

Naturalna odpowiedź immunologiczna na wirusy oddechowe – wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe

Natural immunological response to respiratory viruses – intracellular signalling pathways

ANNA GŁOBIŃSKA, MAREK L. KOWALSKI

Klinika Immunologii, Reumatologii i Alergii,
Katedra Immunologii Klinicznej i Mikrobiologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Wrodzona odpowiedź immunologiczna na wirusy jest mediowana rozpoznaniem wirusowych komponentów przez receptory rozpoznające wzorce, wśród których wyróżnia się m.in. receptory Toll-podobne oraz RIG-I-podobne, stanowiące dwa główne systemy detekcji wirusów RNA. Wyróżnia się także receptory NOD-podobne, jednak ich udział w odpowiedzi przeciwwirusowej jest kontrowersyjny. Rozpoznanie infekcji jest możliwe ze względu na obecność konserwatywnych struktur, określanych mianem wzorców molekularnych związanych z patogenami. Rozpoznanie infekcji jest możliwe ze względu na obecność konserwatywnych struktur, określanych mianem wzorców molekularnych związanych z patogenami. Wykrycie PAMPs indukuje reakcje zapalne skutkujące uruchomieniem wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, które prowadzą do aktywacji czynników transkrypcyjnych i produkcji cytokin prozapalnych oraz interferonów. Wirusy oddechowe takie jak rinowirus, zakażają komórki dróg oddechowych, wywołując objawy „przeziębienia” lub zaostrzenia astmy oskrzelowej. Z kolei takie wirusy jak np. wirus paragrypy czy syncytialny wirus oddechowy mogą wywoływać zapalenie oskrzelików i zapalenie płuc. Zrozumienie mechanizmów eliminacji wirusów na poziomie molekularnym jest niezbędne dla opracowania nowych strategii zwalczania infekcji wirusowych. Celem tej pracy jest przedstawienie receptorów odpowiedzi nieswoistej oraz wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, uruchamianych w trakcie odpowiedzi immunologicznej na zakażenie wirusami oddechowymi.

Słowa kluczowe: receptory Toll-podobne, receptory RIG-I-podobne, szlaki sygnałowe, komórki nabłonkowe, wirusy oddechowe

Summary

Innate immune response to viruses is triggered by recognition of viral components by pattern recognition receptors (PRRs), which include Toll-like and RIG-I-like receptors: two major receptor systems for detecting RNA viruses. In addition to TLRs and RLRs there are also NOD-like receptors, but their contribution to antiviral response remains controversial. Sensing of infection is possible due to presence of conserved microbial structures called pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Detection of PAMPs induces inflammatory reactions that initiate intracellular signalling pathways, which leads to activation of transcription factors and production of proinflammatory cytokines and interferons. Respiratory viruses, like human rhinovirus, infect airway epithelial cells and are responsible for symptoms of “common cold” and exacerbations of bronchial asthma. Other viruses, e.g. parainfluenza virus or respiratory syncytial virus, can cause severe respiratory disease (bronchiolitis, pneumonia). Understanding the molecular mechanisms of immune response to respiratory viruses at the molecular level is essential for development of new treatment modalities against viral infections. The aim of this paper is to review non-specific response receptors and intracellular signalling pathways triggered during the immune response to viral respiratory infections.

Keywords: Toll-like receptors, RIG-I-receptors, signalling pathways, epithelial cells, respiratory viruses

© Alergia Astma Immunologia 2012, 17 (2): 66-76

www.alergia-astma-immunologia.eu

Przyjęto do druku: 22.06.2012

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Prof. dr hab. med. Marek L. Kowalski

Klinika Immunologii, Reumatologii i Alergii,
Katedra Immunologii Klinicznej i Mikrobiologii UM w Łodzi
ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź
tel. +48 42 675 73 09, fax +48 42 678 22 92
e-mail: Marek.Kowalski@csk.umed.lodz.pl

Układ immunologiczny dysponuje licznymi strategiami, których celem jest eliminacja patogenów. Mechanizmy uruchamiane w odpowiedzi na zakażenie, angażując zarówno nieswoiste, jak i swoiste elementy odporności, pełnią istotną rolę w zwalczaniu patogenów, tj. wirusy, bakterie i pasożyty [1]. Jednak prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego opiera się nie tylko na szybkim rozpoznaniu i eliminacji czynników chorobotwórczych,

ale także na zachowaniu tolerancji na własne antygeny. Pierwszą linią obrony przed infekcją jest obecność barier fizjologicznych, np. skóry i błon śluzowych, ograniczających wnikanie drobnoustrojów do organizmu. Przełamanie tych barier aktywuje mechanizmy odporności wrodzonej, związanej z procesem fagocytozy, w której uczestniczą makrofagi, komórki dendrytyczne i komórki NK. Drobnoustroje wnikające do organizmu, mogą zostać rozpoznane dzięki

obecności na ich powierzchni charakterystycznych struktur określanych jako wzorce molekularne związane z patogenami (ang. *patogen-associated molecular patterns*, PAMP), wśród których wyróżnia się lipidy, lipoproteiny, białka oraz kwasy nukleinowe mikroorganizmów. Ze względu na brak zmienności w obrębie PAMPs, struktury te, stanowiące element niezbędny do przeżycia mikroorganizmów oraz będące produktami procesów charakterystycznych dla konkretnej grupy drobnoustrojów, pozwalają na odróżnienie ich od cząsteczek własnego organizmu. Niezmiennosc wzorców molekularnych patogenów ogranicza zdolność drobnoustrojów do unikania odpowiedzi immunologicznej [1]. Rozpoznanie tych struktur jest możliwe dzięki wyspecjalizowanej grupie receptorów (*patogen recognition receptors*, PRR), do których należą receptory: Toll-podobne (*Toll-like receptors*, TLR), NOD-podobne (*NOD-like receptors*, NLR) i RIG-I-podobne (*RIG-I-receptors*, RLR), które zlokalizowane są na powierzchni lub wewnątrz komórek immunokompetentnych – makrofagów, komórek dendrytycznych, limfocytów. Ponieważ udział receptorów NOD-podobnych w odpowiedzi przeciwvirusowej nie został w pełni udokumentowany, zostaną one pominięte w tym przeglądzie. Ekspresję PRRs wykazują także komórki nabłonkowe układu oddechowego i pokarmowego [2,3]. Rozpoznanie PAMPs skutkuje uruchomieniem wewnątrzkomórkowych mechanizmów transdukcji sygnału, prowadzących do aktywacji czynników transkrypcyjnych i ekspresji genów kodujących mediatory reakcji zapalnej. Związana z tym synteza cytokin, np. TNF, IL-1 i IL-6 oraz związków o działaniu chemotaktycznym, w dużej mierze ogranicza szerzenie infekcji, a ponadto aktywuje mechanizmy odpowiedzi swoistej, skierowanej przeciwko konkretnym patogenom [4].

Receptory rozpoznające wzorce molekularne patogenów

Receptory Toll-podobne: struktura i rozpoznawane wzorce molekularne patogenów

Zdolność do rozpoznania patogenów przez komórki układu immunologicznego wynika z obecności na powierzchni tych komórek wyspecjalizowanych receptorów rozpoznających charakterystyczne komponenty drobnoustrojów, określane jako wzorce molekularne związane z patogenami (PAMPs). Receptory rozpoznające PAMPs są obecne na monocytach, komórkach dendrytycznych, neutrofilach oraz komórkach nabłonkowych [5]. W grupie PRRs wyodrębniono receptory Toll-podobne, NOD-podobne i RIG-I-podobne. Najlepiej poznanymi receptorami z tej grupy są receptory Toll-podobne. Stwierdzenie obecności tych receptorów w genomie ludzkim poprzedziło odkrycie białka Toll u muszek z rodzaju *Drosophila*. Początkowo wykazano, że białko Toll pełni funkcje w rozwoju embrionalnym tych owadów, przyczyniając się do polaryzacji brzuszno-grzbietowej wczesnych larw *Drosophila*, jednak kolejne badania dowiodły, iż białko to, u dorosłych osobników muszek owocowych, jest zaangażowane w przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczną odpowiedź immunologiczną, związaną z produkcją dipterycyn, drosomocyn i defensyn [6,7].

Dotychczas scharakteryzowano 13 receptorów Toll-podobnych, wśród których receptory TLR1 – TLR10 występują

zarówno u myszy, jak i u ludzi, jednakże mysi TLR10 jest нефункциональный ze względu na obecność retrowirusowej insercji. Ekspresja TLR11 – TLR13 zachodzi tylko w komórkach mysich [1,8,9]. Repertuar ligandów rozpoznawanych przez receptory Toll-podobne jest bardzo zróżnicowany. Wśród rozpoznawanych struktur wyróżnia się m.in. bakteryjne komponenty ścian komórkowych (lipopolisacharyd, peptydoglikan, kwasy lipoteichojoyowe, lipoproteiny), wysocy konserwatywne białka mikroorganizmów, bakteryjne i wirusowe kwasy nukleinowe, składniki ścian komórkowych grzybów (β -glukan) [1,6,10]. Badania na myszach z delecją genów kodujących poszczególne receptory Toll-podobne umożliwiły identyfikację ligandów rozpoznawanych przez TLRs, jednak dotychczas ligandy dla receptorów TLR10, TLR12 i TLR13 pozostają nieznane [5]. Ekspresję receptorów Toll-podobnych wykazują monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne i limfocyty B, a także komórki nabłonkowe, komórki śródbłonna oraz fibroblasty. TLRs mogą być zlokalizowane na powierzchni komórek lub w wewnątrzkomórkowych pęcherzykach – endosomach, lizosomach i siateczce endoplazmatycznej. Powierzchniowymi receptorami Toll-podobnymi są TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 oraz TLR11, natomiast wewnątrzkomórkowa ekspresja dotyczy TLR3, TLR7, TLR8 i TLR9 [1,5,6]. Istnieją jednak doniesienia, iż lokalizacja TLR3 jest zależna od rodzaju komórki, wykazującej ekspresję tego receptora. W ludzkich fibroblastach TLR3 jest obecny na powierzchni komórek, natomiast makrofagi i komórki dendrytyczne wykazują wewnątrzkomórkową ekspresję tego receptora [11-13].

Receptory Toll-podobne są transmembranowymi glikoproteinami typu I. Część zewnątrzkomórkowa (N-końcowa) receptora charakteryzuje się obecnością domeny bogatej w reszty leucynowe (*leucine rich repeat*, LRR) i strukturą przypominającą kształtem podkowę. Region LRR, utworzony przez sekwencje zawierające około 20-30 aminokwasów, uczestniczy w wiązaniu ligandów. Natomiast zlokalizowana w części cytoplazmatycznej domena TIR (Toll-IL-1 receptor), wykazująca wysoką homologię z receptorem dla IL-1, pośredniczy w transdukcji sygnału generowanego związaniem PAMP przez odpowiedni receptor Toll-podobny. Oligomeryzacja cytoplazmatycznych regionów receptorów Toll-podobnych inicjuje rekrutację białek adaptorowych, posiadających domeny TIR i umożliwia interakcje pomiędzy poszczególnymi białkami szlaku transdukcji sygnału [4,14,15].

Wykazano istnienie strukturalnych różnic w obrębie receptorów TLR1, TLR2 i TLR4, których domeny LRR, w przeciwieństwie do pozostałych receptorów Toll-podobnych, charakteryzują się obecnością regionów N-końcowych, części centralnej i regionów C-końcowych. Centralne części domen LRR nie zawierają motywu stabilizującego strukturę o kształcie przypominającym podkowę, co może odpowiadać za zdolność tych receptorów do wiązania różnych ligandów, jak również tłumaczyć fakt, iż receptory te wymagają udziału koreceptorów, niezbędnych do przekazywania sygnału [16]. Spośród 10 ludzkich receptorów Toll-podobnych, TLR4, rozpoznający lipopolisacharyd bakterii Gramujemnych, był pierwszym zidentyfikowanym homologiem białka Toll występującego u *Drosophila*. Rozpoznanie LPS

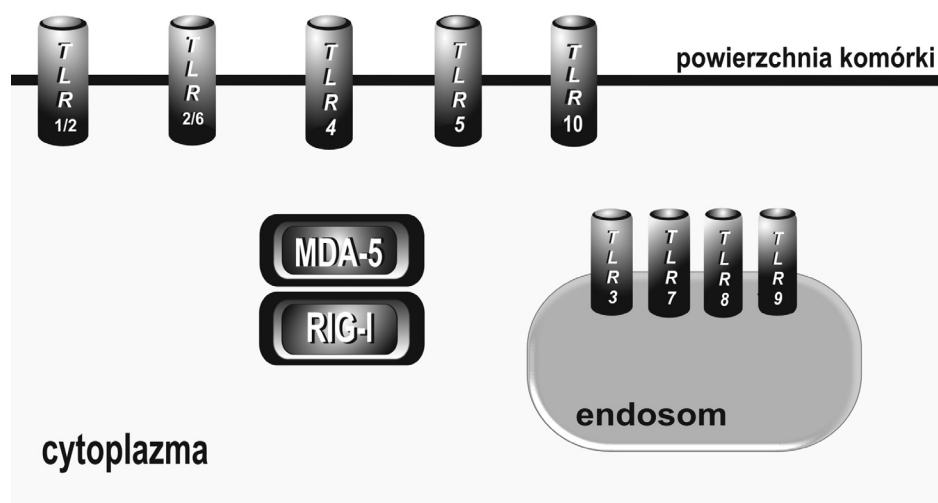
przez TLR4 wymaga obecności CD14 i MD2. Badania przeprowadzone na myszach wykazały, że wśród ligandów rozpoznawanych przez TLR4 wyróżnia się nie tylko bakteryjny lipopolisacharyd, ale także białko mysiego wirusa raka sutka (*murine mammary tumor virus*, MMTV) oraz glikoproteinę F syncytialnego wirusa oddechowego (*respiratory syncytial virus*, RSV) [5,10,17]. W rozpoznaniu RSV uczestniczy ponadto receptor TLR2, tworzący heterodimery z TLR1 lub TLR6. W kompleksie z tymi receptorami, TLR2 wiąże komponenty bakteryjne (diacylowane i triacylowane lipopeptydy) i inicjuje odpowiedź na szerokie spektrum ligandów pochodzenia wirusowego, włączając w to składowe wirusa HCV (*hepatitis C virus*), HSV (*herpes simplex virus*), wirusa odry (*MeV-measles virus*) oraz ludzkiego cytomegalowirusa (*cytomegalovirus*, CMV).

Jednak, jak wykazały badania przeprowadzone przez Murawskiego i wsp. [18], rozpoznanie i indukcja mechanizmów odpowiedzi nieswoistej na zakażenie wirusem RSV odbywa się przy udziale kompleksów TLR2/TLR6, natomiast TLR1 nie uczestniczy w tym procesie [10,14]. Kolejnym białkiem należącym do grupy receptorów Toll-podobnych jest wewnątrzkomórkowy TLR3, którego ligandem jest dwuniciowy RNA (dsRNA) pochodzący np. z wirusów grypy typu A i RSV. Receptor TLR3 indukuje także odpowiedź przeciwwirusową w ludzkich komórkach nabłonka oskrzeli zakażonych rinowirusem (*rhinovirus*, RV). Ponadto TLR3 rozpoznaje syntetyczny analog dsRNA – kwas poliryboinozylowo: polirybocytydylowy (poly(I:C) – poliriboinosinic:polirybocytydyllic acid) [19-22]. W rozpoznawaniu wirusów, poza TLR3, zaangażowane są także inne wewnątrzkomórkowe receptory – TLR7, TLR8 i TLR9. TLR7 i TLR8 wiążą jednoniciowy RNA (ssRNA) wirusów, natomiast TLR9 rozpoznaje niemetylowane sekwencje bakteryjnego i wirusowego DNA – CpG [23-25]. Spośród wymienionych receptorów odpowiedzi przeciwwirusowej, TLR7 i TLR9 wykazują wysoką ekspresję w plazmacytoidalnych komórkach dendrytycznych [26-28]. W odpowiedzi immunologicznej na komponenty bakteryjne uczestniczą receptory TLR5 i TLR11. Bakteryjna flagelina, białko tworzące wić, jest rozpoznawana przez TLR5 [29,30]. Natomiast występujący u myszy TLR11 rozpoznaje białko

o strukturze zbliżonej do profiliny oraz ligandy pochodzące z uropatogennych szczepów *Escherichia coli* (*uropathogenic Escherichia coli*, UPEC) [1,31].

Receptory RIG-I-podobne

W grupie receptorów rozpoznających wzorce molekularne drobnoustrojów wyodrębniono także helikazy RIG-I podobne. Należą do nich: RIG-I (*retinoic acid inducible gene 1*), MDA5 (*melanoma differentiation-associated gene 5*) i LGP-2 (*laboratory of genetics and physiology-2*), będące cytoplazmatycznymi receptorami, rozpoznającymi wirusowy RNA. Badania na myszach pozbawionych genów kodujących receptory RIG-I-podobne wykazały, że białka te są niezbędne do produkcji interferonów typu I i cytokin prozapalnych w odpowiedzi na infekcję wirusową. Homologiczne helikazy RIG-I i MDA5 posiadają C-końcową domenę o charakterze helikazy, wiążącą dsRNA i wykazującą aktywność ATPazy. Natomiast w części N-końcowej zlokalizowane są dwie domeny aktywujące i rekrutujące kaspazy (CARDs-*caspace activation and recruitment domains*). W odróżnieniu od RIG-I i MDA5, LGP-2 nie posiada domen CARDs i jest uznawany za receptor pełniący funkcje regulatorowe [3,32-35]. RIG-I jest aktywowany pod wpływem trifosforanu obecnego na końcu 5' cząsteczki wirusowego RNA, określanego jako 3pRNA. Natomiast wirusy nie posiadające grup fosforanowych na końcu 5' RNA, są rozpoznawane przy udziale MDA5 [36-38]. Wybór szlaku, na drodze którego przekazywany jest sygnał generowany rozpoznaniem genomu wirusa, uzależniony jest także od długości rozpoznawanego fragmentu wirusowego RNA. Szlak zależny od MDA5 indukują długie odcinki dsRNA, natomiast krótsze aktywują ścieżki sygnałowe receptora RIG-I [34,35]. W rozpoznawaniu wirusów z rodzin *Paramyxoviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Flaviviridae* i *Rhabdoviridae* uczestniczy RIG-I. MDA5 wiąże RNA pochodzące np. z wirusa zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (*encephalomyocarditis virus*, EMCV), zaś w odpowiedzi na zakażenie powodowane przez wirus Dengi (*Dengue virus*, DENV) oraz retowirusy biorą udział oba te receptory [34,37].



Ryc. 1. Wewnątrzkomórkowa lokalizacja receptorów Toll-podobnych oraz receptorów RIG-I-podobnych.

Molekularne aspekty transdukcji sygnału

Transdukcja sygnału powstającego na skutek interakcji PAMPs z odpowiednimi receptorami rozpoznającymi wzorce molekularne drobnoustrojów jest procesem angażującym liczne wewnątrzkomórkowe mechanizmy molekularne, których prawidłowe funkcjonowanie wymaga sprawnego współdziałania wielu białek. Uruchamiana w odpowiedzi na zakażenie kaskadowa reakcja, w której aktywowane są kolejno cząsteczki uczestniczące w przekazywaniu sygnału, prowadzi ostatecznie do syntezy cytokin prozapalnych oraz związków o charakterze przeciwdrobnoustrojowym.

Po związaniu ligandu przez odpowiedni receptor, transdukcja sygnału przebiega począwszy od białek adaptorowych, poprzez liczne kinazy i białka pośredniczące, skończywszy na aktywacji czynników transkrypcyjnych i ekspresji genów kodujących mediatory reakcji zapalnej.

Białka adaptorowe

MyD88 (*myeloid differentiation primary response gene 88*) jest istotnym białkiem adaptorowym uczestniczącym w szlakach sygnałowych wszystkich receptorów Toll-podobnych, z wyjątkiem TLR3 i TLR4, którego szlak sygnałowy może przebiegać także bez udziału MyD88, na drodze zależnej od białek TRAM i TIRAP [39]. MyD88 zlokalizowane jest w cytoplazmie, w pobliżu wewnątrzkomórkowej części receptorów Toll-podobnych [8]. Strukturę tego białka tworzą: N-terminalna domena śmierci (*death domain*, DD), domena pośrednicząca (*intermediary domain*, ID) oraz wykazująca wysoką homologię z receptorem dla IL-1 C-końcowa domena TIR (Toll/IL-1 receptor) za pośrednictwem, której MyD88 oddziałuje z receptorami Toll-podobnymi, wiążąc się z nimi na drodze bezpośredniej lub pośredniej interakcji [8,40].

MAL/TIRAP (*MyD88-adaptor-like protein/TIR domain-containing adaptor protein*) jest białkiem o masie 25 kDa, zbudowanym z 235 aminokwasów i posiadającym domenę TIR w części C-końcowej. Pośredniczy pomiędzy receptorami Toll-podobnymi a MyD88 i uczestniczy w szlakach sygnałowych TLR2 i TLR4, oddziałując z nimi na drodze interakcji domen TIR. Białko to zlokalizowane jest w błonie komórkowej, z którą łączy się za pośrednictwem motywu wiążącego fosfatydyloinozytolo-4,5-bisfosforan, zlokalizowanego w części N-końcowej białka. W niewielkich ilościach TIRAP występuje też na endosomach, gdzie podlega kontroli przy udziale czynników uczestniczących w ADP-rybozylacji białek (*ADP ribosylation factor 6*, ARF6) [14,41-43].

TRIF (*TIR-domain containing adaptor protein inducing interferon-β*) jest kolejnym białkiem z grupy białek adaptorowych, oddziałujących z receptorami Toll-podobnymi za pośrednictwem domen TIR. Uczestniczy w MyD88-niezależnej aktywacji IRF3 w ścieżkach sygnałowych TLR3 i TLR4. Badania na myszach nie wykazujących ekspresji TRIF dowiodły, że TRIF jest białkiem niezbędnym do prawidłowej transdukcji sygnału receptorów TLR3, ze względu na fakt, iż szlak sygnałowy tego receptora może przebiegać wyłącznie na drodze MyD88-niezależnej. W przypadku TLR4, stymulacja lipopolisacharydem u myszy TRIF^{-/-} odbywa się w szlaku zależnym od białka MyD88 i doprowadza do aktywacji IRAK-1, kinaz MAP i NF-κB. C-terminalny region TRIF aktywuje

promotor genu dla NF-κB. Natomiast N-terminalna domena TRIF aktywuje promotory genów kodujących IFNβ oraz NF-κB, a ponadto rekrutuje TBK1 oraz IKKi, które fosforylują klaster genów obecnych w części C-końcowej IRF3 [4,5,44].

TRAM/TICAM2 (*TRIF-related adaptor molecule*) odgrywa rolę w MyD88-niezależnej ścieżce transdukcji sygnału generowanego rozpoznaniem ligandu przez TLR4. TRAM podlega regulacji za pośrednictwem procesu mirystylacji, który warunkuje translokację tego białka do błony komórkowej, gdzie pełni funkcję w rozpoznaniu LPS przy udziale TLR4 i oddziałuje jako pomost pomiędzy receptorem a białkiem TRIF [45].

IPS-1/MAVS/VISA/Cardif (*interferon beta promotor stimulator-1/mitochondrial antiviral signaling/CARD adaptor inducing interferon beta/virus-induced signaling adaptor*) jest białkiem adaptorowym aktywującym promotor IFN-β1, uczestniczącym w ścieżkach sygnałowych receptorów RIG-I-podobnych. IPS-1 obecny jest w zewnętrznej błonie mitochondrialnej. Wykazano również peroksysomalną lokalizację tego białka, umożliwiającą wczesną odpowiedź przeciwwirusową poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego IRF1. IPS-1 posiada N-końcową domenę CARD, wykazującą homologię z domeną znajdującą się w receptorach RIG-I-podobnych. Ponadto strukturę IPS-1 tworzy fragment bogaty w reszty proliny oraz – obecny w części C-terminalnej – hydrofobowy region transmembranowy, który kieruje białko IPS-1 do mitochondrium. Na drodze interakcji domen CARD, IPS-1 wiąże się z receptorami RIG-I-podobnymi, inicjując szlaki odpowiedzi przeciwwirusowej, aktywujące IRF3 i IRF7 oraz NF-κB [3,33,46,47].

Kinazy

MAPKs (*mitogen-activated protein kinases*) tworzą nadrodzinę kinaz aktywowanych mitogenami. U ssaków wyróżnia się trzy rodziny kinaz MAP, do których należą kinazy JNK (*c-Jun N-terminal kinases*), kinazy ERK1/2 (*extracellular signal regulated kinase 1/2*) oraz białka p38. Podczas transdukcji sygnału, kinazy MAP ulegają procesowi fosforylacji w obrębie motywu Thr-X-Tyr, występującego we wszystkich białkach należących do tej rodziny, co jest niezbędne do ich aktywacji. Funkcjonowanie MAPK opiera się na kaskadowej reakcji, w której jedno białko fosforyluje kolejne. Kinazy MAP ulegają fosforylacji zachodzącej przy udziale kinaz MAPK (inne nazwy: MAPKK, MAP2K, MEK), które z kolei są aktywowane przez kinazy kinaz MAPK (określane jako MAPKKK, MAP3K lub MEKK), odbierające sygnał generowany rozpoznaniem odpowiedniego ligandu przez receptor na powierzchni komórki [48-50].

IRAKs (*IL-1 receptor-associated kinases*) stanowią grupę kinaz serynowo-treoninowych, związanych z receptorem dla IL-1, pełniących ważne funkcje w transdukcji sygnału pochodzącego z cząsteczek posiadających domenę TIR. Rodzina kinaz IRAK obejmuje: IRAK1, IRAK2, IRAK-M i IRAK4. Wszystkie te cząsteczki posiadają N-terminalną domenę śmierci oraz domenę o charakterze kinazy. W szlakach sygnałowych receptorów Toll-podobnych, IRAK4 i IRAK1 są rekrutowane przez białko MyD88 na drodze interakcji domen śmierci, a w kolejnym etapie IRAK-4 fosforyluje

IRAK-1. Wykazano również, że IRAK-1 aktywuje czynnik transkrypcyjny NF- κ B, jednakże nie na drodze degradacji I κ B, a poprzez ułatwienie fosforylacji p65/RelA. Ponadto prawdopodobnie wydaje się, iż IRAK-1 jest zaangażowany w fosforylację czynników transkrypcyjnych IRF5-IRF7, co potwierdzać może fakt, że pozbawienie komórek ekspresji IRAK-1 zmniejsza aktywność IRF5-IRF7 po stymulacji ligandami dla TLR7, TLR8, TLR9. Niedobór IRAK-1 skutkuje upośledzoną produkcją IL-6, IL-12, TNF- α , IFN- α w odpowiedzi na stymulację ligandami dla receptorów TLR7 i TLR9 [16,51-53].

IKKs (*I κ B kinases*) to kinazy inhibitorów czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (I κ B), tworzące kompleks składający się z podjednostek katalitycznych – IKK α , IKK β oraz cząsteczki IKK γ /NEMO (*I κ B kinase γ /NF- κ B essential modulator*). IKK α i IKK β mają zbliżoną strukturę, którą tworzą: domena o charakterze kinazy, motyw zamka leucytowego, motyw helisa-pętla-helisa oraz domena wiążąca NEMO. Funkcja kompleksu IKK polega na fosforylacji białka I κ B, co prowadzi do jego degradacji za pośrednictwem procesu ubiquitytacji i umożliwia aktywację czynnika NF- κ B [54,55].

Czynniki transkrypcyjne

NF- κ B (*nuclear factor - κ B*) stanowi rodzinę białek aktywowanych zarówno w ścieżkach sygnałowych receptorów Toll-podobnych, jak i receptorów RIG-I-podobnych. Rodzina NF- κ B u ssaków składa się z pięciu białek: p65 (RelA), RelB, c-Rel, NF- κ B1 (p50 i jego prekursor) oraz NF- κ B2 (p52 i jego prekursor). Czynniki transkrypcyjne NF- κ B występują w cytoplazmie w formie nieaktywnej, związany z białkiem I κ B. Po degradacji inhibitora, NF- κ B ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie kontroluje ekspresję cytokin [czynnik nekrozy guza (*tumor necrosis factor α* , TNF α), IL-1, IL-6, czynnik stymulujący wzrost makrofagów i granulocytów (GM-CSF)], chemokin (IL-8, RANTES), cząsteczek adhezyjnych [E-selektyna, cząsteczka adhezji komórkowej naczyń (*vascular cell adhesion molecule 1*, VCAM-1), cząsteczka adhezji międzykomórkowej (*intracellular cell adhesion molecule 1*, ICAM-1)] oraz enzymów [cyklooksygenaza-2 (cyclooxygenase-2, COX-2), indukowalna syntaza tlenu azotu (*inducible nitric oxide synthase*, iNOS)] [56,57].

AP-1 (*activator protein-1*) to grupa czynników transkrypcyjnych, obejmująca rodziny białek Fos (c-Fos, FosB, Fra1, Fra2) oraz białek Jun (c-Jun, JunB, JunD). Spośród wszystkich członków rodziny AP-1, główną rolę w reakcjach zapalnych przypisuje się białku c-Jun. Białka Jun są zdolne zarówno do tworzenia homo- jak i heterodimerów, natomiast Fos tworzą wyłącznie heterodimery Fos/Jun, które stanowią dominującą formę, występującą w większości komórek. Badania in vitro wykazały, że heterodimery Fos/Jun w porównaniu z homodimerami Jun/Jun, są bardziej stabilne i charakteryzują się większą zdolnością do wiązania DNA [58-60].

IRFs (*interferon regulatory factors*) są czynnikami transkrypcyjnymi regulującymi ekspresję genów kodujących interferony. W szlakach sygnałowych receptorów Toll-podobnych główną rolę przypisuje się IRF3 i IRF7, jednak w przekazywaniu sygnału rolę odgrywają także IRF1 i IRF5. Czynniki transkrypcyjne IRF3 występuje powszechnie i nie jest indukowalny, natomiast ekspresja IRF7 w większości

typów komórek utrzymuje się na niskim poziomie, ale znacząco wzrasta w odpowiedzi na stymulację ligandami pochodzenia wirusowego, a także w wyniku indukcji pod wpływem działania interferonów typu I oraz lipopolisacharydu. IRF3 i IRF7 mają zbliżoną strukturę, są obecne na terenie cytoplazmy, a po fosforylacji ulegają translokacji do jądra komórkowego, gdzie ulegają aktywacji i wiążą się z DNA. IRF7 aktywuje zarówno gen dla IFN β , jak i różne geny dla IFN α , natomiast IRF3 aktywuje głównie gen kodujący IFN β [5,61,62].

Szlaki sygnałowe uruchamiane w odpowiedzi na zakażenie

MyD88-zależne szlaki sygnałowe TLR

Ścieżki sygnałowe przebiegające z udziałem białka adaptorowego MyD88 dotyczą wszystkich receptorów Toll-podobnych, z wyjątkiem TLR3 [63]. Po rozpoznaniu ligandu przez TLR, białko MyD88 łączy się z cytoplazmatyczną domeną receptora. Następnie MyD88, na drodze interakcji domen śmierci, inicjuje rekrutację kinazy IRAK-4, która fosforyluje IRAK-1 i IRAK-2. Po fosforylacji, kinazy dysocjują od MyD88 i oddziałują z TRAF6 (*associated factor 6*, TNFR). Następnie TRAF6 tworzy kompleks z Ubc13 i Uev1A, co katalizuje powstawanie na TRAF6 łańcuchów poliubikwitynowych połączonych poprzez lizynę 63 (K63) ubikwityny, jak również wolnych łańcuchów poliubikwitynowych. Wolne łańcuchy poliubikwitynowe aktywują kompleks, w skład którego wchodzi TAK1 (*TGF- β -activated kinase 1*), TAB1 (*TAK1-binding protein 1*), TAB2 i TAB3 [64]. Dalsza transdukcja sygnału może przebiegać dwiema ścieżkami. Aktywacja kompleksu TAK1-TAB1-TAB2-TAB3 może prowadzić do aktywacji czynnika NF- κ B na drodze zależnej od kompleksu IKK. Może też skutkować aktywacją czynnika AP-1. W pierwszym przypadku konieczna jest aktywacja kompleksu IKK, utworzonego przez IKK α , IKK β oraz NEMO. Aktywacja następuje na skutek fosforylacji IKK β przez TAK1. Kompleks IKK katalizuje fosforylację inhibitora NF- κ B, I κ B, który ulega degradacji i umożliwia translokację NF- κ B do jądra komórkowego [1,15]. Natomiast fosforylację czynnika AP-1 odbywa się przy udziale kinazy MAP, MKK3 (*MAP kinase 3*) i MKK6, aktywowanych przez TAK1 [4].

MyD88-niezależne szlaki sygnałowe TLR

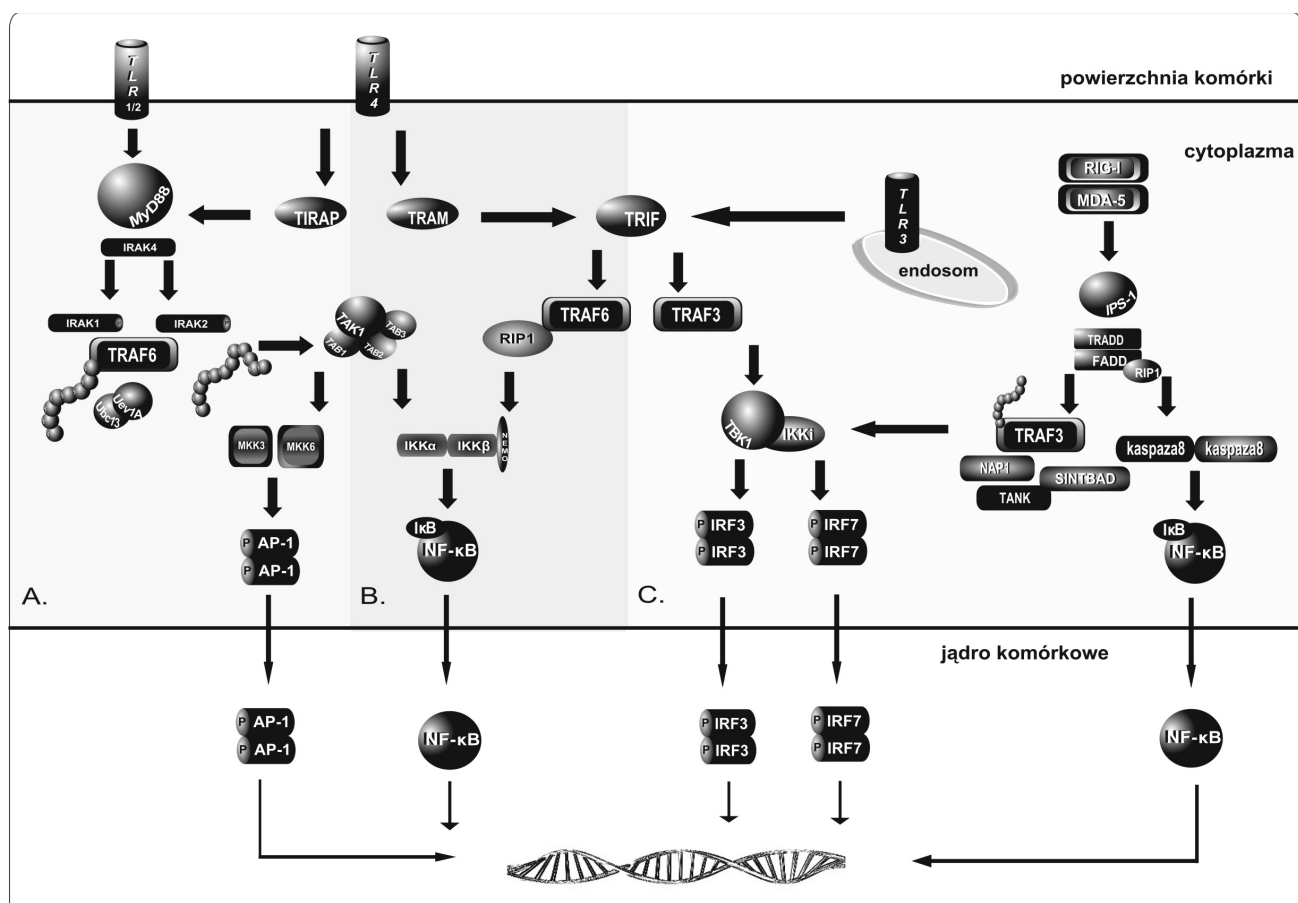
Szlaki sygnałowe przebiegające bez udziału białka adaptorowego MyD88 dotyczą receptorów TLR3 i TLR4. TLR3 jest wewnątrzkomórkowym receptorem zaangażowanym w odpowiedź przeciwwirusową, a szlak sygnałowy z jego udziałem może odbywać się wyłącznie na drodze MyD88-zależnej. Natomiast zewnątrzkomórkowy TLR4 odpowiada głównie na bakteryjny lipopolisacharyd, ale transdukcja sygnału może przebiegać zarówno przy udziale MyD88, jak i na drodze niezależnej od tego białka. Ścieżki sygnałowe receptorów TLR3 i TLR4 przebiegające na drodze MyD88-niezależnej angażują białko adaptorowe TRIF, oddziałujące z receptorami Toll-podobnymi za pośrednictwem domen TIR. MyD88-niezależna transdukcja sygnału w szlaku receptora TLR4 wymaga dodatkowo obecności białka TRAM, które stanowi łącznik pomiędzy receptorem a białkiem adaptorowym TRIF [45,65]. TLR3, po związaniu ligandu,

oddziałuje z białkiem adaptorowym TRIF. Dalsza transdukcja sygnału może przebiegać na dwóch drogach, za pośrednictwem TRAF6 lub przy udziale TRAF3. Oddziaływanie na drodze zależnej od TRAF6 angażuje kinazę RIP1 (*receptor-interacting protein 1*), skutkując aktywacją kompleksu IKK, co odbywa się podobnie jak w szlaku zależnym od białka MyD88 i doprowadza do aktywacji czynnika NF- κ B [3]. Druga droga przekazywania sygnału, przebiegająca przy udziale białka TRAF3, doprowadza do aktywacji kinaz TBK-1 (*TANK-binding kinase 1*) oraz IKK ϵ /IKKi, które odpowiadają za fosforylację czynników IRF3 i IRF7. Szlak receptora TLR4 przebiega także na drodze TRIF-zależnej, ale w odróżnieniu od TLR3, wymaga udziału dodatkowego białka adaptorowego-TRAM [28].

Transdukcja sygnału przebiegająca z udziałem receptorów RIG-I-podobnych

Rozpoznanie wirusowych kwasów nukleinowych przez RIG-I i MDA-5 skutkuje oddziaływaniem zlokalizowanych w cytoplazmie receptorów z mitochondrialnym białkiem adaptorowym IPS-1/MAVS/VISA/Cardiff na drodze interakcji domen CARDs, co ostatecznie prowadzi do aktywacji NF- κ B oraz IRFs [50]. Czynniki transkrypcyjne mogą być aktywowane jednocześnie bądź indywidualnie, skutkując

odpowiednio produkcją cytokin o działaniu przeciwwirusowym lub interferonów typu I [66]. W szlaku sygnałowym, prowadzącym do aktywacji IRF3 i IRF7, białko adaptorowe IPS-1 oddziałuje z białkiem TRADD. Następnie TRADD tworzy kompleks z białkiem FADD (*Fas-associated death domain-containing protein*), RIP1 (*receptor-interacting protein 1*) oraz ligazą ubikwityny, TRAF3, odpowiedzialną za poliubikwitynację C-końcowej domeny TRAF. TRAF3 rekrutuje białka TANK, NAP1 i SINTBAD oraz aktywuje kinazy TBK1 i IKKi, doprowadzając ostatecznie do fosforylacji czynników IRF3 i IRF7. Fosforylacja czynników regulujących interferony indukuje tworzenie homo- lub/i heterodimerów, które ulegają translokacji do jądra komórkowego, gdzie wiążą się z elementami ISREs (*IFN-sensitive response elements*), co skutkuje ekspresją interferonów typu I oraz zestawu genów indukowanych przez interferon [35]. Aktywacja czynnika transkrypcyjnego NF- κ B odbywa się przy udziale białka TRADD (*TNFR-associated death domain protein*), które rekrutowane jest do białka adaptorowego IPS-1. Białka te tworzą kompleks z FADD (*Fas-associated death domain-containing protein*) i RIP-1 (*receptor-interacting protein 1*). Następnie FADD oddziałuje z kaspazą-8 i kaspazą-10, których aktywność katalityczna jest niezbędna dla translokacji czynnika NF- κ B do jądra komórkowego [67].



Ryc. 2. Wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe receptorów Toll-podobnych oraz receptorów RIG-I-podobnych.

A. MyD88-zależne ścieżki sygnałowe. Na tej drodze przekazywany jest sygnał pochodzący ze wszystkich receptorów Toll-podobnych, z wyjątkiem TLR3. Aktywacji ulegają czynniki transkrypcyjne AP-1 i NF- κ B.

B. Część wspólna szlaków MyD88-zależnych i MyD88-niezależnych. Zdolność do transdukcji sygnału na obu tych drogach wykazuje receptor TLR4.

C. MyD88-niezależne szlaki sygnałowe receptorów Toll-podobnych oraz szlaki transdukcji sygnału przebiegające z udziałem receptorów RIG-I-podobnych. Aktywacji ulegają czynniki transkrypcyjne IRF3, IRF7 i NF- κ B.

Odpowiedź przeciwwirusowa w plazmacytoidalnych komórkach dendrytycznych

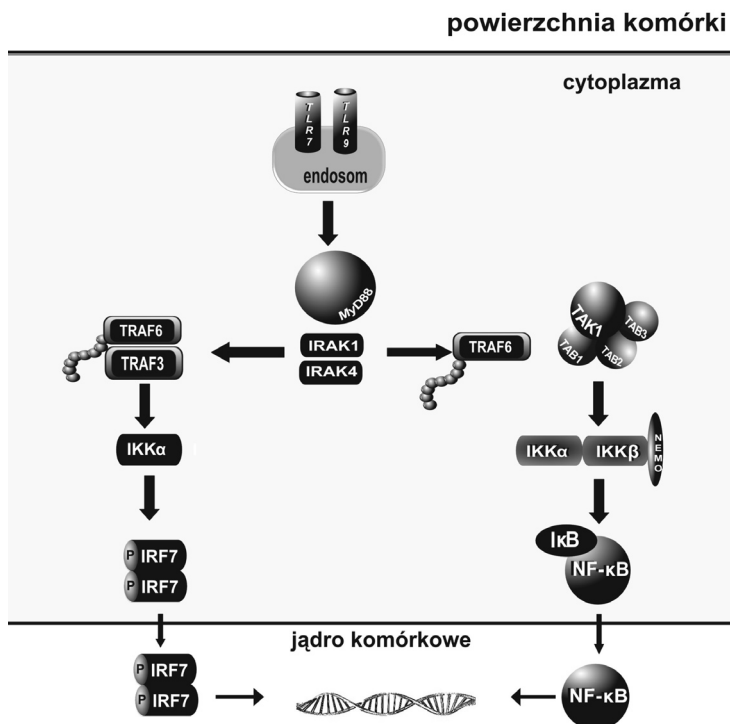
Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (*pDCs-plasmacytoid dendritic cells*), znane jako komórki zdolne do produkcji dużych ilości interferonów typu I w odpowiedzi na infekcję wirusową, wykazują ekspresję receptorów TLR7 i TLR9. Szlaki transdukcji sygnału prowadzące do produkcji interferonów przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne są odmienne od ścieżek, na drodze których przekazywany jest sygnał generowany rozpoznaniem odpowiednich ligandów przez makrofagi, konwencjonalne komórki dendrytyczne i limfocyty B [15,62]. Wykazano, iż do indukcji produkcji interferonów przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne nie jest konieczna replikacja wirusów otoczkowych, takich jak wirusy grypy czy herpeswirusy. Przypuszcza się, że wirusy te podlegają endocytozie, a ich degradacja wewnątrz przedziałów endosomalnych umożliwia uwolnienie kwasów nukleinowych, które są rozpoznawane przez wewnątrzkomórkowe receptory Toll-podobne, TLR7 i TLR9 [47]. Produkcja interferonów typu I w plazmacytoidalnych komórkach dendrytycznych odbywa się na drodze zależnej od białka MyD88, które w trakcie transdukcji sygnału wiąże się z TRAF3, TRAF6, IRAK1 oraz IKK α . IRF7 jest fosforylowany przez IRAK-1 i IKK α , co umożliwia jego translokację do jądra komórkowego, gdzie kontroluje ekspresję interferonów typu I, w szczególności IFN- α [46,47]. W szlakach sygnałowych receptora TLR9 uczestniczy dodatkowo cytoplazmatyczny prekursor ostopontyny (OPNi), który oddziałuje z MyD88 [4]. Ponadto sugeruje się, że w ścieżkach sygnałowych TLR9 rolę pełni także czynnik IRF8, który wpływa na zdolność wiązania NF- κ B do DNA i aktywuje kompleks

IKK [4,62]. Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne, oprócz zdolności do produkcji dużych ilości interferonów, aktywują także szlaki sygnałowe, prowadzące do produkcji cytokin prozapalnych. Ścieżki aktywacji czynnika NF- κ B przebiegają na drodze zależnej od białka MyD88 i angażują kinazy IRAK oraz białko TRAF6, a dalsza transdukcja sygnału odbywa się w sposób analogiczny, jak w przypadku MyD88-zależnych szlaków receptorów Toll-podobnych. Ponadto w plazmacytoidalnych komórkach dendrytycznych uruchamiane są również ścieżki angażujące kinazy MAP, co prowadzi do aktywacji czynnika AP-1 [46].

Odpowiedź przeciwwirusowa w komórkach nabłonka dróg oddechowych

Komórki nabłonka dróg oddechowych odgrywają istotną rolę w odpowiedzi przeciwko wirusom oddechowym. Aktywacja mechanizmów odporności nieswoistej umożliwia ograniczenie rozprzestrzeniania wirusów. Receptorami, które odgrywają szczególną rolę w eliminacji zakażeń wirusowych są receptory Toll-podobne oraz RIG-I-podobne.

Ludzki wirus paragrypy typu 3 (*Human Parainfluenza Virus Type 3*, HPIV3) jest przedstawicielem paramyksowirusów, wykazującym tropizm do komórek nabłonka płuc. Genom HPIV3 stanowi jednoniciowy RNA o ujemnej polarności [68]. Doświadczenia z użyciem linii komórkowej A549 dowodzą, że infekcja HPIV3 indukuje szlaki sygnałowe receptorów RIG-I, prowadzące do aktywacji czynników NF- κ B i IRF3 [71]. Co ciekawe, badania przeprowadzone przez Bose i wsp. wykazały, że HPIV3 wywołuje znacznie słabszy efekt cytopatyczny w komórkach A549 w porównaniu z efektem powodowanym przez syncytialny wirus odde-



Ryc. 3. Ścieżki sygnałowe plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych.

Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne wykazują ekspresję TLR7 i TLR9, których szlaki sygnałowe przebiegają na drodze MyD88-zależnej i skutkują aktywacją IRF7 i NF- κ B.

chowy (*Respiratory Syncytial Virus*, RSV), który – podobnie jak HPIV3-należy do rodziny *Paramyxoviridae*. Obserwacja ta skłoniła badaczy do porównania kinetyki indukcji czynnika NF- κ B w przebiegu infekcji powodowanych przez oba te wirusy.

Okazało się, że w przypadku zakażenia HPIV-3 wiązanie NF- κ B z DNA następuje na etapie, poprzedzającym rozpoczęcie cyklu replikacyjnego wirusa. Natomiast w przebiegu infekcji RSV, wiązanie tego czynnika transkrypcyjnego z DNA zaobserwowano w zdecydowanie późniejszej fazie, kiedy proces replikacji wirusów został już rozpoczęty. Różnice w kinetyce indukcji NF- κ B skłoniły autorów do postawienia hipotezy o możliwości istnienia wirusowego mechanizmu pozwalającego na regulację aktywacji tego czynnika transkrypcyjnego.

Hipotezę tę potwierdziła obserwacja, iż miano HPIV3 wzrosło 30-krotnie w komórkach, w których czynnik NF- κ B inaktywowano za pomocą ditiokarbaminianu pirolidyny. Efektu takiego nie odnotowano w przebiegu zakażenia RSV [69]. Syncytialny wirus oddechowy odpowiedzialny jest za zapalenia oskrzeli oraz zapalenia płuc u hospitalizowanych niemowląt, osób starszych oraz dorosłych z grupy wysokiego ryzyka [70]. Infekcja powodowana przez RSV indukuje mechanizmy odpowiedzi nieswoistej, przebiegające w szlakach sygnałowych angażujących receptor TLR3, rozpoznający komponenty wirusowe powstające w procesie replikacji [71]. Kurt-Jones i wsp. wykazali, że powierzchniowe białko F syncytialnego wirusa oddechowego stymuluje produkcję cytokin, indukowaną rozpoznaniem tego komponentu przez TLR4 [72], a występowanie określonych wariantów polimorficznych tego receptora może wpływać na obniżenie zdolności do aktywacji czynnika NF- κ B w zainfekowanych RSV komórkach, i tym samym zwiększać podatność niektórych osób na zakażenie [73]. Skuteczna odpowiedź przeciwko RSV wymaga zaangażowania zarówno zewnątrzkomórkowych, jaki i wewnątrzkomórkowych receptorów

Toll-podobnych. Okazuje się jednak, że rolę w aktywacji wewnątrzkomórkowych mechanizmów mających na celu eliminację wirusa, odgrywają również receptory RIG-I, co potwierdzają badania na linii komórkowej A549 (ludzkie komórki nabłonkowe płuc). Wyciszenie genów kodujących receptory RIG-I poprzez zastosowanie siRNA w komórkach linii A549 zainfekowanych RSV skutkowało znacznym obniżeniem zdolności do aktywacji czynników NF- κ B oraz IRF3.

Ponadto odnotowano spadek poziomu ekspresji IFN- β , IP-10 (*interferon-inducible protein 10*) oraz CCL5 we wczesnej fazie infekcji. Natomiast wyciszenie ekspresji genu TLR3 miało niewielki wpływ na przebieg odpowiedzi przeciwzakażnej we wczesnej fazie zakażenia, jednak odnotowano zahamowanie produkcji IFN- β , IP-10 oraz CCL5 w późnej fazie infekcji [74]. Co ciekawe, zakażenie syncytialnym wirusem oddechowym komórek linii A549 wywołuje wzrost ekspresji TLR3, prowadząc do wzmożonej produkcji IL-8 w trakcie późniejszej ekspozycji na dsRNA. Ponadto po zakażeniu komórek wirusem RS zaobserwowano ekspresję TLR3 na powierzchni komórek, które przed infekcją wykazywały jedynie wewnątrzkomórkową ekspresję tego receptora [26]. Jednakże, mimo wielokierunkowego działania układu odpornościowego, wirusy wykształciły mechanizmy dezorganizujące wewnątrzkomórkowe szlaki transdukcji sygnału generowanego rozpoznaniem patogenu. Charakterystyczna dla RSV, jedna ze strategii unikania odpowiedzi przeciw-wirusowej, polega na hamowaniu przez wirusowe białka NS1 i NS2 zdolności do produkcji INF- α i INF- β zarówno w komórkach linii A549, jak i w ludzkich makrofagach [75]. Białka te zaburzają również dojrzewanie komórek dendrytycznych, co upośledza zdolność do prezentacji antygenów i hamuje aktywację limfocytów T [76]. Doświadczenia na modelach mysich wykazały natomiast, że w odpowiedzi na zakażenie RSV istotną rolę odgrywa produkcja IFN- α przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne [74]. Jednak pod wpływem wielu wirusów komórki dendrytyczne nie ulegają

Tabela 1. Receptory biorące udział w odpowiedzi przeciw-wirusowej

Receptor	Rozpoznawane ligandy		Wirus
	syntetyczne	wirusowe PAMP	
TLR2	Pam ₃ CSK ₄ (triacylowana lipoproteina)	białko B i białko H	HCMV [81] RSV [14]
TLR3	poly I:C	dsRNA	RV [84] Influenza A [25] RSV [14]
TLR4	MPLA (monofosforylowany lipid A)	białko F białko osłonki	RSV [77] MMTV [14]
TLR7	syntetyczne ssRNA, np. imikwimod	ssRNA	Influenza A [82,83]
TLR9	CpG DNA	niemetylowane sekwencje DNA	MCMV [84]
RIG-I	syntetyczne dsRNA	3pRNA	RSV Influenza A [79] HPIV3 [71]
MDA5	syntetyczne dsRNA	cytoplazmatyczne dsRNA	EMCV [39,42] RV [84]

aktywacji. Przykładami takich wirusów są m.in.: cytomegalowirus (CMV), wirus odry (MeV) i wirus grypy. Zaburzenie aktywacji komórek dendrytycznych może wynikać z hamowania szlaków sygnałowych w przebiegu infekcji wirusowej [77].

Istotną rolę w patogenezie chorób dróg oddechowych oraz w zaostrzeniach astmy oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc odgrywa, należący do rodziny *Picornaviridae*, rinowirus (*rhinovirus*, RV), którego genom stanowi jednoniciowy RNA o dodatniej polarności [78]. Rozpoznanie produktów replikacji rinowirusa w ludzkich komórkach nabłonka dróg oddechowych odbywa się na drodze aktywacji MDA5 i TLR3. Pozbawienie ekspresji MDA5 komórek BEAS-2B zakażonych RV powoduje spadek ekspresji interferonów typu I oraz typu III, co wskazuje na istotną rolę tego receptora w rozpoznawaniu infekcji rinowirusowej. Podobne wyniki uzyskano po zablokowaniu funkcji białka adaptorowego TRIF, niezbędnego w szlakach sygnałowych receptora TLR3. Natomiast wyłączenie ekspresji genu RIG-I nie wpływa na dimeryzację IRF3 i produkcję interferonów w zakażonych komórkach [79]. Rinowirusy, podobnie jak RSV, wykazują zdolność do hamowania szlaków transdukcji sygnału, co umożliwia wirusom replikację w komórkach gospodarza. Prawdopodobną strategią unikania odpowiedzi immunologicznej przez RV14 w komórkach linii A549 jest ingerencja w proces dimeryzacji IRF3, uniemożliwiająca produkcję dużych ilości interferonów. Jednakże, zakażenie komórek BEAS-2B oraz pierwotnych

komórek nabłonkowych oskrzeli innym serotypem wirusa, RV1B, nie upośledza zdolności do produkcji interferonów [83]. Dotychczas, dokładne mechanizmy pozwalające wirusom uniknąć odpowiedzi immunologicznej nie zostały dobrze scharakteryzowane. Wiadomo jednak, że komórki nabłonka oskrzeli wyizolowane od pacjentów z astmą oskrzelową wykazują niekompletną odpowiedź immunologiczną na zakażenie RV16, co umożliwia replikację wirusów i powoduje lizę zainfekowanych komórek. Podobne wyniki uzyskano w przypadku zakażenia serotypem RV-1B [80].

Podsumowanie

Wirusy zakażające komórki nabłonkowe dróg oddechowych wywołują zróżnicowaną odpowiedź obronną organizmu i w różnoraki sposób próbują uniknąć mechanizmów odpornościowych, mających na celu eliminację czynników infekcyjnych. Naturalna odpowiedź immunologiczna odgrywa istotną rolę w odporności przeciwwirusowej. W naszym artykule opisano poznane dotychczas mechanizmy odpowiedzi przeciwwirusowej związane z tą częścią układu immunologicznego.

Dokładne poznanie i zrozumienie strategii unikania odpowiedzi przeciwwirusowej może służyć jako narzędzie do opracowania nowych metod leczenia chorób dróg oddechowych, w których patogenezie znaczącą rolę odgrywają wirusy.

Piśmiennictwo

1. Yamamoto M, Takeda K. Current views of Toll-like receptor signaling pathways. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 141-8.
2. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124(4): 783-801.
3. Thompson MR, Kaminski JJ, Kurt-Jones EA i wsp. Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection. *Viruses* 2011; 3(6): 920-40.
4. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Semin Immunol* 2007; 19(1): 24-32.
5. Jeong E, Lee JY. Intrinsic and extrinsic regulation of innate immune receptors. *Yonsei Med J* 2011; 52(3): 379-92.
6. Hansson GK, Edfeldt K. Toll to be paid at the gateway to the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(6): 1085-7.
7. Roth S. The origin of dorsoventral polarity in *Drosophila*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2003; 358(1436): 1317-29.
8. Barton GM, Kagan JC. A cell biological view of Toll-like receptor function: regulation through compartmentalization. *Nat Rev Immunol* 2009; 9(8): 535-42.
9. Miyaji EN, Carvalho E, Oliveira ML i wsp. Trends in adjuvant development for vaccines: DAMPs and PAMPs as potential new adjuvants. *Braz J Med Biol Res* 2011; 44(6): 500-13.
10. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 2007; 449(7164): 819-26.
11. Vercammen E, Staal J, Beyaert R. Sensing of viral infection and activation of innate immunity by Toll-like receptor 3. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(1): 13-25.
12. Matsumoto M, Funami K, Tanabe M i wsp. Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J Immunol* 2003; 171(6): 3154-62.
13. Funami K, Matsumoto M, Oshiumi H i wsp. The cytoplasmic 'linker region' in Toll-like receptor 3 controls receptor localization and signaling. *Int Immunol* 2004; 16(8): 1143-54.
14. Jin MS, Lee JO. Structures of the Toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity* 2008; 29(2): 182-91.
15. Moresco EM, LaVine D, Beutler B. Toll-like receptors. *Curr Biol* 2011; 21(13): 488-93.
16. Carpenter S, O'Neill LA. Recent insights into the structure of Toll-like receptors and post-translational modifications of their associated signalling proteins. *Biochem J* 2009; 422(1): 1-10.
17. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY i wsp. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science* 1998; 282(5396): 2085-8.
18. Murawski MR, Bowen GN, Cerny AM i wsp. Respiratory syncytial virus activates innate immunity through Toll-like Receptor 2. *J Virol* 2009; 83(3): 1492-500.
19. Stowell NC, Seideman J, Raymond HA i wsp. Long-term activation of TLR3 by poly(I:C) induces inflammation and impairs lung function in mice. *Respir Res* 2009; 10: 1-14.
20. Guillot L, Le Goffic R, Bloch S i wsp. Involvement of Toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus. *J Biol Chem* 2005; 280(7): 5571-80.
21. Groskreutz DJ, Monick MM, Powers LS i wsp. Respiratory syncytial virus induces TLR3 protein and protein kinase R, leading to increased double-stranded RNA responsiveness in airway epithelial cells. *J Immunol* 2006; 176(3): 1733-40.
22. Xagorari A, Chlichlia K. Toll-like receptors and viruses: induction of innate antiviral immune responses. *Open Microbiol J* 2008; 2: 49-59.
23. Barton GM, Kagan JC, Medzhitov R. Intracellular localization of Toll-like Receptor 9 prevents recognition of self DNA but facilitates access to viral DNA. *Nat Immunol* 2006; 7(1): 49-56.
24. Demaria O, Pagni PP, Traub S i wsp. TLR8 deficiency leads to autoimmunity in mice. *J Clin Invest* 2010; 120(10): 3651-62.

25. Parilla NW, Hughes VS, Lierl KM i wsp. CpG DNA modulates interleukin-1 beta-induced interleukin-8 expression in human bronchial epithelial (16HBE14o-) cells. *Respir Res* 2006; 7: 84.
26. Hartmann G, Battiany J, Poeck H i wsp. Rational design of new CpG oligonucleotides that combine B cell activation with high IFN-alpha induction in plasmacytoid dendritic cells. *Eur J Immunol* 2003; 33(6): 1633-41.
27. Manuse MJ, Briggs CM, Parks GD. Replication-independent activation of human plasmacytoid dendritic cells by the paramyxovirus SV5 requires TLR7 and autophagy pathways. *Virology* 2010; 405(2): 383-9.
28. Blasius AL, Beutler B. Intracellular toll-like receptors. *Immunity* 2010; 32(3): 305-15.
29. Andersen-Nissen E, Smith KD, Bonneau R i wsp. A conserved surface on Toll-like receptor 5 recognizes bacterial flagellin. *J Exp Med* 2007; 204(2): 393-403.
30. Gómez-Gómez L, Boller T. Flagellin perception: a paradigm for innate immunity. *Trends Plant Sci* 2002; 7(6): 251-6.
31. So EY, Ouchi T. The application of Toll like receptors for cancer therapy. *Int J Biol Sci* 2010; 6(7): 675-81.
32. Lu C, Ranjith-Kumar CT, Hao L i wsp. Crystal structure of RIG-I C-terminal domain bound to blunt-ended double-strand RNA without 5' triphosphate. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(4): 1565-75.
33. Yoneyama M, Fujita T. Function of RIG-I-like receptors in antiviral innate immunity. *J Biol Chem* 2007; 282(21): 15315-8.
34. Kato H, Takeuchi O, Mikamo-Satoh E i wsp. Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J Exp Med* 2008; 205(7): 1601-10.
35. Takeuchi O, Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol Rev* 2009; 227(1): 75-86.
36. Schlee M, Hartmann E, Coch C i wsp. Approaching the RNA ligand for RIG-I? *Immunol Rev* 2009; 227(1): 66-74.
37. Pippig DA, Hellmuth JC, Cui S i wsp. The regulatory domain of the RIG-I family ATPase LGP2 senses double-stranded RNA. *Nucleic Acids Res* 2009; 37(6): 2014-25.
38. Hornung V, Ellegast J, Kim S i wsp. 5'-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science* 2006; 314(5801): 994-7.
39. Kenny EF, Talbot S, Gong M i wsp. MyD88 adaptor-like is not essential for TLR2 signaling and inhibits signaling by TLR3. *J Immunol* 2009; 183(6): 3642-51.
40. Li C, Zienkiewicz J, Hawiger J. Interactive sites in the MyD88 Toll/interleukin (IL) 1 receptor domain responsible for coupling to the IL1beta signaling pathway. *J Biol Chem* 2005; 280(28): 26152-9.
41. Verstak B, Nagpal K, Bottomley SP i wsp. MyD88 adapter-like (Mal)/TIRAP interaction with TRAF6 is critical for TLR2- and TLR4-mediated NF-kappaB proinflammatory responses. *J Biol Chem* 2009; 284(36): 24192-203.
42. Valkov E, Stamp A, Dimaio F i wsp. Crystal structure of Toll-like receptor adaptor MAL/TIRAP reveals the molecular basis for signal transduction and disease protection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(36): 14879-84.
43. Sheedy FJ, O'Neill LA. The Troll in Toll: Mal and Tram as bridges for TLR2 and TLR4 signaling. *J Leukoc Biol* 2007; 82(2): 196-203.
44. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H i wsp. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science* 2003; 301(5633): 640-3.
45. Rowe DC, McGettrick AF, Latz E i wsp. The myristoylation of TRIF-related adaptor molecule is essential for Toll-like receptor 4 signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(16): 6299-304.
46. Thompson AJ, Locarnini SA. Toll-like receptors, RIG-I-like RNA helicases and the antiviral innate immune response. *Immunol Cell Biol* 2007; 85(6): 435-45.
47. Kawai T, Akira S. Toll-like receptor and RIG-I-like receptor signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1143: 1-20.
48. Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T i wsp. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001; 22(2): 153-83.
49. Grewal S, Molina DM, Bardwell L. Mitogen-activated protein kinase (MAPK)-docking sites in MAPK kinases function as tethers that are crucial for MAPK regulation in vivo. *Cell Signal* 2006; 18(1): 123-34.
50. Cowan KJ, Storey KB. Mitogen-activated protein kinases: new signaling pathways functioning in cellular responses to environmental stress. *J Exp Biol* 2003; 206: 1107-15.
51. Li S, Strelow A, Fontana EJ i wsp. IRAK-4: a novel member of the IRAK family with the properties of an IRAK-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(8): 5567-72.
52. Kuglstatter A, Villaseñor AG, Shaw D i wsp. Cutting Edge: IL-1 receptor-associated kinase 4 structures reveal novel features and multiple conformations. *J Immunol* 2007; 178(5): 2641-5.
53. Zhu J, Mohan C. Toll-like receptor signaling pathways-therapeutic opportunities. *Mediators Inflamm* 2010; 781235: 1-7.
54. Krappmann D, Hatada EN, Tegethoff S i wsp. The I kappa B kinase (IKK) complex is tripartite and contains IKK gamma but not IKAP as a regular component. *J Biol Chem* 2000; 275(38): 29779-87.
55. Yamamoto Y, Yin MJ, Gaynor RB. IkappaB kinase alpha (IKKalpha) regulation of IKKbeta kinase activity. *Mol Cell Biol* 2000; 20(10): 3655-66.
56. Silverman N, Maniatis T. NF-kappaB signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev* 2001; 15(18): 2321-42.
57. Yamamoto Y, Gaynor RB. IkappaB kinases: key regulators of the NF-kappaB pathway. *Trends Biochem Sci* 2004; 29(2): 72-9.
58. Fujioka S, Niu J, Schmidt C i wsp. NF-kappaB and AP-1 connection: mechanism of NF-kappaB-dependent regulation of AP-1 activity. *Mol Cell Biol* 2004; 24(17): 7806-19.
59. Zenz R, Eferl R, Scheinecker C i wsp. Activator protein 1 (Fos/Jun) functions in inflammatory bone and skin disease. *Arthritis Res Ther* 2008; 10(1): 201-10.
60. Karamouzis MV, Konstantinopoulos PA, Papavassiliou AG. The activator protein-1 transcription factor in respiratory epithelium carcinogenesis. *Mol Cancer Res* 2007; 5(2): 109-20.
61. Honda K, Takaoka A, Taniguchi T. Type I interferon gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. *Immunity* 2006; 25(3): 349-60.
62. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ* 2006; 13(5): 816-25.
63. Siednienko J, Gajanayake T, Fitzgerald KA i wsp. Absence of MyD88 results in enhanced TLR3-dependent phosphorylation of IRF3 and increased IFN-beta and RANTES production. *J Immunol* 2011; 186(4): 2514-22.
64. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140(6): 805-20.
65. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H i wsp. TRAM is specifically involved in the Toll-like receptor 4-mediated MyD88-independent signaling pathway. *Nat Immunol* 2003; 4(11): 1144-50.
66. Sabbah A, Bose S. Retinoic acid inducible gene I activates innate antiviral response against human parainfluenza virus type 3. *Virology* 2009; 6: 200-7.

67. Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol* 2009; 21(4): 317-37.
68. Zhang L, Bukreyev A, Thompson CI i wsp. Infection of ciliated cells by human parainfluenza virus type 3 in an in vitro model of human airway epithelium. *J Virol* 2005; 79(2): 1113-24.
69. Bose S, Kar N, Maitra R i wsp. Temporal activation of NF-kappaB regulates an interferon-independent innate antiviral response against cytoplasmic RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(19): 10890-5.
70. Smit JJ, Rudd BD, Lukacs NW. Plasmacytoid dendritic cells inhibit pulmonary immunopathology and promote clearance of respiratory syncytial virus. *J Exp Med* 2006; 203(5): 1153-9.
71. Szczawińska-Popłonyk A. Odpowiedź immunologiczna na zakażenie wirusem RS. *Alerg Astma Immun* 2008; 13(4): 208-16.
72. Haynes LM, Moore DD, Kurt-Jones EA i wsp. Involvement of toll-like receptor 4 in innate immunity to respiratory syncytial virus. *J Virol* 2001; 75(22): 10730-7.
73. Tulic MK, Hurrelbrink RJ, Prêle CM i wsp. TLR4 polymorphisms mediate impaired responses to respiratory syncytial virus and lipopolysaccharide. *J Immunol* 2007; 179(1): 132-40.
74. Liu P, Jamaluddin M, Li K i wsp. Retinoic acid-inducible gene I mediates early antiviral response and Toll-like receptor 3 expression in respiratory syncytial virus-infected airway epithelial cells. *J Virol* 2007; 81(3): 1401-11.
75. Spann KM, Tran KC, Collins PL. Effects of nonstructural proteins NS1 and NS2 of human respiratory syncytial virus on interferon regulatory factor 3, NF-kappaB, and proinflammatory cytokines. *J Virol* 2005; 79(9): 5353-62.
76. Munir S, Le Nouen C, Luongo C i wsp. Nonstructural proteins 1 and 2 of respiratory syncytial virus suppress maturation of human dendritic cells. *J Virol* 2008; 82(17): 8780-96.
77. Arimilli S, Johnson JB, Clark KM i wsp. Engineered expression of the TLR5 ligand flagellin enhances paramyxovirus activation of human dendritic cell function. *J Virol* 2008; 82(22): 10975-85.
78. Newcomb DC, Sajjan US, Nagarkar DR i wsp. Human rhinovirus 1B exposure induces phosphatidylinositol 3-kinase-dependent airway inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177(10): 1111-21.
79. Wang Q, Nagarkar DR, Bowman ER i wsp. Role of double-stranded RNA pattern recognition receptors in rhinovirus-induced airway epithelial cell responses. *J Immunol* 2009; 183(11): 6989-97.
80. Wark PA, Johnston SL, Bucchieri F i wsp. Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus. *J Exp Med* 2005; 201(6): 937-47.
81. Compton T, Kurt-Jones EA, Boehme KW i wsp. Human cytomegalovirus activates inflammatory cytokine responses via CD14 and Toll-like receptor 2. *J Virol* 2003; 77(8): 4588-96.
82. Heil F, Hemmi H, Hochrein H i wsp. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science* 2004; 303(5663): 1526-9.
83. Lund JM, Alexopoulou L, Sato A i wsp. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(15): 5598-603.
84. Schlender J, Hornung V, Finke S i wsp. Inhibition of toll-like receptor 7- and 9-mediated alpha/beta interferon production in human plasmacytoid dendritic cells by respiratory syncytial virus and measles virus. *J Virol* 2005; 79(9): 5507-15.