

DOI:10.23873/2074-0506-2017-9-3-211-225

## Иммунологическая толерантность при трансплантации органов

М.Ш. Хубутия, В.А. Гуляев, В.Б. Хватов, В.Л. Леменёв, С.А. Кабанова,  
М.С. Новрузбеков, К.Н. Луцык, О.Д. Олисов, С.В. Журавель, Г.В. Булава,  
Д.Х. Цурова, Н.В. Боровкова, А.С. Миронов, Л.Н. Зимина

ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», Москва, Россия

Контактная информация: Могели Шалвович Хубутия, академик РАН, профессор,  
президент НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Россия, e-mail: sklifos@inbox.ru

Дата поступления статьи: 06.04.2017

*Моделирование иммунологической толерантности позволит отказаться от приема лекарственных средств для профилактики реакции отторжения донорского органа. В обзоре литературы освещаются иммунные механизмы отторжения аллотрансплантата и способы индукции толерантности. Обсуждаются роль мезенхимальных стволовых клеток и их применение для развития толерантности, авторы также обращают внимание на то, что переливание крови от донора органов приводит к снижению интенсивности иммунного ответа на донорские клетки при трансплантации.*

**Ключевые слова:** пересадка органов, острое отторжение, иммунологическая толерантность

Хубутия М.Ш., Гуляев В.А., Хватов В.Б. и др. Иммунологическая толерантность при трансплантации органов. *Трансплантология*. 2017;9(3):211–225. DOI:10.23873/2074-0506-2017-9-3-211-225

## Immunological tolerance in organ transplantation

M.Sh. Khubutiya, V.A. Gulyaev, V.B. Khvatov, V.L. Lemenev, S.A. Kabanova,  
M.S. Novruzbekov, K.N. Lutsyk, O.D. Olisov, S.V. Zhuravel', G.V. Bulava,  
D.Kh. Tsurova, N.V. Borovkova, A.S. Mironov, L.N. Zimina

N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow, Russia

Correspondence to: Mogeli Sh. Khubutiya, Acad. of RAS, Professor, President of N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow, Russia, e-mail: sklifos@inbox.ru

Received: 6 April 2017

*Modeling of immune tolerance will eliminate the need for taking medications to prevent rejection. This review of available literature covers the immune mechanisms of allograft rejection and the ways of tolerance induction. The role of mesenchymal stem cells and using them for tolerance development have been discussed. The authors also draw attention to the fact that blood transfusion from an organ donor leads to a decreased intensity of the immune response to donor cells in transplantation.*

**Keywords:** organ transplant, acute rejection, immunological tolerance

Khubutiya M.Sh., Gulyaev V.A., Khvatov V.B., et al. Immunological tolerance in organ transplantation. *Transplantologiya*. 2017;9(3):211–225. (In Russian). DOI:10.23873/2074-0506-2017-9-2-211-225

Одним из величайших достижений XX века является трансплантация органов, которая широко шагнула в медицину в качестве терапевтической альтернативы при органной недостаточности и позволяет спасти от гибели многих пациентов, у которых других вариантов выживания не существует. По всему миру в 2010 г. выполнено свыше 106 000 трансплантаций органов, и это является показателем уровня развития медицины в государстве. За последние три десятилетия годовая выживаемость пересаженных органов достигла 90% (почки, печень), но продолжитель-

ность их функционирования из-за развития хронического отторжения трансплантата изменилась незначительно. Острое отторжение даже после трансплантации печени отмечено у 1/3 больных. В большинстве случаев с ним справляются, используя только традиционную терапию, но при резистентном к лечению отторжении или противопоказаниях к проведению такого лечения необходимо применение других средств [1]. Профилактика и терапия острого отторжения эффективны, но связаны со значительными рисками, включающими оппортунистические инфек-

ции, интоксикацию реципиента, нарушение обмена веществ, а также злокачественные новообразования. Разработка новых способов терапии, которые не ставят под угрозу иммунную систему, но специфически предотвращают повреждение аллогенных тканей, для будущей трансплантационной медицины имеет первостепенное значение. Индукция иммунологической толерантности позволит устранить необходимость в приеме лекарственных средств без отторжения и сопутствующих побочных эффектов [2].

Для достижения состояния толерантности исследователи сосредоточились на изучении регуляции иммунного ответа как на «краеугольном камне» современной клинической трансплантологии. Наблюдения в ветеринарии индуцированных гемопоэтических химер [3] и пионерские работы М. Našek и V. Demikhov, выполненные еще в 50-е гг. XX века, позволили приблизиться к пониманию этого вопроса [4, 5].

**Цель** данного обзора: на основании данных литературы описать иммунные механизмы отторжения аллотрансплантата и пути индукции толерантности.

### **Реакция отторжения трансплантата**

Известно, что трансплантат, пересаженный реципиенту от генетически чужеродного донора, не приживается и неизбежно отторгается. При этом генетические различия тканей донора и реципиента играют ключевую роль в развитии отторжения аллогенного трансплантата. Антигены, обеспечивающие внутривидовые различия, обозначаются как антигены тканевой совместимости (гистосовместимости) и относятся к главному комплексу гистосовместимости (major histocompatibility gene complex – МНС) [6]. У человека МНС назван HLA (human leukocyte antigen – человеческие лейкоцитарные антигены). Биологическое значение МНС заключается в обеспечении взаимодействия клеток организма, распознавании собственных, чужеродных и измененных собственных клеток, запуске и реализации иммунного ответа против носителей чужеродной информации, позитивной и негативной селекции Т-клеточных клонов, представлении мишеней иммунного ответа.

Имунологическую природу отторжения трансплантата показал Питер Медавар в эксперименте по пересадке генетически чужеродного кожного лоскута у кроликов [7]. При отторжении трансплантата играют роль и гуморальные,

и клеточные механизмы. Клеточные механизмы отторжения вызывают Т-лимфоциты, которые становятся сенсibilизированными к пересаженным антигенам. Эти лимфоциты вызывают повреждение клеток чужеродной ткани путем или прямой цитотоксичности, или секреции лимфокинов. Повреждение Т-клетками характеризуется некрозом паренхиматозных клеток, лимфоцитарной инфильтрацией и фиброзом. Гуморальные механизмы опосредованы антителами, которые могут присутствовать в сыворотке реципиента перед трансплантацией или развиваться после пересадки чужеродной ткани. Гуморальные факторы повреждают пересаженную ткань путем реакций, которые эквивалентны реакциям гиперчувствительности II и III типов. Взаимодействие антител с антигеном на поверхности пересаженных клеток приводит к некрозу клеток, а накопление иммунных комплексов в кровеносных сосудах активизирует комплемент, что приводит к развитию острого некротизирующего васкулита или хронического фиброза интимы с сужением сосудов.

Принято выделять три вида реакции отторжения в зависимости от скорости его развития: сверхострое, острое отторжение и хроническая дисфункция трансплантата (или хроническая нефропатия трансплантата в случае трансплантации почки) [8, 9].

Сверхострое отторжение трансплантата развивается немедленно после восстановления кровотока; его развитие связывают с наличием у реципиента антител к антигенам донора. Антитела реципиента связываются с антигенами, экспрессируемыми на поверхности эндотелия пересаженного органа, формируют комплекс «антиген-антитело» и в присутствии компонента инициируют развитие иммунного воспаления по типу гиперчувствительности II типа. В сосудах трансплантата происходит отложение фибрина с образованием тромбов, нарушение кровотока приводит к гибели органа.

Острое отторжение в свою очередь подразделяют на острое гуморальное и острое клеточное. Острое гуморальное отторжение в типичных случаях развивается у сенсibilизированного пациента; процесс начинается обычно в период от несколько дней до 4 недель после трансплантации. Острое клеточное отторжение может происходить практически в любое время, обычно от 1 недели до 6 месяцев после пересадки. Хроническая дисфункция аллотрансплантата может развиваться в период от 6 месяцев

до многих лет после пересадки. Хроническое отторжение аллотрансплантата остается главной причиной неудач в отдаленные сроки после операций. Органная недостаточность возникает из-за хронического воспаления, что вызывает пролиферацию гладкомышечных клеток интимы и, как результат, – сосудистые окклюзии и ишемические повреждения. Патогенез включает хроническую секрецию цитокинов, активацию Т-лимфоцитов и выработку антител, которые способны к активации системы комплемента, что по классическому типу приводит к хроническому повреждению. Несмотря на прогресс в иммуносупрессивной терапии, этот тип отторжения сохраняется, и для улучшения выживания органа необходима разработка новых методик.

### Иммунологическая толерантность

Под толерантностью иммунной системы понимают специфическую иммунологическую неотвечаемость на антигены. При этом характерно отсутствие ответа на данный антиген, но сохранение ответа на любой другой. По образному выражению Р.В. Петрова, толерантность – это иммунитет со знаком «минус». Неотвечаемость системы иммунитета на собственные антигены предохраняет организм от аутоагрессии [10]. При установлении толерантности к аллоантигенам возможно приживление пересаженной ткани. Толерантность к антигенам, экзогенно поступающим в организм, может индуцироваться как в период новорожденности, так и в половозрелом возрасте. Механизмы иммунной системы, позволяющие блокировать агрессию против собственных или донорских клеток и тканей, условно поделены на центральные и периферические. Центральная толерантность индуцируется в центральных органах иммуногенеза – в вилочковой железе и костном мозге – и ограничивает аутореактивность Т- и В-лимфоцитов.

Тимус является основным местом созревания Т-клеток, анатомически и функционально имеет две зоны: корковое и мозговое вещества. Корковое вещество содержит плотно упакованные незрелые тимоциты, там происходят процессы позитивной селекции, предусматривающей отбор Т-лимфоцитов, способных связываться с собственными молекулами МНС с низкой авидностью. Тимоциты, не реагирующие с собственными антигенами МНС, подвергаются апоптозу. Мозговое же вещество содержит рыхло упакованные зрелые лимфоциты и является местом,

где выполняется отрицательная селекция. На этом этапе апоптозу подвергаются клетки с высокой авидностью, реагирующие с комплексом собственных антигенов МНС. Таким образом, вследствие позитивной и негативной селекции Т-клетки, покидающие тимус и заселяющие периферические лимфоидные ткани, ограничены собственными МНС и толерантны к большинству аутоантигенов.

Несмотря на высокую эффективность центральных механизмов толерантности в удалении аутореактивных клонов лимфоцитов, некоторые из Т-клеток способны обойти этот контроль, выйти из тимуса [9, 10] и индуцировать аутоиммунные реакции в ответ на воспаление, например, во время инфекции или травмы. Следовательно, существует постоянная угроза возможных аутоиммунных реакций за счет выхода аутореактивных Т-клеточных клонов на периферию. Контроль за этими потенциально опасными клетками осуществляет периферическая толерантность. Выделяют четыре механизма, обеспечивающие периферическую (пост-тимическую) толерантность: 1. Игнорирование Т-клетками антигенов. Этот феномен наблюдается при недостаточном для распознавания количестве антигена или при нехватке Т-клеток, способных развить иммунный ответ. 2. Анергия Т-клеток – состояние, при котором клетки не способны взаимодействовать с антигеном. Это может быть вызвано недостаточной экспрессией Т-клеточного рецептора или корецепторных молекул. 3. Клональная делеция Т-клеток – механизм, схожий с процессами, происходящими в тимусе при негативной селекции Т-лимфоцитов. 4. Негативная активация с развитием апоптоза. Активированный Т-лимфоцит экспрессирует на мембране Fas-рецептор и Fas-лиганд. Кроме того, Fas-лиганд секретируется в растворимой форме. При контакте лиганда и рецептора развивается апоптоз. Этот механизм служит для контроля аутоиммунных реакций и поддержания оптимального пула лимфоидных клеток.

Известно, что толерантность к антигенам, поступающим в организм, можно индуцировать не только в период новорожденности, но и в половозрелом состоянии, когда неотвечаемость иммунной системы формируется и на уровне центральных органов иммуногенеза, и на уровне периферических, т.е. задействованными оказываются механизмы как центральной, так и периферической толерантности. Одним из наиболее востребованных в клинической трансплантологии

способов индукции толерантности является сочетанное действие антигена и иммунодепрессанта (лекарственно-индуцированная толерантность). Такой способ приводит к специфической ареактивности к донорским антигенам и демонстрирует клональную природу иммунологической толерантности. Эффективных механизмов контроля периферической толерантности, которые способствуют удалению активированных эффекторных Т-клеток через индукцию анергии, клональное истощение или регуляцию активации эффекторных Т-клеток, на сегодняшний день нет.

Клинически толерантность проявляется существующим хорошо функционирующим трансплантированным органом без гистологических признаков отторжения при отсутствии деструктивного иммунного ответа у реципиента без иммуносупрессии с полностью сохраненной иммунной системой [11]. Профилактика отторжения трансплантата достигается путем постоянного приема иммуносупрессивных препаратов, которые скорее оказывают действие на всю иммунную систему. При этом в качестве мишени иммунодепрессантов для индукции толерантности могут служить разные звенья иммунной системы, отвечающие за презентацию антигена, развитие и регуляцию иммунного ответа на чужеродный антиген.

Клеточная же терапия в качестве нового лечебного средства предполагает потенциальные преимущества – освоение естественной способности клетки выполнять сложные биологические функции. Но поскольку это живые клетки, существуют определенные сложности по определению их идентичности, дозировки, фармакокинетики и взаимодействия с другими препаратами. На знании функциональных свойств клеток базируются иммунотерапия стволовыми клетками и адоптивная трансфузия донор-специфических Т-регуляторных клеток, размноженных *ex vivo*, и использование модифицированных аллоантигенов [11].

### Презентация антигена

Для индукции реакций как клеточного, так и гуморального иммунитета требуется представление антигенов МНС Т-лимфоцитам антигенпрезентирующими клетками (АПК). На сегодняшний день выделяют три ключевых механизма [12], которые объясняют, как аллоантигены активируют Т-клетки.

Первый механизм называется *прямой презентацией* – распознавание целых, непроецессированных молекул HLA. Этот тип презентации опосредован донорскими АПК – в основном дендритными клетками (ДК), присутствующими в аллотрансплантате в качестве «пассажира», которые мигрируют в дренирующие лимфатические узлы и представляют аллоантигены Т-клеткам реципиента. Активация цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-хелперов реципиента молекулами HLA I и II классов, соответственно, сопровождается развитием преимущественно клеточного отторжения. Но этот механизм не является постоянным, и донорские ДК покидают русло из-за их естественной убыли.

*Косвенная презентация* (непрямой путь) – распознавание процессированных антигенов МНС осуществляется через АПК реципиента. Этот тип презентации индуцирует формирование гуморального и клеточного иммунного ответа, определяемого Т-хелперами Th2 или Th1.

Третий механизм, участвующий в распознавании аллотрансплантата, называется *частичной презентацией*, когда фрагменты донорских мембран с HLA-молекулами I класса в числе других передаются АПК реципиента. Частичная презентация включает и молекулы межклеточных взаимодействий, и поглощение везикулами мелких фрагментов МНС.

### Антигенпрезентирующие клетки, их роль в развитии отторжения и индукции толерантности

**Дендритные клетки.** Миелоидные ДК характеризуются костно-мозговым происхождением и наряду с макрофагами и В-лимфоцитами считаются профессиональными антигенпредставляющими клетками, играя важную роль в формировании периферической толерантности. ДК локализуются в эпителии дыхательных путей, кишечника и репродуктивного тракта, около кровеносных сосудов и нервных окончаний, в интерстиции практически всех органов. Во время инфицирования или повреждения тканей незрелые ДК активируются с помощью разных патоген-ассоциированных молекулярных рецепторов, которые и вызывают их созревание [11]. Они мигрируют в дренирующие лимфатические узлы, где приобретают способность активировать интактные Т-клетки. В условиях нормального физиологического состояния организма периферические ДК поглощают апоптотические клетки

и тельца, клеточные обломки, несущие собственные антигены, и индуцируют состояние толерантности, которое сдерживает воспалительные или иммунные реакции и тем самым защищает клетки и ткани организма от возможного повреждения при патогенных аутоиммунных реакциях, а также иммунных реакциях, индуцированных вирусной или бактериальной инфекцией [13, 14].

При трансплантации солидных органов ДК могут выступать как: или толерогенные, участвующие в приживлении трансплантата, или иммуногенные, играющие ключевую роль в развитии реакции отторжения [15]. Этот потенциал напрямую связан с созреванием ДК. Так, Т-клеточный иммунитет формируется с участием зрелых ДК, которые экспрессируют высокие уровни АПК и костимулирующих молекул, тогда как незрелые ДК, экспрессирующие низкий уровень поверхностных МНС класса II и костимулирующих молекул, индуцируют развитие Т-клеточной толерантности. Но, несмотря на то, что толерантность индуцируется в основном незрелыми ДК, даже зрелые ДК также могут вызывать антиген-специфическую невосприимчивость. Отмечено, что толерогенные ДК характеризуются низким уровнем экспрессии CD86, CD40, PD-L2 и высоким уровнем экспрессии PD-L1 и CD80 [16, 17]. На основании этих данных с целью получения толерогенных ДК *in vitro* возможно использование разных фармакологических агентов, таких как цитокины и факторы роста (IL-10, TGF-бета, GM-CSF), иммунодепрессанты (циклоsporин, микофенолата мофетил, кортикостероиды), а также витамин D3 и аспирин [11]. Так, в присутствии высоких доз IL-10 ДК вызывают анергию антиген-специфических Т-лимфоцитов, а низкие дозы GM-CSF приводят к появлению незрелых ДК, которые индуцируют невосприимчивость аллоантиген-специфических Т-клеток *in vitro* и *in vivo*.

Таким образом, ДК являются наиболее привлекательными для исследователей в качестве таргетной терапии, направленной на индукцию толерантности при трансплантации органов.

### Макрофаги

Макрофаги являются центральными клетками врожденного иммунитета, которые первыми сталкиваются с антигенами и поврежденными собственными клетками организма, а также профессиональными антигенпредставляющими клетками. Макрофаги формируются из цирку-

лирующих в крови моноцитов и соответственно имеют костно-мозговое происхождение. Благодаря наличию мембранных (таких, как TLR) и внутриклеточных или цитозольных (NOD) рецепторов макрофаги способны распознавать экстраклеточные и внутриклеточные патогены, что сопровождается их активацией. Следствием этого является продукция макрофагами провоспалительных цитокинов IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-18 и хемокинов. Хемокины способствуют миграции в очаг воспаления естественных киллеров, нейтрофилов и наивных Т-лимфоцитов (Th0). В дальнейшем в зависимости от продуцируемых макрофагами цитокинов определяется тип адаптивного иммунного ответа: клеточного, связанного с лимфоцитами Th1, или гуморального (Th2) [18]. Классический путь активации макрофагов (M1) связан с продукцией провоспалительных цитокинов IL-12, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , что способствует переходу Th0-лимфоцитов в Th1. В результате влияния противовоспалительных цитокинов (IL-10, IL-4, TGF-бета) M2-макрофаги потенцируют развитие Th0-клеток в Th2 (альтернативный путь активации). Как правило, функцию макрофагов связывают с развитием воспалительного ответа и реакции отторжения. В то же время в ряде работ отмечается способность макрофагов при определенных условиях культивирования проявлять регуляторные функции и индуцировать иммунологическую толерантность. Так, В.Г. Brem-Ehner et al. продемонстрировали, что активированные IFN- $\gamma$ -макрофаги, культивированные совместно с CD4<sup>+</sup>-Т-клетками, экспрессирующими лиганд CD40L, обладают способностью обогащать популяцию Т-лимфоцитов регуляторными клетками с фенотипом CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, Foxp3<sup>+</sup> и приводят к каспаза-зависимому истощению активированных Т-клеток [19]. То есть макрофаги в состоянии такой новой активации дают эффект Т-клеточной супрессии. Все эти исследования показывают, что макрофаги могут быть использованы в качестве терапии или иммунного кондиционирования при трансплантации органов в будущем.

### Активация Т- и В-лимфоцитов

Модель активации Т-лимфоцитов, предложенная Lafferty и Cunningham, остается значимой в современном понимании иммунного ответа [20]. Она была адаптирована Bretscher и Cohn и представлена как двухсигнальная модель активации лимфоцитов. Первый сигнал приводит к Т-клеточному распознаванию антигена на

поверхности АПК: если Т-клетка одновременно получает и второй, или «костимулирующий», сигнал от той же АПК, то включается активация [21]. Согласно модели Лафферти/Каннингем, клетки иммунной системы отличаются по их способности стимулировать Т-клетки. ДК и В-клетки являются конститутивно позитивными клетками МНС класса II, которые способны представлять антигены для CD4<sup>+</sup>-Т-клеток. При этом покоящиеся В-клетки не в состоянии инициировать Т-клеточный иммунный ответ [22]. Однако при легком облучении покоящиеся В-клетки, презентующие антиген, могут активировать CD4<sup>+</sup>-Т-клеточный клон и даже индуцировать костимулирующие сигналы [23]. Если В-клетки могут презентовать антигены для интактных Т-клеток, но не могут инициировать развитие клеточного иммунного ответа, то согласно двух-сигнальной модели они должны индуцировать толерантность. Fuchs и Matzinger [24] проверили эту гипотезу на модели самок интактных мышей, используя специфический мужской минорный антиген гистосовместимости H-Y, и утверждают, что Т-клеточный выбор между активацией и толерантностью на антиген зависит от двух параметров: состояния дифференцировки Т-клеток (интактных в противоположность активированным) и типа АПК. Например, если антиген был впервые представлен интактным Т-клеткам В-лимфоцитом, то индуцируется толерантность к этому антигену, т.е. иммунная система не делает различий между своим и чужим. Т-клеточный ответ в этом случае инициируется только в случае повреждения ткани или патологической гибели клеток.

Скорее всего, не существует периода «уникальной толерантной восприимчивости» ни до, ни вскоре после рождения в отличие от утверждений М. Burnet, Р. Medawar и J. Lederberg [25]. Вероятно, способность индуцировать толерантность у новорожденных мышей при инъекции аллогенных клеток селезенки обусловлена наличием в их кровотоке в этот период в основном интактных Т-лимфоцитов, которые, впервые столкнувшись с аллоантигеном на презентующих юных В-клетках, не могут получить полноценный сигнал I и не обеспечиваются костимулирующим сигналом. А ДК, способные доставлять оба сигнала, в этот период или отсутствуют, или их критически мало. Таким образом, даже незначительное количество Т-клеток, находящихся в интактном состоянии, впервые столкнувшись с аллоантигеном на презентующей, но незрелой

В-клетке, способны индуцировать толерантность у новорожденных мышей к введенным аллогенным клеткам селезенки. Осознание этого было первым шагом на пути понимания толерантности [26]. В этом случае Т-клеточный ответ инициируется только при наличии поврежденной ткани или патологической гибели собственных клеток.

### Т-регуляторные клетки

Одним из основных участников развития периферической толерантности к антигенам являются так называемые Т-регуляторные (Т-reg) клетки. Первые упоминания о Т-reg-клетках появились в конце 90-х гг. прошлого века, когда была описана особая популяция CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, проявляющих в отличие от Т-хелперов супрессорную активность и подавляющих формирование реакций иммунитета. В отличие от Th1- и Th2-клеток, Т-reg-лимфоциты секретируют IL-4, IL-10 и TGF-beta, но не вырабатывают другие цитокины, такие как IL-2, IL-5, IL-13 и IFN-gamma. Характерным для Т-reg-клеток является высокая плотность экспрессии на поверхности молекулы CD25, антигена цитотоксических лимфоцитов CTLA-4 и антигена GITR. Наиболее надежным маркером Т-reg-клеток считается фактор транскрипции FoxP3 (продукт гена FOXP3). Плотность экспрессии этого фактора важна для реализации регуляторной активности клеток фенотипа CD4<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup>. Конкурендно связываясь с ДНК, продукты гена FOXP3 ингибируют продукцию провоспалительных цитокинов и опосредуют развитие толерантности, тем самым защищая организм от аутоиммунных заболеваний и хронической инфекции [27]. Таким образом, важнейшими функциями Т-reg-клеток являются подавление аутоагрессии и участие в процессах установления толерантности. Дефицит или дисфункция этих клеток может стать причиной аутоиммунных заболеваний, препятствовать установлению трансплантационной толерантности, их избыточная функция отмечена при опухолевых заболеваниях.

Выделяют два типа Т-reg-клеток: естественные и адаптивные. Естественные CD4<sup>+</sup>-, CD25<sup>+</sup>-, FoxP3<sup>+</sup>-Т-reg-клетки формируются в вилочковой железе. Их супрессорное действие осуществляется в результате непосредственного контакта с клетками-мишенями и не опосредуется цитокинами, при этом решающее значение для формирования Т-reg-клеток играют сигналы от Т-клеточного рецептора [27]. Важным факто-

ром формирования естественных T-reg-клеток являются также костимулирующие молекулы CD28, взаимодействующие с CD80/CD86. От действия костимулирующего сигнала зависит величина пула T-reg-клеток. Дефекты CD28 и B7 сопровождаются недостаточностью T-reg-клеток и, как результат, способствуют развитию аутоиммунных заболеваний.

Адаптивные T-reg-клетки могут образовываться в процессе развития иммунного ответа под влиянием антигенного стимула. Они формируются из предшественников, общих с T-эффекторами при субоптимальной презентации антигена и (или) недостаточной костимуляции. Примерами презентации антигена незрелыми ДК, блокада костимулирующего сигнала CD40/CD40L, представление антигена CD4<sup>+</sup>-T-лимфоцитам в присутствии IL-10. Супрессорное действие клеток этого типа опосредуется через вырабатываемые ими цитокины [27, 28].

Таким образом, на сегодняшний день наиболее перспективными в органной трансплантологии для длительного приживания трансплантата представляются стратегии, направленные на индукцию толерантности. Можно выделить несколько направлений терапевтического воздействия. Прежде всего, это создание таких условий презентации антигена T-хелперам, которое позволит добиться не иммуногенного, а толерантного эффекта. К ним относятся, например, блокирование передачи костимулирующего сигнала. Вторым важным направлением является активация образования T-reg-клеток или их трансплантация.

#### **Индукция толерантности за счет блокирования костимулирующего сигнала**

Итак, как было сказано выше, для активации T-лимфоцитов помимо распознавания специфического антигена T-клеточным рецептором требуется второй неспецифический костимулирующий сигнал за счет связывания молекул CD80 и CD86, экспрессированных на АПК, с рецептором CD28, присутствующим на мембране T-лимфоцита. Для селективного блокирования этого пути костимуляции был разработан полусинтетический белок белатасепт [29]. В результате модификации фрагмента CTLA-4 белатасепт активно связывается с молекулами CD80 и CD86, что позволяет добиться уровня иммуносупрессии, необходимого для подавления

реакции отторжения трансплантата и предупреждения его дисфункции. В исследованиях *in vitro* продемонстрировано, что белатасепт ингибирует пролиферацию T-лимфоцитов, а также приводит к снижению выработки цитокинов. В доклинических исследованиях на модели экспериментальных животных комбинация белатасепта с микофенолата мофетилом и стероидами увеличивала продолжительность жизни трансплантата по сравнению с плацебо, уменьшая выработку антител против антигенов донорского органа. Использование этого препарата в виде монотерапии позволяло добиться длительного функционирования трансплантата. Однако отмена белатасепта сопровождалась развитием острого отторжения почечного аллотрансплантата. Таким образом, ожидаемой длительной индукции толерантности при применении блокатора костимулирующего сигнала не было отмечено.

Оценка клинической эффективности и безопасности использования белатасепта в составе комбинированной иммуносупрессивной терапии по сравнению с ингибиторами кальциневрина суммирована в 5 рандомизированных исследованиях [30–32]. В работе П. Массона и соавт. [33] отмечено, что по частоте развития острого отторжения почечного аллотрансплантата и его потери в посттрансплантационном периоде разницы между сравниваемыми группами не выявлено. В то же время у пациентов, получавших белатасепт, отмечена достоверно лучшая функция почечного трансплантата, оцениваемая по скорости клубочковой фильтрации. Также у реципиентов, получавших белатасепт, на 28% реже развивался нефросклероз по сравнению с пациентами, в лечении которых использованы ингибиторы кальциневрина. При терапии белатасептом достоверно реже наблюдалось образование *de novo* донор-специфических антител [32]. Из других положительных эффектов белатасепта отмечены снижение частоты развития сахарного диабета на 39% по сравнению с ингибиторами кальциневрина, более низкое артериальное давление у реципиентов и лучший липидный профиль, что снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний в посттрансплантационном периоде. По частоте развития такого серьезного побочного эффекта терапии, как посттрансплантационные лимфопролиферативные заболевания, значимых различий среди реципиентов, получавших белатасепт и ингибиторы кальциневрина, не выявлено.

### Т-регуляторные клетки и индукция толерантности

Новым подходом к индукции толерантности при аутоиммунных заболеваниях и при трансплантации органов является разработка протоколов клеточной терапии Т-reg-клетками с фенотипом CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>, которые подавляют аллореактивные CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-лимфоциты и пролонгируют выживаемость аллотрансплантата. Эффективность применения Т-reg-клеток была показана в эксперименте при лечении реакции «трансплантат против хозяина», однако невысокое содержание этих клеток в кровотоке ограничивало использование метода [11]. В дальнейших работах было описано, что аллоантиген-специфические Т-reg-клетки могут быть получены из наивных Т-клеток при особых условиях культивирования, например, при добавлении к смеси незрелых ДК В-лимфоцитов или при воздействии ретиноевой кислоты, IL-2 или трансформирующего фактора роста бета (TGF-β). Полученные таким образом клетки, индуцированные Т-reg-клетками, сохраняют те же иммуносупрессивные свойства, как и клетки естественного (природного) происхождения, и могут быть использованы для индукции толерантности к аллотрансплантатам костного мозга и солидных органов.

В экспериментальных исследованиях на моделях трансплантации почки, печени и костного мозга показано формирование толерантности при трансфузии Т-reg-клеток [34–43]. В работе M. Hu et al. [34] продемонстрировано, что при трансплантации почки от мышей линии DBA мышам линии C57Black в случае формирования спонтанной толерантности в тканях аллотрансплантата, а также в дренирующих лимфатических узлах отмечали экспансию Т-reg-клеток. В тканях почки регистрировали повышенные уровни TGF-β, IL-10 и IFN-γ. Истощение популяции Т-reg-клеток приводило к утрате толерантности.

Несмотря на достаточно большое количество публикаций об эффективности Т-reg-клеток в создании толерантности, механизм подавления эффекторных Т-лимфоцитов не совсем ясен. Описаны разные механизмы для подавления антиген-специфического ответа: это могут быть прямой контакт клетки с клеткой, секреция противовоспалительных цитокинов, которые влияют на широкий спектр клеточной активности, ингибирование образования Т-клеток памяти. Однако не ясно, достаточно ли Т-reg-клеткам мигрировать в трансплантат и удерживаться

там, чтобы подавить воспалительный процесс, или они непосредственно связаны с более сложными механизмами индукции иммунологической толерантности [35–38].

В клинической трансплантологии могут быть применены следующие подходы к терапии Т-reg-клетками: медикаментозное стимулирование образования регуляторных Т-клеток *in vivo*, терапия, основанная на использовании их эффекторных молекул (белатасепт), а также масштабирование изолированных Т-reg-клеток *ex vivo* и их инфузия реципиенту [35]. В клинической практике активно применяется антигиточитарный глобулин – как для индукции иммуносупрессии, так и для лечения острого клеточного отторжения трансплантата. Его эффект основан на уничтожении обычных Т-лимфоцитов, что приводит к увеличению доли Т-reg-клеток. Схожий эффект дают моноклональные антитела к CD3, CD52 (Alemtuzumab) и рапамицин, которые также приводят к истощению и снижению содержания обычных Т-клеток в кровотоке, что обеспечивает более высокий уровень отношения «Т-reg/Т-эффекторные клетки» [36]. Интересно, что терапия рапамицином предотвращает потери CD25 и FoxP3, тогда как такролимус только сохраняет экспрессию CD25, но способствует потере FoxP3 [36, 37].

В разработке методов лечения с использованием выделенных и масштабированных *ex vivo* Т-reg-клеток можно выделить два основных направления [35]. К первому можно отнести инфузию естественных Т-reg-клеток, ко второму – инфузию Т-reg-клеток с индуцированной *in vitro* специфичностью к антигенам донора [35, 40]. Одним из наиболее важных факторов эффективности и безопасности Т-reg-клеток является их выживание, что весьма затруднительно отследить у человека. Исследования подтверждают, что большинство инфузировавшихся Т-reg-клеток быстро погибает, а эффективную направленную миграцию и удержание в селезенке или целевых органах, таких как легкие, кожа и кишка, – еще только предстоит определить [44]. Дополнительно негативным последствием помимо снижения количества Т-reg-клеток является и потеря их идентичности. Инфузировавшиеся Т-reg-клетки постепенно теряют свои маркеры CD25 и FoxP3. Рапамицин помогает сохранить их самобытность, но не может изменить кинетику первого этапа исчезновения клеток. Возможно, механизмы исчезновения Т-reg-клеток и их нестабильность представляют собой разные



явления. Пока не известны все факторы, влияющие на стабильность T-reg-клеток.

Важным фактором является выбор сингенности T-reg-клеток к трансплантату, а не к реципиенту. Использование клеточных препаратов от живого донора ограничено, но умершие доноры могут стать основным источником T-reg-клеток, идентичных трансплантату. Источником T-reg-клеток могут служить селезенка, костный мозг и периферическая кровь. В работе Yute Abe et al. [41] в эксперименте на крысах показано, что переливание донорской крови за 1, 2 и 4 недели до трансплантации печени индуцирует развитие толерантности и способствует долгосрочному выживанию аллотрансплантата. При этом отмечено, что толерантность к аллотрансплантату развивается только в случае переливания крови, антиген-специфичной донору органа. Исследуя механизм развития долгосрочной толерантности, авторы отмечают, что переливание донорской крови перед трансплантацией печени сопровождается увеличением содержания у реципиента FoxP3-экспрессирующих T-reg-клеток.

Таким образом, аллоантиген-специфические T-reg-клетки проявляют иммуносупрессивную активность и могут быть использованы в качестве специфической клеточной терапии в комбинации с ослабленным режимом иммуносупрессии. Они способны генерировать иммунологическую толерантность к аллотрансплантатам костного мозга и трансплантатам солидных органов. T-reg-клетки донорского происхождения могут быть использованы для генерации смешанного химеризма при неизменном периферическом T-клеточном репертуаре реципиента, что имеет решающее значение для активной супрессии [45]. Разработка новых протоколов позволит воспользоваться потенциалом T-reg-клеток путем увеличения их числа и регуляторных функций, направленных на развитие трансплантационной толерантности.

#### **Мезенхимальные стволовые клетки и их применение для развития толерантности**

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) имеют высокий потенциал для иммуномодулирующей терапии, который сравнительно недавно представили как обнадеживающий способ развития толерантности. МСК являются мультипотентными прогениторными клетками, способными быстро пролиферировать и дифференцироваться в разных направлениях, а также слу-

жить индукторами толерантности. В настоящее время они рассматриваются как потенциальная «гомеостатическая ниша» для T-reg-клеток и их пополнения. МСК в сочетании с трансфузией гемопоэтических стволовых клеток могут быть использованы для снижения иммунного ответа на донорские антигены при родственных пересадках почек [46]. МСК конкурируют с другими клеточными популяциями и подавляют T-клеточную пролиферацию.

Фибробласты также обладают иммунорегуляторными свойствами, и это качество является общим для всех стромальных клеток. Производные костного мозга – МСК – могут мигрировать в места воспаления и регулировать функции большинства иммунных клеток посредством прямого контакта и (или) через секрецию цитокинов. МСК мыши подавляют отторжение трансплантата сердца через индукцию FoxP3<sup>+</sup>-T-клеток, снижают продукцию аллоантител *in vitro* и на моделях заболеваний и поэтому могут быть полезны для пациентов, страдающих аутоиммунными заболеваниями [47, 48]. Большинство исследований показало, что МСК обладают мощной иммуномодулирующей функцией, подавляя пролиферацию и активацию T-клеток и натуральных киллеров, модулируют созревание и функцию АПК [47].

Терапевтическое применение МСК было изучено при лечении реакции «трансплантат против хозяина» и аутоиммунных заболеваний, а также для улучшения выживаемости трансплантированных гемопоэтических стволовых клеток [49–56]. M.J. Crop et al. установили, что донорские МСК в смешанных культурах могут значительно подавлять пролиферацию T-лимфоцитов реципиентов [49]. При пилотном исследовании отмечено, что введение донорских МСК костного мозга при трансплантации почек может обеспечить лучшие результаты приживления трансплантата, а также позволить существенно снизить дозы иммуносупрессивных препаратов [50, 52]. J. Tan et al. применяли в своем исследовании аутологичные МСК совместно с нормальной и редуцированной дозой ингибиторов кальциневрина. Введение аутологичных МСК привело к достоверному снижению частоты развития острого отторжения и способствовало значительному снижению заболеваемости оппортунистическими инфекциями в течение 1 года у больных, перенесших трансплантацию почки, по сравнению с пациентами, получавшими стандартную иммуносупрессивную терапию [51]. Механизм моду-

лирования иммунного ответа с помощью МСК скорее всего предполагает экспрессию местных факторов, таких как индолеамин-2,3-диоксигеназа, индуцирующая синтез окиси азота, а также взаимодействие с АПК или ДК.

МСК можно получить из костного мозга, жировой ткани и пуповины. МСК легко могут быть выделены по их способности адгезироваться на пластике и масштабированы *in vitro* без потери своего потенциала к дифференцировке. Кроме того, МСК представляют собой активно секреторирующие клетки, продуцируют цитокины и факторы роста, тем самым регулируя гемопоэз, способствуют выживанию трансплантированных гемопоэтических стволовых клеток, оказывают влияние на регенерацию [53, 55]. Помимо участия в гемопоэзе МСК могут проявить и бимодальные иммунотропные функции, т.е. могут оказывать иммунодепрессивное и иммуностимулирующее влияние. Основной антипролиферативный эффект обнаруживается при культивировании МСК с лимфоцитами в смешанной культуре, даже когда были добавлены сторонние МСК. Иммуномодулирующий эффект МСК может быть использован для разработки новых способов лечения аутоиммунных заболеваний, таких как язвенный колит, реакция «трансплантат против хозяина», и защиты трансплантатов от отторжения.

#### Гемотрансфузия для индукции отторжения

Итак, перспективным направлением в индукции толерантности при трансплантации солидных органов помимо применения антител, блокирующих передачу костимулирующего сигнала или направленных против Т-лимфоцитов, является клеточная терапия МСК или регуляторными FoxP3-позитивными лимфоцитами, в результате чего происходит смещение равновесия в их субпопуляционном составе с увеличением содержания Т-reg-клеток. Наиболее доступными источниками таких клеток служат костный мозг и периферическая кровь. Эффективность переливания крови в индукции толерантности при трансплантации печени у крыс описана выше. Механизмы иммуномодулирующей функции донор-специфической гемотрансфузии включают и клональную делецию/анергию, генерацию регуляторных клеток, продукцию цитокинов, и промоцию микрохимеризма. Трансфузия донорской крови индуцирует снижение интенсивности иммунного ответа на клетки донора во

время трансплантации, обеспечивает синергизм с костимулирующей блокадой сигналов B7/CD154 и индуцирование толерантности, может способствовать предотвращению хронического отторжения аллотрансплантата и обеспечивать его долгосрочное выживание [57]. Трансплантация стволовых клеток и трансфузия донор-специфической крови полезны для минимизации иммуносупрессии в трансплантологии. Стволовые клетки имеют дополнительные преимущества по регуляции иммунного ответа на аллогенный трансплантат по сравнению с донорской кровью и обеспечивают более устойчивую генерацию Т-reg-клеток [58]. Индукция толерантности при трансфузии донорской крови развивается не только за счет уже представленных механизмов, но также и через опосредованную презентацию антигена через фагоцитоз апоптотических донорских клеток [58].

Наш опыт по использованию клеточных компонентов крови, полученных от донора во время изъятия солидных органов, успешно применен при пересадке печени. Клеточный компонент крови доноров органов (ККДО) получали во время изъятия органов при бьющемся сердце. Методика исключает негативные включения, свойственные трупной крови, предложенной академиком С.С. Юдиным [59]. Полученный препарат содержит эритроциты, тромбоциты и различные популяции Т-лимфоцитов, гемопоэтические стволовые и незначительное количество МСК [60, 61] (патент на изобретение № 2452519). Наши исследования показали, что ККДО оказывает иммуносупрессивное действие и сопровождается снижением количества CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов на 14,5% и CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Наиболее выраженные различия выявлены при анализе экспрессии маркеров активации. Среди реципиентов, получавших ККДО (n = 157), не было зарегистрировано ни одного случая развития острого криза отторжения в раннем послеоперационном периоде, тогда как в группе сравнения его частота составила 3%. Таким образом, включение ККДО в комплексную и трансфузионную терапию реципиентов при трансплантации печени снижало сенсibilизацию, давало иммуномодулирующий эффект и уменьшало риск острого клеточного отторжения в раннем послеоперационном периоде.

**Заключение**

Изучение развития иммунологической толерантности, а также создание эффективных методов управления иммунным ответом могут позволить полностью предупредить реакцию отторжения трансплантата. В настоящее время механизмы индукции толерантности, реализуемые за счет блокирования костимулирующего сигнала,

воздействия T-reg-клеток и МСК, достаточно изучены. Исследования в этой области являются многообещающим направлением развития трансплантологии. Предложенный нами метод индукции толерантности при трансплантации солидных органов с помощью трансфузии клеточных компонентов крови, полученных от посмертного донора при бьющемся сердце, является перспективным и требует дальнейшего изучения.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов  
The authors state there are no conflicts of interest to declare**

**Литература**

1. Raychaudhuri S.P., Kundu-Raychaudhuri S., Tamura K., et al. FR255734, a humanized, Fc-Silent, Anti-CD28 antibody, improves psoriasis in the SCID mouse-psoriasis xenograft model. *J. Invest. Dermatol.* 2008;128:1969–1976. PMID:18337836 DOI:10.1038/jid.2008.38
2. Le Blanc K. Immunomodulatory effects of fetal and adult mesenchymal stem cells. *Cytotherapy.* 2003;5(6):485–489. PMID:14660044 DOI:10.1080/14653240310003611
3. Owen R.D. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science.* 1945;102:400–401. DOI:10.1126/science.102.2651.400 PMID:17755278
4. Demikhov V.P. A new and simpler variant of heart-lung preparation of a warm-blooded animal. *Bull. Eksp. Biol. Med.* 1950; (7): 21–27.
5. Hašek M., Puza A. On the induction of immunological tolerance in adult recipients. *Folia Biol (Praha).* 1962;8:55–57. PMID:13905162
6. Marsh S.G., Albert E.D., Bodmer W.F., et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens.* 2010;75(4):291–455. PMID:20356336 DOI:10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x
7. Medawar P.B. A second study of the behaviour and fate of skin homografts in rabbits A Report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *J. Anat.* 1945;79(Pt 4):157–176.4. PMID:17104981
8. Хубутия М.Ш. (ред.) Трансплантация органов и тканей в многопрофильном научном центре. М.: АирАрт, 2011. 424 с.
9. Ruiz P., Maldonado P., Hidalgo Y., et al. Transplant Tolerance: New Insights and Strategies for Long-Term Allograft Acceptance. *Clin. Dev. Immunol.* 2013;2013:210506. PMID:23762087 DOI:10.1155/2013/210506
10. Манько В.М., Девришов Д.А. Ветеринарная иммунология. Фундаментальные основы. М.: Агровет, 2011. 752 с.
11. Oluwole S.F., Oluwole O.O., Adeyeri A.O., DePaz H.A. New strategies in immune tolerance induction. *Cell Biochem. Biophys.* 2004;40(3 Suppl.):27–48. PMID:15289641
12. Nijagal A., Derderian C., Le T., et al. Direct and indirect antigen presentation lead to deletion of donor-specific T cells after in utero hematopoietic cell transplantation in mice. *Blood.* 2013;121(22):4595–4602. PMID:23610372 DOI:10.1182/blood-2012-10-463174
13. Voll R.E., Herrmann M., Roth E.A., et al. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature.* 1997;390(6658):350–351. PMID:9389474 DOI:10.1038/37022
14. Williams C.A., Harry R.A., McLeod J.D. Apoptotic cells induce dendritic cell-mediated suppression via interferon- $\gamma$ -induced IDO. *Immunology.* 2008;124(1):89–101. PMID:18067553 DOI:10.1111/j.1365-2567.2007.02743.x
15. Ezzelarab M., Thomson A.W. Tolerogenic dendritic cells and their role in transplantation. *Semin. Immunol.* 2011;23(4):252–263. PMID:21741270 DOI:10.1016/j.smim.2011.06.007
16. Hu J., Wan Y. Tolerogenic dendritic cells and their potential applications. *Immunology.* 2011;132(3):307–314. PMID:21208205 DOI:10.1111/j.1365-2567.2010.03396.x
17. Lewis K.L., Reizis B. Dendritic Cells: Arbiters of Immunity and Immunological Tolerance. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012;4(8):a007401. PMID:PM3405856 DOI:10.1101/cshperspect.a007401
18. Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев И.Ю. M1 и M2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез.* 2008;6(4):31–39.
19. Sutterwala F.S., Noel G.J., Salgame P., Mosser D.M. Reversal of proinflammatory responses by ligating the macrophage Fc $\gamma$  receptor type I. *J. Exp. Med.* 1998;188(1):217–222. PMID:9653099
20. Lafferty K.J., Prowse S.J., Simeonovic C.J., Warren H.S. Immunobiology of tissue transplantation: a return to the passenger leukocyte concept. *Annu. Rev. Immunol.* 1983;1:143–173. PMID:6443557 DOI:10.1146/annurev.iy.01.040183.001043
21. Bretscher P., Cohn M. A theory of self-nonsel self discrimination: paralysis and induction involve the recognition of one and two determinants on an antigen, respectively. *Science.* 1970;169:1042–1049. PMID:4194660
22. Lassila O., Vainio O., Matzinger P. Can B cells turn on virgin T cells? *Nature.* 1988;334:253–255. PMID:2969460 DOI:10.1038/334253a0
23. Ashwell J.D., Jenkins M.K., Schwartz R.H. Effect of gamma radiation on resting B lymphocytes. II. Functional characterization of the antigen-presentation

- defect. *J. Immunol.* 1988;141(8):2536–2254. PMID:2844902
24. Fuchs E.J., Matzinger P. B cells turn off virgin but not memory T cells. *Science.* 1992;258:1156–1159. PMID:1439825
25. Billingham R.E., Brent L., Medawar P.B. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature.* 1953;172:603–606. PMID:13099277
26. Ranheim E.A., Kipps T.J. Activated T cells induce expression of B7/BB1 on normal or leukemic B cells through a CD40-dependent signal. *J. Exp. Med.* 1993;177(4):925–935. PMID:7681471
27. Фрейдлин И.С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции. Медицинская иммунология. 2005;7(4):347–354 DOI:10.15789/1563-0625-2005-4-347-354
28. Marino J., Paster J., Benichou G. Allorecognition by T Lymphocytes and Allograft Rejection. *Front. Immunol.* 2016;7:582. PMID:28018349 DOI:10.3389/fimmu.2016.00582. eCollection 2016
29. Vincenti F., Dritselis A., Kirkpatrick P. Belatacept. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2011;10(9):655–656. PMID:21878974 DOI:10.1038/nrd3536
30. Cohen J.B., Eddinger K.C., Forde K.A., et al. Belatacept Compared to Tacrolimus for Kidney Transplantation: A Propensity Score Matched Cohort Study. *Transplantation.* 2016; [Epub ahead of print] PMID:27941427 DOI:10.1097/TP.0000000000001589
31. Goring S.M., Levy A.R., Ghement I., et al. A network meta-analysis of the efficacy of belatacept, cyclosporine and tacrolimus for immunosuppression therapy in adult renal transplant recipients. *Curr. Med. Res. Opin.* 2014;30(8):1473–1487. PMID:24628478 DOI:10.1185/03007995.2014.898140
32. Durrbach A., Pestana J.M., Florman S., et al. Long-Term outcomes in Belatacept- Versus Cyclosporine-Treated recipients of extended criteria donor kidneys: final results from BENEFIT-EXT, a Phase III Randomized Study. *Am. J. Transplant.* 2016;16(11):3192–3201. PMID:27130868 DOI:10.1111/ajt.13830
33. Masson P., Henderson L., Chapman J.R., et al. Belatacept for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014;(11):CD010699. PMID:25416857 DOI:10.1002/14651858.CD010699.pub2
34. Hu M., Wang C., Zhang G.Y., et al. Infiltrating Foxp3(+) regulatory T cells from spontaneously tolerant kidney allografts demonstrate donor-specific tolerance. *Am. J. Transplant.* 2013;13(11):2819–2830. PMID:24102948 doi:10.1111/ajt.12445
35. Shalev I., Selzner N., Shyu W., et al. Role of regulatory T cells in the promotion of transplant tolerance. *Liver Transpl.* 2012;18(7):761–770. PMID:22523007 DOI:10.1002/lt.23458
36. Juvet S.C., Whatcott A.G., Bushnell A.R., Wood K.J. Harnessing regulatory T cells for clinical use in transplantation: the end of the beginning. *Am. J. Transplant.* 2014;14(4):750–763. PMID:24592900 DOI:10.1111/ajt.12647
37. Singh K., Stempora L., Donald Harvey R., et al. Superiority of rapamycin over tacrolimus in preserving nonhuman primate Treg half-life and phenotype after adoptive transfer. *Am. J. Transplant.* 2014;14(12):2691–2703. PMID:25359003 DOI:10.1111/ajt.12934
38. Fisher S.A., Lamikanra A., Dorée C. Increased regulatory T cell graft content is associated with improved outcome in haematopoietic stem cell transplantation: a systematic review. *Br. J. Haematol.* 2017;176(3):448–463. PMID:28094847 DOI:10.1111/bjh.14433
39. Alessandrini A., Turka L.A. FOXP3-Positive Regulatory T Cells and Kidney Allograft Tolerance. *Am J Kidney Dis.* 2017;69(5):667–674. PM-ID:28049555 DOI:10.1053/j.ajkd.2016.10.027
40. Noyan F., Zimmermann K., Hardtke-Wolenski M. Prevention of allograft rejection by use of regulatory T cells with a MHC-specific chimeric antigen receptor. *Am J Transplant.* 2017;17(4):917–930. PMID:27997080 DOI:10.1111/ajt.14175
41. Abe Y., Urakami H., Ostanin D., et al. Induction of Foxp3-Expressing Regulatory T-Cells by Donor Blood Transfusion Is Required for Tolerance to Rat Liver Allografts. *PLoS One.* 2009;4(11):e7840. PMID:19956764 DOI:10.1371/journal.pone.0007840
42. Dummer C.D., Carpio V.N., Gonçalves L.F., et al. FOXP3+ regulatory T cells: from suppression of rejection to induction of renal allograft tolerance. *Transpl. Immunol.* 2012;26(1):1–10. DOI:10.1016/j.trim.2011.08.009
43. Zhang L.F., Xia C.Q. Ex vivo expansion of regulatory T cells for clinical applications against graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Chin. Med. J. (Engl).* 2013;126(23):4575–4582. PMID:24286428
44. Tang Q. Pharmacokinetics of Therapeutic Tregs. *Am. J. Transpl.* 2014;14(12):2679–2680. doi:10.1111/ajt.12933. PMID:25358900
45. Pilat N., Klaus C., Gattringer M., et al. Therapeutic efficacy of polyclonal Tregs does not require rapamycin in a low-dose irradiation bone marrow transplantation model. *Transplantation.* 2011;92(3):280–288. PMID:21697774 DOI:10.1097/TP.0b013e3182241133
46. Vanikar A.V., Trivedi H.L., Feroze A., et al. Effect of co-transplantation of mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells as compared to hematopoietic stem cell transplantation alone in renal transplantation to achieve donor hyporesponsiveness. *Int. Urol. Nephrol.* 2011;43(1):225–232. PMID:20084457 DOI:10.1007/s11255-009-9659-1
47. Miyairi S., Hirai T., Ishii R., et al. Donor bone marrow cells are essential for iNKT cell-mediated Foxp3+ Treg cell expansion in a murine model of transplantation tolerance. *Eur. J. Immunol.* 2017;47(4):734–742 PMID:28127757 DOI:10.1002/eji.201646670
48. Hsu W.T., Lin C.H., Chiang B.L., et al. Prostaglandin E2 potentiates mesenchymal stem cell-induced IL-10+IFN-+CD4+ regulatory T cells to control transplant arteriosclerosis. *J. Immunol.* 2013;190(5):2372–2380. PMID:23359497 DOI:10.4049/jimmunol.1202996
49. Crop M.J., Baan C.C., Korevaar S.S., et al. Donor-derived mesenchymal stem cells suppress alloreactivity of kidney transplant patients. *Transplantation.* 2009;87(6):896–906. PMID:19300194 DOI:10.1097/TP.0b013e31819b3d72
50. Peng Y., Ke M., Xu L., et al. Donor-derived mesenchymal stem cells combined with low-dose tacrolimus prevent acute rejection after renal transplantation: A Clinical Pilot Study. *Transplantation.* 2013;95(1):161–168. PMID:23263506 DOI:10.1097/TP.0b013e3182754c53
51. Tan J., Wu W., Xu X., et al. Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2012;307(11):1169–1177. PMID:22436957 DOI:10.1001/jama.2012.316
52. Popp F.C., Renner P., Eggenhofer E., et al. Dohke mesenchymal stem cells as immunomodulators after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2009;15:1192–1198. PMID:19790154 DOI:10.1002/lt.21862
53. Xu G., Zhang L., Ren G., et al. Immunosuppressive properties of cloned bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell. Res.* 2007;17:240–248. PMID:17325691 DOI:10.1038/cr.2007.4
54. Aggarwal S., Pittenger M.F. Human

mesenchymal stem cells mod-ulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 2005;105(4):1815–1822. PMID:15494428 DOI:10.1182/blood-2004-04-1559

55. Ryan J.M., Barry F., Murphy J.M., Mahon B.P. Interferongamma does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clin. Exp. Immunol.* 2007;149(2):353–363. PMID:17521318 DOI:10.1111/j.1365-2249.2007.03422.x

56. Popp F.C., Eggenhofer E., Renner P., et al. Mesenchymal stem cells can induce longterm acceptance of solid organ allografts in synergy with low-dose mycophenolate. *Transpl. Immunol.* 2008;20(1–2):55–60. PMID:18762258

DOI:10.1016/j.trim.2008.08.004

57. Kishimoto K., Yuan X., Auchincloss H.Jr., et al. Mechanism of action of donor-specific transfusion in inducing tolerance: role of donor MHC molecules, donor co-stimulatory molecules, and indirect antigen presentation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004;15:2423–2428. PMID:15339991 DOI:10.1097/01.ASN.0000137883.20961.2D

58. Dave S.D., Vanikar A., Trivedi H.L., et al. Stem cells versus donor specific transfusions for tolerance induction in living donor renal transplantation: a single-center experience. *Transplantation.* 2013;95(1):155–160. PMID:23263505 DOI:10.1097/TP.0b013e3182752bcc

59. Юдин С.С. Вопросы военно-полевой хирургии и переливание посмертной крови. М.: Медгиз, 1960: 309–393.

60. Никулина В.П., Гуляев В.А., Годков М.А., Кобзева Е.Н. Иммунологические аспекты использования эритроцитарной массы донора органа при трансплантации печени. В сб.: Хубутия М.Ш. (ред.) Актуальные вопросы трансплантации органов: материалы гор. науч.-практ. конф. М.: Триада, 2008: 93–95.

61. Khubutia M., Zhuravel S., Gulyaev V., et al. Using of Blood from Cadaveric Donor in Orthotopic liver Transplantation. *Bull. Georg. Nat. Acad. Sci.* 2014;8(3):108–115.

## References

1. Raychaudhuri S.P., Kundu-Raychaudhuri S., Tamura K., et al. FR255734, a humanized, Fc-Silent, Anti-CD28 antibody, improves psoriasis in the SCID mouse-psoriasis xenograft model. *J Invest Dermatol.* 2008;128:1969–1976. PMID:18337836 DOI:10.1038/jid.2008.38

2. Le Blanc K. Immunomodulatory effects of fetal and adult mesenchymal stem cells. *Cytotherapy.* 2003;5(6):485–489. PMID:14660044 DOI:10.1080/14653240310003611

3. Owen R.D. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science.* 1945;102:400–401. PMID:17755278 DOI:10.1126/science.102.2651.400

4. Demikhov V.P. A new and simpler variant of heart-lung preparation of a warm-blooded animal. *Bull Eksp Biol Med.* 1950;(7):21–27.

5. Hašek M., Puza A. On the induction of immunological tolerance in adult recipients. *Folia Biol (Praha).* 1962;8:55–57. PMID:13905162

6. Marsh S.G., Albert E.D., Bodmer W.F., et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens.* 2010;75(4):291–455. PMID:20356336 DOI:10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x

7. Medawar P.B. A second study of the behaviour and fate of skin homografts

in rabbits A Report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *J Anat.* 1945;79(Pt 4):157–176. PMID:17104981

8. Khubutiya M.Sh., ed. *Transplantation of organs and tissues in a multidisciplinary research center.* Moscow: AirArt Publ., 2011. 424 p. (In Russian).

9. Ruiz P., Maldonado P., Hidalgo Y., et al. Transplant Tolerance: New Insights and Strategies for Long-Term Allograft Acceptance. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:210506. PMID:23762087 DOI:10.1155/2013/210506

10. Man'ko V.M., Devrshov D.A. *Veterinary immunology. Fundamental fundamentals.* Moscow: Agrovet Publ., 2011. 752 p. (In Russian).

11. Oluwole S.F., Oluwole O.O., Adeyeri A.O., DePaz H.A. New strategies in immune tolerance induction. *Cell Biochem Biophys.* 2004;40(3 Suppl):27–48. PMID:15289641

12. Nijagal A., Derderian C., Le T., et al. Direct and indirect antigen presentation lead to deletion of donor-specific T cells after in utero hematopoietic cell transplantation in mice. *Blood.* 2013;121(22):4595–4602. PMID:23610372 DOI: 10.1182/blood-2012-10-463174

13. Voll R.E., Herrmann M., Roth E.A., et al. Immunosuppressive effects of apop-

totic cells. *Nature.* 1997;390(6658):350–351. PMID:9389474 DOI:10.1038/37022

14. Williams C.A., Harry R.A., McLeod J.D. Apoptotic cells induce dendritic cell-mediated suppression via interferon- $\gamma$ -induced IDO. *Immunology.* 2008;124(1):89–101. PMID:18067553 DOI:10.1111/j.1365-2567.2007.02743.x

15. Ezzelarab M., Thomson A.W. Tolerogenic dendritic cells and their role in transplantation. *Semin Immunol.* 2011;23(4):252–263. PMID:21741270 DOI:10.1016/j.smim.2011.06.007

16. Hu J., Wan Y. Tolerogenic dendritic cells and their potential applications. *Immunology.* 2011;132(3):307–314. PMID:21208205 DOI:10.1111/j.1365-2567.2010.03396.x

17. Lewis K.L., Reizis B. Dendritic Cells: Arbiters of Immunity and Immunological Tolerance. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012;4(8):a007401. PMID:PMCID:PMCID3405856 DOI:10.1101/cshperspect.a007401

18. Monastyrskaya E.A., Lyamina S.V., Malyshev I.Yu. M1 and M2 phenotypes of activated macrophages and their role in immune response and pathology. *Pathogenesis.* 2008;6(4):31–39. (In Russian).

19. Sutterwala F.S., Noel G.J., Salgame P., Mosser D.M. Reversal of proinflammatory responses by ligating the mac-

- rophage Fcγ receptor type I. *J Exp Med*. 1998;188(1):217–222. PMID:9653099
20. Lafferty K.J., Prowse S.J., Simeonovic C.J., Warren H.S. Immunobiology of tissue transplantation: a return to the passenger leukocyte concept. *Annu Rev Immunol*. 1983;1:143–173. PMID:6443557 DOI:10.1146/annurev.iy.01.040183.001043
21. Bretscher P., Cohn M. A theory of self-nonself discrimination: paralysis and induction involve the recognition of one and two determinants on an antigen, respectively. *Science*. 1970;169:1042–1049. PMID:4194660
22. Lassila O., Vainio O., Matzinger P. Can B cells turn on virgin T cells? *Nature*. 1988;334:253–255. PMID:2969460 DOI:10.1038/334253a0
23. Ashwell J.D., Jenkins M.K., Schwartz R.H. Effect of gamma radiation on resting B lymphocytes. II. Functional characterization of the antigen-presentation defect. *J Immunol*. 1988;141(8):2536–2254. PMID:2844902
24. Fuchs E.J., Matzinger P. B cells turn off virgin but not memory T cells. *Science*. 1992;258:1156–1159. PMID:1439825
25. Billingham R.E., Brent L., Medawar P.B. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature*. 1953;172: 603–606. PMID:13099277
26. Ranheim E.A., Kipps T.J. Activated T cells induce expression of B7/BB1 on normal or leukemic B cells through a CD40-dependent signal. *J Exp Med*. 1993;177(4):925–935. PMID:7681471
27. Freydlin I.S. Regulatory T-cells: origin and function. *Medical Immunology (Russia)*. 2005;7(4):347–354. DOI:10.15789/1563-0625-2005-4-347-354 (In Russian).
28. Marino J., Paster J., Benichou G. Allorecognition by T Lymphocytes and Allograft Rejection. *Front Immunol*. 2016;7:582. PMID:28018349 DOI:10.3389/fimmu.2016.00582. eCollection 2016
29. Vincenti F., Dritselis A., Kirkpatrick P. Belatacept. *Nat Rev Drug Discov*. 2011;10(9):655–656. PMID:21878974 DOI:10.1038/nrd3536
30. Cohen J.B., Eddinger K.C., Forde K.A., et al. Belatacept Compared to Tacrolimus for Kidney Transplantation: A Propensity Score Matched Cohort Study. *Transplantation*. 2016; [Epub ahead of print] PMID:27941427 DOI:10.1097/TP.0000000000001589
31. Goring S.M., Levy A.R., Ghement I., et al. A network meta-analysis of the efficacy of belatacept, cyclosporine and tacrolimus for immunosuppression therapy in adult renal transplant recipients. *Curr Med Res Opin*. 2014;30(8):1473–1487. PMID:24628478 DOI:10.1185/03007995.2014.898140
32. Durrbach A., Pestana J.M., Florman S., et al. Long-Term outcomes in Belatacept- Versus Cyclosporine-Treated recipients of extended criteria donor kidneys: final results from BENEFIT-EXT, a Phase III Randomized Study. *Am J Transplant*. 2016;16(11):3192–3201. PMID:27130868 DOI:10.1111/ajt.13830
33. Masson P., Henderson L., Chapman J.R., et al. Belatacept for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(11):CD010699. PMID:25416857 DOI:10.1002/14651858.CD010699.pub2
34. Hu M., Wang C., Zhang G.Y., et al. Infiltrating Foxp3(+) regulatory T cells from spontaneously tolerant kidney allografts demonstrate donor-specific tolerance. *Am J Transplant*. 2013;13(11):2819–2830. PMID:24102948 DOI:10.1111/ajt.12445
35. Shalev I., Selzner N., Shyu W., et al. Role of regulatory T cells in the promotion of transplant tolerance. *Liver Transpl*. 2012;18(7):761–770. PMID:22523007 DOI:10.1002/lt.23458
36. Juvet S.C., Whatcott A.G., Bushell A.R., Wood K.J. Harnessing regulatory T cells for clinical use in transplantation: the end of the beginning. *Am J Transplant*. 2014;14(4):750–763. PMID:24592900 DOI:10.1111/ajt.12647
37. Singh K., Stempora L., Donald Harvey R., et al. Superiority of rapamycin over tacrolimus in preserving nonhuman primate Treg half-life and phenotype after adoptive transfer. *Am J Transplant*. 2014;14(12):2691–2703. PMID:25359003 DOI:10.1111/ajt.12934
38. Fisher S.A., Lamikanra A., Dorée C. Increased regulatory T cell graft content is associated with improved outcome in haematopoietic stem cell transplantation: a systematic review. *Br J Haematol*. 2017;176(3):448–463. PMID:28094847 DOI:10.1111/bjh.14433
39. Alessandrini A., Turka L.A. FOXP3-Positive Regulatory T Cells and Kidney Allograft Tolerance. *Am J Kidney Dis*. 2017;69(5):667–674. PMID:28049555 DOI:10.1053/j.ajkd.2016.10.027
40. Noyan F., Zimmermann K., Hardtke-Wolenski M. Prevention of allograft rejection by use of regulatory T cells with a MHC-specific chimeric antigen receptor. *Am J Transplant*. 2017;17(4):917–930. PMID:27997080 DOI:10.1111/ajt.14175
41. Abe Y., Urakami H., Ostanin D., et al. Induction of Foxp3-Expressing Regulatory T-Cells by Donor Blood Transfusion Is Required for Tolerance to Rat Liver Allografts. *PLoS One*. 2009;4(11):e7840. PMID:19956764 DOI:10.1371/journal.pone.0007840
42. Dummer C.D., Carpio V.N., Gonçalves L.F., et al. FOXP3+ regulatory T cells: from suppression of rejection to induction of renal allograft tolerance. *Transpl Immunol*. 2012;26(1):1–10. DOI: 10.1016/j.trim.2011.08.009
43. Zhang L.F., Xia C.Q. Ex vivo expansion of regulatory T cells for clinical applications against graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(23):4575–4582. PMID:24286428
44. Tang Q. Pharmacokinetics of Therapeutic Tregs. *Am J Transpl*. 2014;14(12): 2679–2680. PMID:25358900 DOI:10.1111/ajt.12933
45. Pilat N., Klaus C., Gattringer M., et al. Therapeutic efficacy of polyclonal Tregs does not require rapamycin in a low-dose irradiation bone marrow transplantation model. *Transplantation*. 2011;92(3):280–288. PMID:21697774 DOI:10.1097/TP.0b013e3182241133
46. Vanikar A.V., Trivedi H.L., Feroze A., et al. Effect of co-transplantation of mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells as compared to hematopoietic stem cell transplantation alone in renal transplantation to achieve donor hyporesponsiveness. *Int Urol Nephrol*. 2011;43(1):225–232. PMID:20084457 DOI:10.1007/s11255-009-9659-1
47. Miyairi S., Hirai T., Ishii R., et al. Donor bone marrow cells are essential for iNKT cell-mediated Foxp3+ Treg cell expansion in a murine model of transplantation tolerance. *Eur J Immunol*. 2017;47(4):734–742. PMID:28127757 DOI: 10.1002/eji.201646670
48. Hsu W.T., Lin C.H., Chiang B.L., et al. Prostaglandin E2 potentiates mesenchymal stem cell-induced IL-10+IFN-γ+CD4+ regulatory T cells to control transplant arteriosclerosis. *J Immunol*. 2013;190(5):2372–2380. PMID:23359497 DOI:10.4049/jimmunol.1202996
49. Crop M.J., Baan C.C., Korevaar S.S., et al. Donor-derived mesenchymal stem cells suppress alloreactivity of kidney transplant patients. *Transplantation*. 2009;87(6):896–906. PMID:19300194 DOI:10.1097/TP.0b013e31819b3d72
50. Peng Y., Ke M., Xu L., et al. Donor-derived mesenchymal stem cells combined with low-dose tacrolimus prevent

- acute rejection after renal transplantation: A Clinical Pilot Study. *Transplantation*. 2013;95(1):161–168. PMID:23263506 DOI:10.1097/TP.0b013e3182754c53
51. Tan J., Wu W., Xu X., et al. Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2012;307(11):1169–1177. PMID:22436957 DOI:10.1001/jama.2012.316
52. Popp F.C., Renner P., Eggenhofer E., et al. Dahlke mesenchymal stem cells as immunomodulators after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009;15:1192–1198. PMID:19790154 DOI:10.1002/lt.21862
53. Xu G., Zhang L., Ren G., et al. Immunosuppressive properties of cloned bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Res*. 2007;17:240–248. PMID:17325691 DOI:10.1038/cr.2007.4
54. Aggarwal S., Pittenger M.F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 2005;105(4):1815–1822. PMID:15494428 DOI:10.1182/blood-2004-04-1559
55. Ryan J.M., Barry F., Murphy J.M., Mahon B.P. Interferongamma does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol*. 2007;149(2):353–363. PMID:17521318 DOI:10.1111/j.1365-2249.2007.03422.x
56. Popp F.C., Eggenhofer E., Renner P., et al. Mesenchymal stem cells can induce longterm acceptance of solid organ allografts in synergy with low-dose mycophenolate. *Transpl Immunol*. 2008;20(1-2):55–60. PMID:18762258 DOI:10.1016/j.trim.2008.08.004
57. Kishimoto K., Yuan X., Auchincloss H.Jr., et al. Mechanism of action of donor-specific transfusion in inducing tolerance: role of donor MHC molecules, donor co-stimulatory molecules, and indirect antigen presentation. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:2423–2428. PMID:15339991 DOI:10.1097/01.ASN.0000137883.20961.2D
58. Dave S.D., Vanikar A., Trivedi H.L., et al. Stem cells versus donor specific transfusions for tolerance induction in living donor renal transplantation: a single-center experience. *Transplantation*. 2013;95(1):155–160. PMID:23263505 DOI:10.1097/TP.0b013e3182752bcc
59. Yudin S.S. *Questions of military surgery and transfusion of posthumous blood*. Moscow: Medgiz Publ., 1960. 309–393. (In Russian).
60. Nikulina V.P., Gulyaev V.A., Godkov M.A., Kobzeva E.N. Immunological aspects of the use of the erythrocyte mass of an organ donor for liver transplantation. In: Khubutiya M.Sh., ed. *Topical issues of organ transplantation: materials of the city scientific-practical conference*. Moscow: Triada Publ., 2008. 93–95. (In Russian).
61. Khubutiya M., Zhuravel S., Gulyaev V., et al. Using of Blood from Cadaveric Donor in Orthotopic liver Transplantation. *Bull Georg Nat Acad Sci*. 2014;8(3):108–115.