



УДК 616.9-002:612.821.8+577.213+579.222

АБАТУРОВ А.Е.

ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»

ВОЛОСОВЕЦ А.П.

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев

ЮЛИШ Е.И.

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

## РОЛЬ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РЕКОГНИЦИИ ПАТОГЕН-АССОЦИИРОВАННЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР ИНФЕКЦИОННЫХ ПАТОГЕННЫХ АГЕНТОВ И РАЗВИТИИ ВОСПАЛЕНИЯ. ЧАСТЬ 3. РЕКОГНИЦИЯ ЛИГАНДОВ TLR

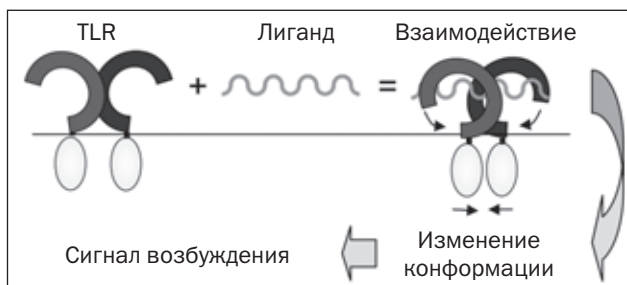
**Резюме.** В обзоре раскрыты современные представления о взаимодействии Toll-подобных рецепторов человека с определенными патоген-ассоциированными молекулярными структурами инфекционных агентов.

**Ключевые слова:** воспаление, инфекционный процесс, Toll-подобные рецепторы.

### Введение

Группа TLR-рецепторов, взаимодействующих с бактериальными патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP), представлена TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9 [36]. В распознавании PAMP вирусных агентов участвуют эндосомальные TLR3, TLR7, TLR8, TLR9. TLR3 распознает двуцепочечные вирусные РНК (дцРНК), в то время как TLR7, TLR8 — одноцепочечные вирусные РНК (оцРНК). Необходимым условием активации эндосомальных TLR является функционирование мультитрансмембранного протеина эндоплазматического ретикулума UNC93B1, который обеспечивает транслокацию TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 от эндоплазматического ретикулума к эндосоме, где они подвергаются протеолитической обработке катепсинами, приобретая функциональную готовность к рекогниции PAMP [2, 14, 35]

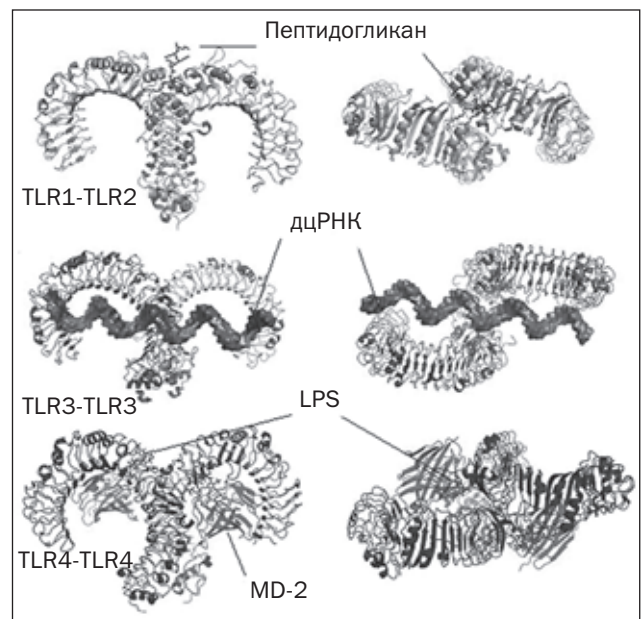
В рекогниции вирусных PAMP также участвуют TLR2, TLR4, TLR9 [43].



**Рисунок 1. Общая схема взаимодействия TLR и лигандов [20]**

Взаимодействие TLR с лигандами сопровождается образованием их димеров или усилением внутридимерных связей предсформированных рецепторных димеров (рис. 1, 2).

Рекогниция PAMP TLR происходит при непосредственном их взаимодействии или при взаимодействии, опосредованном аксессуарными молекулами. Так, TLR1/2, TLR3 и TLR9 непосредственно связываются с липопептидами, дцРНК и CpG ДНК



**Рисунок 2. Модели димеров TLR [32]**

соответственно, а TLR4 распознает LPS при участии аксессуарной молекулы MD2. Некоторые TLR обладают способностью к рекогниции лигандов, структуры молекул которых совершенно не похожи друг на друга. В частности, TLR4 распознает липополисахариды (LPS), F-протеин респираторно-синцитиального вируса и шапероны [5].

## TLR2

Рецептор TLR2 участвует в распознавании широкого диапазона PAMP не только бактерий, но и различных других патогенных микроорганизмов — вирусов, грибов и паразитов. TLR2 взаимодействует с продуктами деградации мембранной стенки преимущественно грамположительных бактерий. Основными лигандами TLR2 являются триацильные липопептиды, протеингликаны (PGN) и липотейхоевая кислота грамположительных бактерий, LPS *Legionella pneumophila* и *Leptospira interrogans*, порины внешней мембраны *Haemophilus influenzae* и *Neisseria* spp., липоарабиноманнан микобактерий, грибковый зимозан (комплекс, содержащий  $\beta$ -гликаны, маннаны, хитин, липиды и протеины грибов), tGPI-муцин трипаносомы и гемагглютинин вируса кори. TLR2 участвует в рекогниции PGN, тейхоевой и липотейхоевой кислот практически всех типов бактерий, за исключением хламидий и микоплазм. Прямое связывание лигандов с экзоменом TLR2 вызывает изменение конформации предсформированного и слабо связанного димера рецепторного комплекса. Данные конформационные изменения обеспечивают организацию более устойчивой молекулярной структуры [13, 45].

Уникальность субсемейства TLR2 заключается в способности их представителей к кооперативному функционированию в процессе рекогниции PAMP во время фагоцитоза, которое выражается в организации гетеродимеров TLR2-TLR1 (рис. 3, 4) TLR2-TLR6 или TLR2-TLR10 на поверхности цито-

плазматической мембраны. Взаимодействия между мономерами различных TLR расширяют их функциональный диапазон рекогниции. В гетеродимерном состоянии они приобретают возможность взаимодействовать с PAMP, которые не могут быть распознаны гомодимерами этого рецепторного семейства [40].

Гетеродимер TLR2-TLR1 распознает бактериальные триацильные липопептиды грамотрицательных бактерий. Причем TLR2 одновременно взаимодействует с двумя ацильными цепями, а TLR1 своим гидрофобным каналом — с одной ацильной цепью липопептида. Гетеродимер TLR2-TLR6 взаимодействует с диацильными, но не с триацильными липопептидами грамположительных бактерий. Отсутствие гидрофобного канала у эктодомена TLR6 не позволяет гетеродимеру TLR2-TLR6 взаимодействовать с триацильными липопептидами. Лигандами гетеродимера TLR2-TLR6 также являются липотейхоевая кислота грамположительных бактерий и PAMP грибов. TLR2 может формировать димеры не только с TLR, но и с другими молекулами, такими как CD36, CD14 и дектин-1. Скавенджер II класса CD36, экспрессируемый на поверхности иммунцитов, необходим для рекогниции некоторых лигандов TLR2. Рецептор TLR2 в кооперации с CD14 участвует в рекогниции диацильных липопептидов и липоарабиноманнана микобактерий. Иммунорецептор дектин-1 взаимодействует с  $\beta$ -гликаном зимозана грибов и вызывает его интернализацию [11, 24].

## TLR3

Лигандами рецептора TLR3 являются: вирусная дцРНК, которая синтезируется во время вирусной инфекции или появляется как промежуточное звено цикла репликации вируса или как часть вирусного генома РНК; эндогенная мРНК; интерферирующая РНК [9]. Распознавание вирусной дцРНК

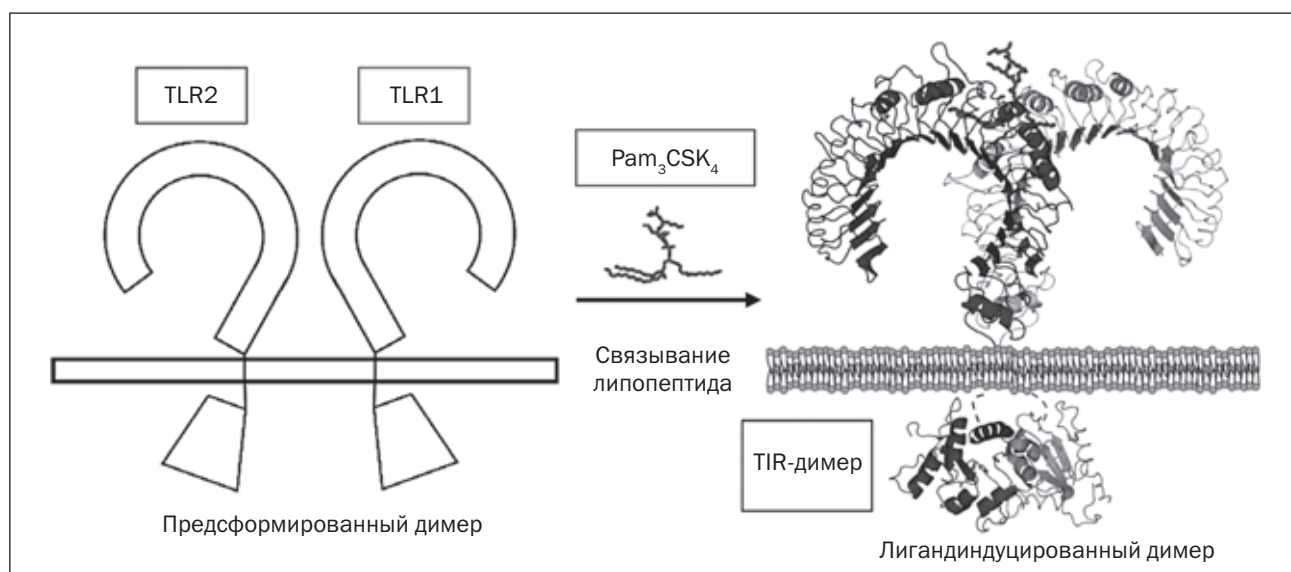
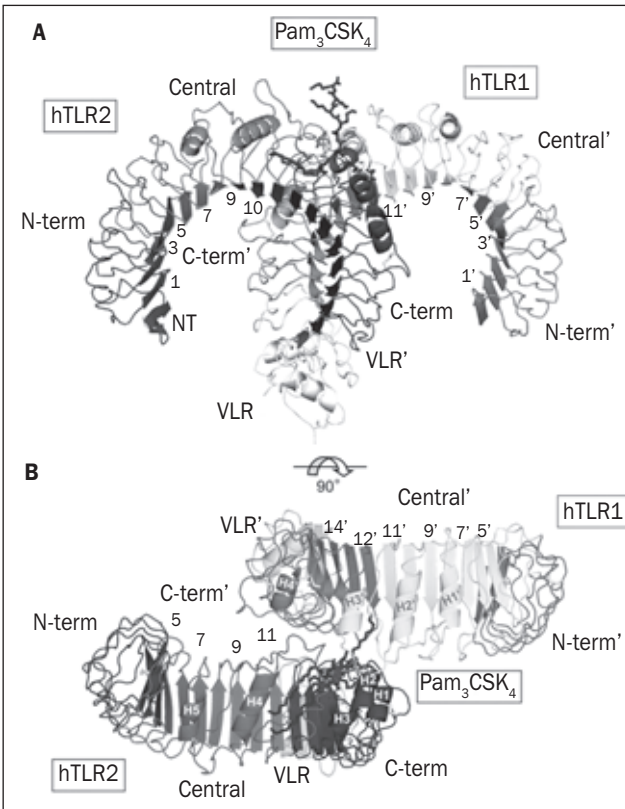
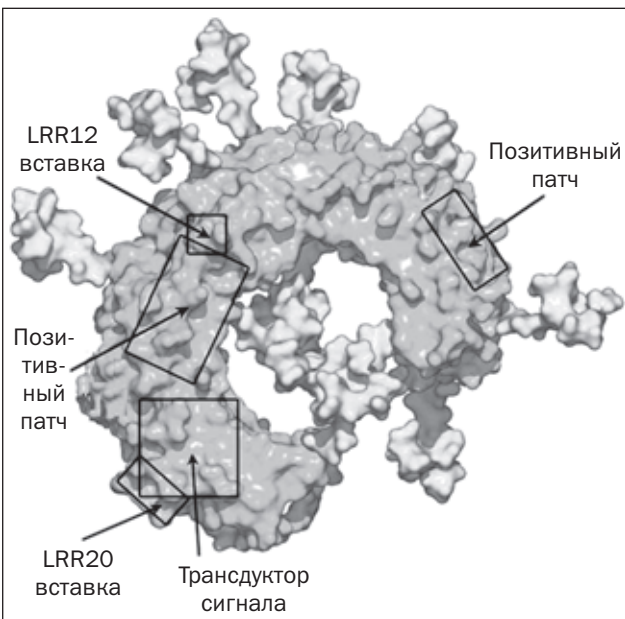


Рисунок 3. Формирование димера TLR1-TLR2 при взаимодействии с триацильным липопептидом Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> [14]

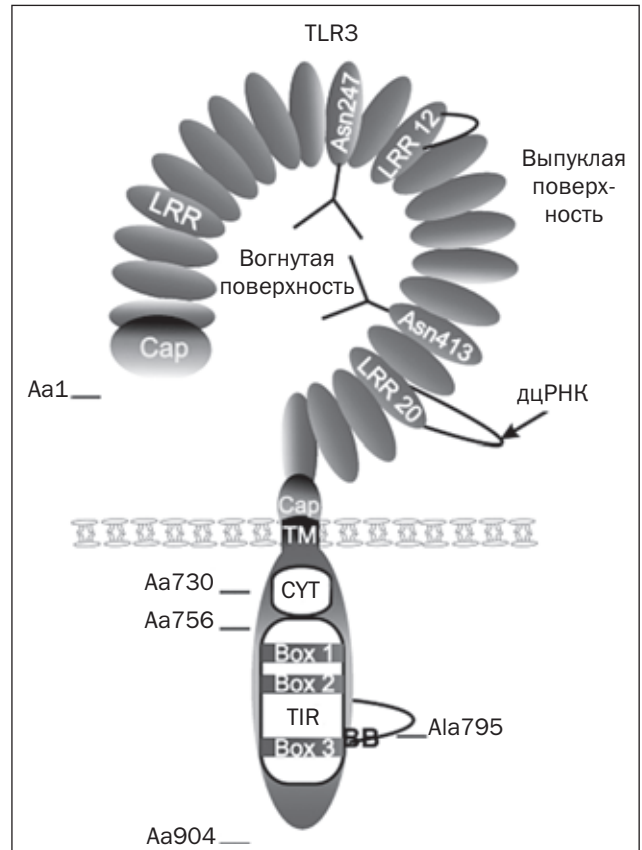


**Рисунок 4. Трехмерная модель комплекса TLR1-TLR2-Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> [13]: А – вид сбоку; В – вид сверху**



**Рисунок 5. Модель эктодомена TLR3 [9]**

TLR3 происходит исключительно во время фагоцитоза апоптотической инфицированной вирусом клетки фагоцитирующей клеткой. В связи с чем Gregory M. Barton [6] было сделано предположение, что TLR3 предназначен для рекогниции только такой вирусной дцРНК, которая присутствует в погибающей или погибшей клетке. Различные вирусы — вирус гриппа, респираторно-синцитиальный



**Рисунок 6. Схематическое представление структуры TLR3 [48]**

**Примечание: сайтм рекогнивания TLR3 дцРНК является регион эктодомена LRR20, который относится к нетипичным — с выступающей над поверхностью молекулы вставкой — мотивам LRR.**

вирус, вирус гепатита С, вирус иммунодефицита человека и вирус кори — увеличивают экспрессию TLR3. Однако возбуждение TLR3 вирусной дцРНК не является фактором, наличие которого достаточно для развития противовирусного ответа макроорганизмом [24].

Эктодомен TLR3 состоит из 23 LRR регионов (рис. 5). Основным LRR регионом, принимающим участие в рекогниции дцРНК, является 20 LRR, его взаимодействие с дцРНК обуславливает формирование явного димера и активацию сигнальных путей, индуцирующих фактор транскрипции IRF3 (рис. 6, 7) [9, 48].

Участие в рекогниции TLR3 достоверно установлено только для небольшого ряда вирусов (табл. 1) [48].

При гриппе значительное усиление экспрессии TLR3 эпителиоцитами респираторного тракта сопровождается более выраженным воспалением дыхательных путей, в то время как при инфекции, вызванной респираторно-синцитиальным вирусом, активация TLR3 ассоциируется с более легким течением заболевания. В экспериментальных условиях у мышей с дефицитом TLR3 гриппозная инфекция сопровождается низкой продукцией провоспалительных цитокинов и протекает более



легко, а респираторно-синцитиальная вирусная инфекция сопровождается более высокой продукцией  $Th_2$ -ассоциированных цитокинов и протекает с выраженным синдромом бронхообструкции [15, 16].

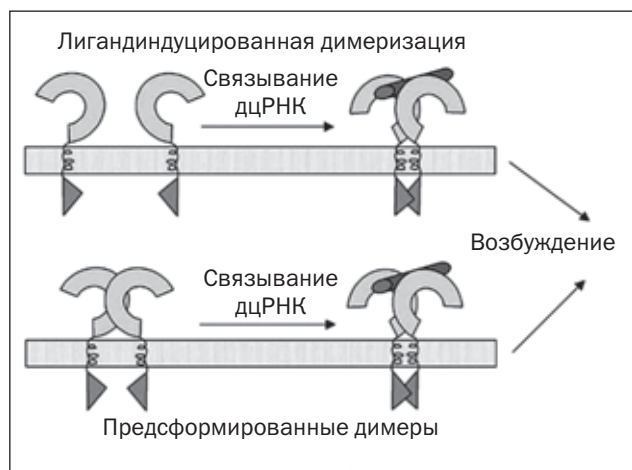
Также показано, что TLR3 взаимодействует с дцРНК, высвобождаемой при гибели собственных клеток, и с малой ядерной РНК, являющейся эндогенным лигандом рибонуклеопорина 70-kDa, который относится к аутоантигенам, ассоциируемым с развитием ревматоидного артрита и красной системной волчанки. Синтетическим лигандом TLR3 является аналог дцРНК — поли (I:C) [48].

Возбуждение TLR3 является существенным фактором развития как воспаления, так и аутоиммунных заболеваний. Показано, что активация TLR3 предупреждает LPS-индуцированное снижение представительства TLR4 на поверхности мембраны макрофагов. Индукция TLR3 макрофагов и миелоидных дендритных клеток (DC) обуславливает продукцию  $IFN-\alpha$  и  $TNF-\beta$ , которые подавляют ангиогенез и индуцируют секрецию СХС хемокинового

лиганда 9 (CXCL9) гепатоцитами, который является мощным хемоаттрактантом, привлекающим  $IFN-\gamma$ -продуцирующие  $CD8^+$ Т-лимфоциты в ткань печени [10, 21].

## TLR4

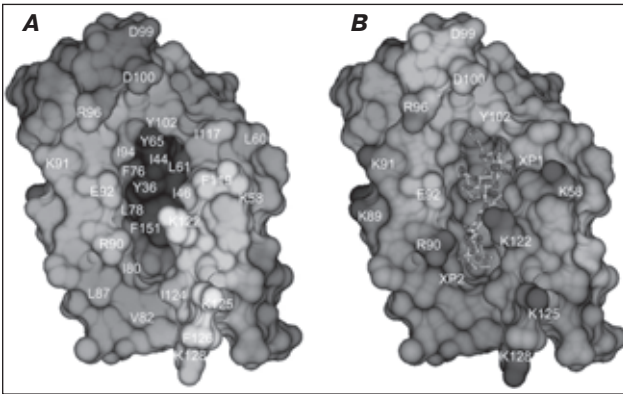
TLR4 участвует в распознавании широкого диапазона лигандов — пневмококкового пневмолизина, менингококкового липоолигосахарида, шаперона 60 (HSP60) *Chlamydia pneumoniae*, гликолипидов *Treponema brennaborensis*, протеина F респираторно-синцитиального вируса, таксола растений, LPS грамотрицательных бактерий [28, 34]. Рецептор TLR4 — ключевой сенсор основного компонента внешней мембраны грамотрицательных бактерий LPS, который является мощным экзогенным провоспалительным фактором. В рекогниции LPS принимают участие и вспомогательные молекулы — LBP, CD14, MD-2 [2]. Первоначально в экстрацеллюлярном пространстве LPS связывается с солютабным липополисахаридсвязывающим белком (LBP), который функционирует как опсонин для гликозилфосфатидилинозитольсвязанного (GPI) белка CD14. Протеин CD14 существует в двух формах — солютабной и мембраносвязанной. Взаимодействие с солютабной формой CD14 комплекса LPS/LBP предопределяет его связывание и передачу сывороточным липопротеинам высокой плотности, которые служат своеобразным «стоком» LPS, обеспечивающим элиминацию LPS из организма, и таким образом снижают выраженность LPS-ассоциированных эффектов. Взаимодействие с мембраносвязанной формой CD14 комплекса LPS/LBP катализирует связывание LPS с мембрано-ассоциированным протеином MD-2 [22]. Umeharu Ohto и соавт. [33], исследуя молекулярную структуру гликопротеина MD-2, показали, что на поверхности данного белка существует глубокая гидрофобная впадина, которая физически взаимодействует с четырьмя ацильными цепями липида  $IV_A$  (рис. 8).



**Рисунок 7. Модель взаимодействия TLR3 с лигандом [9]**

**Таблица 1. Участие TLR3 в патогенезе вирусных инфекций [48]**

Вирус	Целевые системы, органы или клетки, экспрессирующие TLR3	Участие TLR3
Вирус гриппа А	Респираторный тракт (эпителиоциты)	–
	Центральная нервная система	+
Респираторно-синцитиальный вирус	Респираторный тракт (эпителиоциты)	+
Вирус бешенства	Центральная нервная система (нейроны)	–?
Герпесвирус 1-го типа	Центральная нервная система (нейроны)	–?
Герпесвирус 2-го типа	Половые губы	+?
Вирус гепатита С	Печень	+/-?
	Почки	–?
Вирус Punta Toro	Печень	–
Вирус иммунодефицита человека (ассоциированная с ВИЧ миопатия)	Скелетная мускулатура	–?
Вирус Западного Нила	Центральная нервная система	–
Вирус энцефаломиокардита	Сердце	+
Вирус мышинного энцефаломиелита Theiler	Центральная нервная система (астроциты)	+?



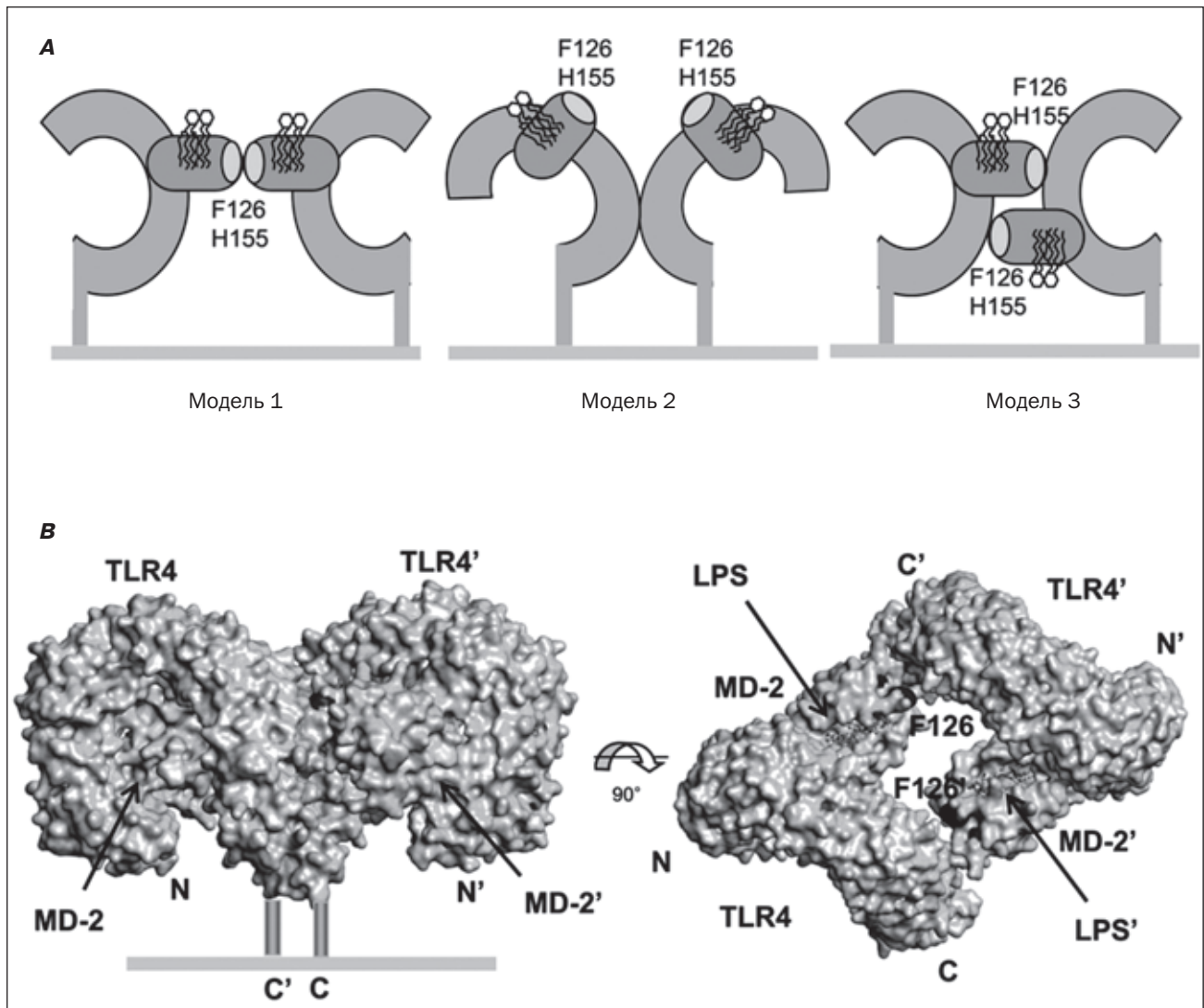
**Рисунок 8. Модель молекулы MD-2 (A) и ее взаимодействия с липидом A (B) [33]**

В последующем каскаде молекулярных реакций комплекс LPS/MD-2 взаимодействует с TLR4, вызывая его димеризацию и возбуждение внутриклеточного домена рецептора (рис. 9) [22, 27].

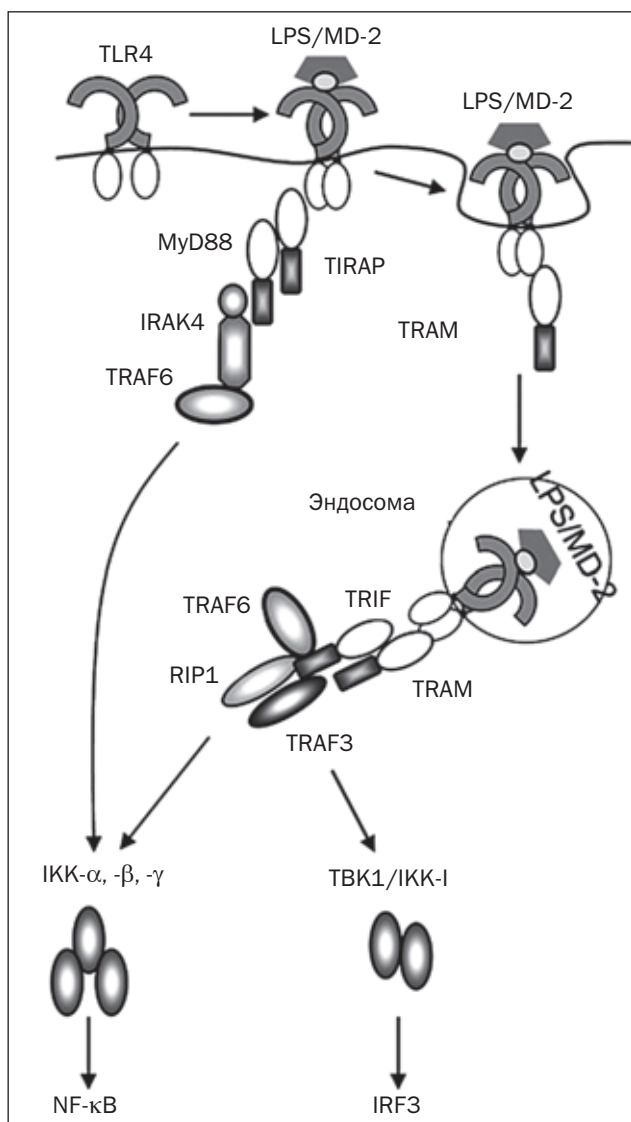
Комплекс TLR4/CD14/MD-2 в цитоплазме клетки совершает быстрые циклические перемещения от аппарата Гольджи к цитоплазматической

мембране до тех пор, пока не произойдет его взаимодействие с LPS. Протеин MD-2 является основным компонентом, определяющим перемещение TLR4 от аппарата Гольджи к цитоплазматической мембране клетки. В транслокации TLR4 от эндоплазматического ретикулума особую роль играет и протеин PRAT4A [1, 2, 22].

Ассоциированный с цитоплазматической мембраной клетки мультимер LPS/TLR4/MD-2, взаимодействуя через TIR-домен TLR4 с адаптерными молекулами Mal и MyD88, приводит к возбуждению каскада сигнальных молекул, обуславливая активацию фактора транскрипции NF-κB [20]. Исследования процесса рекогниции LPS показали, что в течение этого процесса происходит образование и последующее взаимодействие двух LPS/TLR4/MD-2 молекулярных образований, что приводит к формированию мультимерного рецепторного комплекса, который интернализируется и сохраняется в эндосомах [42]. Интернализация LPS/TLR4/MD-2 активируется только после возбуждения внутриклеточных TLR4 сигнальных путей возбуждения. Динамин и клатрин-зависимое образование



**Рисунок 9. Модели взаимодействия TLR4 и MD2 (A), организация комплекса TLR4/LPS/MD-2 (B) [25]**

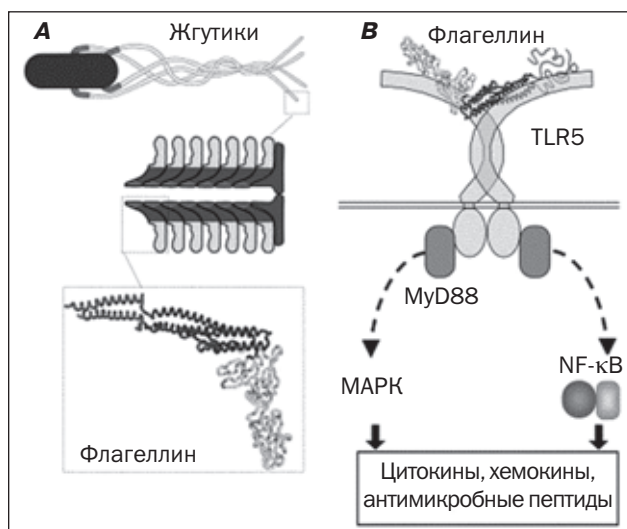


**Рисунок 10. Рекогниция LPS TLR4 и возбуждение внутриклеточных сигнальных путей [20]**

эндосомы, несущей комплекс LPS/TLR4/MD-2, происходит в течение первых 15 минут после взаимодействия с LPS [29]. Мультимер LPS/TLR4/MD-2, находясь на мембране ранней эндосомы, рекрутирует адаптерные молекулы TRAM, TRIF и активирует фактор транскрипции IRF3, что ведет к продукции IFN- $\beta$  (рис. 10) [20, 24].

### TLR5

Эктодомен на участке связывающего сайта (386–407 аминокислотных остатков LRR14) рецептора TLR5 [30] взаимодействует с поверхностным белком бактериальных жгутиков — флагеллином, молекула которого в зависимости от происхождения состоит из 259–1250 аминокислотных остатков [8, 19]. Впервые флагеллин как лиганд TLR5 был идентифицирован группой исследователей Alan Aderem в 2001 году [3]. Согласно современным данным, систематизированным Martin Rumberg и соавт. [37], TLR5 распознает флагеллиновый мотив, который образован последовательностью, гомологичной



**Рисунок 11. Рекогниция флагеллина рецепторами TLR5 [37]**

сегменту 89–96 аминокислотных остатков флагеллина *Salmonella typhimurium* и доступен рекогниции только в мономерной форме флагеллина (рис. 11).

Основными клетками, участвующими в рекогниции флагеллина, являются эпителиоциты и DC. Особо высокая плотность экспрессии TLR5 отмечена у CD11c<sup>+</sup> DC lamina propria (LPDC) стенки тонкого кишечника. Характер ответа на возбуждения флагеллином в респираторном и пищеварительном трактах имеет свои особенности. Наиболее часто встречаемыми флагеллин-продуцирующими инфекционными агентами, которые инфицируют респираторный тракт, являются *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cenocepacia*, *Bordetella bronchiseptica*, *Legionella pneumophila*. В респираторном тракте флагеллин данных патогенных возбудителей индуцирует синтез IgA и вызывает Th<sub>2</sub>-ассоциированный ответ, обусловленный недостаточной продукцией IL-12p70 DC [18].

В кишечнике флагеллин, активируя TLR5, обуславливает усиление экспрессии iNOS, матрилизина (MMP-7) и продукции  $\beta$ -дефенсина 2, IL-8-подобных хемокинов, которые обуславливают рекрутирование нейтрофилов, макрофагов и DC. Также флагеллин индуцирует продукцию эпителиоцитами хемокина CCL20 (MIP-3- $\alpha$  или LARC), который вызывает хемотаксическую реакцию незрелых DC [37]. В ответ на воздействие флагеллином LPDC вызывают дифференцировку В-лимфоцитов в IgA-продуцирующие плазматические клетки и наивных Т-лимфоцитов в антиген-специфические Th<sub>17</sub> и Th<sub>1</sub> клетки, которые индуцируют макрофагально-нейтрофильное воспаление [40].

### TLR7 и TLR8

Естественным лигандом эндосомальных рецепторов TLR7 и TLR8 является вирусная оцРНК, синтетическими лигандами — производные имидазоксинолинов (табл. 2) [12, 40].





CpG (unmethylated 2'-deoxyribo(cytidine-phosphate-guanosine)) ДНК (CpG-ДНК), которые не встречаются у млекопитающих. Существует по крайней мере два типа CpG-ДНК — А/Д-тип CpG-ДНК и В/К-тип CpG-ДНК. В/К-тип CpG-ДНК является мощным индуктором таких провоспалительных цитокинов, как IL-12 и TNF- $\alpha$ . А/Д-тип CpG-ДНК в большей степени индуцирует продукцию IFN- $\alpha$  плазмацитоидными DC и значительно меньше способствует секреции IL-12 [39]. Наиболее выраженная экспрессия TLR9 характерна для плазмацитоидных DC — основных продуцентов IFN- $\alpha$  в организме человека [26]. Рецепторы TLR9 во время неактивного состояния плазмацитоидных DC локализируются на мембране эндоплазматического ретикулума (но не аппарата Гольджи). Интернализация CpG-ДНК вызывает транслокацию TLR9 от эндоплазматического ретикулума непосредственно к фаголизосомам и последующую активацию рецептора. В транслокации TLR9 определенное участие принимают такие белки, как UNC93B1, шаперон gp96 и PRAT4A. По всей вероятности, участие PRAT4A в перемещении TLR9 обусловлено тем, что для полноценного ответа на некоторые инфекционные агенты необходима кооперативная деятельность TLR. Например, в рекогниции PAMP микобактерий участвуют TLR2, TLR9. Локализация TLR9 на внутренней поверхности мембраны эндолизосомы предотвращает его взаимодействие с собственной ДНК. В эксперименте было продемонстрировано, что TLR9 взаимодействует с CpG-ДНК

в кислой внутриклеточной среде [2, 3, 46]. Предпосылкой для эффективного закрепления лиганда и активации рецептора является предварительное протеолитическое катепсин-обусловленное расщепление эктодомена TLR9 [37]. В группу протеаз, которые участвуют в расщеплении эктодомена TLR9, входят катепсин-B, -S, -L, -H, -K и аспарагиновая эндопептидаза [41]. TLR9 существует как предсформированный гомодимер. Его связывание с лигандом приводит к изменению конформационного состояния молекулы рецептора, которое обеспечивает сближение цитоплазматических TIR-доменов разных мономеров и, как следствие, активацию внутриклеточных TLR9-ассоциированных молекулярных путей, которые индуцируют факторы транскрипции NF- $\kappa$ B и IRF7. Активность TLR9 усиливают такие эндогенные продукты, как антимикробный пептид LL37 и DOTAP комплексы [49]. TLR9 играет особую роль в процессе саногенеза пневмококковой, менингококковой инфекций и герпесвирусных инфекций, вызванных цитомегаловирусом или вирусами герпеса 1-го и 2-го типов [4, 5, 44].

### Мышиный TLR11

TLR11 мышей взаимодействует с неидентифицированным PAMP уропатогенных бактерий и профилиноподобной молекулой *Toxoplasma gondii* [40, 47].

Список литературы находится в редакции

Получено 16.10.12 □

Абатуров А.Є.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

Волосовець А.П.

Національний медичний університет ім. А.А. Богомольця  
Юліш Є.І.

Донецький національний медичний університет  
ім. М. Горького

Abaturov A.Ye.

State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Public Health of Ukraine»

Volosovets A.P.

National Medical University named after A.A. Bogomolets, Kyiv  
Yulish Ye.I.

Donetsk National Medical University named after M. Gorky,  
Donetsk, Ukraine

### РОЛЬ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ В РЕКОГНІЦІЇ ПАТОГЕН-АСОЦІЙОВАНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ СТРУКТУР ІНФЕКЦІЙНИХ ПАТОГЕННИХ АГЕНТІВ І РОЗВИТКУ ЗАПАЛЕННЯ. ЧАСТИНА 3. РЕКОГНІЦІЯ ЛІГАНДІВ TLR

**Резюме.** В огляді розкриті сучасні уявлення про взаємодію Toll-подібних рецепторів людини з певними патоген-асоційованими молекулярними структурами інфекційних агентів.

**Ключові слова:** запалення, інфекційний процес, Toll-подібні рецептори.

### ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTORS IN RECOGNITION OF PATHOGEN-ASSOCIATED MOLECULAR STRUCTURES OF INFECTIOUS PATHOGEN AGENTS AND DEVELOPMENT OF INFLAMMATION. PART 3. RECOGNITION OF TLR LIGANDS

**Summary.** The review provides present-day ideas on interaction of Toll-like receptors of the human with certain pathogen-associated molecular structures of infectious agents.

**Key words:** inflammation, infection process, Toll-like receptors.