

Н.Я. Спивак, И.М. Богданова, Н.И. Мартиросова, В.В. Малайцев

Роль TOLL-подобных рецепторов в регуляции иммунного ответа в норме и при патологии

Представлен анализ современных данных о семействе Toll-подобных рецепторов (TLRs), которые играют первостепенную роль в иммунной защите организма. TLRs участвуют в индукции и модуляции реакций врожденного и адаптивного иммунитета, выступая в роли их интеграторов. Генетические аномалии собственно TLRs или компонентов их сигнальных путей зарегистрированы при различных патологических состояниях. TLRs – идеальная молекулярная мишень для терапии многих заболеваний, в том числе инфекционных, аутоиммунных, аллергических и онкологических.

Обеспечение защиты хозяина от инфекционных агентов осуществляется с последовательным вовлечением механизмов врожденного и приобретенного (адаптивного) иммунитета. Одно из принципиальных различий между двумя системами иммунитета состоит в способах распознавания антигенов. Рецепторы клеток системы врожденного иммунитета стабильно сохраняют структуру, заложенную в зародышевой линии, а поскольку число их вариантов ограничено, способность к распознаванию антигенов носит ограниченный характер. Высокоспецифичные антигенраспознающие рецепторы клеток, участвующих в реакциях адаптивного иммунитета, генерируются путем соматической рекомбинации (реаранжировки) мини-генов на клональном уровне с последующей экспансией клонов Т- и В-лимфоцитов, каждый из которых экспрессирует только один вариант указанных рецепторов.

Роль рецепторов клеток системы врожденного иммунитета в защите от патогенов исключительно значима, что в наибольшей мере стало очевидным, когда были открыты

Toll-подобные рецепторы (TLRs) от англ. toll-like receptors.

TLRs – первичные сенсоры микробных продуктов, регистрирующие сигнал опасности исходящий от патогенов и мобилизующий иммунную систему организма на борьбу с инфекционными агентами.

Эволюционно консервативные молекулы TLR идентифицированы у млекопитающих на основании гомологии Toll-молекулы, через которую стимулируется выработка противомикробных белков у *Drosophila melanogaster* [26].

Семейство Toll-подобных рецепторов. TLR – семейство, представленное у человека, по крайней мере 10-ю белками, которые запускают реакции врожденного и приобретенного иммунитета по сигнальным путям, реализуемым через ответственные за выработку провоспалительных цитокинов факторы транскрипции NF-κB и AP-1, а также факторы семейства IRF, регулирующие экспрессию интерферонов, ИФН [38].

Члены семейства TLR – образ распознающие рецепторы (от англ. pattern recognition receptors – PRR), которые в совокупности распознают липиды, углеводы, пеп-

тиды и нуклеиновые кислоты, экспрессируемые различными группами микроорганизмов, PAMP (от англ. pathogen-associated molecular patterns). Некоторые TLR представлены на клеточной поверхности, в то время как другие инкорпорированы в мембраны эндоплазматических везикул или других внутриклеточных органелл. TLRs располагают эктодоменом, несущим обогащенные лейцином повторы (от англ. leucine-rich repeats – LRR), которые вовлечены, непосредственно или через вспомогательные молекулы, в связывание лиганда с цитоплазматическим доменом (TIR), взаимодействующим с адапторными молекулами, содержащими аналогичный домен. Изначально полагали, что индивидуальные TLR вовлечены исключительно в избирательное распознавание различных филогенетических групп патогенов, позже установили, что многие из них способны одновременно реагировать на продукты патогенных и непатогенных микробов, принадлежащих к различным видам. В последнее время выявлена способность TLRs распознавать такие эндогенные лиганды, как белки теплового шока, фрагменты гиалуроновой кислоты, растворимый гепарин сульфат, экстрадомен А фибриногена, окисленный липопротеин низкой плотности и β -дефензин 2, что позволяет предположить важную роль этих рецепторов в регуляции воспаления при инфекционных и неинфекционных заболеваниях [1, 38].

TLR не являются единственным классом образспознающих рецепторов. В связывании и захвате микроорганизмов также участвуют локализованные на клеточной поверхности такие лектиноподобные молекулы С-типа, как маннозный рецептор и рецепторы β -глюкана (например, дектин-1). Компоненты бактерий и вирусы, которые проникают в цитоплазму, распознаются также другими PRR, через которые они индуцируют выработку цитокинов и

активацию клеток. Эти цитозольные рецепторы подразделяют на 2 главных семейства – NOD-рецепторы и RIG-I-подобные рецепторы. Они могут кооперироваться с TLRs в индукции иммунного ответа на патогены. Клетки системы врожденного иммунитета – макрофаги, дендритные клетки одновременно экспрессируют перекрывающиеся, но не идентичные комбинации TLR. Благодаря этому обеспечивается тканеспецифический ответ на патоген [30].

TLR представлены гомо- и гетеродимерными комплексами. Гетеродимеры TLR2/TLR1 регистрируют триацилированные бактериальные липопептиды и синтетические пептиды. Такие диацилированные дипептиды, как микоплазменный липопептид-2, MAL-2 передают сигнал через TLR2/TLR6 гетеродимер. Комплекс TLR2/TLR6 также распознает липотейхоевую кислоту и β -глюканы. TLR2-гомодимер взаимодействует с PAMP грамм-положительных бактерий, включая липопротеины, липопептиды, пептидогликаны и липотейхоевую кислоту, а также микобактериальный липоарабиноманнан, модулин стафилококков, зимозан дрожжевых грибов и гликозилфосфатидилинозитол Tгураposoma cruzi. В распознавание грибов может вовлекаться TLR2 в комплексе с членами семейства лектиновых рецепторов. Фактор некроза опухоли α (ФНО- α) индуцирует повышение экспрессии TLR2, а глюкокортикоиды угнетают ее. Гомо- и гетеродимеры TLR2 экспрессированы на клеточной поверхности.

Экспонируемый на клеточной поверхности TLR4 распознает липополисахарид (ЛПС) и, подобно TLR2, взаимодействует с другими молекулами различной природы, в том числе растительного происхождения. TLR4 может также распознавать противоопухолевый препарат таксол и белок слияния респираторного синцитиального вируса. Кроме того, эндогенные лиганды, в частности, белки теплового шока HSP60,

HSP70, GPR96, фибронектин, гиалуроновая кислота, фибриноген и гепаринсульфат активируют TLR4 [1, 44]. В распознавание ЛПС через TLR4 вовлечен белковый комплекс, содержащий вспомогательные молекулы. ЛПС взаимодействует с ЛПС-связывающим белком сыворотки, LBP и образовавшийся комплекс распознается CD14-рецептором, который экспрессирован на моноцитах периферической крови и макрофагах. В комплексе с CD14 ЛПС сближается с TLR4 на клеточной поверхности, а для индукции эффективного воспалительного ответа необходимо его дополнительное связывание с секретиремым белком MD-2 [14].

Локализованный на клеточной поверхности TLR5 распознает флагеллин грамположительных и грамотрицательных бактерий. Эпителиальные клетки, связавшие флагеллин через TLR5 вырабатывают медиаторы воспаления, фактор некроза опухоли α и интерлейкин-8 [18].

В адекватную защиту против вирусных инфекций вовлекаются TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9. Распознаваемые через эти рецепторы вирусные РАРР – одноцепочечная и двухцепочечная РНК и двуспиральная ДНК. TLR7 отвечает на одноцепочечную РНК выработкой интерферона (ИФН) типа 1 и провоспалительных цитокинов. В модельных системах в качестве агонистических лигандов TLR7 используют аналоги гуанозина и производные имидазоквинолина (имиквимод и резиквимод, R-848), а также синтетические поли-U РНК и определенные малые интерферирующие РНК. Естественные лиганды TLR7 – обогащенные G/U одноцепочечные РНК некоторых вирусов, в том числе вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) и вируса гриппа. TLR7 высоко экспрессирован в плазмацитоидных дендритных клетках, специализирующихся на продукции ИФН типа 1 при вирусных инфекциях [35].

TLR8 также отвечает на одноцепочеч-

ную РНК ВИЧ и на R-848. Уникальность TLR9 состоит в том, что он единственный сенсор чужеродной ДНК. Филогенетически TLR7, TLR8 и TLR9 близкородственны и, наряду с TLR3, распределены в эндоплазматическом ретикулуме, эндосомах, а также лизосомах и экспонируют TIR-домен в направлении цитоплазмы. Активация клеток через эти TLR осуществляется в эндосомах. TLR3 вовлечен в процесс перекрестного примирования при ответе CD8⁺ Т-клеток на инфицированные вирусом дендритных клеток. TLR8, экспрессирован преимущественно в миелоидных дендритных клетках и макрофагах, его активация при взаимодействии с одноцепочечной РНК приводит к выработке провоспалительных цитокинов. TLR9 регистрирует ДНК вируса простого герпеса типов 1 и 2.

Для эффективной передачи сигналов через внутриклеточно локализованные TLRs необходимо их взаимодействие с полиопным гликопротеином мембраны эндоплазматического ретикулума (UNC 93B), который участвует в транслокации TLR из эндоплазматического ретикулума в эндосомы. Полагают, что UNC93B стабилизирует пространственную ориентацию TLR3, TLR7 и TLR9 в мембранах эндосом и, возможно, обеспечивает взаимодействие рецепторов с дополнительными, еще неидентифицированными корецепторами [21].

Пути передачи сигналов через Toll-подобные рецепторы. В запуск сигналов через TLR вовлечены пять адапторных белков: MyD88, TIRAP/Mal, TRIF, TRAM/TICAM и SARM. С участием MyD88 иницируются сигнальный путь NF- κ B и активация факторов транскрипции IRF-1, IRF-5 IRF-7. TIRAP и TRAM выступают в роли посредников между другими адапторами и TLR. TIRAP обеспечивает взаимодействие MyD88 с TLR2 и TLR4, а TRAM связывает TRIF с TLR3 для последующей активации IRF-3. Адаптор SARM, связывая

TRIF, блокирует его функцию [34].

MyD88-зависимый путь. TLR используют сигнальные пути, на старте которых адапторные молекулы формируют молекулярный комплекс с TIR-доменом TLR, тем самым инициируя запуск сигнального каскада. Универсальный адапторный белок MyD88 взаимодействует со всеми TLRs за исключением TLR3. Этот адаптор несет C-концевой TIR-содержащий участок, который связывает гомофильный TIR-домен TLR. TIRAP опосредует передачу сигналов через TLR2 и TLR4, обеспечивая связывание этих рецепторов с MyD88 [19]. В передачу сигналов через MyD88 вовлечено семейство серин/треонинкиназ (IRAK).

Ключевым событием в активации провоспалительного сигнала является взаимодействие IRAK-4 с ID-доменом MyD88, которое приводит к гиперфосфорилированию IRAK-1 и привлечению активатора канонического NF-κB пути TRAF6 в TLR-комплекс. Далее IRAK-1 и TRAF6 диссоциируют из комплекса TIR/MyD88/IRAK-4 и взаимодействуют с мембрано-ассоциированной киназой TAK1 и вспомогательными белками TAB1 и TAB2. В результате фосфорилированные TAK1 и TAB2 индуцируют диссоциацию IRAK-1 из комплекса с последующей активацией IKK и митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК). В результате последующего убиквитинирования TRAF6 происходит активация ядерного фактора транскрипции, NF-κB. В регуляции транскрипционной активности через NF-κB участвует сигнальный белковый комплекс, формируемый двумя каталитическими субъединицами – киназами IKKβ и IKKγ и одной регуляторной IKKα (NEMO). IKK-комплекс индуцирует активацию NF-κB через фосфорилирование ингибитора IκB по остатку серина с последующим расщеплением его в протеасомах. Благодаря этому обеспечивается димеризация и ядерная транслокация NF-κB с последующей экспрессией

провоспалительных цитокинов и молекул адгезии [24].

MyD88-независимые пути. Экспрессируемые антигенпредставляющими клетками TLR3 и TLR4 используют адаптор TRIF для индукции активации NF-κB и экспрессии ИФНs, а также костимуляторных молекул.

TLR4 индуцирует два различных сигнальных пути, один из них контролирует адапторные белки, TIRAP и MyD88, вовлекаемые в выработку провоспалительных цитокинов, другой – адапторы TRAM и TRIF, через которые запускается продукция ИФН. TLR4 – единственный из экспрессируемых на клеточной поверхности членов семейства TLR способен индуцировать ИФНs типа 1 [6].

При активации с участием адаптора TRAM TLR4 связывает дополнительный адаптор TRIF. TLR4 использует адапторы TRIF и TRAM для инициации поздней фазы активации NF-κB, а также для индукции экспрессии генов ИФН-β и других ИФН-индуцибельных генов через фактор транскрипции IRF-3. TRAM, подобно TIRAP, выступает в роли связующего звена для соединения TRIF с TLR4. TLR4 последовательно активирует MyD88/TIRAP- и TRAM-зависимые сигнальные каскады. Изначально адапторы MyD88 и TIRAP воспринимают сигнал от TLR4, экспрессированного на клеточной поверхности, а затем претерпевший эндоцитоз TLR4 взаимодействует с TRAM в ранних эндосомах.

При запуске сигнального пути через TLR3, осуществляемом вирусной двуцепочечной РНК, TRIF связывается с рецептором и индуцирует экспрессию ИФН типа 1 через TRIF-IKKε [5]. Кроме того, активация TLR агонистом обеспечивает фосфорилирование тирозина с вовлечением фосфатидилинозитол-3-киназы с активацией Akt и фосфорилированием IRF-3. TLR3 также стимулирует экспрес-

сию провоспалительных цитокинов, вовлекающая сигнальные молекулы в активацию NF-κB после взаимодействия TRIF с рецептором [8, 23].

Механизмы индукции ИФНс типа 1 при ответе, реализуемом через разные типы TLR различаются на уровне адапторных молекул. Конвергенция сигнальных путей осуществляется на этапе активации киназы TBK1 или общего активатора сигнальных путей NF-κB, митогенактивируемой протеинкиназы p38 и JNK-киназы [8].

Блокада активации через Toll-подобные рецепторы. Избыточная активация TLRs приводит к регуляторному дисбалансу, что характерно для аутоиммунных, хронических воспалительных и инфекционных заболеваний. В поддержании регуляторного баланса участвуют вне- и внутриклеточные регуляторы, а также регуляторные рецепторы.

В роли внеклеточных регуляторов провоспалительного ответа выступают растворимые формы TLRs. Внутриклеточными регуляторами могут быть сплайсированные варианты MyD88 и не обладающий каталитической активностью IRAK-M [22]. В подавлении TLR4/NF-κB-сигнального пути в макрофагах участвуют супрессоры цитокинных сигналов, белки SOCS1 и SOCS3 [7]. В угнетение ответа на ЛПС с блокадой выработки ФНО-α вовлечены фосфоинозитол-3-киназа и ингибитор Tollip, который связывает IRAK-1, подавляя его киназную активность. IRAK-1 также является мишенью для антагониста TLR4, белка monarch-1, экспрессируемого макрофагами, гранулоцитами и эозинофилами [46]. Функцию TLR2 угнетает представленный в цитозоле NOD2, препятствующий активации NF-κB и экспрессии интерлейкина (IL)-12.

В передачу провоспалительных сигналов через TLR вовлечен убиквитин, белок, который ковалентно связывает белковые субстраты в процессе цепной реакции с участием ферментов E1, E2 и E3. В резуль-

тате прохождения множественных циклов убиквитинирования с участием конъюгирующего фермента, лигазы E3 убиквитин формирует ветвящиеся молекулярные структуры, а лигаза E3 ковалентно сшивает их с белком-субстратом.

Одна из основных функций убиквитина – мечение внутриклеточных белков для последующего их гидролиза в полости мультикаталитических ферментных комплексов, протеасом. Деструкция большинства клеточных белков (до 90 %) осуществляется по убиквитинпротеасомному механизму. При запуске NF-κB-сигнального каскада комплекс ИКК (сигналосома) фосфорилирует IκB, модифицируя его для Lys-48 полиубиквитинирования и деструкции в протеасомах.

E3 убиквитин-протеин лигаза Triad3A избирательно убиквитинирует TLR4 и TLR9 для последующего их протеолитического расщепления.

Такие регуляторы NF-κB пути как TRAF6 и ИККγ (NEMO) подвергаются Lys-63-полиубиквитинированию, не транспортируются в протеасомы, а напротив повышают активность NF-κB.

В условиях гомеостаза TLRs непрерывно подвергаются воздействию лигандов производных комменсальной микрофлоры, но сигналы, поступающие через эти рецепторы, приводят к развитию воспалительного иммунного ответа только при мощном стимуле, обусловленном вторжением патогена. В качестве ограничителя или терминатора экзогенных TLR- индуцируемых сигналов выступает убиквитинмодифицирующий белок A20. При распознавании патогена через TLRs активация ИККв в клетках системы врожденного иммунитета приводит к транскрипции кассеты генов, среди которых представлена деубиквитиназа A20. ИККв фосфорилирует de novo транслируемый белок A20 по Ser-381, что приводит к повышению его активности и последующей терминации NF-κB-пути [20].

A20 отменяет Lys-63-полиубиквитинирование белков субстратов NF-κB сигнального пути и способствует формированию Lys-48-конъюгатов с последующей деградацией меченных убиквитином белков в протеасомах. У мышей с нокаутом гена A20 неконтролируемая передача MyD88-зависимых TLR-сигналов приводит к спонтанной активации Т-лимфоцитов и миелоидных клеток, кахексии и преждевременной гибели [45].

Член семейства убиквитинспецифических протеаз, CYLD подавляет передачу сигнала через TLR2 в эпителиальных клеточных линиях человека, ингибируя активацию факторов TRAF6 и TRAF7 и вследствие этого транскрипцию провоспалительных цитокинов, ФНО-α и IL-1β, а также хемокина IL-8 [48].

В качестве иммуномодулятора, блокирующего функцию TLR, выступает член семейства белков Toll/IL-1R, трансмембранный белок типа 1, ST2L. Блокада TLR также может осуществляться сплайсированной секретлируемой формой этого белка ST2s [10]. Естественным лигандом ST2 является IL-33. ST2L экспрессирован на Т-хелперах 2 и IL-33 индуцирует дифференцировку этой Т-клеточной линии [12]. Другой трансмембранный рецептор, SIGIRR (TIR8) подавляет сигналы, опосредуемые TLR4 и IL-1-рецептором [16, 27]. Физиологический регулятор TLR4-сигналов, RT105 гомологичен TLR по консервативному внеклеточному домену LRR, но не располагает TIR-доменом. В комплексе с MD-1 (гомологом MD-2) он взаимодействует с TLR-MD-2, блокируя связывание агониста (ЛПС).

Toll-подобные рецепторы в иммунном ответе. Обеспечивающие первую линию защиты от патогенов, эпителиальные барьеры ответственны за секвестрацию и инактивацию микроорганизмов, т.е. за предотвращение иммунной активации и инфицирование. Микрофлора кишечника

пребывает в перманентном контакте и в реципрокных взаимодействиях с клетками хозяина, что в совокупности формирует исключительно сложную высокорегулируемую экосистему. Микробиота содержит потенциально патогенные бактерии, которые количественно преобладают над комменсалами. Непатогенные бактерии вносят вклад в иммунный гомеостаз не только через поддержание баланса микрофлоры, но и воздействуют на интестинальный эпителий через экспрессируемые им TLRs и функционально родственные рецепторы, препятствуя развитию воспаления и способствуя поддержанию целостности эпителиального слоя [47]. Основные потенциальные продуценты провоспалительных цитокинов – дендритные клетки в собственной пластинке слизистой не экспрессируют TLRs, либо несут их но не отвечают на воспалительные стимулы [37].

Если патоген преодолевает эпителиальный барьер, клетки системы врожденного иммунитета, моноциты, макрофаги и нейтрофилы активируются через TLRs и вырабатывают провоспалительные цитокины, инициирующие локальную или системную воспалительную реакцию. Моноциты отвечают на агонисты TLR выработкой цитокинов, хемокинов и факторов роста, которые вовлекаются в воспалительный ответ по ауто- и паракринному механизмам. При TLR-опосредуемой активации моноцитов и макрофагов секретруются провоспалительные цитокины, ФНО-б, IL-1в и IL-6, а также широкая панель С-С и СХС-хемокинов, которые обеспечивают лейкоцитарную инфильтрацию инфицированных тканей в процессе воспаления. Активированные через TLR макрофаги вырабатывают такие С-С-хемокины, как CCL2, CCL3 и CCL4, которые индуцируют хемотаксис моноцитов, дендритных клеток, базофилов, НК-клеток и Т-лимфоцитов. СХС-хемокины, CXCL2/3 и CXCL8 стимулируют миграцию нейтрофилов в очаги

инфицирования, усиливают их дегрануляцию, адгезивность и бактерицидную активность. Эти же СХС-хемокины влияют на хемотаксис базофилов, эозинофилов, НК-клеток и Т-лимфоцитов.

Оснащенные высокочувствительной сенсорной системой рецепторов, семейства TLR клетки, ответственные за врожденный иммунитет и клетки барьерных тканей регистрируют не только сигнал опасности, исходящий непосредственно от патогена или, вследствие тканевой деструкции, от эндогенных лигандов, но и интерпретируют характер этого сигнала для последующей мобилизации определенных эффекторных звеньев адаптивного иммунитета.

Таким образом, TLRs играют роль ключевого связующего звена между врожденным и адаптивным иммунитетом. Стимуляция многих типов клеток агонистами TLR, бактериями и вирусами приводит к выработке ИФНs типа I, которые вовлечены в обеспечение первой линии защиты против инфекций, а также выступают в роли модуляторов адаптивного иммунитета. Обладающие противовирусной активностью ИФН участвуют в обеспечении разнообразных функций в процессе развития адаптивного иммунитета, а именно: способствуют пролиферации Т-клеток памяти, ингибируют Т-клеточный апоптоз, усиливают секрецию ИФН- γ , изотипическое переключение и дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, а также активацию НК-клеток [3, 32].

В роли интегратора врожденного и адаптивного иммунитета выступают дендритные клетки. Незрелые дендритные клетки обладают высокой эндоцитарной активностью и низким потенциалом активации Т-клеток и их функция заключается в детекции, захвате и фагоцитозе патогенов, приводящем к активации TLR. При передаче сигнала через TLR в дендритные клетки осуществляется комплексная программа дифференцировки (созревание),

характеризующаяся повышением экспрессии поверхностных молекул гистосовместимости, несущих пептидные фрагменты патогена и корцепторов (CD40, CD80 и CD86), которые повышают способность ДК активировать Т-клетки, то есть становятся профессиональными антигенпредставляющими клетками [40, 43].

Миелоидные дендритные клетки экспрессируют все TLR, за исключением TLR9. Благодаря экипировке столь представительной сенсорной системой, такие клетки отвечают на стимуляцию различными классами патогенов экспрессией панели генов, продукты которых необходимы для ответа на все микроорганизмы (например, генов провоспалительных цитокинов и молекул адгезии, обеспечивающих миграцию созревающих дендритных клеток во вторичные лимфоидные органы). Индукция дополнительного сета генов определяется сродством патогена к определенному TLR.

Плазмоцитоидные дендритные клетки экспрессируют TLR1, TLR6, TLR7 и TLR9. Хотя ДК1 и ДК2 располагают некоторыми общими для них TLRs, характер ответа, инициируемого через один и тот же рецептор может быть качественно различным. Так агонисты TLR7 индуцируют выработку ИФНs типа 1 плазмоцитоидными дендритными клетками и IL-12 – миелоидными.

Лиганд TLR2, Pam3Cys способствует дифференцировке Т-хелперов 2 через эффективную индукцию киназы ERK в дендритных клетках, благодаря чему возрастает выработка IL-10, но не провоспалительного цитокина IL-12. ЛПС, как лиганд TLR4, напротив, индуцирует низкий уровень ERK и в этом случае дендритные клетки продуцируют преимущественно, IL-12. TLR также экспрессированы на Т-лимфоцитах. Лиганды для TLR2, TLR4, TLR8 и TLR9 усиливают пролиферативный ответ CD4⁺ Т-клеток, стимулированных анти-CD3 антителами

(мимикрия антигенной стимуляции). Передача сигналов через TLR4 и TLR5 усиливает супрессорную функцию CD4⁺ CD25⁺-регуляторных Т-клеток, а TLR2 контролирует их экспансию. Эффекторные CD8⁺-Т-лимфоциты экспрессируют TLR3, выступающий в роли функционального корцептора.

TLR2, TLR4 и TLR9 экспрессированы в клетках коры надпочечников и, как полагают, могут участвовать в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового пути, тем самым обеспечивая интегративные взаимодействия между иммунной и нейроэндокринной системами [42, 49].

TLR и патология. Основная функция иммунной системы состоит в противодействии экспансии патогенов, что предполагает запуск эффекторных звеньев иммунитета. В ответ на внедрение инфицирующего агента иммунная система в первую очередь отвечает развитием воспалительного процесса с генерированием токсических радикалов в фагоцитарных клетках, выработкой гидролитических ферментов и запуском механизмов секвестрации патогенов, например, коагуляция и формирование гранулом. Избыточная продукция провоспалительных цитокинов в сочетании с усилением активации клеток может приводить к развитию воспалительных заболеваний, поражающих различные органы и ткани. Амплификация иммунного ответа через TLR, необходимая для координирования множественных функций иммунной системы, также может вносить вклад в развитие многих (аллергические, аутоиммунные и онкологические) заболеваний.

В процессе эволюции у некоторых патогенов сформировались механизмы ускользания из-под иммунного надзора, в том числе и через модификацию TLRs и опосредуемых ими сигнальных путей. *Escherichia coli* и *Brucella melitensis* секретируют ингибиторные гомологи TIR-доме-

на TLR4. Большинство уропатогенных штаммов *E.coli* экспрессирует ингибиторный пептид TcpC, который препятствует взаимодействию TLR с адапторным белком MyD88 [13]. Вирус Эпштейна–Барр модулирует функцию TLR7 в В-лимфоцитах, стимулируя пролиферацию этих клеток через индукцию сплайсированного варианта V12 фактора IRF-5 [28].

Выяснению роли TLR в контроле над инфекционными процессами способствуют исследования с использованием мышей, дефицитных по TLR или компонентам TLR-зависимых сигнальных путей. У мышей с нокаутом TLR2 выявлена предрасположенность к развитию инфекций, вызываемых золотистым стафилококком, пневмококками и микобактериями. Мыши с дефицитом TLR4 предрасположены к инфицированию грамотрицательными бактериями. У мышей с нокаутом гена TLR3 повышена чувствительность к цитомегаловирусной инфекции.

Полностью нефункциональные варианты TLR и компонентов TLR-сигнальных путей исключительно редки у человека, так как индивиды с подобными мутациями не доживают до репродуктивного возраста. Тем не менее идентифицированы лица, страдающие рецидивирующими и представляющими угрозу для жизни бактериальными инфекциями, у которых обнаружены мутации IRAK4 – ключевого компонента TLR- и IL-1-сигнальных путей. Установлена роль TLR2 при ответе на возбудитель болезни легионеров, *Legionella pneumophila*. TLR2 и TLR4 играют важную роль в ответе на *Chlamydia pneumoniae*. TLR5 также вносит важный вклад в ответ на бактерию *Pseudomonas aeruginosa*. Таким образом у человека распознавание микроорганизмов и, вероятно, эффективный клиренс жестко ассоциированы с функцией TLR.

В последнее время появляется большое количество данных, связанных с выявлением функционального полиморфизма

генов TLR, обусловленного заменами единичных нуклеотидов (от англ. single nucleotide polymorphism – SNP). В результате таких замен снижается способность к распознаванию соответствующих лигандов или к снижению эффективности проведения сигнальных импульсов, что приводит к нарушению активации клеток иммунной системы при конформации с патогеном [2].

Полиморфизм промотора ключевой акцессорной молекулы для TLR, маннозосвязывающего лектина CD14 (SNP -159C>T) ассоциирован с предрасположенностью к хроническому инфицированию *S.pneumoniae* у больных с коронарной недостаточностью. Выявлена связь между развитием септического шока и полиморфизмом TLR4 при инфицировании грамотрицательными бактериями. SNP Asp299Gly/Thr399Ile – фактор риска развития кандидоза [9].

Принимая во внимание роль TLR в развитии инфекций и ассоциированных с ними деструктивных процессов в тканях предположили, что эти рецепторы могут быть вовлечены в патогенез легочных заболеваний.

Выявлена положительная корреляция SNP в TLR2, TLR4, TLR6 и IL-10 с atopическими заболеваниями и астмой. Полиморфизм промотора TLR9 (C-1237 T) может влиять на предрасположенность к atopической экземе. У более чем 10 % больных с тяжелой формой экземы выявлена гетерозиготность по TLR2, SNP R753Q [33]. Полиморфизм по количеству динуклеотидных повторов GT в интроне II гена TLR2, а именно наличие укороченных GT-повторов определяет предрасположенность к ревматоидному артриту [25]. Также при этом аутоиммунном заболевании показано, что эндогенный лиганд TLR4 – малый белок теплового шока, HSPB8 высокоэкспрессирован в синовиальной ткани больных, что позволяет предположить участие этого белка в воспалительном процессе.

TLRs как мишень для терапевтического воздействия. В настоящее время в арсенале исследователей и клиницистов имеются синтетические аналоги естественных агонистов и антагонистов TLRs, что позволяет направленно воздействовать на различные звенья иммунного ответа, используя TLRs в качестве терапевтической мишени.

Агонисты TLR проявляют высокую иммуноадьювантную активность. Агонист TLR7 и TLR8 имиквимод индуцирует выработку цитокинов в популяции АПК и повышает эффективность процессинга и представления вирусных и опухолевых антигенных пептидов антигенреактивным Т-лимфоцитам, которые, в свою очередь, вырабатывают ИФН- γ и другие родственные цитокины. Его успешно используют для лечения кератозов и базальноклеточных карцином [39]. Так как многие типы клеток экспрессируют TLR7 и рецепторы для цитокинов, индуцируемых имиквимодом, этот агент обладает широким диапазоном действия, т.е. способностью воздействия не только на клетки иммунной системы. Имиквимод одобрен и рекомендован Федеральным агенством по лекарственным препаратам, FDA (США) для лечения неопластических и инфекционных заболеваний, а также фибротических и некоторых дегенеративных процессов. Другой агонист этих же TLRs, резиквимод проявляет более выраженный терапевтический эффект и находит применение в лечении герпес-вирусных инфекций [15, 29].

Агонисты TLR9 – CpG олигонуклеотиды используют для стимуляции протективного иммунитета в качестве профилактических или лекарственных препаратов при инфицировании внутриклеточными патогенами и онкозаболеваниях. Активация TLR9 синтетическими агонистами приводит к развитию эффективного врожденного и приобретенного иммунитета. Агонисты TLR9 нецелесообразно использовать при быстро прогрессирующих

острых инфекциях. Однако при многих хронических вирусных заболеваниях они оказывают выраженный протективный эффект.

В качестве иммуноадьювантов используют три класса агонистов TLR9. CpG класса А индуцируют высокий уровень выработки ИФН- α плазматическими дендритными клетками, тогда как CpG класса В стимулируют преимущественно В-клеточный гуморальный иммунитет. В настоящее время в качестве вакцинных адьювантов широко используют олигонуклеотиды класса В. Один из них, CpG-7909 (PF-351276, ProMune) применяют (в комбинации с химио- и иммунотерапией) для лечения некоторых гематопоэтических и солидных опухолей [31]. Как вакцинный адьювант и терапевтический иммуномодулятор, CpG-7907 усиливает серопротективный эффект рекомбинантной вакцины против вируса гепатита В при отягощенной гепатитом ВИЧ-инфекции. В клинической практике наиболее перспективно использование CpG класса С, которые оказывают комплексный эффект на клетки систем врожденного и приобретенного иммунитета. В экспериментальной модели на мышях показана высокая эффективность адьюванта С класса в сочетании с вакциной BioThrax при лечении сибирской язвы. Агонист TLR9 – AVE-0675 (в ингаляционной форме) применяют при бронхиальной астме и аллергическом рините [17].

На модели аллергического ринита у мышей, сенсibilизированных аллергеном Der f клеща *Dermatophagoides farinae* доказана терапевтическая эффективность лиганда TLR2, Pam3CSk4 [50]. Издавна используемый в клинических целях агонист TLR3, полиинозиновая-полицитидиловая кислота, poly I:C (ранее известный как индуктор ИФН типа I) низкоэффективен вследствие внутриклеточного расщепления нуклеазами до проникновения в эндосомальный компартмент. В настоящее время

разрабатываются способы обеспечения его адресной доставки к локализованному в эндосомах TLR3. Агонист TLR4, монофосфорил липид А (нетоксичное производное ЛПС), а именно: его коммерческий препарат A502A используют для лечения ВИЧ-инфицированных больных. В качестве биопротектанта, препятствующего массивному апоптозу с развитием острого радиационного синдрома при радиотерапии онкологических больных, успешно апробирован в экспериментальных моделях на грызунах и приматах агонист TLR5, препарат сальмонеллезного флагеллина CBLB502 [11].

Использование антагонистов TLRs для лечения аутоиммунных заболеваний имеет давнюю историю. Задолго до открытия TLR, еще с 50-х годов прошлого столетия, такие антагонисты TLR7/TLR9, как противомаларийные препараты хлороквин, гидроксихлороквин и квинакрин применяли для лечения системной красной волчанки, ревматоидного артрита и синдрома Сегрена. Однако они не нашли широкого применения из-за побочных эффектов или субоптимальной эффективности. В настоящее время рядом фармацевтических фирм осуществляется интенсивная разработка новых более эффективных и безопасных препаратов – антагонистов TLRs. На основании преклинических исследований рекомендовано испытание общего антагониста TLR7, TLR8 и TLR9 – CpG52364 у больных системной красной волчанкой, ревматоидным артритом и псориазом [41]. Доказана перспективность использования антагонистов TLR9 при полимикробном сепсисе [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Открытие TLRs и функционально родственных им PAMP-распознающих рецепторов позволило кардинальным образом переосмыслить некоторые базисные положения иммунологии. В первую очередь,

TLRs – универсальные интерпретаторы сигнала опасности исходящего от инфекционного агента, мобилизующие защитные силы организма. Благодаря им осуществляется первичная протективная функция клеток системы врожденного иммунитета с последующей инициацией адаптивного иммунитета. Клетки системы приобретенного иммунитета, Т- и В-лимфоциты также экспрессируют TLRs и интерпретируют исходящие от них сигналы. Через TLRs мобилизуется барьерная функция эпителия, а их экспрессия клетками коры надпочечников определяет интегративные взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем. Таким образом, при инвазии патогена через TLRs координировано мобилизуются эффекторные и регуляторные механизмы врожденного и адаптивного иммунитета.

Благодаря выяснению важной роли TLR-опосредуемых сигналов в регуляции иммунного ответа сформировалось представление, согласно которому TLRs представляют идеальную терапевтическую мишень для лечения инфекционных, аутоиммунных, аллергических, онкологических и других заболеваний. В настоящее время ведущие фармацевтические фирмы интенсивно разрабатывают лекарственные препараты (адьюванты, агонисты и антагонисты TLRs) избирательно модулирующие функцию различных TLRs.

N.Ya.Spivak, I.M. Bogdanova, N.I.Martyrosova, V.V.Malaytsev.

THE ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTORS IN REGULATION OF IMMUNE RESPONSES IN NORM AND PATHOLOGY

We have analyzed the recent data about Toll-like receptors (TLRs) that play the most important role in host immune defense. TLRs involved in induction and modulation of innate and acquired immunity as the integrators of their reactions. Genetic disorders of TLRs or their signaling pathways components were noticed with different pathologies. TLRs are the ideal molecular target for the therapy of many diseases including inflammatory, autoimmune, allergic and tumor diseases.

D.K. Zabolotnyi Institute of microbiology and virusology NAS of Ukraine; Diaprofmed, Kyiv, Ukraine; Institute of Human Morphology RAMS, Moscow, Russia VINITI RAS, Moscow, Russia

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Свешников П.Г., Малайцев В.В., Киселев В.И. Функции белков теплового шока в системе адаптивного иммунитета. Конструирование вакцин // ЖМЭИ. – 2007, №6. – С.108–117.
2. Симбирцев А.С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета // Иммунология. – 2005, №6. – С.368–377.
3. Спивак Н.Я., Белоцкий С.М., Карлов В.А. / Сепсис: иммунология и иммунокоррекция. – К.: Фитосоцицентр. – 2007. – 304 с.
4. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling // Nat.Rev.Immunol. – 2004. – 4. – P.499–511.
5. Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R. et al. // Nature. – 2001. – 413. – P.732–738.
6. Arancibia S.A., Beltran C.J., Aguirre I.M. et al. Toll-like receptors are key participants in innate immune responses // Biol.Res. – 2007. – 40, №2. – P.97–112.
7. Baetz A., Frey M., Heeg K. et al. Suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins indirectly regulate toll-like receptor signaling in innate immune cells // J. Biol. Chem. – 2004. – 279, № 52. – P.54708–54715.
8. Banerjee A., Gerondakis S. Coordinating TLR-activated signaling pathways in cells of the immune system // Immunol.Cell Biol. – 2007. – 85, №6. – P.420–424.
9. Beutler B., Jiang Z., Georgel P. et al. Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large // Annu. Rev. Immunol. – 2006. – 24. – P.353–389.
10. Brint E.K., Xu D., Liu H. et al. ST2 is an inhibitor of interleukin 1 receptor and Toll-like receptor 4 signaling and maintains endotoxin tolerance // Nat. Immunol. – 2004. – 5, №4. – P.373–379.
11. Burdelya L.G., Krivokrysenko V.I., Tallant T.C. et al. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models // Science. – 2008. – 320, № 5873. – P.226–230.
12. Carriere V., Roussel L., Ortega N. et al. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo // Proc.Natl.Acad.Sci. USA. – 2007, 104. – №1. – P.282–287.
13. Cirl C., Wieser A., Yadav M. et al. Subversion of Toll-like receptor signaling by a unique family of bacterial Toll/interleukin-1 receptor domain-containing proteins // Nat.Med. – 2008. – 14, №4. – P.370–372.
14. Fitzgerald K.A., Rowe D.C., Golenbock D.T. Endotoxin recognition and signal transduction by the TLR4/MD2-complex // Microbes Infection. – 2004. – 6, №15. – P.1361–1367.

15. Gaspari A.A. Mechanism of action and other potential roles of an immune response modifier // *Cutis*. – 2007. – **79**, Suppl.4. – P.36–45.
16. Qin J., Qian Y., Yao J. et al. SIGIRR inhibits interleukin-1 receptor- and toll-like receptor 4 – mediated signaling through different mechanisms // *J.Biol.Chem.* – 2005. – **280**, №26. – P.25223–25241.
17. Gupta K., Cooper C. A review of role of CpG oligodeoxynucleotides as toll-like receptor 9 agonists in prophylactic and therapeutic vacciner development in infectious diseases // *Drugs RD.* – 2008. – **9**, №3. – P.137–145.
18. Hayashi F., Smith K.D., Ozinsky A. et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5 // *Nature*. – 2001. – **410**, № 6832. – P.1099–1103.
19. Horng T., Barton G.M., Flavell R.A. et al. The adaptor molecule TIRAP provides signaling specificity for Toll-like receptors // *Ibid.* – 2002. – **420**, № 6913. – P.772–777.
20. Hutti J.E., Turk B.E., Asara J.M. IkappaB kinase beta phosphorylates the K63 deubiquitinase A20 to cause feedback inhibition of the NF-kappaB pathway // *Mol.Cell.Biol.* – 2007. – **27**, №21. – P.7451–7461.
21. Kim Y.M., Brinkmann M.M., Paquet M.E. et al. UNC93B1 delivers nucleotide-sensing toll-like receptors to endolysosomes // *Nature*. – 2008. – **452**, № 7184. – P.234–238.
22. Kobayashi K., Hernandez L.D., Galan J.E. et al. IRAK-M is a negative regulator Toll-like receptor signaling // *Cell*. – 2002. – **110**, №2. – P.191–202.
23. Krishnan J., Selvarajoo K., Tsuchiya M. et al. Toll-like receptor signal transduction // *Exp.Molec.Med.* – 2007. – **39**, №4. – P.421–438.
24. Lasker M.V., Nair S.K. Intracellular TLR signaling: a structural perspective on human disease // *J.Immunol.* – 2006. – **177**, №1. – P.11–16.
25. Lee E.Y., Yim J.J., Lee H.S. et al. Dinucleotide repeat polymorphism in intron II of human Tolllike receptor 2 gene and susceptibility to rheumatoid arthritis // *Int.J.Immunogenet.* – 2006. – **33**, №3. – P.211–215.
26. Lemaitre B. The road to Toll // *Nat.Rev.Immunol.* – 2004. – **4**, №7. – P.521–527.
27. Mantovani A., Locati M., Polentarutti N. et al. Extracellular and intracellular decoys in the tuning of inflammatory cytokines and Toll-like receptors: the new entry TIR8/SIGIRR // *J.Leukoc. Biol.* – 2004. – **75**, №5. – P.738–742.
28. Martin H.J., Lee J.M., Walls D. et al. Manipulation of the toll-like receptor 7 signaling pathway by Epstein – Barr virus // *J.Virol.* – 2007. – **81**, №18. – P.9748–9758.
29. Miller R.L., Meng T.C., Tomai N. the antiviral activity of Toll-like receptor 7 and 7/8 agonists // *Drug News Perspect.* – 2008. – **21**, №2. – P.69–87.
30. Mitchell J.A., Paul – Clark M.J., Clarke G.W. et al. Critical role of toll-like receptors and nucleotide oligomerisation domain in the regulation of health and disease // *J.Endocrinol.* – 2007. – **193**, №3. – P.323–330.
31. Murad Y.M., Clay T.M., Lysterly H.K. et al. CPG-7909 (PF-3512676, ProMune): toll-like receptor 9 agonist in cancer therapy // *Expert Opin.Biol.Ther.* – 2007. – **7**, №8. – P.1257–1266.
32. Noppert S.J., Fitzgerald K.A., Hertzog P.I. The role of type 1 interferons in TLR responses // *Immunol.Cell Biol.* – 2007. – **85**, №6. – P.446–457.
33. Novak N., Yu C.F., Bussmann C. et al. Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema // *Allergy*. – 2007. – **62**, №7. – P.766–772.
34. O’Neill L.A., Bowie A.G. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling // *Nat.Rev.Immunol.* – 2007. – **7**, №5. – P.353–364.
35. Parker L.C., Prince L.R., Sabroe I. Translational mini-reviews series on Toll-like receptors: Networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity // *Clin.Exp.Immunol.* – 2007. – **147**, №2. – P.199–207.
36. Plitas G., Burt B.M., Nguyen H.M. et al. Toll-like receptor 9 inhibition reduces mortality in polymicrobial sepsis // *J.Exp.Med.* – 2008. – **205**, №6. – P.1277–1283.
37. Rescigno M., Matteoli G. Lamina propria dendritic cells: For whom the bell TOLLs? // *Eur.J.Immunol.* – 2008. – **38**, №6. – P.1483–1486.
38. Sabroe I., Read R.C., Whyte M.K.B. et al. Toll-like receptors in health and disease: complex questions remain // *J.Immunol.* – 2003. – **171**, №4. – P.1630–1635.
39. Schmidt C. Immune system’s Toll-like receptors have good opportunity for cancer treatment // *J.Nat. Canc.Inst.* – 2006. – **98**, №9. – P.574–575.
40. Seya T., Akazawa T., Tsujita T. et al. Role of Toll-like receptors in adjuvant-augmented immunity // *Evid Based Complement Alternat.Med.* – 2006. – **3**, №1. – P.31–38.
41. Sun S., Rao N.L., Veneable J. et al. TLR7/9 antagonists as therapeutics for immune-mediated inflammatory disorders // *Inflamm.Allergy Drug Targets.* – 2007. – **6**, № 4. – P. 223–235.
42. Tran N., Koch A., Berkels R. et al. Toll-like receptor 9 expression in murine and human adrenal glands and possible implications during inflammation // *J.Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – **92**, №7. – P.2773–2783.
43. Trinchieri G., Sher A. Cooperation on Toll-like receptor signal in innate immune defence // *Nature Rev.Immunol.* – 2007. – **7**, №7. – P.179–190.
44. Tsan M.F., Gao B. Endogenous ligands of Toll-like receptors // *J. Leucocyte Biol.* – 2004. – **76**, №3. – P.514–519.
45. Turer E.E., Tavares R.M., Mortier E. et al. Homeostatic MyD88-dependent signals cause lethal inflammation in the absence of A20 // *J.Exp.Med.* – 2008. – **205**, №2. – P.451–464.
46. Williams K.L., Lich J.D., Duncan J.A. et al. The caterpillar protein monarch-1 is an antagonist of Toll-like receptor-, tumor necrosis factor-alpha-, and Mycobacterium tuberculosis-induced proinflammatory signals /

- / J. Biol.Chem. – 2005. – 280, №48. – P.39914–39924.
47. Wolowczuk I., Verwaerde C., Viltrat O. et al. Feeding our immune system: impact on metabolism // Clin. Dev.Immunol. – **2008**. – 2008. – P.639–803.
48. Yoshida H., Jono H., Kai H. The tumor suppressor cylindromatosis (CYLD) acts as a negative regulator for toll-like receptor 2 signaling via negative cross-talk with TRAF6 and TRAF7 // J. Biol.Chem. – 2005. – 280, №49. – P.41111–41121.
49. Zacharowski K., Zacharowski P.A., Koch A. et al. Toll-like receptor 4 plays a crucial role in the immune-adrenal response to systemic inflammatory response syndrome // Proc.Natl.Acad.Sci.USA. – 2006. – 103, №16. – P.6392–6397.
50. Zhou C., Kang X.D., Chen Z. A synthetic Toll-like receptor 2 ligand decreases allergic immune responses in a mouse rhinitis model sensitized to mite allergen// J.Zhejiang Univ.Sci.B. – 2008. – 9, №4. – P.279–285.

*Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д.К.
Заболотного НАН Украины;
НПК ДИАПРОФМЕД, Киев;
НИИ морфологии человека РАМН, Москва;
ВИНИТИ РАН, Москва*

*Материал поступил в
редакцию 20.05.2008*