

# РОЛЬ В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ:

В-лимфоцит



Нейрон

- Аутоантитела к нервной ткани<sup>1,2</sup>
- Активация Т-лимфоцитов<sup>1-4</sup>
- Медиаторы воспаления<sup>2,3</sup>
- В-клеточные фолликулы в ЦНС<sup>2,5</sup>

**РАЗРУШЕНИЕ МИЕЛИНА  
И НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЯ<sup>1-5</sup>**

Литература: 1. Weber MS, et al. Biochim Biophys Acta 2011;1812(2):239-45; 2. Dalakas M. Nature clinical practice Neurology, October 2008, vol 4, no 10; p. 557 - 567; 3. Li R, Rezk A, et al. Front. Immunol., Jan. 2016, 6:626; 4. Ireland SJ, et al. Autoimmunity 2012;45(5):400-14; 5. Magliozzi R, et al. Ann Neurol 2010;68(4):477-93.

Информация для профессиональной деятельности медицинских и фармацевтических работников.  
Для размещения в специализированных изданиях, предназначенных для медицинских учреждений и врачей.  
ООО «Рош Украина»: Киев, 04070, ул. П. Сагайдачного, 33. Тел.: +380 (44) 354 30 40, факс: +380 (44) 354 30 41.  
www.roche.ua www.ukraine.medinfo@roche.com

# В-клетки как важное звено аутоиммунного воспаления и новая терапевтическая мишень при рассеянном склерозе

**Рассеянный склероз (РС) – хроническое неврологическое заболевание с дебютом, как правило, в молодом возрасте, которое характеризуется воспалением в центральной нервной системе (ЦНС), демиелинизацией нервных волокон, глиозом и потерей аксонов. Аксональная дегенерация лежит в основе прогрессирующего неврологического дефицита. Наиболее характерный возраст появления первых симптомов – между 20 и 40 годами. На момент дебюта примерно у 80% пациентов диагностируют рецидивирующе-ремиттирующий РС, который со временем в 60% случаев переходит в вторично-прогрессирующий РС. У 10-15% пациентов отмечается первично-прогрессирующий РС, характеризующийся постоянным нарастанием неврологической симптоматики с самого начала заболевания. Прогноз при этом типе течения РС, как правило, носит неблагоприятный характер за счет неуклонного накопления неврологического дефицита, ведущего к стойкой инвалидизации.**

## Комментарий специалиста



**Заведующая кафедрой неврологии Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, доктор медицинских наук, профессор Лариса Ивановна Соколова**

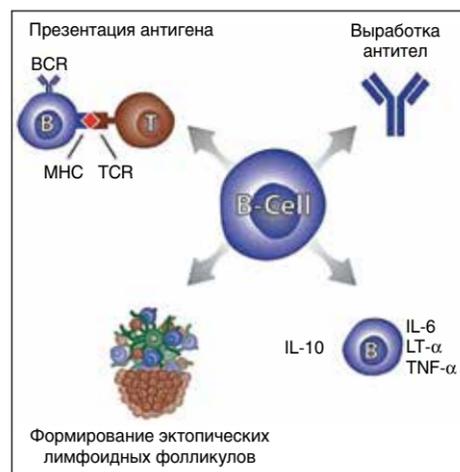
Общепринятая концепция патогенеза РС рассматривает эту патологию как аутоиммунно опосредованное повреждение миелина в предрасполагающих условиях уязвимого организма. С 90-х годов прошлого века в первой линии терапии РС начали применять бета-интерфероны и глатирамера ацетат. Будучи разными по направленности иммунного воздействия – антиген-неспецифическими и антиген-специфическими соответственно, они были призваны оказывать разнонаправленное влияние на иммунную систему: подавление пролиферации Т-клеток и активности макрофагов, снижение

уровня экспрессии молекул адгезии на эндотелиальных клетках, повышение продукции противовоспалительных цитокинов и подавление активности провоспалительных цитокинов, а также обеспечение конкуренции и замены основных нейробелков в механизмах антигенпрезентации и некоторые другие эффекты.

Вместе с тем постоянно велись поиски более избирательной терапии по мере появления новых данных о патогенезе РС. Наиболее прогрессивным оказалось создание моноклональных антител, позволяющих воздействовать

на отдельные рецепторы иммунокомпетентных клеток и таким образом ограничивать их участие в иммунопатологическом процессе. За последние годы получено достаточно данных, подтверждающих возможность и необходимость воздействовать на рецепторы не только Т-лимфоцитов, но и В-лимфоцитов. Основные достижения этого направления, а также данные о роли В-лимфоцитов как важного иммунологического драйвера патогенеза РС и перспективной мишени для таргетной терапии приведены в предлагаемом обзоре.

В-лимфоциты выполняют эффекторные функции в иммунной системе как антиген-представляющие клетки: поглощают антиген путем эндоцитоза или фагоцитоза, а затем на своей поверхности презентуют его фрагменты Т-хелперам. В-клетки дифференцируются в плазмциты, которые активно вырабатывают антитела, а также сами являются регуляторами иммунного ответа, секретируя про- и противовоспалительные цитокины, участвуют в формировании эктопических лимфоидных тканей. Все перечисленные функции В-клеток, по современным представлениям, участвуют в патогенезе РС (рис. 1).



**Рис. 1. Основные функции В-клеток, вовлеченные в патогенез РС (по Н.-С. von Budingен и соавт., 2016)**

Исторически при изучении патофизиологии РС внимание исследователей было сфокусировано преимущественно на Т-лимфоцитах. Их роль обосновывалась тем, что в эксперименте заболевание можно было вызвать путем переноса активированных Т-клеток от больной мыши к здоровой. Поэтому и поиски специфического лечения изначально основывались на контроле популяций Т-клеток. Однако модель экспериментального аутоиммунного энцефалита на мышах не могла объяснить прогрессирующий характер заболевания. Вместе с тем уже несколько десятилетий было известно, что присутствие в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) олигоклональных иммуноглобулинов, продуцируемых В-клетками и определяемых как олигоклональные

линии (oligoclonal bands, OCB), является характерным биомаркером РС (A.G. Solimando и A. Tomasicchio, 2016). Долгое время не удавалось определить роль этих В-клеточных иммуноглобулинов в патогенезе, но они были настолько характерным феноменом при РС, что закономерно возник вопрос: могут ли В-клетки быть новой мишенью терапии? Рассмотрим более детально роль каждой из функций В-клеток при РС.

## Презентация антигенов: «свои против своих»

**Аутоиммунное воспаление при РС развивается вследствие аномальной активации и экспансии Т-клеток в ответ на антигены собственной нервной ткани, которые представляют им В-клетки.**

Активация Т-клеток в ответ на презентацию чужеродных антигенов В-клетками – это нормальный процесс, лежащий в основе иммунной защиты организма. Однако при РС В-клетки начинают презентовать собственные антигены как чужеродные (S.J. Ireland et al., 2012). С конца 1990-х годов все больше исследователей признавали важную роль антиген-представляющей функции В-клеток в запуске аутоиммунного процесса, направленного против миелин-олигодендритарного гликопротеина – важной молекулы, участвующей в миелинизации нервных волокон ЦНС, а также основного белка миелина (J.A. Lyons, 1999; M.S. Weber, 2010; N. Molnarfi, 2013). В экспериментах на культивированных линиях лимфоцитов только В-клетки от пациентов с РС запускали пролиферацию Т-клеток после инкубации с собственными антигенами нервной ткани. В то же время В-клетки от пациентов с РС и здоровых лиц вызывали нормальную активацию Т-лимфоцитов в ответ на чужеродные антигены, такие как вирус паротита или столбнячный токсин (С.Т. Harp et al., 2010; S.J. Ireland et al., 2012).

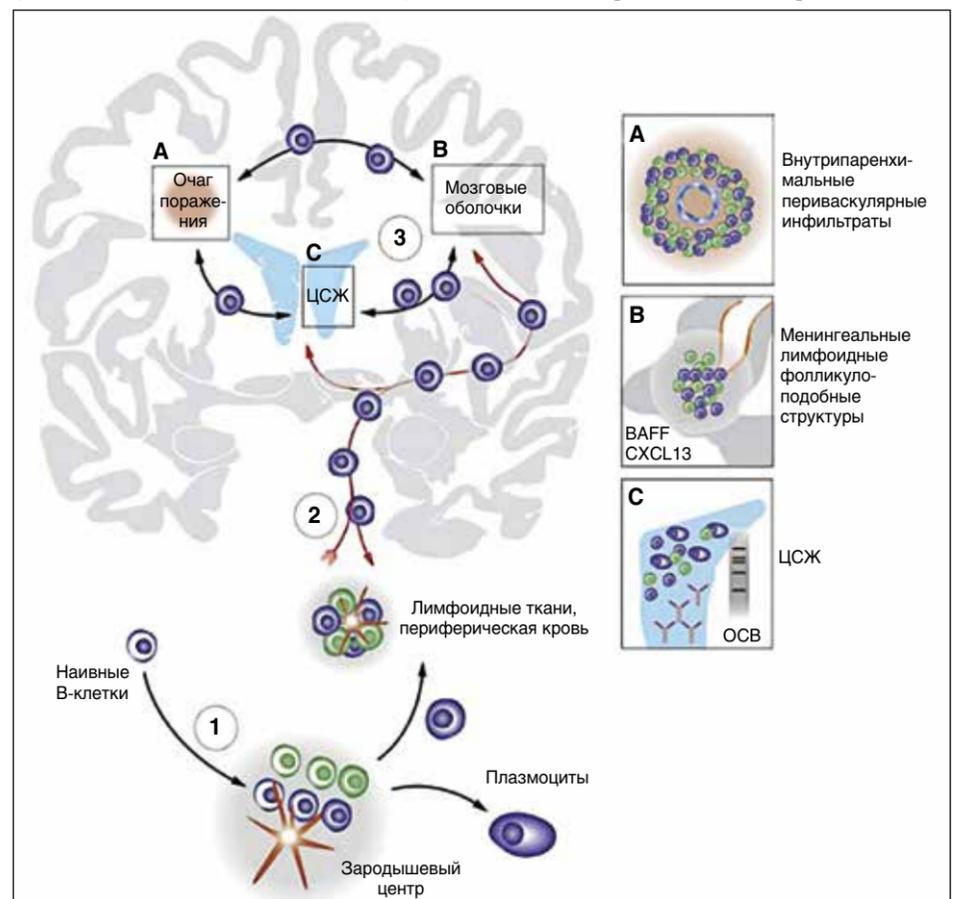
Еще предстоит ответить на вопросы, как и почему В-клетки начинают презентовать собственные антигены нервной ткани Т-клеткам. Контроль аутоиммунного потенциала В-клеток, развивающихся в костном мозге, по-видимому, остается незатронутым у большинства пациентов с РС. Нарушаются

механизмы В-клеточной толерантности, которые регулируют аутоиммунные свойства В-лимфоцитов, циркулирующих между периферическими лимфоидными тканями (Н.-С. von Budingен et al., 2016). Миелин-реактивные В-клетки памяти могут обнаруживаться в периферической крови пациентов с РС (С.Т. Harp et al., 2010; S.J. Ireland et al., 2012). Шейные лимфатические узлы, возможно, являются местами поддержки ЦНС-направленной аутоиммунной агрессии у людей и мышей (K. Berer et al., 2011; J.N. Stern et al., 2014).

## Выработка цитокинов – сигнальных молекул иммунного каскада

**В-клетки у пациентов с РС секретируют относительно больше провоспалительных, чем противовоспалительных цитокинов. Это приводит к аномальной активации других иммунных клеток или нарушает способность к регуляции иммунных ответов (A. Var-Og et al., 2010; R.P. Lisak et al., 2012).**

Продолжение на стр. 40.



**Рис. 2. В-клетки как иммунологическое активное связующее звено между периферией и ЦНС (по Н.-С. von Budingен и соавт., 2016)**

Наивные В-клетки выходят из костного мозга (1), проходят первоначальную антиген-тренировку и созревание в периферических зародышевых центрах и превращаются в В-клетки памяти. В-клетки памяти могут быть дополнительно стимулированы в периферических лимфоидных тканях и/или мигрируют в ЦНС (2), где участвуют в иммунологической атаке на ткани мозга (А) и менингеальные ткани, как в виде диффузно рассредоточенных клеток, так и в виде лимфоидных фолликулоподобных образований (В). ЦСЖ также вовлечена в иммунологический ответ и циркуляцию (3) зрелых В-клеток (С). Зрелые В-клетки с рецепторами, предполагающими постоянную антиген-стимуляцию, могут быть обнаружены во всех трех отделах ЦНС (очаги, мозговые оболочки, спинномозговая жидкость) и на периферии, что указывает на активацию иммунитета при РС по обе стороны гематоэнцефалического барьера. В-клетки показаны синим, Т-клетки – зеленым.

## В-клетки как важное звено аутоиммунного воспаления и новая терапевтическая мишень при рассеянном склерозе

Продолжение. Начало на стр. 39.

Например, установлено, что при РС В-клетки секретируют повышенные уровни интерлейкина-6 (ИЛ-6) по сравнению со здоровыми лицами. Вероятнее всего, повышенная продукция ИЛ-6 связана с антиген-обученными В-клетками памяти. В-клетки памяти также эффективно поддерживают Т-клеточные иммунные механизмы: их истощение сопровождается снижением продукции ИЛ-17 лимфоцитами периферической крови, что доказывает участие В-клеток в поддержании провоспалительного ответа Т-хелперов 17 типа (Th17) (H.-C. von Budingen et al., 2016).

Противоречивые данные получены в отношении субпопуляции В-лимфоцитов, ответственных за секрецию ИЛ-10. В одном исследовании обнаружены ИЛ-10-экспрессирующие В-клетки среди активированных В-клеток памяти, что подтверждает антигенспецифические регуляторные функции В-клеток. Повышенное количество ИЛ-10-продуцирующих клеток было обнаружено у пациентов с аутоиммунным воспалением, несмотря на то что большинство больных РС в этом исследовании получали лечение иммуносупрессивными или иммуномодулирующими препаратами (Y. Iwata et al., 2011). В другом исследовании показано, что секреция ИЛ-10 — это функция преимущественно наивных (не встречавшихся с антигенами) В-клеток и что переключение с регуляторной на провоспалительную функцию может происходить при созревании в клетки памяти (M. Duddy et al., 2006).

### Продукция повреждающих аутоантител

**В-клетки сами способны вырабатывать аутоантитела, которые вызывают повреждение нервной ткани, активируют макрофаги и натуральные киллеры (M.K. Storch et al., 1998; C.P. Genain et al., 1999).**

У более чем 95% пациентов с РС антитела в повышенном количестве вырабатываются в пределах ЦНС (H. Link, Y.-M. Huang, 2006). Олигоклональные антитела, продуцируемые немногочисленными мутировавшими клонами В-клеток, могут накапливаться в ЦСЖ (M. Colombo et al., 2000). Их обнаружение при исследовании ликвора подтверждает диагноз РС. Выработка аутоантител происходит в соматически гипермутированных В-клетках. Соматическая гипермутация (СГМ) — запрограммированный процесс мутаций в В-клетках, являющийся частью адаптации иммунной системы для борьбы против новых чужеродных элементов. При активации В-клетка начинает часто делиться, и при каждом делении в участок ДНК, который кодирует переменный регион антитела, вносятся все новые мутации (замена нуклеотидов). В-клетки, лучше распознающие антиген, чаще активируются, и в итоге появляются В-клетки, антитела которых идеально распознают какой-то антиген. В конечном итоге В-лимфоцит становится плазматической клеткой, которая начинает производить антитела в больших количествах, а после того, как угроза миновала, становится клеткой памяти, способной произвести подходящие антитела через значительный промежуток времени. СГМ названа так потому, что возникает значительно чаще, чем соматические мутации нормального уровня (примерно в 10 тысяч раз). СГМ в норме реализуется в зародышевых центрах периферических лимфоидных органов. На сегодняшний день патологическое значение антител при РС остается неясным. Тот факт, что при быстром ответе на анти-В-клеточную терапию уровни антител остаются практически без изменений, вызвал предположение, что антитела играют менее

важную патогенетическую роль. Вместе с тем известно, что аутоантитела против ЦНС требуют благоприятной воспалительной среды или, по крайней мере, функционирующей системы комплемента, для того чтобы реализовывать свои патогенетические функции. Элиминация антител-независимых функций В-лимфоцитов (презентации антигенов, активации Т-клеток, образования медиаторов воспаления) путем истощения В-клеток, по видимому, подавляет эффекторные механизмы воспаления в паренхиме мозга до такой степени, при которой антитела не могут вызвать существенного повреждения нервной ткани (H.-C. von Budingen et al., 2016).

### Эктопические лимфоидные фолликулы — центры аутоиммунной агрессии в ЦНС

**В-клетки могут образовывать в мозговых оболочках фолликулоподобные скопления, связанные с активацией микроглии, локальным воспалением и нейрональными потерями в близлежащей ткани коры головного мозга (B. Serafini et al., 2004; R. Magliozzi et al., 2011).**

В настоящее время не только установлено, что ЦНС является мишенью аутоиммунной агрессии при РС, но также идентифицированы отделы и ткани (например, паренхима мозга, ЦСЖ, менингеальная ткань), поддерживающие созревание иммунной компетентности В-клеток (рис. 2). Анализ В-лимфоцитов, выделенных из ЦСЖ пациентов с РС, показал, что эти клетки проходят все этапы созревания и дифференцировки внутри ЦНС, что в норме происходит только в периферических лимфоидных органах (Corcione et al., 2004).

В посмертных исследованиях при РС в ткани мозга были обнаружены эктопические лимфоидные фолликулоподобные структуры (третичные лимфоидные органы), состоящие преимущественно из В-лимфоцитов,

сходные по структуре с периферическими лимфоидными фолликулами (Serafini et al., 2004, 2007; Magliozzi et al., 2010, 2011). Подобно вторичной лимфоидной ткани, эти структуры имеют зародышевые центры, где происходят размножение и созревание В-клеток, в том числе СГМ, пролиферация и конечная дифференцировка в антителопродуцирующие плазмочиты. Так, в исследовании R. Magliozzi и соавт. лимфоидные В-клеточные фолликулоподобные структуры обнаруживались в мозговых оболочках у 41% пациентов со вторично-прогрессирующим РС и ассоциировались с кортикальной потерей нейронов, демиелинизацией, быстрым прогрессированием неврологического дефицита, ранней инвалидизацией и смертью (рис. 3).

Патологическое значение этих эктопических В-клеточных фолликулов в аутоиммунной агрессии против ЦНС еще не до конца изучено. Вместе с тем присутствие CD35+ фолликулярных дендритных клеток и пролиферирующих В-лимфоцитов, а также экспрессия хемокина CXCL13, привлекающего В-клетки, и фактора, активирующего В-клетки (BAFF), дают основание утверждать, что третичные лимфоидные ткани в ЦНС при прогрессирующем РС обеспечивают активный интраменингеальный иммунный ответ. Более того, CXCL13 и BAFF также обнаруживались в очагах РС (M. Klumbholz et al., 2006), где указанные факторы могут служить медиаторами местного вовлечения В-клеток и их созревания в очагах активной демиелинизации.

### Значение CD20-рецепторов для разработки таргетной терапии

В ходе созревания В-лимфоцитов на поверхности их мембран появляются специфические молекулы, называемые кластерами дифференциации. Они имеют значение для дифференциации В-клеток, передачи сигнала об антигенах, а также регуляции выработки цитокинов. Кластер дифференциации CD20 является специфическим маркером определенных субпопуляций В-клеток (P. Stashenko et al., 1980; M.R. Loken et al., 1987). Разные субпопуляции

В-клеток в ходе их созревания выполняют разные функции в иммунной системе. В новых исследованиях изучается возможность селективного распознавания поверхностных маркеров, экспрессируемых на определенных этапах созревания В-лимфоцитов, для элиминации патогенных линий В-клеток при РС.

Ведущим методом лечения РС является иммуносупрессивная терапия. Современной тенденцией является переход от методов неселективной иммуносупрессии к использованию таргетных препаратов, нацеленных на определенные звенья иммунной системы. В последние годы в лечении широкого круга аутоиммунных заболеваний с успехом использовался подход, основанный на истощении пула CD20-положительных В-лимфоцитов (так называемая В-клеточная деплеция). В настоящее время изучаются возможности таргетной терапии, направленной на CD20-В-лимфоциты, в лечении РС.

Выбор CD20 в качестве мишени для таргетной терапии связан с особенностями дифференцировки В-клеток. Рецепторы CD20 образуются только на определенных стадиях созревания В-клеток: от пре-В-клеток до зрелых В-лимфоцитов и клеток памяти (рис. 4). Стволовые, про-В- и плазматические клетки не содержат на своей поверхности CD20. Наивные В-лимфоциты и В-клетки памяти играют важную роль в патогенезе РС, в то время как стволовые и прогениторные клетки необходимы для обновления всей популяции В-лимфоцитов (M.D. Pescovitz et al., 2006). Плазмочиты также являются важным компонентом гуморального иммунитета, носителями долгосрочной памяти о чужеродных антигенах (R. Warrington et al., 2011). Истощение пула В-клеток, несущих рецепторы CD20, не отменяет регенерацию В-лимфоцитов и не влияет на синтез иммуноглобулинов плазматическими клетками, что позволяет сохранить иммунологическую память.

**Таким образом, CD20-избирательная анти-В-клеточная терапия представляется эффективным подходом к подавлению аномального иммунного ответа и демиелинизирующего воспаления при РС, но при этом является безопасной для общей популяции В-лимфоцитов и не мешает реализации физиологических иммунных ответов.**

### Выводы и перспективы

В-клетки и продуцируемые ими иммуноглобулины, обнаруживаемые в ЦСЖ пациентов, больше не являются сугубо диагностическим маркером РС. Данные последних исследований заставляют пересмотреть значение В-клеток при данном заболевании. Становится все более очевидной их роль в иммунном воспалении и прогрессировании поражений ЦНС.

Согласно традиционной точке зрения В-клетки являются источником аутоантител, участвующих в процессе демиелинизации, а недавно была установлена их важная функция как антигенпрезентирующих клеток, которые «обучают» Т-клетки, как начинать иммуновоспалительный каскад.

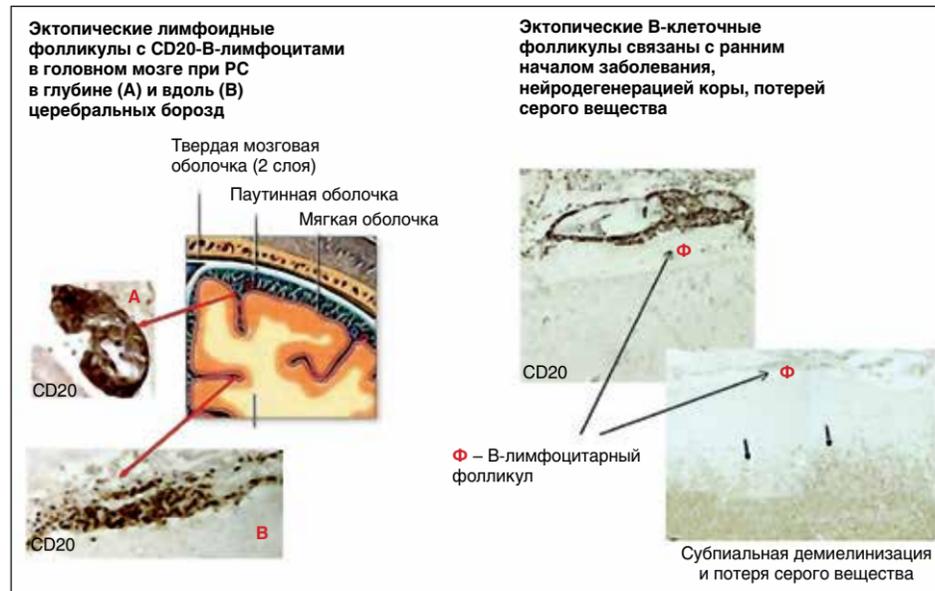
Иммунное воспаление, которое поддерживается в ЦНС скоплениями В-клеток, обуславливает прогрессирование заболевания и ассоциируется с худшим прогнозом.

Безусловно, не все В-клетки вовлечены в процессы разрушительного аутоиммунного воспаления при РС. Способность точно отличать патогенные В-клетки по кластеру дифференциации CD20 открывает путь к разработке целенаправленной терапии РС с улучшенным профилем эффективности и безопасности, позволит максимально приблизить ее к принципам персонализированного лечения.

Подготовил **Дмитрий Молчанов**

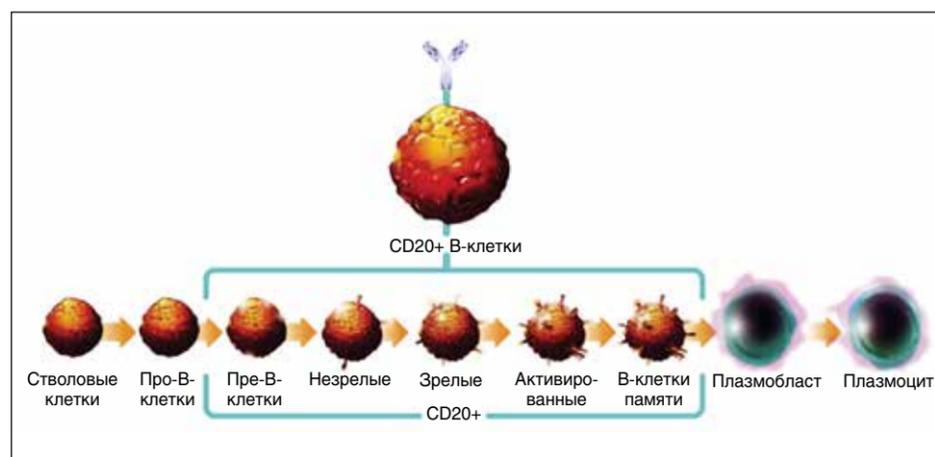
Подготовлено по заказу  
ООО «Рош Украина».

UA/NEUR/1704/0002



**Рис. 3. Менингеальные В-клеточные фолликулы у пациентов с прогрессирующим РС ассоциируются с ранним началом заболевания и тяжелой кортикальной патологией.**

По данным Magliozzi R. et al. Brain, 2007; 130: 1089-1104. Magliozzi R. et al. Ann Neurol. 2010; 68: 477-493 (посмертный морфологический анализ ткани мозга пациентов с РС).



**Рис. 4. Экспрессия кластера дифференциации CD20 в ходе созревания В-клеток**