

# РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРОТИВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ПОПУЛЯЦИЕЙ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК DCreg

Э.И. Рубакова, М.А. Капина, Н.Н. Логунова, К.Б. Майоров, А.С. Апт

ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия

**Резюме.** При высоком уровне генетически обусловленной чувствительности к туберкулезу (ТБ) гранулематозные реакции в ткани легкого не справляются с задачей по изолированию очага инфекции и приводят к диффузным поражениям легочной ткани, слиянию гранулем и образованию некротических очагов. Неконтролируемое воспаление наносит тяжелый урон дыхательной функции легкого, поэтому для контроля инфекции необходим баланс между защитными и патогенетическими реакциями иммунного ответа. Важными клеточными регуляторами воспаления являются незрелые регуляторные дендритные клетки (DCreg) и регуляторные Т-лимфоциты (Treg). Ранее мы показали, что клетки стромы легкого в культуре *in vitro* поддерживают развитие DCreg с фенотипом CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>low</sup>CD103<sup>-</sup> из предшественников, выделенных из костного мозга. Было также установлено, что между чувствительными и резистентными к ТБ мышами имеются заметные различия по размерам и динамическим характеристикам популяции регуляторных Т-клеток CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> (Treg) в легких: их количество у более резистентных мышей линии В6 достоверно выше, чем у чувствительных мышей линии I/St. В настоящей работе было установлено, что адоптивный перенос DCreg зараженным ТБ мышам генетически чувствительной линии I/St способен индуцировать увеличение популяции Treg в ткани легкого. Увеличение пула Treg приводит к ослаблению туберкулезной легочной патологии, замедлению размножения микобактерий в органе и снижению инфильтрации ткани легкого нейтрофилами, то есть к избирательному снижению количества именно тех иммунных клеток, которые считаются основным фактором патогенеза при ТБ генетически чувствительных животных. Основным отличием в характере легочной патологии было отсутствие у реципиентов DCreg очагов деструкции легочной ткани и зон некроза, которые обнаруживались в контрольной группе. При этом мыши всех групп не отличались по уровню продукции регуляторных (IL-10 и TGF-β) и ключевых воспалительных (IFNγ и IL-6) цитокинов клетками легкого. Этот результат дает основания полагать, что умеренное снижение тяжести туберкулезного процесса в группе мышей с повышенным содержанием Treg в легких может быть связано с подавлением воспаления не через секреторные, а через контактные механизмы, множество которых широко используют регуляторные клетки. Хотя терапевтический эффект переноса клеток был умеренным, наши результаты можно рассматривать как доказательство действенности клеточной терапии для регуляции воспаления легочной ткани при ТБ.

**Ключевые слова:** DCreg, Treg, туберкулез, экспериментальная модель, патология легких.

## REGULATION OF IMMUNE RESPONSE AGAINST *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* BY THE POPULATION OF REGULATORY DENDRITIC CELLS

Rubakova E.I., Kapina M.A., Logunova N.N., Majorov K.B., Apt A.S.

Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** On the background of a high level of genetic susceptibility to tuberculosis infection (TB), granulomatous reactions in the lung tissue fail to effectively isolate infection foci and rather result in diffuse pathology, confluence of granulomata and

### Адрес для переписки:

Апт Александр Соломонович  
107564, Россия, Москва, Яузская аллея, 2, ФГБУ «ЦНИИТ».  
Тел.: 8 (499) 785-90-72 (служебн.).  
E-mail: alexapt0151@gmail.com

### Contacts:

Alexander S. Apt  
107564, Russian Federation, Moscow, Yauzskaya alley, 2,  
Central Research Institute of Tuberculosis.  
Phone: +7 (812) 785-90-72 (office).  
E-mail: alexapt0151@gmail.com

### Библиографическое описание:

Рубакова Э.И., Капина М.А., Логунова Н.Н., Майоров К.Б., Апт А.С. Регуляция иммунного ответа против *Mycobacterium tuberculosis* популяцией регуляторных дендритных клеток // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 2. С. 169–175. doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-169-174

### Citation:

Rubakova E.I., Kapina M.A., Logunova N.N., Majorov K.B., Apt A.S. Regulation of immune response against *Mycobacterium tuberculosis* by the population of regulatory dendritic cells // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2018, vol. 8, no. 2, pp. 169–175. doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-169-174

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 18-45-04015).

formation of necrotic zones. Uncontrolled inflammation severely affect breathing function of the lung. Thus, effective disease control requires a good balance between protective and pathogenic immune responses. Immature regulatory dendritic cells (DCreg) and regulatory T lymphocytes (Treg) represent a pool of important cellular regulators of inflammation. Earlier we have demonstrated that stromal lung cells support development of CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>low</sup>CD103<sup>-</sup> DCreg from their bone marrow-derived precursors in *in vitro* cultures. In addition, significantly larger population size and more rapid development of the lung CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg cells characterize TB-resistant B6 mice compare to their TB-susceptible I/St counterparts. Here, we report that adoptive transfer of DCreg cells into TB-infected I/St mice is capable to enlarge the population of Treg cells in the lungs. This, in turn, attenuates lung pathology, decreases mycobacterial multiplication and diminishes lung infiltration with neutrophils, i.e., selectively restricts the population of cell largely responsible for TB pathogenesis. The key difference in lung pathology between DCreg recipients and control animals was the lack of tissue-destructive foci and necrotic zones in the former group. Meanwhile, the groups of mice did not differ in production of regulatory (IL-10 and TGF- $\beta$ ) and key inflammatory (IFN $\gamma$  and IL-6) cytokines by lung cells. The latter result suggests that contact rather than secretory mechanisms underlie moderate attenuation of the TB process in the lungs of mice with an elevated lung Treg level, given that plethora of such mechanisms were described for Treg functioning. Although therapeutic effects were relatively weak, our results indicate that cell therapy approaches are applicable to regulation of lung tissue inflammation during TB course.

**Key words:** DCreg, Treg, tuberculosis, experimental model, lung pathology.

## Введение

Дендритные клетки (ДК) не только являются самым мощным фактором индукции адаптивного иммунного ответа, но и способны вызывать и поддерживать иммунологическую толерантность, особенно на ранних стадиях своей дифференцировки [24]. Способность незрелых ДК подавлять иммунный ответ реализуется через разные механизмы, в том числе продукцию подавляющих ответ цитокинов, индукцию анергии и активацию регуляторных Т-клеток [12, 13]. Подобная многослойная система подавления иммунитета принципиально важна не только для ингибирования аутоиммунных реакций и подавления потенциально опасного ответа на нормальную флору кишечника и легких, но и для контроля избыточного, повреждающего ткани воспаления при ответе на патогенные микроорганизмы [23]. Особенно важен баланс между активацией и подавлением иммунного ответа при пролонгированных, хронических инфекциях, при которых ограничение размножения и диссеминации патогена за счет воспаления, повреждающего ткани и нарушающего функционирование органа, может оказаться чрезмерной платой. В полной мере это относится к такому хроническому инфекционному заболеванию, как туберкулез (ТБ) легких [2, 25].

Клетки иммунной системы, быстро мигрирующие к первичному очагу ТБ в легочной ткани, в течение первых недель инфекции формируют специфические гранулемы, функция которых, в первую очередь, состоит в ограничении зоны заражения и создании неблагоприятных для внутриклеточного размножения микобактерий анаэробных условий. Однако при высоком уровне генетически обусловленной чувствительности к инфекции и у человека, и у мыши гранулематозные реакции не справляются с задачей по изолированию очага инфекции и часто сочетаются с диффузным поражением легочной ткани, прогрессирующим

ростом самих гранулем, их слиянием и образованием некротических очагов, окруженных зоной гипоксии [8, 17, 26]. Такое неконтролируемое воспаление наносит тяжелый урон дыхательной функции легкого, поэтому поддержание баланса между защитными и патогенетическими реакциями иммунного ответа, при том что оба типа реакций зависят от клеточного иммунитета, чрезвычайно важно для успешного контролирования не столько популяции *M. tuberculosis*, сколько тяжести течения самого заболевания, вызванного этим патогеном [18].

На протяжении многих лет индукция в легочной ткани Т-клеточного иммунного ответа по типу 1, то есть продукция Т-клетками CD4<sup>+</sup> интерферона- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), активирующего уничтожение *M. tuberculosis* в зараженных макрофагах, считалась основным защитным механизмом противотуберкулезного ответа [6, 14]. Однако совсем недавно появились данные, подвергшие серьезным сомнениям защитное значение этого типа ответа в легких [21], что вызывает резонные вопросы о потенциальном патогенном влиянии IFN $\gamma$  как очень токсичного, повреждающего ткани цитокина. Сходным образом еще один основной провоспалительный цитокин, TNF $\alpha$ , важен для поддержания целостности легочных гранулем [19], но при избыточной выработке повреждает легочную ткань [1]. Многие другие воспалительные цитокины, такие как IL-1, IL-6 и IL-11, при ТБ продуцируются в значительных количествах, и для каждого показана скорее патогенная, чем защитная роль [3, 22]. Совокупность этих данных убедительно свидетельствует о важности включения противовоспалительных механизмов в пораженном ТБ легком.

В наших предыдущих исследованиях было показано, что клетки стромы легкого в культуре *in vitro* поддерживают развитие незрелых регуляторных ДК (DCreg) с фенотипом CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>low</sup>CD103<sup>-</sup> из предшественников, выделенных из костного мозга. Кроме того, мы

охарактеризовали различия между мышами с генетически низкой и высокой восприимчивостью к туберкулезу по активности подавления иммунного ответа на микобактерии, обусловленного растворимыми факторами PGE<sub>2</sub>, NO и IL-10, продуцируемыми DCreg [7]. Было также установлено, что между чувствительными и резистентными к ТБ мышами имеются заметные различия по размерам и динамическим характеристикам популяции регуляторных Т-клеток CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> (Treg) в легких: их количество у более резистентных мышей линии B6 достоверно выше, чем у чувствительных мышей линии I/St. Поскольку у мышей I/St инфекция сопровождается неконтролируемым воспалением легочной ткани и тяжелой инфильтрацией легких нейтрофилами [5, 11, 28], можно было предположить, что недостаток клеток Treg мешает контролировать воспаление, что приводит к неблагоприятному течению инфекции. Поэтому в настоящей работе мы попытались ответить на вопрос о способности DCreg индуцировать популяцию Treg *in vivo*, а также охарактеризовать параметры противотуберкулезного иммунитета у генетически чувствительных к ТБ реципиентов после адоптивного переноса DCreg.

## Материалы и методы

**Мыши.** В работе были использованы инбредные мыши линии I/StYCit (I/St) в возрасте 2,5 месяцев к началу всех типов экспериментов. Линия поддерживается в питомнике ФГБНУ «ЦНИИТ» в обычных условиях, с доступом к корму и воде *ad libitum*. Все экспериментальные процедуры были одобрены институтским Комитетом по правильному обращению с лабораторными животными (IACUC, протоколы № 2, 7, 8, 11, 13 одобрены 6 марта 2015 г.).

**Получение клеток стромы легких и регуляторных дендритных клеток.** Подробные протоколы для получения клеток описаны ранее [7]. Кратко: суспензию клеток легкого получали стандартным способом [4, 5], а затем для очистки клеток стромы 20–30 × 10<sup>6</sup> клеток легкого инкубировали в 10 мл среды RPMI-1640 со стандартными добавками (HiClone, Carlington, Нидерланды) в течение 2-х ч на 90-мм чашках Петри (Costar-Corning, Vadhoevedorp, Нидерланды) при 37°C. Неприлипшие клетки смывали троекратно теплым HBSS, прилипшие клетки снимали с пластика после инкубации в растворе 0,02% EDTA-PBS в течение 30 мин при комнатной температуре.

Для получения предшественников ДК из клеток костного мозга от 12–16 мышей в каждом эксперименте изолировали клетки BMLin<sup>-</sup> с помощью набора «Cell lineage depletion kit (Milteneiy Biotech, Gladbach, Германия)», следуя протоколам изготовителя. Кратко: костномозговые клетки обрабатывали биотинилированными антителами к поверхностным маркерам CD11b,

CD5, CD45R, Gr-1 (Ly6C + Ly6G), 7-4 и TER-119, а затем инкубировали антибиотиновыми магнитными шариками при 4°C 15 мин в PBS, содержащем 0,5% BSA и 2mM EDTA. После отмывки клетки BMLin<sup>+</sup> убрали на разделительных колонках MidiMACS, а полученные клетки lin<sup>-</sup> (~2% от исходной суспензии) помещали в совместную культуру со стромальными клетками легкого в соотношении 5:1 на 7 сут.

**Заражение и параметры инфекции.** Животных заражали *M. tuberculosis* H37Rv (Pasteur) в дозе 500–600 КОЕ на мышью в аэрозольной камере (Glas-Col, США), как подробно описано ранее [17]. Для определения количества микобактерий в органах стерильно выделяли легкие и селезенки, гомогенизировали в 2 мл физиологического раствора, готовили серийные десятикратные разведения гомогенатов органов и высевали на чашки Петри с агаром Дюбо (Difco, США), по 50 мкл на чашку. Подсчитывали количество колоний через 21 день инкубации при 37°C.

**Введение клеток.** После 7 дней культивирования на строме легкого размножившиеся DCreg снимали энергичным пипетированием, отмывали 2 раза в HBSS, переводили в PBS и вводили внутривенно в дозе 10<sup>6</sup> на мышью животным, зараженным за 3 недели до введения клеток. Еще через 2 недели проводили оценку параметров иммунного ответа и воспаления. Следует отметить, что, в отличие от переноса свежих лимфоидных клеток полученных *ex vivo*, внутривенное введение культивированных *in vitro* крупных адгезивных клеток часто вызывает эмболии и гибель реципиентов «на игле». Поэтому нам пришлось ограничиться однократным введением клеток, так что наши эксперименты можно, скорее, рассматривать как доказательство действенности данного подхода к регуляции воспаления, а не полноценную клеточную терапию.

**Приготовление суспензии легких и проточная цитофлуориметрия.** Клеточную суспензию из легких индивидуальных мышей готовили как описано ранее [4]. 1–2 × 10<sup>6</sup> клеток легких инкубировали 5 мин при 4°C с моноклональными антителами анти-CD16/CD32 (clone CT-17.1.17.2) для блокирования Fc-рецепторов, после чего окрашивали моноклональными антителами, меченными либо PE, либо FITC к следующим маркерам: CD4, CD8, CD19, F4/80, Ly-6G (клон 1A8), CD44 и CD62L (BD Biosciences). Окрашенные клетки отмывали дважды и фиксировали в 1% параформальдегиде, после чего анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur. Внутриклеточная окраска транскрипционного фактора FoxP3 регуляторных клеток Treg проводилась с помощью набора компании eBioscience (США) согласно рекомендациям производителя.

**Гистологические исследования.** Для исследования патологических изменений в легких ткань замораживали в режиме температурного градиента от –60 до –20°C в течение 1 ч в электронном

**Таблица 1. Количество лимфоидных клеток\* в легких зараженных мышей трех сравниваемых групп\*\***

Table 1. Lymphoid cell content in the lungs of infected mice of the three experimental groups

Перенос клеток Transferred cells	CD4	CD8	CD19	CD44 <sup>+</sup> CD62L <sup>-</sup>	CD44 <sup>-</sup> CD62L <sup>+</sup>	CD11b <sup>+</sup>	F4/80
DCreg	59±4,1	38±4,5	7,0±0,6	68±1,8	8±0,8	13±0,7	65±5,0
CD11b	51±4,0	44±4,4	4,0±0,9	69±1,2	8±0,8	9±0,5	55±3,3
–	59±3,3	39±3,1	6±1,0	67±2,3	10±1,6	14±0,9	56±3,5

\* × 10<sup>6</sup> на орган±SEM, N = 4–7. \*\* Нет достоверных отличий между группами.\* × 10<sup>6</sup> per organ±SEM, N = 4–7. \*\* No significant differences between experimental groups.

криотоме (ThermoShandon, Великобритания). Получали срезы толщиной 7 мкм. Срезы высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле и окрашивали гематоксилином и эозином.

Определение продукции цитокинов проводили иммуноферментным методом с помощью наборов ELISA для цитокинов мыши (R&D Systems, США) согласно протоколам изготовителя. Клетки легкого культивировали в течение 48 ч и затем определяли содержимое цитокинов (табл. 2) в культуральной жидкости.

## Результаты и обсуждение

После заражения мышей микобактериями через респираторный тракт аэрогенным способом адаптивный иммунный ответ на инфекцию и образование туберкулезных гранулем с участием Т-лимфоцитов начинается через две недели после заражения и достигает полного развития через 3–4 недели [4]. Поэтому мы предприняли попытку стимулировать увеличение популяции клеток Treg в легочной ткани именно на этот срок. Через 3 недели после заражения мышам внутривенно вводили 10<sup>6</sup> DCreg и через 2 недели после введения оценивали параметры клеточного состава легких и иммунного ответа в подопытной и контрольных группах реципиентов. В качестве контроля служили не только животные, которым не вводили никаких клеток, но и мыши, которым ввели 10<sup>6</sup> высокоочищенных клеток CD11b<sup>+</sup>, выделенных из костного мозга.

Как показано на рисунке 1А (II обложка), у реципиентов DCreg размер популяции Treg в легких оказался достоверно больше по сравнению с реципиентами костномозговых клеток CD11b<sup>+</sup> и животными, не получившими клеток (8,2±3,0 × 10<sup>6</sup>,

5,0±0,5 × 10<sup>6</sup> и 3,5±1,6 × 10<sup>6</sup> соответственно, p < 0,05, ANOVA). Таким образом, введение экзогенных регуляторных ДК действительно приводит к увеличению пула клеток Treg в органе, где развивается туберкулезная патология. Чтобы проверить, как сказывается присутствие в легочной ткани большего количества Treg на течение инфекции, были исследованы основные характеристики туберкулезного процесса — инфильтрация ткани легкого клетками иммунной системы, размножение в легких микобактерий и характер легочной патологии.

Количественная характеристика присутствующих в легких клеток иммунной системы имеет прямое отношение к патогенезу ТБ и традиционно входит в ряд исследуемых при инфекции фенотипов [2, 3, 18]. Поэтому мы оценили размер всех основных популяций иммуноцитов в легких зараженных мышей: Т-лимфоцитов CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, В-лимфоцитов CD19<sup>+</sup>, макрофагов F4/80<sup>+</sup> и нейтрофилов Ly-6G<sup>+</sup>, а также долю активированных клеток с фенотипом CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>. Размеры популяций лимфоцитов и макрофагов, а также степень их активации в трех группах мышей оказались одинаковыми (табл. 1), но один важный параметр клеточной инфильтрации пораженной инфекцией легочной ткани выбивался из этого ряда. Как показано на рисунке 1Б (II обложка), у реципиентов DCreg в легких обнаруживалось достоверно меньше нейтрофилов по сравнению с контролем, не получавшим клеток (p = 0,03, ANOVA), то есть избирательно снижалось количество именно тех иммуноцитов, которые считаются основным фактором патогенеза при ТБ генетически чувствительных животных [5, 28]. Правда к этому результату следует относиться с осторожностью, поскольку после введения костномозговых клеток CD11b<sup>+</sup> также наблюдалось достовер-

**Таблица 2. Продукция основных воспалительных (IFN $\gamma$ , IL-6) и противовоспалительных (TGF- $\beta$ , IL-10) цитокинов\* клетками легкого зараженных мышей в культуре\*\***Table 2. Production of the key pro-inflammatory (IFN $\gamma$ , IL-6) and anti-inflammatory (TGF- $\beta$ , IL-10) cytokines\* by the lung cells from infected mice in culture\*\*

Перенос клеток Transferred cells	Цитокин/Cytokine			
	IFN $\gamma$	IL-6	TGF- $\beta$	IL-10
DCreg	1224±414	4843±521	177±12,6	1725±264
CD11b	1912±515	6432±725	210±12,2	2820±524
–	2301±659	5773±380	189±8,7	2767±643

\* пг/мл±SEM, N = 4–7. \*\* Нет достоверных отличий между группами.

\* pg/ml±SEM, N = 4–7. \*\* No significant differences between experimental groups.



ное снижение инфильтрации легких нейтрофилами (рис. 1Б). Поскольку в немногочисленных работах по исследованию индукции Treg введением DCreg и влиянию этих регуляторных клеток на течение инфекций [9, 15] никогда не использовался подобный контроль, мы пока не можем оценить универсальность данного феномена и дать ему достаточно весомое объяснение. Следует, тем не менее, подчеркнуть, что данный результат вряд ли является артефактом, поскольку подтверждается анализом патологических изменений в легких (см. ниже). Кроме того, оказалось, что в группе мышей с повышенным содержанием Treg в легких достоверно снижалось размножение микобактерий в этом органе (рис. 1В, II обложка), тогда как количество микобактерий в селезенке было одинаковым у всех групп мышей (данные не приводятся).

Как показано на рисунке 2 (II обложка), у реципиентов DCreg и костномозговых клеток CD11b<sup>+</sup> воспалительный процесс в легких протекал сходным образом и был менее выраженным по сравнению с контрольными животными. Основным отличием было отсутствие у реципиентов очагов деструкции легочной ткани и зон некроза, которые обнаруживались в контрольной группе.

Регуляторные Т-лимфоциты подавляют активность эффекторных клеток иммунного ответа и воспаления, используя множество механизмов, в числе которых одним из основных считается продукция противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- $\beta$ , снижающих уровень воспалительных факторов [20]. Для оценки соответствующих параметров в нашей тест-системе мы оценили продукцию противовоспалительных молекул IL-10 и TGF- $\beta$  и ключевых воспалительных факторов IFN $\gamma$  и IL-6 клетками легких, выделенными

ми из зараженных мышей трех групп и помещенными в культуру. Как показано в таблице 2, мыши всех трех групп не отличались по уровню продукции регуляторных цитокинов. Этот результат дает основания полагать, что умеренное снижение тяжести туберкулезного процесса в группе мышей с повышенным содержанием Treg в легких может быть связано с подавлением воспаления не через секреторные, а через контактные механизмы, множество которых широко используют регуляторные клетки [10, 16, 27].

## Выводы

1. Клетки костного мозга из пула lin<sup>-</sup> после дифференцировки и пролиферации в контакте с клетками стромы легкого приобретают не только фенотип регуляторных ДК [18], но и способность индуцировать *in vivo* увеличение в легочной ткани зараженных туберкулезом мышей популяции регуляторных клеток Treg.
2. Увеличение пула Treg в легких приводит к умеренному терапевтическому эффекту: снижению тяжести легочной патологии за счет замедления некротического поражения ткани и уменьшения притока нейтрофилов.
3. Ослабление воспалительных реакций сочетается с достоверным снижением скорости размножения микобактерий в легких.
4. Учитывая, что у реципиентов регуляторных ДК не меняется продукция про- и противовоспалительных цитокинов клетками легкого, можно предположить, что регуляция проходит на уровне клеточных контактов.

## Список литературы/References

1. Allie N., Grivennikov S.I., Keeton R., Hsu N.J., Bourigault M.L., Court N., Fremond C., Yermeev V., Shebzukhov Y., Ryffel B., Nedospasov S.A., Quesniaux V.F.J., Jacobs M. Prominent role for T cell-derived tumour necrosis factor for sustained control of Mycobacterium tuberculosis infection. *Sci. Rep.*, 2013, vol. 3, no. 1809, 14 p. doi: 10.1038/srep01809
2. Cooper A.M. T cells in mycobacterial infection and disease. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009, vol. 21, iss. 4, pp. 378–384. doi: 10.1016/j.coi.2009.06.004
3. Dorhoi A., Reece S.T., Kaufmann S.H.E. For better or for worse: the immune response against Mycobacterium tuberculosis balances pathology and protection. *Immunol. Rev.*, 2011, vol. 240, iss. 1, pp. 235–251. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00994.x
4. Eruslanov E.B., Lyadova I.V., Kondratieva T.K., Majorov K.B., Scheglov I.V., Orlova M.O., Apt A.S. Neutrophil responses to Mycobacterium tuberculosis infection in genetically susceptible and resistant mice. *Infect. Immun.*, 2005, vol. 73, no. 3, pp. 1744–1753. doi: 10.1128/IAI.73.3.1744-1753.2005
5. Eruslanov E.B., Majorov K.B., Orlova M.O., Mischenko V.V., Kondratieva T.K., Apt A.S., Lyadova I.V. Lung cell responses to M. tuberculosis in genetically susceptible and resistant mice following intratracheal challenge. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004, vol. 135, no. 1, pp. 19–28.
6. Flynn J.L., Chan J., Triebold K.J., Dalton D.K., Stewart T.A., Bloom B.R. An essential role for interferon gamma in resistance to Mycobacterium tuberculosis infection. *J. Exp. Med.*, 1993, vol. 176, no. 6, pp. 2249–2254.
7. Kapina M.A., Rubakova E.I., Majorov K.B., Logunova N.N., Apt A.S. Capacity of lung stroma to educate dendritic cells inhibiting mycobacteria-specific T-cell response depends upon genetic susceptibility to tuberculosis. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 8: e72773. doi: 10.1371/journal.pone.0072773
8. Kondratieva E.V., Logunova N.N., Majorov K.B., Averbakh M.M., Apt A.S. 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. 6, no. 5: e10515. doi: 10.1371/journal.pone.0010515
9. Leepiyasakulchai C., Ignatowicz L., Pawlowski A., Källenius G., Sköld M. Failure to recruit anti-inflammatory CD103<sup>+</sup> dendritic cells and a diminished CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell pool in mice that display excessive lung inflammation and increased susceptibility to Mycobacterium tuberculosis. *Infect. Immun.*, 2012, vol. 80, no. 3, pp. 1128–1139. doi: 10.1128/IAI.05552-11

10. Liang B., Workman C., Lee J., Chew C., Dale B.M., Colonna L., Flores M., Li N., Schweighoffer E., Greenberg S., Tybulewicz V., Vignali D., Clynes R. Regulatory T cells inhibit dendritic cells by lymphocyte activation gene-3 engagement of MHC class II. *J. Immunol.*, 2008, vol. 180, no. 9, pp. 5916–5926. doi: 10.4049/jimmunol.180.9.5916
11. Logunova N.N., Korotetskaya M.V., Polshakov V.I., Apt A.S. The QTL within the H2 complex involved in the control of tuberculosis infection in mice is the classical class II H2-Ab1 gene. *PLoS Genet.*, 2015, vol. 11, no. 11: e1005672. doi: 10.1371/journal.pgen.1005672
12. Lutz M.B., Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends Immunol.*, 2002, vol. 23, no. 9, pp. 445–449.
13. Maldonado R.A., von Andrian U.H. How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells. *Adv. Immunol.*, 2010, vol. 108, pp. 111–165. doi: 10.1016/B978-0-12-380995-7.00004-5
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. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095939
15. Owens B.M., Kaye P.M. Stromal cell induction of regulatory dendritic cells. *Front. Immunol.*, 2012, vol. 3, 6 p. doi: 10.3389/fimmu.2012.00262
16. Qureshi O.S., Zheng Y., Nakamura K., Attridge K., Manzotti C., Schmidt E.M., Baker J., Jeffery L.E., Kaur S., Briggs Z., Hou T.Z., Futter C.E., Anderson G., Walker L.S.K., Sansom D.M. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*, 2011, vol. 332, iss. 6029, pp. 600–603. doi: 10.1126/science.1202947
17. Radaeva T.V., Kondratieva E.V., Sosunov V.V., Majorov K.B., Apt A.S. A human-like TB in genetically susceptible mice followed by the true dormancy in a Cornell-like model. *Tuberculosis (Edinb.)*, 2008, vol. 88, iss. 6, pp. 576–585. doi: 10.1016/j.tube.2008.05.003
18. Reece S.T., Kaufmann S.H.E. Floating between the poles of pathology and protection: can we pin down the granuloma in tuberculosis? *Curr. Opin. Microbiol.*, 2012, vol. 15, iss. 1, pp. 63–70. doi: 10.1016/j.mib.2011.10.006
19. Rook G.A.W., Hernandez-Pando R. The pathogenesis of tuberculosis. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1996, vol. 50, pp. 259–284. doi: 10.1146/annurev.micro.50.1.259
20. Sakaguchi S., Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int. Immunol.*, 2009, vol. 21, no. 10, pp. 1105–1111. doi: 10.1093/intimm/dxp095
21. Sakai S., Kauffman K.D., Sallin M.A., Sharpe A.H., Young H.A., Ganusov V.V., Barber D.L. CD4 T cell-derived IFN $\gamma$  plays a minimal role in control of pulmonary Mycobacterium tuberculosis infection and must be actively repressed by PD-1 to prevent lethal disease. *PLoS Pathog.*, 2016, vol. 12, no. 5: e1005667. doi: 10.1371/journal.ppat.1005667
22. Shepelkova G., Evstifeev V., Majorov K., Bocharova I., Apt A. Therapeutic effect of recombinant mutated interleukin 11 in the mouse model of tuberculosis. *J. Infect. Dis.*, 2016, vol. 214, iss. 3, pp. 496–501. doi: 10.1093/infdis/jiw176
23. Smits H.H., de Jong E.C., Wierenga E.A., Kapsenberg M.L. Different faces of regulatory DCs in homeostasis and immunity. *Trends Immunol.*, 2005, vol. 26, no. 3, pp. 123–129. doi: 10.1016/j.it.2005.01.002
24. Steinman R.M., Hawiger D., Nussenzweig M.C. Tolerogenic dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2003, vol. 21, pp. 685–711. doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141040
25. Torrado E., Robinson R.T., Cooper A.M. Cellular response to mycobacteria: balancing protection and pathology. *Trends Immunol.*, 2011, vol. 32, no. 2, pp. 66–72. doi: 10.1016/j.it.2010.12.001
26. Tsai M.C., Chakravarty S., Zhu G., Xu J., Tanaka K., Tufariello J., Flynn J., Chan J. Characterization of the tuberculous granuloma in murine and human lungs: cellular composition and relative tissue oxygen tension. *Cell. Microbiol.*, 2006, vol. 8, no. 2, pp. 218–232. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00612.x
27. Wang J., Lu Z.H., Gabius H.J., Rohowsky-Kochan C., Ledeen R.W., Wu G. Cross-linking of GM1 ganglioside by galectin-1 mediates regulatory T cell activity involving TRPC5 channel activation: possible role in suppressing experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182, no. 7, pp. 4036–4045. doi: 10.4049/jimmunol.0802981
28. Yeremeev V.V., Linge I.A., Kondratieva T.K., Apt A.S. Neutrophils exacerbate tuberculosis infection in genetically susceptible mice. *Tuberculosis (Edinb.)*, 2015, vol. 95, no. 4, pp. 447–451. doi: 10.1016/j.tube.2015.03.007

**Авторы:**

**Рубакова Э.И.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФГБУ ЦНИИ туберкулеза, Москва, Россия;

**Капина М.А.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФГБУ ЦНИИ туберкулеза, Москва, Россия;

**Логунова Н.Н.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФГБУ ЦНИИ туберкулеза, Москва, Россия;

**Майоров К.Б.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФГБУ ЦНИИ туберкулеза, Москва, Россия;

**Апт А.С.**, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией иммуногенетики ФГБУ ЦНИИ туберкулеза, Москва, Россия.

**Authors:**

**Rubakova E.I.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, Russian Federation;

**Kapina M.A.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, Russian Federation;

**Logunova N.N.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, Russian Federation;

**Maierov K.B.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, Russian Federation;

**Apt A.S.**, PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.07.2017  
Отправлена на доработку 27.02.2018  
Принята к печати 16.05.2018

Received 16.07.2017  
Revision received 27.02.2018  
Accepted 16.05.2018