

АНТИТЕЛА К НУКЛЕОСОМАМ ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Ф.М.Кудеева

ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва.

Антитела к нуклеосомам (LE-клеточный феномен), реагирующие с комплексом ДНК-гистон, фактически были первыми аутоантителами, выявленными в сыворотках больных системной красной волчанкой (СКВ) [23]. Предположение о том, что именно нуклеосомы являются антигенами, индуцирующими синтез антинуклеарных антител (АНА), было высказано J.Hardin еще в 1986 г [14]. Однако роль нуклеосом в индукции аутоантител при СКВ стала широко обсуждаться только в последние годы [22, 29].

Напомним, что нуклеосома – основная структура хроматина, определяющая "упаковку" ДНК в ядре. Она состоит из пар 4 центральных гистонов H2A, H2B, H3 и H4, которые формируют гистон-октамер, вокруг которого дважды закручивается спираль ДНК (146 bp). Гистон H1 взаимодействует с нуклеосомой и вместе со связанной ДНК соединяет соседние нуклеосомы. Эта структура ответственна за характерное выявление хроматина при электронной микроскопии в виде "бусинок на веревке". Четыре центральных гистона составляют единую полипептидную цепь с молекулярной массой между 11 и 15 kD. Благодаря основным остаткам, собранным в N-терминальных областях центральных гистонов и, поэтому расположенным вне нуклеосомы, формируется участок с сильным положительным зарядом. Эти положительные заряды на цилиндрической поверхности гистона октамера выступают как левосторонняя спираль, расположенная по ходу ДНК [3], и частично вовлечены в связывание ДНК. Кроме гистонов, нуклеосомы содержат так называемую высоко активную группу белков. Полагают, что нуклеосомы обладают высокой иммуногенностью, а активированные нуклеосомами Т-клетки способствуют синтезу антител к нуклеосомам, ДНК и гистонам [17, 22].

В настоящее время под антителами к нуклеосомам подразумевают антитела, реагирующие только с нуклеосомами или "субнуклеосомальными" комплексами, состоящими из центральных гистонов и ДНК. Их отличительной особенностью является практическое отсутствие связывания с отдельными гистонами или нативными небелковыми комплексами ДНК. Эти антитела называются "нуклеосом-ограниченными" (restricted) [2, 9], "нуклеосом-специфическими" [5, 18] или "антихроматиновыми" [7].

Синтез нуклеосом-специфических аутоантител при СКВ вызывает особенно большой интерес, поскольку непосредственно связан с проблемой клеточного апоптоза (программированная гибель клеток). Апоптоз начинается с интернуклеосомального дробления хроматина, которое вызывает конденсацию и фрагментацию ядра, что в конечном счете ведет к появлению "пузырей" на поверхности клеток, так называемых апоптотических тел. Изменения на поверхности клеток во время апоптоза (включая экспрессию фосфатидилсеринных и тромбоцитозинных рецепторов) приводят к быстрому фагоцитозу клеток апоптоза макрофагами для предотвращения утечки составных частей воспалительных клеток в окружающую среду. Однако количественные и/или качественные различия в апоптозе могут привести к системному высвобождению нуклеосом [11, 13]. В циркуляции у больных СКВ ДНК находится в форме (олиго)нуклеосом [24]. У некоторых (MRL/lpr and gld), но не у всех (NZB/WF1) видов мышей с волчаночным синдромом апоптоз нарушен как в результате дефицита экспрессии Fas (APO-1; CD95) рецептора, так и его лиганда [27]. Активация этого Fas рецептора приводит к апоптозу. При СКВ у человека экспрессия Fas системы находится в

норме, но повышенные концентрация растворимых Fas, экспрессия ингибитора апоптоза bcl-2 и частота апоптоза лимфоцитов *in vitro* указывают на имеющиеся аномалии апоптоза [29]. Нарушения в апоптозе могут быть причиной системного аутоиммунитета по меньшей мере 2-мя разными путями, включая персистенцию аутореактивных Т-клеток [19] и высвобождение нуклеосом [8]. Вследствие аномального апоптоза эти нуклеосомы могут изменяться (становятся более иммуногенными) посредством качественных сдвигов во внутриклеточных окислительных процессах, действующих во время апоптоза [8]. Часто имеющийся место при СКВ сниженный фагоцитоз [21, 25] может усиливать величину высвобождения нуклеосом. Это ненормальное высвобождение нуклеосом имеет два важных последствия: во-первых, нуклеосомы могут действовать как поликлональные активаторы В-клеток [4], что может иметь отношение к начальной фазе болезни. Но, что более важно, нуклеосома как аутоантиген распознается патогенными Т-хелперными клетками, формирующими антиген-связанное заболевание – СКВ.

В поддержку причинных связей между апоптозом, нуклеосомами и нуклеосом-специфическими антителами приводят некоторые наблюдения, свидетельствующие, что нуклеосомы, собранные в апоптотических телах, могут вести себя как аутоантигены [8]. Аналогично этому, нуклеосом-специфические антитела при СКВ связаны с нуклеосомами, освобожденными из апоптотических мононуклеарных клеток [28]. И наконец, в связи с тем, что считается, что С-реактивный белок (СРБ) способствует удалению ядерного материала из клеток апоптоза, оценивали влияние СРБ на клиренс нуклеосом у нормальных BALB/c мышей [10]. Как оказалось, СРБ не влияет на клиренс и органную локализацию нуклеосом. Однако у NZB/WF1 мышей СРБ вызывает временное снижение продукции антинуклеарных антител и пролонгирует выживаемость этих животных.

В более поздних работах [12] на основании результатов эксперимента на мышах линии NZB/WF1 высказали предположение о том, что нуклеосомы и апоптотические клетки могут эффективно действовать как инициаторы развития аутореактивных Th-клеток.

Вопрос о клинической значимости нуклеосом-специфических аутоантител изучен недостаточно. Ряд авторов указывает на то, что данных о четкой ассоциации между этими антителами и обострениями СКВ и/или конкретными проявлениями болезни в настоящее время немного, а имеющиеся – противоречивы [20, 28].

Значительным материалом по изучению частоты антител к нуклеосомам и дсДНК располагает клиника профессора J.-Ch. Piette. При обследовании 137 больных СКВ, 26 смешанным заболеванием соединительной ткани (СЗСТ) и 36 системной склеродермией (ССД) частота антител к дсДНК составила 63%, 23% и 3%, к нуклеосомам – 79%, 73% и 58% соответственно (у доноров – только 1 – 3%).

В совместной работе группы исследователей из 4-х центров Австрии, США и Франции [26] была проанализирована частота обнаружения антител к гистону H1, хроматину, нуклеосомам и дсДНК у 364 больных различными ревматическими заболеваниями (РЗ). Показано, что частота этих антител у больных СКВ (n=73) составила 45%, 48%, 43%, 32% соответственно, у больных ревматоидным артритом (РА) (n=113) – 3%, 2%, 13%, 0; при ССД – 0, 13%, 23% и 3%. Среди других РЗ указанные антитела встречались еще реже, кроме СЗСТ и псориатического артрита, где антитела к нуклеосомам были обнаружены в 36% и 30% случаев.

В этой работе подчеркивается, что нарастание уровня

антител к гистону I указывало на повышение активности СКВ.

А.Врунс и соавт. [6] показали, что 56% из 136 больных СКВ были серопозитивны по антителам к нуклеосомам и только 3% – из 309 больных сравнимых групп (РА, СЗСТ, Лайм-боррелиоз, ССД, гепатит В, ВИЧ-инфекция и др.). В этой, как и в предыдущей работе, подчеркивается связь антинуклеосомальной активности не только с активностью болезни ($p < 0,0001$) и нефритом, но и с психозом у больных СКВ, что позволило авторам говорить о высокой специфичности этого маркера для волчанки, даже большей, чем антитела к дсДНК.

З. Амоша и соавт. [2] позже подтвердили, что именно при СКВ, ССД и СЗСТ чаще обнаруживаются антинуклеосомы класса IgG (в 71,1%, 45,9% и 45% случаев соответственно). Антитела к нуклеосомам субкласса IgG3 присутствовали в большом количестве в сыворотках больных с активной СКВ (коррелировали с активностью по SLEDAI) и практически не обнаруживались в неактивную фазу болезни. Повышенные уровни антител к нуклеосомам изотипа IgG3 наблюдались не только при обострении СКВ, но и оказались тесно взаимосвязанными с активным люпус-нефритом. Эти данные позволили авторам предположить, что антитела к нуклеосомам IgG3 субкласса являются селективным маркером активной СКВ, в частности люпус-нефрита.

Собственно последние данные послужили поводом для анализа субклассов антител IgG к нуклеосомам, что позволило продемонстрировать важную патогенетическую роль антинуклеосомных антител IgG3 изотипа. Антитела к нуклеосомам субкласса IgG1 ведут себя противоположно IgG3 субклассу. Уровни антител к нуклеосомам IgG1 были ниже у пациентов с активной СКВ, чем у больных ССД и СЗСТ, но приближались к уровню последних у больных неактив-

ной СКВ. На основании этих данных делается вывод о том, что антитела к нуклеосомам IgG1 субтипа не играют важной роли в патогенезе СКВ.

Г. Lefkowitz и G. Gilkeson, рассматривая люпус-нефрит как иммунокомплексное заболевание, подчеркивают, что аутоантитела, прямо направленные против многих эпителиальных хроматина, включая, но не ограничиваясь антителами к дсДНК, могут способствовать развитию нефрита. Хроматин/антихроматин иммунные комплексы являются, вероятно, непосредственной причиной люпус-нефрита [17].

В другой работе [9] при исследовании сывороток от 40 больных СКВ было показано, что продукция антител к дсДНК и антител к гистону тесно ассоциируется с антителами к нуклеосомам. С другой стороны, 16% больных, имевших антинуклеосомную активность, были отрицательны по антителам к дсДНК и гистону.

Данные этих, а также других авторов [16], полученные на экспериментальных моделях волчанки, свидетельствуют о том, что депозиты, содержащие популяцию антител к нуклеосомам (nucleosome-restricted) в иммунных комплексах, являются важным компонентом в патогенезе люпус-нефрита.

Заключая представленные выше данные, можно с определенностью говорить о значимости антител к нуклеосомам в генезе СКВ и, возможно, в отдельных клинических проявлениях заболевания. Дальнейшее накопление данных позволит ответить на вопрос, который ставят R. Williams и соавт. [30]: "Не являются ли антитела к нуклеосомам зеркальным отражением люпус-нефрита?"

Исследования в этом направлении, наряду с изучением апоптоза, в клинике и эксперименте, возможно, также позволят понять интимные механизмы Th1 и Th2 типов иммунного ответа.

REFERENCES

1. Amital HG., Shoenfeld Y. Nucleosomes, DNA and SLE: Where is the starting point. *Clin. Exp. Rheumat.*, 1996, 14, 475-477.
2. Amoura Z., Chabre H., Koutouzov S. et al. Nucleosome-restricted antibodies are detected before centi-ds DNA and/or antihistone antibodies in serum of MPL-MP, LPr/LPr and +/+ mice. *Arthr. Rheum.*, 1994, 37, 1684-1688.
3. Arens G., Moudrianakis E. Topography of the histone octamer surface: repeating structural motifs utilized in docking of nucleosomal DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1993, 90, 10489-10493.
4. Bell D., Morrison B., Van den Byggart. Immunogenic DNA-related factors: nucleosomes spontaneously released from normal; murine lymphoid cell stimulate proliferation and immunoglobulin synthesis of normal mouse lymphocytes. *J. Clin. Invest.*, 1990, 85, 487-496.
5. Berden J.O., Smeenk R. Nucleosome-specific autoantibodies. Elsevier Science Autoantibodies, 1996, Ed. J. Peter and Y. Shoenfeld.
6. Bruns A., Blass S., Hausdorf G. et al. Nucleosomes are major T- and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum.*, 2000, 43 (10), 2307.
7. Burlingame R., Rubin R., Balderas R. et al. Genesis and evolution of antichromatin autoantibodies in murine-lupus implicates T-dependent immunization with self antigen. *J. Clin. Invest.*, 1993, 91, 1687-1696.
8. Casciola-Rosen L., Anhalt G., Rosen A. Autoantigen targeted in SLE are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J. Exp. Med.*, 1994, 179, 1317-1330.
9. Chabre H., Amoura Z., Piette J. et al. Presence of nucleosome-restricted antibodies in patients with SLE. *Arthr. Rheum.*, 1995, 38, 1485-1491.
10. Du Clos T., Zlock L., Hicks P. et al. Decreased autoantibody levels and enhanced survival of NZB/WFI mice treated with C-reactive protein. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1994, 70, 22-27.
11. Emlen W., Niebur J., Kadera R. Accelerated in vitro apoptosis of lymphocytes from patients with SLE. *J. Immunol.*, 1994, 152, 3685-3692.
12. Fournel S., Briand J., Muller S. Implication of nucleosomes and apoptotic cells in the development of the cell responses against histones in NZB/NZW F1 lupus mice. *J. Clin. Exp. Rheumat.*, 2002, 20, 2, 263.
13. Franek F., Dolnikova J. Nucleosomes occurring in protein-free hybridoma cell culture. Evidence for programmed cell death. *FEBS Lett.*, 1991, 284, 285-287.
14. Hardin J. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum.*, 1986, 29, 457-460.
15. Holman H., Kunkel H. Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei end nucleoprotein. *Science*, 1957, 126, 162-163.
16. Kramers C., Hylkema M., Van Bruggen M. et al. Antinucleosome antibodies complexed to nucleosomal antigens show anti-DNA reactivity and bind to rat glomerular basement membrane in vivo. *J. Clin. Invest.*, 1994, 94, 568-577.
17. Lefkowitz S., Gilkeson G. Nephritogenic autoantibodies in lupus. *Arthr. Rheum.*, 1996, 39(6), 894-903.
18. Losmar M., Fasy T., Novick K. et al. Nucleosome-specific antibody from an autoimmune MRL/MP-LPr/LPr mouse. *Arthr. Rheum.*, 1993, 36, 552-560.
19. Marrack P., Hugo P., McCormack J. et al. Death and T-cells. *Immun. Rev.*, 1993, 133, 119-122.
20. Massa M., de Benedetti F., Pignani P. Anti-double-stranded DNA, antinucleosome IgG reactivities in children with SLE. *Clin. Exp. Rheum.*, 1994, 12, 219-225.
21. Merihow N., Shaver C., Messner R. et al. Mononuclear phagocyte system dysfunction in murine SLE: abnormal clearance kinetics precede clinical disease.

- J.Lab.Clin.Med., 1991, 117, 181-193.
22. Mohan C., Adams S., Stanik V. et al. Nucleosome: a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T-cell lupus. *J.Exp.Med.*, 1993, 177, 1367-1381.
 23. Rekvig O., Hannestad K. Lupus erythematosus (LE) factors recognize both nucleosomes and viable human leukocytes. *Scand J.Immunol.*, 1981, 13, 597-604.
 24. Rumore P., Steinman C. Endogenous circulating DNA in SLE: occurrence as multimeric complexes bound to histone. *J.Clin.Invest.*, 1990, 86, 69-74.
 25. Salaman M., Mawer D., Hogarth M. et al. Counter-proliferative effects of nucleosomal antigens in cultures from lupus patients. *Lupus*, 2001, 10, 332-339.
 26. Schett G., Rubin R., Steiner G. et al. Autoimmune response to chromatin antigens in SLE: autoantibodies against histone H1 are highly specific marker for SLE associated with increased disease activity. *J.Clin.Exp.Rheumat.*, 2002, 20, 2, 272.
 27. Singer G., Carrera A., Marshak-Rothstein et al. Apoptosis, Fas and systemic autoimmunity. *Clin.Exp.Immunol.*, 1994, 97, 175-180.
 28. Suenaga R., Mitamura K., Abdou Ni. Isolation of anti-nucleosome antibodies from the plasma of lupus nephritis. *Clin.Rheum.*, 1998, 17(3), 189-194.
 29. Tax E., Kramers C., Van Brugger et al. Apoptosis, nucleosomes and nephritis in SLE. Edit. Review. *Kidney.Int.*, 1995, 48, 666-673.
 30. Williams R., Malone C., Blood B. et al. Anti-DNA and anti-nucleosome antibodies affinity - a mirror image of lupus nephritis? *J.Rheum.*, 1999, 26(2), 331-346.

Поступила 20.02.03