

УДК 616.379-008-64-06/07

## ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА

**Репина Е.А.**

*ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ, Москва, e-mail: e\_repina@mail.ru*

В обзоре дана подробная характеристика всех известных к настоящему времени Толл-подобных рецепторов (TLRs), обсуждаются молекулярные механизмы врожденного иммунитета, инициированные взаимодействием этих рецепторов с инфекционными патогенами. Особое место уделяется роли TLRs и NK-клеток в развитии аутоиммунных механизмов при СД1, обсуждаются перспективы терапевтических стратегий при данном заболевании с участием факторов врожденного иммунитета.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1 типа, врожденный иммунитет, Толл-подобные рецепторы (TLRs)

## FACTORS OF INNATE IMMUNITY IN TYPE 1 DIABETES

**Repina E.A.**

*FGBU «Endocrinology Research Centre» The Ministry of Health, Moscow, e-mail: e\_repina@mail.ru*

The review gave a detailed description of all currently known Toll-like receptors (TLRs), discussed the molecular mechanisms of innate immunity, initiated by the interaction of these receptors with infectious pathogens. A special place is given to the role of TLRs and of NK-cells in the development of autoimmune mechanisms in type 1 diabetes, discussed the prospects of therapeutic strategies for this disease involving factors of innate immunity.

**Keywords:** diabetes mellitus type 1, innate immunity, Toll-like receptors (TLRs)

Сахарный диабет 1 типа (СД1) – органоспецифическое аутоиммунное заболевание, которое развивается в результате Т-клеточно-опосредованной деструкции инсулин-продуцирующих β-клеток поджелудочной железы. Это аутоиммунное расстройство обусловлено как наследственными факторами, так и факторами окружающей среды [1, 2].

Многочисленные исследования позволили установить, что врожденные иммунные реакции, протекающие с участием Толл-подобных рецепторов (TLRs), могут способствовать развитию диабета у мышей. В частности, β-клетки, вовлеченные в процесс апоптоза, могут активировать представляющие антиген врожденные иммунные клетки через TLR2 [3]. В недавних исследованиях было показано, что панкреатические островки человека экспрессируют TLR2, TLR3, TLR4 и TLR9 [2].

Данные, полученные в экспериментах на животных моделях, а также людях показали, что системное воспаление играет важную роль в патофизиологических процессах развития диабета и способствует формированию врожденных иммунных реакций. TLRs являются ключевыми рецепторами врожденного иммунитета, которые распознают консервативные патоген-связанные молекулярные модели (PAMPs), вызывают воспалительные реакции, необходимые для защиты хозяина и инициируют адаптивный иммунный ответ.

### **Роль вирусной инфекции в инициации аутоиммунного воспаления в островковых клетках поджелудочной железы**

Связь между СД1 и вирусной инфекцией впервые была установлена в 1864 году, когда клиническая манифестация СД1 совпала с заражением вирусом эпидемического паротита. В настоящее время известно, что РНК данного вируса проникает в островки Лангерганса как *invitro*, так и *invivo*. Спустя столетие, в 1969 году, была установлена связь дебюта СД1 и вируса краснухи. Эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что связь вируса краснухи с развитием СД1 отмечается только у инфицированных пациентов, которые имеют генетическую предрасположенность к развитию СД1. Доказательства участия энтеровирусов в инициации СД1 были получены в нескольких исследованиях. При этом было отмечено увеличение концентрации энтеровирусной РНК в сыворотке крови по сравнению со здоровыми индивидуумами. В 1979 году была установлена связь цитомегаловирусной инфекции с развитием СД1. Тем не менее, аналогично эпидемическому паротиту и краснухе, энтеровирусная и цитомегаловирусная инфекции лишь повышают риск развития СД1 у генетически предрасположенных лиц.

Проникновение патогенов в организм человека контролируется врожденным и адаптивным звеньями иммунной систе-

мы. Адаптивный иммунитет опосредован В- и Т-лимфоцитами и распознает патогены посредством рецепторов с высокой аффинностью. Для формирования специфического иммунного ответа требуется несколько дней, поскольку реакции адаптивного иммунитета по нейтрализации микроорганизмов зависят от клеточной пролиферации, активации генов и синтеза белка. Более быстрые защитные механизмы обеспечиваются врожденным иммунитетом. В отличие от клоноспецифических рецепторов, которые экспрессируют Т- и В-лимфоциты, врожденная иммунная система использует неклональные наборы распознающих рецепторов, называемые паттерн-распознающими рецепторами (ППР). Эти рецепторы связывают определенные молекулярные структуры, характерные для больших групп патогенов.

Существует несколько групп ППР, которые могут секретироваться, экспрессироваться на поверхности или внутри клетки. Наиболее важными представителями этого семейства являются TLRs.

TLRs представляют собой семейство распознающих рецепторов, которые играют важную роль в системе врожденного иммунитета путем активации провоспалительных сигнальных путей в ответ на внедрение патогенных микроорганизмов [4]. Комбинированная TLR4/моноцит и TLR3/ткань активация приводит к дальнейшему повышению уровня провоспалительных цитокинов. Следовательно, характер воспалительной реакции будет зависеть от степени экспрессии TLRs на лейкоцитах и клетках тканей, взаимодействия между лейкоцитами и клетками тканей, а также агонистов TLRs, с которыми они взаимодействуют [4].

Связывание PAMPs с TLRs индуцирует продукцию активных форм кислорода и азота, промежуточных соединений (ROI и RPI), провоспалительных цитокинов и до-регулирует экспрессию стимулирующих молекул, впоследствии инициирующих адаптивный иммунитет.

В настоящее время у человека идентифицировано 11 видов TLRs. По особенностям экспрессии TLRs можно разделить на универсальные (TLR1), с ограниченной экспрессией (TLR2, TLR4, TLR5) и специфические (TLR3). Наиболее распространенным рецептором является TLR1, что свидетельствует в пользу того, что этот рецептор участвует в регуляции передачи сигнала от других TLRs.

TLRs способны распознавать липиды, протеины, нуклеиновые кислоты как экзогенного происхождения (фрагменты микроорганизмов), так и образующиеся в организме.

Мутации генов TLRs и дефицит TLRs являются причиной повышенной восприимчивости организма к различным инфекциям и приводят к их хронизации [5].

Активация TLRs приводит в дальнейшем к активации клеток врожденной иммунной системы: макрофагов, дендритных клеток, тучных клеток, моноцитов, нейтрофилов, и индукции провоспалительных и противовоспалительных белков, белков острой фазы, костимулирующих молекул. Эти рецепторы участвуют также в формировании специфического иммунного ответа, влияя на механизмы «иммунологической памяти». Кроме того, TLRs играют важную роль в регуляции гемопоэза, влияют на дифференцировку миелоидных стволовых клеток, пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, активируют апоптоз. Активация TLRs, также как и рецептора ИЛ1, приводит к транскрипции ядерного фактора NF-κB через MAPK-киназы, что позволяет предположить, что эти рецепторы задействуют сходные сигнальные пути.

#### TLR2

Наиболее изученным TLR является TLR2. Он способен распознавать большой спектр основных компонентов клеточной стенки или PAMPs [6, 7]. Лигандами для TLR2 являются структуры грамположительных бактерий, включая липопротеины, липопептиды, пептидогликаны и липотейхоевые кислоты, а также липоарабиноманнан микобактерии, грибовый зимозан, стафилококковый модулин и гликозилфосфатидилинозитол *Tyranosomastuzi*. Оставалось неясным, как один рецептор способен распознавать такой спектр структур. Позднее установили, что TLR2 формирует гетеродимерные комплексы с другими рецепторами. Димер TLR2/TLR6 распознает диацелированные липопептиды на моноцитах человека, а TLR1/TLR2 преимущественно триацелированные. TLR1-TLR2 гетеродимеризация активирует дендритные клетки, В-клетки, NK-клетки, тучные клетки и кератиноциты [1]. TLR2 и TLR6 участвуют в совместном выявлении зимозана дрожжевых грибов [1]. Распознавание грибовых паттернов TLR2, возможно, также осуществляет в комплексе с лектиновыми рецепторами. Кроме того, компоненты некротических, но не апоптотических клеток принимают участие в активации фибробластов и макрофагов с помощью TLR2 [8].

#### TLR4

TLR4 является одним из важнейших компонентов липополисахарид (ЛПС)-

рецепторного комплекса, который активирует клетки при воздействии на грам-отрицательные бактерии. Тем не менее, он также взаимодействует с другими лигандами, в частности, растительного происхождения. Для распознавания ЛПС TLR4 требуется формирование белкового комплекса, содержащего дополнительные молекулы: ЛПС, как правило, связывается с ЛПС-связывающим белком сыворотки, и этот комплекс сначала распознается рецептором моноцитов и макрофагов, CD14, который, в свою очередь, взаимодействует с TLR4 и вызывает его активацию [9]. После связывания ЛПС с TLR4 и его ко-рецепторами – CD14 и MD-2, адаптерным белком MyD88 (миелоидный фактор дифференцировки 88) происходит соединение МДП (Toll/IL-1 рецептор) области TLR4 и MyD88. Это инициирует сигнальный каскад, который приводит к активации NF- $\kappa$ B пути, который, в свою очередь, активирует транскрипцию многих провоспалительных генов, кодирующих молекулы воспаления, включая цитокины, хемокины и другие эффекторы врожденного иммунного ответа [9].

Эндотоксический шок опосредован TLR4, который индуцирует высвобождение провоспалительных цитокинов и хемокинов из иммунных и неиммунных клеток. Например, отсутствие надлежащей TLR4-сигнализации может предрасполагать к сепсису у пациентов с ревматоидным артритом, получавших антагонист фактора некроза опухоли [10], но функциональный дефект TLR4 не предрасполагает к ревматоидному артриту сам по себе [11]. TLR4 требуется для поглотительной функции нейтрофилов при эндотоксин-индуцированном повреждении легких [12]. В 1998 году было установлено, что точечная мутация в гене, кодирующем TLR4, является молекулярной основой для гипер-чувствительности к липополисахариду у мышей линий C3H/HeJ и C57BL/10ScCr. Линия мышей C57BL/10ScCr имеет хромосомный дефект, который приводит к потере TLR4 гена [13]. Мыши, принадлежащие к этим линиям, показали фенотип мышей с делецией гена TLR4. У людей мутации TLR4 также связаны с нарушением реакции на ЛПС, но отсутствие TLR4 у людей не влияет на исход бактериального сепсиса [14, 15]. К внутриклеточным рецепторам относятся TLR3, 7, 8 и 9. Они распознают различные мотивы нуклеотидных последовательностей и обеспечивают противовирусную защиту. Активация TLR7 и TLR8 приводит к транскрипции интерферонового фактора регуляции – 3 (IRF3) и IRF7 и последующей продукции интерферонов I типа.

### TLR3

TLR 3 экспрессируется, в основном, в миелоидных дендритных клетках [16-18]. Хотя TLR3 является внутриклеточным рецептором, показано, что эпителиальные клетки и макрофаги могут также экспрессировать рецептор на своей поверхности [15]. Рецептор распознает различные нуклеотидные последовательности и обеспечивает противовирусную защиту [16, 17].

Установлено, что TLR3 является детектором двухцепочечной РНК [19, 20]. Считается, что TLR3 распознает вторичную структуру РНК, и также вызывает продукцию 1-го типа интерферонов (ИФН) и провоспалительных цитокинов. Двухцепочечная РНК вирусов вызывает созревание дендритных клеток посредством TLR3 [19]. По-видимому, эта РНК может выступать в качестве естественного адъюванта, который содействует потере толерантности против представленных эндогенных или экзогенных антигенов и модулирует баланс Т-клеток-хелперов – Th1/Th2 в последующем их ответе. Среди множества моноцитарных иммунных клеток, TLR3 экспрессируется на мышинных макрофагах, в то время как у человека экспрессия TLR3 осуществляется исключительно на миелоидных дендритных клетках [19, 21, 22]. Кроме того, TLR3, как сообщается, экспрессируется на большом числе неиммунных клеток, включая клетки клубочкового мезангия [23], астроциты [24], клетки маточного эпителия [25] и фибробласты [26].

### TLR7 и TLR8

Как и TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 находятся внутриклеточно в эндосомах и распознают фагоцитированные лиганды [27, 28]. TLR7 и TLR8 распознают вирусные РНК, а также различные синтетические аналоги гуанозина [1, 29]. Они активируют дендритные клетки, которые созревают и продуцируют провоспалительные цитокины [29].

### TLR9

Неметилированной цитозин-гуанозин (CpG) ДНК является важным лигандом для TLR9 [30]. CpG динуклеотид является стимулирующим мотивом бактериальной и вирусной ДНК [31]. CpG-ДНК является В-митогеном клетки и сильным активатором дендритных клеток в организме человека [28]. В комплексе с другими белками он вызывает усиление антиген-специфического гуморального и Th1-клеточного иммунного ответа [32]. TLR9 находится в эндоплазматической сети и перераспреде-

ляет эндосомы при взаимодействии с CpG-ДНК [27]. Производство синтетических CpG-олигонуклеотидов является мощным инструментом для проведения исследований в этой области. В недавнем исследовании в качестве еще одного природного лиганда для TLR9 был описан плазмодий. Это внесло сомнения в концепцию, согласно которой TLR9 признает специфические последовательности нуклеиновых кислот [33, 34], которая подтверждается тем фактом, что образованные наночастицы ДНК могут модулировать TLR9 сигнализацию на производство высокого уровня 1 типа ИФН [35].

### TLR10 и TLR11

TLR10 экспрессируется на различных клетках человека, но его лиганды, а также последствия активации еще предстоит установить [36]. TLR11 был открыт сравнительно недавно [37]. Согласно имеющимся данным, TLR11 распознает молекулы уропатогенных *E.coli* и профилин-подобные молекулы *Toxoplasma gondii* [37, 38], однако полный спектр распознаваемых микроорганизмов до конца еще не определен. Опубликованные данные по гену TLR11 включают стоп-кодон в кодирующей последовательности [37].

Экспрессия TLR10 преимущественно осуществляется на В-клетках и плазматических дендритных клетках миндалин. Он способен формировать гомодимеры и гетеродимеры с TLR1 и TLR6.

### Специфика TLR сигнализации

Специфика TLR сигнализации зависит от экспрессии конкретного типа клеток, потенциала для гетеродимеризации определенных TLR и группы цитоплазматических адаптерных молекул [1]. Фактор 88 (MyD88) миелоидной дифференцировки (первичного ответа) был первым идентифицированным адаптером [39]. Исследования с MyD88-дефицитными мышами показали, что существуют другие, MyD88-независимые сигнальные пути, связанные с Toll-IL-1 рецептором (TIR), домен-содержащим адаптером TRIF (TIR домен-содержащий белковый адаптер, вызывающий продукцию бета-интерферона) и TRAM (TRIF связанный адаптер). MyD88 является единственным адаптером для TLR9, но TLR2, TLR4 и TLR6 могут использовать TIR домен-содержащий адаптер или адаптер MyD88. Соответственно, активация TLR3 и TLR4 может включать в себя MyD88 или TRAM [39] (рисунок). Далее в процесс TLR-сигнализации вовлекаются члены семейства IL-1 рецептор-ассоциированных

киназ и IFN-регуляторный фактор, которые в конечном счете активируют фактор транскрипции ядерного фактора (NF)-κB и белки из семейства ИФН-регуляторных факторов [39]. Генетические дефекты в механизмах TLR-сигнализации чаще вызывают иммунодефицит, но не аутоиммунный синдром [40]. Однако, недавнее исследование, включающее анализ связей в 44 одиночных нуклеотидных полиморфизмов в 13 генах 1-го типа ИФН определили два полиморфизма тирозинкиназы 2 и IFN-регуляторном факторе 5 генов, которые связаны с системной красной волчанкой [41].

Связываясь с PAMPs, TLRs инициируют мощные механизмы врожденного антимикробного иммунитета. Сигнал с TLRs через MyD88 вызывает NF-κB-зависимую продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые вызывают местное и системное воспаление, включая артрит [42, 43]. Например, как CpG ДНК, так и ЛПС могут вызвать активную продукцию фактора некроза опухоли альфа и других провоспалительных медиаторов у мышей, в то время как TLR4-дефицитные и TLR9-дефицитные мыши не реагируют на соответствующие лиганды [21, 30]. Вирусные нуклеиновые кислоты связывают определенный набор TLRs. Например, сигналы от TLR3 через адаптер TRIF, который вызывает продукцию 1-го типа ИФН, одного из основных компонентов противовирусного иммунитета [44]. Сигналы с TLR9 через MyD88 также стимулируют производство большого количества 1-го типа ИФН после распознавания связанных вирусных CpG-ДНК [35]. После связывания с TLRs, антиген-представляющие клетки с участием костимулирующих молекул выделяют провоспалительные цитокины. Связывание TLRs, в основном, вызывает секрецию Th1 цитокинов, которые впоследствии управляют Т-клеточной функцией, воздействуя на Th1-тип иммунитета [45-47]. Таким образом, TLRs лиганды выступают в качестве вакцинных адъювантов [48, 49].

### Распознавание патогенов паттерн-распознающими рецепторами (ППР) при СД1

Известно, что хемокины являются центральными медиаторами клеточных перемещений и участвуют в развитии СД1 как у NOD-мышей, так и у человека. Было показано, что мышинные и человеческие клетки островков, включая производящие инсулин β-клетки, экспрессируют TLR, и данный механизм увеличивает продукцию провоспалительных хемокинов. Эти результаты позволили предположить, что

среди инициирующих факторов в развитии СД1 микробные продукты способны активировать TLR островков посредством продукции хемокинов, которые привлекают в очаг воспаления Т-клетки, макрофаги и дендритные клетки. Таким образом, TLR-индуцированная продукция хемокинов может быть важным событием в реализации ранних механизмов развития СД1, приводя к лейкоцитарной инфильтрации островков Лангерганса [50].

Инсулит у человека протекает менее интенсивно по сравнению с инсулитом в животных моделях и морфологически характеризуется, в основном, Т-клетками, хотя В-клетки, макрофаги и NK клетки также присутствуют в изучаемых образцах.

Медиаторы воспаления могут способствовать длительному функциональному подавлению и гибели  $\beta$ -клеток, модуляции регенерации островковых клеток и, как следствие, – их апоптозу. Адаптивная иммунная система распознает весьма разнообразные антигены микроорганизмов посредством поверхностных Т-клеточных рецепторов. В последнее время было замечено, что человеческие панкреатические островки экспрессируют TLR2, TLR3, TLR4 и TLR9 [1].

Во время вирусной инфекции появляется двухцепочечная РНК, которая накапливается в цитоплазме, связывается с TLR3

и выступает в качестве триггера ряда реакций, которые приводят к апоптозу  $\beta$ -клеток через активацию транскрипционных факторов, таких как NF $\kappa$ B и IRF-3. Эти факторы транскрипции увеличивают экспрессию матричной РНК провоспалительных цитокинов, в частности, IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО и хемокинов (например, CXCL10), которые привлекают моноциты, Т-лимфоциты и NK клетки, тем самым увеличивая воспаление в островках и, как следствие, – дисфункцию и повреждение  $\beta$ -клеток [51].

TLR2 и TLR4 соответственно связывают компоненты грам-положительных и грам-отрицательных бактерий. Они находятся в различных клетках и тканях, преимущественно на моноцитах [52].

Основной причиной смерти при СД1 является атеросклероз и воспаление, которое играет ключевую роль в его развитии. При этом гипергликемия способствует развитию сосудистых осложнений диабета, вызывая продукцию цитокинов, хемокинов и активацию NF $\kappa$ B. Сочетание воспаления, гипергликемии и диабета имеет тесную связь с иммунной системой [53]. Количество матричной РНК для TLR2 и TLR4 значительно увеличивается в условиях гипергликемии [54]. Согласно другим исследованиям, экспрессия TLR2 и TLR4 увеличивается на моноцитах пациентов с СД1 [55].

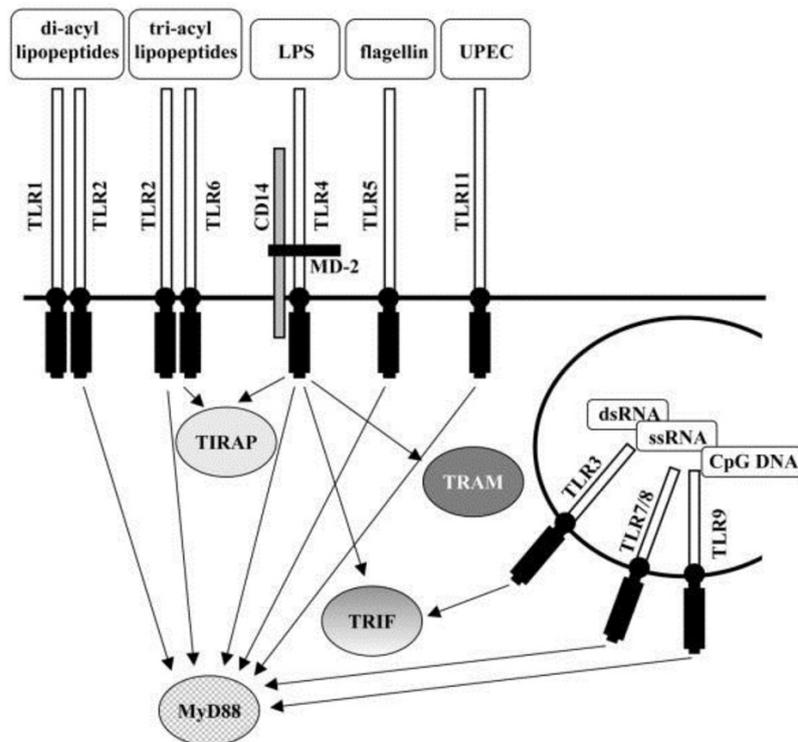


Схема передачи сигналов через TOLL-рецепторы в клетку

Среди лигандов, которые могут связываться с TLR2 и TLR4, эндотоксин является основным экзогенным лигандом для TLR4. Уровни эндотоксина значительно повышаются у пациентов с СД1 по сравнению с контрольной группой и могут привести к воспалению вследствие активации TLR4 [56]. Кроме того, течение СД1 сопровождается повышением уровня Hsp60 (белок теплового шока 60), который может индуцировать продукцию провоспалительных цитокинов с последующей активацией внутриклеточных сигнальных путей через взаимодействие с тремя распознающими рецепторами: TLR2, TLR4 и RAGE и регуляцию генов, участвующих в провоспалительных реакциях, таких как IL-1, ФНО- $\alpha$ , и MCP-1 в моноцитах [57].

На основании анализа сыворотки крови пациентов с СД1 было показано, что хемокины, продуцируемые в ответ на связывание лиганда с TLR4, участвуют в развитии воспаления, направляя миграцию лейкоцитов и вызывая их активацию на ранних стадиях иммунного реагирования, способствуя переходу к адаптивному иммунитету. В частности, в сыворотке крови пациентов с сахарным диабетом 1 типа, наблюдалось повышение концентрации хемокинов, таких как CCL3, CCL4 и CXCL10 (IP10) [1]. CXCL10 является мощным хемоаттрактантом. Он модулирует экспрессию молекул адгезии после ИФН- $\gamma$  стимуляции. Связывания ЛПС TLR4 индуцирует продукцию CXCL10 с привлечением NF $\kappa$ B [54]; эти молекулы привлекают больше моноядерных клеток, что приводит к продукции нескольких видов цитокинов. Этот порочный круг может привести к прогрессивному и селективному накоплению макрофагов и Т-клеток в островке, а затем разрушению  $\beta$ -клеток поджелудочной железы.

#### **Роль НК-клеток (связь других факторов врожденного иммунитета с TLRs)**

В последние годы появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что врожденный и адаптивный иммунный ответ участвуют в патогенезе сахарного диабета 1 типа с привлечением не только Т- и В-лимфоцитов, но и других компонентов врожденной иммунной системы, таких как НК-клетки и дендритные клетки. Как следствие, – модуляция врожденной иммунной системы может рассматриваться в качестве потенциально интересной стратегии лечения и профилактики сахарного диабета 1 типа.

Например, ингибирующее действие IL-1 имеет клиническую эффективность при многих воспалительных заболеваниях, включая ревматоидный артрит и даже диа-

бет 2 типа. IL-1 играет роль в  $\beta$ -клеточной дисфункции и разрушении через NF $\kappa$ B сигнализацию, что приводит к клеточному стрессу и последующему апоптозу  $\beta$ -клеток. Кроме того, ИЛ-1 действует на иммунную систему, влияя на взаимодействие между врожденным и адаптивным иммунным ответом. Соответственно, он представляет собой потенциальную мишень интервенции в аутоиммунный диабет [58].

Большой интерес также представляет модуляция анти-островковой иммунной агрессии. Это касается взаимодействия между микробами и компонентами врожденной иммунной системы. В недавних исследованиях было показано, что NOD мыши, лишенные MyD88 белка, не развивают СД1 [59]. Этот эффект зависит от наличия синантропных микробов, а MyD88 дефицит изменяет состав дистальной кишечной микрофлоры. Предполагается, что взаимодействия кишечных микробов с врожденной иммунной системой могут выступать в качестве критических эпигенетических факторов, влияющих на предрасположенность к СД1. Исследования на животных моделях и у человека показали возможное участие естественных киллеров не только в развитие болезни, но и в защите от нее. Таким образом, предполагается, что эти клетки играют двойную роль в патогенезе СД1. Возможно, это связано с гетерогенностью данного заболевания. Обсуждается также вероятность различного вклада НК клеток в патогенез заболевания в зависимости от стадии болезни.

#### **Заключение**

TLRs являются ключевыми рецепторами распознавания микробных, вирусных и грибковых агентов. Их конкретная роль в формировании врожденного и адаптивного иммунитета заключается в механизмах поддержания толерантности в организме хозяина. Связывание TLRs может способствовать потере толерантности по нескольким механизмам. Конкретные роли отдельных сигнальных путей для различных аутоиммунных состояний еще предстоит установить. Предварительные исследования с функциональными антагонистами TLRs показали, что TLRs могут выступать в качестве набора потенциальных мишеней для лечения и профилактики многих аутоиммунных заболеваний и их осложнений и, в частности, СД1.

Исследования молекулярных механизмов участия НК клеток в регуляции аутоиммунных процессов в островках Лангерганса необходимо продолжать и углублять с учетом ранее полученных противоречивых ре-

зультатов. Это необходимо для разработки новых терапевтических стратегий, направленных на профилактику и/или лечение СД1.

#### Список литературы

1. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет // Руководство для врачей. – 2003. – С. 77–81.
2. Eizirik D.L., Colli M., Ortis F. (2009) The role of inflammation in insulinitis and beta cell loss in type 1 diabetes. *Nat Rev Endocrinol* 5:219–226.
3. Janeway C.A., Medzhitov R. (2002) Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 20:197–216.
4. Philbin V.J., Iqbal M., Boyd Y., Goodchild M.J., Beal R.K., Bumstead N., Young J., Smith A. Identification and characterization of a functional, alternatively spliced Toll-like receptor 7 (TLR7) and genomic disruption of TLR8 in chickens. *Immunology*. 2005;114:507–521.
5. Grieco F.A., Vendrame F., Spagnuolo I., Dotta F. Innate immunity and the pathogenesis of type 1 diabetes. *Semin Immunopathol*. 2011 33:57–66.
6. Heikenwalder M., Polymenidou M., Junt T., Sigurdson C., Wagner H., Akira S., Zinkernagel R., Aguzzi A. Lymphoid follicle destruction and immunosuppression after repeated CpG oligodeoxynucleotide administration. *Nat Med*. 2004;10:187–192.
7. Takeuchi O., Hoshino K., Kawai T., Sanjo H., Takada H., Ogawa T., Takeda K., Akira S. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*. 1999;11:443–451.
8. Hirschfeld M., Kirschning C.J., Schwandner R., Wesche H., Weis J.H., Wooten R.M., Weis J.J. Cutting edge: inflammatory signalling by *Borrelia burgdorferi* lipoproteins is mediated by toll-like receptor 2. *J Immunol*. 1999;163:2382–2386.
9. Anders H-J., Zecher D., Pawar R.D., Patole P.S. Molecular mechanisms of autoimmunity triggered by microbial infection. *Arthritis research and therapy* 2005 7:215–224.
10. Takeda K., Kaisho T., Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:335–376.
11. Li M., Carpio D.F., Zheng Y., Bruzzo P., Singh V., Ouaz F., Medzhitov R.M., Beg A.A. An essential role of the NF-kappa B/Toll-like receptor pathway in induction of inflammatory and tissue-repair gene expression by necrotic cells. *J Immunol*. 2001;166:7128–7135.
12. Netea M.G., Radstake T., Joosten L.A., van der Meer J.W., Barrera P., Kullberg B.J. Salmonella septicemia in rheumatoid arthritis patients receiving anti-tumour necrosis factor therapy: association with decreased interferon-gamma production and Toll-like receptor 4 expression. *Arthritis Rheum*. 2003;48:1853–1857.
13. Kilding R., Akil M., Till S., Amos R., Winfield J., Iles M.M., Wilson A.G. A biologically important single nucleotide polymorphism within the toll-like receptor-4 gene is not associated with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21:340–342.
14. Andonegui G., Bonder C.S., Green F., Mullaly S.C., Zbytniuk L., Raharjo E., Kubes P. Endothelium-derived Toll-like receptor-4 is the key molecule in LPS-induced neutrophil sequestration into lungs. *J Clin Invest*. 2003;111:1011–1020.
15. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Huffel C.V., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., et al. Defective LPS signalling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in *Tlr4* gene. *Science*. 1998;282:2085–2088.
16. Arbour N.C., Lorenz E., Schutte B.C., Zabner J., Kline J.N., Jones M., Frees K., Watt J.L., Schwartz D.A. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet*. 2000;25:187–191.
17. Feterowski C., Emmanuilidis K., Miethke T., Gerauer K., Rump M., Ulm K., Holzmann B., Weighardt H. Effects of functional Toll-like receptor-4 mutations on the immune response to human and experimental sepsis. *Immunology*. 2003;109:426–431.
18. Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappa B by Toll-like receptor 3. *Nature*. 2001;413:732–738.
19. Wang T., Town T., Alexopoulou L., Anderson J.F., Fikrig E., Flavell R.A. Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. *Nat Med*. 2004;10:1366–1373.
20. Muzio M., Bosisio D., Polentarutti N., D'amico G., Stoppacciaro A., Mancinelli R., van't Veer C., Penton-Rol G., Ruco L.P., Allavena P., Mantovani A. Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J Immunol*. 2000;164:5998–6004.
21. Heinz S., Haehnel V., Karaghiosoff M., Schwarzfischer L., Muller M., Krause S.W., Rehli M. Species-specific regulation of toll-like receptor 3 genes in men and mice. *J Biol Chem*. 2003;278:21502–21509.
22. Tsan M.F., Gao B. Endogenous ligands of Toll-like receptors. *J Leukoc Biol*. 2004;76:514–519.
23. Patole P.S., Gröne H.J., Segerer S., Ciubar R., Belemzova E., Henger A., Kretzler M., Schlöndorff D., Anders H.J. Viral double-stranded RNA aggravates lupus nephritis through Toll-like receptor-3 on glomerular mesangial cells and antigen-presenting cells. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:1326–1338.
24. Farina C., Krumbholz M., Giese T., Hartmann G., Aloisi F., Mehl E. Preferential expression and function of Toll-like receptor 3 in human astrocytes. *J Neuroimmunol*. 2005;159:12–19.
25. Schaefer T.M., Desouza K., Fahey J.V., Beagley K.W., Wira C.R. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells. *Immunology*. 2004;112:428–436.
26. Matsumoto M., Kikkawa S., Kohase M., Miyake K., Seya T. Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signalling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;293:1364–1369.
27. Latz E., Schoenemeyer A., Visintin A., Fitzgerald K.A., Monks B.G., Knetter C.F., Lien E., Nilsen N.J., Espevik T., Golenbock D.T. TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome. *Nat Immunol*. 2004;5:190–198.
28. Wagner H. The immunobiology of the TLR9 subfamily. *Trends Immunol*. 2004;25:381–386.
29. Hemmi H., Kaisho T., Takeuchi O., Sato S., Sanjo H., Hoshino K., Horiuchi T., Tomizawa H., Takeda K., Akira S. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7/MyD88-dependent signalling pathway. *Nat Immunol*. 2002;3:196–200.
30. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000;408:740–745.
31. Krieg A.M., Yi A.K., Matson S., Waldschmidt T.J., Bishop G.A., Teasdale R., Koretzky G.A., Klinman D.M. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature*. 1995;374:546–549.
32. Leadbetter E.A., Rifkin I.R., Hohlbaum A.M., Beaudette B.C., Shlomchik M.J., Marshak-Rothstein A. Chromatin-IgG complexes activate B cells by dual engagement of IgM and Toll-like receptors. *Nature*. 2002;416:603–607.
33. Coban C., Ishii K.J., Kawai T., Hemmi H., Sato S., Uematsu S., Yamamoto M., Takeuchi O., Itagaki S., Kumar N., et al. Toll-like receptor 9 mediates innate immune activation by the malaria pigment hemozoin. *J Exp Med*. 2005;201:19–25.
34. Rutz M., Metzger J., Gellert T., Luppa P., Lipford G.B., Wagner H., Bauer S. Toll-like receptor 9 binds single-stranded CpG-DNA in a sequence- and pH-dependent manner. *Eur J Immunol*. 2004;34:2541–2550.
35. Kerkmann M., Rothenfusser S., Hornung V., Rothenfusser S., Battiany J., Hornung V., Johnson J., Englert S., Ketterer T., Heckl W., et al. Activation with CpG-A and CpG-B oligonucleotides reveals two distinct regulatory pathways of type I IFN synthesis in human plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol*. 2003;170:4465–4474.

36. Bourke E., Bosisio D., Golay J., Polentarutti N., Mantovani A. The Toll-like receptor repertoire of human B lymphocytes: inducible and selective expression of TLR9 and TLR10 in normal and transformed cells. *Blood*. 2003;102:956–963.
37. Zhang D., Zhang G., Hayden M.S., Greenblatt M.B., Bussey C., Flavell R.A., Ghosh S. A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science*. 2004;303:1522–1526.
38. Yarovinsky F., Zhang D., Andersen J.F., Bannenberg G.L., Serhan C.N., Hayden M.S., Hiemy S., Sutterwala F.S., Flavell R.A., Ghosh S., Sher A. TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. *Science*. 2005;308:1626–1629.
39. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:499–511.
40. Ku C.L., Yang K., Bustamante J., Puel A., von Bernuth H., Santos OF, Lawrence T, Chang HH, Al-Mousa H., Picard C., Casanova J.L. Inherited disorders of human Toll-like receptor signalling: immunological implications. *Immunol Rev*. 2005;203:10–20.
41. Sigurdsson S., Nordmark G., Goring HH, Lindroos K., Wiman A.C., Sturfelt G., Jonsen A., Rantapaa-Dahlqvist S., Moller B., Kere J., et al. Polymorphisms in the tyrosine kinase 2 and interferon regulatory factor 5 genes are associated with systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet*. 2005;76:528–537.
42. Choe J.Y., Crain B., Wu S.R., Corr M. Interleukin 1 receptor dependence of serum transferred arthritis can be circumvented by toll-like receptor 4 signalling. *J Exp Med*. 2003;197:537–542.
43. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Huffel C.V., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., et al. Defective LPS signalling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tlr4 gene. *Science*. 1998;282:2085–2088.
44. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000;408:740–745.
45. Yamamoto M., Sato S., Hemmi H., Hoshino K., Kaisho T., Sanjo H., Takeuchi O., Sugiyama M., Okabe M., Takeda K., et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signalling pathway. *Science*. 2003;301:640–643.
46. Kerkmann M., Rothenfusser S., Hornung V., Rothenfusser S., Battiany J., Hornung V., Johnson J., Englert S., Ketterer T., Heckl W., et al. Activation with CpG-A and CpG-B oligonucleotides reveals two distinct regulatory pathways of type I IFN synthesis in human plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol*. 2003;170:4465–4474.
47. Kapsenberg M.L. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:984–993.
48. Ulevitch R.J. Therapeutics targeting the innate immune system. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:512–520.
49. O'Neill L.A. Therapeutic targeting of Toll-like receptors for inflammatory and infectious diseases. *Curr Opin Pharmacol*. 2003;3:396–403.
50. Kumar H, Kawai T, Akira S (2009) Pathogen recognition in the innate immune response. *Biochem J* 420:1–16.
51. Dogusan Z., Garcia M., Flamez D, Alexopoulou L., Goldman M., Gysemans C., Mathieu C., Libert C., Eizirik D.L., Rasschaert J. (2008) Double-stranded RNA induces pancreatic beta-cell apoptosis by activation of the toll-like receptor 3 and interferon regulatory factor 3 pathways. *Diabetes* 57:1236–1245.
52. Devaraj S., Dasu M.R., Rockwood J., Winter W., Griffen S.C., Jialal I. (2008) Increased toll-like receptor (TLR2 and TLR4) expression in monocytes from patients with type 1 diabetes: further evidence of pro-inflammatory state. *J Clin Endocrinol Metab* 93:578–583.
53. Dasu M.R., Devaraj S., Zhao L., Hwang DM, Jialal I (2008) High glucose induced toll-like receptor expression in human monocytes: mechanism of activation. *Diabetes* 57:3090–3098.
54. Devaraj S., Jialal I (2009) Increased secretion of IP-10 from monocytes under hyperglycemia in via the TLR2 and TLR4 pathway. *Cytokine* 47:6–10.
55. Hanifi-Moghaddam P, Kappler S, Seissler J, Müller-Scholze S, Martin S, Roep BO, Strassburger K, Kolb H., Schloot N.C. (2006) Altered chemokine levels in individuals at risk of Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 23:156–163.
56. Vives-Pi M., Somoza N., Fernández-Alvarez J, Vargas F, Caro P, Alba A, Gomis R, Labeta MO, Pujol-Borrell R (2003) Evidence of expression of endotoxin receptors CD14, Toll like TLR4 and TLR2 and associated molecule MD-2 and of sensitivity to endotoxin (LPS) in islet beta cell. *Clin Exp Immunol* 133:208–218.
57. Deveray S., Dasu M.R., Park S.H., Jialal I. (2009) Increased levels of ligands of Toll-like receptor 2 and 4 in type 1 diabetes. *Diabetologia* 52:1665–1668.
58. Mandrup-Poulsen T., Pickersgill L., Donath M.Y. (2010) Blockade of interleukin 1 in type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 6:158–166.
59. Wen L., Ley R.E., Volchkov P.V., Stranges P.B., Avanesyan L., Stonebraker A.C., Hu C., Wong S., Szot G.L., Bluestone J.A., Gordon J.I., Chervonsky A.V. (2008) Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 455:1109–1113.