

Субпопуляционный состав периферических иммунокомпетентных клеток и содержание цитокинов в структурах мозга у мутантных мышей линии *Disk1-Q31L*

М.М. Геворгян, С.Я. Жанаева, Е.Л. Альперина, Т.В. Липина, Г.В. Идова

Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия

e-mail: galina-idova@mail.ru

Аннотация. Нарушения в гене *DISC1* (*disrupted in schizophrenia 1*) ассоциированы с дисфункциями мозга, характерными для ряда психических заболеваний (шизофрения, депрессия, биполярное расстройство и др.). В данной работе впервые изучены иммунологические параметры у мышей линии *Disk1-Q31L* с точечной мутацией во втором экзоне гена *DISC1* (замена глутамина на лейцин в 31-м положении) по сравнению с мышами линии C57BL/6Ncr1 (дикий тип). Методом проточной цитофлуориметрии показано, что по сравнению с мышами дикого типа у интактных *Disk1-Q31L* мышей в периферической крови увеличено процентное содержание CD3⁺ T-лимфоцитов, CD3⁺CD4⁺ T-хелперов и CD3⁺CD4⁺CD25⁺ T-регуляторных клеток при снижении CD3⁺CD8⁺ T-цитотоксических/супрессорных клеток. С помощью мультиплексного анализа выявлены различия в содержании цитокинов в структурах мозга *Disk1-Q31L* мышей по сравнению с мышами дикого типа. Содержание провоспалительных цитокинов повышалось во фронтальной коре (IL-6, IL-17 и IFN γ) и стриатуме (IFN γ), а в гиппокампе и гипоталамусе, напротив, уменьшалось. При этом IL-1 β снижался во всех исследованных структурах. Наряду с этим обнаружено увеличение количества противовоспалительного цитокина IL-4 во фронтальной коре и снижение IL-10 в гиппокампе. Иммуная реактивность на введение антигена эритроцитов барана, анализируемая по числу антителообразующих клеток в селезенке, на пике иммунного ответа у *Disk1-Q31L* мышей была выше, чем у мышей дикого типа. Таким образом, мыши линии *Disk1-Q31L* характеризуются изменением паттерна цитокинов в структурах мозга, усилением периферического T-клеточного звена с повышением субпопуляций CD3⁺CD4⁺ T-хелперов и CD3⁺CD4⁺CD25⁺ T-регуляторных клеток, а также увеличением иммунной реактивности на антиген в селезенке.

Ключевые слова: *Disk1-Q31L* мыши; цитокины; T-клетки; В-клетки; антителообразующие клетки; мозг; периферическая кровь; селезенка.

Для цитирования: Геворгян М.М., Жанаева С.Я., Альперина Е.Л., Липина Т.В., Идова Г.В. Субпопуляционный состав периферических иммунокомпетентных клеток и содержание цитокинов в структурах мозга у мутантных мышей линии *Disk1-Q31L*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2020;24(7):770-776. DOI 10.18699/VJ20.672

The composition of peripheral immunocompetent cell subpopulations and cytokine content in the brain structures of mutant *Disk1-Q31L* mice

M.M. Gevorgyan, S.Ya. Zhanaeva, E.L. Alperina, T.V. Lipina, G.V. Idova

Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

e-mail: galina-idova@mail.ru

Abstract. The *DISC1* (*disrupted in schizophrenia 1*) gene is associated with brain dysfunctions, which are involved in a variety of mental disorders, such as schizophrenia, depression and bipolar disorder. This is the first study to examine the immune parameters in *Disk1-Q31L* mice with a point mutation in the second exon of the *DISC1* gene compared to mice of the C57BL/6Ncr1 strain (WT, wild type). A flow cytometry assay has shown that intact *Disk1-Q31L* mice differ from the WT strain by an increase in the percentage of CD3⁺ T cells, CD3⁺CD4⁺ T helper cells and CD3⁺CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells and a decrease in CD3⁺CD8⁺ T cytotoxic/suppressor cells in the peripheral blood. A multiplex analysis revealed differences in the content of cytokines in the brain structures of *Disk1-Q31L* mice compared to WT mice. The content of pro-inflammatory cytokines was increased in the frontal cortex (IL-6, IL-17 and IFN γ) and striatum (IFN γ), and decreased in the hippocampus and hypothalamus. At the same time, the levels of IL-1 β were decreased in all structures being examined. In addition, the content of anti-inflammatory cytokines IL-4 was increased in the frontal cortex, while IL-10 amount was decreased in the hippocampus. Immune response to sheep red blood cells analyzed by the number of antibody-forming cells in the spleen was higher in *Disk1-Q31L* mice at the peak of the reaction than in WT mice. Thus, *Disk1-Q31L* mice are characterized by changes in the pattern of cytokines in the brain structures, an amplification of the peripheral T-cell link with an increase in the

content of the subpopulations of CD3⁺CD4⁺ T helpers and CD3⁺CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells, as well as elevated immune reactivity to antigen in the spleen.

Key words: *Disc1-Q31L* mice; cytokines; T cells; B cells; antibody-forming cells; brain; peripheral blood; spleen.

For citation: Gevorgyan M.M., Zhanaeva S.Ya., Alperina E.L., Lipina T.V., Idova G.V. The composition of peripheral immunocompetent cell subpopulations and cytokine content in the brain structures of mutant *Disc1-Q31L* mice. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(7):770-776. DOI 10.18699/VJ20.672

Введение

К настоящему времени показано, что воздействие различных факторов (психосоциальный стресс, влияние внешней среды, генетическая предрасположенность) способствует развитию воспаления, длительное течение которого может приводить к соматическим и психическим заболеваниям (Haroon et al., 2012; Felger, Lotrich, 2013; Dantzer, 2018). Воспалительный процесс сопровождается значительными изменениями продукции цитокинов (IL-6, IL-2, IL-1 β , TNF α и др.), состава Т-клеточных субпопуляций, обладающих различной функциональной активностью (CD4⁺ Т-клеток-хелперов, CD8⁺ цитотоксических/супрессорных Т-клеток, Т-регуляторных клеток), как в периферической иммунной системе, так и в структурах мозга (Haroon et al., 2012; Felger, Lotrich, 2013; Dantzer, 2018). Применение экспериментальных моделей существенно расширяет возможности изучения вклада иммунных нарушений и связанных с ними нейромедиаторных и гормональных изменений в патогенез заболеваний, ассоциированных с разными факторами риска, включая наследственную предрасположенность. У животных с генетически обусловленным депрессивным или агрессивным поведением изменяются распределение и соотношение основных субпопуляций Т-клеток в крови и селезенке, иммунная реактивность на антиген, а также содержание различных цитокинов на периферии и в структурах мозга (Alperina et al., 2007, 2019; Idova et al., 2013, 2015, 2019; Takahashi et al., 2018).

Известно, что нарушения в гене *DISC1* (*disrupted in schizophrenia 1*) ассоциированы с дисфункциями мозга, а именно с aberrантным развитием нервной системы и внутриклеточных сигнальных путей, характерными для ряда психических заболеваний, таких как шизофрения, биполярное расстройство, депрессия (Lipina et al., 2010; Hikida et al., 2012; Mathieson et al., 2012; Lipina, Roder, 2014; Serykh et al., 2020). В настоящее время создана гомозиготная линия мышей *Disc1-Q31L*^{-/-} с точечной мутацией во втором экзоне гена *DISC1* хромосомы 8 (замещение глутамина на лейцин в 31-м положении), которая на основе оценки эмоционального, социального и когнитивного поведения может относиться к депрессивноподобному эндотипу (Lipina et al., 2013; Lipina, Roder, 2014; Dubrovina et al., 2018; Serykh et al., 2020). Показано также, что мутация Q31L в гене *DISC1* приводит к изменению активности дофаминергической (DA), а также других нейромедиаторных систем (Lipina et al., 2013), играющих важную роль в механизмах развития различных психопатологий и в контроле иммунной функции (Saurer et al., 2006; Девойно и др., 2009; Альперина, 2014).

Однако особенности иммунного статуса на периферии и в мозге, характерные для мутантных мышей линии *Disc1-Q31L*, до сих пор не известны. В связи с вышесказанным

целью нашего исследования был анализ базального содержания субпопуляций Т- и В-клеток в периферической крови и в селезенке, уровня про- и противовоспалительных цитокинов в структурах мозга, включенных в процессы развития различных психоэмоциональных состояний и нейроиммунотензии (Девойно и др., 2009; Idova et al., 2018, 2019; Alperina et al., 2019), а также иммунной реактивности на антиген по числу антителообразующих клеток.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Опыты проведены на 23 гомозиготных мышках-самцах линии *Disc1-Q31L*^{-/-} и 23 мышках-самцах линии C57BL/6NCrl (WT, дикий тип) в возрасте 3–3.5 мес. массой 27–30 г. Животные были получены из УНУ «Биологическая коллекция – генетические биомодели нейropsychических заболеваний» (№ 493387) Научно-исследовательского института физиологии и фундаментальной медицины (НИИФФМ) и содержались в стандартных условиях вивария НИИФФМ в пластиковых клетках (OptiMice Biotech A.S., 34 × 29 × 15 см). Пищу («ПроКорм») и воду животные получали без ограничений. Опыты проведены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС) и одобренных Комитетом по биомедицинской этике НИИФФМ (протокол № 10 от 17.12.2015).

Дизайн эксперимента. У интактных мышей линий *Disc1-Q31L* и WT (по 10 животных каждой линии) определяли уровень Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций в периферической крови и в селезенке, а также содержание провоспалительных (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17, TNF α , IFN γ) и противовоспалительных (IL-4 и IL-10) цитокинов в структурах мозга (префронтальная кора, стриатум, гиппокамп, гипоталамус). У иммунизированных эритроцитами барана (ЭБ) животных (по 13 мышей каждой линии) определяли иммунную реактивность на антиген по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке. ЭБ вводили в дозе 5 · 10⁸ клеток в 0.5 мл физиологического раствора, однократно, внутривенно в хвостовую вену.

Кровь забирали после мгновенной декапитации мышшей в пробирки, содержащие K₃EDTA (Becton Dickinson, США). Селезенку у иммунизированных мышшей извлекали на холоде на 4-й день после введения антигена ЭБ и помещали ее в пробирки с охлажденной средой RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США). Структуры мозга выделяли на холоде, пробирки с образцами немедленно после выделения помещали в жидкий азот и переносили в холодильник с температурой –70 °С до последующего определения в них антител.

Для определения субпопуляций клеток в периферической крови 25 мкл крови инкубировали в течение 30 мин в защищенном от света месте с 1.5 мкл (0.2–0.5 мкг/мкл)

меченных крысиных антимышиных моноклональных антител к поверхностным маркерам клеток: CD3 (allophycocyanin, APC), CD4 (peridinin-chlorophyll protein, perCP), CD8 (phycoerythrin, PE), CD25 (Brilliant Violet 421), CD19 (fluorescein isothiocyanate, FITC) (все антитела производства BD Pharmingen™, США). Лизис эритроцитов в исследуемых пробах осуществляли раствором BD FACS Lysing Solution (Becton Dickinson, США). После 10-минутной инкубации клетки однократно отмывали в избытке фосфатно-солевого раствора (PBS). Полученный осадок ресуспендировали в 100 мкл PBS.

Чтобы определить субпопуляции лимфоцитов в селезенке, ее механически измельчали и готовили однородную клеточную суспензию. Полученную клеточную взвесь фильтровали через нейлоновый фильтр (размер пор 50 мкм) и дважды промывали в избытке среды RPMI-1640. Клетки осаждали центрифугированием при 200 g в течение 5 мин. Осадок ресуспендировали в среде RPMI-1640, концентрацию клеток доводили до $1 \cdot 10^6/100$ мкл суспензии и помещали в планшеты в объеме 100 мкл на лунку. Суспензию клеток инкубировали с теми же антителами, что и клетки крови, в течение 20 мин и фиксировали после окрашивания в 1 % растворе формальдегида. В качестве контроля использовали изотипические антитела.

Исследование популяций клеток проводили на точном цитофлуориметре FACS CANTO™ II (Becton Dickinson) с использованием многоэтапного гейтирования. В каждом образце анализировали не менее 50000 клеток с единичными настройками для всех проб. Анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения FACSDiva. Находили содержание $CD3^+$ лимфоцитов, $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов, $CD3^+CD8^+$ в основном цитотоксических/супрессорных Т-лимфоцитов, $CD3^+CD4^+CD25^+$ Т-регуляторных клеток и $CD19^+$ В-лимфоцитов в процентах от общего количества клеток. По соотношению процентного содержания $CD4^+$ к $CD8^+$ Т-клеткам вычисляли иммунорегуляторный индекс.

Цитокины в структурах мозга. Для анализа цитокинов готовили детергент-растворимые фракции тканей мозга. Пробы размораживали на льду, гомогенизировали в охлажденном до +4 °С лизирующем буфере, содержащем PBS (рН 7.4), 0.1 % Тритон X-100, 1 mM EDTA и 1 mM PMSF, с помощью пластиковых пестиков. Гомогенаты инкубировали на льду в течение 30–40 мин. Полученные экстракты тканей центрифугировали (Centrifuge 5415 R) при температуре +4 °С и 4500 об/мин в течение 20 мин. В супернатантах определяли концентрации цитокинов. Концентрацию нормировали на вес ткани (пг/г ткани).

Содержание цитокинов в гомогенатах мозга определяли согласно протоколу фирмы-производителя методом мультиплексного иммунного анализа на мультиплексном анализаторе белков и нуклеиновых кислот Milliplex Luminex 200 (Merk Millipore) с помощью набора Milliplex MAP Mouse Cytokine/Chemokine. Результаты анализировали с помощью программного обеспечения xPONENT и Analyst.

Антителообразующие клетки. Иммунный ответ оценивали по относительному (на 10^6 клеток селезенки) и абсолютному (на общее число клеток в селезенке) числу IgM-АОК общепринятым методом (Ladics, 2007).

Статистический анализ данных выполняли в программе STATISTICA 10.0. Соответствие полученных значений нормальному распределению оценивали с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. При нормальном распределении показателей (содержание Т-клеток и их субпопуляций и В-клеток) достоверность различий в группах оценивали однофакторным дисперсионным анализом ANOVA. В случае ненормального распределения (содержание цитокинов и число АОК) сравнение выборок проводилось с использованием критерия Манна–Уитни. Данные представляли как среднее \pm ошибка среднего ($M \pm m$). Выявленные различия считали статистически значимыми при величине $p < 0.05$.

Результаты

Содержание Т-клеток, их субпопуляций и В-клеток в периферической крови и селезенке у мышей линии *Disc1-Q31L*. У неиммунизированных мышей линии *Disc1-Q31L* в периферической крови содержание всех исследованных иммунокомпетентных клеток отличалось от уровня клеток у WT мышей. Процентное содержание $CD3^+$ Т-лимфоцитов было более высоким по сравнению с неиммунизированными мышами дикого типа ($F(1.18) = 45.2, p < 0.001$). При этом анализ субпопуляций Т-лимфоцитов показал, что процентное содержание $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов у этих мышей было увеличено ($F(1.17) = 15.5, p < 0.01$), а количество $CD3^+CD8^+$ Т-цитотоксических/супрессорных клеток, напротив, снижено по сравнению с WT мышами ($F(1.17) = 12.6, p < 0.01$). В результате иммунорегуляторный индекс, определяемый как отношение содержания $CD4^+$ к $CD8^+$ Т-лимфоцитам, у мутантных мышей был в 1.3 раза выше ($F(1.18) = 27.5, p < 0.01$), чем у мышей дикого типа. Содержание регуляторных Т-клеток с фенотипом $CD3^+CD4^+CD25^+$ у линии *Disc1-Q31L* также было выше, чем у WT мышей ($F(1.17) = 5.3, p < 0.05$). Количество $CD19^+$ В-лимфоцитов в периферической крови у мутантных мышей было снижено по сравнению с мышами дикого типа ($F(1.17) = 5.7, p < 0.05$) (см. таблицу).

В отличие от увеличения числа $CD3^+$ Т-лимфоцитов в крови, в селезенке их процентное содержание снижалось ($F(1.18) = 10.58, p < 0.01$). Субпопуляции же $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов ($F(1.18) = 0.68, p > 0.05$), $CD3^+CD4^+CD25^+$ Т-регуляторных клеток ($F(1.18) = 0.23, p > 0.05$), $CD3^+CD8^+$ Т-цитотоксических/супрессорных клеток ($F(1.18) = 1.66, p > 0.05$), отношение $CD4^+/CD8^+$ Т-клеток ($F(1.18) = 1.36, p > 0.05$), а также $CD19^+$ В-клеток ($F(1.18) = 0.23, p > 0.05$) мало отличались от соответствующих уровней в селезенке у WT мышей (см. таблицу).

Цитокины в структурах мозга у мышей линии *Disc1-Q31L*. Анализ профиля цитокинов в мозге у интактных мышей линии *Disc1-Q31L* выявил существенные различия в содержании цитокинов у мутантных и WT мышей, которые зависели от исследуемой структуры (рис. 1).

Во фронтальной коре у мышей линии *Disc1-Q31L* обнаружено повышение уровня трех из пяти исследованных провоспалительных цитокинов – IL-6 ($p < 0.01$), IL-17 ($p < 0.01$) и IFN γ ($p < 0.01$) и снижение IL-1 β ($p < 0.05$) по сравнению с аналогичными показателями у WT мышей. Уровень IL-2 и TNF α не изменялся ($p > 0.05$). Что касается противовоспалительных цитокинов, то содержание

Содержание субпопуляций Т- и В-лимфоцитов (%) у мышей линии *Disc1*-Q31L в крови и селезенке (M ± m)

CD-маркеры клеток	Кровь		Селезенка	
	WT	<i>Disc1</i> -Q31L	WT	<i>Disc1</i> -Q31L
CD3 ⁺	30.8 ± 0.8	37.8 ± 0.7***	36.8 ± 1.1	26.4 ± 1.0**
CD3 ⁺ CD4 ⁺	62.6 ± 0.8	68.3 ± 1.4**	59.9 ± 0.6	59.0 ± 9.7
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺	6.3 ± 0.5	8.3 ± 0.7*	10.7 ± 0.4	10.5 ± 0.3
CD3 ⁺ CD8 ⁺	35.5 ± 0.6	30.1 ± 1.5**	35.9 ± 0.7	36.9 ± 0.5
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.8 ± 0.05	2.3 ± 0.09**	1.67 ± 0.05	1.61 ± 0.04
CD19 ⁺	64.4 ± 1.4	60.6 ± 1.1*	59.9 ± 1.8	59.0 ± 0.7

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по сравнению с WT мышами (ANOVA анализ). В каждой группе 9–10 животных.

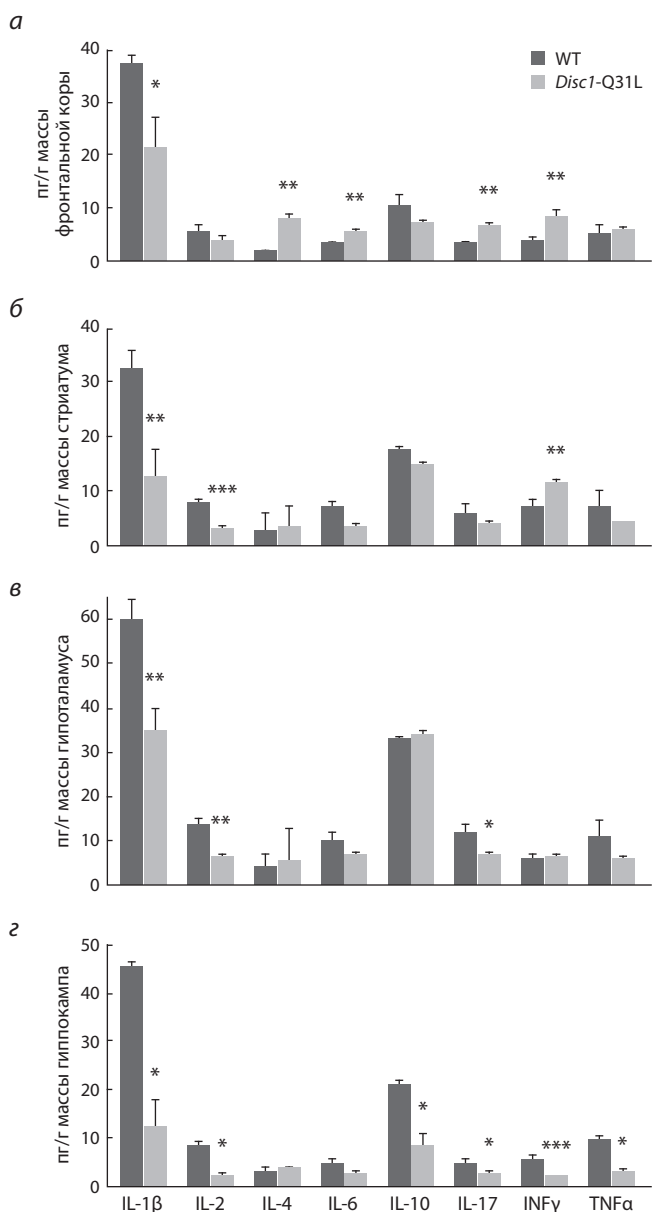


Рис. 1. Содержание цитокинов в структурах мозга: во фронтальной коре (а), стриатуме (б), гипоталамусе (в) и гиппокампе (z) у WT и *Disc1*-Q31L мышей.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по сравнению с WT мышами (тест Манна–Уитни). В каждой группе 10 животных.

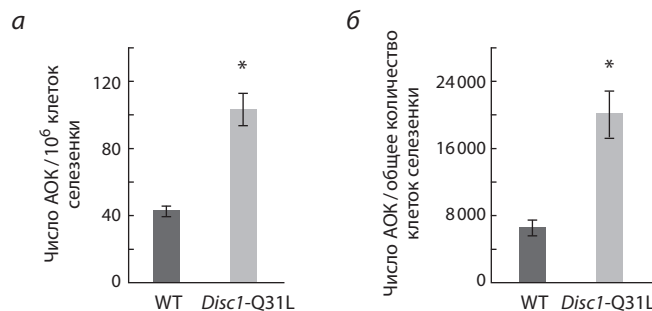


Рис. 2. Относительное (а) и абсолютное (б) число АОК в селезенке WT и *Disc1*-Q31L мышей на 4-й день после иммунизации эритроцитами барана ($5 \cdot 10^8$).

* $p < 0.001$ по сравнению с WT мышами (тест Манна–Уитни). В каждой группе 13 животных.

IL-10 не изменялась ($p > 0.05$), а IL-4 было более высоким ($p < 0.01$), чем у WT мышей (см. рис. 1, а).

В стриатуме мутантных мышей показано увеличение количества $IFN\gamma$ ($p < 0.01$) по сравнению с мышами дикого типа. При этом содержание других провоспалительных цитокинов – IL-1 β ($p < 0.01$), IL-2 ($p < 0.001$) – было снижено, а IL-6, IL-17 и TNF α не изменялось ($p > 0.05$), так же как и количество противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10 ($p > 0.05$) (см. рис. 1, б).

В гипоталамусе мышей линии *Disc1*-Q31L содержание IL-1 β ($p < 0.01$), IL-2 ($p < 0.01$) и IL-17 ($p < 0.05$) было меньше, чем у WT мышей. Уровень остальных цитокинов (IL-4, IL-6, IL-10, $IFN\gamma$, TNF α) не изменялся ($p > 0.05$) (см. рис. 1, в).

В гиппокампе у *Disc1*-Q31L мышей был снижен уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-17, TNF α ($p < 0.05$) и особенно $IFN\gamma$ ($p < 0.001$), а содержание IL-6 оставалось на уровне мышей дикого типа ($p > 0.05$). Противовоспалительный цитокин IL-10 тоже понижался ($p < 0.05$) при неизменном содержании IL-4 ($p > 0.05$) (см. рис. 1, z).

Иммунная реакция мышей линии *Disc1*-Q31L на антиген. Иммунизация *Disc1*-Q31L мышей ЭБ вызвала значительно более высокий иммунный ответ на пике его развития в селезенке, чем у WT мышей. Относительное ($p < 0.001$) и абсолютное ($p < 0.001$) число АОК у *Disc1*-Q31L мышей значительно превышало эти показатели у мышей дикого типа (рис. 2).

Обсуждение

Известно, что мутации, изменяющие функционирование белка DISC1, кодируемого одноименным геном, играют роль в развитии различных психических заболеваний, таких как шизофрения, депрессия, биполярное расстройство и др. (Lipina et al., 2010, 2013, 2014; Hikida et al., 2012; Mathieson et al., 2012). Наблюдаемые при этом иммунные нарушения затрагивают разные стороны функционирования иммунной системы и имеют характерные для каждой патологии черты. Так, типичными признаками шизофрении являются увеличение количества В-клеток, снижение Т-клеток, CD4⁺ Т-хелперов, отношения CD4⁺/CD8⁺ Т-клеток в сыворотке крови (Steiner et al., 2010). Сходные изменения с увеличением CD4⁺ Т-хелперов и иммунорегуляторного индекса, а также усиление иммунного ответа на антиген отмечаются при моделировании различных форм агрессивного поведения (Девоино и др., 2009; Idova et al., 2015; Takahashi et al., 2018).

Депрессия же, напротив, сопровождается повышением уровня CD3⁺CD8⁺ Т-супрессорных/цитотоксических клеток, снижением иммунорегуляторного индекса и подавлением иммунной реакции на антиген (Alperina et al., 2007; Девоино и др., 2009; Haroon et al., 2012; Felger, Lotrich, 2013; Idova et al., 2013).

Как показано в настоящем исследовании, у интактных мышей линии *Disc1*-Q31L в периферической крови происходит увеличение содержания CD3⁺ Т-лимфоцитов и их субпопуляции – CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов и CD3⁺CD4⁺CD25⁺ Т-регуляторных клеток, а также иммунорегуляторного индекса. При этом в селезенке *Disc1*-Q31L мышей отмечается более низкое, по сравнению с мышами дикого типа, процентное содержание CD3⁺ Т-лимфоцитов, что приводит к преобладанию CD19⁺ В-клеток и свидетельствует о перераспределении этих субпопуляций в иммунной системе.

Динамическое перераспределение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, продуцирующих свой набор цитокинов, и их соотношение в иммунокомпетентных органах в значительной мере влияют на иммунологические и воспалительные процессы при наследственно обусловленном поведении и психопатологиях (Ottaway, Husband, 1994; Девоино и др., 2009), что, вероятно, и определило высокую способность *Disc1*-Q31L мышей отвечать на антиген, о чем можно судить по увеличенному числу АОК.

Картина распределения цитокинов в структурах мозга у интактных мышей линии *Disc1*-Q31L существенно отличается от мышей дикого типа и зависит от области, в которой они локализованы. При этом только во фронтальной коре отмечалось одновременное повышение, по сравнению с WT мышами, трех типов провоспалительных цитокинов – IL-6, IL-17 и IFN γ , известных сигнальных молекул нейровоспаления, которые вовлечены в патофизиологию депрессии, биполярного расстройства и шизофрении (Григорьян и др., 2014; Lesh et al., 2018). Эта структура играет важную роль в когнитивных реакциях, и ее дисфункция вносит важный вклад в этиологию многих психопатологий (Clarpcote et al., 2007).

В стриатуме, в отличие от WT мышей, имело место повышение лишь IFN γ , тогда как концентрация остальных цитокинов была снижена. В гиппокампе и гипоталамусе

тоже отмечалось снижение провоспалительных цитокинов по сравнению с WT мышами. Выявленное у мышей группы *Disc1*-Q31L нарушение цитокинового баланса позволяет полагать, что наличие данной мутации ассоциировано с нейровоспалением, одним из патогенетических признаков аффективных расстройств. Наблюдаемое при этом повышение количества провоспалительного IL-4 во фронтальной коре, где происходил наиболее выраженный подъем провоспалительных цитокинов, можно рассматривать как действие фактора, направленное на сдерживание процесса нейровоспаления. Полученные результаты согласуются с существующими данными о том, что формирование различных форм депрессивноподобного поведения и агрессии у животных сопряжено со значительными изменениями соотношения про- и противовоспалительных цитокинов в таких областях мозга, как гиппокамп и фронтальная кора (Takahashi et al., 2018; Alperina et al., 2019; Idova et al., 2019).

Ген *DISC1* образует комплекс с некоторыми транскрипционными факторами внутри ядра и тем самым может существенно модулировать экспрессию многих генов и оказывать влияние на поведение (Lipina, Roder, 2014). Что касается мышей линии *Disc1*-Q31L, то литературные сведения об особенностях их поведения противоречивы. Большинство авторов установлено преобладание у этой линии депрессивноподобного поведения (Lipina et al., 2013; Dubrovina et al., 2018; Serykh et al., 2020). Согласно же другим авторам, поведение *Disc1*-Q31L мышей не отличается от контроля (Shoji et al., 2012) или, как показано недавно, включает элементы агрессии (Serykh et al., 2020). В нашем исследовании выявлена более высокая иммунная реактивность мутантных мышей по сравнению с дикими, что существенно отличает этих животных от других моделей депрессии, в которых, как отмечалось выше, наблюдается подавление иммунной функции (Alperina et al., 2007; Девоино и др., 2009; Idova et al., 2013). В то же время характеристика иммунитета у мышей линии *Disc1*-Q31L в большей степени соответствует таковой у агрессивных животных. Очевидно, это связано с тем, что мыши данной линии обладают смешанным поведенческим фенотипом и наряду с депрессивным поведением могут проявлять повышенную агрессивность (Serykh et al., 2020), ассоциированную с усилением иммунной функции и определенным структурным паттерном цитокинов.

Механизмы, лежащие в основе выявленных у *Disc1*-Q31L мышей изменений иммунных параметров на периферии и цитокинового профиля в структурах мозга, до настоящего времени не известны. Вместе с тем установлено, что цитокины участвуют не только в обеспечении иммунологических реакций, но и во взаимодействии иммунной и нейроэндокринной систем. Оказывая влияние на активность центральных нейромедиаторных систем, они вносят вклад в когнитивные, поведенческие и структурные нарушения в мозге при психических заболеваниях (Григорьян и др., 2014; Lesh et al., 2018). Можно полагать, что особенности иммунного статуса мышей линии *Disc1*-Q31L ассоциированы с нейрхимической картиной мозга, присущей этой линии. Так, у них в прилежащем ядре, принимающем участие в нейроиммунотуляции (Saurer et al., 2006; Девоино и др., 2009; Альперина, 2014), сни-

жается уровень DA, но повышается содержание DOPAC (Lipina et al., 2013). Соотношение DOPAC/DA, которое отражает активность распада DA и активность синаптических процессов, увеличивается при иммуностимуляции в условиях формирования агрессивного поведения, связанного с повышением активности DA системы (Девойно и др., 2009; Альперина, 2014). Учитывая изменение активности DA системы в структурах мозга у *Disc1*-Q31L мышей (Lipina et al., 2013), а также ее роль в агрессивном поведении и процессе нейроиммунотуляции (Saurer et al., 2006; Девойно и др., 2009; Альперина, 2014), кажется вероятным, что DA мозга включен в механизмы повышения иммунной функции, выявленной у мышей линии *Disc1*-Q31L.

Однако в настоящее время трудно сказать, меняется ли профиль цитокинов под воздействием характерного для *Disc1*-Q31L нейромедиаторного фона или измененное содержание цитокинов является первичным признаком при мутации Q31L. К тому же известно, что как нейромедиаторы могут воздействовать на продукцию цитокинов (Kawano et al., 2018), так и цитокины влияют на нейромедиаторную нейропередачу и могут изменять нейрохимическую картину мозга (Dunn, 2006; Felger, Lotrich, 2013).

Заключение

Результаты нашего исследования показали, что наличие точечной мутации Q31L (замещение глутамин на лейцин в 31-м положении) в гене *DISC1* оказывает влияние на состояние иммунной системы и характеризуется усилением периферического T-клеточного звена с повышением субпопуляций CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов и CD3⁺CD4⁺CD25⁺ Т-регуляторных клеток, а также более высокой способностью клеток селезенки отвечать на антиген. Наряду с периферическими иммунными показателями существенно меняется паттерн распределения про- и противовоспалительных цитокинов в структурах мозга, включенных в контроль различных форм поведения и иммунной функции. Линия мышей *Disc1*-Q31L может использоваться для дальнейшего изучения взаимосвязи генетических факторов и нейроиммунологических механизмов и их роли в развитии психоэмоциональных расстройств.

Список литературы / References

Альперина Е.Л. Вклад допаминергической системы в механизмы иммуномодуляции. *Успехи физиол. наук.* 2014;45(3):45-56. <https://elibrary.ru/item.asp?id=22265117>
[Al'perina E.L. Involvement of the dopaminergic system in the mechanisms of immunomodulation. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk = Advances in Physiological Sciences.* 2014;45(3):45-56. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22265117>. (in Russian)]
Григорьян Г.А., Дыгало Н.Н., Гехт А.Б., Степанчиков М.Ю., Гуляева Н.В. Молекулярно-клеточные механизмы депрессии. Роль глюкокортикоидов, цитокинов, нейротрансмиттеров и трофических факторов в генезе депрессивных расстройств. *Успехи физиол. наук.* 2014;45(2):3-19.
[Grigor'yan G.A., Dygalo N.N., Gekht A.B., Stepanichev M.Iu., Gulyaeva N.V. Molecular and cellular mechanisms of depression. Role of glucocorticoids, cytokines, neurotransmitters, and trophic factors in genesis of depressive disorders. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk = Advances in Physiological Sciences.* 2014;45(2):3-19. (in Russian)]

Девойно Л.В., Идова Г.В., Альперина Е.Л. Психонейроиммунотуляция: поведение и иммунитет. Роль «нейромедиаторной» установки мозга. Новосибирск: Наука, 2009. <https://elibrary.ru/item.asp?id=19548477>
[Devoyno L.V., Idova G.V., Alperina E.L. Psychoneuroimmunomodulation: Behavior and Immunity. A Role of "Neuromediator Pattern of the Brain". Novosibirsk: Nauka Publ., 2009. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19548477> (in Russian)]
Alperina E., Idova G., Zhukova E., Zhanaeva S., Kozhemyakina R. Cytokine variations within brain structures in rats selected for differences in aggression. *Neurosci. Lett.* 2019;692:193-198. DOI 10.1016/j.neulet.2018.11.012.
Alperina E.L., Kulikov A.V., Popova N.K., Idova G.V. Immune response in mice of a new strain ASC (Antidepressants Sensitive Catelepsy). *Bull. Exp. Biol. Med.* 2007;144(2):221-223. DOI 10.1007/s10517-007-0294-5.
Clapcote S.J., Lipina T.V., Millar J.K., Mackie S., Christie S., Ogawa F., Lerch J.P., Trimble K., Uchiyama M., Sakuraba Y., Kaneda H., Shiroishi T., Houslay M.D., Henkelman R.M., Sled J.G., Gondo Y., Porteous D.J., Roder J.C. Behavioral phenotypes of *Disc1* missense mutations in mice. *Neuron.* 2007;54(3):387-402. DOI 10.1016/j.neuron.2007.04.015.
Dantzer R. Neuroimmune interactions: from the brain to the immune system and vice versa. *Physiol. Rev.* 2018;98(1):477-504. DOI 10.1152/physrev.00039.2016.
Dubrovina N.I., Khrapova M.V., Lipina T.V. Characteristics of the formation of memories relating to fear in mice with depression- and schizophrenia-like phenotypes: effects of gender and age. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2018;48(4):488-495. DOI 10.1007/s11055-018-0590-8.
Dunn A.J. Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry. *Clin. Neurosci. Res.* 2006;6(1-2):52-68. DOI 10.1016/j.cnr.2006.04.002.
Felger J.C., Lotrich F.E. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience.* 2013;246:199-229. DOI 10.1016/j.neuroscience.2013.04.060.
Haroon E., Raison C.L., Miller A.H. Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. *Neuropsychopharmacology.* 2012; 37(1):137-162. DOI 10.1038/npp.2011.205.
Hikida T., Gamo N.J., Sawa A. DISC1 as a therapeutic target for mental illnesses. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2012;16(12):1151-1160. DOI 10.1517/14728222.2012.719879.
Idova G., Alperina E., Gevorgyan M., Zhukova E., Kulikov A., Yur'ev D. T-lymphocyte subpopulation composition and the immune response in depression-like behavior in ASC mice. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2013;43(8):946-950. DOI 10.1007/s11055-013-9833-x.
Idova G., Alperina E., Plyusnina I., Gevorgyan M., Zhukova E., Konoshenko M., Kozhemyakina R., Wang S.W. Immune reactivity in rats selected for the enhancement or elimination of aggressiveness towards humans. *Neurosci. Lett.* 2015;609:103-108. DOI 10.1016/j.neulet.2015.10.027.
Idova G.V., Al'perina E.L., Zhanaeva S.Ya., Gevorgyan M.M., Rogozhnikova A.A. Cytokine content in the hypothalamus and hippocampus of C57BL/6J mice with depressive-like behavior. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2019;167(1):11-16. DOI 10.1007/s10517-019-04450-y.
Idova G., Gevorgyan M., Alperina E., Zhanaeva S.Ya., Markova E.V. Cytokine production by splenic cells in C57BL/6J mice with depressive-like behavior depends on the duration of social stress. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018;164(5):645-649. DOI 10.1007/s10517-018-4050-9.
Kawano M., Takagi R., Saika K., Matsui M., Matsushita S. Dopamine regulates cytokine secretion during innate and adaptive immune responses. *Int. Immunol.* 2018;30(12):591-606. DOI 10.1093/intimm/dxy057.
Ladies G.S. Primary immune response to sheep red blood cells (SRBC) as the conventional T-cell dependent antibody response (TDAR) test. *J. Immunotoxicol.* 2007;4(2):149-152. DOI 10.1080/15476910701337357.

- Lesh T.A., Careaga M., Rose D.R., McAllister A.K., Van de Water J., Carter C.S. Ashwod P. Cytokine alterations in first-episode schizophrenia and bipolar disorder: relationships to brain structure and symptom. *J. Neuroinflammation*. 2018;15:165. DOI 10.1186/s12974-018-1197-2s.
- Lipina T.V., Fletcher P.J., Lee F.H., Wong A.H., Roder J.C. Disrupted-in-schizophrenia-1 Gln31Leu polymorphism results in social anhedonia associated with monoaminergic imbalance and reduction of CREB and β -arrestin-1,2 in the nucleus accumbens in a mouse model of depression. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38(3):423-436. DOI 10.1038/npp.2012.197.
- Lipina T.V., Niwa M., Jaaro-Peled H., Fletcher P.J., Seeman P., Sawa A., Roder J.C. Enhanced dopamine function in DISC1-L100P mutant mice: implications for schizophrenia. *Brain Behav*. 2010;9:777-789. DOI 10.1111/j.1601-183X.2010.00615.x.
- Lipina T.V., Roder J.C. Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1) interactome and mental disorders: impact of mouse models. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2014;45:271-294. DOI 10.1016/j.neubiorev.2014.07.001.
- Mathieson I., Munafò M.R., Flint J. Meta-analysis indicates that common variants at the DISC1 locus are not associated with schizophrenia. *Mol. Psychiatry*. 2012;17(6):634-641. DOI 10.1038/mp.2011.41.
- Ottaway C.A., Husband A. The influence of neuroendocrine pathways on lymphocyte migration. *Immunol. Today*. 1994;5(11):511-571. DOI 10.1016/0167-5699(94)90206-2.
- Saurer T.B., Carrigan K.A., Ijames S.G., Lysle D.T. Suppression of natural killer cell activity by morphine is mediated by the nucleus accumbens shell. *J. Neuroimmunol*. 2006;173(1-2):3-11. DOI 10.1016/j.jneuroim.2005.11.009.
- Serykh A., Khrapova M.V., Dubrovina N.I., Petrova E.S., Mikhnevich N., Starostina M.V., Amstyslavskaja T.G., Lipina T.V. The increased density of the habenular neurons, high impulsivity, aggression and resistant fear memory in *Disc1*-Q31L genetic mouse model of depression. *Behav. Brain Res*. 2020;392:112693. DOI 10.1016/j.bbr.2020.112693.
- Shoji H., Toyama K., Takamiya Y., Wakana S., Gondo Y., Miykawa T. Comprehensive behavioral analysis of ENU-induced *Disc1*-Q31L and -L100P mutant mice. *BMC Res. Notes*. 2012;5:108. DOI 10.1186/1756-0500-5-108.
- Steiner J., Jacobs R., Panteli B., Brauner M., Schiltz K., Bahn S., Herberth M., Westphal S., Gos T., Walter M., Bernstein H.G., Myint A.M., Bogerts B. Acute schizophrenia is accompanied by reduced T cell and increased B cell immunity. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci*. 2010;260(7):509-518. DOI 10.1007/s00406-010-0098-x.
- Takahashi A., Flanigan M.E., McEwen B.S., Russo S.J. Aggression, social stress, and the immune system in humans and animal models. *Front. Behav. Neurosci*. 2018;12:56. DOI 10.3389/fnbeh.2018.00056.

Благодарности. Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований (тема № АААА-А16-116021010228-0). Авторы выражают благодарность м.н.с. Е.В. Мельниковой за техническую помощь и консультацию при постановке метода проточной цитофлуориметрии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 21.02.2020. После доработки 19.08.2020. Принята к публикации 19.08.2020.