

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

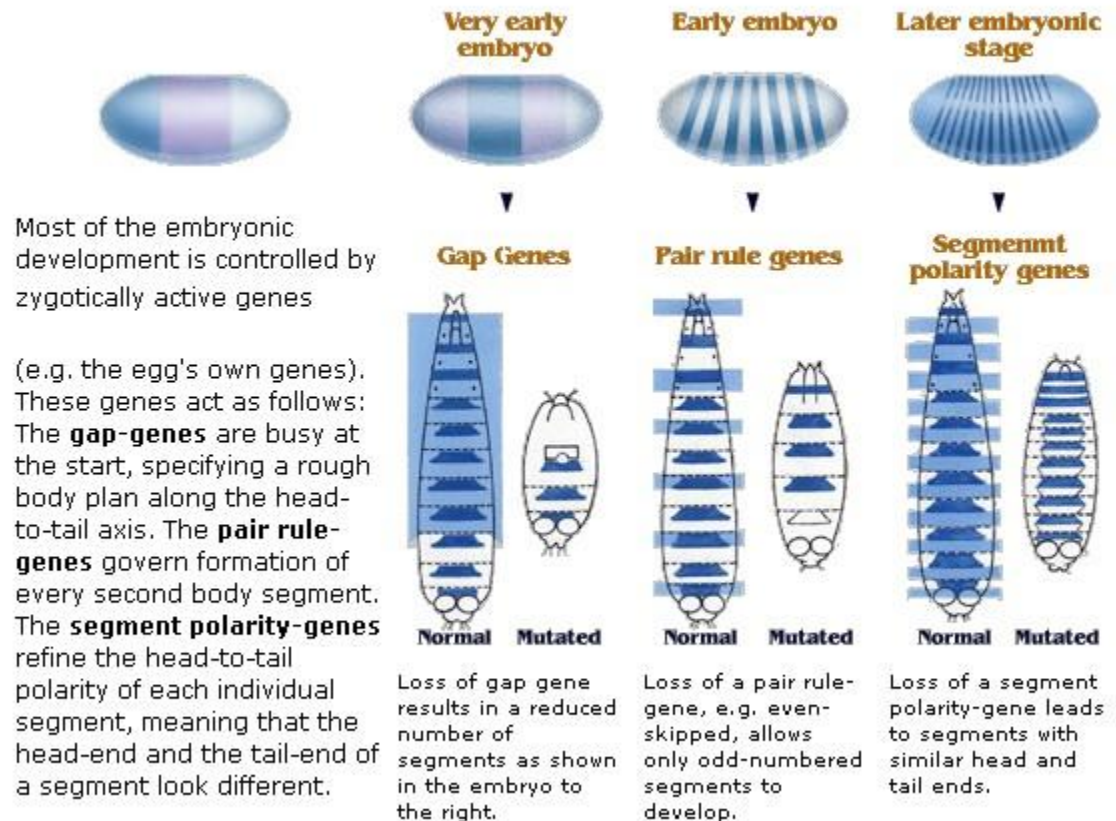
1. Защищает все виды живых существ, в то время как адаптивный иммунитет есть только у высших позвоночных.
2. Является и главной системой (сенсором) распознавания «чужого» (например, заражения патогенами), и первой линией защиты.
3. Кодировается относительно небольшим числом генов, которые не могут увеличивать 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





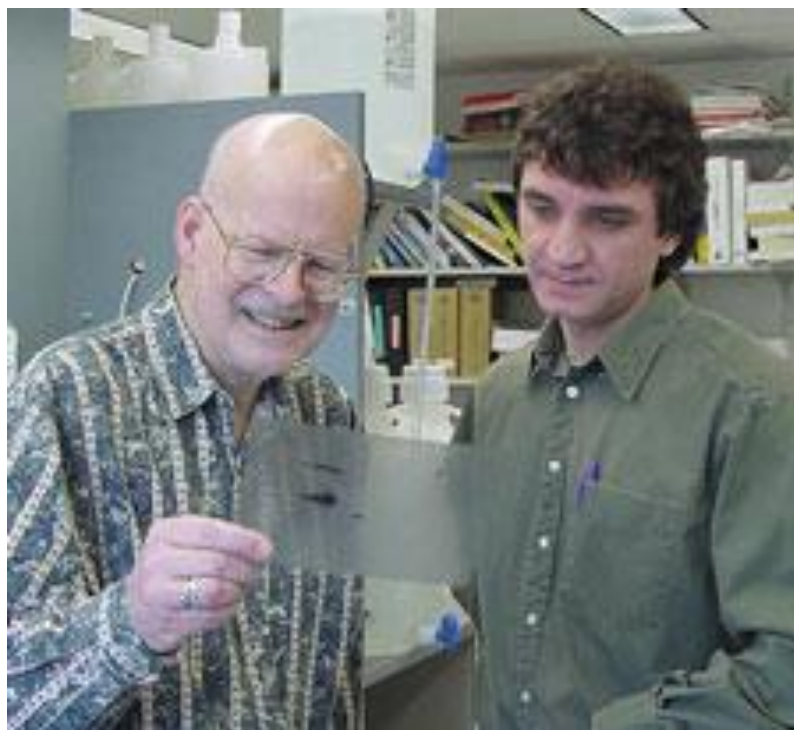
Jules Hoffmann

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

Муши без гена Toll зарастают грибками и погибают

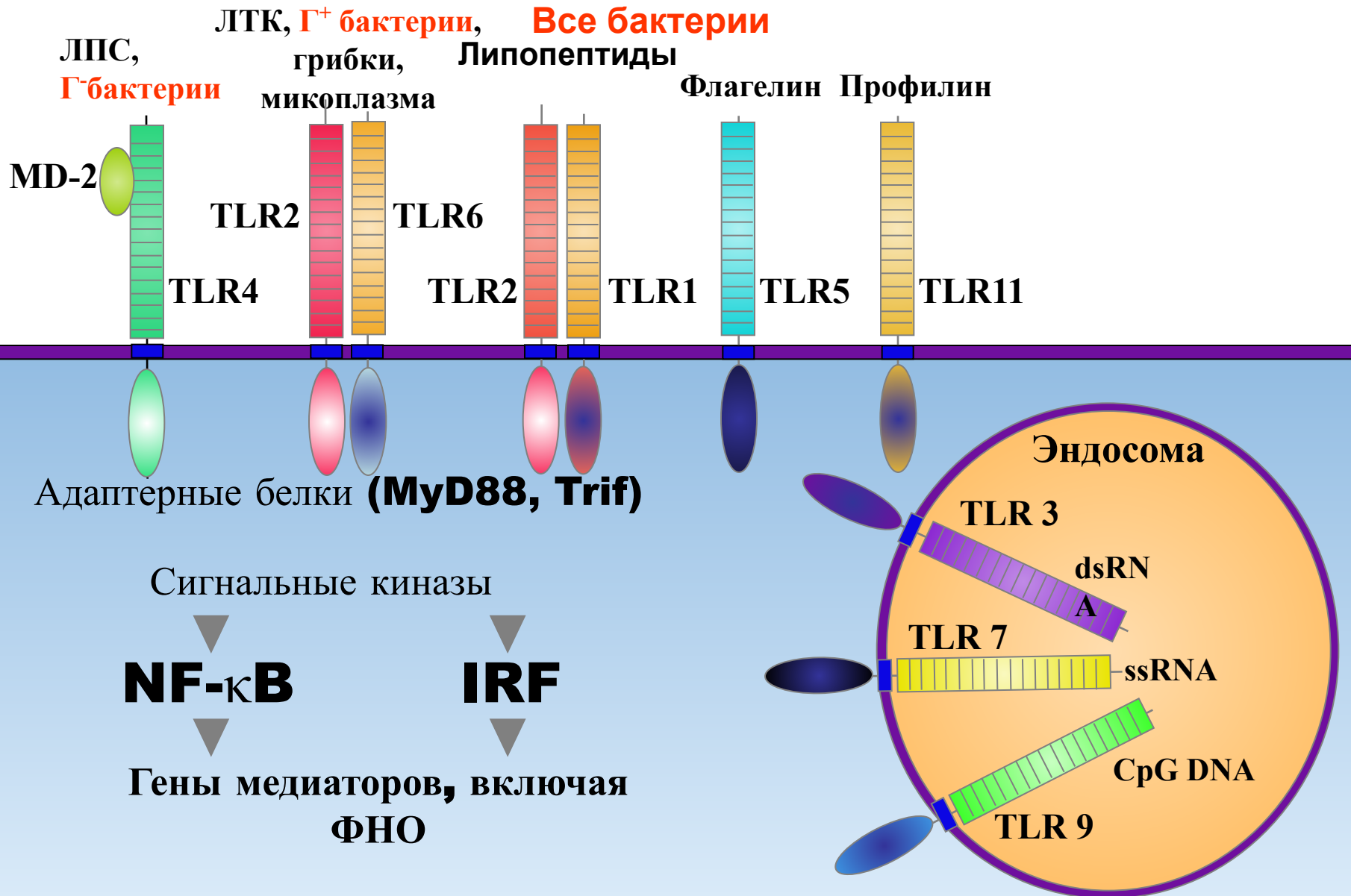


*Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA.
Cell, 1996, 20:973-83*



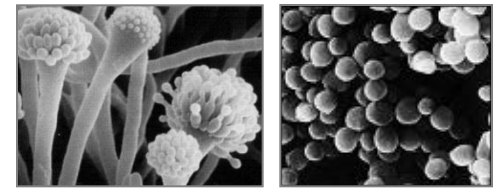
Чарльз Дженоуэй (1943-2003) и Руслан Меджитов

TLR семейство и его лиганды у человека и мыши



Парадокс эволюции TLR семейства

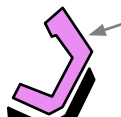
Грибки



Сенсоры
микробов

Г⁺ бактерии

Spaetzle



Toll

MyD88



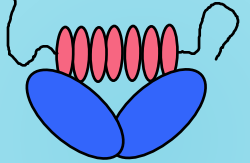
Tube



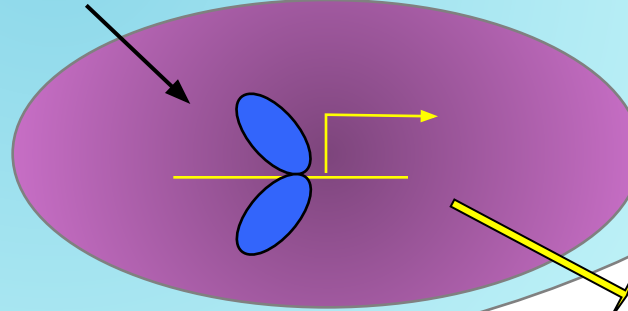
Pelle



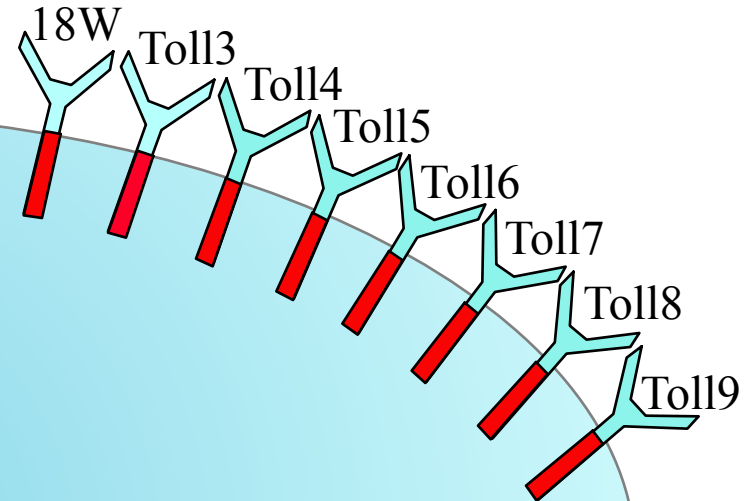
I-κB/
CACTUS



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.

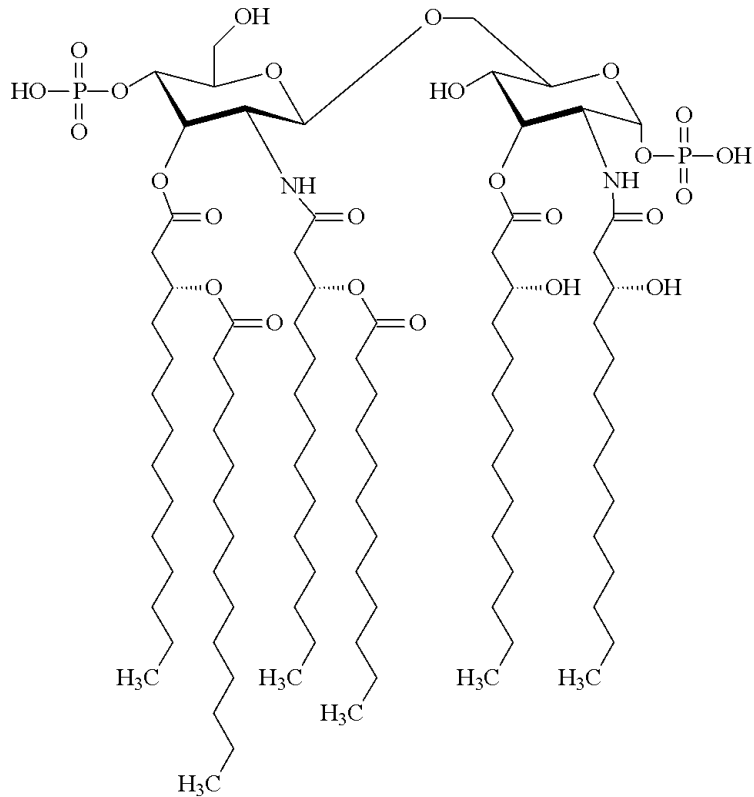
2. За каждую из двух ветвей иммунитета, в первом приближении, отвечают разные виды клеток иммунной системы (иммуноцитов).

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

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

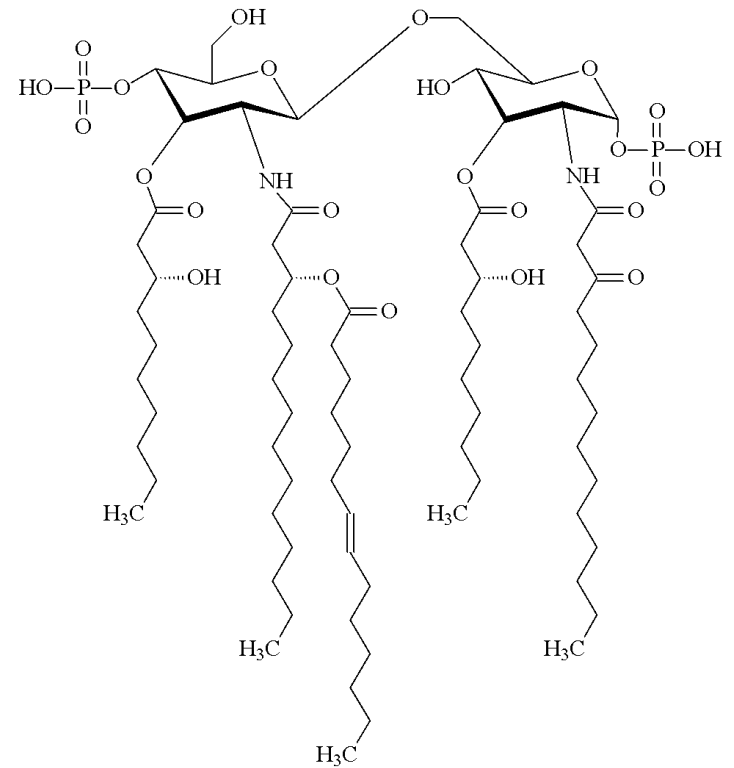
Структура **TLR4**-связывающих фрагментов ЛПС («липиды А») различных Γ^- бактерий

Липид А *E.coli*



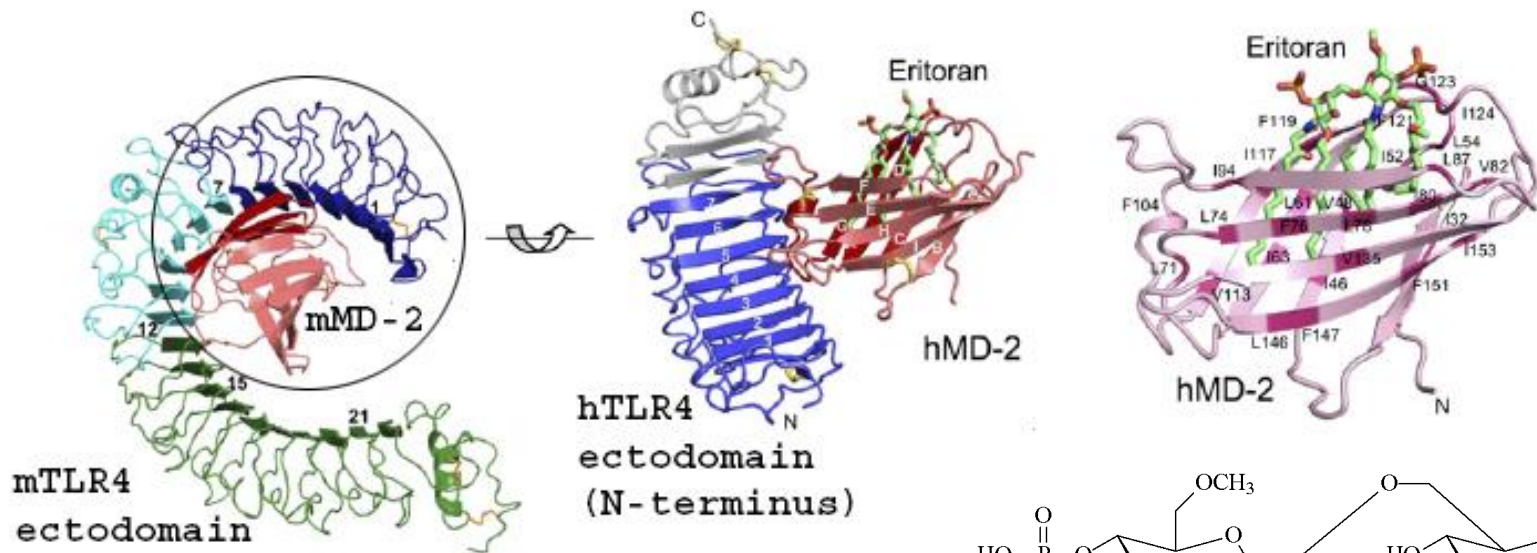
Патогенный

Липид А *Rhodobacter Sphaeroides*



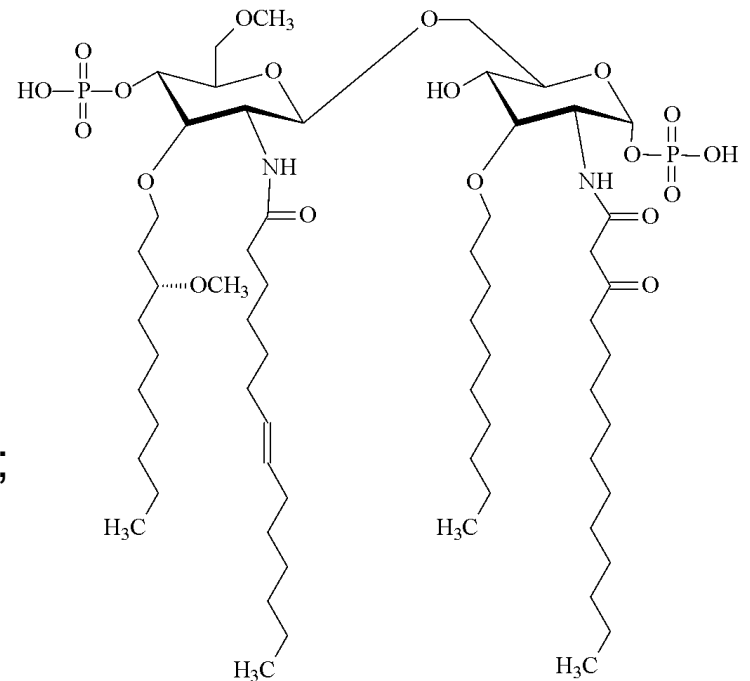
Непатогенный

Структура комплекса LPS-MD-2-TLR4

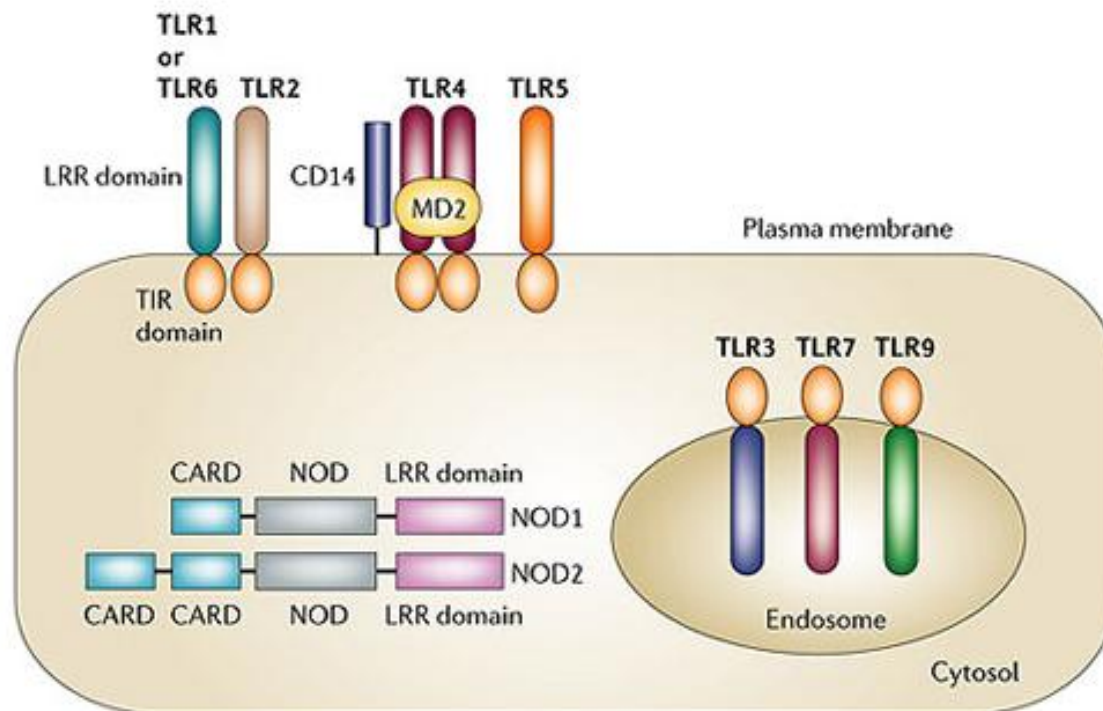


Kim et al, Cell 130, 906–917, 2007

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



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

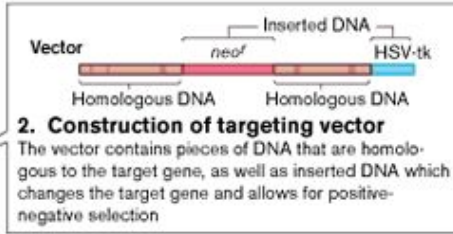
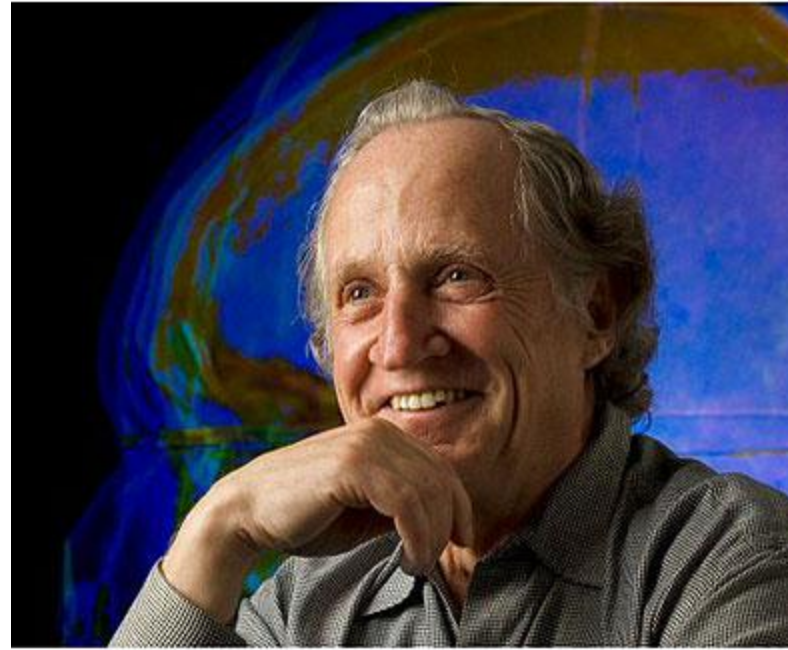
Дополнительные соображения про врожденный иммунитет

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).**

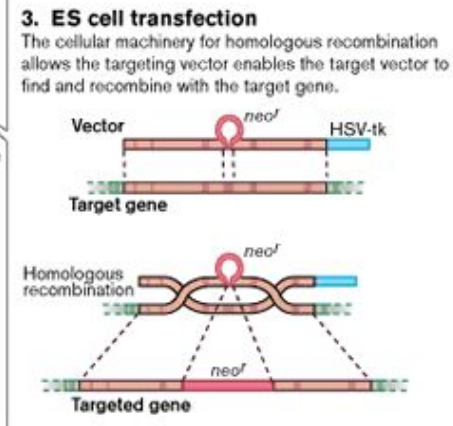
General strategy for gene targeting in mice

Step 1 Gene targeting in ES cells

1. ES cell culture
Embryonic stem (ES)



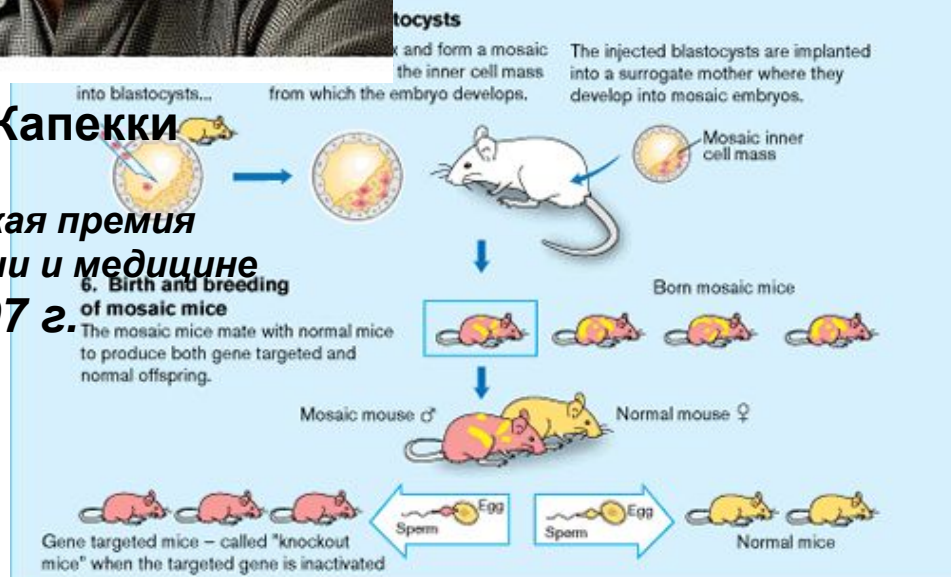
2. **Construction of targeting vector**
The vector contains pieces of DNA that are homologous to the target gene, as well as inserted DNA which changes the target gene and allows for positive-negative selection



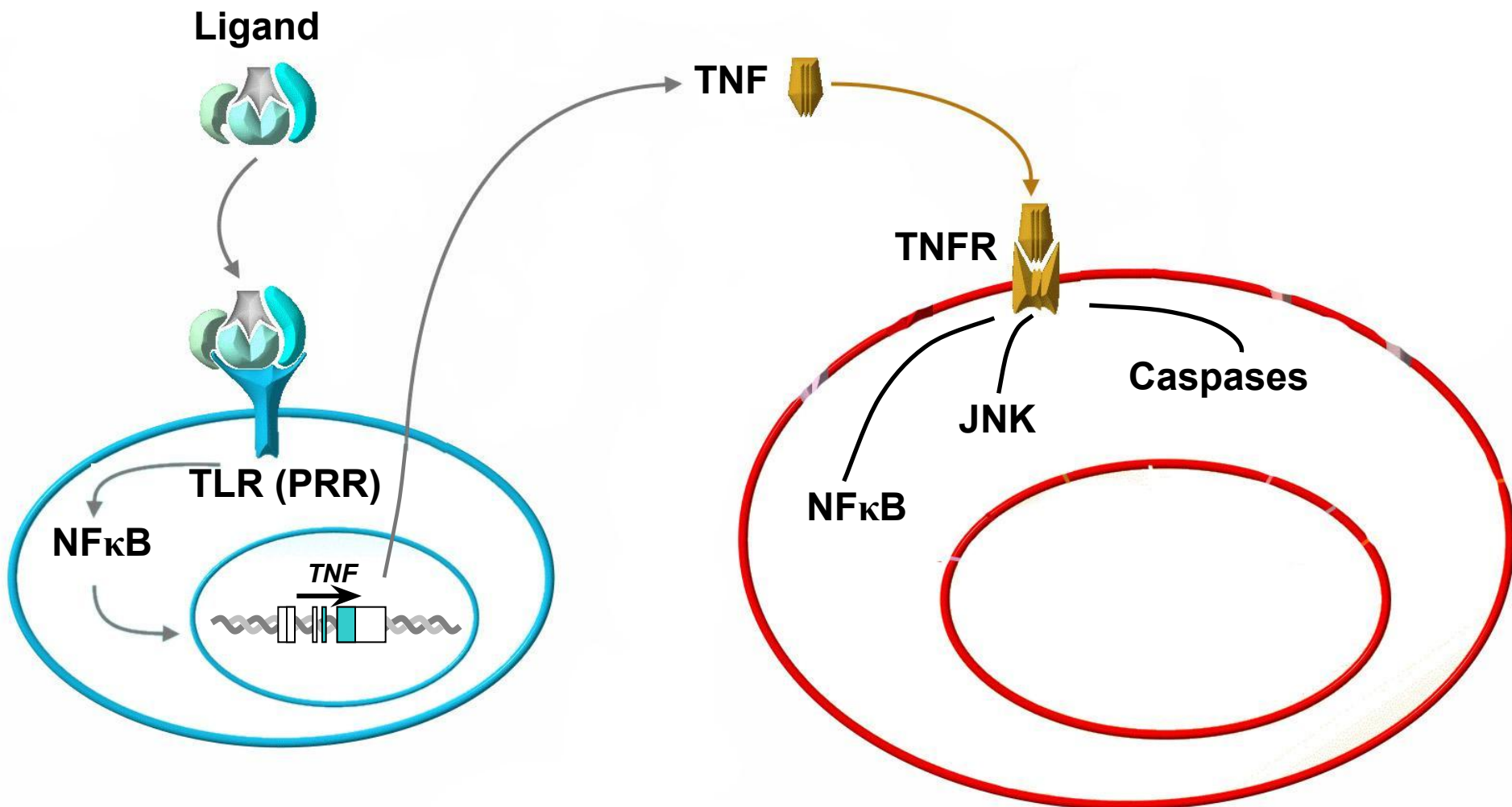
3. **ES cell transfection**
The cellular machinery for homologous recombination allows the targeting vector enables the target vector to find and recombine with the target gene.

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 CD27L CD27
4 171, 194 LT-α Ligand for Mucin-6 LT-αR (MUC6R)	5 40 234 CD30L CD30L CD30
13 33 244 LT-β Ligand for CD137 LT-βR (CD137R)	14 39 261 CD40L CD40L CD40
22 26, 40 155, 281 FasL CD95L CD95	23 40 250 APRIL CD137L CD137
40 32 281 TRAIL TNF-related apoptosis-inducing ligand TRAIL-R1 (DR4) TRAIL-R2 (DR5)	41 18, 32 152, 285 TALL-1 TALL-1 TALL-1R1
58 177, 317 TRANCE TNF-related apoptosis-inducing ligand TRANCE-R1 TRANCE-R2	59 45 254 4-1BBL 4-1BBL 4-1BBL
76 29 240 LIGHT LIGHT LIGHT	77 32 183 OX40L OX40L OX40
79 18, 30-35 TWEAK TWEAK TWEAKR1 TWEAKR2	80 177 GITRL GITRL GITR

		II/III				IV		V				VI*		VII*		VIII		IX		X*		XI				
3 25 ^d 112 TGF-β1 TGF-β1 TGF-β1R1 TGF-β1R2	6 53 EGF Epidermal Growth Factor EGFR (ErbB1) EGFR (ErbB2)	9 19-23 86 HB-EGF Hepatocyte Growth Factor HBEGFR (ErbB4) ErbB3	10 26 184 IL-6 Interleukin-6 IL-6Rα gp130	11 25-44 see note SCF Stem Cell Factor SCFR (KIT) KIT	12 30-38 ^d 100-140 BMPs Bone Morphogenetic Protein BMPRII BMPRI	16 46-60 ^d 167, 186 VEGF-B Vascular Endothelial Growth Factor VEGFR-1 (Flt-1) VEGFR-2 (KDR)	17 6 50 TGF-α Transforming Growth Factor-α TGF-αR1 (HER1) TGF-αR2 (HER2)	18 25-45 296 SMDF Stromal Cell Derived Factor SDF-1R1 (CXCR4) SDF-1R2 (CXCR7)	19 38-67 180 LIF Leukemia Inhibitory Factor LIFR (gp190/gp130)	20 30, 36 245, 235 Flt-3L Flt-3 Ligand Flt-3R1 (KITL) Flt-3R2 (KITLG)	21 25-42 ^d 96-134 GDNFs Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor GFRα1-4	25 14-30 133 IL-3 Interleukin-3 IL-3Rα gp130	26 17.5 159 IL-1α Interleukin-1α IL-1R1 IL-1RAcP	27 34-50 ^d 143 IFN-γ Interferon-γ IFN-γR1 IFN-γR2	28 7.5 70 IGF-I Insulin-Like Growth Factor-1 IGF1R	29 69 ^d , 34 ^d 460 ^d , 234 ^d HGF Hepatocyte Growth Factor HGFR (MET)	30 18 155 FGF-a Fibroblast Growth Factor FGFR-1 FGFR-2 FGFR-3	31 13.2 120 NGF Nerve Growth Factor NGFR (p75) TrkA TrkB	32 58-85 332 Tpo Thrombopoietin TpoR (MPL)	33 29 ^d 125 PDGF-AA Platelet-Derived Growth Factor PDGFRα PDGFRβ	34 42 ^d 125, 116 VEGF-C Vascular Endothelial Growth Factor VEGFR-1 (Flt-1) VEGFR-2 (KDR)	35 11 98 AR Androgen Receptor AR	36 23 178 IL-11 Interleukin-11 IL-11Rα gp130	37 21 205 CT-1 Cytokine-1 CT-1R1 CT-1R2	38 45-200 554 ^d M-CSF Macrophage Colony-Stimulating Factor M-CSFR (CSF1R) gp130	39 24-28 ^d 115 ^d , 116 ^d Act Activin ActR1A ActR1B ActR2

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 (pγ).
- III** IL-4 & IL-13 - bind to shared heteromultimeric receptor complexes.
- IV** ILc - receptors contain a common β chain (pβ).
- 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 kringe domain and a prokallikrein protease domain that lacks enzymatic activity.
- VIII** FGF - heparin-binding polypeptides.
- IX** Neurotrophic Factors - induce signal transduction through ligand induced dimerization and activation of tyk receptors.
- X** Tpo & Epo - share sequence homology with the erythropoietin family of proteins.
- XI** PDGF, VEGF, PIGF - dimeric 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 & PTK - products of retinoid, acid-responsive genes, developmentally regulated molecules.
- XVI** gp-130 Superfamily - contains a highly conserved 7-pyruvate 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, mast cells, dendritic cells, NK cells) generally inactive on PMNs.
- CXC** α Subfamily - target populations include: PMNs, T and B cells.

KEY

Note Number - See Cytokine Name for additional information

1 17.5, 26
157, 233

TNF-α
Tumor Necrosis Factor Alpha

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

Amino Acids
157 (monomer)
477 (trimer)

Cytokine Abbreviation
TNF-α

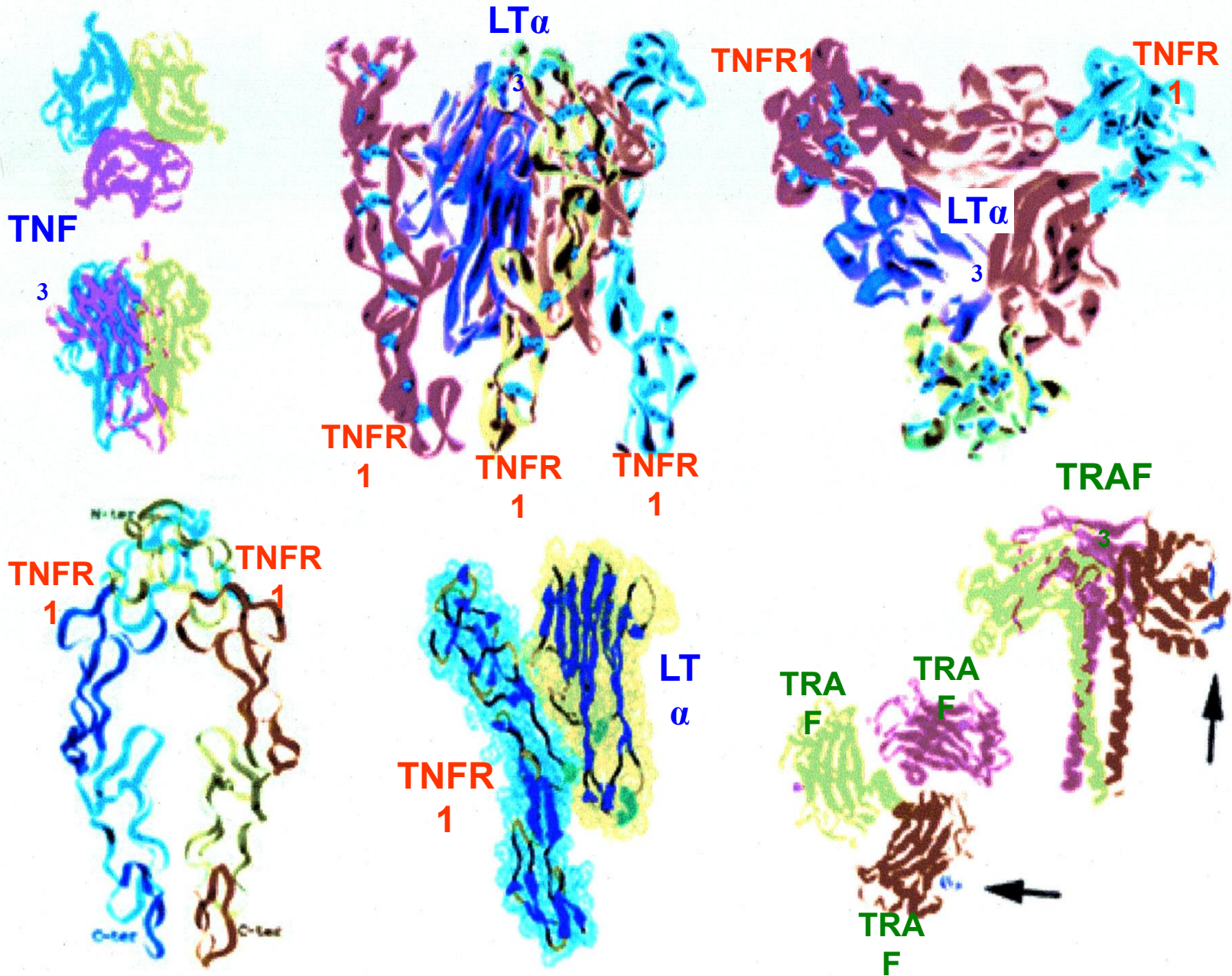
Full Name
Tumor Necrosis Factor Alpha

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

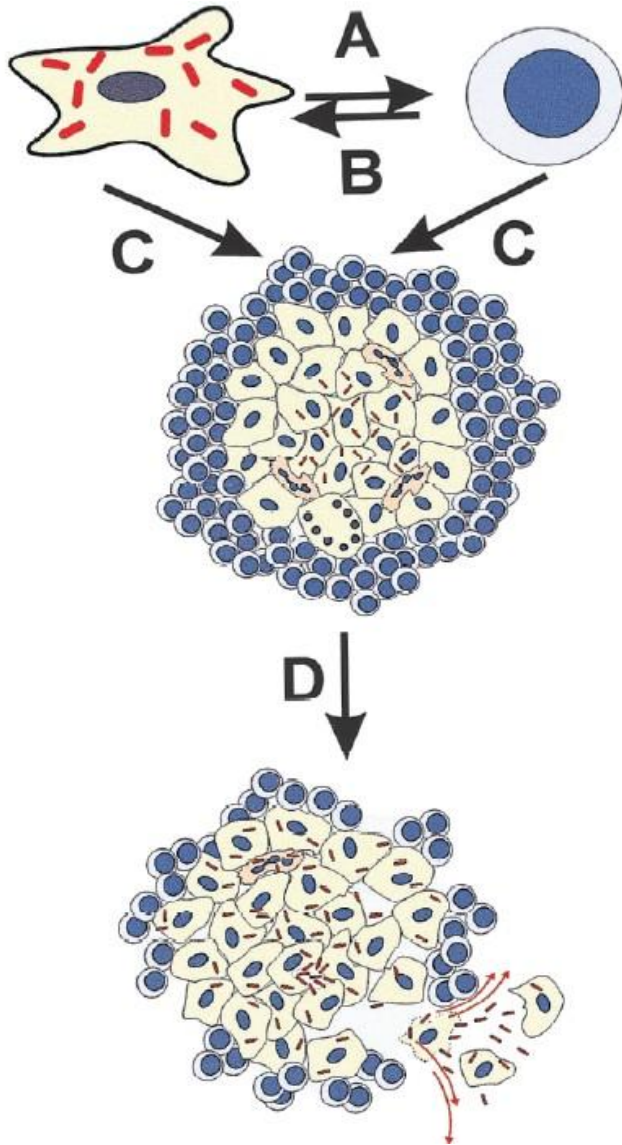
Cytokine Family
see Family Key, double line denotes family prototype

83 7.8 69 PARC Paracrine-acting factor PARC1 PARC2	84 8.4 74 Eot Eosinophil Chemokine Eotaxin Eotaxin-2	85 10.6 93 Eot-2 Eosinophil Chemokine-2 Eotaxin-3	86 11.5, 12.5 99, 116 MPHF-1 Mucopolysaccharide Hyaluronate-binding Protein-1 MPHF-1	87 8.7 74 HCC-1 Hematopoietic Cell Chemokine-1 HCC-1	88 11 97 HCC-4 Hematopoietic Cell Chemokine-4 HCC-4	89 12 66 SCYA26 Stromal Cell Derived Factor-26 SCYA26	90 7.5 66 MIP-1α Macrophage Inflammatory Protein-1α MIP-1α	91 7.8 69 MIP-1β Macrophage Inflammatory Protein-1β MIP-1β	92 10 68 MIP-1δ Macrophage Inflammatory Protein-1δ MIP-1δ	93 8.5 73 I-309 Interleukin-309 I-309	94 12 111 6Ckine 6-chemokine 6Ckine	95 7.8 68 RANTES Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted RANTES	96 8.7 76 MCP-1 Macrophage Chemoattractant Protein-1 MCP-1	97 9 76 MCP-2 Macrophage Chemoattractant Protein-2 MCP-2	98 9 76 MCP-3 Macrophage Chemoattractant Protein-3 MCP-3	99 8.6 75 MCP-4 Macrophage Chemoattractant Protein-4 MCP-4	100 8 71 TARC Thymus and Airway Chemokine TARC	101 8 70 MIP-3α Macrophage Inflammatory Protein-3α MIP-3α	102 8.8 77 MIP-3β Macrophage Inflammatory Protein-3β MIP-3β	103 127 TECK Thymus-expressed chemokine TECK	104 8 69 MDC Macrophage-Derived Chemokine MDC	105 8, 8.9 72, 77 IL-8 Interleukin-8 IL-8	106 8 75 GCP-2 Granulocyte Chemotactic Protein-2 GCP-2	107 11.7 103 MIG Macrophage Inflammatory Protein-3 MIG	108 7.8 ^d , 8 ^d 68 ^d , 72 ^d SDF-1 Stromal Cell Derived Factor-1 SDF-1	109 8.3 73 I-TAC Interleukin-1/Taxane-1 Chemokine I-TAC	110 7.8 70 PF4 Platelet factor 4 PF4	111 8.4 78 ENA-78 Endothelial Cell-derived Neutrophil-Attracting Protein-78 ENA-78	112 8.6 77 IP-10 Interleukin-1/Taxane-1 Chemokine IP-10	113 7.6 70 NAP-2 Neutrophil-Attracting Protein-2 NAP-2	114 -8 ^d , 11 73 ^d , 68 ^d GRO Growth Related Oncogene GRO	115 10.3 88 BLC/BCA-1 B-lymphocyte Chemoattractant-1 BLC/BCA-1	116 8.8 77 BRAK B-lymphocyte Chemoattractant-2 BRAK
--	--	--	---	---	--	--	---	---	--	--	--	--	---	---	---	---	---	--	--	--	--	--	---	---	--	--	---	---	--	---	---	---	--

Лиганды, рецепторы и адапторы ФНО - тримеры

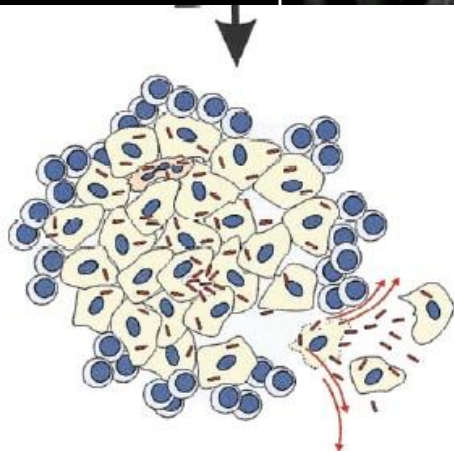
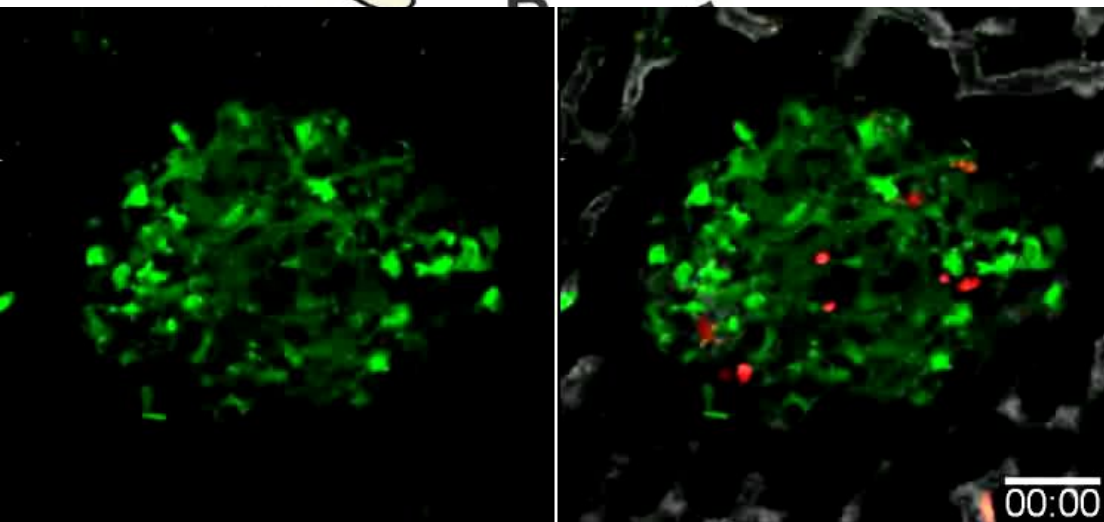
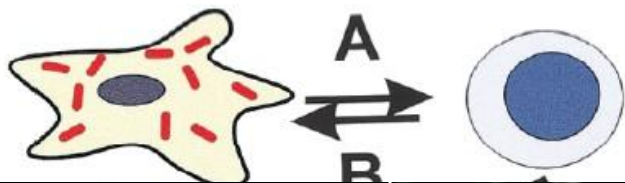


Одна из физиологических функций ФНО – защита от бактерий (в т.ч. от *M. tuberculosis*) через образование гранул

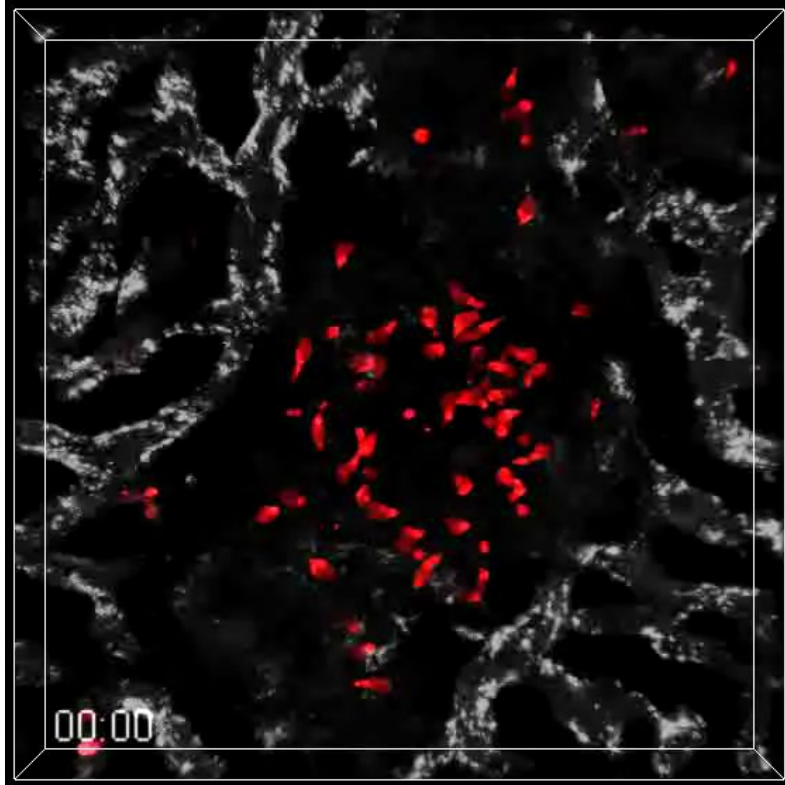


- A. Гранулемы образуются вокруг клеток, зараженных бактериями, инкапсулируя их в составе стабильной структуры. В состав гранулем входят макрофаги, Т клетки и клетки стромы.
- B. Вокруг «ядра» гранулемы, образованного зараженными макрофагами, находится слой незараженных макрофагов и Т клеток.
- C. ФНО, 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



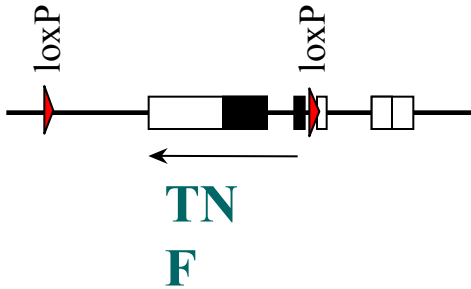
**Удивительно высокая
подвижность Т клеток во
внешних слоях гранулем**

Панель мышей с *кондиционной* инактивацией гена ФНО

Трансгенные мыши,
обеспечивающие контролируемую
делецию гена ФНО

Мыши к *кондиционным*
нокаутам

Мышь с
модифицированным
геном ФНО



X



CD19-Cr

e

=



В

лимфоциты

X



CD4-Cr

e

=



Т лимфоциты

X



Mlys-Cr

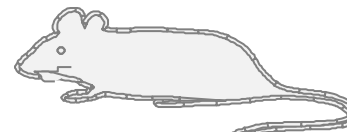
e

=



Макрофаги и нейтрофилы

X



Mx-Cr

e

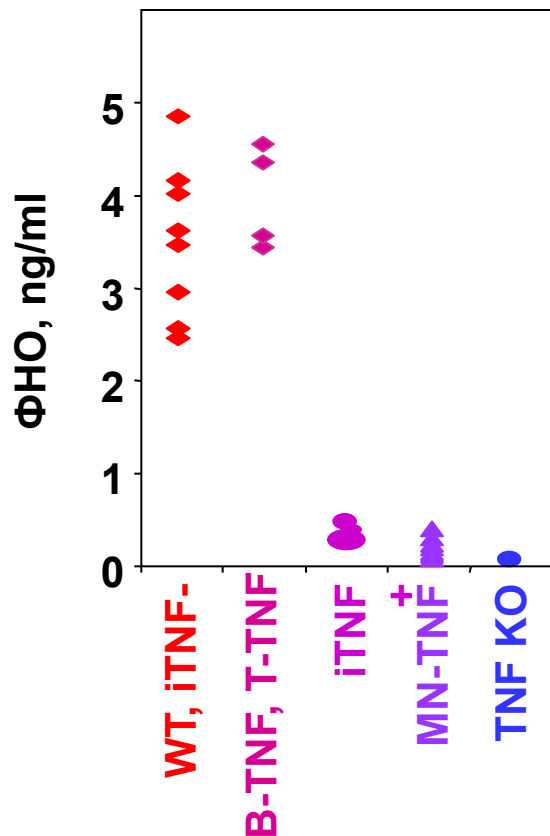
=



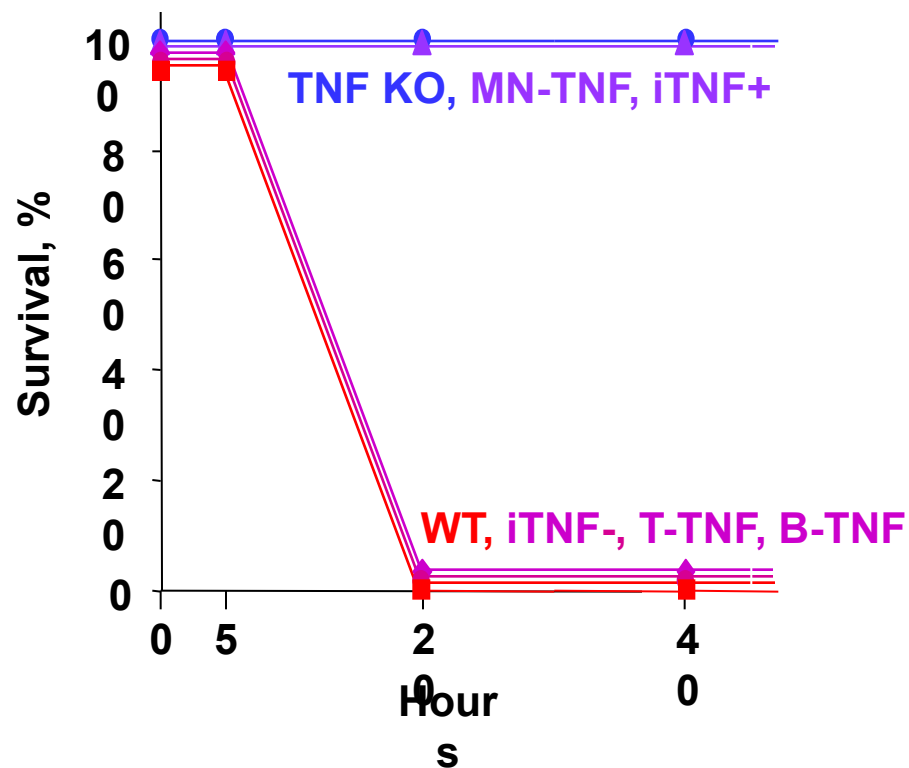
Индукцибельная

делеция

Макрофаги и нейтрофилы – главные источники системного ФНО

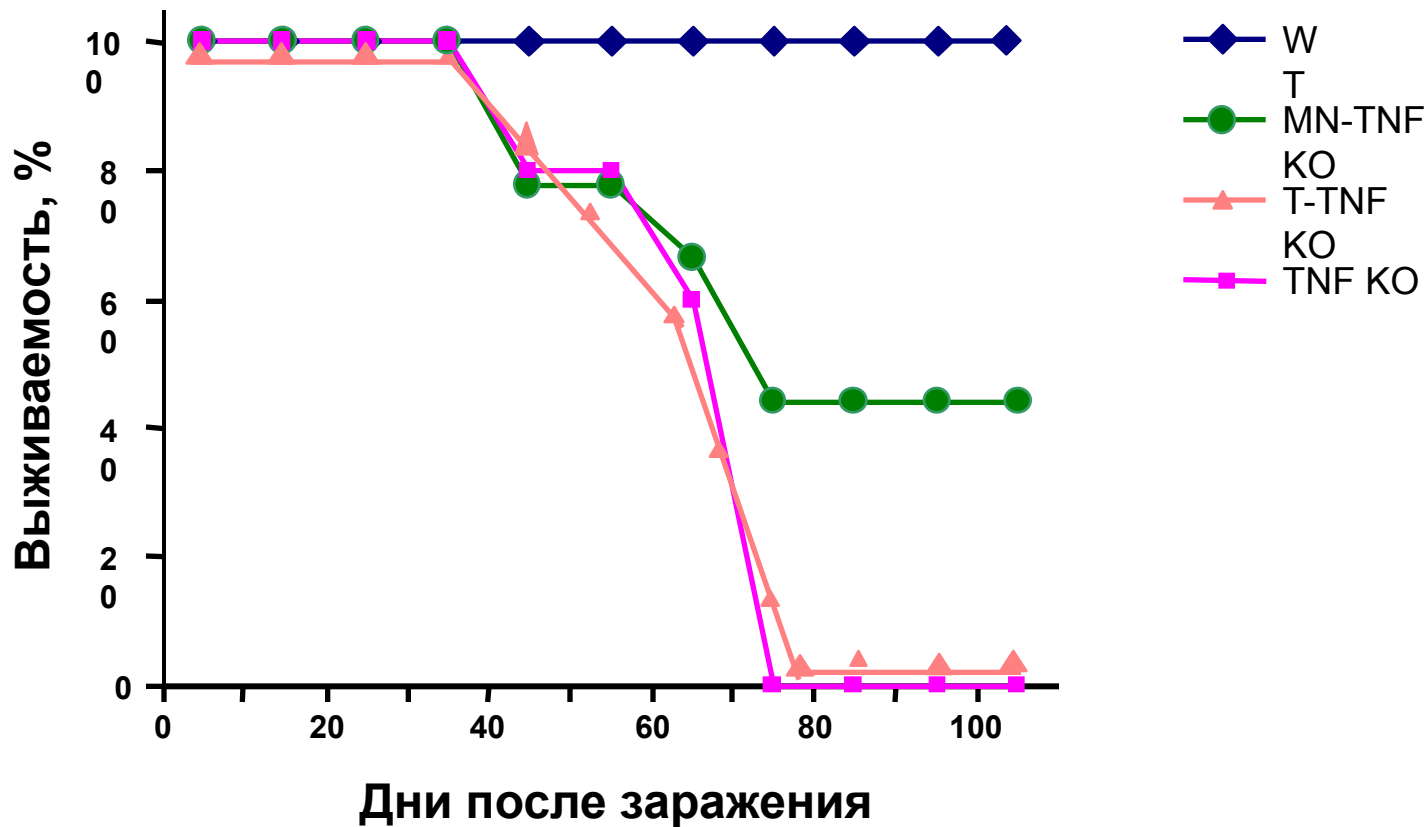


Концентрация ФНО
в крови после
инъекции ЛПС



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.

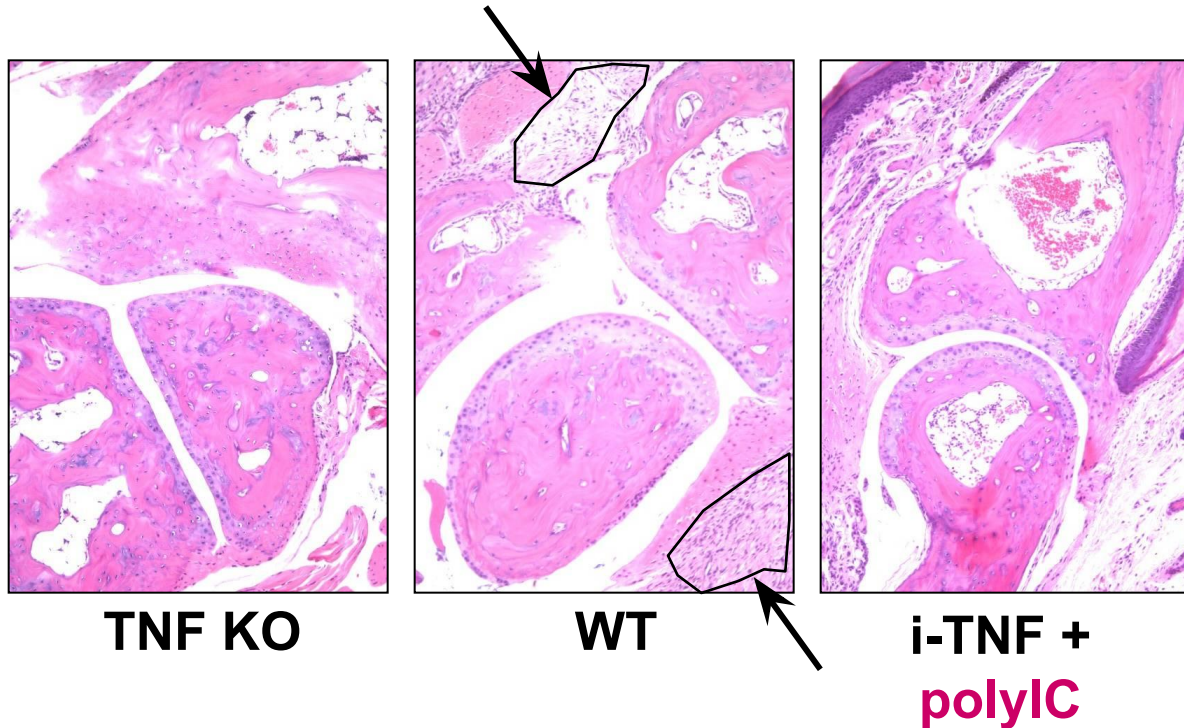
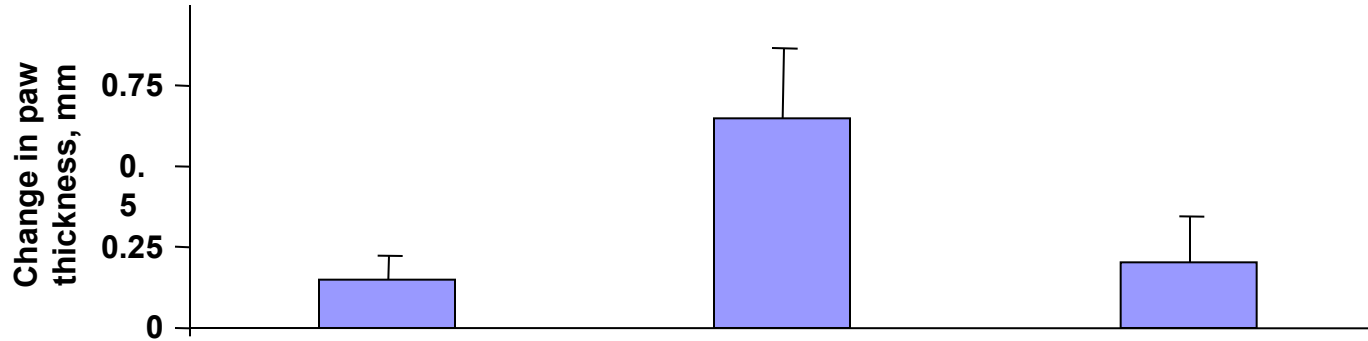


Блокировка ФНО: лекарства*

Лекарство	Структура	Болезни
Ремикейд/ infliximab	Химерные моноклональные антитела против ФНО человека	Ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, псориаз
Энбрел/ etanercept	Димер растворимого рецептора p75 ФНО, «сфьюженного» с IgG человека	Ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева
Хумира/ adalimumab	Полностью гуманизованные моноклональные антитела против ФНО	Ревматоидный артрит болезнь Бехтерева, болезнь Крона

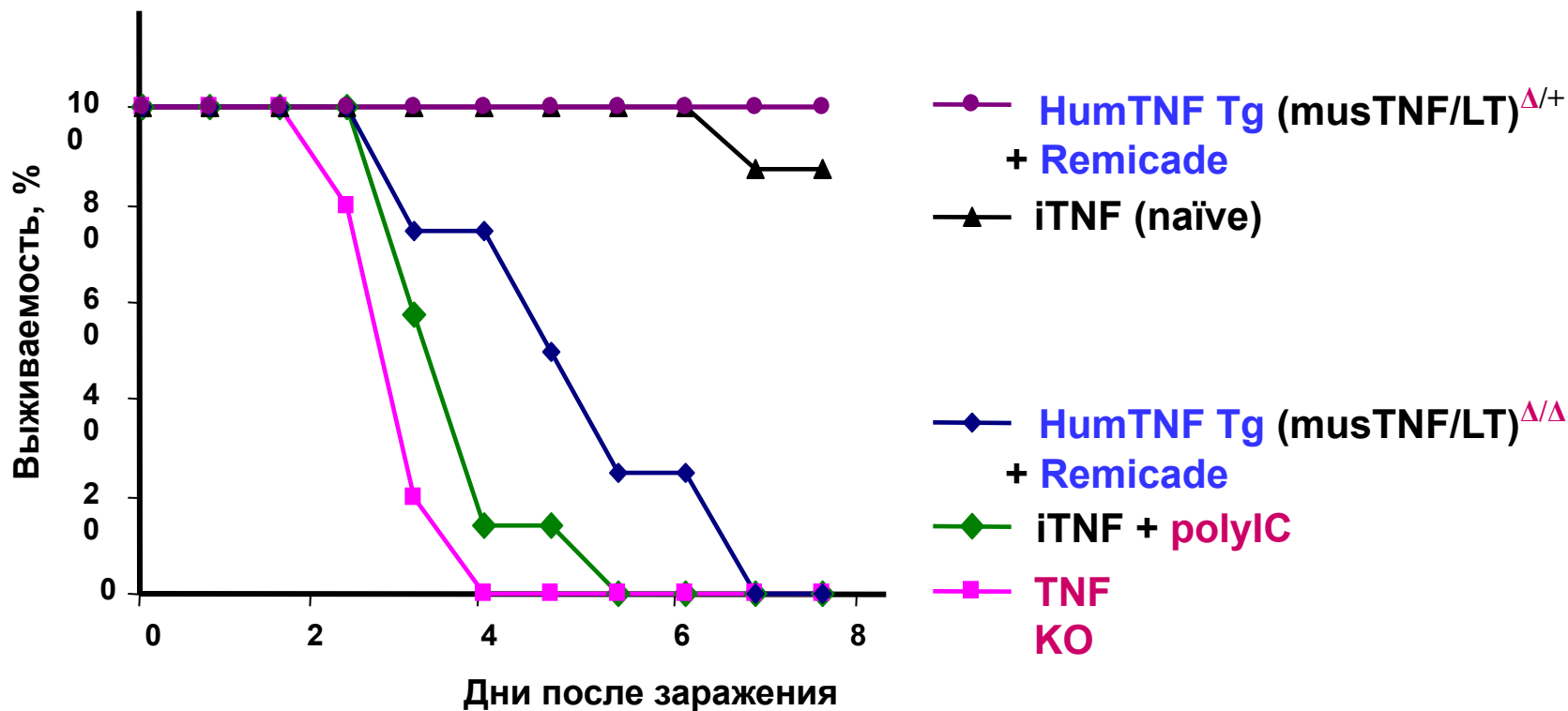
*Примерная стоимость курса лечения в Европе – **15** тыс Евро в год

Блокировка ФНО (индуцибельная делеция гена) замедляет развитие экспериментального артрита

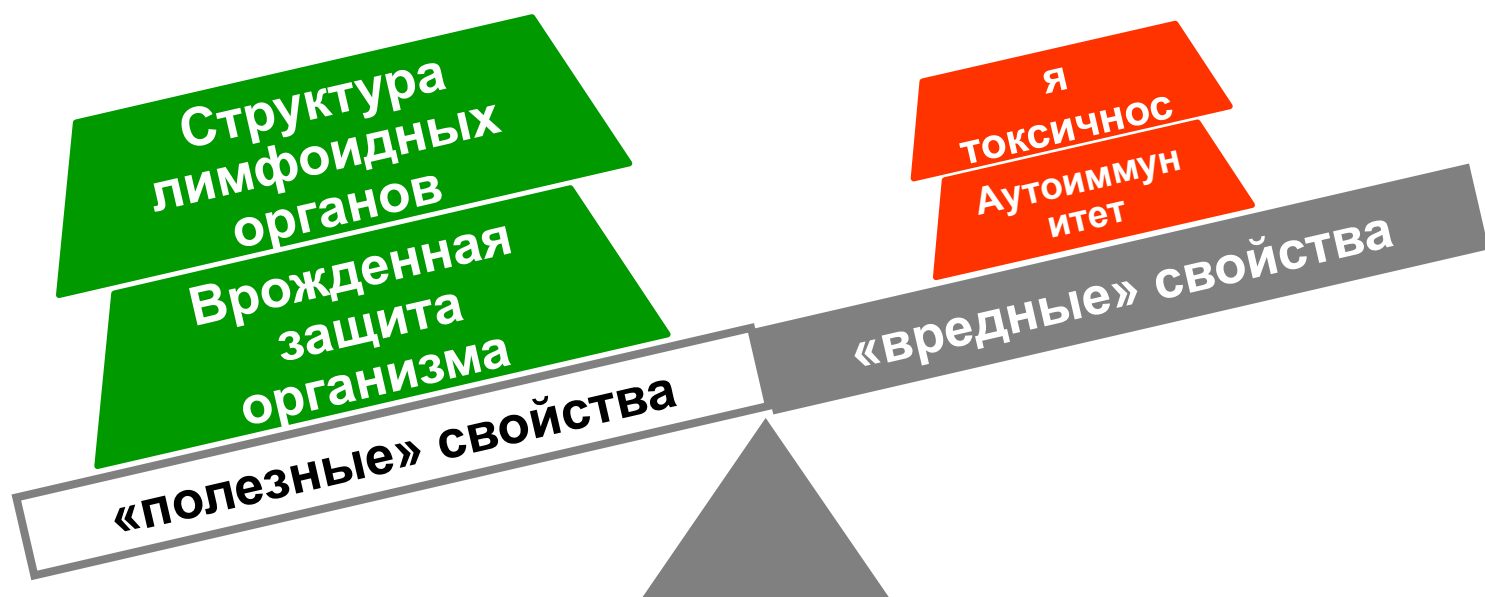


Блокировка ФНО с помощью индуцибельной делеции гена или с помощью блокаторов в «гуманизованных» мышах разрушает врожденную защиту против бактерий

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