



Цитокины — регуляторы иммунитета

С.А. Недоспасов^{1, 2} 

¹Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта, Российская академия наук, Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;

²Научно-технологический университет «Сириус», Россия, 354340, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., д. 1

*e-mail: sergei.nedospasov@gmail.com

Этот небольшой обзор посвящен цитокинам — молекулярным медиаторам иммунитета и многих других физиологических функций организма. Наука о цитокинах открыла новые принципы коммуникаций между клетками и новые парадигмы передачи внутриклеточного сигнала. В практической медицине нашли свое применение как некоторые рекомбинантные цитокины, так и — парадоксально — ингибиторы цитокинов.

Ключевые слова: цитокины, рецепторы, адаптеры, белок-киназы, транскрипционные факторы

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2S-3

Введение

Цитокины — это относительно небольшие белки, с помощью которых клетки передают сигналы друг другу через специфичные рецепторы [1]. В каком-то смысле, цитокины — молекулярный язык межклеточных коммуникаций. Действие большинства цитокинов эквивалентно передаче сигналов клеточной дифференцировки, пролиферации, выживания, активации (в различных смыслах) или регулируемой клеточной гибели. Отдельное подмножество цитокинов, называемых хемотаксическими цитокинами, или хемокинами, посылает инструкции по миграции клеток в направлении источника сигнала. Несмотря на то, что в механизмах передачи сигнала цитокины родственны некоторым белковым гормонам, главное отличие состоит в том, что они продуцируются многими типами клеток (а не специализированными клетками определенного органа) и могут действовать как дистально (подобно гормонам), так и локально — паракринно или аутокринно.

Всего у человека и животных может продуцироваться порядка сотни цитокинов, и для этого в геноме имеется соответствующее число генов. Примерно такое же число генов кодирует и специфичные для каждого цитокина рецепторы (или субъединицы рецепторных комплексов). Определенное исключение составляют рецепторы хемокинов, многие из которых могут связывать несколько лигандов, и которых поэтому меньше, чем самих хемокинов.

Экспрессия генов цитокинов в продуцирующих клетках и генов рецепторов в клетках-мишенях регулируется на нескольких уровнях, что и определяет сложную программу регуляции не только иммунной системы, но и других систем и органов.

Многие цитокины были первоначально описаны как «факторы», присутствующие в различных биологических жидкостях, но до очистки индивидуальных белков, клонирования соответствующих генов, их гетерологичной экспрессии и исследования свойств рекомбинантных белков в различных системах *in vitro* и *in vivo* они едва ли могли претендовать на индивидуальные названия (имена). Отметим, что существующая классификация цитокинов далека от совершенства и в ней сочетаются как термины, идущие от первоначальных «факторов», так и более рациональные названия (такие, как интерлейкин с номером).

К старейшим цитокинам (или белкам, которых из-за особенностей сигналинга принято считать цитокинами) можно отнести интерфероны, гемопоэтические факторы дифференцировки, а также лимфотоксин и фактор некроза опухолей. Все они были описаны еще до революции в молекулярной биологии, связанной с технологией рекомбинантной ДНК. Отметим, что в 80-х гг. прошлого века значительная часть новых цитокинов и хемокинов была открыта с помощью биоинформатических методов при анализе различных экспрессионных библиотек.

Главная парадигма — в ответ на активирующие сигналы продукция цитокинов контролируется транскрипционно. После трансляции и процессинга цитокины в растворимой или мембранной форме действуют на клетки-мишени через специфичные высокоаффинные рецепторы.

Продукция практически всех цитокинов регулируется. Классический пример — их активация экспрессии через рецепторы врожденного иммунитета химическими компонентами «чужого» (бактерий, грибов или вирусов), которые принято называть «молекулярными паттернами чужого». Причем, активационные сигналы могут поступать как снаружи, через клеточные рецепторы, так и изнутри клетки — из эндосом и даже из цитоплазмы (рисунок). Главный компонент регуляции — транскрипционная активация, которая может дополняться регуляцией экспрессии на посттранскрипционном, трансляционном и посттрансляционном уровнях. Особого внимания заслуживает Интерлейкин-1 (IL-1) и его ближайшие родственники. Для секреции этих цитокинов требуется дополнительный процессинг белка-предшественника, который осуществляет каспаза-1 — единственная каспаза, не вовлеченная в регуляцию клеточной гибели. Активация неактив-

ного предшественника каспазы-1 происходит за счет самоактивации инфламасомы — цитоплазматической белковой платформы, которая реагирует, во-первых, на внутриклеточные бактериальные инфекции, а во-вторых, на различные молекулярные «сигналы опасности».

Цитокины могут не только секретироваться, но и оставаться заякоренными на клеточной мембране — напрямую, или за счет взаимодействия с другим заякоренным белком. Передача сигналов от цитокина происходит за счет активации высокоаффинных рецепторов на клетках-мишенях. При этом, если цитокин был заякорен на мембране продуцирующей клетки, то для передачи сигнала необходим контакт между двумя клетками. Как уже отмечалось, число рецепторов цитокинов примерно такое же, как и число цитокинов. Это означает, что у большинства цитокинов есть либо свой отдельный рецептор, либо есть специфичная для (почти) каждого цитокина субъединица рецепторного комплекса. Таким образом, на уровне структуры рецепторов старая идея о вырожденности сигналов от родственных цитокинов не нашла подтверждения. Как уже отмечалось, исключение составляют хемокины, так как некоторые из них способны передавать сигнал через общий рецептор.

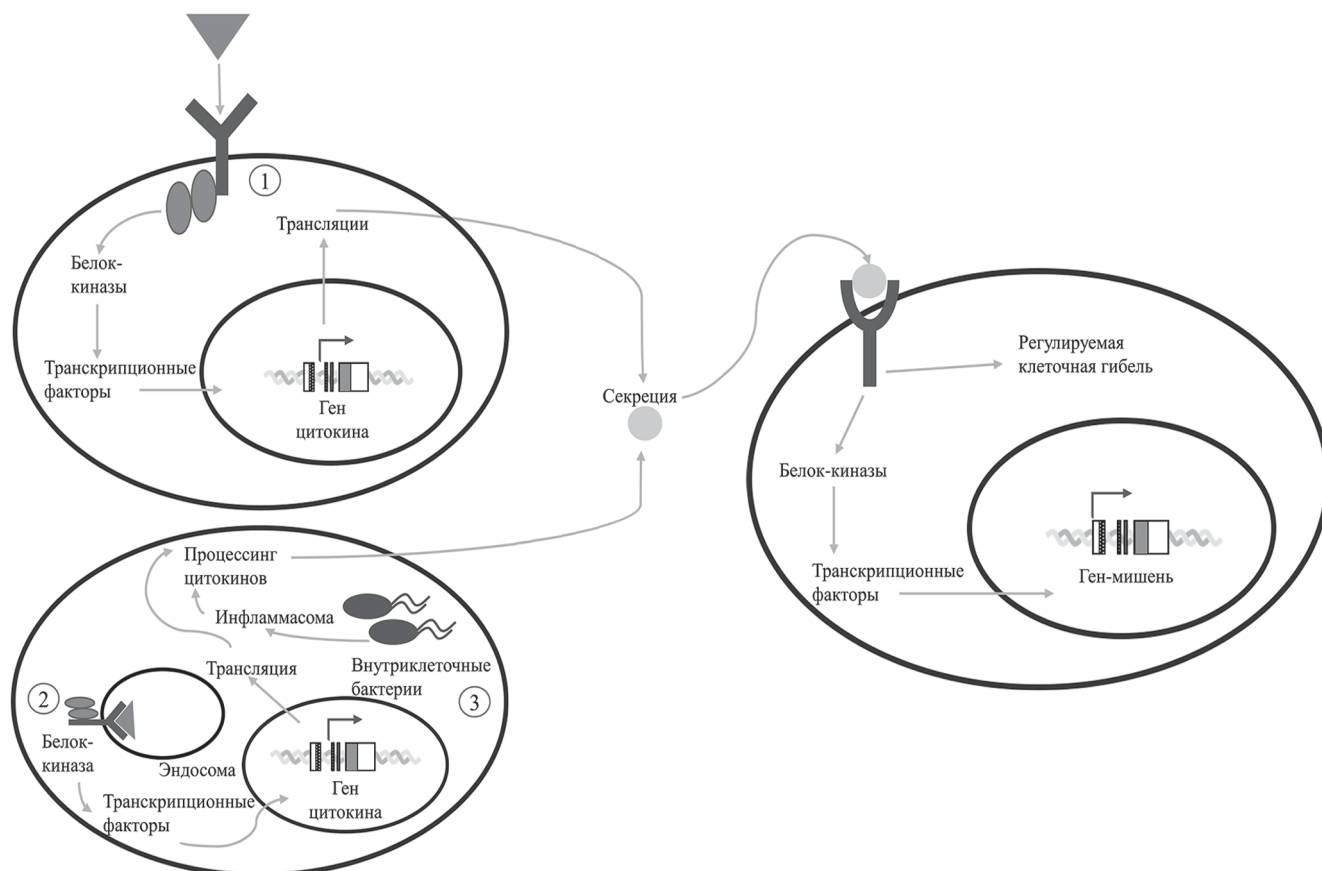


Рисунок. Схема, иллюстрирующая запуск синтеза цитокинов в ответ на активацию иммунных рецепторов и действие секретируемых цитокинов на клетку-мишень.

В левой части: 1 — внешний сигнал, действующий на клеточный рецептор; 2 — сигнал активированного рецептора в эндосоме; 3 — активация инфламасом, которые участвуют в процессинге цитокинов семейства IL-1.

В правой части показаны главные эффекты цитокинов (за исключением хемокинов) на клетку-мишень.

Классификация и главные парадигмы передачи внутриклеточного рецепторного сигнала

Изучение механизмов передачи сигнала от рецепторов цитокинов привело к открытию нескольких новых парадигм в клеточной биологии. Оказалось, что рецепторы цитокинов подсемейства IL-1, рецепторы большого суперсемейства фактора некроза опухолей (TNF), а также рецепторы IL-17, используют белки-адаптеры, которые пристыковываются к внутриклеточной части рецептора по принципу «подобное связывается с подобным» и иницируют сборку сигнальных платформ, в которые на некотором этапе сборки вовлекаются и белок-киназы. Далее передача сигнала происходит с помощью каскадного фосфорилирования, конечным результатом которого является активация не очень большого числа транскрипционных факторов и запуск экспрессии новой панели генов. Такие последствия действия цитокинов на клетки-мишени, как пролиферация

и дифференцировка, являются следствием новой транскрипционной программы. Кроме того, некоторые рецепторы цитокинов семейства TNF способны запускать сигнал регулируемой клеточной гибели, например, апоптоз или некроптоз.

Дадим краткий обзор молекулярных механизмов передачи сигналов от разных типов рецепторов (таблица).

Цитокины семейства IL-1 используют те же белковые адаптеры, что и Toll-подобные рецепторы врожденного иммунитета, например, MyD88. Киназный каскад включает белок-киназы IRAK (IL-1 Receptor-Associated Kinase) и IKK (I κ B Kinase). Ключевыми транскрипционными факторами, которые активирует эта группа рецепторов, являются белки семейства NF- κ B (Nuclear Factor Kappa B) и IRF (Interferon Regulatory Factor). Отметим, что активация NF- κ B происходит не за счет прямого фосфорилирования, а за счет деградации ингибитора I κ B (Inhibitor of κ B), которая регулируется фосфорилированием.

Таблица

Рецепторы основных семейств цитокинов

Группа рецепторов	Особенности строения	Особенности передачи внутриклеточного сигнала	Примечания	Ссылка
Для семейства IL-1	Гетеродимеры с ко-рецептором IL-1R3. Внутриклеточная часть содержит TIR-домен, гомологичный таковому у TLRs.	Инициация – через адаптер MyD88, который также содержит TIR-домен, активирует белок-киназы IRAK, IKK, транскрипционные факторы NF- κ B	Содержит рецепторы как провоспалительные, так и противовоспалительные	[2]
Для семейства TNF	Гомо- и гетеротримеры. Внеклеточная часть – цистеин-богатые повторы.	Адаптеры TRADD, FADD, RIP1 – для DD-содержащих рецепторов, TRAFs – практически для всех	DD-содержащие рецепторы способны индуцировать регулируемую клеточную гибель (апоптоз, некроптоз).	[3]
Для семейств IFN и IL-10	Гетеродимеры двух рецепторов, разные.	IFNR: Tyk1, Jak1 – киназы, STAT1-3 – предшественники транскрипционных факторов IL-10R: Jak1, Jak2 – киназы STAT-1	Семейство IFN I-типа содержит около 20 генов и псевдогенов для IFN-альфа и единственный ген для IFN-бета	[4]
Для некоторых интерлейкинов	Гетеродимеры (кроме IL-2R, являющегося гетеротримером) с общей гамма-цепью.	Каскад Jak-STAT	Ген общей гамма-цепи находится на X-хромосоме и его инактивация приводит к SCID	[5]
Для некоторых гемопоэтинов	Гетеродимеры с общей бета-цепью.	Каскад Jak-STAT		[6]
Для семейства IL-6	Гетеродимеры и гетеротримеры с общей gp130 субъединицей.	Каскад Jak-STAT	Для IL-6 дополнительные модальности сингалинга: транссингалинг	[7]
Для семейства IL-12	Гетеродимеры IL12R alpha/beta с gp130.	Каскад Jak-STAT	IL-23 использует IL-12Rbeta в комбинации с IL-23R, а IL-35 использует IL-12R beta в комбинации с gp130	[8]
Для семейства EGF	Гетеродимеры	Встроенные тирозиновые киназы	Мишени для терапии рака	[9]
Для семейства TGF-beta	Гетеротетрамеры рецепторов I и II типа	Встроенные серин-треониновые киназы	Могут взаимодействовать с другими сигнальными каскадами.	[10]
Для хемокинов	Родопсин- подобные рецепторы с 7 трансмембранными доменами	G-белки, белок-киназы, высвобождение ионов кальция.	Вырожденность: у одного и того же хемокина может быть несколько рецепторов, и несколько разных хемокинов могут передавать сигнал через один и тот же рецептор.	[11]

Рецепторы для цитокинов семейства TNF делятся на две подгруппы – на те, которые содержат, и те, которые не содержат особый белковый модуль, называемый «доменом смерти» (DD, Death Domain). Действительно, этот модуль вовлечен в некоторые (далеко не все!) механизмы регулируемой клеточной смерти, но его главная функция – рекрутировать в рецепторные комплексы другие белки (например, RIP1, Receptor-Interacting Protein 1), содержащие DD (по принципу «подобное связывается с подобным»). В результате на рецепторах, содержащих DD, собираются белковые платформы определенного состава, а на рецепторах без DD собираются другие комплексы. В обоих случаях участвуют адаптерные молекулы семейства TRAF (TNF Receptor Associated Factor). Киназный каскад в случае рецептора TNF отличается от такового для рецепторов IL-1 на начальных стадиях (нет киназы IRAK, но есть киназа Tak), но затем на уровне IKK и активации NF- κ B они становятся вырожденными. Семейство рецепторов IL-17 изучено хуже, но известно, что проксимальная часть сигнального каскада тоже использует адаптерные белки, в частности, TRAF.

Значительное число цитокиновых рецепторов используют сигнальный каскад, который состоит из тирозиновых белок-киназ семейства JAK (Janus Tyrosine Kinase; их известно 4) на рецептор-проксимальной стороне, и одного или более транскрипционных факторов семейства STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription; их известно 7) на дистальной части. Так передают сигналы интерфероны, большинство интерлейкинов (за исключением, IL-1, IL-8 и IL-18), большинство гемопоэтинов, а также гормон роста. Эти киназы в неактивном состоянии ассоциированы с внутренней частью рецепторов и активируются после связывания лиганда и конформационного изменения в молекуле рецептора. Мишенями этих белок-киназ являются предшественники 7 транскрипционных факторов семейства STAT. В отличие от белков NF- κ B активация STAT является прямым следствием фосфорилирования. Разумеется, белки STAT связываются с другими сайтами на ДНК, в сравнении с NF- κ B или IRF, поэтому в каждом случае активируются разные гены.

Несколько семейств цитокиновых рецепторов содержат во внутриклеточной части встроенные киназы – либо тирозиновые, либо серин-треониновые. В результате связывания цитокина рецептор изменяет конформацию, и при этом может активироваться встроенная белок-киназная активность, которая напрямую запускает киназные каскады (MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), Akt и JNK). Определенные мутации в молекулах рецепторов этого типа способны конститутивно активировать встроенные киназы, и тогда

рецептор может начать передавать сигнал и при отсутствии внешнего стимула. И если исходный рецептор регулировал пролиферацию определенного типа клеток, то мутантный рецептор может вызывать неоплазии.

Наконец, особняком стоит семейство рецепторов хемокинов – очень древнее семейство родопсин-подобных белков. Главная функция этих рецепторов состоит в поляризации клетки, позволяющей ей мигрировать в направлении источника хемотаксического сигнала. Хемокиновые сигналы играют важную роль при эмбриональном развитии. Физиология и функции иммунной системы не могут быть поняты без установления закономерностей перемещения иммунных клеток как на стадии дифференцировки, так и при иммунном ответе. При передаче сигнала от хемокиновых рецепторов участвуют так называемые G-белки, фосфолипаза, а также белок-киназы (отличные от тех, которые упоминались выше), причем медиаторами сигналинга является инозитолтрифосфат и диацилглицерол, а конечными мишенями являются, в частности, компоненты цитоскелета.

Медицинские применения науки о цитокинах

Значительная часть цитокинов были охарактеризована в научных лабораториях биотехнологических компаний. Причем, все вновь открытые гены и кодируемые ими белки были запатентованы с прицелом на дальнейшие медицинские приложения.

И хотя и старые, и новые цитокины показывали ожидаемую активность во многих экспериментальных системах *in vitro* и *in vivo*, в качестве лекарств большинство исследованных рекомбинантных цитокинов пока так и не смогло найти своего применения. Причин тому несколько, но главная состоит в том, что сигналинг от каждого цитокина в организме строго регулируется, во-первых, во времени, во-вторых, по действию только в определенном гистологическом компартменте и, в-третьих, по концентрации. При системном введении рекомбинантного белка учесть каждое из этих обстоятельств практически невозможно. Предполагаемые перспективы здесь – разработка систем таргетной доставки. Следует также добавить, что рецепторы для некоторых цитокинов присутствуют на многих типах клеток, так что в ответ на высокие системные дозы рекомбинантных белков возможна нежелательная реакция, типа «цитокинового шторма».

На сегодняшний день в широком применении находятся рекомбинантные интерфероны I типа, несколько гемопоэтических факторов и всего лишь несколько интерлейкинов. Системное применение рекомбинантных хемокинов вряд ли возможно, так как массивный хемотаксический сигнал привел бы к дезориентации клеток, несущих соответствующие рецепторы.

Несколько неожиданной оказалась терапевтическая эффективность блокаторов некоторых цитокинов, причем таких, у которых есть функциональные гомологи. Тем самым, был опровергнут тезис о полной вырожденности функций родственных цитокинов. По-видимому, в ходе эволюции каждый из них был отобран за счет каких-то уникальных функций, при нормальных физиологических процессах, что отражается и в отдельных патологиях. Следует подчеркнуть, что для многих цитокинов существуют эндогенные ингибиторы, которые часто представляют собой растворимые высокоаффинные рецепторы (контролирующие биодоступность данного цитокина) или эндогенные антагонисты рецепторов. Оба варианта представляют собой механизмы отрицательной обратной связи, характерные для многих физиологических процессов.

Первым и наиболее ярким примером стал успех терапевтической блокировки TNF при ревматоидном артрите [12]. Интересно, что в ходе клинических испытаний блокаторов TNF была подтверждена уникальная защитная функция этого цитокина — роль в поддержании структуры гранулем, особых капсул, окружающих зараженные микобактериями клетки. А редкими случаями осложнений анти-TNF терапии стала реактивация туберкулезной инфекции у пациентов без истории клинического туберкулеза.

В клинической практике используют 5 оригинальных блокаторов TNF (все — белковой основы) и большое число дженериков. Кроме ревматоидного артрита в список заболеваний, при которых эти блокаторы активны, входит болезнь Бехтерева (анкилозирующий спондилит), некоторые воспалительные болезни кишечника, псориаз и некоторые другие аутоиммунные заболевания. Разработаны блокаторы сигналинга провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 или IL-17 с помощью терапевтических антител, связывающих и блокирующих либо сами цитокины, либо их рецепторы.

Кроме блокировки сигнала на самом начальном этапе (взаимодействие цитокина и специфического рецептора) можно пытаться блокировать и разные этапы передачи внутриклеточного сигнала. Здесь надо помнить, что в каскаде «лиганд > рецептор > медиаторы внутриклеточного сигнала > транскрипционные факторы» специфичность действия отдельных молекул убывает по ходу этого каскада, а вырожденность их действия растет. Это означает, что малые молекулы, которые могут блокировать сигнальные белок-киназы или действовать еще «ниже», на уровне транскрипционных факторов, скорее всего, будут давать нежелательные побочные эффекты *in vivo*.

Заключение

Цитокины — ключевые медиаторы многих физиологических процессов, в первую очередь, иммунологических. Они играют центральную роль в построении иммунной системы растущего организма, и их экспрессией и эффектами регулируются многие стадии защитного иммунного ответа на инфекции. При некоторых инфекциях и заболеваниях нарушенная регуляция синтеза отдельных цитокинов лежит в основе патологических процессов. В этих случаях цитокины становятся терапевтическими мишенями, причем разработка наиболее безопасных и эффективных терапевтических стратегий остается делом будущего.

Автор благодарит Е.В. Булекову за помощь в оформлении рукописи и Е.С. Шилову за полезные критические замечания. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг. (Соглашение № 075-15-2021-1067). Работа проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иммунология по Ярилину: учебник, 2-е изд., испр. и доп. Под ред. С.А. Недоспасова и Д.В. Купраша. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2021. 808 с.
2. Dinarello C.A. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol. Rev.* 2018;281(1):8–27.
3. Locksley R.M., Killeen N., Lenardo M.J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell.* 2001;104(4):487–501.
4. de Weerd N.A., Nguyen T. The interferons and their receptors—distribution and regulation. *Immunol. Cell Biol.* 2012;90(5):483–491.
5. Leonard W.J., Lin J.X., O'Shea J.J. The γ_c family of cytokines: Basic biology to therapeutic ramifications. *Immunity.* 2019;50(4):832–850.
6. Hercus T.R., Kan W.L.T., Broughton S.E., et al. Role of the β common (βc) family of cytokines in health and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2018;10(6):a028514.
7. Wang X., Lupardus P., Laporte S.L., Garcia K.C. Structural biology of shared cytokine receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 2009;27:29–60.
8. Vignali D.A., Kuchroo V.K. IL-12 family cytokines: immunological playmakers. *Nat. Immunol.* 2012;13(8):722–728.
9. Sabbah D.A., Hajjo R., Sweidan K. Review on epidermal growth factor receptor (EGFR) structure, signaling pathways, interactions, and recent updates of EGFR inhibitors. *Curr. Top. Med. Chem.* 2020;20(10):815–834.

10. Heldin C.H., Moustakas A. Signaling receptors for TGF- β family members. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2016;8(8):a022053.

11. Allen S.J., Crown S.E., Handel T.M. Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism. *Annu. Rev. Immunol.* 2007;25:787–820.

12. Monaco C., Nanchahal J., Taylor P., Feldmann M. Anti-TNF therapy: past, present and future. *Int. Immunol.* 2015;27(1):55–62.

Поступила в редакцию 27.04.2024

После доработки 03.06.2024

Принята в печать 01.07.2024

REVIEW

Cytokines – regulators of immunity

S.A. Nedospasov^{1, 2} 

¹Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, st. Ostrovityanova, 1, Moscow, 119997, Russia;

²Sirius University of Science and Technology, “Sirius” Federal Territory, Olympic Ave. 1, Krasnodar region, 354340, Russia

*e-mail: sergei.nedospasov@gmail.com

This short review focuses on cytokines, molecular mediators of immunity and many other physiological functions of the body. Research on cytokines revealed new principles of cell-to-cell communications and new paradigms in intracellular signal transduction. A few recombinant cytokines and, paradoxically, some cytokine inhibitors found practical use in medicine.

Keywords: cytokines, receptors, adapters, protein kinases, transcription factors

Funding: This work was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019-2027 (Agreement No. 075-15-2021-1067).

Сведения об авторах

Недоспасов Сергей Артурович – докт. биол. наук, проф., академик РАН, гл. науч. сотр. лаборатории молекулярных механизмов иммунитета Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН; проф. кафедры иммунологии биологического факультета МГУ; руководитель направления «Иммунобиология и биомедицина» в НТУ «Сириус». Тел.: 8-499-135-23-11; e-mail: sergei.nedospasov@gmail.com; ORCID: 0000-0001-5818-2829