феномен, ассоциированный с новой коронавирусной инфекцией, — это неконтролируемая избыточная воспалительная реакция (цитокиновый шторм), которая является одной из наиболее частых причин летального исхода при COVID-19 [50, 51]. Как правило, гипертрофическое воспаление при данной патологии связывают с неадекватной активацией клеток неспецифической защиты — основных продуцентов провоспалительных факторов в организме [50, 51], однако клетки адаптивного им-

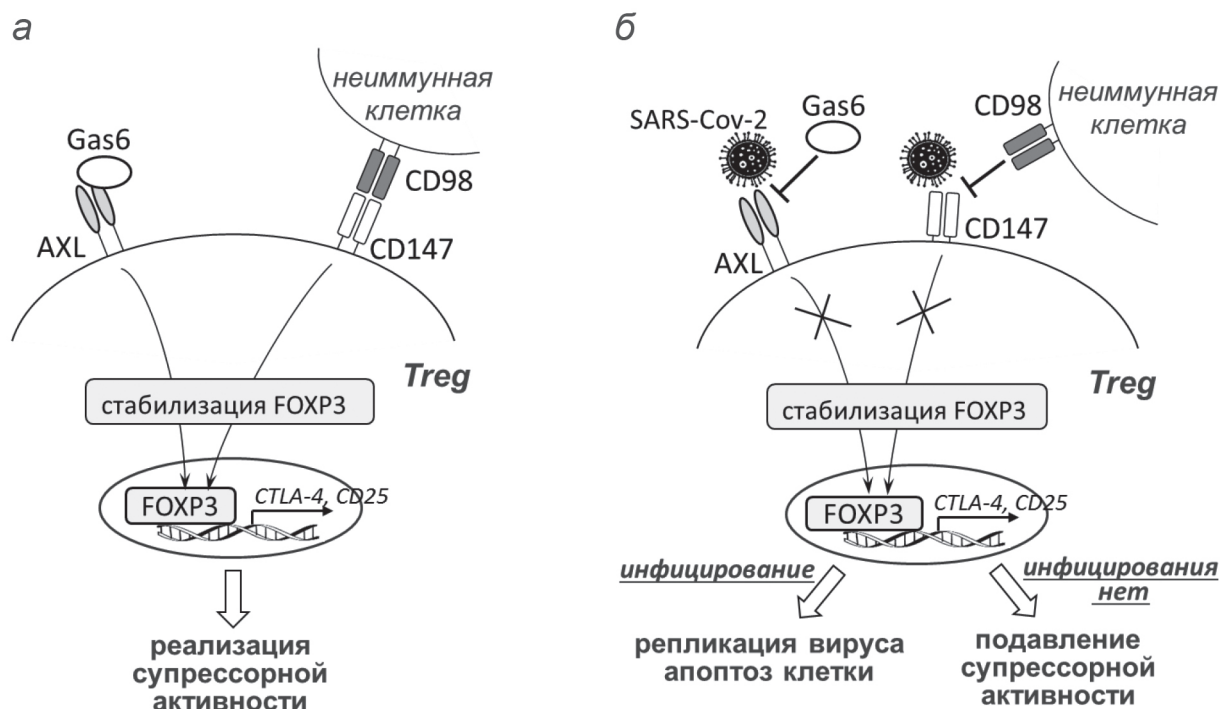
мунитета и, в частности Т-лимфоциты, должны играть непосредственную роль в этом процессе. В первую очередь речь идёт о субпопуляции регуляторных Т-клеток, Treg, которые в контексте данной работы заслуживают отдельного обсуждения.

SARS-CoV-2 и регуляторные Т-лимфоциты. Т-хелперная субпопуляция Treg играет ключевую роль в поддержании ауто толерантности и иммунном гомеостазе: естественные Treg (natural Treg, nTreg) созревают в тимусе, и их основной задачей является подавление иммунного ответа на аутоантигены, а индуцибельные Treg (inducible Treg, iTreg) формируются на поздних стадиях любого иммунного ответа и призваны ограничить избыточное воспаление, предупреждая повреждение тканей продуктами активированных иммунных клеток.

Целый ряд данных указывает на Treg, как на вероятную мишень SARS-CoV-2. Так, молекула CD147, альтернативный входной рецептор для вируса, опосредующий инфицирование первичных Т-лимфоцитов [5],

имеет повышенную экспрессию на мембране Treg, причём маркирует активированные клетки (CD45R0⁺ Treg) с высокой супрессивной активностью [54]. Уровень CD147 на мембране Treg коррелирует с экспрессией главного транскрипционного фактора и маркера данной субпопуляции, FoxP3 [54]. Более того, для поддержания стабильной экспрессии FoxP3 регуляторным клеткам необходим сигнал, который они получают как раз через CD147 при связывании его с физиологическим лигандом CD98, экспрессируемым неиммунным окружением [55]. Показано, что индуцибельные Treg с высокой экспрессией CD147 (CD147^{high} iTreg) эффективно подавляют воспалительный ответ в модели экспериментальных колитов у гуманизированных мышей, в отличие от аналогичных клеток с низкой экспрессией CD147 (CD147^{low} iTregs) [55].

Экспрессия двух других рецепторов SARS-CoV-2, трансмембранного белка KREMEN1 и рецепторной тирозинкиназы AXL, также выявлена в субпопуляции Treg [9, 56], причём AXL



Потенциальные механизмы взаимодействия SARS-CoV-2 с регуляторными Т-лимфоцитами. Молекулы CD147 и AXL имеют высокую экспрессию на мембране Treg и вовлечены в их функционирование: сигналы, которые клетки получают при связывании этих молекул с эндогенными лигандами CD98/Gas6, необходимы для поддержания стабильной экспрессии ключевого транскрипционного фактора FoxP3 (а). Одновременно CD147 и AXL служат входными рецепторами SARS-CoV-2, причём встреча Treg с вирусом может приводить как к инфицированию клетки, так и к её неинфекционной регуляции (б): в первом случае клетка-мишень, как правило, подвергается апоптозу, тогда как при отсутствии инфицирования вирус, связываясь с CD147/AXL, может конкурентно ингибировать взаимодействие этих рецепторов с эндогенными лигандами (CD98/Gas6), препятствуя таким образом стабилизации клеток и реализации их супрессорной активности. Подробные пояснения – в тексте статьи

играет в функционировании этих клеток, по-видимому, такую же роль, как и CD147: её эндогенный лиганд Gas6 (Growth arrest-specific) дозозависимо повышает *in vivo* и *in vitro* экспрессию транскрипционного фактора FoxP3 в CD4⁺CD25⁺ Tregs и усиливает супрессорную активность регуляторных Т-клеток в отношении эффекторных CD4⁺ Т-лимфоцитов, причём действие Gas6 *in vitro* отменяется полностью или частично в случае нокдауна гена, кодирующего AXL или функциональной блокады этого рецептора [56].

Вопрос об инфицировании Treg коронавирусом пока нигде не поднимался, но этот вариант весьма вероятен и требует проверки. Кроме того, даже при отсутствии инфицирования регуляторных Т-клеток SARS-CoV-2 может связываться с мембранными рецепторами этих клеток CD147/AXL и конкурентно ингибировать их взаимодействие с эндогенными лигандами (CD98/Gas6), препятствуя таким образом стабилизации клеток и реализации их супрессорной активности (рисунок). Именно с прямым действием вируса на регуляторные Т-клетки может быть связано существенное снижение количества Treg в циркуляции у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 [50, 57]. А поскольку субпопуляция Treg играет ключевую роль в ограничении избыточного иммунного ответа, снижение численности и/или активности этих клеток должно вносить вклад в неконтролируемую воспалительную реакцию (цитокиновый шторм), ассоциированную с тяжёлым течением COVID-19, а возможно, и играть ключевую роль в этом процессе. Кроме того, поражение Treg вирусом может иметь отношение к феномену функционального истощения Т-лимфоцитов, препятствующему эффективному противовирусному ответу [52]: именно с нарушением контроля со стороны Treg может быть связана гиперактивация эффекторных Т-лимфоцитов, предшествующая их функциональному истощению [53].

Наконец, говоря о молекуле CD147, как о функциональном рецепторе для SARS-CoV-2, следует отметить, что она актуальна не только для Treg – данная молекула тесно связана с развитием и функционированием Т-лимфоцитов в целом. Так, CD147 высоко экспрессирован на дубль-негативных тимоцитах и участвует в их экспансии [58]. На периферии CD147 регулирует миграцию активированных Т-лимфоцитов [59] и пролиферативный ответ на поликлональную стимуляцию [60]. Как следствие,

CD147-зависимое инфицирование может регулировать Т-клеточное звено иммунитета как на этапе антигеннезависимой дифференцировки, так и при ответе Т-лимфоцита на антиген.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первые исследования взаимодействия SARS-CoV-2 с Т-лимфоцитами показали, что вирус способен инфицировать Т-клетки и что ACE2, главный функциональный рецептор вируса в неиммунных тканях, либо не участвует в этом процессе [40], либо не выявляется на вирус-позитивных Т-клетках [5, 43] – на первый план в инфицировании Т-лимфоцитов выходят альтернативные рецепторы SARS-CoV-2, в первую очередь молекулы CD147 и AXL [5, 40]. Тем не менее вопрос об экспрессии ACE2 не снимается с повестки: во-первых, несмотря на убедительное подтверждение присутствия в инфицированных Т-лимфоцитах вирусной РНК, вирусных белков и самих вирионов, уровень инфицирования Т-клеток не сопоставим с таковым для традиционных тканей-мишеней вируса [40], имеющих стабильную экспрессию ACE2; во-вторых, тот факт, что ACE2 отсутствует или слабо представлен на общей Т-клеточной популяции, не исключает экспрессии рецептора отдельными субпопуляциями Т-лимфоцитов. В этом плане в первую очередь интерес представляют регуляторные Т-лимфоциты, провоспалительные Т-хелперные субпопуляции, а также вирус-специфичные активированные CD4⁺/CD8⁺ Т-клетки, инфильтрирующие поражённые вирусом ткани. Не случайно инфицированные SARS-CoV-2 Т-клетки стабильно выявляются в тканях лёгких или в бронхоальвеолярном лаваже больных COVID-19 – в очаге поражения под действием микроокружения репертуар вирусных рецепторов и уровень их экспрессии могут меняться.

Кроме того, следует учитывать и возможность получения Т-лимфоцитами рецепторов SARS-CoV-2, в частности ACE2, от других клеток с помощью экстраклеточных микровезикул, для которых данная молекула является традиционным компонентом [36]. Вполне вероятно, что резидентные Т-клетки барьерных органов или вирус-специфичные Т-лимфоциты, инфильтрирующие поражённые ткани, с помощью таких ACE2⁺-микровезикул получают главный функциональный рецептор SARS-CoV-2 от традиционных мишеней вируса с вы-

сокой экспрессией ACE2, таких как лёгочный эпителий или эндотелий сосудов, приобретая таким образом чувствительность к вирусу. Это в том случае, если микровезикулы секретируются неинфицированными клетками. Если же клетка, секретирующая ACE2⁺-микровезикулы, вирус-позитивна, что очень вероятно для очага поражения, к рецепторам для вируса добавляется и сам вирусный материал: показано, что микровезикулы, формируемые SARS-CoV-2-инфицированными клетками, содержат РНК вируса [61] и могут участвовать в распространении инфекции.

В этой связи важно заметить, что и сами Т-лимфоциты в случае инфицирования могут участвовать в распространении вируса – Pontelli et al. [42] отводит Т-клетке в данной ситуации роль «Троянского коня». Действи-

тельно, исходя из имеющихся на настоящий момент данных, уровень инфицирования Т-лимфоцитов новым коронавирусом невысок, продуктивность инфекции пока не подтверждена – возможно, вирус, проникая в Т-клетки, делает ставку в первую очередь на регуляцию активности этих клеток и/или на их транспортные функции.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания (тема госрегистрации № АААА-А19-119112290007-7).

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., et al. (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, *Nature*, **579**, 270-273, doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., et al. (2020) SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor, *Cell*, **181**, 271-280 e8, doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M. L., Lely, A. T., Navis, G., et al. (2004) Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis, *J. Pathol.*, **203**, 631-637, doi: 10.1002/path.1570.
- Radzikowska, U., Ding, M., Tan, G., Zhakparov, D., Peng, Y., et al. (2020) Distribution of ACE2, CD147, CD26 and other SARS-CoV-2 associated molecules in tissues and immune cells in health and in asthma, COPD, obesity, hypertension, and COVID-19 risk factors, *Allergy*, **75**, 2829-2845, doi: 10.1111/all.14429.
- Wang, K., Chen, W., Zhang, Z., Deng, Y., Lian, J.-Q., et al. (2020) CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells, *Signal. Transduct. Target Ther.*, **5**, 283, doi: 10.1038/s41392-020-00426-x.
- Schmid, E. T., Pang, I. K., Silva, E. A. C., Bosurgi, L., Miner, J. J., et al. (2016) AXL receptor tyrosine kinase is required for T cell priming and antiviral immunity, *eLife*, **5**, e12414, doi: 10.7554/eLife.12414.
- Wang, S., Qiu, Z., Hou, Y., Deng, X., Xu, W., et al. (2021) AXL is a candidate receptor for SARS-CoV-2 that promotes infection of pulmonary and bronchial epithelial cells, *Cell Res.*, **31**, 126-140, doi: 10.1038/s41422-020-00460-y.
- Gu, Y., Cao, J., Zhang, X., Gao, H., Wang, H., et al. (2020) Interaction network of SARS-CoV-2 with host receptome through spike protein, *BioRxiv*, doi: 10.1101/2020.09.09.287508.
- Grigoriou, M., Banos, A., Hatzioannou, A., Kloetgen, A., Kouzis, P., et al. (2021) Regulatory T cell transcriptomic reprogramming characterizes adverse events by checkpoint inhibitors in solid tumors, *Cancer Immunol. Res.*, **9**, 726-734, doi: 10.1158/2326-6066.CIR-20-0969.
- Kuba, K., Imai, Y., Rao, S., Gao, H., Guo, F., et al. (2005) A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury, *Nat. Med.*, **11**, 875-879, doi: 10.1038/nm1267.
- Hoffmann, M. A., Kleine-Weber, H., and Pöhlmann, S. (2020) Multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells, *Mol. Cell*, **78**, 779-784, doi: 10.1016/j.molcel.2020.04.022.
- Shulla, A., Heald-Sargent, T., Subramanya, G., Zhao, J., Perlman, S., et al. (2011) A transmembrane serine protease is linked to the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor and activates virus entry, *J. Virol.*, **85**, 873-882, doi: 10.1128/JVI.02062-10.
- Iwata-Yoshikawa, N., Okamura, T., Shimizu, Y., Hasegawa, H., Takeda, M., et al. (2019) TMPRSS2 contributes to virus spread and immunopathology in the airways of murine models after coronavirus infection, *J. Virol.*, **93**, e01815-18, doi: 10.1128/JVI.01815-18.

14. Zhang, M. Y., Zhang, Y., Wu, X.-D., Zhang, K., Lin, P., et al. (2018) Disrupting CD147-RAP2 interaction abrogates erythrocyte invasion by *Plasmodium falciparum*, *Blood*, **10**, 1111-1121, doi: 10.1182/blood-2017-08-802918.
15. Pushkarsky, T., Zybarth, G., Dubrovsky, L., Yurchenko, V., Tang, H., et al. (2001) CD147 facilitates HIV-1 infection by interacting with virus-associated cyclophilin A, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **11**, 6360-6365, doi: 10.1073/pnas.111583198.
16. Bernard, S. C., Simpson, N., Join-Lambert, O., Federici, C., Laran-Chich, M.-P., et al. (2014) Pathogenic *Neisseria meningitidis* utilizes CD147 for vascular colonization, *Nat. Med.*, **7**, 725-731, doi: 10.1038/nm.3563.
17. Chen, Z. Mi, L., Xu, J., Yu, J., Wang, X., et al. (2005) Function of HAb18G/CD147 in invasion of host cells by severe acute respiratory syndrome coronavirus, *J. Infect. Dis.*, **5**, 755-760, doi: 10.1086/427811.
18. Shilts, J., Crozier, T. W. M., Greenwood, E. J. D., Lehner, P. J., and Wright, G. J. (2021) No evidence for basigin/CD147 as a direct SARS-CoV-2 spike binding receptor, *Sci. Rep.*, **11**, 413, doi: 10.1038/s41598-020-80464-1.
19. Ragotte, R. J., Pulido, D., Donnellan, F. R., Hill, M. L., Gorini, G., et al. (2021) Human basigin (CD147) does not directly interact with SARS-Cov-2 spike glycoprotein, *mSphere*, **6**, e0064721, doi: 10.1128/mSphere.00647-21.
20. Fenizia, C., Galbiati, S., Vanetti, C., Vago, R., Clerici, M., et al. (2021) SARS-CoV-2 entry: at the crossroads of CD147 and ACE2, *Cells*, **10**, doi: 10.3390/cells10061434.
21. Goruppi, S., Ruaro, E., and Schneider, C. (1996) Gas6, the ligand of Axl tyrosine kinase receptor, has mitogenic and survival activities for serum starved NIH3T3 fibroblasts, *Oncogene*, **12**, 471-480.
22. Stitt, T. N., Conn, G., Gore, M., Lai, C., Bruno, J., et al. (1995) The anticoagulation factor protein S and its relative, Gas6, are ligands for the Tyro 3/Axl family of receptor tyrosine kinases, *Cell*, **80**, 661-670, doi: 10.1016/0092-8674(95)90520-0.
23. Seidah, N. G., Chretien, M., and Mbikay, M. (2018) The ever-expanding saga of the proprotein convertases and their roles in body homeostasis: emphasis on novel proprotein convertase subtilisin kexin number 9 functions and regulation, *Curr. Opin. Lipidol.*, **29**, 144-150, doi: 10.1097/MOL.0000000000000484.
24. Mao, B., Wu, W., Davidson, G., Marhold, J., Li, M., et al. (2002) Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/beta-catenin signaling, *Nature*, **417**, 664-667, doi: 10.1038/nature756.
25. Staring, J., van den Hengel, L. G., Raaben, M., Blomen, V. A., Carette, J. I., et al. (2018) KREMEN1 is a host entry receptor for a major group of enteroviruses, *Cell Host Microbe*, **23**, 636-643.e635, doi: 10.1016/j.chom.2018.03.019.
26. Gu, Y., Cao, J., Zhang, X., Gao, H., Wang, Y., et al. (2022) Receptome profiling identifies KREMEN1 and ASGR1 as alternative functional receptors of SARS-CoV-2, *Cell Res.*, **32**, 24-37, doi: 10.1038/s41422-021-00595-6.
27. Cantuti-Castelvetri, L., Ojha, R., Pedro L. D., Djannatian, M., Franz, J., et al. (2020) Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity, *Science*, **370**, 856-860, doi: 10.1126/science.abd2985.
28. Seyran, M., Takayama, K., Uversky, V. N., Lundstrom, K., Palù, G., et al. (2020) The structural basis of accelerated host cell entry by SARS-CoV-2 dagger, *FEBS J.*, doi: 10.1111/febs.15651.
29. Clausen, T. M., Sandoval, D. R., Spliid, C. B., Pihl, J., Perrett, H. R., et al. (2020) SARS-CoV-2 infection depends on cellular heparan sulfate and ACE2, *Cell*, **183**, 1043-1057, doi: 10.1016/j.cell.2020.09.033.
30. Thépaut, M., Luczkowiak, J., Vivès, C., Labiod, N., Bally, I., et al. (2021) DC/L-SIGN recognition of spike glycoprotein promotes SARS-CoV-2 trans-infection and can be inhibited by a glycomimetic antagonist, *PLoS Pathog.*, **17**, e1009576, doi: 10.1371/journal.ppat.1009576.
31. Yan, S., and Wu, G. (2020) Is lymphopenia different between SARS and COVID-19 patients? *FASEB J.*, **35**, e21245, doi: 10.1096/fj.202002512.
32. Bertram, S., Lavender, A. H. H., Gierer, S., Danisch, S., Perin, P., et al. (2012) Influenza and SARS-coronavirus activating proteases TMPRSS2 and HAT are expressed at multiple sites in human respiratory and gastrointestinal tracts, *PLoS One*, **7**, e35876, doi: 10.1371/journal.pone.0035876.
33. Lukassen, S., Chua, R., Trefzer, T., Kahn, N. C., Schneider, M. A., et al. (2020) SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells, *EMBO J.*, **39**, e105114, doi: 10.15252/embj.20105114.
34. Ziegler, C. G. K., Allon, S. J., Nyquist, S. K., Mbanjo, I. M., Miao, V. N., et al. (2020) SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is enriched in specific cell subsets across tissues, *Cell*, **181**, 1016-1035.e19, doi: 10.1016/j.cell.2020.04.035.
35. Gurunathan, S., Kang, M. H., and Kim, J.-H. (2021) Diverse effects of exosomes on COVID-19: a perspective of progress from transmission to therapeutic developments, *Front. Immunol.*, **12**, 716407, doi: 10.3389/fimmu.2021.716407.
36. Wang, J., Chen, S., and Bihl, J. (2020) Exosome-mediated transfer of ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) from endothelial progenitor cells promotes survival and function of endothelial cell, *Oxid. Med. Cell Longev.*, 4213541, doi: 10.1155/2020/4213541.
37. El-Shennawy, L., Hoffmann, A. D., Dashzeveg, N. K., Mehl, P. J., Yu, Z., et al. (2020) Circulating ACE2-expressing exosomes block SARS-CoV-2 infection as an innate antiviral mechanism, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.12.03.407031.
38. Mobini, S., Chizari, M., Mafakher, L., Rismani, E., and Rismani, E. (2021) Structure-based study of immune receptors as eligible binding targets

- of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein, *J. Mol. Graph. Model.*, **108**, 107997, doi: 10.1016/j.jmglm.2021.107997.
39. Gu, J., Gong, E., Zhang, B., Zheng, J., Gao, Z., et al. (2005) Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS, *J. Exp. Med.*, **202**, 415-424, doi: 10.1084/jem.20050828.
 40. Shen, X.-R., Geng, R., Li, Q., Chen, Y., Li, S.-F., et al. (2022) ACE2-independent infection of T lymphocytes by SARS-CoV-2, *Signal. Transduct. Target Ther.*, **7**, 83, doi: 10.1038/s41392-022-00919-x.
 41. Davanzo, G. G., Codo, A. C., Brunetti, N. S., Boldrini, V., Knittel, T. L., et al. (2020) SARS-CoV-2 uses CD4 to infect T helper lymphocytes, *MedRxiv*, doi: 10.1101/2020.09.25.20200329.
 42. Pontelli, M. C., Castro, I. A., Martins, R. B., Veras, F. P., La Serra, L., et al. (2020) Infection of human lymphomononuclear cells by SARS-CoV-2, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.07.28.225912.
 43. Ren, X., Wen, W., Fan, X., Hou, W., Su, B., et al. (2021) COVID-19 immune features revealed by a large-scale single-cell transcriptome atlas, *Cell*, **184**, 1895-1913.e19, doi: 10.1016/j.cell.2021.01.053.
 44. Bian, X.W., COVID-19 Pathology Team (2020) Autopsy of COVID-19 victims in China, *Natl. Sci. Rev.*, **7**, 1414-1418, doi: 10.1093/nsr/nwaa123.
 45. Shaik, M., Peng, H., Lu, J., Rits-Volloch, S., Xu, C., et al. (2019) Structural basis of coreceptor recognition by HIV-1 envelope spike, *Nature*, **565**, 318-323, doi: 10.1038/s41586-018-0804-9.
 46. Iliopoulou, M., Nolan, R., Alvarez, L., Watanabe, Y., Coomer, C. A., et al. (2018) A dynamic three-step mechanism drives the HIV-1 pre-fusion reaction, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **25**, 814-822, doi: 10.1038/s41594-018-0113-x.
 47. Cheng, M. H., Zhang, S., Porritt, R. A., Rivas, M. N., Paschold, L., et al. (2020) Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **117**, 25254-25262, doi: 10.1073/pnas.2010722117.
 48. Shen, Z. T., and Sigalov, A. B. (2016) SARS coronavirus fusion peptide-derived sequence suppresses collagen-induced arthritis in DBA/1J Mice, *Sci. Rep.*, **6**, 28672, doi: 10.1038/srep28672.
 49. Sigalov, A. B. (2022) SARS-CoV-2 may affect the immune response via direct inhibition of T cell receptor: mechanistic hypothesis and rationale, *Biochimie*, **195**, 86-89, doi: 10.1016/j.biochi.2021.11.005.
 50. Wang, F., Hou, H., Luo, Y., Tang, G., Wu, S., et al. (2020) The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness, *JCI Insight*, **5**, doi: 10.1172/jci.insight.137799.
 51. Yang, X., Yu, Y., and Xu, J. (2020) Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study, *Lancet Respir. Med.*, doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
 52. Diao, B., Wang, C., Tan, Y., Chen, X., Liu, Y., et al. (2020) Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), *Front. Immunol.*, **11**, 1-7, doi: 10.3389/fimmu.2020.00827.
 53. Kim, C. G., Kim, G., Kim, K. H., Park, S., Shin, S., et al. (2021) Distinct exhaustion features of T lymphocytes shape the tumor-immune microenvironment with therapeutic implication in patients with non-small-cell lung cancer, *J. Immunother. Cancer*, **9**, e002780, doi: 10.1136/jitc-2021-002780.
 54. Solstad, T., Bains, S. J., Landskron, J., Aandahl, E. M., Thiede, B., et al. (2011) CD147 (Basigin/Emmprin) identifies FoxP3⁺CD45RO⁺CTLA4⁺-activated human regulatory T cells, *Blood*, **118**, 5141-5151.
 55. Geng, J., Chen, R., Yang, F.-F., Lin, P., Zhu, Y.-M., et al. (2021) CD98-induced CD147 signaling stabilizes the Foxp3 protein to maintain tissue homeostasis, *Cell. Mol. Immunol.*, **18**, 2618-2631, doi: 10.1038/s41423-021-00785-7.
 56. Zhao, G.-J., Zheng, J.-Y., Bian, J.-L., Chen, L.-W., Dong, N., et al. (2017) Growth arrest-specific 6 enhances the suppressive function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells mainly through Axl receptor, *Mediators Inflamm.*, 6848430, doi: 10.1155/2017/6848430.
 57. Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., et al. (2020) Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China, *Clin. Infect. Dis.*, **71**, 762-768, doi: 10.1093/cid/ciaa248.
 58. Renno, T., Wilson, A., Dunkel, C., Coste, I., Maisnier-Patin, K., et al. (2002) A role for CD147 in thymic development, *J. Immunol.*, **168**, 4946-4950, doi: 10.4049/jimmunol.168.10.4946.
 59. Damsker, J. M., Bukrinsky, M. I., and Constant, S. L. (2007) Preferential chemotaxis of activated human CD4⁺ T cells by extracellular cyclophilin A, *J. Leukoc. Biol.*, **82**, 613-618, doi: 10.1189/jlb.0506317.
 60. Koch, C., Staffler, G., Huttinger, R., Hilgert, I., Prager, E., et al. (1999) T cell activation-associated epitopes of CD147 in regulation of the T cell response, and their definition by antibody affinity and antigen density, *Int. Immunol.*, **11**, 777-786, doi: 10.1093/intimm/11.5.777.
 61. Kwon, Y., Nukala, S. B., Srivastava, S., Miyamoto, H., Ismail, N. I., et al. (2020) Detection of viral RNA fragments in human iPSC-cardiomyocytes following treatment with extracellular vesicles from SARS-CoV-2 coding-sequence-overexpressing lung epithelial cells, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.05.14.093583.

T LYMPHOCYTES AS TARGETS FOR SARS-CoV-2**Review****E. M. Kuklina**

*Perm Federal Research Center, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
614081 Perm, Russia; e-mail: ibis_07@iegm.ru*

Despite numerous data on the absence or weak expression of the main functional receptor of SARS-CoV-2 angiotensin I-converting enzyme 2 (ACE2) by T cells, recent data demonstrate the ability of a new coronavirus to effectively infect T lymphocytes. The review is devoted to the analysis of these works: it considers alternative (ACE2-independent) pathways of cell infection, identifies T cell subpopulations that serve as the most likely targets of SARS-CoV-2, and discusses the format of virus-cell interaction, including both infectious and non-infectious mechanisms of T lymphocyte regulation, and also evaluates the role of virus-dependent damage of T lymphocytes in the pathogenesis of COVID-19. Particular attention is paid to regulatory T cells as potential targets of SARS-CoV-2, as well as the possible involvement of exosomes in the regulation of sensitivity to the virus of T lymphocytes present in peripheral tissues.

Keywords: SARS-CoV-2, T lymphocytes, ACE2, CD147, Treg