

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ PRRs И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»

Врожденная иммунная система определяет наличие патогенов с помощью узнающих их молекулярные паттерны рецепторов (PRRs – английская аббревиатура pattern recognition receptors). PRRs локалируются в различных отделах клеток, таких как клеточная мембрана, цитоплазма, эндосомы и лизосомы. Как оказалось, данные белки могут активироваться не только в ответ на патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, но и индуцироваться множеством белков организма-хозяина и сигналов опасности, которые вырабатываются гибнущими клетками. Установлено также, что PRRs играют критическую роль в развитии ряда патологических состояний. В данной работе мы представляем обзор данных литературы относительно механизмов действия цитоплазматических сенсоров – NOD-подобных рецепторов (NLRs).

Ключевые слова: *узнающие паттерн рецепторы (PRRs), NOD-подобные рецепторы (NLRs), инфламмосома*

INTRACELLULAR PRRS AND THEIR ROLE IN THE PATHOGENESIS OF SEVERAL DISEASES

The innate immune system detects the presence of pathogens through pattern recognition receptors (PRRs). They are localized in different cellular compartments such as cell membrane, endosome, lysosome or cytoplasm. PRRs can also be activated by variety of normal host proteins and danger signals that are release by dying cells. These proteins are likely to have critical roles in health and disease. In this work we review the literature describing recent progress in understanding the function of cytoplasmic innate immune sensors – NOD-like receptors (NLRs).

Key words: *pattern recognition receptors (PRRs), NOD-like receptors (NLRs), inflammasome.*

Узнающие молекулярные составляющие патогенов рецепторы (PRRs) являются частью врожденной иммунной системы и несут существенную роль в защите организма. PRRs объединены в четыре семейства: TLRs (toll-like receptors), CLRs (C-type lectin receptors), RLHs (RIG-like helicases) и NLRs (NOD-like receptors). Последние известны также под названиями NOD-LRR, NACH-LRR и CATERPILLER [1–3]. Первые два семейства представляют собой, главным образом, мембранные сенсоры, в то время как NLRs и RLHs являются цитоплазматическими рецепторами, а их активация имеет место, когда патогены или их структурные составляющие оказываются внутри клетки.

Как оказалось, данные системы детекции могут активироваться не только в ответ на патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs – английская аббревиатура pathogen-associated molecular patterns), но и индуцироваться множеством белков организма-хозяина и сигналов опасности (DAMPs – damage-associated molecular patterns), которые вырабатываются гибнущими клетками. Установлено также, что белки этих семейств имеют непосредственное отношение к механизмам развития ряда патологических состояний. Например: полиморфизмы в гене IFIH1 (interferon induced with helicase C domain 1) является одним из генетических факторов, определяющих риск по сахарному диабету типа 1 (кодируемый белок принадлежит к семейству RLHs); генетические дефекты гена NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2) обнаружены при болезни Крона и синдроме Blau (хронические гранулематозные воспалительные заболевания, кодируемый белок из семейства NLRs); мутации гена NLRP3 (семейство NLRs) обнаружены при синдроме Muckle-Wells, а также при неонатальном мультисистемном воспалительном заболевании (neonatal-onset multisystem inflammatory disorder) известном под названием хронический инфантильный неврологический, кожный и суставной синдром (chronic infantile neurologic, cutaneous, and articular syndrome); мутации в гене CIITA (class II MHC transactivator) приводят к иммунодефициту [1–3].

Целью представленной работы является обзор данных относительно механизмов действия цитоплазматических сенсоров – NOD-подобных рецепторов (NLRs).

Структура и механизм действия NLRs

В настоящее время около 23 генов, кодирующих NLRs, идентифицировано у человека. Белки-рецепторы NLRs образованы тремя доменами: N-терминальным, центральным (NOD – nucleotide-binding oligomerization domain) и C-терминальным (LRR – leucine-rich repeat). На основании структуры N-терминального домена NLRs объединены, по меньшей мере, в пять различных подсемейств: NLRA (содержат acidic transactivation domain), NLRB (содержат BIR – baculovirus inhibitor of apoptosis protein repeat), NLRC (содержат CARD – caspase recruitment domain), NLRP (содержат PYD – pyrin domain) и NLRX (содержат домен неизвестной структуры). Ортологичными белками являются белки, кодируемые R-генами растений [4]. Механизмы действия NLRs изучены недостаточно. Известно, что некоторые типы рецепторов осуществляют свои функции через взаимодействие с другими белками либо отвечают на различные PAMPs и DAMPs посредством формирования инфламмасом. Инфламмасомы – это семейство цитоплазматических мультибелковых комплексов, состоящих из NLR-белка, белка-адаптора ASC (apoptosis-associated specklike protein) и прокаспазы 1 (procaspase-1). Эти белковые образования индуцируют активацию каспазы 1 (caspase-1). Затем активированная каспаза 1 осуществляет процессинг проформ цитокинов в их биоактивные формы – IL-1 β , IL-18 и IL-33. На основании входящих в состав комплексов NLR-белков инфламмасомы подразделяются на несколько типов: NLRP3 (NALP3), NLRP1 (NALP1) и NLRC4 (IPAF) [4].

Инфламмасома NLRC4 (IPAF)

Инфламмасома, содержащая белок NLRC4 (NLR family, CARD domain containing 4), другое название IPAF (IL-1 β -converting enzyme protease-activating factor), активируется в ответ на бакте-

риальные белки флагеллин и PrgJ, синтезируемые *Legionella pneumophila*, *Salmonella typhimurium* и некоторыми другими бактериями [1, 4]. Механизмы, посредством которых NLRC4 отвечают на специфические стимулы, изучены недостаточно. В литературе имеются данные, указывающие на то, что белки, кодируемые NAIP-геном (the gene for neuronal apoptosis inhibitory protein), могут иметь отношение к этому процессу.

NAIP-ген, в настоящее время известный также как BIRC1-ген (the baculovirus inhibitor of apoptosis repeat containing protein gene), был идентифицирован группой исследователей из Оттавы, возглавляемой А. MacKenzie в 1995 г., как претендующий на роль детерминирующего гена для спинальной мышечной атрофии (5qCMA) [5]. CMA – полиморфная группа наиболее часто встречающихся нейромышечных заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования. Главным морфологическим проявлением болезни является дегенерация нейронов передних рогов спинного мозга. В настоящее время общепринятой является точка зрения о том, что мутационные изменения NAIP-гена детерминируют тяжесть CMA, а причиной заболевания являются делеционные изменения другого гена – SMN1 (survival motor neuron 1 gene).

У человека NAIP-ген расположен в локусе q13.1 пятой хромосомы. Полная копия гена (NAIP^{full}) образована, по меньшей мере, 16 экзонами [5, 6]. Кроме полной копии имеются 5'- и 3'-делетированные формы (NAIP1, NAIP2, ΨNAIP1, ΨNAIP2) [5, 7]. Более того, существует несколько дополнительных точек инициации транскрипции: в качестве промотора могут использоваться AluSINE и ERV-P LTR, а для NAIP1 и NAIP2 имеется ещё и точка инициации транскрипции в последнем интроне прилежащего гена GUSBP1. В результате этого образуются множественные изоформы NAIP-белков, некоторые из которых принадлежат к семейству NLRs, потому что своей нуклеотидной структурой детерминирует домены NOD (nucleotide binding oligomerization domain) и LRR [7–8]. На экспериментальных животных показано, что различные Naip-белки детерминируют специфичность NLRC4-инфламماسомы относительно бактериальных лигандов [9–10]. В геноме мыши имеется 7 паралогичных копий гена (Naip1–7). Установлено, что для активации NLRC4 бактериальным белком PrgJ требуется Naip2, а для индукции ответа на флагеллин – Naip5 и Naip6 [9–10].

Недавно появились данные, указывающие на роль компонентов инфламماسомы NLRC4/NAIP в формировании адаптивного иммунного ответа. Так, экспериментально показано, что одновременная стимуляция TLR5 и NLRC4/NAIP5 флагелли-

ном, синтезируемым модифицированными генно-инженерными методами опухолевыми клетками, вызывала эффективный антиген-специфический иммунный ответ у мышей, активируя как цитотоксичные (CD8⁺) так и хелперные (CD4⁺) Т-клетки, и тем самым предотвращала у них рост злокачественных опухолей. По мнению авторов работы, этот подход может быть использован для улучшения противоопухолевых вакцин [11].

Инфламماسома NLRP3 (NALP3)

Наиболее полно изученная инфламماسома NLRP3 (NALP3) содержит белок NLRP3 (NLR family pyrin domain-containing protein), адапторный белок ASC и прокаспазу-1. NLRP3 может активироваться полными патогенами (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, influenza virus, sendai virus, adenovirus), патоген-ассоциированными молекулами, формирующими поры токсинами. Однако, как оказалось, активировать эту инфламмасому могут не только патогены и их составляющие, но и эндогенные сигналы опасности, производимые хозяином (АТФ, глюкоза, пирофосфат кальция, урат натрия, амилоид β и т. д.), а также факторы окружающей среды (силикон, асбест, ультрафиолет и другие повреждающие кожу агенты). При активации инфламماسомы белок NLRP3 олигомеризуется посредством гомотипического взаимодействия между его NACHT-доменами, что приводит к формированию кластера пирин-доменов и их взаимодействию с пирин-доменами белка ASC, а это, в свою очередь, ведет к сборке кластеров CARD-доменов и их взаимодействию с CARD-доменами прокаспазы 1 и активации последних. Активированная каспаза 1 может расщеплять другие цитоплазматические мишени, в том числе и провоспалительные цитокины, образуя их активные формы, например, интерлейкины IL-1β и IL-18 [12].

Предполагается, что инфламмасома NLRP3 может вносить определенный вклад в патогенез некоторых заболеваний. Так, Schroder с соавт. [12] предположили, что она может функционировать как сенсор метаболического стресса при диабете второго типа и при подагре. Недавно было показано, что активация NLRP3 в сетчатке, приводящая к повышенной секреции IL-18, имеет место при географической атрофии – «dry» форме возрастной макулярной дегенерации. При этом заболевании дефицит РНАзы DICER1 ведет к аккумуляции Alu-транскриптов, которые активируют инфламмасому NLRP3 и запускают неканонический сигналинг MyD88 (myeloid differentiation factor 88) посредством IL-18. Активация MyD88 ведет к гибели клеток пигментного эпителия сетчатки, а генетическая или фармакологическая

ингибция компонентов инфламмосомы (NLRP3, PYCARD, caspase-1), MyD88 или IL-18 предотвращает это повреждение [13]. Другая группа исследователей полагает, что индукция цитокина IL-18, имеющая место в результате активации инфламмосомы NLRP3 друзьями, компонентом комплемента C1Q и карбоксиэтилпирролом, предотвращает хороидальную неоваскуляризацию, которая является отличительным признаком «wet» формы возрастной макулярной дегенерации [14–15].

Как было отмечено выше, мутации гена NLRP3, кодирующего криопирин, обнаружены при синдроме Muckle-Wells, а также при неонатальном мультисистемном воспалительном заболевании, известном под названием хронический инфантильный неврологический, кожный и суставной синдром [1, 3].

На экспериментальных животных показано, что ожирение сопровождается увеличенной экспрессией NLRP3 в жировой ткани, а инактивация NLRP3 усиливает сигналинг инсулина. Кроме того, NLRP3, NLRP6 и ASC являются регуляторами микробного состава кишечника, а инфламмосомы, которые не содержат NLRP3, способствуют жировой дегенерации печени [16].

Инфламмосома NLRP1 (NALP1)

Инфламмосома NLRP1 содержит белок NALP1, ASC и caspase-1. Активируется токсином *Bacillus anthrax*, который вызывает гибель макрофагов.

Показано, что NALP1 может взаимодействовать с антиапоптозными белками Bcl-2 и Bcl-XL (B cell lymphoma) [3–4].

Неинфламмосомная активность NLRs

NLRs также регулируют другие иммунные функции, которые реализуются вне зависимости от инфламмосом. Например, активацию NF- κ B (nuclear factor kappa B) и MAPK (mitogen-activated protein kinase), продуцирование хемокинов, цитокинов, и реактивных форм кислорода, выработку интерферона I и активность рибонуклеазы L [17]. Реализация этих функций осуществляется через участие NLRs в формировании различных мультикомпонентных сигналов, например, в формировании митосигналов (мультимерные комплексы белков, расположенные в митохондриях) задействованы NOD2 и NLRX, в сборке транскриптомом – CIITA, в образовании нодосом – NOD1 и NOD2, в регуляции неканонического пути NF- κ B – NOD2 и NLRP12. С подробным изложением того, как эти мультибелковые комплексы функционируют во врожденной иммунной системе, можно ознакомиться в обзоре J. Ting с соавт. [17].

Функции NLRs реализуются, по-видимому, и вне иммунной системы. Предполагается, что

они имеют отношение к регуляции клеточной гибели и регенерации. Так, показано, что NLRP6 контролирует организацию и пролиферацию кишечного эпителия после травмы и является негативным регулятором колоректального канцерогенеза [18]. Экспрессия NLRP4 способствует р53-зависимому апоптозу в некоторых типах клеток. Выявленные делеционные изменения NAIP могут приводить к недостатку NAIP-белков, содержащих BIR-повторы, что, как предположили открывшие этот ген исследователи, может способствовать усилению апоптоза моторных нейронов при тяжелой форме СМА [5]. Селективное обнаружение NAIP в кишечных ворсинках и особенности его структурного устройства предполагают также, что белок может способствовать выживанию клеток, подвергающихся терминальной дифференцировке, и функционировать как рецептор для узнавания кишечных патогенов [19]. Предполагается также, что количественный дисбаланс белков, кодируемых этим геном, может способствовать развитию почечной гипоплазии и связанной с ней гипертензии [20]. Показано, что характер экспрессии NAIP изменен при таких заболеваниях как синдром Дауна, болезнь Альцгеймера, некоторые формы рака [21–22].

Подытоживая рассмотрение NLRs, можно прийти к заключению, что основная их роль состоит в участии в процессах защиты организма, как от экзогенных, так и эндогенных биологических факторов. NLRs могут функционировать как составляющие инфламмосом или взаимодействовать с другими белками и действовать независимо от этих структур. NLRs играют также существенную роль и вне иммунной системы, участвуя в контроле клеточной гибели и регенерации. Дальнейшее изучение NLRs и их сигнальных механизмов может привести к открытию новых мишеней для терапевтического контроля некоторых инфекционных, воспалительных и аутоиммунных заболеваний, а также злокачественных новообразований.

Литература

1. Meylan, E., Tschopp J., Karin M. // *Nature*. 2006. Vol. 442. P. 39–44.
2. Nejentsev, S., Walker N., Riches D. [et al.] // *Science*. 2009. Vol. 324, N 5925. P. 387–389.
3. Netea, M. G., van der Meer J. W. M. // *N. Engl. J. Med*. 2011. Vol. 364, N 1. P. 60–70.
4. Kawai, T., Akira S. // *International Immunol*. 2009. Vol. 21, N 4. P. 317–337.
5. Roy, N., Mahadevan M. S., McLean M. [et al.] // *Cell*. 1995. Vol. 80, N 1. P. 167–178.
6. Chen, Q., Baird S. D., Mahadevan M. [et al.] // *Genomics*. 1998. Vol. 48, N 1. P. 121–127.
7. Romanish, M. T., Nakamura H., Lai C. B. [et al.] // *PLoS ONE*. 2009. Vol. 4, N 6. P. e5761.

8. Davoodi, J., Lin L., Kelly J. [et al.] // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279, N 39. P. 40622–40628.

9. Kofoed, E. M., Vance R. E. // Nature. 2011. Vol. 477. P. 592–595.

10. Zhao, Y., Yang J., Shi J. [et al.] // Nature. 2011. Vol. 477. P. 596–600.

11. Garaude, J., Kent A., van Rooijen N., Blander J. M. // Sci. Transl. Med. 2012. Vol. 4. P. 1–11.

12. Schroder, K., Zhou R., Tschopp J. // Science. 2010. Vol. 327. P. 296–300.

13. Tarallo, V., Hirano Y., Gelfand B. D. [et al.] // Cell. 2012. Vol. 149. P. 847–859.

14. Doyle, S. L., Campbell M., Ozaki E. [et al.] // Nature Med. 2012. Vol. 18. P. 791–798 (Abstract).

15. Rosenbaum, J. T. // N. Engl. J. Med. 2012. Vol. 367. P. 768–770.

16. Tremaroli, V., Bäckhed F. // Nature. 2012. Vol. 489. P. 242–249.

17. Ting, J. P., Duncan J. A., Lei Y. // Science. 2010. Vol. 327, N 5963. P. 286–290.

18. Normand, S., Delanoye-Crespin A., Bressenot A. et al. // PNAS. 2011. Vol. 108, N 23. P. 9601–9606.

19. Maier, J. K. X., Balabanian S., Coffill C. R. [et al.] // DOI: 10.1369/jhc.6A7144. 2007.

20. Dziarmaga, A., Hueber P., Iglesias D. [et al.] // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2006. Vol. 291. P. F913–F920.

21. Choi, J., Hwang Y. K., Choi Y. J. [et al.] // J. Korean Med. Sci. 2007. Vol. 22. P. S17–23.

22. Yamamoto, K., Abe S., Nakagawa Y. [et al.] // Leuk. Res. 2004. Vol. 28, N 11. P. 1203–1211.

Поступила 8.07.2014