

Врожденный иммунитет: на стыке наук

С.А. НЕДОСПАСОВ

Институт Молекулярной Биологии им.
В.А. Энгельгардта РАН

Институт Физико-химической биологии им.
А.Н. Белозерского МГУ





Мечников Илья Ильич
(родился в 1845 г. под Харьковом, умер в 1916 г. в Париже)
***Нобелевская премия по физиологии и
медицине 1908 г.***



**Скопление фагоцитов в личинке
морской звезды вокруг занозы**

Важные факты про врожденный иммунитет

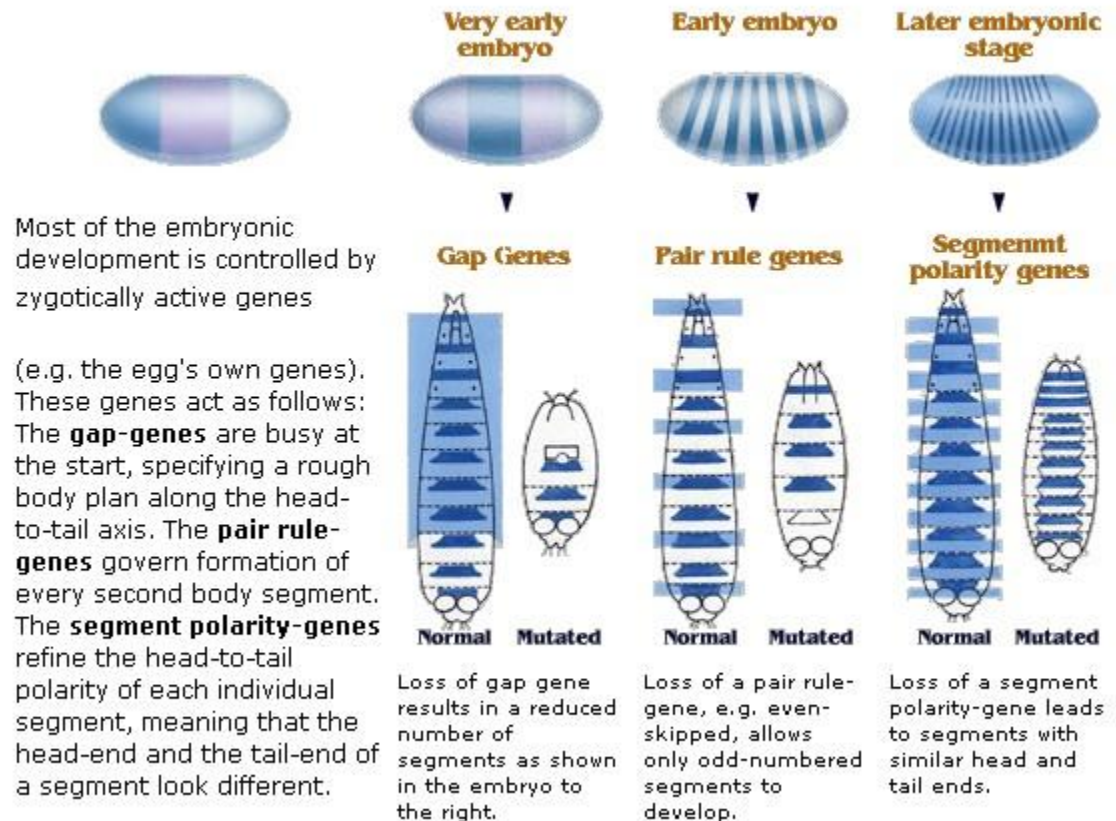
1. Защищает все виды живых существ, в то время как адаптивный иммунитет есть только у высших позвоночных.
2. Является и главной системой (сенсором) распознавания «чужого» (например, заражения патогенами), и первой линией защиты.
3. Кодировается относительно небольшим числом генов, которые не могут увеличивать разнообразия рецепторов с помощью соматических перестроек (как это происходит в адаптивном иммунитете).
4. Из-за ограниченности числа генов рецепторы (сенсоры) распознают не индивидуальный патоген, а целые классы патогенов.



Christiane Nusslein-Volhard

*Нобелевская премия
по физиологии и медицине
1995 г.*

Nüsslein-Volhard's and Wieschaus' Discoveries

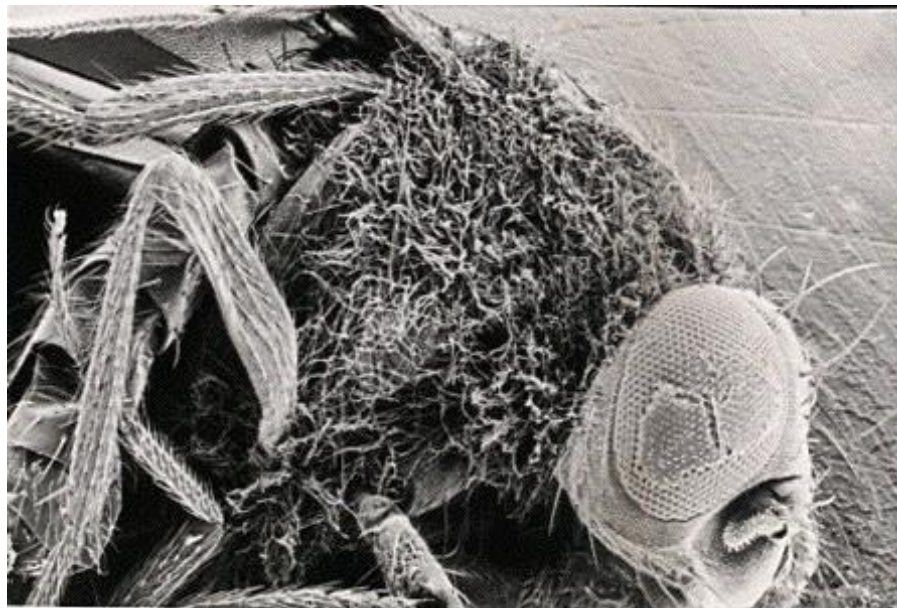




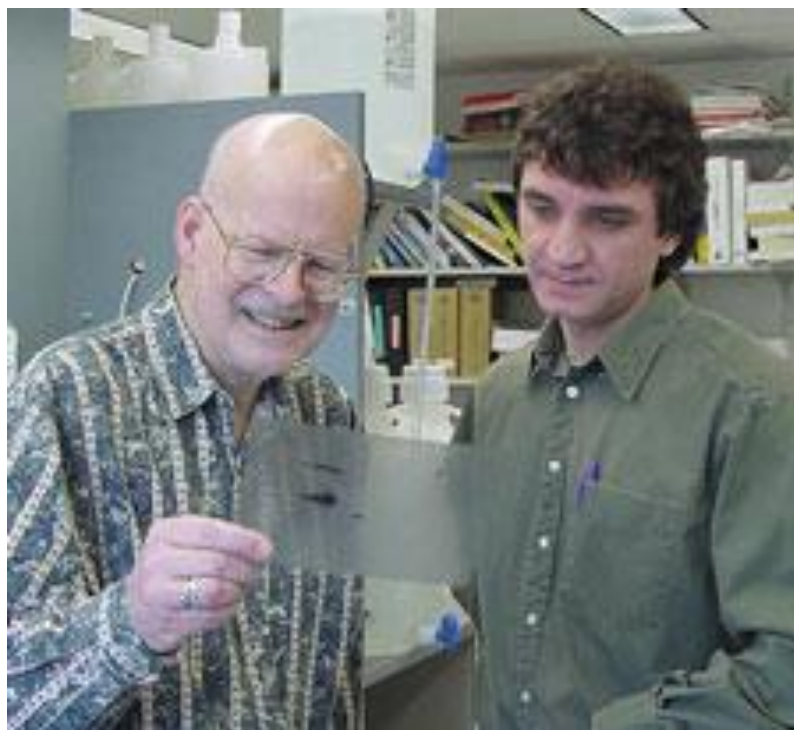
Jules Hoffmann

**Président de l'Académie des Sciences
Иностранный член РАН**

Муши без гена Toll зарастают грибками и погибают

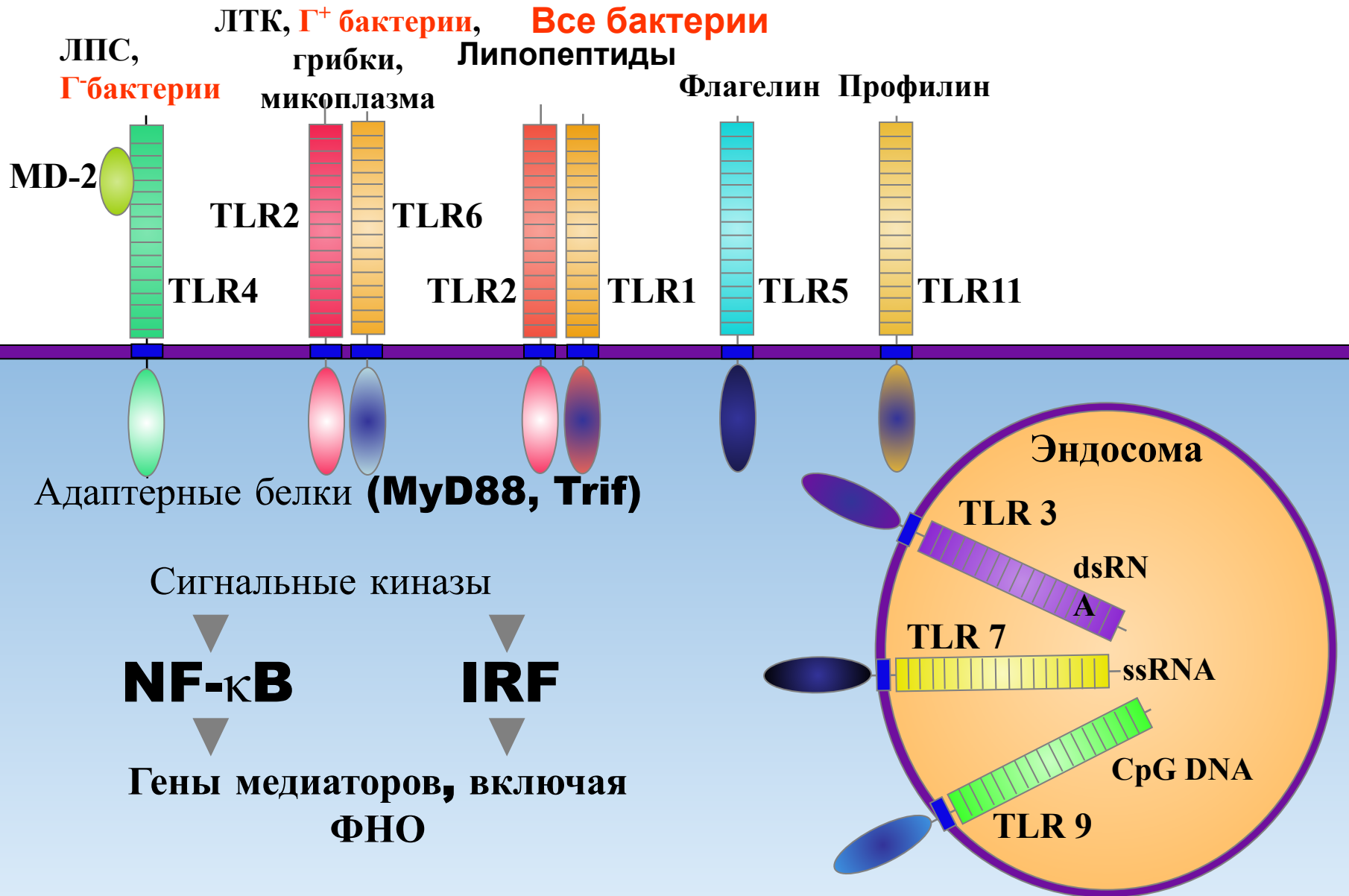


*Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA.
Cell, 1996, 20:973-83*



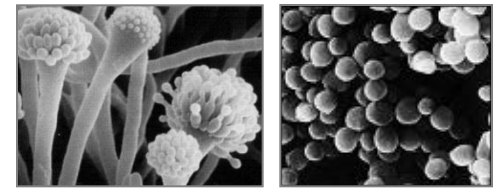
Чарльз Дженоуэй (1943-2003) и Руслан Меджитов

TLR семейство и его лиганды у человека и мыши



Парадокс эволюции TLR семейства

Грибки



Сенсоры
микробов

Г⁺ бактерии

Spaetzle



Toll

MyD88

Tube

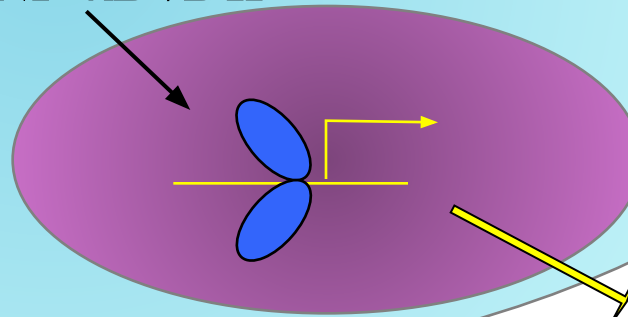
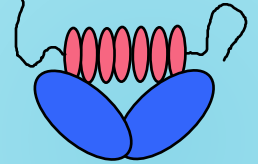


Pelle

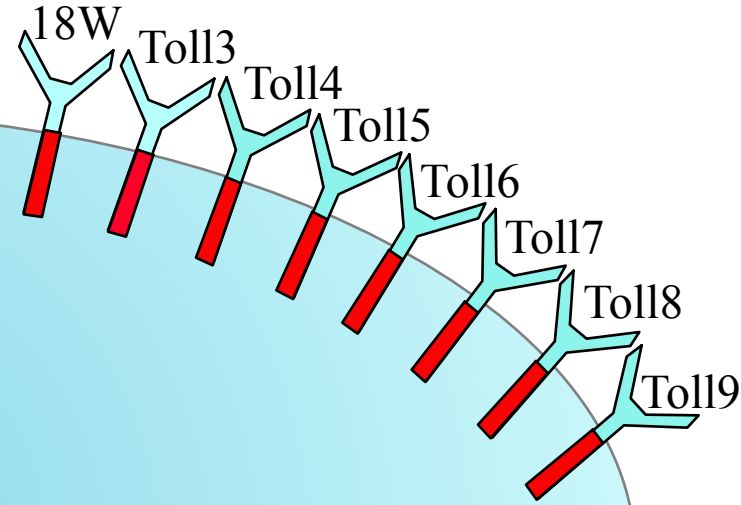


I-κB/
CACTUS

NF-κB /DIF



Защитные
пептиды



Дополнительные факты про врожденный иммунитет

1. Принципиально разные стратегии распознавания:

во врожденном - рецептор узнает инвариантные химические структуры целого класса патогенов

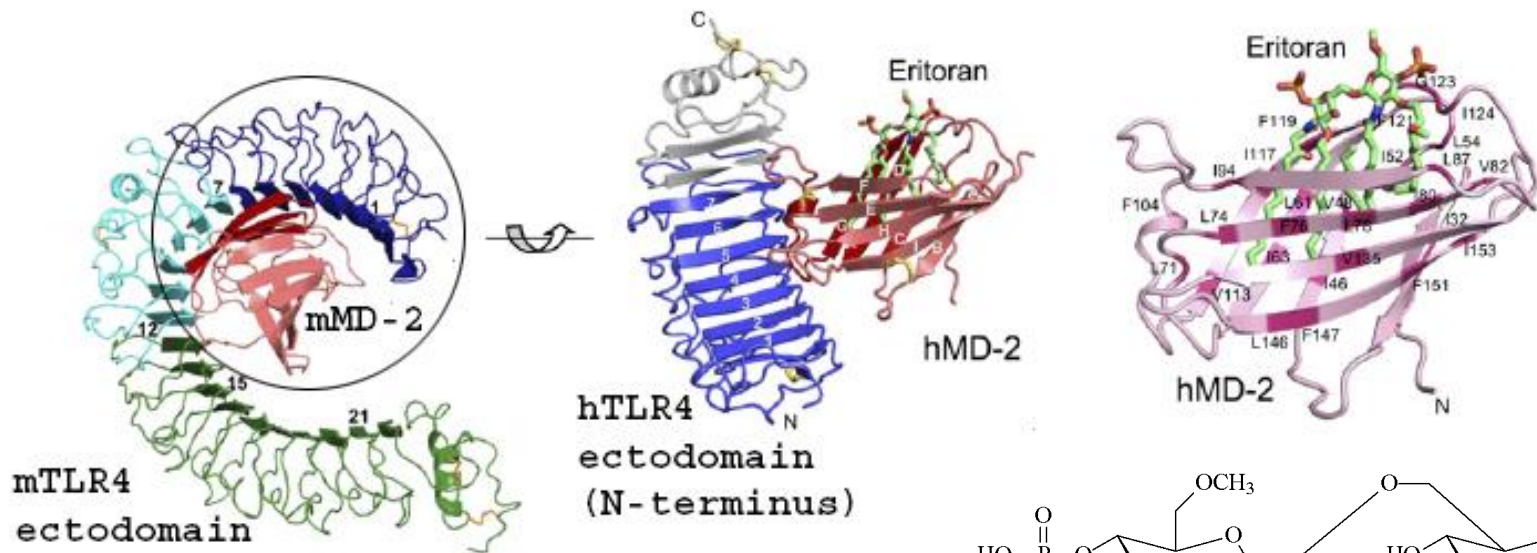
в адаптивном – генерируется набор рецепторов со случайной специфичностью, которые потом отбираются.

2. За каждую из двух ветвей иммунитета, в первом приближении, отвечают разные виды клеток иммунной системы (иммуноцитов).

Клетки адаптивного иммунитета - Т и В лимфоциты (а также НКТ клетки).

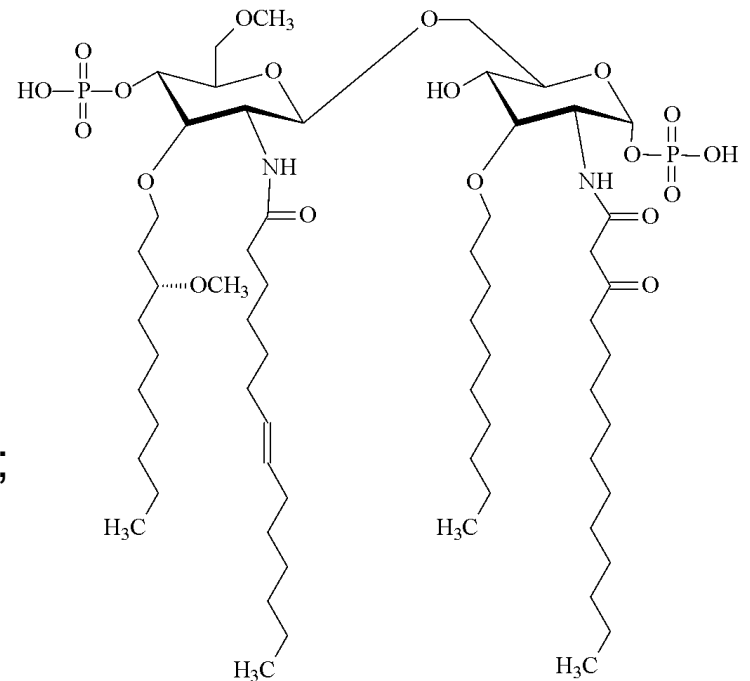
Клетки врожденного иммунитета – макрофаги (наши главные фагоциты!), нейтрофилы, дендритные клетки, НК-клетки.

Структура комплекса LPS-MD-2-TLR4



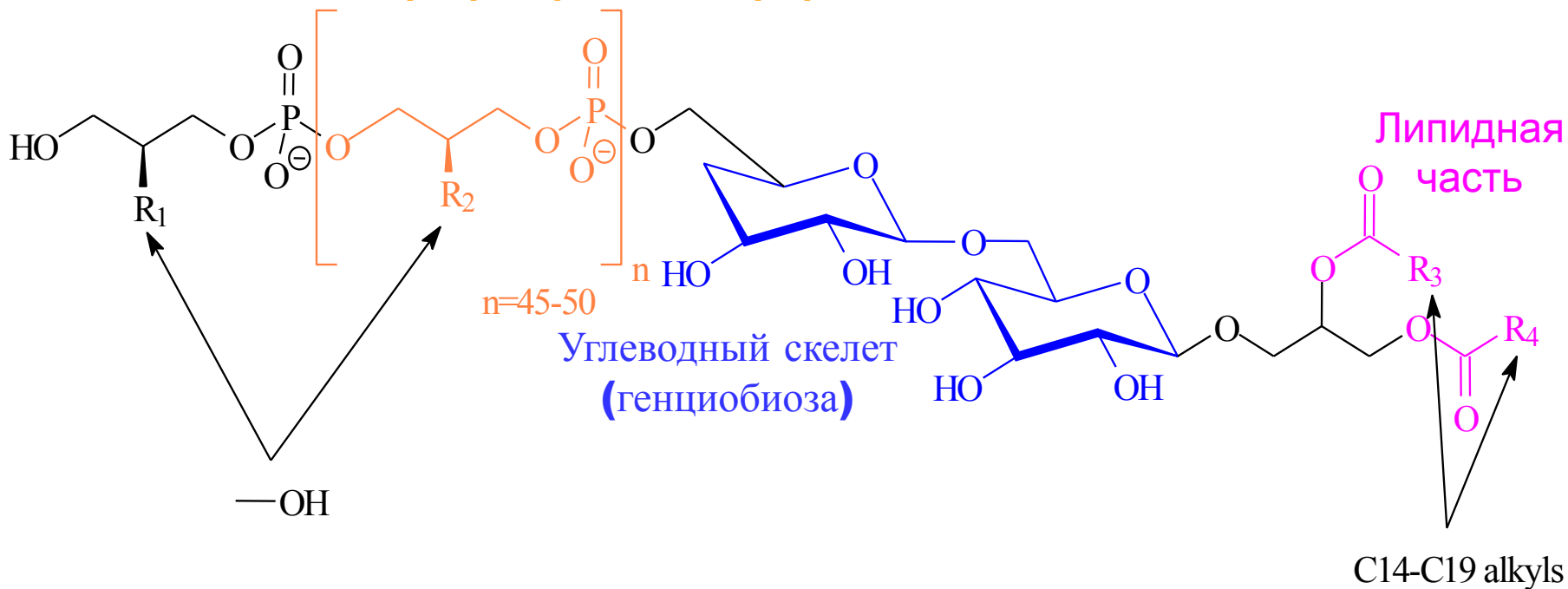
Kim et al, Cell 130, 906–917, 2007

ERITORAN – синтетический аналог непатогенного липида A LPS *R. sphaeroides*. Является мощным антагонистом TLR4-MD-2; находится в III фазе клинических испытаний при тяжелом сепсисе

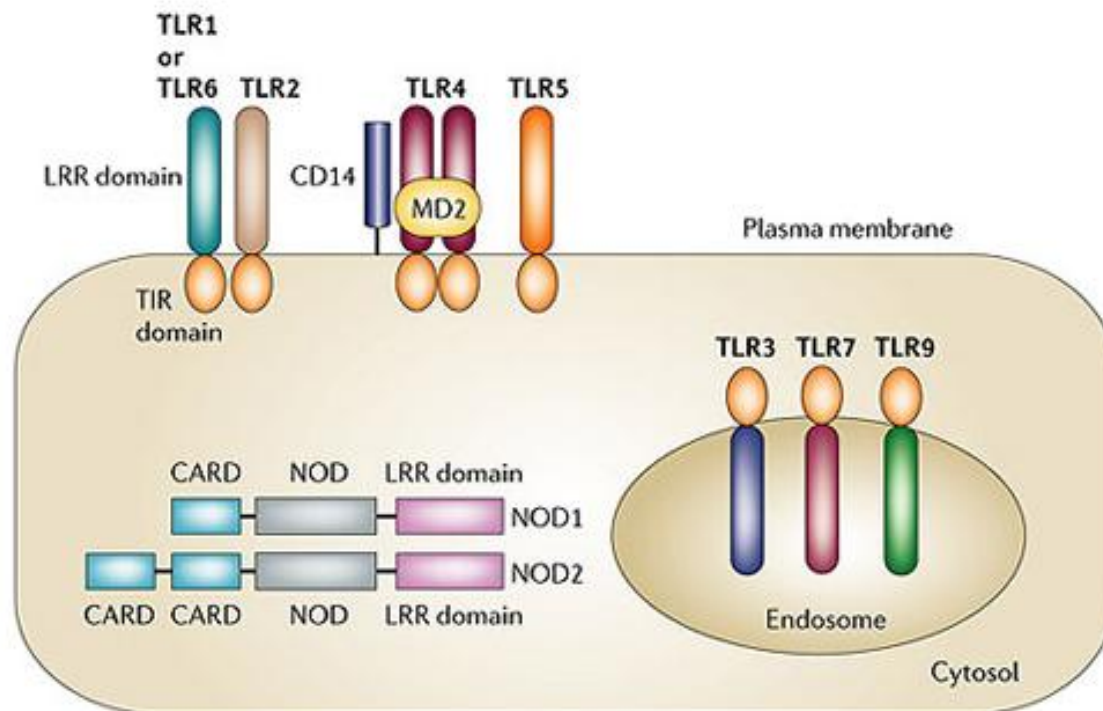


Структура липотейхоевых кислот из клеточных стенок Γ^+ бактерий – лигандов **TLR1/2**

Полиглицерофосфатный эфир



Локализация главных сенсоров и рецепторов врожденного иммунитета: **TLRs** и **NLRs**



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Immunology

Один из результатов активации NLR рецепторов – продукция ИЛ-1, который сам запускает каскад, подобный TLR

Механизм, позволяющий избежать узнавания своей ДНК и РНК, - компарментализация

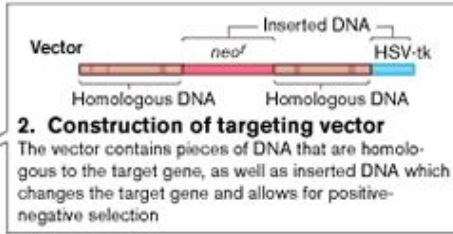
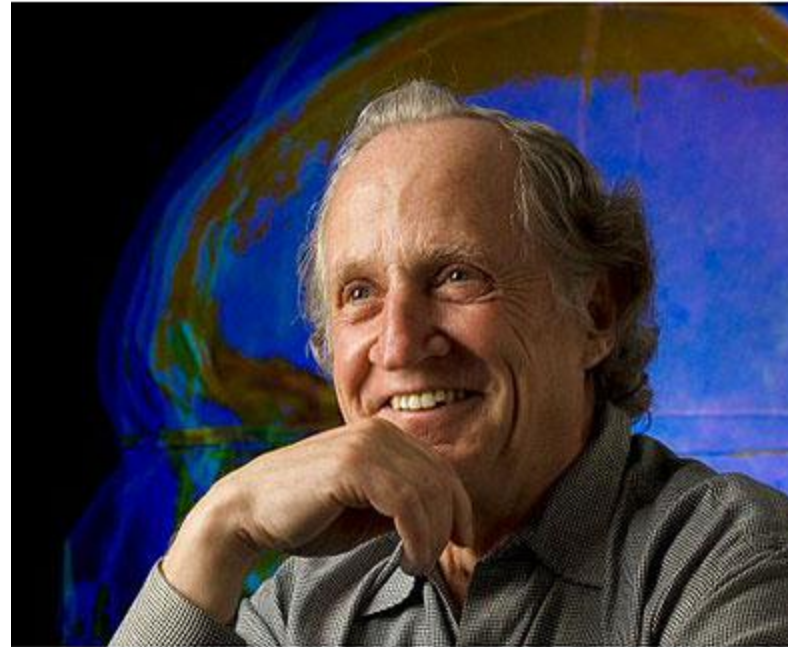
Дополнительные соображения про врожденный иммунитет

1. **Неприродные химические соединения могут распознаваться рецепторами врожденного иммунитета, являясь их активаторами (агонистами) или блокаторами (антагонистами).**
2. **Осмысленные манипуляции с системой врожденного иммунитета будут иметь возрастающее практическое значение для медицины.**
3. **Значительная часть рекламируемых иммуностимуляторов относятся к природным или неприродным лигандам рецепторов врожденного иммунитета. Применять их надо с большой осторожностью и умом (главное, чтобы не вредили).**

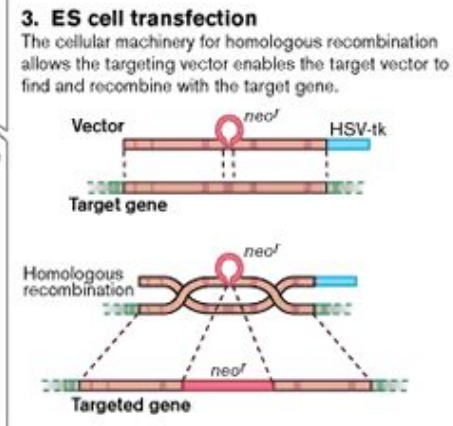
General strategy for gene targeting in mice

Step 1 Gene targeting in ES cells

1. ES cell culture
Embryonic stem (ES)



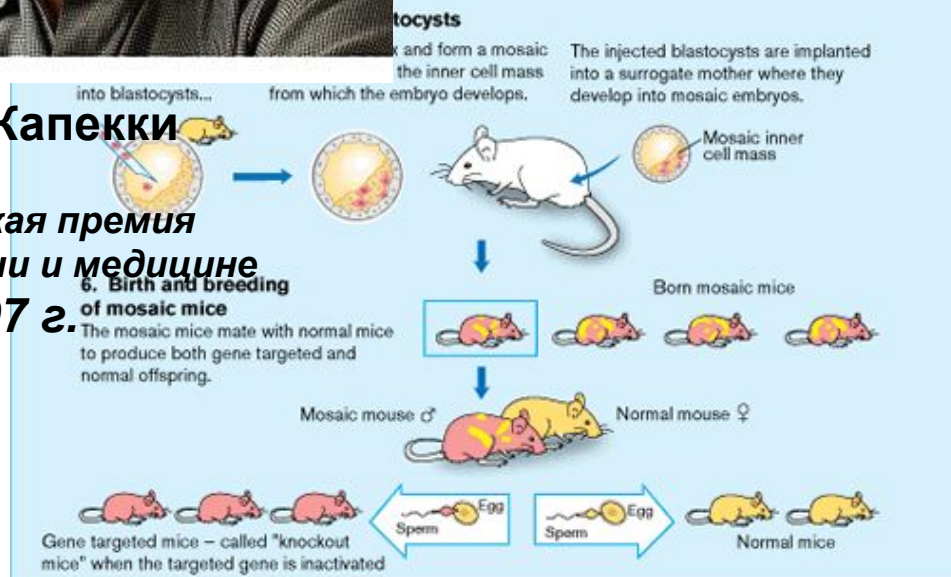
2. Construction of targeting vector
The vector contains pieces of DNA that are homologous to the target gene, as well as inserted DNA which changes the target gene and allows for positive-negative selection



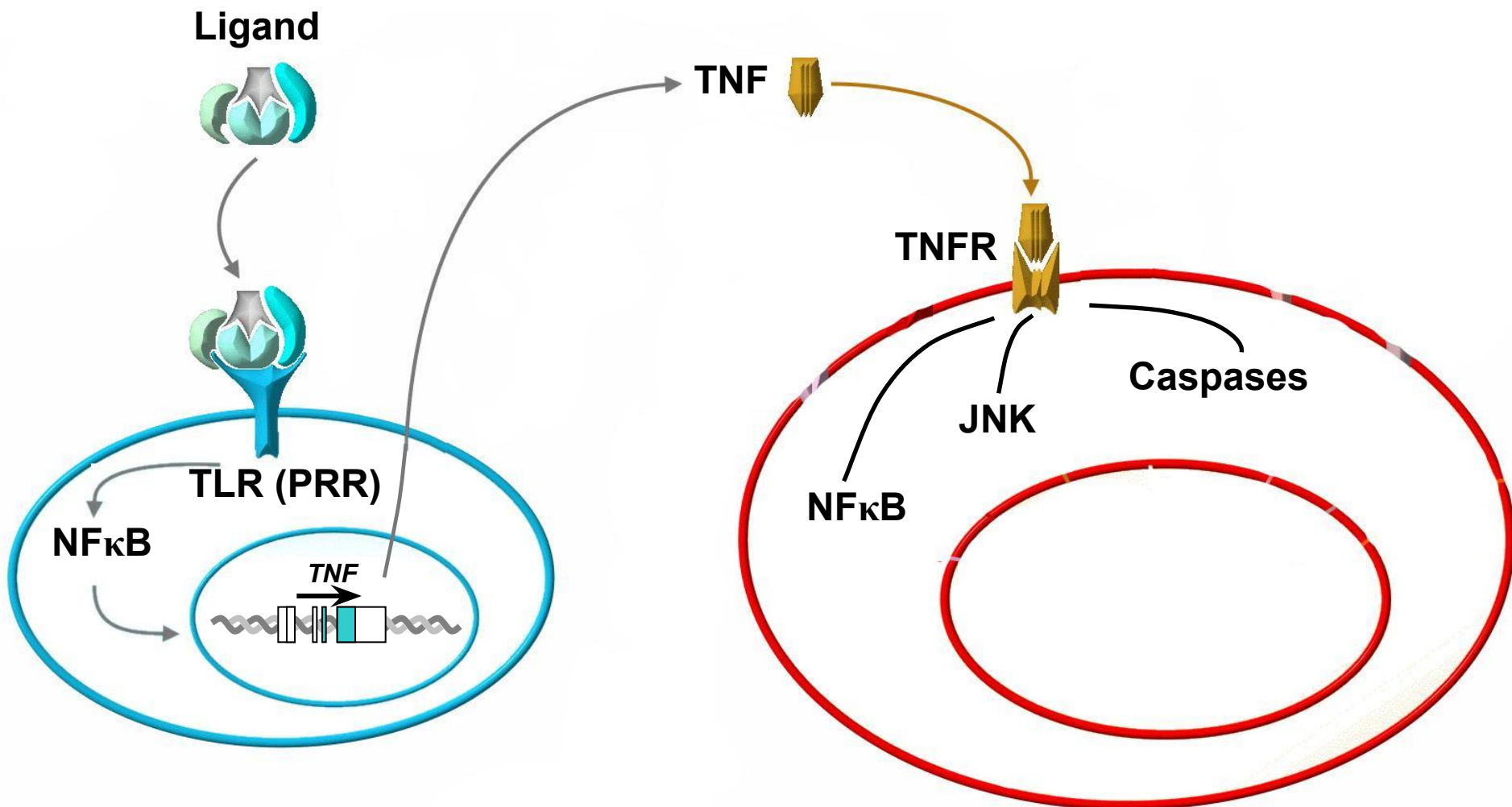
3. ES cell transfection
The cellular machinery for homologous recombination allows the targeting vector enables the target vector to find and recombine with the target gene.

ES cells to gene targeted mice

Марио Капекки
Нобелевская премия
по физиологии и медицине
2007 г.



Рецепторы врожденного иммунитета активируют Фактор Некроза Опухолей (один из иммуномодуляторных цитокинов)



PERIODIC TABLE OF HUMAN CYTOKINES & CHEMOKINES



1 17.5, 26 157, 233 TNF-α Tumor Necrosis Factor Alpha TNF RI (TNFR1) TNF RII (TNFR2)	2 50 193 CD27L CD27 Ligand
4 171, 194 LT-α Ligand for Tumor Necrosis Factor Receptor Type 1	5 40 234 CD30L CD30 Ligand
13 33 244 LT-β Ligand for Tumor Necrosis Factor Receptor Type 2	14 39 261 CD40L CD40 Ligand
22 26, 40 155, 281 FasL Fas Ligand	23 40 250 APRIL Apolipoprotein B2 Cleaving One Domain Receptor Ligand
40 32 281 TRAIL TNF Receptor 1-Inducible Ligand	41 18, 32 152, 285 TALL-1 TNF Receptor 1-Inducible Ligand
58 177, 317 TRANCE TNF Receptor 1-Inducible Ligand	59 45 254 4-1BBL 4-1BB Ligand
76 29 240 LIGHT Ligand for HVEM	77 32 183 OX40L OX40 Ligand
79 18, 30-35 TWEAK Tumor Necrosis Factor Receptor Type 1-Inducible Ligand	80 177 GITRL GITR Ligand

II/III			IV			V			VI*			VII*			VIII			IX			X*			XI																																																																											
3	25 ^d 112 TGF-β1 Transforming Growth Factor β1	3	25 ^d 112	7	40-46 ^d 165 VEGF-A Vascular Endothelial Growth Factor A	8	6 53 EGF Epidermal Growth Factor	9	19-23 86 HB-EGF Heparin-Binding EGF	10	26 184 IL-6 Interleukin 6	11	25-44 see note SCF Stem Cell Factor	12	30-38 ^d 100-140 BMPs Bone Morphogenetic Proteins	16	46-60 ^d 167, 186 VEGF-B Vascular Endothelial Growth Factor B	17	6 50 TGF-α Transforming Growth Factor α	18	25-45 296 SMDF Stromal Cell Derived Factor	19	38-67 180 LIF Leukemia Inhibitory Factor	20	30, 36 245, 235 Flt-3L Flt-3 Ligand	21	25-42 ^d 96-134 GDNFs Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factors	22	26, 40 155, 281 FasL Fas Ligand	23	40 250 APRIL Apolipoprotein B2 Cleaving One Domain Receptor Ligand	24	30-40 126 IL-9 Interleukin 9	25	14-30 133 IL-3 Interleukin 3	26	17.5 159 IL-1α Interleukin 1α	27	34-50 ^d 143 IFN-γ Interferon γ	28	7.5 70 IGF-I Insulin-Like Growth Factor I	29	69 ^d , 34 ^d 460 ^d , 234 ^d HGF Hepatocyte Growth Factor	30	18 155 FGF-a Fibroblast Growth Factor a	31	13.2 120 NGF Nerve Growth Factor	32	58-85 332 Tpo Thrombopoietin	33	29 ^d 125 PDGF-AA Platelet-Derived Growth Factor AA	34	42 ^d 125, 116 VEGF-C Vascular Endothelial Growth Factor C	35	11 98 AR Artemin	36	23 178 IL-11 Interleukin 11	37	21 205 CT-1 Cytokine 1	38	45-200 554 ^d M-CSF Macrophage Colony-Stimulating Factor	39	24-28 ^d 115 ^d , 116 ^d Act1 Activin 1	40	32 281 TRAIL TNF Receptor 1-Inducible Ligand	41	18, 32 152, 285 TALL-1 TNF Receptor 1-Inducible Ligand	42	14-15 114 IL-15 Interleukin 15	43	45 ^d 115 IL-5 Interleukin 5	44	17.3 153 IL-1β Interleukin 1β	45	39 ^d 160 IL-10 Interleukin 10	46	7.5 67 IGF-II Insulin-Like Growth Factor II	47	56 ^d , 30 ^d 465 ^d , 228 ^d MSP Mast Cell Proximate Stem Cell Protein	48	18-24 155-230 FGF-b Fibroblast Growth Factor Basic	49	13.6 119 BDNF Brain-Derived Neurotrophic Factor	50	34 166 Epo Erythropoietin	51	125 ^d , 109 ^d PDGF-AB Platelet-Derived Growth Factor AB	52	114 VEGF-D Vascular Endothelial Growth Factor D	53	32 178 BTC Bone Tissue Cell-Attracting Cytokine	54	174, 177 G-CSF Granulocyte Colony-Stimulating Factor	55	22 200 CNTF Ciliary Neurotrophic Factor	56	13 121 MK Mantle Cell Lymphoma Inducer	57	-32, 105 ^d 305 ^d , 116 ^d Act2 Activin 2
58	177, 317 TRANCE TNF Receptor 1-Inducible Ligand	59	45 254 4-1BBL 4-1BB Ligand	60	15-19 129 IL-4 Interleukin 4	61	14-35 137 GM-CSF Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor	62	18 157 IL-18 Interleukin 18	63	15, 22 136 IL-17 Interleukin 17	64	14 see note IL-16 Interleukin 16	65	70 ^d see note IL-12 Interleukin 12	66	worked worked FGF-3-19 Fibroblast Growth Factor 3-19	67	13.6 119 NTs Neurotrophins	68	-75 -500 Ang 1-4 Angiogenin 1-4	69	25 ^d 109 PDGF-BB Platelet-Derived Growth Factor BB	70	46-50 ^d see note PIGF Placental Growth Factor	71	-45 ^d , 11 230 ^d , 11 HRGs Hepatocyte Receptors	72	16 146 OB Osteonectin	73	28-32 196 OSM Oncostatin M	74	18 136 PTN Pleciostrin	75	140 ^d 535 MIS Müllerian Inhibiting Substance																																																																

- CYTOKINE FAMILY KEY**
- I TNF - contain highly conserved carboxy terminal domains, can induce receptor internalization influencing signaling pathways.
 - II γc - receptors contain a common γ chain (γc).
 - III IL-4 & IL-13 - bind to shared heteromultimeric receptor complexes (IL-4 receptors contain a common β chain (βc)).
 - IV ILc - receptors contain a common β chain (βc).
 - V IL-1 - synthesized as glycosylated proforms lacking signal peptides.
 - VI IGF - share sequence homology with the insulin family of proteins.
 - VII HGF & MSP - contain a 4 triple domain and a pro-peptide protease domain that lacks enzymatic activity.
 - VIII FGF - heparin-binding polypeptides.
 - IX Neurotrophic Factors - induce signal transduction through ligand induced dimerization and activation of tyrosine receptors.
 - X Tpo & Epo - share sequence homology with the cytokine family of proteins.
 - XI PDGF, VEGF, PIGF - dipeptide angiogenic factors containing an 8-cysteine motif.
 - XII EGF - contain at least one extracellular EGF structural unit (conserved 6-cysteine motif that forms 3 disulfide bonds).
 - XIII gp130 - receptors are homologous to or contain the gp130 subunit as the common signaling component.
 - XIV SCF, Flt-3L, M-CSF - contain a 4 helix bundle structure in the extracellular domain and 4 conserved tyrosine receptors are tyrosine kinases.
 - XV NK & PTN - products of retroviral; acid-responsive genes; developmentally regulated molecules.
 - XVI IL-3 Superfamily - contains a highly conserved 7-cysteine domain that forms a characteristic cysteine knot.

- CHEMOKINE FAMILY KEY**
- C Lymphotactin - target populations include: lymphoid cells (T and NK cells).
 - CX₂C Fractalkine - target populations include: lymphoid cells (T and NK cells), monocytes and PMNs.
 - CC β Subfamily - target populations include: multiple leukocyte subsets (neutrophils, eosinophils, basophils, mast cells, dendritic cells, NK cells); generally inactive on PMNs.
 - CXC α Subfamily - target populations include: PMNs, T and B cells.
 - C CX₃C

KEY

Note Number - See Cytokine Name for additional information.

1 17.5, 26
157, 233

Molecular Weight (kDa)
17.5, 26, 157, 233

Amino Acids
157, 233

Cytokine Abbreviation
TNF-α

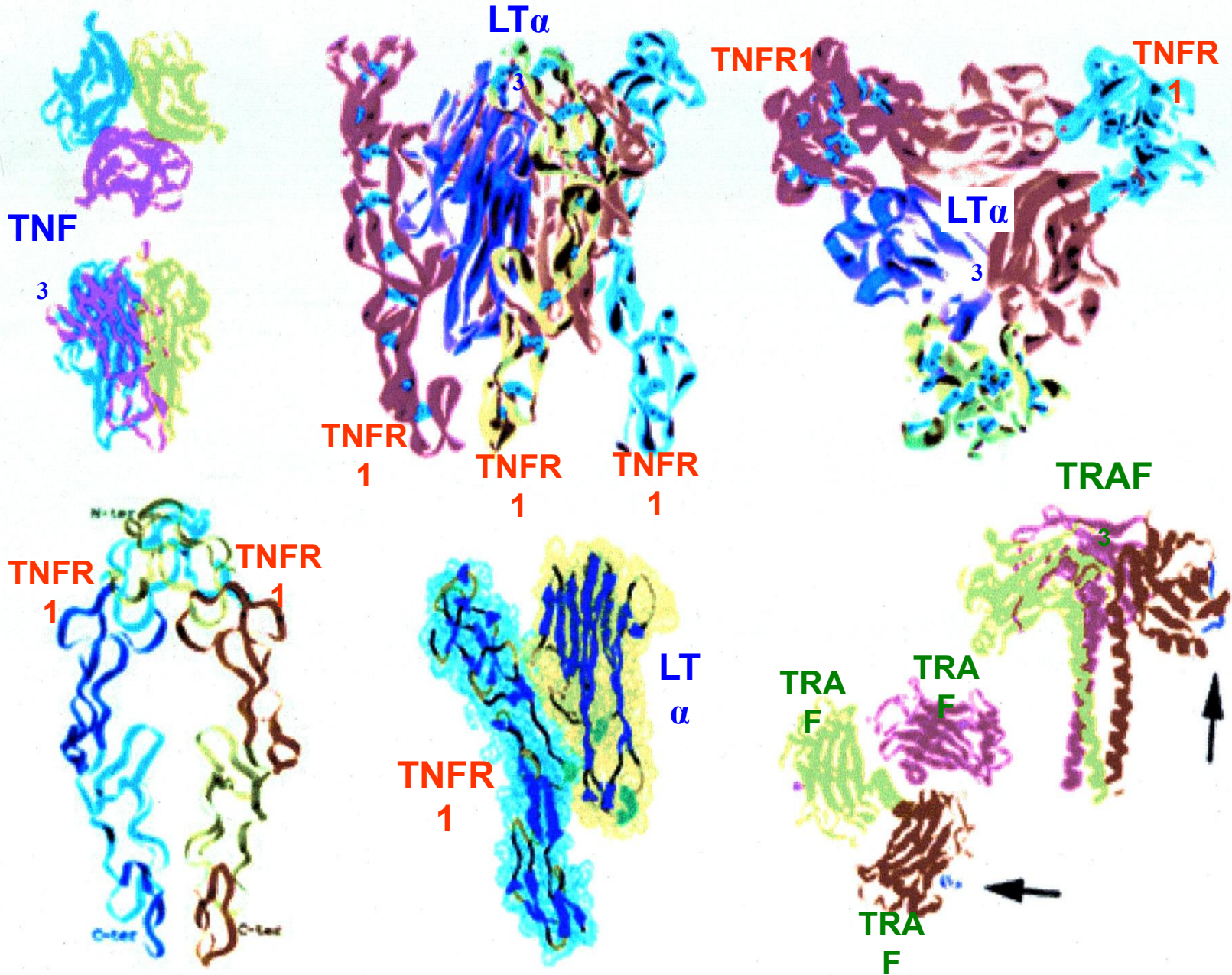
Full Name
Tumor Necrosis Factor Alpha

Receptors [R_α] (M)
TNF RI (TNFR1)
TNF RII (TNFR2)

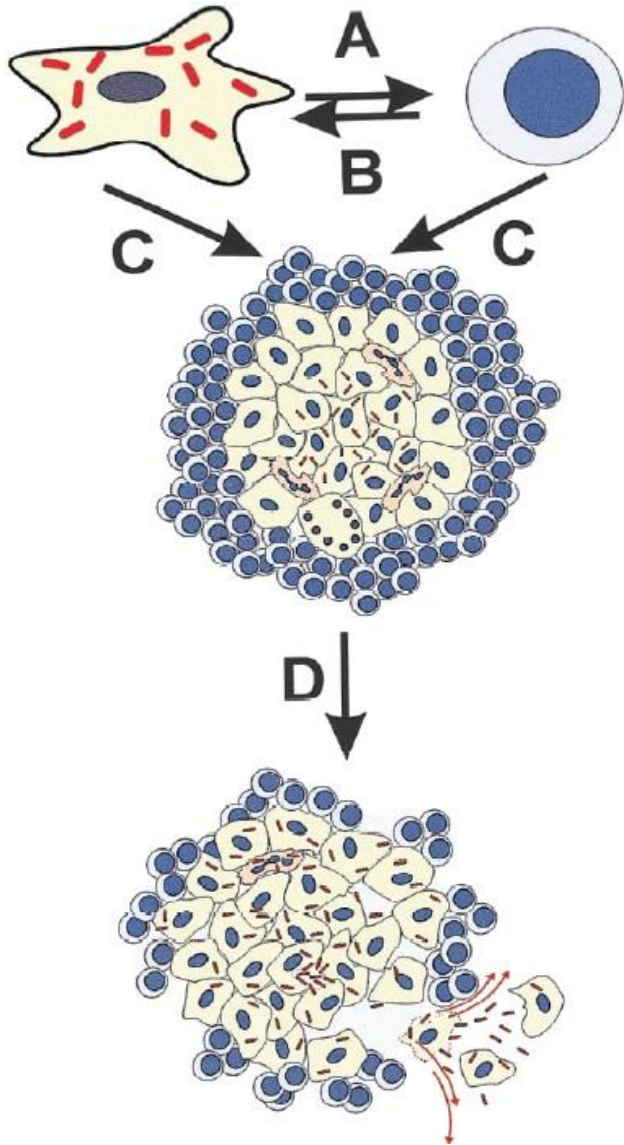
Cytokine Family
see Family key double line denotes family prototype

CC		CXC	
83	7.8 69 PARC Paracrine	84	8.4 74 Eot Eosinophil
94	12 111 6Ckine	95	7.8 68 RANTES Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted
85	10.6 93 Eot-2 Eosinophil	86	11.5, 12.5 99, 116 MIP1-1 Macrophage Inflammatory Protein 1-1
96	8.7 76 MCP-1 Macrophage Chemoattractant Protein 1	97	9 76 MCP-2 Macrophage Chemoattractant Protein 2
98	9 76 MCP-3 Macrophage Chemoattractant Protein 3	99	8.6 75 MCP-4 Macrophage Chemoattractant Protein 4
100	8 71 TARC Thymus and Activation-regulated Chemokine	101	8 70 MIP-3α Macrophage Inflammatory Protein 3-α
102	8.8 77 MIP-3β Macrophage Inflammatory Protein 3-β	103	127 TECK Thymus-expressed Chemokine
104	8 69 MDC Macrophage-Derived Chemokine	105	8, 8.9 72, 77 IL-8 Interleukin 8
106	8 75 GCP-2 Granulocyte Chemotactic Protein 2	107	11.7 103 MIG Macrophage Inflammatory Protein 2
108	7.8 ^d , 8 ^d 68 ^d , 72 ^d SDP-1 Stromal Cell-Derived Protein 1	109	8.3 73 I-TAC Interleukin 1-Induced Taxis-Attracting Chemokine
110	7.8 70 PF4 Platelet Factor 4	111	8.4 78 ENA-78 Endothelial Neutrophil-Attracting Protein 78
112	8.6 77 IP-10 Interleukin 8-Inducible Protein 10	113	7.6 70 NAP-2 Neutrophil-Attracting Protein 2
114	-8 ^d , 11 73 ^d , 11, 68 ^d GRO Growth Related Oncogene	115	10.3 88 BLC/BCA-1 B-lymphocyte Chemoattractant 1
116	8.8 77 BRAK Breast Repellent Activity	81	12-18 93 LTN Lymphotactin
82	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	83	12-18 93 LTN Lymphotactin
84	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	85	12-18 93 LTN Lymphotactin
86	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	87	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
88	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	89	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
90	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	91	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
92	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	93	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
94	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	95	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
96	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	97	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
98	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	99	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
100	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	101	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
102	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	103	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
104	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	105	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
106	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	107	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
108	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	109	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
110	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	111	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
112	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	113	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
114	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	115	8.5, 90 76, 373 Fractalkine
116	8.5, 90 76, 373 Fractalkine	117	8.5, 90 76, 373 Fractalkine

Лиганды, рецепторы и адапторы ФНО - тримеры

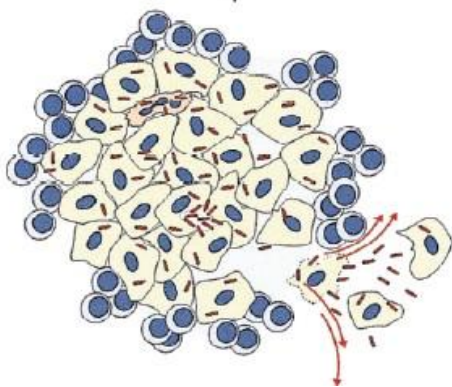
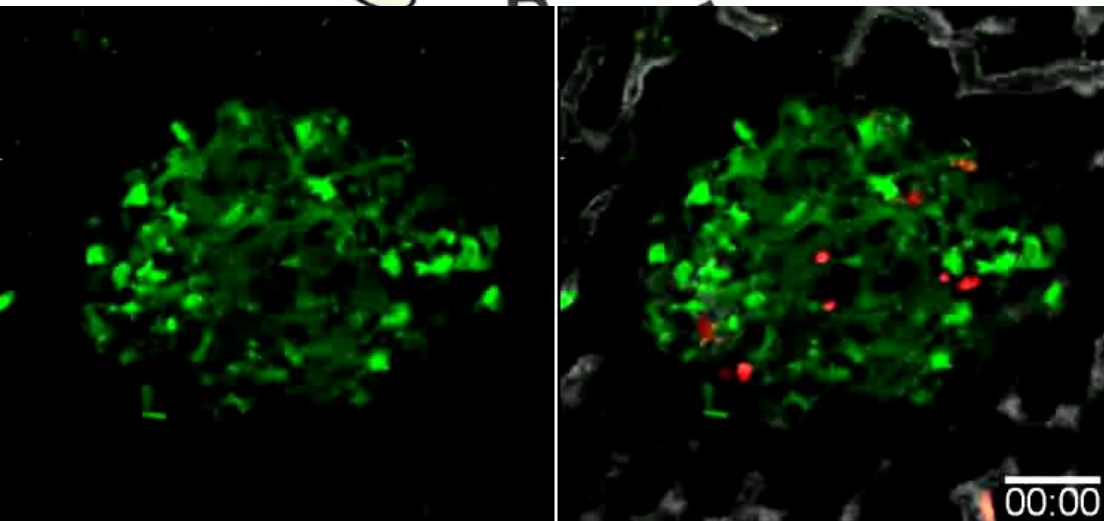
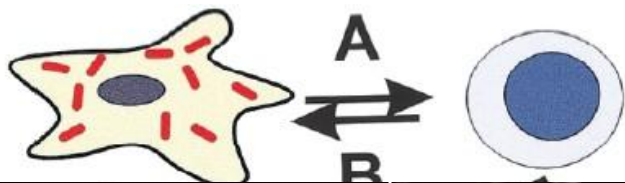


Одна из физиологических функций ФНО – защита от бактерий (в т.ч. от *M. tuberculosis*) через образование гранул

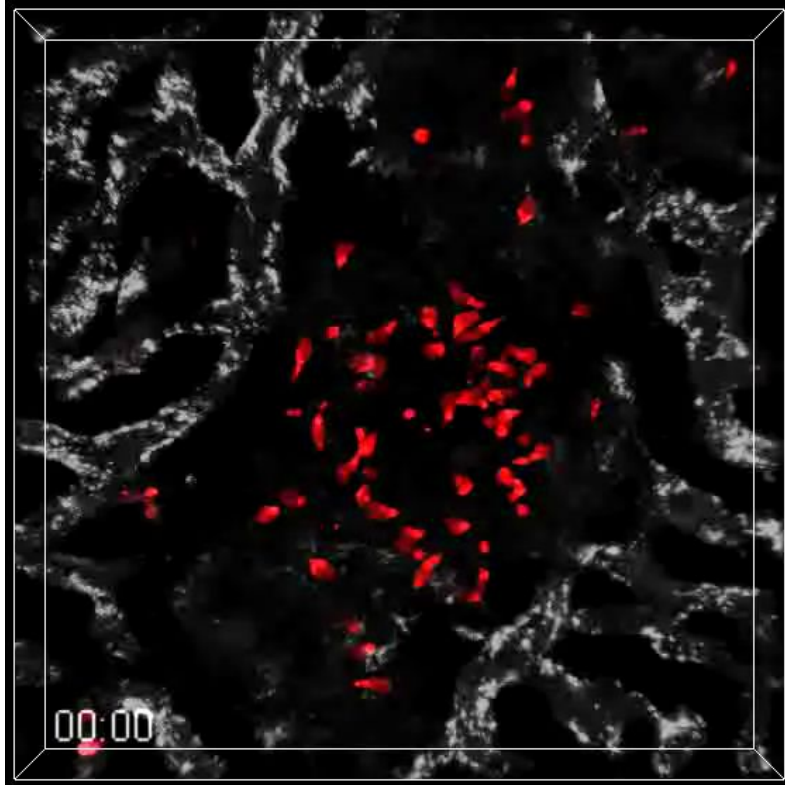


- A. Гранулемы образуются вокруг клеток, зараженных бактериями, инкапсулируя их в составе стабильной структуры. В состав гранулем входят макрофаги, Т клетки и клетки стромы.
- B. Вокруг «ядра» гранулемы, образованного зараженными макрофагами, находится слой незараженных макрофагов и Т клеток.
- C. ФНО, продуцируемый Т клетками, необходим для активации макрофагов, а также – неизвестным образом – для поддержания целостности гранулем.
- D. Блокировка ФНО в ходе терапии может разрушить гранулемы, позволяя микобактериям выйти из зараженных клеток и начать размножаться.

Одна из физиологических функций ФНО – защита от бактерий
(в т.ч. от *M. tuberculosis*) через образование гранул



Egen et al
Immunity 2008



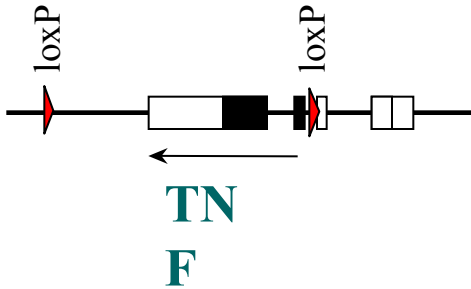
**Удивительно высокая
подвижность Т клеток во
внешних слоях гранулем**

Панель мышей с *кондиционной* инактивацией гена ФНО

Трансгенные мыши,
обеспечивающие контролируемую
делецию гена ФНО

Мыши к *кондиционному*
нокауту

Мышь с
модифицированным
геном ФНО



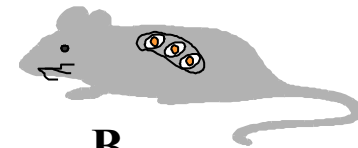
X



CD19-Cr

e

=



В

лимфоциты

X



CD4-Cr

e

=



Т лимфоциты

X



Mlys-Cr

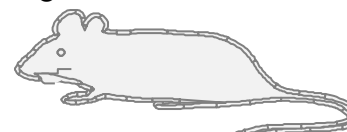
e

=



Макрофаги и нейтрофилы

X



Mx-Cr

e

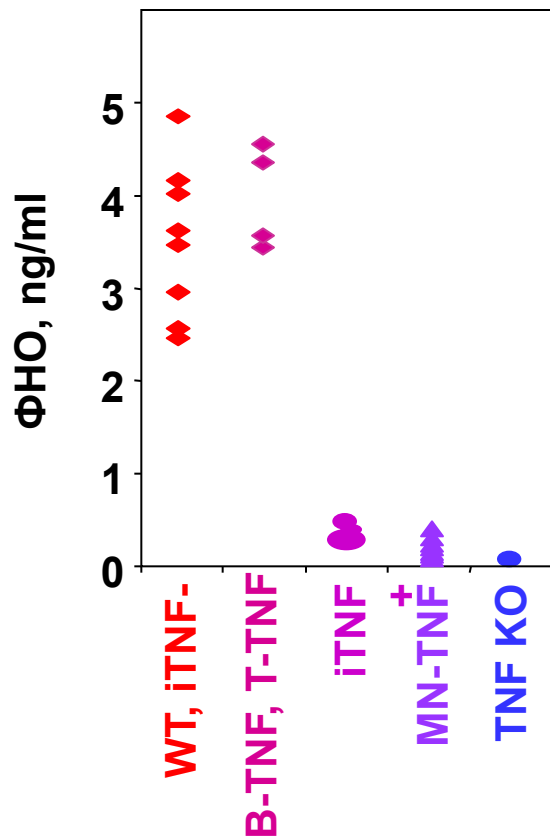
=



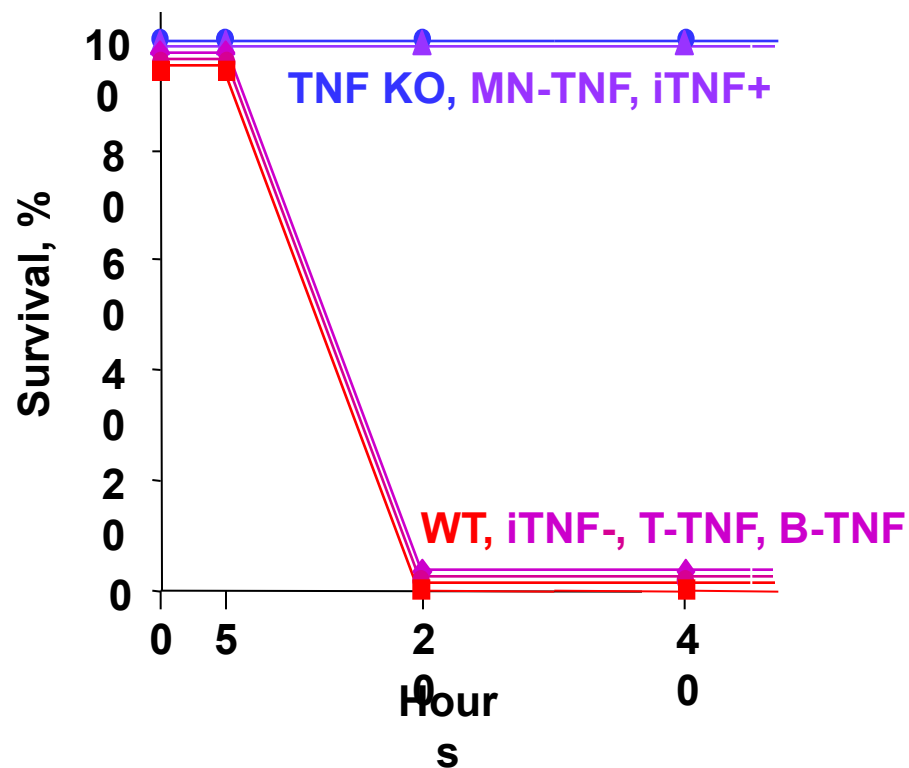
Индукцибельная

делеция

Макрофаги и нейтрофилы – главные источники системного ФНО

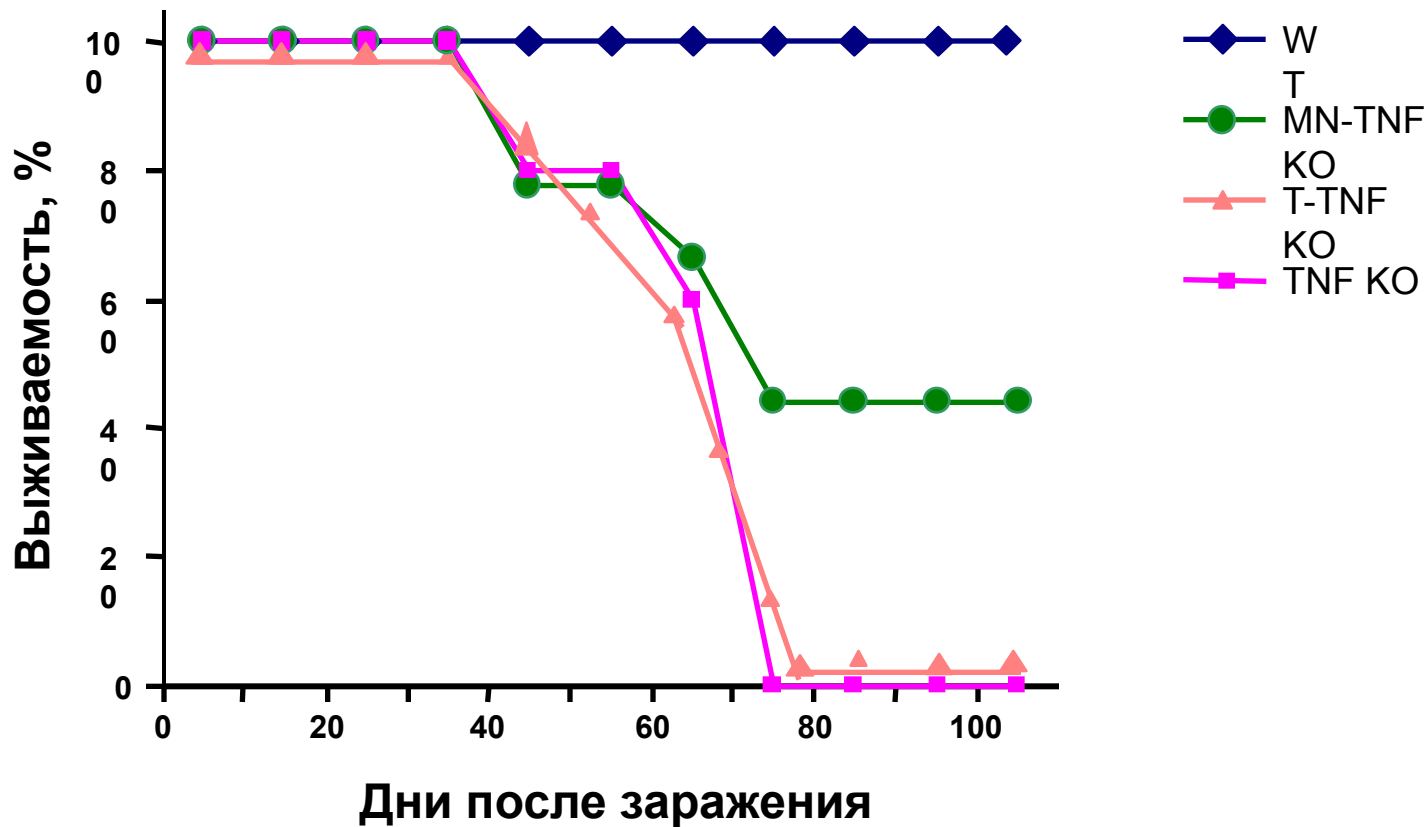


Концентрация ФНО
в крови после
инъекции ЛПС



Токсичность к ЛПС/D-gal
(модель острого
септического шока)

ФНО критическим образом нужен для защиты от туберкулеза, причем его источники – как макрофаги, так и Т лимфоциты.

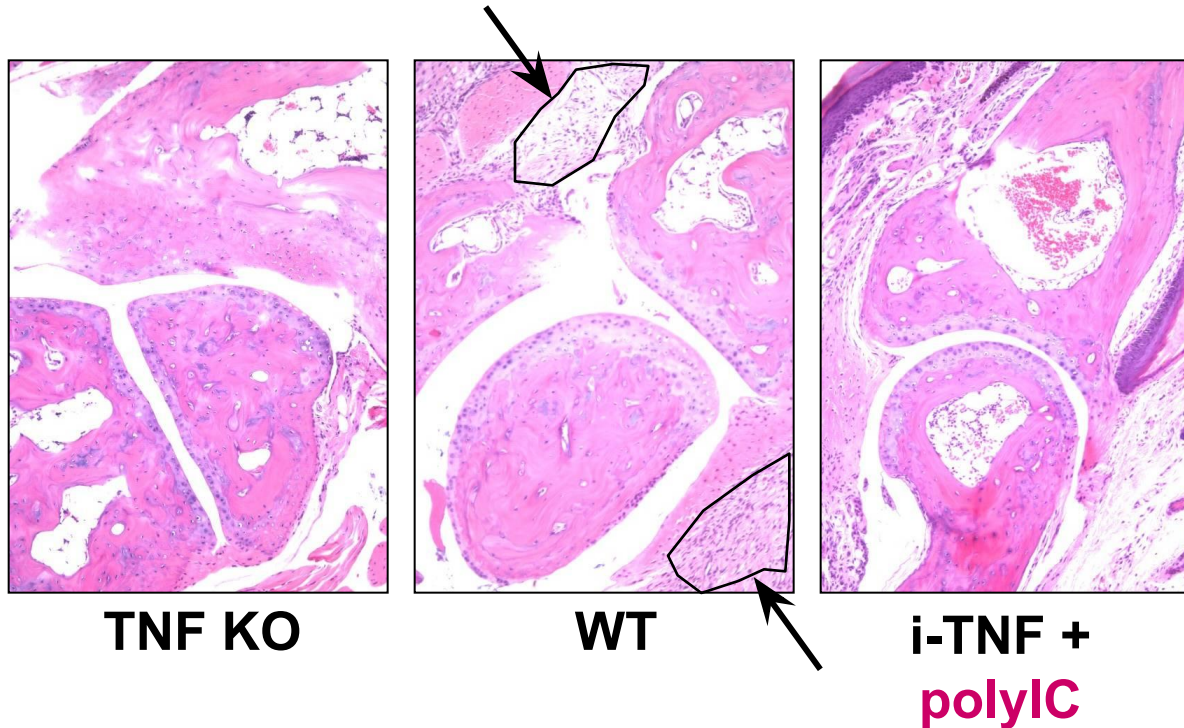
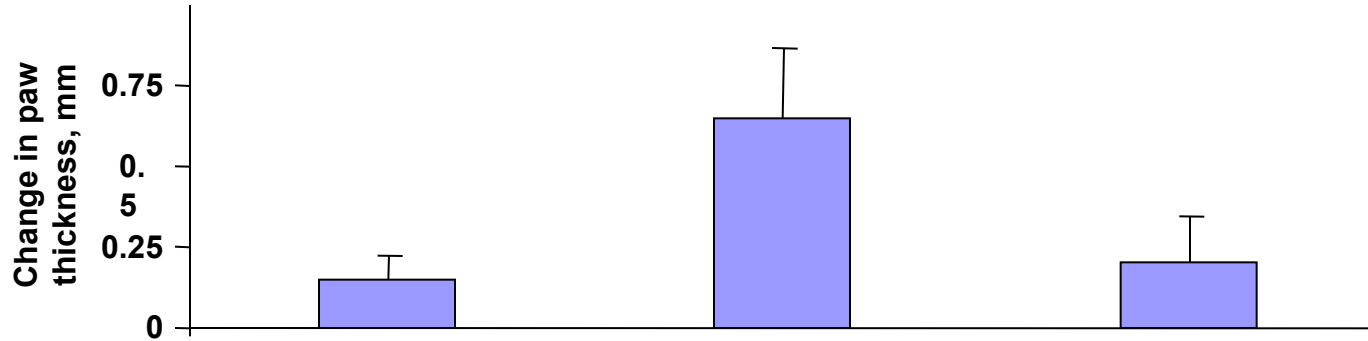


Блокировка ФНО: лекарства*

Лекарство	Структура	Болезни
Ремикейд/ infliximab	Химерные моноклональные антитела против ФНО человека	Ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, псориаз
Энбрел/ etanercept	Димер растворимого рецептора р75 ФНО, «сфьюженного» с IgG человека	Ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева
Хумира/ adalimumab	Полностью гуманизованные моноклональные антитела против ФНО	Ревматоидный артрит болезнь Бехтерева, болезнь Крона

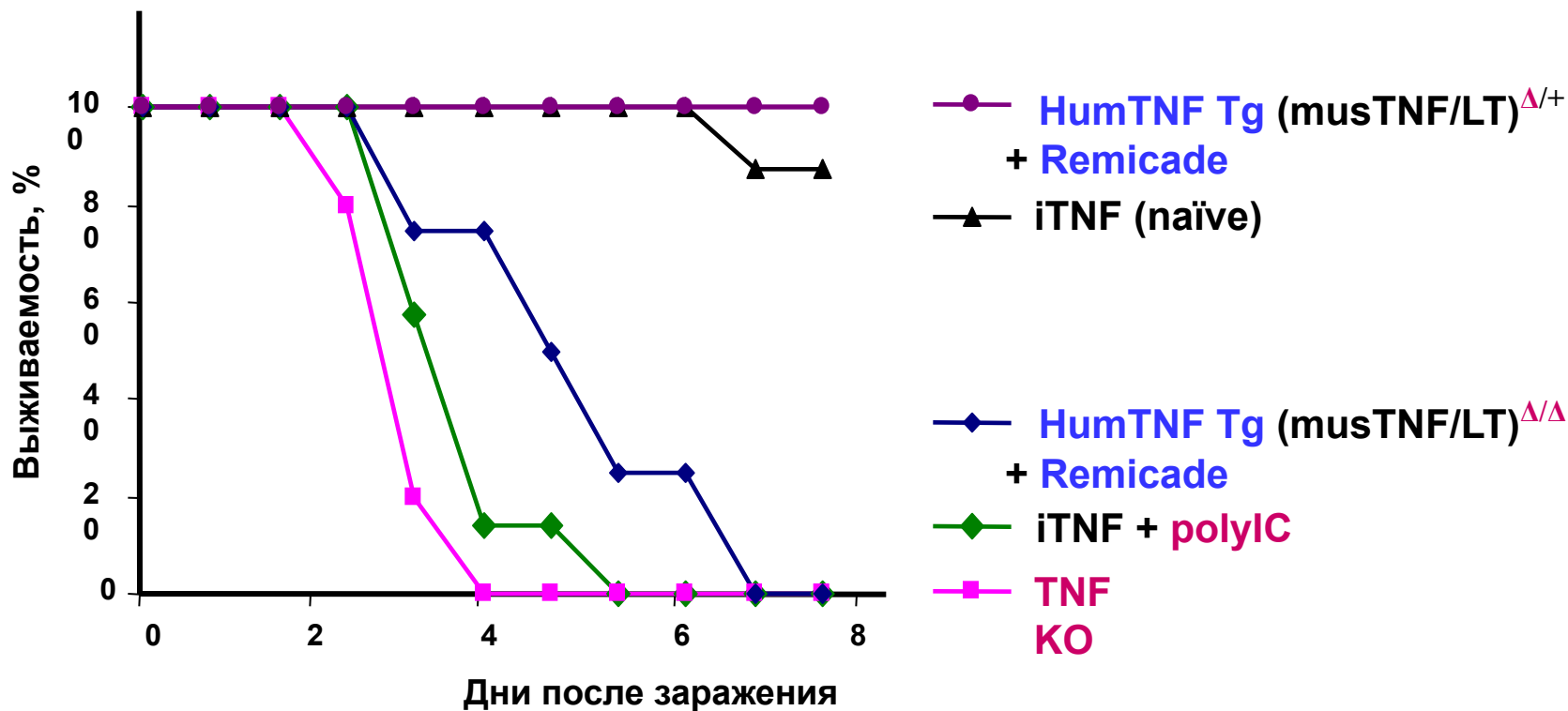
*Примерная стоимость курса лечения в Европе – **15** тыс Евро в год

Блокировка ФНО (индуцибельная делеция гена) замедляет развитие экспериментального артрита

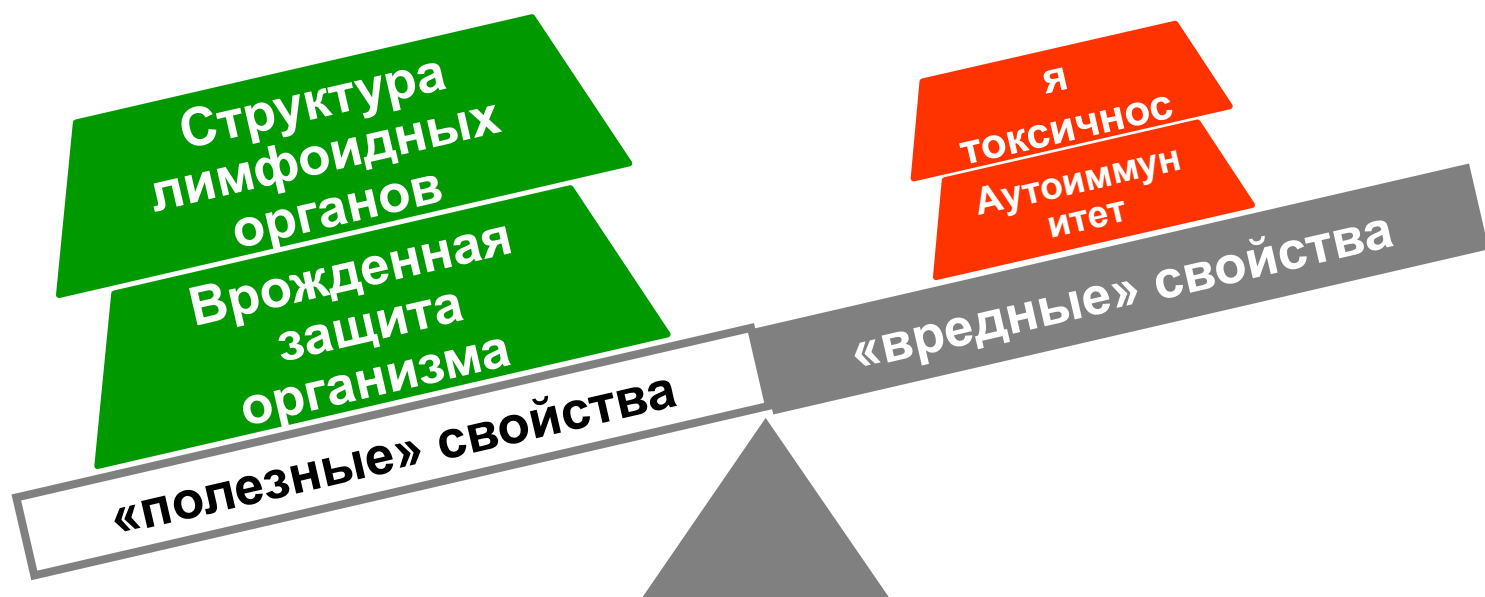


Блокировка ФНО с помощью индуцибельной делеции гена или с помощью блокаторов в «гуманизованных» мышах разрушает врожденную защиту против бактерий

Доза бактерий *Listeria* 2×10^4 cfu /мышь, внутривенно



Баланс «полезных» и «вредных» свойств ФНО



Что произойдет при системном блокировании ФНО у больных (препараты Infliximab, Etanercept)?

- Инфекции (ТБ), лимфомы

Благодарности

**Р. Меджитов
Ж. Хоффманн**

Д.В. Купраш

С. Гривенников

**А. Кучмий
П. Белоусов
Т. Ачельдиева**

www.oncoimmunology.ru

sergei.nedospasov@gmail.com