

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА TOLL-LIKE-РЕЦЕПТОРІВ ТА ЇХНЬОЇ УЧАСТІ В ІМУННІЙ ВІДПОВІДІ

К. А. ВЕКЛИЧ, проф. Т. І. ЛЯДОВА, проф. М. М. ПОПОВ,  
доц. О. В. ГОЛОЛОБОВА, доц. О. Г. СОРОКІНА

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна*

**Подано узагальнену інформацію щодо механізмів, які відбуваються при активації експресії Toll-like-рецепторів 9-го типу, продукції інтерферонів 1-го типу та цитокінів із залученням цих рецепторів розпізнавання образів. З урахуванням даних огляду літератури описано значення активації експресії Toll-like-рецепторів 9-го типу у розвитку автоімунних та вірусних захворювань.**

*Ключові слова:* кір, Toll-like-рецептори, цитокіни, інтерферон, автоімунні захворювання.

Вроджена імунна відповідь є першим етапом захисту організму від проникнення патогенів і вважається еволюційно консервативною та філогенетично давньою ланкою імунної системи. В основному вроджена імунна система складається з клітин вродженого імунітету, інваріантних Т-клітин, асоційованих зі слизовими оболонками, НКТ-клітин, а також гуморальних компонентів — системи комплемента, цитокінів, хемокінів, що секретуються клітинами вродженого імунітету разом із різноманітними протимікробними пептидами [1–5]. Клітини вродженої імунної відповіді експресують різноманітні рецептори розпізнавання образів (англ. pattern recognition receptors (PRR)), у тому числі Toll-like-рецептори (TLR), що розпізнають патогенасоційовані молекулярні патерни (англ. pathogen associated molecular pattern (PAMP)) та призводять до індукції запальної імунної реакції [6, 7]. Toll-like-рецептори залучаються у розпізнавання майже всіх патогенів — бактерій, вірусів, грибів та паразитів — одразу, як патоген проникає в організм-хазяїн. Це свідчить про те, що TLR є дуже важливим PRR імунної системи, необхідним для ініціювання ефективної вродженої імунної відповіді на ранній стадії інфекційного процесу [8]. На більш пізніх стадіях TLR регулюють розвиток адаптивної імунної відповіді [9].

TLR являють собою глікопротеїни, що складаються з трьох доменів: трансмембранного, амінокінцевого ектодомену та цитоплазматичного карбоксикінцевого домену гомології Toll IL1-1R (TIR) [10, 11]. Для активації передачі сигналу із залученням інших сигнальних шляхів TLR використовують велику кількість адаптерних протеїнів (АП) (англ. adapter protein, AP).

Усі TLR є трансмембранними протеїнами 1-го типу, що містять багаті лейцином повтори, відповідальні за розпізнавання PAMP та активацію низхідної передачі сигналу [12, 13]. На підставі гомології послідовностей TLR ссавців поділяють на шість основних сімейств, а саме — TLR1, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR11 [14]. Сімейство TLR1 включає в себе TLR1, TLR2, TLR6 та TLR10. Вони

перебувають на плазматичних мембранах та розпізнають компоненти стінок і мембран мікробних клітин, такі як ліпопротеїни та пептидоглікани. TLR4 та TLR5 також розташовуються на плазматичній мембрані і взаємодіють із бактеріальними ліпополісахаридом та флагеліном відповідно [15]. Представники сімейств TLR3, TLR7 та TLR11 є внутрішньоклітинними TLR, що експресуються в лізосомах та ендосомах. Їхня локалізація на ендосомах та лізосомах, де власна ДНК присутня рідко, є важливою для попередження автоімунних реакцій та неналежних імунних відповідей. TLR3 розпізнає дволанцюгову РНК (длРНК), TLR7 та TLR8, що входять до сімейства TLR7, одностанцюгову РНК (олРНК), а TLR9, що також входить до сімейства TLR7, взаємодіє та розпізнає, як раніше вважалося, метильовану ДНК CpG [16, 17].

Усі TLR, що експресуються в організмі-хазяїні, синтезуються в ендоплазматичному ретикулумі та транспортуються до комплексу Гольджі, звідки потім переміщуються або до клітинної мембрани, або до клітинних компартментів (ендосом) [18]. Транспортування внутрішньоклітинних TLR до ендосом контролюється трансмембранним протеїном UNC93B1, а також протеїном, зв'язаним із TLR4 [19].

Як зазначалося, TLR експресуються усіма клітинами вродженого імунітету — макрофагами, нейтрофілами, дендритними клітинами, НК-клітинами, епітеліальними та ендотеліальними клітинами. Це свідчить про те, що розпізнавання патогенів клітинами вродженого імунітету, опосередковане TLR, має вкрай важливе значення в індукції прозапальної імунної відповіді, що є необхідною для елімінації інфекційного агента.

Мета цього дослідження — розглянути шляхи передачі сигналу із залученням TLR9, його роль у розвитку автоімунних та вірусних захворювань.

### ПЕРЕМІЩЕННЯ TLR9 У ЛІЗОЕНДОСОМАЛЬНУ СИСТЕМУ

У клітинах, що перебувають у стані спокою, TLR9 локалізується в ендоплазматичному

ретикулумі [20, 21] і для ініціації передачі сигналу потребує ендосомного переміщення. Залучення TLR9 може дати два результати: 1) активацію регуляторного фактора інтерферону (англ. *interferon regulating factor*, IRF) у сигнальних ендосомах IRF, що призводить до продукції інтерферону (ІНФ) І типу, та 2) активацію NF-κB у сигнальних ендосомах NF-κB, що індукуює експресію прозапальних цитокінів [22].

Сигнальний каскад, який запускається TLR9, залежить від внутрішньоклітинного переносу рецептора, що регулюється АП [22, 23]. Iwasaki et al. [21] у своєму експерименті на мишах припустили, що TLR9 із апарату Гольджі переміщується до сигнальних ендосом NF-κB, де сприяє транскрипції прозапальних цитокінів у плазматоцитодних дендритних клітинах (пДК), похідних із кісткового мозку. А переміщення його до сигнальних ендосом IRF призводить до продукції ІНФ І типу [20]. Приймавши за основу модель Iwasaki et al., A. L. Blasius et al. продемонстрували, що АР-3 є необхідною умовою продукції ІНФ І типу, особливо у пДК. У своєму дослідженні на мишах із мутаціями в АР-3b1 вони показали, що такі тварини не здатні продукувати ІНФ І типу та TNF-α при активації TLR9 [23].

#### НИЗХІДНА ПЕРЕДАЧА СИГНАЛУ ІЗ ЗАЛУЧЕННЯМ TLR9 І СИНТЕЗ ЦИТОКІНІВ ТА ІНТЕРФЕРОНУ

Передача сигналу розпочинається, як тільки TLR9 та його ліганд потрапляють в ендолізосомальну систему. Активація цього рецептора залежно від типу клітин призводить до продукції різних медіаторів. Так, у конвекційних дендритних клітинах (кДК) та макрофагах активація сигнального каскаду завершується продукцією інтерлейкіну (ІЛ) 6, ІЛ-12 та TNF-α. А у пДК його активація призводить до вивільнення ІНФ І типу.

Як тільки ліганд зв'язується з TLR9, рецептор зазнає конформаційних змін. Запускається каскад реакцій та взаємодій різноманітних доменів та адаптерних молекул, що в кінцевому результаті приводить до активації фактора регуляції ІФН, NF-κB та АП-1, що, у свою чергу, зумовлює індукцію експресії прозапальних цитокінів [24–28].

Продукція ІНФ І типу пДК необхідна для захисту організму-хазяїна від вірусних інфекцій [29]. Після взаємодії TLR9 з АП-3 він переміщується від сигнальних ендосом NF-κB до лізосом, пов'язаних з органелами, та розгалужується [20], приводячи до продукції ІНФα [28, 29] та ІНФ І типу [32]. Крім того, ІНФ І типу є позитивним регулятором власного шляху; він посилює експресію TLR9, чим додатково стимулює свою продукцію [33].

#### TLR9 І АВТОІМУНІТЕТ

Етіопатогенез більшості автоімунних захворювань на теперішній час залишається не до кінця

зрозумілим, оскільки їх розвитку може сприяти велика кількість факторів: наявність аутоантитіл, високі рівні ІНФ І типу у сироватці крові [34] або підвищена деградація клітин, що спричиняють, наприклад, ревматоїдний артрит або системний червоний вовчак [35].

Sean R. Christensen et al. [36] показали, що в мишей зі схильністю до вовчака з дефіцитом TLR9 генерація анти-дцДНК та антихроматинових антитіл специфічно інгібується, тоді як рівні інших аутоантитіл, таких як anti-Sm, залишається стабільним або навіть підвищується. Результати, отримані авторами, демонструють особливу потребу у TLR9 для утворення аутоантитіл *in vivo* та вказують на критичну роль активації вродженого імунітету в автоімунітеті.

Предметом дискусій залишається участь TLR9 у розвитку ревматоїдного артриту. Одні дослідники вважають, що активна передача сигналу цим рецептором робить перебіг захворювання більш тяжким. Наприклад, M. Asagiri et al. [37] продемонстрували, що лікування щурів з ад'ювантіндукованим артритом інгібітором катепсину К привело до погіршення передачі сигналів через TLR9, що, у свою чергу, поліпшило стан тварин. K. Miles et al. [38], навпроти, показали, що введення апоптотичних клітин мишам з колагеніндукованим артритом привело до розвитку TLR9-залежного протизапального ефекту, що підтверджує гіпотезу про те, що передача сигналів із залученням TLR9 захищає від ревматоїдного артриту.

#### TLR9 І ПРОТИВІРУСНИЙ ІМУНІТЕТ

Попередні дослідження щодо залучення TLR9 до передачі сигналу при проникненні в організм-хазяїна патогенів продемонстрували, що активація рецепторів виникає після взаємодії їх із неметильованою ДНК CpG. Проте поглиблені дослідження, проведені в останні роки, демонструють критичне значення цих рецепторів і при ураженні організму РНК-вмісними вірусами.

Jiang J. Et al. [39] у своєму дослідженні із залученням серонегативних осіб, що зазнали впливу ВІЛ-1, продемонстрували, що рівні експресії TLR9 та фактора регуляції ІНФ-7 були вищими у групі серонегативних осіб, що зазнали впливу ВІЛ-1. Це вказує на те, що підвищена експресія молекул шляху TLR9 в моноцитах може брати участь в опосередкуванні резистентності цих індивідуумів до ВІЛ-1. Автори вивчали також рівні противірусних факторів і хемокінів, що пов'язані як зі шляхом TLR9, так і з зараженням/реплікацією ВІЛ-1 та продемонстрували, що серонегативні особи, які зазнали впливу ВІЛ-1, порівняно з контрольною групою демонструють підвищення ІФНα, MIP-1α та MIP-1β у мононуклеарах периферичної крові на рівні мРНК та ІФНβ, MIP-1α, MIP-1β і RANTES на рівні білка у плазмі крові. Таким чином, автори продемонстрували, що підвищення активності

шляху TLR9 у моноцитах/макрофагах сприяє зниженню сприйнятливості моноцитарних дендритних клітин до ВІЛ-1 у серонегативних осіб, які зазнали впливу ВІЛ-1 [37].

В іншому дослідженні за участі осіб, які вживали наркотичні речовини, показано, що зниження експресії та активності TLR9, які є наслідком вживання наркотиків, супроводжується зниженням ключових факторів та цитокинів шляху TLR9, сприяє інфікуванню ВІЛ та його реплікації у макрофагах [40].

За останні кілька років розуміння внутрішньоклітинних каскадів передачі сигналів, мереж, регуляції транскрипції та інших проце-

сів, пов'язаних з активацією і відповіддю TLR, значно поглибилось.

Проте залишається ще багато питань щодо ролі рецепторів розпізнавання образів загалом та зокрема Toll-like у захисті організму від соціально значущих хвороб.

Подальше поглиблене вивчення залучення Toll-like-рецепторів у захист організму як від ДНК-, так і від РНК-вмісних вірусів дасть змогу не тільки краще зрозуміти пошкодження імунної системи, що призводить до розвитку та поширення соціально значущих хвороб, але й розробити методи і засоби, направлені на підтримку й посилення імунної відповіді.

#### Список літератури

1. Основи загальної імунології: підручник за заг. ред. М. М. Попова / М. М. Попов та ін. Харків, 2018. 290 с.
2. Galli S. J., Borregaard N., Wynn T. A. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils // *Nat. Immunol.* 2011. № 12 (11). P. 1035–1044. doi: 10.1038/ni.2109
3. Kumar V., Ahmad A. Role of MAIT cells in the immunopathogenesis of inflammatory diseases: New players in old game // *Int. Rev. Immunol.* 2018. № 37 (2). P. 90–110. doi: 10.1080/08830185.2017.1380199
4. Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation // *Cell.* 2010. № 140 (6). P. 805–820. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.022
5. Areschoug T., Gordon S. Pattern recognition receptors and their role in innate immunity: focus on microbial protein ligands // *Contrib. Microbiol.* 2008. № 15. P. 45–60. doi: 10.1159/000135685
6. Uematsu S., Akira S. Toll-like receptors and innate immunity // *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2006. № 84 (9). P. 712–725. doi: 10.1007/s00109-006-0084-y
7. Majewska M., Szczepanik M. The role of Toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune responses and their function in immune response regulation // *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*. 2006. № 60. P. 52–63.
8. O'Neill L. A., Bowie A. G. The family of five: tIR – domain – containing adaptors in Toll-like receptor signaling // *Nat. Rev. Immunol.* 2007. № 7. P. 353–364. doi: 10.1038/nri2079
9. Leucine-rich repeats and pathogen recognition in Toll-like receptors / J. K. Bell et al. // *Trends Immunol.* 2003. Vol. 24. P. 528–533. doi: 10.1016/s1471-4906(03)00242-4
10. Bowie A., O'Neill L. A. The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: signal generators for pro-inflammatory interleukins and microbial products // *J. Leuko. Biol.* 2000. Vol. 67 (4). P. 508–514. doi: 10.1002/jlb.67.4.508
11. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling // *Nat. Rev. Immunol.* 2004. Vol. 4 (7). P. 499–511. doi: 10.1038/nri1391
12. The evolution of vertebrate Toll-like receptors / J. C. Roach et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102 (27). P. 9577–9582. doi: 10.1073/pnas.0502272102
13. Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity // *Immunity.* 2011. Vol. 34 (5). P. 637–650. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.006
14. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3 / L. Alexopoulou, A. C. Holt, R. Medzhitov, R. A. Flavell // *Nature.* 2001. Vol. 413 (6857). P. 732–738. doi: 10.1038/35099560
15. Kawasaki T., Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways // *Front. Immunol.* 2014. Vol. 5. P. 461. doi: https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00461
16. A protein associated with Toll-like receptor (TLR) 4 (PRAT4A) is required for TLR-dependent immune responses / K. Takahashi et al. // *J. Exp. Med.* 2007. Vol. 204 (12). P. 2963–2976. doi: 10.1084/jem.20071132
17. TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome / E. Latz et al. // *Nat. Immunol.* 2004. Vol. 5. P. 190–198. doi: 10.1038/ni1028
18. UNC93B1 delivers nucleotide – sensing Toll-like receptors to endolysosomes / Y. M. Kim, M. M. Brinkmann, M. E. Paquet, H. L. Ploegh // *Nature.* 2008. Vol. 452. P. 234–238. doi: 10.1038/nature06726
19. Sasai M., Linehan M. M., Iwasaki A. Bifurcation of Toll-like receptor 9 signaling by adaptor protein 3 // *Science.* 2010. Vol. 329. P. 1530–1534. doi: 10.1126/science.1187029
20. Slc15a4, AP-3, and Hermansky – Pudlak syndrome proteins are required for Toll-like receptor signaling in plasmacytoid dendritic cells / A. L. Blasius et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107. P. 19973–19978. doi: https://doi.org/10.1073/pnas.1014051107
21. Sato A., Linehan M. M., Iwasaki A. Dual recognition of herpes simplex viruses by TLR2 and TLR9 in dendritic cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103. P. 17343–17348. doi: https://doi.org/10.1073/pnas.0605102103
22. Sequential control of Toll-like receptor – dependent responses by IRAK1 and IRAK2 / T. Kawagoe et al. // *Nat. Immunol.* 2008. Vol. 9. P. 684–691.
23. Inhibition of TRAF6 ubiquitin – ligase activity by PRDX1 leads to inhibition of NFkB activation and autophagy activation / Y. Min et al. // *Autophagy.*

2018. Vol. 14. P. 1347–1358. doi: <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1474995>
24. Activation of IKK $\alpha$  target genes depends on recognition of specific kappaB binding sites by RelB: p52 dimers / G. Bonizzi et al. // *Embo J.* 2004. Vol. 23. P. 4202–4210. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600391>
  25. The kinase TAK1 can activate the NIK-I kappaB as well as the MAP kinase cascade in the IL-1 signalling pathway / J. Ninomiya – Tsuji et al. // *Nature.* 1999. Vol. 398. P. 252–256. doi: <https://doi.org/10.1038/18465>
  26. Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors / A. Takaoka et al. // *Nature.* 2005. Vol. 434. P. 243–249. doi: <https://doi.org/10.1038/nature03308>
  27. Human TLR-7-, -8-, and -9-mediated induction of IFN- $\alpha$ /beta and - $\lambda$  Is IRAK-4 dependent and redundant for protective immunity to viruses / Yang K, Puel A, Zhang S, et al. // *Immunity.* 2005. Vol. 23. P. 465–478. doi: <https://doi.org/10.3410/f.1029148.343575>
  28. Interferon- $\alpha$  induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6 / T. Kawai et al. // *Nat. Immunol.* 2004. Vol. 5. P. 1061–1068. doi: <https://doi.org/10.1038/ni1118>
  29. Spatiotemporal regulation of MyD88-IRF-7 signalling for robust type-I interferon induction / K. Honda et al. // *Nature.* 2005. Vol. 434. P. 1035–1040. doi: <https://doi.org/10.1038/nature03547>
  30. Toll-like receptor-mediated induction of type I interferon in plasmacytoid dendritic cells requires the rapamycin-sensitive PI(3)K-mTOR-p70S6K pathway / W. Cao et al. // *Nat. Immunol.* 2008. Vol. 9. P. 1157–1164. doi: <https://doi.org/10.1038/ni.1645>
  31. BAD-LAMP controls TLR9 trafficking and signalling in human plasmacytoid dendritic cells / A. Combes et al. // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8. P. 913.
  32. Lou H., Pickering M. C. Extracellular DNA and autoimmune diseases // *Cell Mol. Immunol.* 2018. Vol. 15. P. 746–755. doi: <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.136>
  33. Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 plays an essential role for Toll-like receptor (TLR)7- and TLR9-mediated interferon- $\alpha$  induction / S. Uematsu et al. // *J. Exp. Med.* 2005. Vol. 201. P. 915–923. doi: <https://doi.org/10.1084/jem.20042372>
  34. Toll-like receptor 9 controls anti-DNA autoantibody production in murine lupus / R. Christensen Sean et al. // *J. Exp. Med.* 2005. Vol. 202 (2). P. 321–331. doi: [10.1084/jem.20050338](https://doi.org/10.1084/jem.20050338)
  35. Cathepsin K-dependent toll-like receptor 9 signaling revealed in experimental arthritis / M. Asagiri et al. // *Science.* 2008. Vol. 319. P. 624–627.
  36. A tolerogenic role for Toll-like receptor 9 is revealed by B-cell interaction with DNA complexes expressed on apoptotic cells / K. Miles et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. Vol. 109. P. 887–892. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1109173109>
  37. Opiate use inhibits TLR9 signaling pathway in vivo: possible role in pathogenesis of HIV-1 infection / Y. Liao et al. // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. P. 13071. doi: [10.1038/s41598-017-12066-3](https://doi.org/10.1038/s41598-017-12066-3)

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА TOLL-LIKE-РЕЦЕПТОРОВ И ИХ УЧАСТИЯ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ

К. А. ВЕКЛИЧ, Т. И. ЛЯДОВА, Н. Н. ПОПОВ, О. В. ГОЛОЛОВОВА, О. Г. СОРОКИНА

Представлена обобщенная информация о механизмах, происходящих при активации экспрессии Toll-like-рецепторов 9-го типа, продукции интерферонов 1-го типа и цитокинов с вовлечением этих рецепторов распознавания образов. С учетом данных обзора литературы описано значение активации экспрессии Toll-like-рецепторов 9-го типа в развитии аутоиммунных и вирусных заболеваний.

*Ключевые слова:* корь, Toll-like-рецепторы, цитокины, интерферон, аутоиммунные заболевания.

### GENERAL CHARACTERISTICS OF TOLL-LIKE RECEPTORS AND THEIR PARTICIPATION IN IMMUNE RESPONSE

K. A. VEKLICH, T. I. LIADOVA, M. M. POPOV, O. V. GOLOLOBOVA, O. G. SOROKINA

The summarized information on the mechanisms that occur during the activation of Toll-like receptors type 9 expression, the production of type I interferons and cytokines with the involvement of these image recognition receptors has been presented. Based on the literature review, the importance of activating the expression of Toll-like receptors of type 9 in the development of autoimmune and viral diseases has been described.

*Key words:* measles, Toll-like receptors, cytokines, interferon, autoimmune diseases.

Надійшла 25.02.2021