



УДК 577.122

## СИГНАЛЬНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПУТИ И БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ МУРАМОИЛПЕПТИДАМИ

© 2010 г. Е. А. Мещерякова\*, Т. М. Андропова, В. Т. Иванов

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии  
им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,

117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 13.01.2010 г. Принята к печати 13.04.2010 г.

Обзор посвящен исследованиям взаимодействия мурамоилпептидов с белковыми компонентами клеток иммунной системы. Системный анализ опубликованных результатов может оказаться полезным для выбора не только стратегии дальнейшего изучения функции гликопептидов этого класса, но и их использования в клинической практике.

*Ключевые слова:* мурамоилпептиды; NOD-рецепторы; NF-κB, белки-регуляторы; клеточные сигнальные пути.

### Содержание

#### Введение

1. Активация мурамоилпептидами NF-κB- и MAPK-сигнальных клеточных путей посредством NLR.

2. Белки-индукторы сигнальных путей, активированных мурамоилпептидами.

3. Белки-ингибиторы иммунного ответа, осуществляемого с участием мурамоилпептидов.

4. Рецепторные взаимодействия, сопровождающие активацию и ингибирование мурамоилпептидами клеточных сигнальных путей.

Заключение, вопросы и перспективы.

### ВВЕДЕНИЕ

Мурамоилпептиды, фрагменты пептидогликанов — составной части клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Они давно отнесены исследователями к соединениям, служащим корректорами иммунной системы. Гликопептиды этого ряда обладают удивительно широким диапазоном биологического действия. Первоначально была открыта адьювантная активность мурамоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамина (MDP) — минимальной структурной единицы пептидогликана, способной заменить собой убитые микобактерии в составе классического адьюванта Фрейнда [1, 2]. Дальнейшие исследования как *in vitro*, так и *in vivo*

показали [3–10], что соединения этого класса активируют неспецифическую резистентность к инфекциям, стимулируют продукцию клетками иммунной системы про- и противовоспалительных цитокинов, обладают противоопухолевым действием, влияют на центральную нервную систему, в частности, на сон. Накопленные экспериментальные данные обеспечили выход исследований на новый уровень, и некоторые из мурамоилпептидов стали использоваться в качестве лекарственных средств в медицине, демонстрируя богатые возможности применения этого класса соединений в клинической практике.

Так, французские ученые разработали лекарственный препарат мурабутид [11, 12], испытанный в неспецифической иммунотерапии ВИЧ-1-инфекции, а также использовали MDP в качестве адьюванта в вакцине, защищающей собак от висцерального лейшманиоза [13]; японские исследователи успешно ввели в медицинскую практику липофильный аналог MDP-ромуртид [14] в качестве антиинфекционного средства, а французские ученые использовали этот же препарат как адьювант для получения антител, ингибирующих ВИЧ-инфекцию [15]; в конце 20-го столетия была разработана также липосомальная форма MTP-PE (мурамоилтрипептид-фосфатидилэтаноламин) [16] как противоопухолевое средство.

Особенно наглядно потенциал мурамоилпептидов в качестве лекарственных средств проявляется на примере препарата Ликопид, действующим веществом которого является дисахарид, содержащий аналог MDP (*N*-ацетилглюкозаминил-*N*-ацетилмурамоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин, GMDP). Ликопид был впервые введен в медицинскую практику в Российской Федерации в ходе совместной работы

Сокращения: GMDP — *N*-ацетилглюкозаминил-*N*-ацетилмурамоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин; LPS — липополисахарид; MDP — мурамоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин.

\* Автор для связи (тел.: (495) 335-61-77; тел./факс: (495) 330-74-56; эл. почта: eam@ibch.ru).

российских и британских исследователей и клиницистов [17]. Препарат успешно применяется в России в комплексной терапии иммунодефицитных состояний [18, 19], для лечения гнойно-септических послеоперационных осложнений [20], трофических язв [21], псориаза [22], герпеса [23, 24], туберкулеза легких [25], в дерматологии [26], гинекологии [27], педиатрии [28], стоматологии [29] и онкологии [30, 31].

Область применения Ликопида продолжает расширяться. Так, на рынке США появилась капсульная форма пищевой версии Ликопида – Лейкомил, рекомендованная для пожилых людей, страдающих хроническими дегенеративными заболеваниями, как средство, значительно улучшающее качество жизни. Не удивительно, что перечисленные выше свойства только одного из мурамоилпептидов стимулируют исследовательский интерес к этому классу соединений, особенно к пониманию механизма их действия. Настоящий обзор посвящен анализу современных работ по молекулярному механизму действия соединений этого ряда.

Для лучшего восприятия материала, включающего сведения о большом количестве белков, в таблице представлена их аббревиатура и пояснения их функций.

## 1. АКТИВАЦИЯ МУРАМОИЛПЕПТИДАМИ NF- $\kappa$ B- И МАРК-СИГНАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПУТЕЙ ПОСРЕДСТВОМ NLR

Основные исследования механизма действия мурамоилпептидов были направлены на поиски их рецепторов в клетках иммунной системы и, в первую очередь, у макрофагов. Первоначально для GMDP были обнаружены высоко-аффинные места связывания на поверхности макрофагов [32]. Позднее с помощью фотоаффинно меченного гликопептида удалось определить внутриклеточные полипептиды, специфически связывающие GMDP [33]. Исходя из установленной N-концевой последовательности этих пептидов было высказано предположение, что связывающими GMDP белками являются гистоны; однако впоследствии это не нашло подтверждения.

Ключевым событием в развитии исследований механизма действия мурамоилпептидов стало открытие рецепторов для таких консервативных микробных молекулярных структур, как липополисахариды (LPS), пептидогликаны и мурамоилпептиды. Вначале у дрозофил генетики обнаружили ген, мутации которого вызывали появление личинок мухи «странного, жуткого» (Toll, нем.) вида [34]. В дальнейшем было установлено, что продукт гена *toll* отвечает за защиту дрозофил от грибковой инфекции [35]. Вскоре было показано присутствие белков, гомологичных продукту *toll*-гена, у млекопитающих; их объединили в семейство TLR [36, 37]. Позднее у млекопитающих были открыты NOD1- и NOD2-ре-

цепторы мурамоилпептидов из семейства NLR-белков [38–40].

Семейство трансмембранных TLR-рецепторов насчитывает около 17 белков, а семейство внутриклеточных NLR состоит из 20 белков. Оказалось, что молекулы рецепторов обоих видов имеют участки, содержащие последовательности, обогащенные повторами лейцина (leucine rich repeat, LRR) (рис. 1). Именно эти белковые домены связывают агонисты, что индуцирует продукцию иммунными клетками про- и противовоспалительных цитокинов посредством активации фактора транскрипции NF- $\kappa$ B [41–43]. Однако сходство в строении и функционировании TLR и NLR на этом заканчивается.

Участок TLR-белков, связывающий лиганд, расположен на поверхности внешней мембраны клетки, а цитоплазматическая часть молекулы имеет большое сходство с белками семейства IL-1-рецепторов (TIR) (рис. 1) [41]. TIR-домен модулирует дальнейшие сигнальные пути в зависимости от набора взаимодействующих с рецептором белков-адаптеров и может активировать как NF- $\kappa$ B- (рис. 2), так и AP-1-факторы транскрипции (на рис. 2 последние не представлены). Универсальным белком-адаптером для всех TLR-рецепторов является MyD88. Однако может существовать и MyD88-независимый сигнальный путь, который, например для TLR4-рецептора, приводит к активации IRF-3-фактора транскрипции (на рис. 2 не представлен). Лигандами TLR являются липополисахариды, пептидогликаны, липобелки, флагеллины, гипометилированные ДНК и РНК.

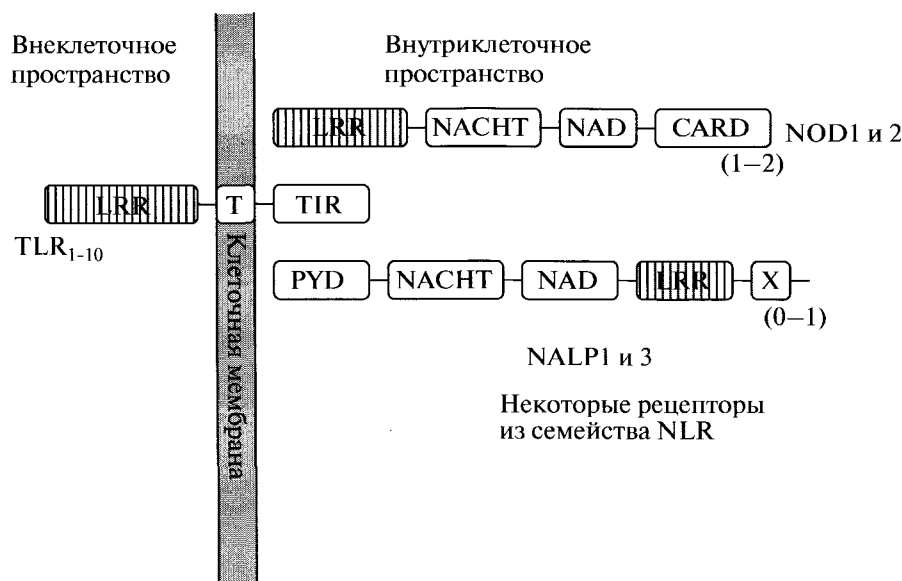
Неактивированные белки NOD1 и NOD2 из семейства NLR локализованы в клетке таким образом, что их C-концевой LRR-домен расположен в ее цитозольной части. Однако было показано, что для связывания NOD2 с активирующим его лигандом необходим контакт этого домена с внутриклеточной мембраной (рис. 2) [44]. Центральная часть молекулы NOD-белков содержит нуклеотидсвязывающий и олигомеризующий домен (NACHT), а N-концевая часть выполняет функцию мобилизации каспазы (CARD) (рис. 1). Агонистами NOD1 и NOD2 являются мурамоилпептиды – продукты ферментативного расщепления пептидогликана. Было установлено, что NOD1 специфичен по отношению к мурамоилпептиду, содержащему остаток мезо-диаминопимелиновой кислоты [45, 46], а NOD2 – по отношению к мурамоилдипептиду [47, 48], а также его ди- и тетрасахаридсодержащим производным [49]. Аналогично TLR, NOD1- и NOD2-рецепторы активируют NF- $\kappa$ B-сигнальный путь (рис. 2).

Связывание NOD1 и NOD2 с мурамоилпептидами является определяющим условием правильного функционирования NF- $\kappa$ B-сигнального пути, активированного этими рецепторами и ответственного за иммунные реакции организма. Нарушения взаи-

| Сокращенное название белка или белкового фрагмента | Расшифровка названия белка или его фрагмента и краткое описание выполняемой функции  |
|--|--|
| A20  | Фермент, модифицирующий убихинон.  |
| Akt  | Белок семейства протеинкиназ В или серин/треонин-протеинкиназ, активируется различными стимуляторами путем многоступенчатого процесса, включая мембранную транслокацию и фосфорилирование, при участии PIK3 (см. ниже); название получил как гомолог белка V-akt-онкогена. |
| Ankyrins   | Белки-адаптеры, которые участвуют в связывании интегральных мембранных белков со спектрин-актиновой структурой цитоскелета; название происходит от греческого слова <i>ankyra</i> – якорь.   |
| Arf GAP  | ADP-ribosylation factor-GTP activating protein; белок или домен, активирующий GTP-азу фактора ADP-рибозилирования.   |
| ASC  | Apoptosis-associated speck-like protein, contained CARD – подобный пятнышку регуляторный белок, ассоциированный с апоптозом и содержащий CARD-домен.   |
| AP1  | Transcription factor, activator protein 1 – фактор транскрипции, активатор протеина 1.   |
| AR   | Ankyrin repeat; анкириновая повторность.   |
| CARD   | Caspase-recruitment domain; домен, мобилизующий каспазу.   |
| CARD9  | Белок-адаптер, содержащий CARD-домен и взаимодействующий с CARD-доменом активатора апоптоза BCL10  |
| Cardinal   | Белок, содержащий CARD, регулятор NF- $\kappa$ B, не связан с апоптозом.   |
| CD147  | Интегральный мембранный гликопротеин.  |
| Centaurin $\beta$ 1                                | CENTB1 or AGAP1 – белок семейства ArfGAP-белков, активирующий GTP-азу фактора $\beta$ ADP-рибозилирования.   |
| CLAN (Iraf)  | Card, LRR and NACHT domain-containing protein – белок, содержащий домены CARD, LRR и NACHT.  |
| Clathrin   | Клатрин (сетчатый), фибриллярный белок, состоящий из 3 тяжелых и 3 легких цепей, образующих тример в форме трискелиона, обладает структурой, подобной сетке.   |
| CpG DNA  | Неметилированный CpG-динуклеотидный фрагмент DNA, агонист TLR9.  |
| CREB   | cAMP response element binding, фактор транскрипции.  |
| HEK293   | Human embryonic kidney, эмбриональные клетки почки человека.   |
| Erbin  | ERBB2 interacting protein with PDZ and LRR domains – белок, взаимодействующий с ERBB2 и содержащий PDZ- и LRR-домены.  |
| ERBB2  | Epidermal growth factor receptor-related protein – белок, родственник рецептору эпидермального фактора роста.  |
| Erk  | Extracellular signal-regulated kinases – внеклеточные сигналрегулируемые киназы.   |
| GRIM-19  | Gene associated with retinoid-IFN-induced mortality – продукт гена, регулирующий клеточный апоптоз, индуцированный интерфероном и ретиноидной кислотой.  |
| IKK  | IkB-киназа.  |
| IkB  | Ингибитор NF- $\kappa$ B.  |
| IRF3   | Interferon regulatory factor 3 – интерферонрегуляторный фактор 3 – член семейства факторов транскрипции интерферонов.  |
| Jnk  | cJun N-terminal kinases; cJun-N-терминальная киназа, которая связывает и фосфорилирует cJun-белок.   |
| cJun   | Белок, который входит в состав AP-1, член семейства MAPK.  |
| LAP  | Leucine-rich repeat and PDZ domains – белок, содержащий LRR- и PDZ-домены.   |
| LRR  | Leucine-rich repeat domain – домен, содержащий лейцинобогатую повторяющуюся последовательность.  |
| MAPK   | Mitogen activated protein kinase – протеинкиназа, активируемая митогеном.  |
| MyD88  | Myeloid differentiation primary response adaptor protein – адаптерный белок первичного ответа, включающийся в миелоидную дифференциацию.   |

Таблица. Окончание

| Сокращенное название белка или белкового фрагмента | Расшифровка названия белка или его фрагмента и краткое описание выполняемой функции   |
|--|---|
| NADPH  | Восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотидфосфата.  |
| NALP1, 3   | Белки семейства NLR.  |
| NLR  | NOD-like receptors, семейство NOD-подобных рецепторов.  |
| NOD  | Nucleotide and oligomerization domain – домен белков, связывающий нуклеотид и олигомеризующий белок.  |
| NACHT (NAIP)                                       | Neuronal apoptosis inhibitory protein – белок, ингибирующий нейрональный апоптоз.   |
| NEMO   | NF- $\kappa$ B essential modulator – неотъемлемый (обязательный) модулятор NF- $\kappa$ B, субъединица I $\kappa$ B (IKK $\gamma$ ).  |
| NF- $\kappa$ B                                     | Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; фактор транскрипции, белок, открытый при его связывании с энхансером гена легкой к-цепи иммуноглобулина В-клеток.   |
| p38  | p38 MAPK – белок семейства MAPK.  |
| Pannexin 1   | Представитель семейства белков, формирующих щелевой контакт между клетками, образует функциональные каналы, предполагается его участие в межклеточных коммуникациях.  |
| PH   | Pleckstrin [platelet and leukocyte C kinase substrate] homology domain; домен, гомологичный плекстрину – субстрату С-киназы тромбоцитов и лейкоцитов.   |
| PDZ  | [Post synaptic density protein, <i>Drosophila</i> disc large tumor suppressor, Zonula occludens-1 protein]; домен, состоящий из трех белков: белка постсинаптической плотности, белка-супрессора большой дисковой опухоли <i>Drosophila</i> и белка межклеточного взаимодействия; домен помогает прикрепляться трансмембранным белкам к цитоскелету, а также поддерживать вместе сигнальные комплексы белков. |
| PIK3 (PI3K)  | Phosphoinositide 3 kinase, фосфатидилинозитол-3-киназа, фермент, участвующий в передаче сигналов.   |
| Pyrin  | Белковый домен из семейства доменов “смерти” (death domain-fold), участник гомотипичных белковых взаимодействий, ответственный за сигнальные пути апоптоза и воспаления, назван аналогично белку, мутации которого вызывают у жителей Средиземноморья аутоиммунное заболевание с симптомами хронической лихорадки (pyrexia).  |
| PYD  | Pyrin-домен.  |
| RAC1   | Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 – Ras-родственный; сигнальный белок семейства G-белков (GTPases), регулирует динамику актина, участвует в клатрин-зависимом эндоцитозе.  |
| RAS  | Белок из семейства малых GTPases, регулирует клеточную пролиферацию, дифференцировку.   |
| RICK (RIP2 или CARDIAK)                            | Serine/threonine kinase, CARD containing adapter protein; серин/треонин-киназа, белок-адаптер, содержащий CARD-домен.   |
| SRF  | Serum response factor – сывороточный фактор ответа, связывается с участками промоторов генов, участвует в регуляции клеточного цикла.   |
| TAK1   | Transforming growth factor $\beta$ -activated kinase 1; киназа 1, активируемая TGF- $\beta$ , белком, контролирующим пролиферацию, клеточную дифференциацию.  |
| TAK1DN   | Dominant negative form of TAK1 – преобладающая отрицательная форма TAK1.  |
| TIR  | Toll-interleukin1 receptor – домен Toll-белка, подобный рецептору интерлейкина 1.   |
| TNF- $\alpha$                                      | Фактор некроза опухолей.  |
| Toll   | Гомологи продукта гена <i>toll</i> , обнаруженного у дрозофил.  |
| TRAF6  | TNF receptor-associated factor 6; фактор 6, ассоциированный с рецептором TNF.   |
| “Zink finger”                                      | Белковый домен (“цинковый палец”), содержащий один или более ионов цинка для стабилизации пространственной структуры белка; может связываться с ДНК, РНК, другими белками, небольшими молекулами.   |



**Рис. 1.** Доменная структура некоторых рецепторов из семейства TLR и NLR. LRR – лейцинобогатая, повторяющаяся последовательность; T – трансмембранный домен; TIR – домен Toll, подобный рецептору интерлейкина 1; NACHT – домен, связывающий нуклеотид; NAD – домен, ассоциированный с NACHT; CARD – домен, связывающийся с каспазой; X – неизвестный домен; PYD – рупин-домен, участвующий в гомотипичных белковых взаимодействиях и ответственный за сигнальные пути апоптоза и воспаления; NOD1 и NOD2 содержат соответственно один и два CARD-домена; NALP1 содержит CARD- и X-домены; NALP3 не содержит CARD- и X-домены.

модействия NOD-белков с агонистами, имеющие место, например, при генетических мутациях, локализованных в их LRR-домене, могут приводить к таким аутоиммунным заболеваниям, как болезни Крона и Блау, астма, атопичному дерматиту [50–52].

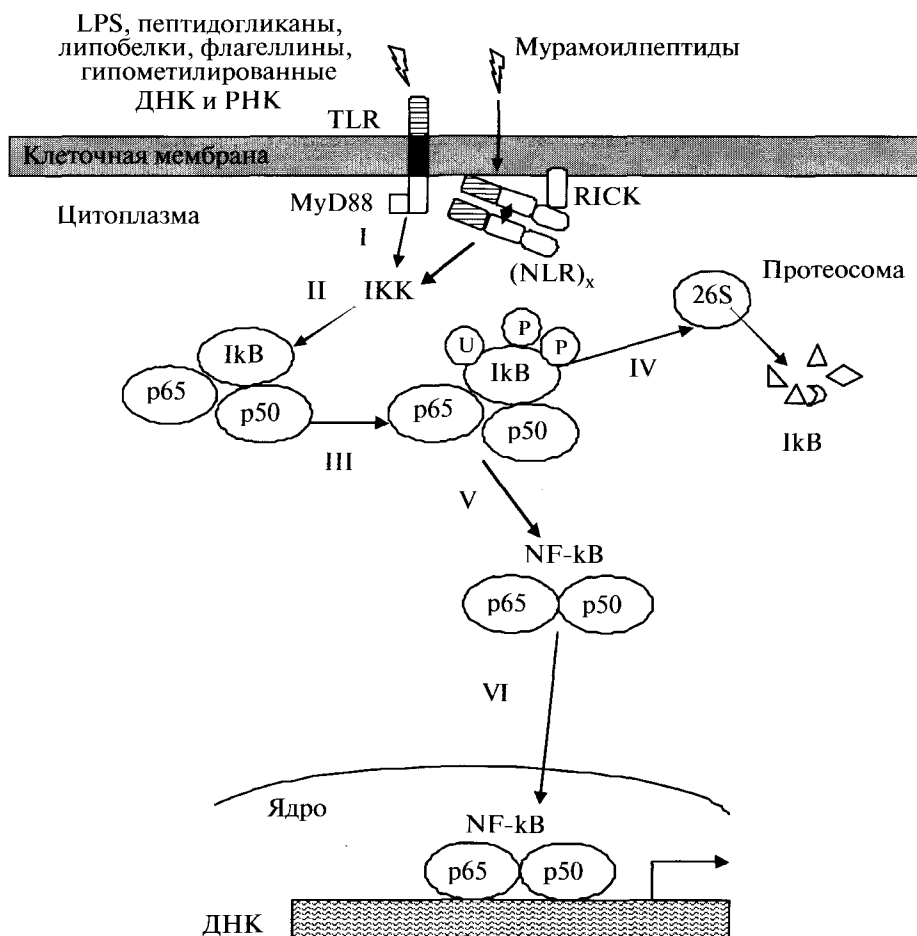
Сравнительно недавно было обнаружено, что существует два вида активации NF-κB-пути: NF-κB1 – канонический (классический) и NF-κB2 – альтернативный [53, 54]. Это обстоятельство связано со сложным строением NF-κB-фактора, представляющего собой белковый комплекс, состоящий из гомо- и гетеродимеров семейства Rel-белков (рис. 2). Активация канонического пути (рис. 3а) происходит быстро и под воздействием большого количества разнообразных стимулов: митогенов, цитокинов, остатков ДНК, микробных компонентов. До последнего времени полагали, что мурамоилпептиды в результате связывания с NLR-рецепторами активируют именно классический NF-κB-путь, контролирующей функции лимфоцитов и макрофагов в иммунном и воспалительном ответах. Однако авторы работы [55], опубликованной в 2006 г., доказывают участие NOD2 в активации альтернативного пути. Следует отметить, что по сравнению с каноническим NF-κB-путем альтернативный путь (рис. 3б) активируется гораздо медленнее и процесс длится несколько часов.

Эти два пути выполняют разные функции. Если канонический отвечает за воспалительный ответ, то альтернативный регулирует развитие лимфоидных органов и дифференциацию В-лимфоцитов, что

важно для адаптивного иммунного ответа. В связи с этим, не удивительно, что мурамоилпептиды участвуют в инициации как воспалительного, так и адаптивного ответа. В ряде работ показано, что NOD1- и NOD2-рецепторы могут быть вовлечены также и в активацию MAPK-пути [56–58]. Оказалось, например, что для иммунного ответа на внутриклеточную инфекцию важна стимуляция не NF-κB, а исключительно двух MAPK-родственных семейств белков p38 и Jnk [59]. Большое значение NOD-рецепторов в развитии иммунного ответа организма на бактериальную атаку подтверждается тем, что они обнаружены во многих клетках различной локализации. Установлено, что NOD2-белок продуцируется миелоидными клетками, включая макрофаги, моноциты, дендритные клетки, а также эпителиальными клетками кишечника, клетками Панета [39, 60–64]. Недавно обнаружено, что NOD2 используется микроглиальными клетками [65] и остеобластами [66] для защиты соответственно мозговой и костной тканей от бактериальных патогенов.

## 2. БЕЛКИ-ИНДУКТОРЫ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ, АКТИВИРОВАННЫХ МУРАМОИЛПЕПТИДАМИ

К настоящему времени установлено, что связывание рецепторами специфичных для них лигандов приводит к целой цепи сложных белковых взаимодействий. Взаимодействие NOD-белков с агонистами вызывает конформационные изменения рецепторов, их последующую олигомеризацию с участием



**Рис. 2.** Модель активации NF-κB-сигнального пути TLR- и NLR-белками. (NLR)<sub>x</sub> – олигомеризация NLR-белков; IKK – IκB-киназа; IκB – ингибитор NF-κB; p65 и p50 – белки семейства Rel; I – активация IKK-рецептором, получившим сигнал от агониста; II и III – фосфорилирование и метение убихиноном IκB; IV – диссоциация p65/p50 и IκB и миграция IκB в протеасому; V, VI – миграция NF-κB в ядро, связывание с ДНК и активация транскрипции. MyD88 и RICK – белки-адаптеры TLR и NOD1 и 2 соответственно.

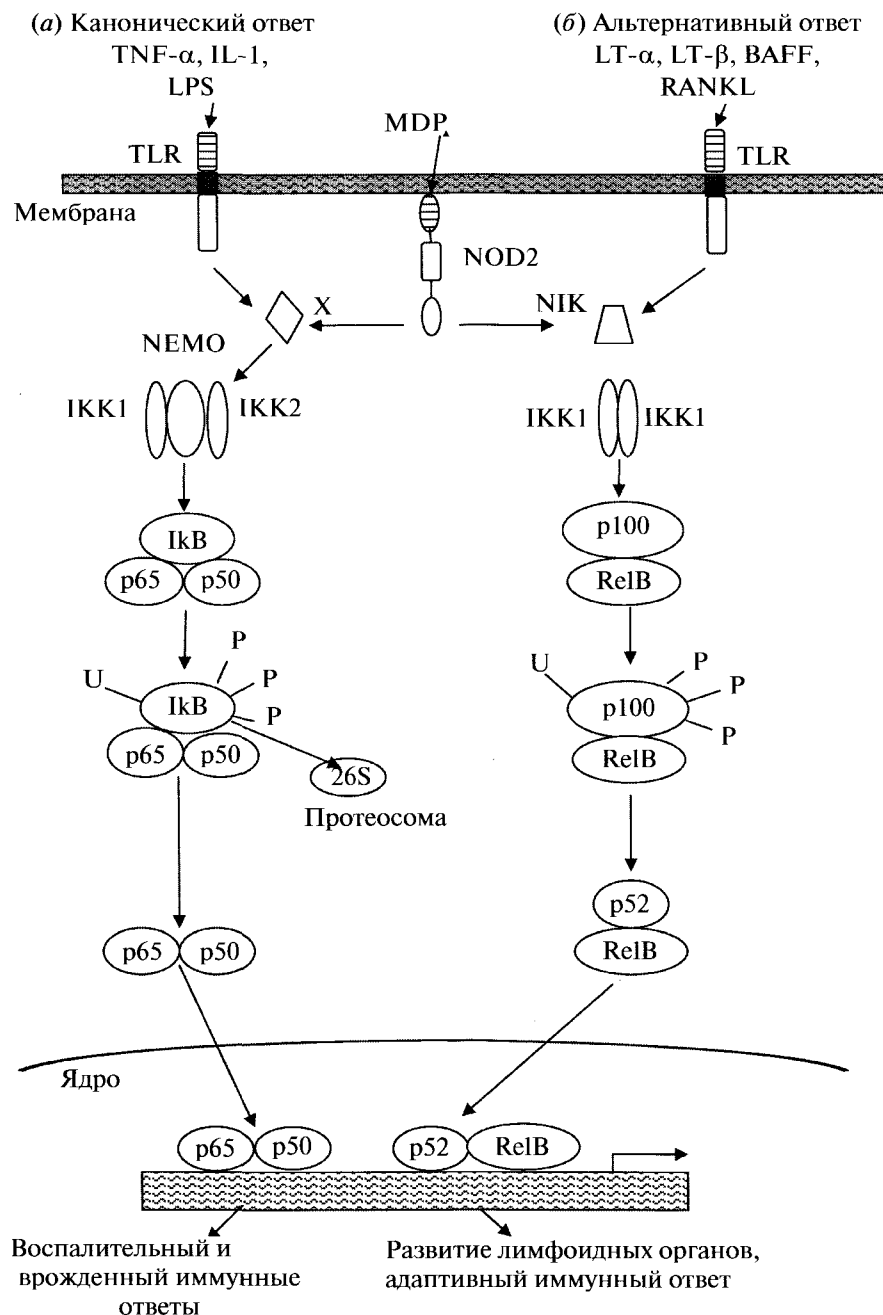
NACHT-домена и связывание посредством CARD-домена с таким же доменом белка-адаптера RICK(RIP2), локализованного в плазматической мембране (рис. 2) [67–69]. Взаимодействие NOD-рецепторов именно с RICK индуцирует активацию канонического NF-κB-сигнала, которая заключается в фосфорилировании ингибиторной части NF-κB-комплекса – IKK и высвобождении димера белковых субъединиц (p50/p65), мигрирующего далее в ядро для связывания с ДНК, что служит сигналом для начала синтеза цитокинов.

Дальнейшие исследования уточнили роль RICK в NOD2-зависимой активации NF-κB [70]. Оказалось, что взаимодействие активированного NOD2 и RICK приводит к конъюгированию последнего с полиубихиноновой цепью при участии лизина-209, локализованного в киназном домене, и последующей его олигомеризации.

Ключевую роль белка-адаптера в случае активации мурамоилпептидами альтернативного NF-κB-

пути выполняет NF-κB-индуцирующая киназа (NIK) (рис. 3), с которой NOD2 взаимодействует без участия CARD-домена [53], причем это взаимодействие не нарушают различные мутации NOD2, характерные для больных болезнью Крона (R702W, P268S, G908R, LL1007fsinsC).

Большое количество работ, опубликованных в последнее время, посвящено открытию дополнительных белковых взаимодействий, контролирующих иммунный ответ организма с участием мурамоилпептидов и активирующих NF-κB-сигнальный путь. Так, было обнаружено, что белок GRIM-19, гомологичный NADPH-дегидрогеназному ферментному комплексу, необходим для NOD2/MDP-зависимой активации NF-κB [71]. Доказательством этого утверждения послужил тот факт, что уменьшение экспрессии GRIM-19 с помощью специфически подавляющей его синтез РНК (silence RNA) в HEK293-клетках, избыточно экспрессирующих NOD2, привело к значительному понижению



**Рис. 3.** Схема двух типов NF-κB-сигнальных путей. NEMO – регуляторная субъединица IKK-комплекса; IKK1, IKK2 – IκB-киназы; IκB – ингибиторная субъединица NF-κB; p65, p50, RelB, p100/p52 – белки семейства Rel; NIK – киназа, индуцирующая NF-κB; X – белки-адаптеры; BAFF – B-клеточный активирующий фактор; RANKL – рецепторный активатор NF-κB, член семейства TNF-рецепторов; LT – лимфотоксин; P – фосфорилирование.

NF-κB-активации в ответ на добавление MDP к этим клеткам.

Еще один белок – TAK1 выполняет двоякую роль в NOD2/MDP-зависимой активации NF-κB-сигнала. Было установлено, что взаимодействие LRR-домена NOD2 и N-концевой области TAK1, с одной стороны, подавляет TAK1-индуцированную активацию NF-κB, а с другой – участие TAK1 является не-

обходимым условием NOD2/MDP-зависимой активации NF-κB-фактора транскрипции [72]. Последнее утверждение следует из эксперимента с доминантно-негативной мутантной формой TAK1 (TAK1DN). Оказалось, что присутствие в HEK293-клетках TAK1DN ингибирует NOD2/MDP-индуцированную активацию NF-κB. Важность взаимодействия TAK1 и NOD2 для поддержания защитной функции клеток кожи обнаружена авторами недав-

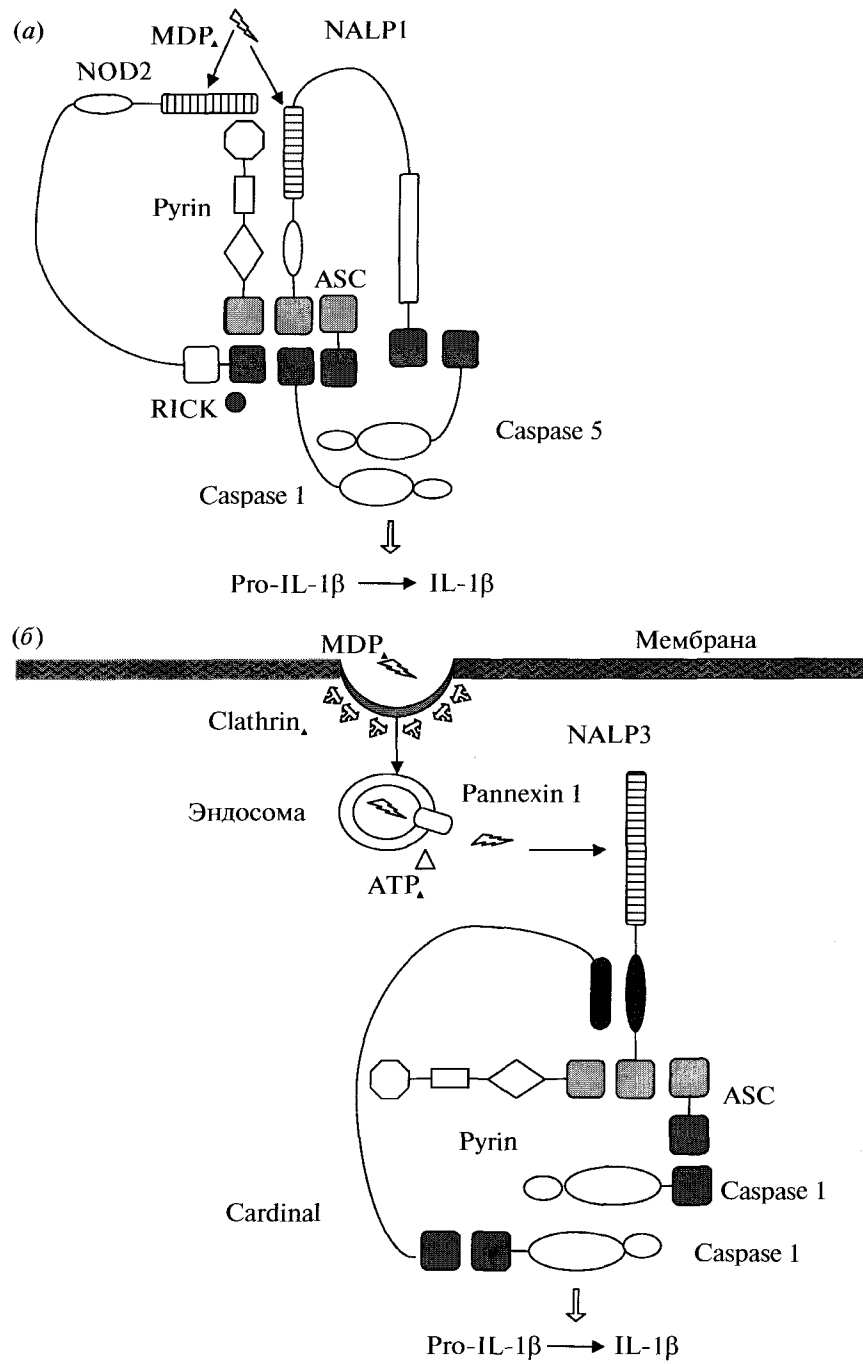
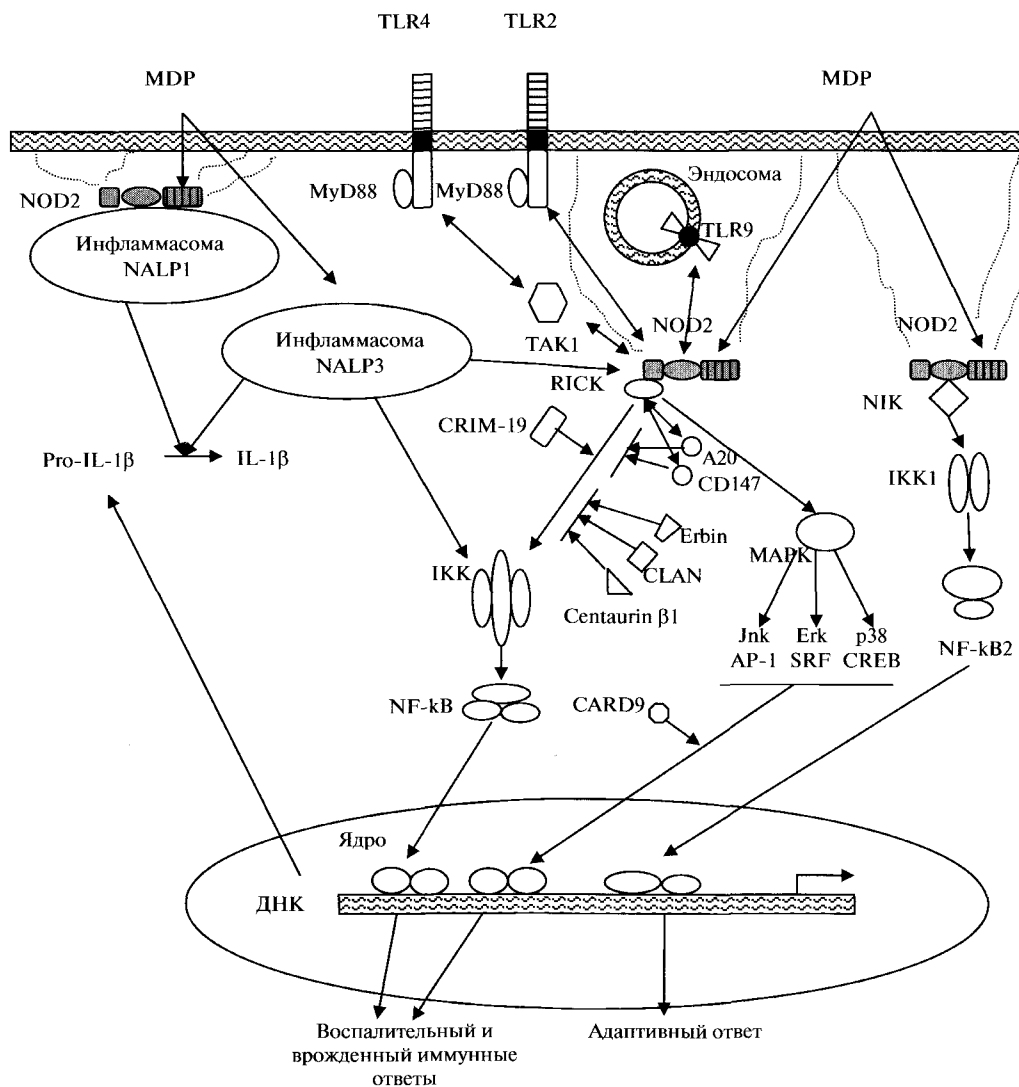


Рис. 4. Схемы инфламмосомы I (а) и инфламмосомы II (б).

- |  |   |  |   |
|--|---|--|---|
|  | PYD – Pyrin-домен ASC, Pyrin, NALP1 и 3   |  | } Неизвестные домены NALP1 и Cardinal                                     |
|  | NACHT – нуклеотидсвязывающие домены NOD2, NALP1 и NALP3   |  |   |
|  | LRR – лейцинобогатая повторяющаяся последовательность   |  | } P10 – субъединицы caspases 1 и 5  |
|  | bZIP-zinc finger B-домен белка Pyrin  |  | CARD-домен ASC, Cardinal, NOD1 и 2, NALP1                                 |
|  | PRY – домен Pyrin, ассоциированный с SPRY   |  | RICK – белок-адаптер NOD2   |
|  | SPRY – домен Pyrin, содержащий Dictyostelium киназу SPIA, двойной специфичности, и рецептор рианодина |  | Clathrin – белок, формирующий углубление в мембране в процессе эндоцитоза |





**Рис. 5.** Схема сигнальных путей, рецепторных и белковых взаимодействий, индуцированных мурамоилпептидами. Пунктирная кривая – филаменты, содержащие F-актин; односторонняя стрелка между белками показывает направление клеточного пути; односторонняя стрелка от белка к другой односторонней стрелке обозначает стимулирующий эффект данного белка на активацию указанного клеточного пути; односторонняя стрелка от белка к линии, параллельной стрелке, указывающей направление клеточного пути, обозначает ингибиторный эффект данного белка на активацию указанного клеточного пути; двусторонние стрелки между белками обозначают их функциональное взаимодействие.

но опубликованной работы [73], в которой выявлено отсутствие активации NF-κB-пути с помощью NOD2/MDP и развитие сильного воспалительного процесса у мышей со специфическим отсутствием TAK1 в эпидермисе.

К настоящему времени обнаружено только два белка, контролирующие стимуляцию мурамоилпептидами MAPK-сигнального пути (рис. 5, см. ниже). Помимо RICK, важную роль выполняет недавно открытый [74] адаптерный белок CARD9, содержащий CARD-домен. Было показано [59], что образование комплекса из трех ассоциированных белков NOD2/RICK/CARD9 является необходимым условием активации p38- и Jnk-киназ и возникновения иммунного ответа на внутриклеточные

патогены. Более того, на основании данных, доказывающих участие CARD9 в процессе активации NF-κB-фактора трансмембранным рецептором β-глюкана (дектином-1) в иммунном ответе на грибковую инфекцию [74], высказано предположение о возможном включении также p38 и Jnk в противогрибковую защиту организма.

Участие еще одного внутриклеточного белкового комплекса – цитоскелета в NOD2-зависимой активации NF-κB-сигнального пути было показано в работе [75]. Методом конфокальной микроскопии было доказано, что в не стимулированных клетках NOD2-белок локализован совместно с F-актином, ассоциированным с мембраной, а методом иммунопреципитации была обнаружена ассоциация NOD2 с

активированным сигнальным G-белком – RAC1 при участии CARD- и LRR-доменов NOD2. Было обнаружено, что разрушение актина цитохалазином D специфически увеличивает NOD2-опосредованную активацию NF- $\kappa$ B, причем как зависимым, так и независимым от мурамоилдипептида способом. Авторы предположили, что функция актина в данном случае может заключаться в поддержании NOD2 в “неактивном состоянии” и немедленной “мобилизации” рецептора в случае бактериальной атаки.

### 3. БЕЛКИ-ИНГИБИТОРЫ ИММУННОГО ОТВЕТА, ОСУЩЕСТВЛЯЕМОГО С УЧАСТИЕМ МУРАМОИЛПЕПТИДОВ

Известно, что сложная сеть белковых взаимодействий, обеспечивающих прохождение в клетке сигнала, вызванного различными эффекторами, включает в себя участие как белков-индукторов, способствующих передаче сигнала в нужном направлении, так и белков-ингибиторов, снижающих эффективность этого процесса. Считается, что такая авторегуляторная система защищает организм от развития избыточной и, следовательно, нежелательной реакции на стимуляторы иммунной системы. Не являются исключением и клеточные пути, стимулированные мурамоилпептидами. К настоящему времени установлен ряд белков, понижающих активацию NF- $\kappa$ B-сигнала мурамоилпептидами, совместно с NOD2.

Первым в этой серии белков был обнаружен белок CLAN (Iraf) – представитель семейства NLR-белков [76]. Оказалось, что NACHT (NOD)-домен CLAN взаимодействует с аналогичными доменами NOD1 и NOD2, что приводит к существенному ингибированию активации мурамоилпептидами NF- $\kappa$ B-фактора. Кроме того, в экспериментах по трансфекции этих белков в HEK293-клетки было показано, что экспрессия CLAN-белка или его NACHT-домена совместно с NOD1 или NOD2 снижает их способность генерировать активную форму IL-1 $\beta$ .

Другой белок этой серии – Erbin, также понижающий NOD2/MDP-зависимую активацию NF- $\kappa$ B-сигнала, был открыт одновременно двумя независимыми группами исследователей [77, 78]. Было показано, что Erbin, принадлежащий к семейству LAP-белков и содержащий LRR- и PDZ-домены, локализован около базолатеральной мембраны и его LRR-домен взаимодействует с CARD-доменом исключительно NOD2-рецептора, образуя специфический комплекс. Предполагается также взаимодействие NOD2 со вторым участком Erbin, расположенным в C-концевой области и включающим PDZ-домен. Авторы работы [77] отмечают, что взаимодействие Erbin с NOD2 существенно не зависит от NOD2-агониста MDP, и высказывают предположение, что Erbin подавляет активацию мембраносвязанного пула NOD2 для предотвра-

щения нежелательного сигнала до тех пор, пока не достигается пороговый уровень содержания MDP в клетке. Однако в работе [78] показано, что только активированный лигандом NOD2 имеет максимальное сродство к Erbin. Важно отметить, что, по результатам этой работы, экспрессия Erbin в клетках увеличивается в разы при стимуляции клеток такими агонистами, как MDP, LPS, комбинацией MDP с LPS или TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor, фактор некроза опухолей). Точная роль Erbin в сигнальной системе с участием NOD2 и мурамоилпептидов требует дальнейшего уточнения и исследования.

Еще один эндогенный белок Centaurin  $\beta$ 1 (AGAP1) селективно и зависимым от концентрации способом понижает NOD1- и NOD2-опосредованную активацию NF- $\kappa$ B [79]. Centaurin  $\beta$ 1 относится к белкам семейства факторов ADP-рибозилирования, активирующих GTP-азу. Молекула этого белка на N-конце содержит PH-домен, C-конец состоит из AR-домена, а центральная часть является Arg-GAP-доменом. В работе [79] показано, что в прямом взаимодействии цитозольных пулов NOD-рецептора с Centaurin  $\beta$ 1 принимает участие PH-домен последнего. Установлено также, что экспрессия Centaurin  $\beta$ 1, незначительная в не стимулированных клетках, индуцируется при добавлении мурамоилдипептида, а также TNF- $\alpha$  или IL-1 $\beta$ . Авторы полагают, что взаимодействие NOD-рецепторов с Centaurin  $\beta$ 1 выполняет важную регуляторную роль в формировании NF- $\kappa$ B-сигнала и модулирует воспалительные реакции организма с помощью NOD-белков в цитозольной части клетки, в то время как Erbin понижает NF- $\kappa$ B-активацию, взаимодействуя с пулом NOD-белков, связанных с мембраной.

При помощи бактериальной двухгибридной системы авторы работы [80] определили еще один белковый партнер NOD2, а именно CD147, обладающий понижающим эффектом на NOD2-зависимую активацию NF- $\kappa$ B. Авторы подтвердили обнаруженное взаимодействие методом иммунопреципитации и установили участие в нем CARD-домена NOD2. CD147 принадлежит к семейству иммуноглобулиновых белков и его молекула содержит внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический домены, что характерно для интегральных мембранных белков. С помощью флуоресцентной микроскопии было показано, что NOD2 и CD147 совместно локализованы вблизи клеточной мембраны независимо от присутствия бактерий. Авторы отмечают, что сам CD147 усиливает проникновение в клетку бактериального патогена, и предполагают, что понижающий эффект CD147 на NOD2-зависимую активацию NF- $\kappa$ B объясняется конкуренцией CD147 с белком-адаптером RICK за связывание с CARD-доменом NOD2.

Недавно было показано, что цитоплазматический фермент A20, который считается клеточным

ингибитором экспрессии NF- $\kappa$ B-фактора и апоптоза [81], является также сильным ингибитором действия мурамоилпептида как *in vitro*, так и *in vivo* [82]. Было установлено, что этот белок, содержащий домен “zink finger”, нарушает процесс мечения убихиноном белка-адаптера RICK, происходящий в ответ на действие мурамоилпептида. Оказалось, что клетки и мышцы, дефицитные по содержанию A20, в ответ на стимулирование их мурамоилпептидом значительно увеличивают продолжительность NF- $\kappa$ B-сигнала и продукцию воспалительных цитокинов.

Еще одним способом понижения NOD2-зависимой активации NF- $\kappa$ B-сигнала оказалась зависимость от дозы MDP-активации фосфатидилинозитол-3-киназного/Akt (PIK3/Akt)-пути, обнаруженная авторами работы [83]. Принимая во внимание, что PIK3/Akt-путь способен ограничивать воспалительный ответ, индуцированный TLR, авторы предполагают, что этот клеточный сигнальный путь является частью универсального внутриклеточного контроля первоначальных стадий ответа врожденного иммунитета на вторжение микробных патогенов.

#### 4. РЕЦЕПТОРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ, СОПРОВОЖДАЮЩИЕ АКТИВАЦИЮ И ИНГИБИРОВАНИЕ МУРАМОИЛПЕПТИДАМИ КЛЕТочНЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Пересечение клеточных сигнальных путей — часто встречающееся событие в процессе ответа клетки на действие разнообразных стимуляторов. Полагают, что сложные взаимодействия между рецепторами обеспечивают «тонкую настройку» и контроль клеточной функции в ходе иммунного ответа. Результаты ряда исследований доказывают, что мурамоилпептиды индуцируют взаимодействия как между рецепторными белками семейств NLR и TLR, так и внутри семейства NLR-белков.

##### *Взаимодействие NOD2- и TLR2-рецепторов*

Большое количество публикаций посвящено взаимодействию белков TLR2 и NOD2. Первоначально было показано, что мононуклеарные клетки человека, несущие мутацию белка NOD2, характерную для болезни Крона, демонстрировали пониженную продукцию IL-10 при стимуляции клеток агонистами TLR2 и NOD2 [84]. Зависимость TLR2-ответа от уровня экспрессии NOD2 подтвердилась при изучении экспериментального колита [85]. Было доказано, что NOD2-дефицитные мыши в условиях отсутствия стимуляции мурамоилпептидами более чувствительны к развитию патологии, которая в этом случае вызывалась повышенным TLR2-ответом на антиген, продуцируемый кишечной бактерией.

В другой работе изучался иммунный ответ — трансгенных мышей с повышенной экспрессией NOD2 на пептидогликан — агонист TLR2 [86]. Оказалось, что такие мыши обладают пониженной продукцией IL-2 в ответ на действие пептидогликана и устойчивы к развитию колита. Однако впоследствии обнаружилась зависимость TLR2-зависимого ответа от концентрации MDP: небольшие дозы гликопептида стимулировали продукцию цитокинов в ответ на стимуляцию моноцитов человека агонистами TLR2-рецептора, а высокие концентрации, действительно, ингибировали иммунный ответ, опосредованный TLR2 [87]. Авторы, учитывая именно этот факт, предположили, что высокие концентрации MDP смогут предотвратить избыточный иммунный ответ на бактериальную инфекцию в кишечнике. Взаимодействие белков NOD2 и TLR2 обнаружено также при изучении одновременной активации микроглиальных клеток мозга лигандами обоих рецепторов, при которой стимулируется продукция формилпептидного рецептора 2 мыши [88]. Было установлено, что MDP увеличивает продукцию TLR2 на поверхности микроглиальных клеток и уровень MAPK-, ERK1/2- и NF- $\kappa$ B-факторов, активированных лигандом TLR2. Авторы предположили, что наблюдаемая NOD2/TLR2-кооперация рецепторов может давать вклад в развитие патогенных процессов, сопровождающих воспалительные и дегенеративные заболевания мозга.

##### *Взаимодействие NOD1-, NOD2- и TLR4-рецепторов между собой*

Включение белка NOD1 в TLR4-зависимый ответ на внутриклеточный патоген *Listeria monocytogenes* было обнаружено авторами работы [89]. Позднее было показано, что белок NOD2 также вовлекается в иммунный ответ, стимулированный агонистом TLR4-рецептора [90]. Полученные результаты подтверждаются авторами работы [91], в которой установлено, что кооперация рецепторов NOD1, NOD2 и TLR4 приводит к продукции как про-, так и противовоспалительных цитокинов в ответ на стимуляцию моноцитов и дендритных клеток человека мурамоилпептидами и LPS. Более поздние исследования дополнили, что рецепторное взаимодействие TLR4 как с NOD2 [56], так и с NOD1 [92] определяет развитие клеточных сигнальных путей, пересекающихся на уровне белка TAK1; что последующая активация нескольких факторов транскрипции — NF- $\kappa$ B, JNK, MAPK, приводит к продукции провоспалительных цитокинов, причем роль белков-адаптеров выполняют в данном случае RICK [58] и TRAF6 [93]. На основании изложенных данных можно предположить, что синергизм действия LPS и мурамоилпептидов реализуется или частично объясняется взаимовлиянием NOD2- и TLR4-зависимых сигнальных путей опосредованным белком TAK1.

### Взаимодействие NOD2- и TLR9-рецепторов

Еще одним партнером белка NOD2 оказался TLR9-рецептор [94] из семейства TLR. В отличие от рецепторов TLR2 и TLR4, которые экспрессируются на клеточной поверхности, белок TLR9 локализуется во внутриклеточных органеллах — эндосомах, и его агонистом является неметилированный фрагмент ДНК (CpGDNA) [95]. При изучении продукции IL-8 и TNF- $\alpha$  мононуклеарными клетками крови здоровых доноров и больных болезнью Крона в ответ на совместную активацию MDP и CpGDNA обнаружилось, что в норме стимуляция NOD2/MDP синергическим способом увеличивает TLR9-зависимый ответ. Однако синергизм исчезал при действии этих агонистов на мононуклеары больных болезнью Крона, и авторы делают вывод о важности совместной стимуляции иммунного ответа NOD2- и TLR9-рецепторами для поддержания гомеостаза здорового организма.

### Взаимодействие NOD2 и белков инфламмосомы I, MDP и белков инфламмосомы II

Продукция клетками, активированными мурамоилпептидами, провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  сопровождается сложными белковыми взаимодействиями. Секретия этого цитокина требует участия мегакомплексов белков — инфламмосом, содержащих каспазы [96]. Первая инфламмосома (рис. 4а) содержит белок из семейства NLR—NALP1, среди шести доменов которого присутствуют LRR, CARD, PYD. Сборка инфламмосомы осуществляется путем взаимодействий PYD-доменов NALP1 и двух дополнительных белков Рупin и ASC, а CARD-домены белка-адаптера ASC и NALP1 взаимодействуют с каспазами 1 и 5 соответственно. Согласно результатам исследований *in vitro* [97], MDP, связываясь с LRR-доменом NALP1, активирует этот белок и инфламмосомный комплекс, что является необходимым условием образования активной формы IL-1 $\beta$  из предшественника этого цитокина. Роль MDP заключается в индукции ассоциации NOD2 и NALP1, а далее CARD-домен NOD2 связывается и активирует каспазу 1, что в свою очередь приводит к образованию IL-1 $\beta$ .

Вторая инфламмосома формируется из рецептора NALP3, двух каспаз-1, белков-адаптеров Рупin, ASC и Cardinal (рис. 4б). Первоначально предполагалось, что MDP взаимодействует непосредственно с белком NALP3 без участия рецептора NOD2 [98]. В работе [99] утверждается, что MDP, являясь слабым индуктором предшественника IL-1 $\beta$ , тем не менее, облегчает высвобождение зрелого IL-1 $\beta$ , и для этого необходимо участие трех белков: NOD2, NALP3, RICK. Отсутствие одного из перечисленных белков, которые входят в состав NALP3-инфламмосомы, достаточно для предотвращения MDP-индуцированного высвобождения IL-1 $\beta$ . По-

следние исследования, проведенные с использованием флуоресцентно меченного MDP [100], показали, что активация каспазы-1 индуцируется АТР и MDP без участия NOD2-рецептора, но требует участия рaппехin 1. Однако в этой же работе показано, что белок NOD2 все же участвует в MDP-зависимой индукции мРНК, кодирующей предшественник цитокина. Таким образом, MDP в данном случае выполняет две различные функции: активирует NALP3 и каспазу-1 при участии рaппехin 1 и АТР и включается в секрецию про-IL-1 $\beta$  при участии рецептора NOD2.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ, ВОПРОСЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Анализ опубликованных к настоящему времени работ показывает, что функционирование NF- $\kappa$ B-сигнального пути, опосредованного NOD-рецепторами совместно с мурамоилпептидами, поддерживается с помощью белков-партнеров, одни из которых увеличивают (RICK, TAK1, GRIM-19), а другие (CLAN, Centaurin  $\beta$ 1, Erbin, CD147, A20) уменьшают активацию канонического NF- $\kappa$ B-сигнального пути, формирующего развитие иммунного ответа. Активация альтернативного пути менее изучена и для него пока неизвестны дополнительные белковые взаимодействия. Белки, понижающие лигандзависимую активацию NF- $\kappa$ B-сигнального пути, необходимы, по-видимому, в качестве защиты организма от избыточной воспалительной реакции.

Такая схема иммунного ответа реализуется при бактериальной атаке на организм, когда его защитная система подвергается воздействию всех компонентов бактерий и происходит одновременная активация множества рецепторных и сигнальных путей. В случае применения одного из компонентов бактерий в качестве корректора иммунных реакций организма количество сигнальных путей и белковых взаимодействий неизбежно должно уменьшаться, оставаясь все же достаточно сложным и комплексным, как это видно на примере NOD2/MDP-зависимой активации NF- $\kappa$ B- и MAPK-сигнальных путей (рис. 5).

Исследователи отмечали, что мурамоилпептиды являются достаточно слабыми, по сравнению например с LPS, индукторами NF- $\kappa$ B-сигнала и, как следствие, относительно слабыми стимуляторами иммунных реакций и, в частности, адьювантной активности. Однако эти гликопептиды имеют неоспоримое преимущество, поскольку практически не обладают токсичностью, а некоторые их производные апирогенны. Попытки синтетическим путем, изменяя строение молекул мурамоилпептидов, увеличить абсолютные показатели их активности в иммунологических тестах не привели к существенным положительным результатам.

Открытие NOD-рецепторов мурамоилпептидов, а также целой сети белковых и рецепторных взаимодействий, обеспечивающих активацию сигнальных клеточных путей иммунной системы, позволяет использовать результаты исследований последнего десятилетия для разработки новых подходов к решению задачи повышения биологической активности иммуномодуляторов этого класса. Например, направив активацию NF- $\kappa$ B-сигнала мурамоилпептидами исключительно каноническим путем, можно «заглушить» адаптивную составляющую иммунного ответа и наоборот.

Понижение функциональной активности белков, уменьшающих активацию NF- $\kappa$ B-фактора, еще одна возможность коррекции индуцированных мурамоилпептидами сигналов. Совместное использование различных сочетаний мурамоилпептидов и агонистов рецепторов TLR2, TLR4, TLR9 может использоваться для подбора наиболее удачной адъювантной композиции для создания вакцин. Наконец, направленное влияние на процесс Clathrin-зависимого эндоцитоза мурамоилпептидов [101] с целью улучшения их доставки внутрь клетки расширяет возможности разработки новых лекарственных форм пептидов этого класса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Adam A., Ciorbaru R., Petit J.F., Lederer E. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1972. V. 69. P. 851–854.
2. Ellouz F., Adam A., Ciorbaru R., Lederer E. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1974. V. 59. P. 1317–1325.
3. Adam A., Lederer E. // Med. Res. Rev. 1984. V. 4. P. 111–152.
4. Lederer E. // Drugs Exp. Clin. Res. 1986. V. 12. P. 429–440.
5. Bahr G.M., Chedid L. // Fed. Proc. 1986. V. 45. P. 2541–2544.
6. Andronova T.M., Ivanov V.T. // Sov. Med. Rev. D. Immunology. 1991. V. 4. P. 1–63.
7. Parant M. // Int. J. Immunopharm. 1994. V. 16. P. 445–449.
8. Pabst M.J., Beranova-Giorgianni S., Krueger J.M. // Neuroimmunomodulation. 1999. V. 6. P. 261–283.
9. Traub S., von Aulock S., Hartung T. // J. Endotoxin Res. 2006. V. 12. P. 69–85.
10. Eckman L. // Curr. Opin. Gastroenterol. 2006. V. 22. P. 95–101.
11. Bahr G.M., Darcissac E., Bevec D., Dukor P., Chedid L. // Int. J. Immunopharmacol. 1995. V. 17. P. 117–131.
12. Bahr G.M. // J. Antimicrob. Chemother. 2003. V. 51. P. 5–8.
13. Lemesre J.L., Holzmuller P., Bourdoiseau G., Hugnet C., Cavaleyra M., Papierok G. // Vaccine. 2007. V. 25. P. 4223–4234.
14. Azuma I., Otani T. // Med. Res. Rev. 1994. V. 14. P. 401–414.
15. Benferhat R., Martinon F., Krust B., Le Grand R., Hovanessian A.G. // Mol. Immunol. 2008. V. 45. P. 1963–1975.
16. Gano J.B., Kleinerman E.S. // Oncol. Nurs. Forum. 1995. V. 22. P. 809–816.
17. Ivanov V.T., Andronova T.M., Nesmeyanov V.A., Pinegin B.V., Ledger P., Bomford R., Khaitov R.M. // Klin. Med. 1997. V. 75. P. 11–15.
18. Пинегин Б.В. // Иммунология. 1996. Т. 2. С. 4–6.
19. Пинегин Б.В., Андропова Т.М., Швецов М.Ю. // Медицинская книга. 2004. С. 82.
20. Андропова Т.М. // Иммунология. 1996. Т. 2. С. 4–6.
21. Антропова Н.В. // Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии. Сборник. 1998. С. 261.
22. Кушнир Е.А., Конопля А.И., Силина Л.В. // Тезисы докл. VII Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”. 2004. С. 301.
23. Анжелов В.О. // Вести офтальмологии. 1997. Т. 113. С. 23–26.
24. Климова Р.Р., Козлов А.Ю., Андропова Т.М. // Ветеринарная патология. 2003. Т. 1. С. 92–96.
25. Андропова Т.М. // Проблемы туберкулеза. 2002. Т. 3. С. 21–25.
26. Коков Е.А. // Вестник уральской медицинской академической науки. 2006. Т. 3. С. 93–95.
27. Андропова Т.М. // Иммунология. 1998. Т. 5. С. 63–64.
28. Баранова И.Д. // Материалы межобластной конференции. 1999. Т. 4. С. 333–335.
29. Бондаренко А.Н. // Кубанский научный медицинский вестник. 2001. Т. 3. С. 64–65.
30. Сабиров А.Х., Чернецова Л.Ф., Зотов П.Б. // Тюменский медицинский журн. 1999. Т. 3. С. 31.
31. Чернецова Л.Ф. // Российский онкологический журн. 2001. Т. 5. С. 49–53.
32. Golovina T.N., Sumaroka M.V., Samokhvalova L.V., Shebzukhov Yu.V., Andronova T.M., Nesmeyanov V.A. // FEBS Lett. 1994. V. 356. P. 9–12.
33. Головина Т.Н., Сумарока М.В., Самохвалов Л.В., Шебзухов Ю.В., Макаров Е.А. // Биооргани. химия. 1995. Т. 21. С. 268–274.
34. Anderson K.V., Jurgens G., Nusslein-Volhard C. // Cell. 1985. V. 42. P. 779–789.
35. Lemaitre B., Nicolas E., Michaut J.M., Hoffmann J.A. // Cell. 1996. V. 86. P. 973–983.
36. Hashimoto C., Hudson K.L., Anderson K.V. // Cell. 1988. V. 52. P. 269–279.
37. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway Jr., C.A. // Nature. 1997. V. 388. P. 394–397.
38. Inohara N., Nunez G. // Oncogene. 2001. V. 20. P. 6473–6481.
39. Inohara N., Ogura T., Nunez G. // Curr. Opin. Microbiol. 2002. V. 5. P. 76–80.
40. Girardin S.E., Sansonetti P.J., Philpott D.J. // Microbiol. 2002. V. 10. P. 193–199.
41. Takeda K., Akira S. // Sem. Immunol. 2004. V. 16. P. 3–9.
42. Inohara N., Nunez G. // Nat. Rev. Immunol. 2003. V. 3. P. 371–382.

43. Bourhis L., Wert C. // *Microb. Infect.* 2007. V. 9. P. 629–636.
44. Barnich N., Aguirre J.E., Reinecker H.-C., Xavier R., Podolsky D. // *J. Cell Biol.* 2005. V. 170. P. 21–26.
45. Girardin S.E., Boneca I.G., Garneiro L.A., Antignac A., Jehanno M., Viala J., Tedin K., Labigne A., Zahringer U., Coyle A.J., DiStefano P.S., Bertin J., Sansonetti P.J., Philpott D.J. // *Science*. 2003. V. 300. P. 1584–1587.
46. Chamaillard M., Hashimoto M., Horie Y., Masumoto J., Qiu S., Saab L., Ogura Y., Kawasaki A., Fukase K., Kusumoto S., Valvano M.A., Foster S.J., Mak T.W., Nunez G., Inohara N. // *Nat. Immunol.* 2003. V. 4. P. 702–707.
47. Girardin S.E., Boneca I.G., Viala J., Chamaillard M., Labigne A., Thomas G., Philpott D.J., Sansonetti P.J. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 8869–8872.
48. Inohara N., Ogura Y., Fontalba A., Gutierrez O., Pons F., Crespo J., Fukase K., Inamura S., Kusumoto S., Hashimoto M., Foster S.J., Moran A.P., Fernandes-Luna J.L., Nunez G. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 5509–5512.
49. Meshcheryakova E.A., Makarov E.A., Philpott D.J., Andronova T.M., Ivanov V.T. // *Vaccine*. 2007. V. 25. P. 4515–4520.
50. Girardin S.E., Hugot J.P., Sansonetti P.J. // *Trends Immunol.* 2003. V. 24. P. 652–658.
51. Masumoto J., Inohara N. // *Curr. Med. Chem.* 2005. V. 4. P. 43–51.
52. Inohara N., Chamaillard M., McDonald C., Nunez G. // *Ann. Rev. Biochem.* 2005. V. 74. P. 355–383.
53. Xiao G., Rabson A.B., Young W., Qing G., Qu Z. // *Cytokine & Growth Factor Rev.* 2006. V. 17. P. 281–293.
54. Beinke S., Ley S.C. // *Biochem. J.* 2004. V. 382. P. 393–409.
55. Pan Q., Kravchenko V., Katz A., Huang S., Li M., Mathison J.C., Kabayashi K., Flavell R.A., Schreiber R.D., Goeddel D., Ulevitch R.J. // *Infect. Immun.* 2006. V. 74. P. 2121–2127.
56. Strober W., Murray P.J., Kitani A., Watanabe T. // *Rev. Immunol.* 2006. V. 6. P. 9–20.
57. Opitz B., Puschel A., Beermann W., Hocker A.C., Forster S., Schmeck B., Laak V., Chakraborty T., Suttorp N., Hippenstiel S. // *J. Immunol.* 2006. V. 176. P. 484–490.
58. Windheim M., Lang C., Peggie M., Plater L.A., Cohen P. // *Biochem. J.* 2007. V. 404. P. 179–190.
59. Hsu Y.-M.S., Zhang Y., You Y., Wang D., Li H., Duramad O., Qin X.-F., Dong C., Lin X. // *Nat. Immunol.* 2007. V. 8. P. 198–205.
60. Harton J.A., Linhoff M.W., Zhang J., Ting J.P. // *J. Immunol.* 2002. V. 169. P. 4088–4093.
61. Gutierrez O., Pipoon C., Inohara N., Fontalba A., Ogura Y., Prosper F., Nunez G., Fernandez-Luna J.L. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 41701–41705.
62. Ogura Y., Inohara N., Benito A., Chen F.F., Yamaoka S., Nunez G. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 4812–4818.
63. Ogura Y., Lala S., Xin W., Smith E., Dowds T.A., Chen F.F., Zimmermann E., Treitakova M., Cho J.H., Hart J., Greenson J.K., Keshav S., Nunez G. // *Gut*. 2003. V. 52. P. 1591–1597.
64. Lala S., Ogura Y., Osborne S., Hor S.Y., Bromfield A., Davies S., Ogunbiyi O., Nunez G., Keshav S. // *Gastroenterology*. 2003. V. 125. P. 47–57.
65. Sterka D.J., Marriot I. // *J. Neuroimmunol.* 2006. V. 179. P. 65–75.
66. Marriott I., Rati D.M., McCall S.H., Tranguch S.L. // *Infect. Immun.* 2005. V. 73. P. 2967–2973.
67. Chin A.I., Dempsey P.W., Bruhn K., Miller J.F., Xu Y., Cheng G. // *Nature*. 2002. V. 416. P. 190–194.
68. Park J.H., Kim Y.G., McDonald C., Kanneganti T.D., Hasegawa M., Body-Malapel M., Inohara N., Nunez G. // *J. Immunol.* 2007. V. 178. P. 2380–2386.
69. Lecine P., Esmiol S., Metais J.Y., Nicoletti C., Nourry C., McDonald C., Nunez G., Hugot J.P., Borg J.P., Ollendorff V. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 15197–15207.
70. Hasegawa M., Fujimoto Y., Lucas P.C., Nakano H., Fukase K., Nunez G., Inohara N. // *EMBO J.* 2008. V. 27. P. 373–383.
71. Barnich N., Hisamatsu T., Aguirre J.E., Xavier R., Reinecker H.C., Podolsky D.K. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 19021–19026.
72. Chen C.M., Gong Y., Zhang M., Chen J.J. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 25876–25882.
73. Kim J.Y., Omori E., Matsumoto K., Nunez G., Nishimura-Tsuji J. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 137–144.
74. Gross O., Gewies A., Finger K., Schafer M., Sparwasser T., Peschel C., Forster I., Ruland J. // *Nature*. 2006. V. 442. P. 651–656.
75. Legrand-Poels S., Kustermans G., Bex F., Kremmer E., Kufer T.A., Piette J. // *J. Cell. Sci.* 2007. V. 120. P. 1299–1310.
76. Damiano J.S., Oliveira V., Welsh K., Reed J.C. // *Biochem. J.* 2004. V. 381. P. 213–219.
77. McDonald C., Chen F.F., Ollendorff V., Ogura Y., Marchetto S., Lecine P., Borg J.P., Nunez G. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 40301–40309.
78. Kufer T.A., Kremmer E., Banks D.J., Philpott D.J. // *Infect. Immun.* 2006. V. 74. P. 3115–3124.
79. Yamamoto-Furusho J.K., Barnich N., Xavier R., Hisamatsu T., Podolsky D.K. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 36060–36070.
80. Till A., Rosenstiel P., Brautigam K., Sina C., Jacobs G., Ober H.-H., Seeger T., Chakraborty T., Schreiber S. // *J. Cell. Sci.* 2007. V. 121. P. 487–495.
81. Beyaert R., Heyninck K., van Huffel S. // *Biochem. Pharmacol.* 2000. V. 60. P. 1143–1151.
82. Hitotsumatsu O., Ahmad R.C., Tavares R., Wang M., Philpott D., Turer E.E., Lee B.L., Shiffin N., Advincula R., Malynn B.A., Werts C., Ma A. // *Immunity*. 2008. V. 28. P. 381–390.
83. Zhao L., Lee J.Y., Hwang D.H. // *Biochem. Pharm.* 2008. V. 75. P. 1515–1525.
84. Netea M.G., Kullberg B.J., Jong D.J., Franke B., Sprong T., Naber T.H., Drenth J.P.H., van der Meer J.W.M. // *Eur. J. Immunol.* 2004. V. 34. P. 2052–2059.
85. Watanabe T., Kitani A., Murray P.J., Wakatsuki Y., Fuss I.J., Strober W. // *Immunity*. 2006. V. 25. P. 473–485.
86. Yang Z., Fuss I.J., Watanabe T., Asano N., Davey M.P., Rosenbaum J.T., Strober W., Kitani A. // *Gastroenterology*. 2007. V. 133. P. 1510–1521.

87. Borm M.E., Bodegraven A.A., Mulder C.J., Kraal G., Bouma G. // *Genes. Immun.* 2008. V. 9. P. 274–278.
88. Chen K., Zhang L., Huang J., Gong W., Dunlop N.M., Wang J.M. // *J. Leukoc. Biol.* 2008. V. 83. P. 1467–1475.
89. Chin A.I., Dempsey P.W., Bruhn K., Miller J.F., Xu Y., Cheng G. // *Nature.* 2002. V. 416. P. 190–194.
90. Pauleau A.L., Murray P.J. // *Mol. Cell. Biol.* 2003. V. 23. P. 7531–7539.
91. Fritz J.H., Girardin S.E., Fitting C., Werts C., Mengin-Lecreulx D., Caroff M., Cavaillon J.M., Philpott D.J., Adip-Conquy M. // *Eur. J. Immunol.* 2005. V. 35. P. 2459–2470.
92. Correia S., Miranda Y., Leonard N., Hsu J., Ulevitch J. // *Cell. Death. Differ.* 2006. V. 14. P. 830–839.
93. Abbot D.W., Yang Y., Hutti J.E., Madhavarapu S., Kelliher M.A., Cantley L.C. // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. P. 6012–6025.
94. van Heel D.A., Ghosh S., Hunt K.A., Mathew C.G., Forbes A., Jewell D.P., Playford R.J. // *Gut.* 2005. V. 54. P. 1553–1557.
95. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S. // *Nature.* 2000. V. 408. P. 740–745.
96. Martinon F., Burns K., Tschopp J. // *Mol. Cell.* 2002. V. 10. P. 417–426.
97. Hsu L.C., Ali S.R., McGillivray S., Tseng P.H., Mariathasan S., Humke E.W., Eckmann L., Powell J.J., Nizet V., Dixit V.M., Karin M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. P. 7803–7808.
98. Martinon F., Agostini L., Meylan E., Tschopp J. // *Curr. Biol.* 2004. V. 14. P. 1929–1934.
99. Pan Q., Mathison J., Fearn C., Kravchenko V.V., Correia S., Hoffman H.M., Kobayashi K.S., Bertin J., Grant E.P., Coyle A.J., Sutterwala F.S., Ogura Y., Flavell R.A., Ulevitch R.J. // *J. Leukoc. Biol.* 2007. V. 82. P. 177–183.
100. Marina-Garcia N., Franchi L., Kim Y.G., Miller D., McDonald C., Boons G.J., Nunez G. // *J. Immunol.* 2008. V. 180. P. 4050–4057.
101. Marina-Garcia N., Franchi L., Kim Y.-G., Hu Y., Smit D.E., Boons G.-J., Nunez G. // *J. Immunol.* 2009. V. 182. P. 4321–4327.

## A Protein Interaction Network Accompanied the Signaling Pathways Activated by Muramyl Peptides

E. A. Meshcheryakova<sup>#</sup>, T. M. Andronova, V. T. Ivanov

<sup>#</sup>Phone: +7 (495) 335-61-77; e-mail: eam@ibch.ru

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
Miklukho–Maklaya 16/10, Moscow 117997, Russia*

Review is devoted to studying the interaction muramyl peptides with protein components of immune system cells. Systems analysis of published results may be useful to select not only the strategy to further explore the function of this class of glycopeptides, but their use in clinical practice.

*Key words: muramyl peptides; NOD receptors; NF- $\kappa$ B; proteins-regulators; cellular signal pathways*