



НЕЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНЫ BCG ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ B10.M ($H2^f$) И ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА АНТИГЕНЫ МИКОБАКТЕРИЙ

М. В. КОРОТЕЦКАЯ, П. Г. БАЙКУЗИНА, А. С. АПТ

ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, РФ

Цель исследования: выявить особенности иммунного ответа, из-за которых вакцина BCG неэффективна у мышей, несущих аллель $H2^f$ главного комплекса тканевой совместимости.

Материалы и методы. Инбредные линии мышей B10.M ($H2^f$) и B10 ($H2^b$), вакцинированных и не вакцинированных BCG и зараженных *M. tuberculosis* H₃₇Rv, сравнивали по срокам выживания после заражения, количеству микобактерий в легких, способности Т-лимфоцитов распознавать антигены микобактерий и продуцировать интерферон- γ (IFN- γ) в ответ на антигены микобактерий и неспецифическую стимуляцию Т-рецептора.

Результаты. Установлено, что мышей линии B10.M отличает специфическая неспособность Т-клеток лимфоидных органов (селезенка) и легких продуцировать IFN- γ в ответ на длительную стимуляцию антигенами микобактерий при хронической инфекции, хотя распознавание этих антигенов, а также способность продуцировать IFN- γ в ответ на неспецифическое связывание Т-рецепторов антителами анти-CD3 была полностью сохранена. Показали, что дефект по продукции IFN- γ проявляется на поздней стадии инфекции независимо от предварительной вакцинации BCG, и выдвинули гипотезу, что он, скорее, связан с феноменом специфического «иммунологического истощения» Т-клеток у мышей, несущих некоторые аллельные варианты комплекса $H2$.

Ключевые слова: генетический контроль, туберкулез, комплекс $H2$, BCG, IFN- γ , Т-лимфоциты

Для цитирования: Коротецкая М. В., Байкузина П. Г., Апт А. С. Неэффективность вакцины BCG для защиты от туберкулезной инфекции у мышей линии B10.M ($H2^f$) и иммунный ответ на антигены микобактерий // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2019. – Т. 97, № 7. – С. 48-55. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-7-48-55>

THE INEFFECTIVENESS OF BCG TO PROTECT AGAINST TUBERCULOSIS INFECTION IN MICE OF B10.M LINE ($H2^f$) AND THE IMMUNE RESPONSE TO MYCOBACTERIAL ANTIGENS

M. V. KOROTETSKAYA, P. G. BAYKUZINA, A. S. APT

Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia

Objective: to identify specific features of the immune response making BCG vaccine ineffective in mice carrying $H2^f$ allele of the main complex of tissue compatibility.

Subjects and methods. Inbred lines of B10.M ($H2^f$) and B10 ($H2^b$) mice vaccinated and not vaccinated with BCG and infected with *M. tuberculosis* H₃₇Rv, were compared in terms of survival after the infection, the number of mycobacteria in the lungs, the ability of T-lymphocytes to recognize mycobacterial antigens and produce interferon- γ (IFN- γ) in response to mycobacterial antigens and non-specific stimulation of T-receptors.

Results. It was found out that B10.M mice were unable to produce T-cells by the lymphoid organs (spleen) and lungs to produce IFN- γ in response to long-term stimulation of mycobacterial antigens in chronic infection, although the recognition of these antigens, as well as the ability to produce IFN- γ in response to non-specific binding of T-receptors with anti-CD3 antibodies, were completely preserved. It was demonstrated that the defect in IFN- γ production manifested at a late stage of infection regardless of prior BCG vaccination, and hypothesized that it was rather associated with the phenomenon of specific "immunological depletion" of T-cells in mice carrying some allelic variants of $H2$ complex.

Key words: genetic control, tuberculosis, $H2$ complex, BCG, IFN- γ , T-lymphocytes

For citations: Korotetskaya M.V., Baykuzina P.G., Apt A.S. The ineffectiveness of BCG to protect against tuberculosis infection in mice of B10.M line ($H2^f$) and the immune response to mycobacterial antigens. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2019, Vol. 97, no. 7, P. 48-55. (In Russ.) <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-7-48-55>

Вакцина BCG остается единственной одобренной Всемирной организацией здравоохранения вакциной от туберкулеза (ТБ). Ее эффективность против милиарного ТБ и туберкулезного менингита у детей не вызывает сомнений [3, 7], однако данные о предотвращении легочной инфекции у взрослых остаются противоречивыми и в некоторых клинических исследованиях вакцинация BCG оказалась неэффективной [20]. Особенно это касается эндемичных по ТБ регионов с высокой распространенностью разных видов микобактерий, в том числе неvirulentных и слабоvirulentных [15, 21]. Существен-

ное влияние на эффективность вакцинации различных факторов, включая генетические, широко обсуждается, но остается слабо изученным. Тем не менее достаточно много работ посвящено поискам возможной связи между эффективностью вакцинации и разнообразием вакцинных штаммов [8, 11, 19, 24] или контактам с микобактериями окружающей среды [2, 4, 22]. Гораздо труднее оказалась задача количественно оценить связь между вариациями в эффективности вакцинации и генетическими отличиями между вакцинируемыми индивидами или модельными/сельскохозяйственными животными.

Даже в экспериментальных условиях параметры иммунного ответа на вакцину BCG оказалось не просто отделить от их аналогов при заражении микобактериями, вызывающими туберкулез.

Совсем недавно в популяциях человека стали исследовать другой аспект генетического контроля иммунного ответа на антигены микобактерий. Некоторая доля лиц вообще не отвечает на эти антигены. Первой возможной причиной подобной анергии считают настолько высокий уровень естественной резистентности, что микобактерии элиминируются так быстро, что не возникает Т-клеточный ответ, поэтому кожные пробы и тест IGRA остаются отрицательными, несмотря на постоянный контакт с источником микобактерий [5, 6]. Точно так же можно представить себе и быстрое выведение вакцины BCG за счет врожденного иммунного ответа. В этом случае отсутствие адаптивного ответа на вакцинацию может означать не отсутствие защиты, а полную резистентность к микобактериям. Экспериментально генетический контроль этих вариантов ответа пока не изучался, поскольку соответствующие модели не разработаны.

Тем не менее опубликовано несколько работ, в которых убедительно продемонстрированы отличия между генетическим контролем собственно туберкулезной инфекции и эффективностью вакцинации BCG. По-видимому, первой из них стало наше раннее исследование, в котором показано, что главный комплекс тканевой совместимости мыши (комплекс *H2*) контролирует и тяжесть течения ТБ, и эффективность вакцинации BCG, причем этот контроль носит независимый характер. Установлено, что низкий уровень резистентности к первичному заражению *M. tuberculosis* и отсутствие эффекта вакцинации BCG контролируются разными аллелями комплекса *H2* [3]. Напротив, в работе группы И. Крамника на панели мышей, конгенных по локусу *sst1*, показано сходное влияние аллелей этого локуса и на тяжесть течения ТБ, и на эффективность вакцинации BCG [25]. Это противоречие, скорее всего, связано с типами иммунного ответа, который контролируют гены комплекса *H2* (прежде всего адаптивный ответ Т-лимфоцитов) и локус *sst1* (активацию макрофагов).

Проблема генетически обусловленного избирательного отсутствия ответа на вакцину BCG недавно исследована с помощью совершенно другого генетического подхода. Получена панель генетически разнообразных инбредных линий мышей, включающая исходные линии и их рекомбинантные производные с известной генетической структурой, не уступающая по разнообразию индивидуальным аутбредным животным (проект «Collaborative Cross»). С помощью этой панели, адекватно моделирующей генетическое разнообразие природных популяций, показано, что животные разных линий не только имеют совершенно разный уровень восприимчивости и иммунного ответа к *M. tuberculosis*, но и

разный уровень защиты от ТБ после вакцинации BCG, причем вакцинация оказалась эффективной для меньшей части исследованных линий. Более того, генетический контроль эффективности вакцинации совершенно не совпал с контролем тяжести течения инфекции [23].

Все эти наблюдения убедительно показывают как важность генетики хозяина в контроле эффективности вакцинации BCG, так и недостаточность знаний в этой области. В этой связи решили провести новое исследование контроля вакцинации BCG с использованием линии мышей B10.M, которую, по нашим предыдущим данным, в отличие от многих других конгенных ей по *H2* линий, не защищает вакцина BCG. Разработка адекватной модели заражения низкой дозой микобактерий через респираторный тракт [17, 18] и возможность исследовать продукцию клетками легкого цитокинов, существенных для ответа на микобактерии, позволили получить новые данные о природе дефекта мышей линии B10.M при ответе на вакцинацию BCG.

Цель: выявление особенностей иммунного ответа, которые препятствуют эффективному противотуберкулезному действию вакцины BCG у мышей, несущих аллель *H2^f* главного комплекса тканевой совместимости.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Для работы использовали две инбредные линии мышей: B10.M/SnEgYCit (*H2^f*) и B10/SnEgYCit (*H2^b*). Линии поддерживаются братско-сестринскими скрещиваниями в питомнике ФГБНУ «ЦНИИТ» в обычных условиях, с доступом к корму и воде *ad libitum*. Опыты проводили на животных массой 20-22 г обоих полов, поскольку предварительные исследования не выявили различий по характеру инфекции между самцами и самками. Регистрацию гибели животных проводили ежедневно, взвешивание – еженедельно.

Культуры микобактерий, вакцинация и заражение. В работе применяли *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv (Mtb) из коллекции лаборатории иммуногенетики ФГБНУ «ЦНИИТ». Описание подготовки культур и заражения мышей в аэрозольной камере «GlasCol» (США) приведено ранее [17, 18]. *M. bovis* BCG, штамм Pasteur, из коллекции лаборатории иммуногенетики ФГБНУ «ЦНИИТ» размножали в жидкой среде Дюбо и хранили аликвотами по 10⁸ КОЕ/мл при -70°C. Мышей вакцинировали однократно 5 × 10⁷ BCG в 0,5 мл физиологического раствора с 0,005% Tween 20 подкожно в холку. При внутреннем заражении вводили 10⁶ КОЕ Mtb H₃₇Rv на мыш, а при аэрозольном заражении использовали суспензию Mtb в аэрозольной камере, при которой нагрузка в легком у мыши на следующий день составляет 2-5 × 10² КОЕ Mtb H₃₇Rv.

Определение количества *Mtb* и *BCG* в органах.

Стерильно выделяли легкие и селезенки зараженных или вакцинированных животных, гомогенизировали в 2 мл физиологического раствора, готовили серийные десятикратные разведения гомогенатов органов и высевали на чашки Петри с агаром Дьюбо («Difco», США) по 50 мкл на чашку. Чашки инкубировали при 37°C, через 21 день подсчитывали количество колоний на чашке и пересчитывали их количество на орган (КОЕ/орган).

Приготовление суспензий клеток селезенки, лимфоузлов и легких. Все процедуры приготовления суспензий клеток детально описаны ранее [12]. Для работы с культурами (пролиферативные тесты, продукция IFN- γ) клетки легкого или селезенки помещали в среду для культивирования (RPMI-1640, содержащая 5% FCS, 1 mM пируват, 4 mM L-глутамат, 50 мкг/мл смеси антибиотиков стрептомицина и пеницилина, 5×10^{-5} β -меркаптоэтанол, 10 mM HEPES, все компоненты производства HiClone, Logan, UT, USA). Для выделения Т-клеток CD3⁺ из лимфатических узлов применяли метод магнитного разделения на бусах с выходом Т-клеток не менее 95%.

Анализ продукции IFN- γ проводили в супернатантах 72-часовых культур клеток селезенки и легких методом ELISA с использованием набора DuoSet ELISA Development kit (DY485) по рекомендуемой фирмой R&D методике.

Приготовление гистологических срезов и окрашивание препаратов. Для исследования патологических изменений в легких подопытных мышей ткань замораживали в режиме температурного градиента от -60 до -20°C в течение 10 мин в электронном криотоме (ThermoShandon, Великобритания). Получали срезы толщиной 8 мкм. Срезы высушивали на воздухе, фиксировали в этаноле и окрашивали гематоксилином и эозином.

Статистическая обработка результатов. Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc.) по методам корреляционного и вариационного анализа (ANOVA) и критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Фенотип линии В10.М ($H2^f$). В первой серии опытов перепроверили данные, полученные 25 лет назад, чтобы исключить влияние условий содержания животных, которые существенно изменились после капитального ремонта вивария и замены оборудования в 2004-2005 гг. Схема первого опыта полностью повторяла статью 1993 г. [3]. Двадцать восемь мышей линии В10.М разделили на две группы по 14 животных в каждой и одну из них провакцинировали *BCG*. Через 5 нед. после вакцинации мышей обеих групп заразили внутривенно 10^6 КОЕ *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Как показано на рис. 1А, вакцинированные и невакцинированные мыши не отличались по срокам выживания после заражения, что подтвердило результаты старых экспериментов и стабильность фенотипа. При оценке патологии легочной ткани также не выявили серьезных различий. Наблюдалось образование мелких очагов, разбросанных по паренхиме легкого (рис. 1Б, В).

Модель аэрозольного заражения больше соответствует обычному пути заражения ТБ, поэтому проверили эффективность вакцинации *BCG* при заражении через респираторный тракт. В качестве контроля взята конгенная линия В10, которая имеет ту же генетическую основу, что и В10.М, но, во-первых, несет аллельный вариант $H2^b$, а не $H2^f$, а, во-вторых, отвечает на вакцинацию *BCG* в модели внутривенного заражения [3].

Сначала оценили, приводит ли введение *BCG* к одинаковому попаданию и персистенции вакцины

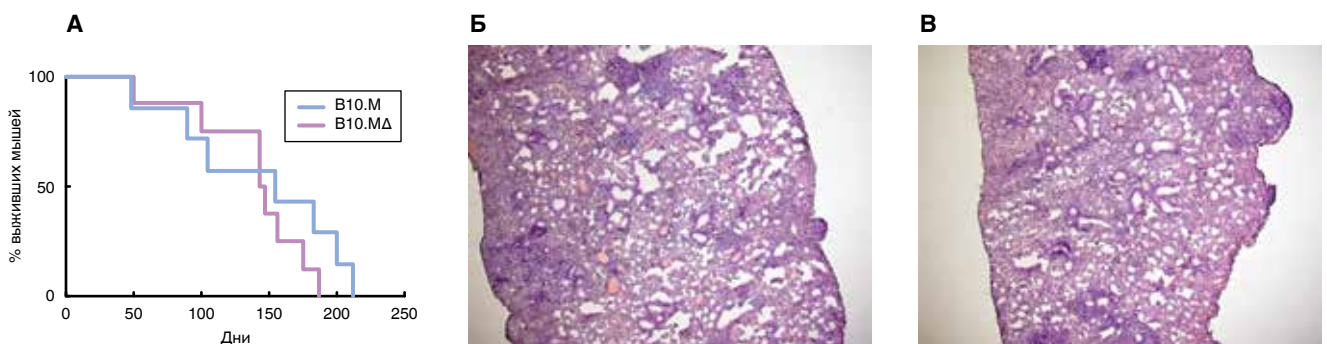


Рис. 1. Вакцинация *BCG* не защищает мышей линии В10.М от последующего внутривенного заражения вирулентными микобактериями. (А) Вакцинированные (Δ) и невакцинированные мыши не отличаются по выживаемости ($N = 14$ в каждой группе). Характер легочной патологии через 8 нед. после заражения не отличается у вакцинированных (Б) и невакцинированных (В) животных

Fig. 1. *BCG* vaccination does not protect В10.М mice from subsequent intravenous infection with virulent mycobacteria. (А) Vaccinated (Δ) and not vaccinated mice do not differ in their survival ($N = 14$ in each group). The nature of pulmonary pathology in 8 weeks after infection did not differ in vaccinated (Б) and not vaccinated (В) animals

в лимфоидной системе мышей двух линий. Через 5 нед. после вакцинации число КОЕ BCG в селезенках не отличалось у мышей двух линий (рис. 2А), следовательно, они одинаково контролируют персистенцию живой вакцины в лимфоидных органах. Затем эксперименты по защитным свойствам вакцины провели в условиях аэрогенного заражения.

В двух независимых экспериментах по аэрозольному заражению исследованы 4 группы мышей: В10.М и В10 невакцинированные, В10.М и В10 вакцинированные. Через 5 нед. после вакцинации мышей заражали аэрозольным путем и через 4 и 8 нед. после заражения подсчитывали количество микобактерий в легких – фенотип, который не проанализирован в ранних экспериментах. На 4-й нед. после заражения обнаружены достоверные ($p < 0,01$) различия между группами вакцинированных и невакцинированных мышей обеих линий (рис. 2Б). Таким образом, на самой ранней фазе инфекции никакого дефекта в ответе на вакцину у мышей линии В10.М не наблюдается. На 8-й нед. после аэрозольного заражения количество Mtb в легких (рис. 2В) и селезенке (рис. 2Г) всех мышей не отличалось. Однако при оценке таких интегральных показате-

лей развития инфекции, как срок выживания после заражения (рис. 3А) и динамика снижения массы (рис. 3Б), оказалось, что при аэрогенном заражении мыши двух линий имеют тот же фенотип, что и при внутривенном заражении. Вакцинация BCG дает заметное продление срока жизни и замедляет потерю массы у мышей линии В10, но совершенно неэффективна у мышей линии В10.М.

Полученные данные позволяют сделать два заключения. Во-первых, различия в эффективности вакцинации, контролируемые генами комплекса *H2* (гомолога комплекса *HLA* человека), не связаны с различиями в персистенции вакцины и к данному типу контроля не подходит гипотеза о важной роли быстрого выведения вакцины BCG из организма животных, не отвечающих на вакцинацию за счет врожденного иммунитета. Этот результат вполне ожидаем, поскольку гены главного комплекса тканевой совместимости в первую очередь регулируют адаптивный ответ Т-лимфоцитов, а по всем другим генам две конгенные линии идентичны. Во-вторых, аллельный вариант *H2^f* мышей линии В10.М не дефектен по иммунному ответу *per se*, поскольку на ранней фазе инфекции вакцинированные мыши

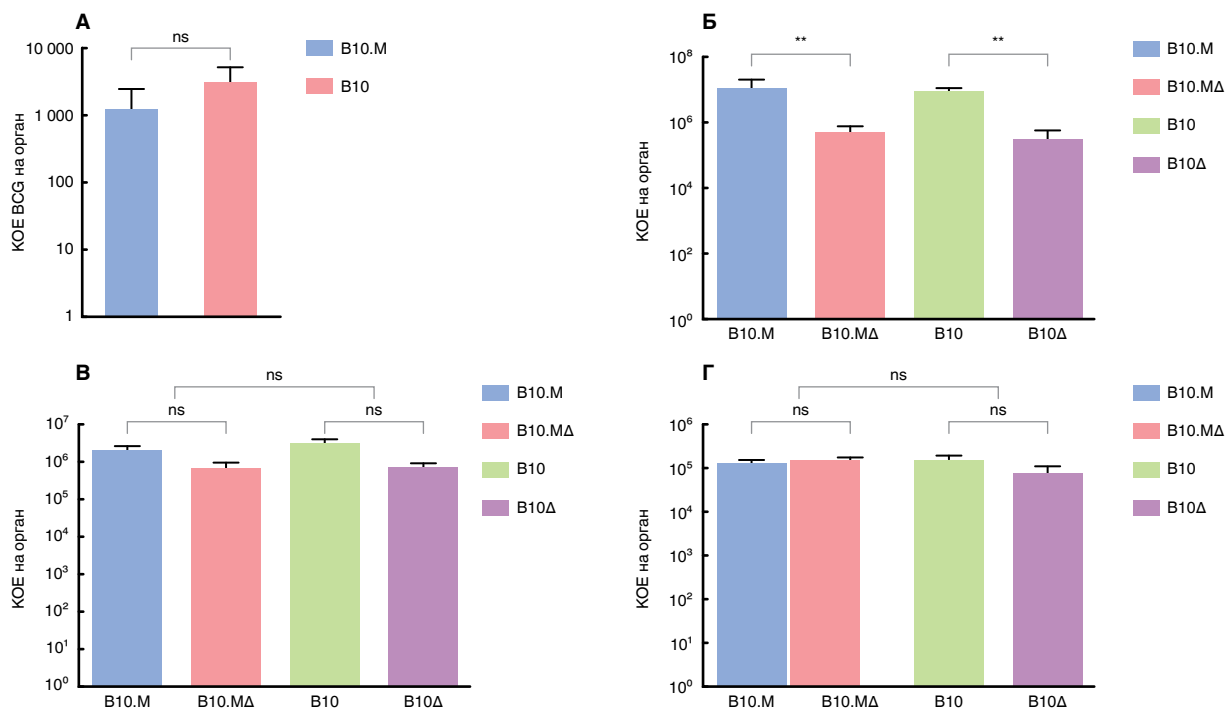


Рис. 2. У мышей линии В10.М вакцинация BCG снижает количество вирулентных микобактерий на ранней стадии инфекции, но не дает защиты на более поздних стадиях. (А) – содержание вакцины в лимфоидных органах (селезенка) одинакова у мышей двух линий через 5 нед. после вакцинирования (5×10^7 КОЕ на мышь, $N = 5$), (Б) – снижение количества микобактерий *H₃₇Rv* в легких на 4-й нед. после аэрозольного заражения (600 КОЕ на мышь, $N = 6$ на группу), (В) – одинаковое количество микобактерий *H₃₇Rv* в легких и селезенке, (Г) – на 8-й нед. после аэрозольного заражения ($N = 6$ на группу)

Fig. 2. In В10.М mice, BCG vaccination reduced the number of virulent mycobacteria at an early stage of infection but provided no protection at later stages. (А) – the vaccine content in the lymphoid organs (spleen) was the same in mice of two lines in 5 weeks after vaccination (5×10^7 CFU per mouse, $N = 5$), (Б) – decrease in the number of *H₃₇Rv* mycobacteria in the lungs at the 4th week after aerosol infection (600 CFU per mouse, $N = 6$ per group), (В) – the same number of *H₃₇Rv* mycobacteria in the lungs and spleen, (Г) on the 8th week after aerosol infection ($N = 6$ per group)

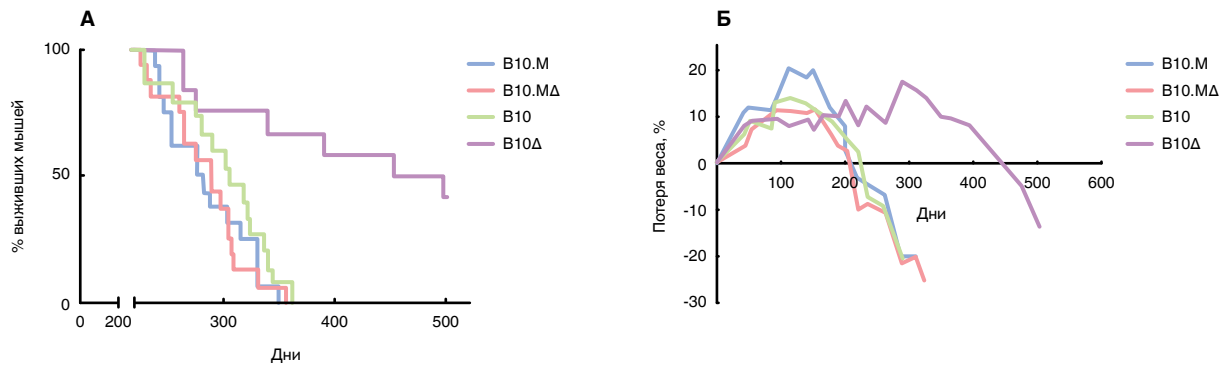


Рис. 3. Интегральные показатели на поздних стадиях развития инфекции. Срок выживания (А) и динамика изменения веса (Б) у вакцинированных (Δ) и невакцинированных животных ($N = 14$ на группу)

Fig. 3. Integral indicators at the late stages of infection. The survival time (А) and weight change (Б) in vaccinated (Δ) and not vaccinated animals ($N = 14$ per group)

обеих линий показывают одинаковый уровень снижения скорости размножения микобактерий в легких, а на более поздних стадиях инфекции роль механизмов адаптивного иммунитета, а не врожденного, только возрастает. В этой связи мы попытались эмпирически выявить природу дефекта ответа на вакцину у мышей линии В10.М.

Многочисленные работы последних десятилетий убедительно показали, что главным механизмом адаптивного защитного иммунного ответа на туберкулезную инфекцию является активация инфицированных макрофагов под действием $IFN-\gamma$, главным источником которого являются иммунные Т-лимфоциты [13, 14]. Логичным продолжением работы стало определение продукции $IFN-\gamma$ клетками селезенки (иммунная система) и легких (основной очаг инфекции) зараженных мышей двух линий на пике адаптивного ответа на инфекцию при достаточно выраженной легочной патологии [10]. Клетки из органов мышей культивировали в течение 72 ч в присутствии смеси антигенов микобактерий и определяли количество секретированного в среду $IFN-\gamma$ методом ELISA.

Как показано на рис. 4, предварительная вакцинация BCG не влияла на продукцию $IFN-\gamma$ клетками зараженных мышей через 8 нед. после заражения. В то же время различия между линиями мышей оказались очень существенными: секреция $IFN-\gamma$ клетками легких (рис. 4А) и особенно селезенки (рис. 4Б) мышей линии В10.М оказалась достоверно ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно) ниже, чем мышей линии В10. Более того, продукция $IFN-\gamma$ на саму вакцинацию без заражения также была достоверно ниже в селезенках мышей линии В10.М через 5 нед. после введения вакцины (рис. 4В). Низкий уровень продукции $IFN-\gamma$, несомненно, очень вероятная причина дефекта защиты от инфекции у мышей линии В10.М, поэтому было важно определить, связан ли дефект мышей линии В10.М с нарушением презентации антигенов микобактерий Т-клеткам и носит ли этот дефект специфический характер или у мышей линии В10.М в принципе очень низкий уровень продукции $IFN-\gamma$. Для теста на презентацию иммунизировали

мышей убитыми ультрафиолетом клетками BCG в неполном адьюванте Фрейнда и после культивирования клеток лимфоузлов в присутствии убитых бактерий и без источника антигенов определяли уровень включения радиоактивного $[H^3]$ -тимидина. Уровень Т-клеточного ответа на антигены BCG у мышей линий В10.М и В10 оказался одинаковым (рис. 4Г). Чтобы установить наличие или отсутствие генетического дефекта в продукции $IFN-\gamma$, проверили выработку $IFN-\gamma$ клетками селезенки незараженных мышей в ответ на антитела анти-CD3 – стандартный тест на неспецифическую активацию Т-лимфоцитов через Т-рецептор. Оказалось, что клетки мышей обеих линий совершенно одинаково и сильно отвечают на стимуляцию антителами (рис. 4Д). Таким образом, показано, что у мышей линии В10.М ($H2^f$) имеется специфический дефект ответа на микобактерии продукцией $IFN-\gamma$, который не связан с взаимодействием их Т-рецепторов с антиген-презентирующими молекулами $H2$.

Важным стало наблюдение, что различия в секреции $IFN-\gamma$ между линиями В10 и В10.М не зависят от предварительной вакцинации BCG: ответ был ниже как у вакцинированных, так и невакцинированных мышей линии В10.М (рис. 4А). Таким образом, основной причиной различий в сроках выживания и динамике кахексии между линиями (рис. 3А, Б) следует признать не отсутствие ответа на вакцину, а неспособность поддерживать продукцию $IFN-\gamma$ при длительном постоянном контакте с антигенами микобактерий. Данный феномен и его зависимость от аллелей комплекса $H2$ подробно описаны в нашей работе, показывающей, что Т-клетки с некоторыми аллельными вариантами $H2$ при повторяющихся стимуляциях соникатом *M. tuberculosis* легко переходят в состояние антиген-специфической Т-клеточной линии, а клетки других генотипов перестают отвечать на стимул и погибают [16]. Скорее всего, их гибель связана с наступлением апоптоза, вызванного гиперактивацией, и возможные физиологические последствия этого феномена подробно обсуждались ранее [1]. Феномен «иммунологического истощения»

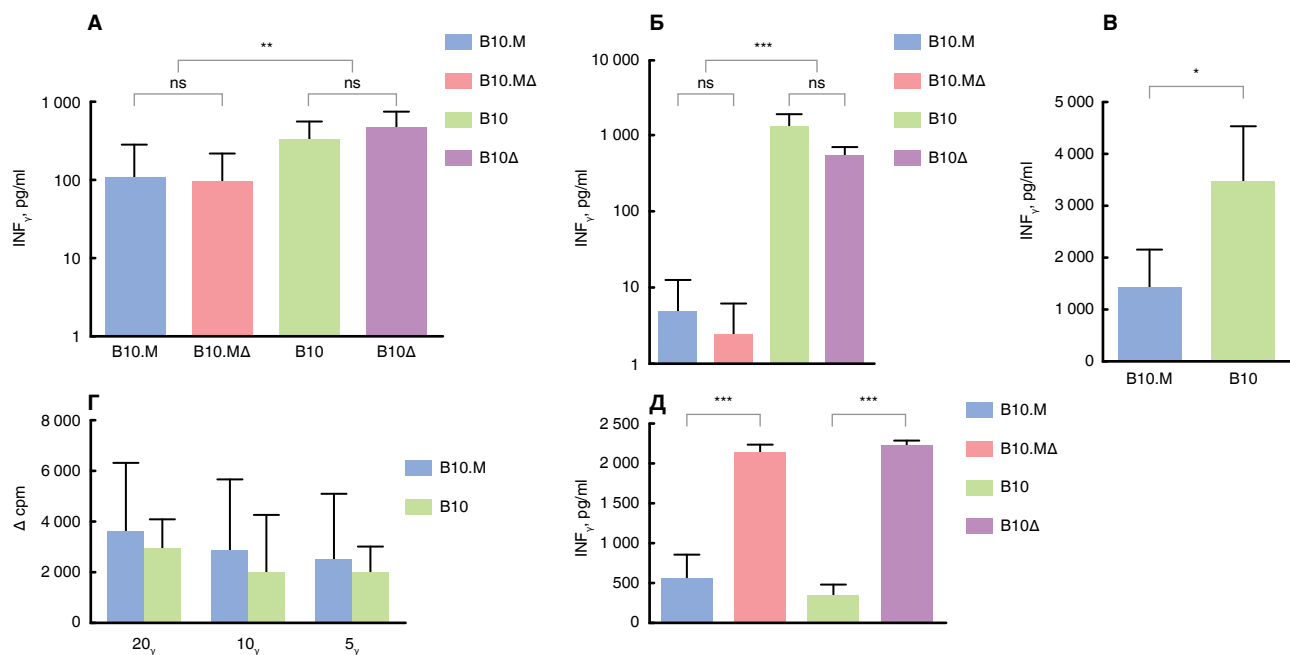


Рис. 4. Мыши линии B10.M дефектны по продукции IFN- γ при ответе на антигены микобактерий. Через 8 нед. после заражения клетки легкого (А) и селезенки (Б) вакцинированных (Δ) и невакцинированных мышей линии B10.M продуцируют достоверно (** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$) меньше IFN- γ по сравнению с клетками мышей B10. Через 5 нед. после вакцинации BCG спленциты B10.M продуцируют меньше ($p < 0,05$) IFN- γ в ответ на стимуляцию убитой BCG (В). Клетки CD4⁺ мышей B10.M не утратили способности к пролиферативному ответу на антигены микобактерий (Г) и к продукции IFN- γ при неспецифическом стимуле антителами анти-CD3 (α) (Д)

Fig. 4. B10.M mice were defective in IFN- γ production when responding to mycobacterial antigens. In 8 weeks after infection, the lung cells (A) and spleen (B) of vaccinated (Δ) and non-vaccinated B10.M mice produced confidently (** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$) less IFN- γ compared with the cells of B10 mice. In 5 weeks after BCG vaccination, B10.M splenocytes produced less ($p < 0.05$) IFN- γ in response to stimulation with killed BCG (B). CD4⁺ cells of B10.M mice did not lose their ability to proliferate to mycobacterial antigens (G) and to produce IFN- γ with a nonspecific stimulus with anti-CD3 antibodies (α) (D)

важен при многих типах ответа [9], и в последующих экспериментах планируем детально оценить его роль при ответе на туберкулезную инфекцию.

Заключение

Проведенные эксперименты показали, что Т-лимфоциты мышей линии B10.M (H2^f) нормаль-

но распознают антигены микобактерий и отвечают на вакцинацию в течение ранней фазы взаимодействия с микобактериями, но имеют низкий уровень продукции важного защитного фактора IFN- γ . Этот дефект связан не с вакцинацией, а, вероятно, свидетельствует об истощении пула Т-лимфоцитов, необходимых для защиты от инфекции с длительным хроническим течением.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пичугин А. В., Апт А. С. Апоптоз клеток иммунной системы при туберкулезной инфекции // Пробл. туб. - 2005. - № 12. - С. 3-7.
2. Adu H. O., Curtis J., & Turk J. L. Role of the major histocompatibility complex in resistance and granuloma formation in response to Mycobacterium lepraemurium infection // Infect. Immun. - 1983. - Vol. 40, № 2. - P. 720-725.
3. Apt A. S., Avdienko V. G., Nikonenko B. V., Kramnik I. B., Moroz A. M., Skamene E. Distinct H-2 complex control of mortality, and immune responses to tuberculosis infection in virgin and BCG-vaccinated mice // Clin. Exp. Immunol. - 1993. - Vol. 94, № 2. - P. 322-329.
4. Brett S., Orrell J. M., Beck J., Ivanyi J. Influence of H-2 genes on growth of Mycobacterium tuberculosis in the lungs of chronically infected mice // Immunol. - 1992. - Vol. 76, № 1. - P. 129.

REFERENCES

1. Pichugin A.V., Apt A.S. Cellular apoptosis of the immune system in case of tuberculous infection. *Probl. Tub.*, 2005, no. 12, pp. 3-7. (In Russ.)
2. Adu H.O., Curtis J., & Turk J.L. Role of the major histocompatibility complex in resistance and granuloma formation in response to Mycobacterium lepraemurium infection. *Infect. Immun.*, 1983, vol. 40, no. 2, pp. 720-725.
3. Apt A.S., Avdienko V.G., Nikonenko B.V., Kramnik I.B., Moroz A.M., Skamene E. Distinct H-2 complex control of mortality, and immune responses to tuberculosis infection in virgin and BCG-vaccinated mice. *Clin. Exp. Immunol.*, 1993, vol. 94, no. 2, pp. 322-329.
4. Brett S., Orrell J.M., Beck J., Ivanyi J. Influence of H-2 genes on growth of Mycobacterium tuberculosis in the lungs of chronically infected mice. *Immunol.*, 1992, vol. 76, no. 1, pp. 129.

5. Cadena A. M., Fortune S. M., Flynn J. L. Heterogeneity in tuberculosis // *Nat. Rev. Immunol.* - 2017. - Vol. 17, № 11. - P. 691.
6. Clarke A. J., Simon A. K. Autophagy in the renewal, differentiation and homeostasis of immune cells // *Nat. Rev. Immunol.* - 2018. - Dec 7.
7. Fogel N. Tuberculosis: a disease without boundaries // *Tuberculosis.* - 2015. - Vol. 95, № 5. - P. 527-531.
8. Hussain R., Shiratsuchi H., Ellner J. J., Wallis R. S. PPD-specific IgG1 antibody subclass upregulate tumour necrosis factor expression in PPD-stimulated monocytes: possible link with disease pathogenesis in tuberculosis // *Clin. Exp. Immunol.* - 2000. - Vol. 119, № 3. - P. 449.
9. Khan N., Vidyarthi, A., Amir, M., Mushtaq, K., & Agrewala, J. N. T-cell exhaustion in tuberculosis: pitfalls and prospects // *Crit. Rev. Microbiol.* - 2017. - Vol. 43, № 2. - P. 133-141.
10. Kondratieva E., Logunova N., Majorov K., Averbakh Jr. M., Apt A. Host genetics in granuloma formation: human-like lung pathology in mice with reciprocal genetic susceptibility to *M. tuberculosis* and *M. avium* // *PLoS one.* - 2010. - Vol. 5, № 5. - P. e10515.
11. Linge I., Dyatlov A., Kondratieva E., Avdienko V., Apt A., Kondratieva T. B-lymphocytes forming follicle-like structures in the lung tissue of tuberculosis-infected mice: Dynamics, phenotypes and functional activity // *Tuberculosis.* - 2017. - Vol. 102. - P. 16-23.
12. Lyadova I. V., Eruslanov E. B., Yermeev, V. V., Majorov K. B., Pichugin A. V., Nikonenko B. V., Khaidukov S. V., Kondratieva T. K., Apt A. S. Comparative analysis of T lymphocytes recovered from the lungs of mice genetically susceptible, resistant, and hyperresistant to *Mycobacterium tuberculosis*-triggered disease // *J. Immunol.* - 2000. - Vol. 165, № 10. - P. 5921-5931.
13. Nunes-Alves C., Booty M. G., Carpenter S. M., Jayaraman P., Rothchild A. C., Behar S. M. In search of a new paradigm for protective immunity to TB // *Nat Rev Microbiol.* - 2014. - Vol. 12, № 4. - P. 289.
14. O'Garra A., Redford P. S., McNab F. W., Bloom C. I., Wilkinson R. J., Berry M. P. The immune response in tuberculosis // *Ann. Rev. Immunol.* - 2013. - Vol. 31. - P. 475-527.
15. Park C. O., Kupper T. S. The emerging role of resident memory T cells in protective immunity and inflammatory disease // *Nature Med.* - 2015. - Vol. 21, № 7. - P. 688.
16. Pichugin A. V., Petrovskaya S. N., Apt A. S. H2 complex controls CD4/CD8 ratio, recurrent responsiveness to repeated stimulations, and resistance to activation-induced apoptosis during T cell response to mycobacterial antigens // *J. Leukocyte Biol.* - 2006. - Vol. 79, № 4. - P. 739-746.
17. Radaeva T. V., Kondratieva E. V., Sosunov V. V., Majorov K. B., Apt A. A human-like TB in genetically susceptible mice followed by the true dormancy in a Cornell-like model // *Tuberculosis.* - 2008. - Vol. 88, № 6. - P. 576-585.
18. Radaeva T. V., Nikonenko B. V., Mischenko V. V., Averbakh Jr M. M., Apt A. S. Direct comparison of low-dose and Cornell-like models of chronic and reactivation tuberculosis in genetically susceptible I/St and resistant B6 mice // *Tuberculosis.* - 2005. - Vol. 85, № 1-2. - P. 65-72.
19. Repasy T., Lee J., Marino S., Martinez N., Kirschner D. E., Hendricks G., Kornfeld H. Intracellular bacillary burden reflects a burst size for *Mycobacterium tuberculosis in vivo* // *PLoS Pathogens.* - 2013. - Vol. 9, № 2. - P. e1003190.
20. Roche P. W., Triccas J. A., Winter N. BCG vaccination against tuberculosis: past disappointments and future hopes // *Trends Microbiol.* - 1995. - Vol. 3, № 10. - P. 397-401.
21. Seder R. A., Darrach P. A., Roederer M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design // *Nat. Rev. Immunol.* - 2008. - Vol. 8, № 4. - P. 247.
22. Singh S. P. N., Mehra N. K., Dingley H. B., Pande J. N., Vaidya, M. C. Human leukocyte antigen (HLA)-linked control of susceptibility to pulmonary tuberculosis and association with HLA-DR types // *J. Infect. Dis.* - 1983. - Vol. 148, № 4. - P. 676-681.
23. Smith C. M., Proulx M. K., Olive A. J., Laddy D., Mishra B. B., Moss C., Gutierrez N. M., Bellerose M. M., Barreira-Silva P., Phuah J. Y., Baker R. E., Behar S. M., Kornfeld H., Evans T. G., Beamer G., Sasseti C. M. Tuberculosis susceptibility and vaccine protection are independently controlled by host genotype // *MBio.* - 2016. - Vol. 7, № 5. - P. e01516-16.
24. Ulrichs T., Kosmiadi G. A., Trusov V., Jörg S., Pradl L., Titukhina M., Kaufmann S. H. Human tuberculous granulomas induce peripheral lymphoid follicle-like structures to orchestrate local host defence in the lung // *J. Pathol.* - 2004. - Vol. 204, № 2. - P. 217-228.
25. Yan B. S., Pichugin A. V., Jobe O., Helming L., Eruslanov E. B., Gutiérrez-Pabello J. A., Kramnik I. Progression of pulmonary tuberculosis and efficiency of bacillus Calmette-Guérin vaccination are genetically controlled via a common sst1-mediated mechanism of innate immunity // *J. Immunol.* - 2007. - Vol. 179, № 10. - P. 6919-6932.
5. Cadena A.M., Fortune S.M., Flynn J.L. Heterogeneity in tuberculosis. *Nat. Rev. Immunol.*, 2017, vol. 17, no. 11, pp. 691.
6. Clarke A.J., Simon A.K. Autophagy in the renewal, differentiation and homeostasis of immune cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2018, Dec 7.
7. Fogel N. Tuberculosis: a disease without boundaries. *Tuberculosis*, 2015, vol. 95, no. 5, pp. 527-531.
8. Hussain R., Shiratsuchi H., Ellner J.J., Wallis R.S. PPD-specific IgG1 antibody subclass upregulate tumour necrosis factor expression in PPD-stimulated monocytes: possible link with disease pathogenesis in tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2000, vol. 119, no. 3, pp. 449.
9. Khan N., Vidyarthi A., Amir M., Mushtaq K., & Agrewala J.N. T-cell exhaustion in tuberculosis: pitfalls and prospects. *Crit. Rev. Microbiol.*, 2017, vol. 43, no. 2, pp. 133-141.
10. Kondratieva E., Logunova N., Majorov K., Averbakh Jr.M., Apt A. Host genetics in granuloma formation: human-like lung pathology in mice with reciprocal genetic susceptibility to *M. tuberculosis* and *M. avium*. *PLoS one*, 2010, vol. 5, no. 5, pp. e10515.
11. Linge I., Dyatlov A., Kondratieva E., Avdienko V., Apt A., Kondratieva T. B-lymphocytes forming follicle-like structures in the lung tissue of tuberculosis-infected mice: Dynamics, phenotypes and functional activity. *Tuberculosis*, 2017, vol. 102, pp. 16-23.
12. Lyadova I.V., Eruslanov E.B., Yermeev, V.V., Majorov K.B., Pichugin A.V., Nikonenko B.V., Khaidukov S.V., Kondratieva T.K., Apt A.S. Comparative analysis of T lymphocytes recovered from the lungs of mice genetically susceptible, resistant, and hyperresistant to *Mycobacterium tuberculosis*-triggered disease. *J. Immunol.*, 2000, vol. 165, no. 10, pp. 5921-5931.
13. Nunes-Alves C., Booty M.G., Carpenter S.M., Jayaraman P., Rothchild A.C., Behar S.M. In search of a new paradigm for protective immunity to TB. *Nat Rev Microbiol.*, 2014, vol. 12, no. 4, pp. 289.
14. O'Garra A., Redford P.S., McNab F.W., Bloom C.I., Wilkinson R.J., Berry M.P. The immune response in tuberculosis. *Ann. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 31, pp. 475-527.
15. Park C.O., Kupper T.S. The emerging role of resident memory T cells in protective immunity and inflammatory disease. *Nature Med.*, 2015, vol. 21, no. 7, pp. 688.
16. Pichugin A.V., Petrovskaya S.N., Apt A.S. H2 complex controls CD4/CD8 ratio, recurrent responsiveness to repeated stimulations, and resistance to activation-induced apoptosis during T cell response to mycobacterial antigens. *J. Leukocyte Biol.*, 2006, vol. 79, no. 4, pp. 739-746.
17. Radaeva T.V., Kondratieva E.V., Sosunov V.V., Majorov K.B., Apt A. A human-like TB in genetically susceptible mice followed by the true dormancy in a Cornell-like model. *Tuberculosis*, 2008, vol. 88, no. 6, pp. 576-585.
18. Radaeva T.V., Nikonenko B.V., Mischenko V.V., Averbakh Jr M.M., Apt A.S. Direct comparison of low-dose and Cornell-like models of chronic and reactivation tuberculosis in genetically susceptible I/St and resistant B6 mice. *Tuberculosis*, 2005, vol. 85, no. 1-2, pp. 65-72.
19. Repasy T., Lee J., Marino S., Martinez N., Kirschner D.E., Hendricks G., Kornfeld H. Intracellular bacillary burden reflects a burst size for *Mycobacterium tuberculosis in vivo*. *PLoS Pathogens.*, 2013, vol. 9, no. 2, pp. e1003190.
20. Roche P.W., Triccas J.A., Winter N. BCG vaccination against tuberculosis: past disappointments and future hopes. *Trends Microbiol.*, 1995, vol. 3, no. 10, pp. 397-401.
21. Seder R.A., Darrach P.A., Roederer M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, vol. 8, no. 4, pp. 247.
22. Singh S.P.N., Mehra N.K., Dingley H.B., Pande J.N., Vaidya, M.C. Human leukocyte antigen (HLA)-linked control of susceptibility to pulmonary tuberculosis and association with HLA-DR types. *J. Infect. Dis.*, 1983, vol. 148, no. 4, pp. 676-681.
23. Smith C.M., Proulx M.K., Olive A.J., Laddy D., Mishra B.B., Moss C., Gutierrez N.M., Bellerose M.M., Barreira-Silva P., Phuah J.Y., Baker R.E., Behar S.M., Kornfeld H., Evans T.G., Beamer G., Sasseti C.M. Tuberculosis susceptibility and vaccine protection are independently controlled by host genotype. *MBio.*, 2016, vol. 7, no. 5, pp. e01516-16.
24. Ulrichs T., Kosmiadi G.A., Trusov V., Jörg S., Pradl L., Titukhina M., Kaufmann S.H. Human tuberculous granulomas induce peripheral lymphoid follicle-like structures to orchestrate local host defence in the lung. *J. Pathol.*, 2004, vol. 204, no. 2, pp. 217-228.
25. Yan B.S., Pichugin A.V., Jobe O., Helming L., Eruslanov E.B., Gutiérrez-Pabello J.A., Kramnik I. Progression of pulmonary tuberculosis and efficiency of bacillus Calmette-Guérin vaccination are genetically controlled via a common sst1-mediated mechanism of innate immunity. *J. Immunol.*, 2007, vol. 179, no. 10, pp. 6919-6932.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза»,
107564, Москва, Яузская аллея, д. 2.
Тел.: 8 (499) 785-90-72.

Коротецкая Мария Валерьевна

и. о. старшего научного сотрудника лаборатории
иммуногенетики.
E-mail: mkorotetskaya@gmail.com

Байкузина Полина Георгиевна

студентка 5-го курса факультета биоинженерии
и биоинформатики МГУ им. М. В. Ломоносова.
E-mail: Polina1234509@mail.ru

Апт Александр Соломонович

заведующий лабораторией иммуногенетики.
E-mail: Alexapt151@gmail.com

FOR CORRESPONDENCE:

Central Tuberculosis Research Institute
2, Yauzskaya Alleya, Moscow, 107564
Phone: +7 (499) 785-90-72.

Maria V. Korotetskaya

Acting Senior Researcher
of Immunogenetics Laboratory
Email: mkorotetskaya@gmail.com

Polina G. Baykuzina

Student of the 5th Year at the Biomedical Engineering and
Informatics Department, Lomonosov Moscow State University.
Email: Polina1234509@mail.ru

Aleksandr S. Apt

Head of Immunogenetics Laboratory.
Email: Alexapt151@gmail.com

Поступила 18.01.2019

Submitted as of 18.01.2019