

## Молекулярные основы дизрегуляции программированной гибели лимфоцитов при хронической вирусной инфекции

Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Жукова О.Б.

## Molecular basis of dysregulation of programmed lymphocytes' death in chronic viral infection

Novitsky V.V., Ryazantseva N.V., Zhoukova O.B.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Жукова О.Б.

В статье анализируются данные современной литературы и результаты собственных исследований о роли дисбаланса программированной клеточной гибели в формировании хронической вирусной инфекции. Обсуждаются молекулярные механизмы модулирования реализации апоптоза иммунокомпетентных клеток персистирующими вирусами.

**Ключевые слова:** лимфоцит, апоптоз, хронические вирусные инфекции, противовирусный иммунитет.

The review analyses information from recent literature and results of the authors' own investigations concerning imbalance of programmed cell death in forming chronic viral infection. Molecular mechanisms of apoptosis modulation of immune cells by persistent viruses are discussed in the article.

**Key words:** lymphocyte, apoptosis, chronic viral infection, antiviral immunity.

УДК 616.155.32-092.18:616.988-002.2

Традиционным направлением томской кафедральной научной школы патофизиологов является изучение фундаментальных механизмов нарушения функции клеток крови при патологии. Исследования прошлых лет, проведенные в рамках научной тематики профессора Д.И. Гольдберга, доказали, что одной из наиболее чувствительных гомеостатических систем к действию различных неблагоприятных факторов является система крови. Клетки белой крови, будучи иммунокомпетентными, выполняют функцию обеспечения естественной резистентности и специфического противои инфекционного иммунитета. Результаты современных клинико-экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что течение инфекционного процесса сопровождается многоуровневой дезорганизацией кроветворной и иммунной систем (от родоначальных до зрелых клеток), патогенетической основой которой служат стимулированная возбудителем дизрегуляция процессов гемо- и иммунопоэза и структурно-функциональный дисбаланс иммунокомпетентных клеток крови. Одним из фундаментальных

механизмов поддержания гомеостаза и регулирования деятельности кроветворных клеток является программированная клеточная гибель (апоптоз). В любой клетке организма заложена генетически обусловленная программа, позволяющая при возникновении патологической ситуации включить самоликвидацию [96].

В последнее время стало ясно, что с позиции апоптоза можно объяснить развитие многих заболеваний человека, поскольку дисбаланс между пролиферацией клеток и программированной клеточной смертью ведет к патологическим изменениям органов и тканей [39]. Показано, что одним из патогенетических аспектов опухолевой трансформации [41], а также аутоиммунных [60, 110] и атопических заболеваний [6] является ингибирование апоптоза. Напротив, неадекватное усиление его наблюдается при нейродегенеративных, диспластических процессах и ишемических повреждениях различных органов [109].

Нарушение реализации апоптоза является также основой формирования хронических инфекционных

процессов, в том числе и вирусной природы [7, 8, 54]. Однако эта проблема лишь недавно привлекла к себе должное внимание. Внедрение вируса в клетку макроорганизма — это, прежде всего, «сигнал тревоги», активизирующий врожденные механизмы, направленные на элиминацию инфектогена, среди которых ключевую роль играет гибель инфицированных клеток. Участие апоптоза в удалении вирусосодержащих клеток имеет важное биологическое значение, поскольку фрагментация ДНК предупреждает перенос генетического материала в другие интактные клетки. Показано, что при вирусных инфекциях сосуществуют факторы, индуцирующие и ингибирующие программированную клеточную смерть [9, 19, 25, 27, 40, 49, 50, 54]. В интересах вируса — подавить апоптоз и сохранить жизнеспособность клетки. Таким образом, исход инфекционного процесса связывают с результатом противостояния антиапоптотической способности вирусов и активации физиологической гибели инфицированной клетки как части защитного механизма организма.

Понять, какую роль несет в себе индукция или угнетение программированной клеточной гибели в условиях персистентной вирусной инфекции, возможно, опираясь на знание молекулярных механизмов регуляции апоптоза иммунокомпетентных клеток, что и стало предметом настоящего сообщения.

### **Апоптоз в системе противовирусного иммунитета**

Интерес к состоянию иммунокомпетентных клеток при вирусной инфекции обусловлен не только тем, что они принимают непосредственное участие в реализации инфекционного процесса, но и тем обстоятельством, что эти клетки сами являются мишенью для действия персистирующих вирусов. Убедительные данные, подтвердившие факты изменения субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, нарушения их структурно-функционального и цитогенетического статусов при хронических инфекционных процессах, вызванных вирусами простого герпеса, клещевого энцефалита, гепатитов В и С, были ранее получены в лаборатории молекулярной медицины Сибирского государственного медицинского университета [9, 18—22, 24—29].

Известно, что апоптотическая гибель клеток является фундаментальным процессом регулирования иммунных реакций. Селекция в ходе развития иммунокомпе-

тентных клеток, иммунологическая толерантность и собственно иммунный ответ — процессы, неотъемлемой частью которых является программированная клеточная гибель [3, 39].

Вирусная интервенция индуцирует активацию элиминирующих защитных реакций организма, биологическим смыслом которых является удаление вируса и зараженных им клеток как генетически чужеродного объекта. Иммунный ответ против внутриклеточных вирусов связан с активацией цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD8 > CD4$ ), распознающих инфицированные клетки по представленным вирусным пептидам и убивающих их, индуцируя цитолиз или апоптоз [12, 15, 34]. Цитокины, секретированные Т-лимфоцитами (интерлейкин-2, -4, -5), подключают к этой реакции и другие клетки-эффекторы (макрофаги, естественные киллеры), которые усиливают антивирусную активность цитотоксических Т-лимфоцитов [34].

Реализация цитотоксичности  $CD8^+$ -лимфоцитов связана с индукцией рецептор-опосредованного апоптоза клетки-мишени. Среди огромного множества клеточных рецепторов в особую группу выделяют так называемые рецепторы смерти (death receptors). Они представляют собой трансмембранные гликопротеиды, которые, взаимодействуя со специфическими лигандами, передают апоптотический сигнал в клетку и вызывают активацию каспаз. Большинство смертельных рецепторов относятся к надсемейству рецепторов фактора некроза опухолей (TNFR) и характеризуются сходными экстрацеллюлярными доменами, богатыми цистеином [97]. Рецепторы смерти также имеют в своей структуре гомологичные цитоплазматические участки, называемые death domain, которые принимают непосредственное участие в запуске апоптоза [105].

Наиболее изученными из смертельных рецепторов являются Fas (CD95, или Apo1) и TNFR1 (CD120a, или p55) [3, 75]. Человеческий Fas-рецептор состоит из 335 аминокислотных остатков с сигнальной последовательностью на N-конце и трансмембранным участком в середине молекулы, что позволяет отнести его к мембранным белкам I типа [58]. Молекулярная масса Fas-рецептора составляет 48 кДа. Первые 16 аминокислотных остатков образуют гидрофобную последовательность. Второй гидрофобный участок молекулы находится в позиции 172—190 и с обеих сторон окружен положительно заряженными аминокислотными

остатками, что характерно для трансмембранного участка. N-конец, состоящий из 155 аминокислот, содержит цистеиновых остатков и два потенциальных N-связанных гликозилирующих участка. C-конец состоит из 145 аминокислот и, возможно, является внутриклеточным доменом белка [3, 80]. Ген, кодирующий Fas, локализован в длинном плече хромосомы 10 и содержит 9 экзонов [43].

Fas способен запускать в клетке апоптоз при взаимодействии с Fas-лигандом (FasL) [3]. FasL впервые был выделен из мембранной фракции клеток цитотоксической Т-клеточной гибридомы, способной вызывать гибель Fas-экспрессирующих клеток [99]. Показано, что FasL имеет молекулярную массу около 40 кДа и представляет собой трансмембранный белок II типа. Его N-концевая последовательность находится в цитоплазме, а C-конец экспонирован в экстраклеточное пространство [1, 3]. По аминокислотной последовательности FasL гомологичен TNF-цитокину, давшему название семейству подобных белков. Как и другие члены семейства TNF, FasL проявляет свою активность в форме гомотримера.

Представляя собой трансмембранный белок, FasL может существовать и в растворимой форме (sFasL), отщепляющейся от мембранного Fas (mFasL) с помощью металлопротеиназы [103]. Поскольку есть данные о том, что TNF и растворимый лиганд CD40 отщепляются от мембраносвязанного предшественника, а также о наличии специфического ингибитора процессинга этих растворимых форм, имеется предположение, что все члены семейства TNF могут существовать в растворимой форме. Растворимый FasL является более слабым индуктором апоптоза, чем его мембранная форма. Кроме того, он способен ингибировать действие мембранного FasL [102].

Передача сигнала с рецептора в клетку опосредована адаптерными протеинами, специфическими для каждого типа рецептора. Адаптерные протеины имеют в своей структуре домены DED (death effector domain), способные соединяться с аналогичными участками в структуре прокаспазы 8 [47]. Специфическим адаптерным белком для Fas-рецептора является FADD (Fas-associated death domain), необходимость которого для Fas-опосредованного запуска программированной клеточной гибели доказана при оценке апоптоза в Т-лимфоцитах трансгенных мышей, экспрессирующих мутантную форму FADD [78, 122], а

жит

также мышей с генетическим нокаутом гена *FADD* [117, 119].

Существует группа цитоплазматических белков, функционально сходных с FADD и имеющих в своей структуре DED [75]. Один из этих белков — Daxx (death-associated protein 6) — способен узнаваться доменом смерти Fas-рецептора и активировать FADD-независимый путь запуска апоптоза [57, 95, 108].

Независимо друг от друга двумя исследовательскими группами был обнаружен фактор TRAIL (или Apo2L), сходный с FasL [70, 88, 114]. В отличие от FasL, экспрессированного, главным образом, на активированных Т- и NK-клетках и клетках иммунопривлеченных зон [75], Apo2L был обнаружен во многих тканях организма [114]. Однако, как и в случае с FasL, экспрессия Apo2L повышается в Т-лимфоцитах в ответ на антигенную стимуляцию [59, 72, 92, 93]. Зрелые Т-лимфоциты приобретают чувствительность к Apo2L-индуцированному апоптозу после воздействия интерлейкина-2, что говорит о возможной роли Apo2L в контроле иммунных реакций [72]. Кроме того, показано возрастание чувствительности клеток к Apo2L у пациентов с HIV-инфекцией, что позволяет думать о роли Apo2L-зависимого апоптоза в уничтожении HIV-инфицированных клеток [59].

Основными рецепторами, связывающимися с Apo2L, являются DR4 (death receptor-4) и DR5, также обнаруженные во многих тканях организма. Дискуссионным остается вопрос о наличии специфического адаптерного протеина для этих рецепторов. Известно, что с DR4 и DR5 способны связываться многие адаптерные белки, в частности, FADD, TRADD (TNFR-associated death domain), TRAF2 (TNFR-associated factor-2) и RIP (receptor-interacting protein) [56, 91, 113]. Интересен тот факт, что клетки, не синтезирующие FADD либо синтезирующие его мутантную форму, и поэтому устойчивые к FasL-индуцированному апоптозу, являются чувствительными к Apo2L-опосредованному апоптозу, что говорит о FADD-независимой передаче сигнала в клетку [71]. Вместе с тем получены данные о необходимости активации каспаз для реализации Apo2L-зависимого апоптоза [71, 72].

В отношении защиты клеток от Apo2L/Apo2L-апоптоза существует уникальный механизм, опосре-

дованный особыми рецепторами-ловушками DcR1 (decow receptor-1) и DcR2. DcR1 — гликозилфосфатидилинозитол-связанный поверхностный клеточный протеин, гомологичный DR4 и DR5, но не имеющий внутриклеточного домена [73, 74, 85, 91, 94]. DcR2 в отличие от DcR1 имеет функционально неполноценный внутриклеточный домен, в котором отсутствуют четыре из шести ключевые аминокислотные позиции, необходимые для запуска апоптоза и активации NF- $\kappa$ B (nucleus factor-каппа В) в клетке [105]. Рецепторы-ловушки конкурируют с DR4 и DR5 за связывание с Apo2L и тем самым снижают эффект лиганда [74, 85, 94]. Гены рецепторов DR4 и DR5, как и гены рецепторов-ловушек DcR1 и DcR2, картированы в одном локусе 8p21-22, что позволяет предположить их эволюционное родство [71].

Наряду с экспрессией FasL-протеина, цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры при взаимодействии с вирусным антигеном выделяют гранзимы и перфорин. Гранзим В является сериновой протеазой, которая проникает в клетки-мишени через трансмембранные каналы, образуемые в плазматической мембране перфоринами лимфоцитов, и активирует каспазу-8 с последующим включением апоптотического протеолитического каскада [31].

Апоптотическая гибель может быть реализована также в результате экзогенных воздействий через неспецифические для апоптоза рецепторы [37, 42], активация которых может способствовать индукции клеточной гибели. К их числу относятся, в частности, рецепторы для цитокинов [23].

Цитокины считаются наиболее многочисленной группой биологически активных веществ, влияние которых на процесс гибели клетки интенсивно изучается в последние годы [23]. Известно, что фактор некроза опухолей продуцируется активированными макрофагами и Т-лимфоцитами в ответ на антигенную стимуляцию [106]. Его действие на клетку, опосредованное TNFR1, неоднозначно. На одни клетки основным эффектом TNF является активация транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B и JNK (C-JUN NH<sub>2</sub>-terminal kinase), ведущих к индукции провоспалительных и иммуномодулирующих генов. В других клетках активация TNFR1 ведет к запуску программированной клеточной гибели. Следует отметить, что, в отличие от FasL TNF реже самостоятельно индуцирует апоптоз.

Фактор некроза опухолей существует в форме гомо trimера и, соединяясь с TNFR1, индуцирует ассоциацию смертельных доменов рецептора, создавая условия для их взаимодействия с адаптерными протеинами, в роли которых кроме FADD может выступать TRADD [56]. Последний как адаптер способен опосредовать соединение с рецептором таких молекул, как TRAF2 и RIP, что ведет к активации NF- $\kappa$ B и JNK.

TRAF2 и RIP активируют NF- $\kappa$ B-индуцирующую киназу (NIK), которая, в свою очередь, воздействует на особый киназный комплекс, фосфорилирующий ингибитор  $\kappa$ B (I- $\kappa$ B). Деградация I- $\kappa$ B делает возможным проникновение NF- $\kappa$ B в ядро и стимуляцию транскрипции генов, отвечающих за синтез интерлейкина-2, -4,  $\gamma$ -интерферона и других цитокинов [69, 76].

Таким образом, рецепторопосредованный и перфорингранзимовый механизмы могут совместно или независимо друг от друга вызывать апоптоз вирусинфицированных клеток. Предполагается, что это главный способ Т-киллинга при вирусной инфекции [75].

### **Вирусная стратегия модуляции программы апоптотической гибели клетки**

Вмешательство вирусов в танатогенную программу клеток носит разнонаправленный и подчас индивидуальный характер. Так, анализ результатов собственных исследований показал, что у пациентов с длительной персистенцией вирусов клещевого энцефалита, гепатита В и С нарушена реализация апоптоза лимфоцитов крови [9, 19, 25, 27]. Обнаружено, что вирусы гриппа, клещевого энцефалита, а также  $\alpha$ -вирусы индуцируют апоптоз в перевиваемых культурах [11, 66, 101]. В работе А.О. Буеверова и соавт. [7] приводятся данные, свидетельствующие о существенно более высоком количестве лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови в состоянии апоптоза у больных хроническими гепатитами В и С. Рядом авторов показано прямое апоптозиндуцирующее действие вируса гепатита С на гепатоциты [61, 68, 84]. Центральную роль в индукции апоптоза этим вирусом играют его взаимодействия с рецепторными и сигналпередающими системами клетки [61]. С другой стороны, при инфекционном мононуклеозе, вызванном вирусом Эпштейна—Барра, отмечено снижение уровня ДНК-фрагментации

в лейкоцитах периферической крови [33], что является показателем угнетения способности клеток к апоптотической гибели. Известен феномен защиты от апоптоза клеток, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (HIV), аденовирусами, полиовирусом, вирусом коровьей оспы [13, 49, 111]. Кроме того, HIV обладает способностью защищать от апоптоза инфицированные клетки, одновременно усиливая апоптоз незараженных клеток [13]. Полагают, что перекрестное связывание CD4-рецептора с суперкапсидным гликопротеином HIV-1 gp120 повышает чувствительность Т-клеток к апоптозу. В то же время инфицированные CD4<sup>+</sup>-лимфоциты менее чувствительны, поскольку вирусный белок Nef обладает антиапоптотической активностью [77]. Многочисленными исследованиями доказана интервенция вирусов на разных этапах программированной гибели клеток [61, 111, 118].

### Вирусные белки-регуляторы

В настоящее время процесс апоптоза рассматривается как результат действия конкретной генетической программы, независимой от причины (нормальной или патологической), вызвавшей ее запуск. Об этом свидетельствует не только участие ряда генов в реализации программы гибели клеток, но и открытие специфических генов, контролирующих инициальные этапы апоптоза («гены гибели») и блокирующих апоптотическую гибель («гены выживания») [4, 31, 35, 36, 89]. Применение методов индуцированного мутагенеза, молекулярного и генетического анализа позволило идентифицировать несколько генов, ответственных за апоптоз на разных его этапах. Среди них гены *p53*, *c-fos*, *c-myc*, *c-jun*, *Fas*, *bcl-2* и другие, обеспечивающие реализацию или ингибирование программированной гибели клетки [4, 31, 89].

Члены семейства *bcl-2* могут быть функционально разделены на индукторы апоптоза (*Bad*, *Bax*, *Bcl-X<sub>S</sub>*, *Bik*, *Bid*, *Buk*) и на его ингибиторы (*Bcl-2*, *Bcl-X<sub>L</sub>*). Продукты этих генов находятся в постоянном динамическом равновесии, образуя гомо- и гетеродимеры, что в конечном счете влияет на развитие апоптоза клетки [48, 51]. Предполагается, что белки семейства *bcl-2*, локализуясь в наружной мембране митохондрий, регулируют открытие мембранных каналов, через которые осуществляется выброс цитохрома С, протеазы AIF (apoptosis inducing factor). Вышеуказанные

факторы способны прямо или опосредованно (например, через активацию «казнящих» каспаз) индуцировать многочисленные изменения, характерные для апоптоза, в том числе деградацию ДНК [65, 100].

Недавними исследованиями установлено, что все герпесвирусы кодируют гомологи *Bcl-2*, ингибирующие апоптоз. Одним из представителей таких ингибиторов апоптоза является белок *KSbcl-2* герпесвируса, ассоциированного с саркомой Капоши, и антиапоптотический белок *BHRF-1* вируса Эпштейна—Барра [62]. Уникальным свойством этого вируса является его способность регулировать активность *BHRF-1* гомологом *Bax*, названным *BALF*, который обладает проапоптотической активностью, но, в отличие от клеточного *Bax*, не может быть преобразован воздействием каспаз [45]. D.J. Roy и соавт. [90] была выявлена повышенная экспрессия гомолога *Bcl-2* гена *M-11 MHV-68* в селезенке и легких мышей, зараженных мышечным герпесвирусом. В период персистенции вируса активации *M-11* не отмечалось, но его мРНК продолжала присутствовать, что указывает на наличие разных механизмов защиты герпесвирусов от апоптоза в зависимости от степени активности инфекционного процесса. Увеличивает экспрессию *Bcl-2* и белок HIV — *Nef* [77]. Сердцевинный протеин вируса гепатита С способен ингибировать апоптоз через повышение синтеза *Bcl-X<sub>L</sub>* [84].

Из представленного материала видно, что вирусные протеины, подобно белкам семейства *Bcl-2*, обладают разнообразными механизмами регуляции программированной клеточной гибели.

### Влияние вирусов на рецепторный путь апоптоза

При изучении уровня готовности иммунокомпетентных клеток периферической крови к апоптозу в исследованиях было обнаружено увеличение абсолютного числа лимфоцитов, несущих CD95-рецептор, при клинически бессимптомной персистенции вируса клещевого энцефалита, а также при хронических гепатитах В и С [9, 27]. M. Tanaka и соавт. [104] установлено, что прямыми агентами, индуцирующими апоптоз, являются антигены вирусов гепатитов В и С, способствующие гиперпродукции лиганда *Fas*. При инфекции вирусом гепатита С значительно повышена экспрессия *Fas* как на гепатоцитах [87], так и HCV-позитивных мононуклеарах периферической крови [87, 107]. В отношении инфекционного процесса, вы-

званного HIV, имеет место повышение количества Fas-рецепторов на всех CD4<sup>+</sup>-клетках независимо от репликации в них вируса [83]. Аденовирус способен индуцировать экспрессию Fas опосредованно через p14(ARF)-экспрессию [63]. Другие вирусы, напротив, снижают экспрессию рецепторов смерти. Так, например, клетки, инфицированные *in vitro* вакцинным штаммом WR-вируса (western reserve virus), резистентны к Fas-апоптозу из-за низкого уровня экспрессии Fas-рецепторов, что позволяет им избегать цитолитической активности Т-лимфоцитов [55]. Вирусный FLICE-белок, кодируемый несколькими герпесвирусами, уменьшая распад прокаспазы-8 на активные субъединицы, способен предотвращать Fas-индуцированный апоптоз, не допуская таким образом активацию последующих сигнальных путей [44].

Экспрессия Fas-лиганда на поверхности мембраны во многом определяет способность клетки избегать киллерные воздействия со стороны активированных лимфоцитов (как это происходит в иммунопривилегированных зонах), что, несомненно, является выгодным для внутриклеточного агента. Доказана роль белка Tat HIV в повышении экспрессии FasL на инфицированной клетке. Известно, что Tat оказывает действие на FasL-промотор опосредованно через связь с транскрипционными факторами семейства Egr (Early growth factors) [115]. В соответствии с последними данными, белок HBx вируса гепатита В, связываясь с белками Egr-2 и Egr-3, также способен стимулировать экспрессию гена FasL [118].

Влияя на гены-промоторы рецепторов смерти и их лигандов, многие вирусы могут индуцировать синтез мутантных (растворимых) форм этих белков. Так, показано достоверное увеличение содержания как растворимой формы Fas-рецептора (sFas), так и растворимого Fas-лиганда (sFasL) в сыворотке крови больных гепатитами В и С [16, 17], а также уровня sFas при хронических вирусных гепатитах в стадии осложнений (гепатоцеллюлярная карцинома) [60]. Определена прямая корреляция уровня сывороточного sFas с активностью вирусного гепатита С [68]. Заслуживает внимания тот факт, что растворимые формы как рецептора Fas, так и его лиганда проявляют апоптосупрессивную активность, что в случае sFas выражено образование прочных связей с Fas-лигандом, презентированным на иммунокомпетентных клетках, и блокированием его активности, а в отношении sFasL — кон-

курентией менее активного мутантного продукта с полновальным лигандом за связывание с рецептором [102].

Передача сигнала смерти в любом случае опосредуется адаптерными молекулами, поэтому еще одним механизмом интервенции вируса в механизмы рецепторзависимого апоптоза является влияние непосредственно на адаптерные протеины и на передачу сигнала от рецепторов к каспазам. Так, взаимодействие сердцевинного белка вируса гепатита С (HCV) с эффекторным смертельным доменом FADD усиливает апоптотический сигнал, а связывание с TRADD разрушает комплекс TNF—TNFR1, не влияя при этом на активацию NF- $\kappa$ b [121]. Особо следует выделить так называемые v-FLIP (virus FLICE-inhibitory protein), обнаруженные в клетках при инфекции герпесвирусами и поксвирусами. По мнению одних авторов, v-FLIP, связываясь с FADD и FLICE, эффективно ингибируют передачу апоптотического сигнала от всех рецепторов семейства TNF [108]. Другие авторы считают, что v-FLIP нарушают протеолиз прокаспазы-8 на активные p10- и p18-субъединицы во время Fas-индуцированной клеточной смерти [44].

Таким образом, реализация рецепторопосредованного апоптоза в условиях хронизации вирусной инфекции может быть нарушена, что способствует нарушению эффективного клиренса инфектогена.

#### **Взаимодействие вирусов и транскрипционных факторов клетки**

Программа апоптоза может быть реализована вследствие возникновения источника сигнала внутри самой клетки [6]. Примером тому является накопление нерепарированных разрывов ДНК в результате нарушения процессов репарации [4, 30]. В лаборатории молекулярной медицины СибГМУ были получены данные, подтверждающие факт повреждения клеточного генома при вирусных инфекциях. У больных хроническими гепатитами В и С, а также клещевым энцефалитом выявлялся повышенный уровень хромосомных aberrаций и низкая активность эксцизионной системы репарации ДНК [19, 20, 25—28].

В индукции программы гибели клеток с нерепарируемыми повреждениями генома важная роль принадлежит белку p53. Этот белок с молекулярной массой, равной 53 кДа, локализован в ядре клетки и является одним из транскрипционных факторов, повышенная экспрессия которого приводит к репрессии ряда генов,

регулирующих транскрипцию и причастных к задержке клеточного цикла [5]. Переход на путь апоптоза под влиянием p53 осуществляется на уровне транскрипции гена *Bax* — представителя семейства *Bcl-2*. В результате происходит сдвиг равновесия димеров от гетеродимеров *Bax/Bcl-2* к гомодимерам *Bax/Bax* [31]. Кроме того, p53 повышает экспрессию генов *PIG*, продукты которых вызывают окислительный стресс и, как следствие, нарушение проницаемости митохондриальной мембраны [14, 36, 89].

С изменением активности p53 связана модуляция апоптоза при вирусных гепатитах. При интеграции в клеточный геном вируса гепатита В его ген *HBx* может формировать комплекс с p53, ингибируя таким образом его экспрессию [41]. Кроме этого, предполагается, что *HBx*-протеин оказывает мутационную инактивацию p53 в клеточных линиях ССL-В печени человека. Показано, что трансверсия (от AGG к AGT) в кодоне экзона 249 гена *p53* проявлялась в 504 случаях у больных с гепатоцеллюлярной карциномой при хронической HBV-инфекции [98]. Белок *HBx* также повышает экспрессию *Bax* в гепатоцитах и лимфоцитах, что способствует усилению чувствительности этих клеток к апоптогенным стимулам [50].

Установлено, что продукт HIV белок Tat способен ингибировать апоптоз, снижая уровень экспрессии p53 и повышая его для *Bcl-2* [64, 67]. Герпесвирусы также продуцируют антиапоптотический белок LANA (latency associated nuclear antigen), который взаимодействует с геном *p53* и подавляет его транскрипционную активность [52].

Ответственным за нарушение генетического контроля клеточного цикла может стать интеграция вирусного генома в геном клетки-мишени [2, 32]. Подобными свойствами обладают ДНК-содержащие и ретровирусы [10]. Интеграция гена *HBx* вируса гепатита В в клеточный геном вызывает резкое повышение экспрессии мРНК и белка циклина А в клетках гепатоцеллюлярной карциномы, что является одним из пусковых моментов вирусиндуцированного канцерогенеза [120].

Эффект белка *HBx* на прохождение клеткой точки рестрикции клеточного цикла ( $G_1/S$ ) опосредуется через его взаимодействие с ингибитором серинтреониновой киназы Cdk (cyclin-dependent kinase) p21. В присутствии p53 *HBx* активирует транскрипцию p21, что ведет к задержке клетки в фазе  $G_1$  и угнетает

транскрипцию p21, если белок p53 отсутствует или находится в низких концентрациях [40, 82]. Зависимость эффекта вирусных белков от запрограммированной реакции макроорганизма частично объясняет различия в клиническом течении заболевания у HBV-инфицированных пациентов. Белок *HBx* активирует ингибитор циклинзависимых киназ p21 в клетках гепатомы Нер3В с нефункционирующим p53, ингибирует циклин E/Cdk2-зависимое фосфорилирование гистона H1 [86]. Более того, было показано, что при микст-инфекции HBV+HCV белки *HBx* и HCV-core совместно угнетают транскрипцию p21. При этом *HBx*

и HCV-core действуют через TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ )-связывающий элемент и репрессию Sp1-сайта на промоторе p21 соответственно. Указанные эффекты усиливали рост и пролиферацию клеток и способствовали развитию гепатоцеллюлярной карциномы [53].

Белок *HBx* также активирует Ras-зависимый киназный сигнальный каскад, через который воздействует на транскрипционные факторы AP-1 и NF- $\kappa$ B, стимулируя синтез клеточной ДНК. При этом *HBx* обладает способностью выводить клетки из состояния покоя  $G_0$ , стимулировать переход  $G_1/S$  и  $G_2/M$  и сокращать временные промежутки между сверхочными точками [46].

В ходе эксперимента было показано, что экспрессия полного генома вируса гепатита С в гепатоцитах человека приводила к активации Cdk-сигнального пути и к усилению пролиферации гепатоцитов. При этом воздействие РНК вируса оказалось гораздо более эффективным, чем влияние всех белковых продуктов генов HCV [112]. В то же время имеются данные, что белок HCV-core нарушает переход  $G_1/S$  в гепатоцитах. В клетках печени, экспрессирующих HCV-core, активность киназ Cdk4 и Cdk2 снижена, нарушено фосфорилирование белка ретинобластомы (pRb) и E2F-опосредованная транскрипция. Хотя HCV-core непосредственно не изменяет уровень экспрессии компонентов комплекса Cdk-активирующей киназы (САК) — Cdk7, циклина H и MAP1 (mitosis activating protein-1), но вызывает диссоциацию MAP1 из комплекса САК и, таким образом, угнетает его активность [81].

Белок HCV-core также способен вызывать пролиферацию Т-лимфоцитов через взаимодействие с рецептором комплемента gC1qR, вызывая нарушение

перехода G<sub>1</sub>/S. В клетках, обработанных HCV-core, при митогенной стимуляции снижена экспрессия Cdk2/4 и циклинов E/D и, соответственно, нарушено фосфорилирование pRb. Кроме того, в этих клетках изменена деградация p27, являющегося негативным регулятором комплексов циклин E/Cdk2 и циклин D/Cdk4. Эти данные указывают на тот факт, что повышение стабильности p27 белком HCV-core ассоциируется с блокадой перехода G<sub>1</sub>/S и нарушением пролиферации митоген-активированных Т-лимфоцитов [116]. Учитывая преимущественное значение Т-клеточного звена в противовирусном иммунитете, блокада пролиферации митоген-активированных Т-лимфоцитов представляется стратегическим звеном в установлении персистенции вируса гепатита С.

С помощью иммуноблоттинга и иммунофлюоресцентного анализа было выявлено, что HCV-core селективно угнетает синтез и аккумуляцию некоторых ядерных белков (p21, p53, PCNA (proliferating cell nuclear antigen) и c-Fos) на уровне трансляции и не влияет на синтез цитоплазматических белков (РНКаза L, MEK1, 2'-5'-олигоденилат синтетаза) [82].

Н. Nguyen и соавт. [79] показали, что регуляция p21 гепатоцитов линии HepG2 белком HCV-core является двухфазной. Экспрессия нерасщепленной формы HCV-core, состоящей из 191 аминокислотного остатка, ведет к активации p21, ингибируя активность Cdk2 и останавливая клетки на G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> фазе цикла. Но с накоплением после процессинга 173-аминокислотной формы белка активность p21 резко снижается. Таким образом, на ранних этапах инфекции HCV-core способен избирательно модулировать клеточный цикл гепатоцитов через амбивалентную регуляцию ингибитора циклинзависимых киназ p21, что является мощным оружием вируса в установлении персистенции на уровне одной клетки и всего макроорганизма.

## **Заключение**

Обобщение данных литературы и анализ собственных результатов исследования свидетельствуют о разнообразии как триггерных факторов апоптоза, так и механизмов реализации программированной клеточной гибели. Вирусы обладают разнообразными приспособительными молекулярными свойствами, позволяющими воздействовать на те или иные ключевые моменты процесса клеточной гибели, модулируя

их в соответствии с собственной стратегией выживания. Очевидно, что про- и антиапоптотические составляющие клеточных и вирусиндуцированных механизмов регуляции тесно переплетены между собой. В конечном итоге от модуляции программированной гибели клетки в условиях вирусной инфекции зависит цитопатическое действие инфектогена, интенсивность и эффективность элиминирующих иммунных реакций, а значит, и клинические проявления инфекционного процесса. Вмешательство вирусов в процесс апоптоза представляется основополагающим при формировании хронической формы инфекции.

Изучение молекулярных основ вирусиндуцированной дизрегуляции танатогенной программы клетки в перспективе будет способствовать более глубокому пониманию патогенеза и созданию новых терапевтических и профилактических технологий поддержания защитных систем организма в условиях хронической вирусной инфекции.

В статье приводятся результаты исследований, выполненных в рамках федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники на 2002—2006 годы» (государственные контракты № 02.442.11.7004, 02.445.11.7110, 02.442.11.7276), а также при финансовой поддержке Совета по грантам при Президенте Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ Российской Федерации № НШ-1051.2003.4.

## **Литература**

1. Аббасова С.Г., Липкин В.М., Трапезников Н.Н., Кушлинский Н.Е. Система Fas-FasL в норме и при патологии // *Вопр. биол., мед. и фармацевт. химии*. 1999. № 3. С. 3—17.
2. Антонов П.В., Цинзерлинг В.А. Современное состояние проблемы хронических и медленных нейроинфекций // *Арх. патологии*. 2001. № 1. С. 47—51.
3. Барышников А.Ю., Шишкин А.В. Иммунологические проблемы апоптоза. М.: Эриториал УРПС. 2002. 320 с.
4. Белишклина Н.Н., Северин С.Е. Молекулярные основы патологии апоптоза // *Арх. патологии*. 2001. № 1. С. 51—60.
5. Белишклина Н.Н., Хасан Х.А., Северин С.Е. Молекулярные основы апоптоза // *Вопр. биол., мед. и фармацевт. химии*. 1998. № 4. С. 15—23.
6. Бойчук С.В., Мустафин И.Г. Fas-рецептор и его роль при атопических заболеваниях // *Иммунология*. 2001. № 3. С. 24—29.
7. Буверов А.О., Тихонина Е.В., Москалева Е.Ю. и др.



- Апоптоз лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови при хронических HBV- и HCV-инфекциях // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2000. № 6. С. 33—36.
8. Дмитриева Е.В., Москалева Е.Ю., Сладкова Л.В., Буеверов А.О. Апоптоз гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах // Иммунология. 2002. Т. 4. № 2. С. 235—236.
  9. Жукова О.Б., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. и др. Модуляция апоптоза лимфоцитов крови как способ выживания вируса гепатита С // Иммунология. 2005. Т. 26. № 2. С. 79—83.
  10. Ивашкин В.Т., Маммаев С.Н., Буеверов А.О. и др. Механизмы иммунного «ускользания» при вирусных гепатитах // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2000. № 5. С. 7—12.
  11. Исаева М.П., Леонова Г.Н., Кожемяко В.Б. и др. Апоптоз как механизм цитопатического действия вируса клещевого энцефалита // Вопр. вирусологии. 1998. № 4. С. 182—187.
  12. Кирдей Е.Г. Иммунология. Иркутск, 2000. 232 с.
  13. Ковальчук Л.В., Чердеев А.Н. Новые иммунопатогенетические взгляды: апоптотические иммунодефициты // Иммунология. 1998. № 6. С. 17—18.
  14. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров // Биохимия. 2000. Т. 65. Вып. 1. С. 5—33.
  15. Маянский А.Н., Бурков А.Н., Астафьев Д.Г., Рассанов С.П. Персистенция вирусов: иммунологические и патогенетические аспекты // Клинич. медицина. 1998. № 12. С. 19—25.
  16. Митрикова Л.Ц. Растворимый Fas-антиген в сыворотке крови больных острыми гепатитами В // Эпидемиология и инфекц. болезни. 2003. № 3. С. 34—36.
  17. Митрикова Л.Ц., Климова Е.А., Юцук Н.Д. и др. Исследование показателей Fas-зависимого апоптоза в сыворотке крови больных острыми вирусными гепатитами // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2003. № 2. С. 59—63.
  18. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. и др. Поверхностная архитектура, функциональные особенности и метаболизм лимфоцитов периферической крови при хронической герпесвирусной инфекции // Клинич. лаборатор. диагностика. 2004. № 5. С. 53—55.
  19. Новицкий В.В., Жукова О.Б., Рязанцева Н.В. и др. Цитогенетика лимфоцитов периферической крови при хронической персистенции вируса клещевого энцефалита // Бюл. СО РАМН. 2003. № 4. С. 34—37.
  20. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Наследникова И.О. и др. Хронический гепатит В: структура, метаболизм и цитогенетические особенности лимфоцитов // Эксперимент. и клинич. медицина. 2003. № 2. С. 64—67.
  21. Панин Л.Е., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. и др. Флуоресцентное зондирование плазматической мембраны лимфоцитов и эритроцитов при персистенции вируса клещевого энцефалита: мониторинг структурных изменений // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. № 8. С. 213—216.
  22. Пирогова Н.П., Новицкий В.В., Карпова М.Р. и др. Фагоцитарные функции крови у больных острым клещевым энцефалитом // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. № 1. С. 83—85.
  23. Потанин М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами // Иммунология. 2002. № 4. С. 237—243.
  24. Рязанцева Н.В., Белобородова Э.И., Новицкий В.В. и др. «Гематологические маски» хронического вирусного гепатита // Терапевт. арх. 2003. № 11. С. 28—31.
  25. Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Белобородова Э.И. и др. Изменения цитогенетического статуса лимфоцитов периферической крови при хронических HBV- и HCV-инфекциях // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2004. Т. 14. № 1. С. 37—40.
  26. Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Новицкий В.В. и др. Структурные и функциональные особенности лимфоцитов у пациентов с хроническим носительством антигена вируса клещевого энцефалита // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2002. Т. 133. № 11. С. 547—550.
  27. Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Новицкий В.В. и др. Роль иммунофенотипических и цитогенетических изменений лимфоцитов крови в механизмах хронизации вирусной инфекции // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2003. № 6. С. 23—27.
  28. Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Новицкий В.В. и др. Активность ДНК-репарационной системы лимфоцитов периферической крови у пациентов с хронической вирусной персистенцией // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2003. № 6. С. 27—29.
  29. Рязанцева Н.В., Панин Л.Е., Токарева Н.В. и др. Структурно-функциональные особенности плазматической мембраны лимфоцитов и эритроцитов при вирусных инфекциях // Сиб. мед. журн. 2003. № 3. С. 34—38.
  30. Самуилов В.Д., Алескин А.В., Лагунова Е.М. Программированная клеточная гибель // Биохимия. 2000. Т. 65. Вып. 8. С. 1029—1046.
  31. Сетиавили Р.И., Шубич М.Г., Колесникова Н.В. и др. Апоптоз в иммунологических процессах // Аллергология и иммунология. 2000. Т. 1. № 1. С. 15—23.
  32. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир, 1998. Т. 1. 331 с.
  33. Уразова О.И., Новицкий В.В., Литвинова Л.С., Помогаева А.П. Хромосомные нарушения, апоптоз и активность репарации ДНК в лимфоцитах периферической крови при инфекционном мононуклеозе у детей // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2002. Т. 133. № 3. С. 323—326.
  34. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина, 2000. 432 с.
  35. Хансон К.П. Программируемая клеточная гибель (апоптоз): молекулярные механизмы и роль в биологии и медицине // Вопр. мед. химии. 1997. Т. 43. Вып. 5. С. 402—415.
  36. Чумаков П.М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью // Биохимия. 2000. Т. 65. вып. 1. С. 34—47.
  37. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология. 1996. № 6. С. 10—23.
  38. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в

- норме и при патологии // Актуальные проблемы патофизиологии / Под ред. Б.Б. Мороза. М.: Медицина, 2001. С. 13—56.
39. Ярилин А.А., Никонова М.Ф., Ярилина А.А. и др. Апоптоз, роль в патологии, значимость его оценки при клинико-иммунологическом обследовании больных // Мед. иммунология. 2000. № 2. С. 7—16.
40. Ahn J.Y., Jung E.Y., Kwun H.J. et al. Dual effects of hepatitis B virus X protein on the regulation of cell-cycle control depending on the status of cellular p53 // J. Gen. Virol. 2002. V. 83. № 11. P. 2765—2772.
41. Arbuthnot P., Kew M. Hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma // Int. J. Exp. Pathol. 2001. V. 82. № 2. P. 77—100.
42. Arends M.J., Wyllie A.H. Apoptosis. Mechanism and role in pathology // Int. Rev. Exp. Pathol. 1991. V. 32. P. 223—254.
43. Behrmann I., Walczak H., Kramer P.H. Structure of the Human APO-1 Gene // Eur. J. Immunol. 1994. V. 24. № 12. P. 3057—3062.
44. Belanger C., Gravel A., Tomoiu A. et al. Human herpesvirus 8 viral FLICE-inhibitory protein inhibits Fas-mediated apoptosis through binding and prevention of procaspase-8 maturation // J. Hum. Virol. 2001. V. 4. № 2. P. 62—73.
45. Bellows D.S., Howell H., Pearson C. et al. Epstein-Barr virus BALF-1 is a Bcl-2-like antagonist of the herpesvirus antiapoptotic Bcl-2 proteins // J. Viral. 2002. V. 76. № 5. P. 2469—2479.
46. Benn J., Schneider R.J. Hepatitis B virus HBx protein deregulates cell cycle checkpoint controls // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. № 24. P. 11215—11219.
47. Boldin M., Goncharov T., Goltsev Y.V., Wallach D. Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/APO1 and TNF receptor-induced cell death // Cell. 1996. V. 85. № 6. P. 803—815.
48. Cory S., Adams J.M. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. Nature reviews. 2002. V. 2. P. 647—656.
49. Dbaibo G., Hannun J. Molecule of the month cytokine response modifier: a strategically deployed viral weapon // Clin. Immunol. Immunopathol. 1998. V. 86. № 2. P. 134—140.
50. Ehrmann J.Jr., Galuszkova D., Ehrmann J. et al. Apoptosis-related proteins Bcl-2, Bax, Fas, Fas-L and PCNA in liver biopsies of patients with chronic hepatitis B virus infection // Pathol. Oncol. Res. 2000. V. 6. № 2. P. 130—135.
51. Festjens N., Gurp M., Loo G. et al. Bcl-2 family members as sentinels of cellular integrity and role of mitochondrial intermembrane space proteins in apoptotic cell death. Acta Haematologica. 2004. V. 111. P. 7—27.
52. Fliborg J.Jr., Kong W., Hottiger M.O. et al. p53 inhibition by the LANA protein of KSHV protects against cell death // Nature. 1999. V. 402. № 6764. P. 889—894.
53. Han H.J., Jung E.Y., Lee W.J., Jang K.L. Cooperative repression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 gene expression by hepatitis B virus X protein and hepatitis C virus core protein // FEBS Lett. 2002. V. 518. № 1—3. P. 169—172.
54. Hay S., Kannourakis G. A time to kill: viral manipulation of the cell death program // J. of General Virology. 2002. V. 83. P. 1547—1564.
55. Heinkelein M., Pilz S., Jassoy C. Inhibition of CD95 (Fas/Apo1)-mediated apoptosis by vaccinia virus WR // Clin. Exp. Immunol. 1996. V. 103. № 1. P. 8—14.
56. Hsu H., Xiong J., Goeddel D.V. et al. The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF-kappa B activation // Cell. 1995. V. 81. № 4. P. 495—504.
57. Hu S., Vincenz C., Ni J. et al. I-FLICE, a novel inhibitor of tumor necrosis factor receptor-1- and CD-95-induced apoptosis // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. № 28. P. 17255—17257.
58. Iton N. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis // Cell. 1991. V. 66. P. 233—243.
59. Jeramias I., Herr I., Boehler T., Debatin K.M. TRAIL/Apo-2-ligand-induced apoptosis in human T cells // Eur. J. Immunol. 1998. V. 28. № 1. P. 143—152.
60. Jodo S., Kobayashi S., Kayagaki N. et al. Serum levels of soluble Fas/APO-1 (CD95) and its molecular structure in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and other autoimmune diseases // Clin. Exp. Immunol. 1997. V. 107. P. 89—95.
61. Kalkeri G., Khalap N., Garry R.F. et al. Hepatitis C virus protein expression induce apoptosis in HepG2 cells // Virology. 2001. V. 282. № 1. P. 26—37.
62. Kawanishi M. Anti-apoptotic function of the EBV LMP-1 and BHRF-1 proteins // Nippon. Rinsho. 1996. V. 54. № 7. P. 1845—1854.
63. Kim M., Sgagias M., Deng X. et al. Apoptosis induced by adenovirus-mediated p14ARF expression in U2OS osteosarcoma cells is associated with increased Fas expression // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004. V. 320. № 1. P. 138—144.
64. Lauli Y., Yibellini D., Caputo A. et al. The human immunodeficiency virus typy-1 Tat protein upregulates Bcl-2 gene expression in jurkat T-cell lines and primary peripheral blood mononuclear cells // Blood. 1995. V. 86. P. 3829—3834.
65. Kroemer G., Zamzani N., Susin S.A. Mitochondrial control of apoptosis // Immunol. Today. 1997. V. 18. № 1. P. 44—51.
66. Lewis J., Wesselingh S.L., Griffin D.E., Hardwick J.M. Alphavirus-induced apoptosis in human neutrophils // J. Virol. 1996. V. 70. № 3. P. 1828—1836.
67. Li C.J., Wang C., Friedman D.J., Pardee A.B. Reciprocal modulation between p53 and Tat of human immunodeficiency virus type-1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. № 12. P. 5461—5464.
68. Liov S., Hayashi N., Mita E. et al. Serum level of soluble Fas antigen in chronic hepatitis C patients // J. Hepatol. 1998. V. 29. № 4. P. 517—523.
69. Liu Z.G., Hsu H., Goeddel D.V., Karin M. Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF-kappaB activation prevents cell death // Cell. 1996. V. 87. № 3. P. 565—576.
70. Marsters S.A., Sheridan J.P., Donahue C.J. et al. Apo-3, a new member of the tumor necrosis factor receptor family,

- contains a death domain and activates apoptosis and NF-kappa B // *Curr Biol.* 1996. V. 6. № 12. P.1669—1676.
71. *Marsters S.A., Sheridan J.P., Pitti R.M. et al.* A novel receptor for Apo2L/TRAIL contains a truncated death domain // *Curr. Biol.* 1997. V. 7. № 12. P. 1003—1006.
  72. *Martinez-Lorenzo M.J., Alava M.A., Gamen S. et al.* Involvement of APO2 ligand/TRAIL in activation-induced death of Jurkat and human peripheral blood T cells // *Eur. J. Immunol.* 1998. V. 8. № 9. P. 2714—2725.
  73. *McFarlane W.M., Ahmad M., Srinivasula S.M. et al.* Identification and molecular cloning of two novel receptors for the cytotoxic ligand TRAIL // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. № 41. P. 25417—25420.
  74. *Mongkolsapaya J., Cowper A.E., Xu X.N. et al.* Lymphocyte inhibitor of TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand): a new receptor protecting lymphocytes from the death ligand TRAIL // *J. Immunol.* 1998. V. 160. № 1. P. 3—6.
  75. *Nagata S.* Apoptosis by death factor // *Cell.* 1997. V. 88. № 3. P. 355—365.
  76. *Natoli G., Costanzo A., Ianni A. et al.* Activation of SAPK/JNK by TNF Receptor 1 Through a Noncytotoxic TRAF2-Dependent Pathway // *Science.* 1997. V. 275. № 5297. P. 200—203.
  77. *Ndolo T., Dhillon N.K., Nguyen H. et al.* Induction of apoptosis in mature T cells // *J. Virol.* 2002. V. 76. № 8. P. 3587—3595.
  78. *Newton K., Harris A.W., Bath M.L. et al.* A dominant interfering mutant of FADD/MORT1 enhances deletion of autoreactive thymocytes and inhibits proliferation of mature T lymphocytes. // *EMBO J.* 1998. V. 17. № 3. P. 706—708.
  79. *Nguyen H., Mudryj M., Guadalupe M., Dandekar S.* Hepatitis C virus core protein expression leads to biphasic regulation of the p21 cdk inhibitor and modulation of hepatocyte cell cycle // *Virology.* 2003. V. 312. № 1. P. 245—253.
  80. *Oehm A., Behrmann I., Falk W. et al.* Purification and Molecular Cloning of the APO-1 Cell Surface Antigen, a Member of the Tumor Necrosis Factor/Nerve Growth Factor Receptor Superfamily // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. № 15. P. 10709—10715.
  81. *Ohkawa K., Ishida H., Nakanishi F. et al.* Hepatitis C virus core functions as a suppressor of cyclin-dependent kinase-activating kinase and impairs cell cycle progression. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 12. P. 11719—11726.
  82. *Oka K., Nagano-Fujii M., Yoshida I. et al.* Hepatitis C virus core protein selectively inhibits synthesis and accumulation of p21/Waf1 and certain nuclear proteins // *Microbiol. Immunol.* 2003. V. 47. № 6. P. 429—438.
  83. *Oliveira Pinto L.M., Garcia S., Lecoer H. et al.* Increased sensitivity of T lymphocytes to tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1)- and TNFR2-mediated apoptosis in HIV infection: relation to expression of Bcl-2 and active caspase-8 and caspase-3 // *Blood.* 2002. V. 99. № 5. P. 1666—1675.
  84. *Otsuka M., Kato N., Taniguchi H. et al.* Hepatitis C virus core protein inhibits apoptosis via enhanced Bcl-xL expression // *Virology.* 2002. V. 296. № 1. P.84—93.
  85. *Pan G., Ni J., Wei Y.F. et al.* The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL // *Science.* 1997. V. 277. № 5327. P. 815—818.
  86. *Park U.S., Park S.K., Lee Y.I. et al.* Hepatitis B virus-X protein upregulates the expression of p21waf1/cip1 and prolongs G1->S transition via a p53-independent pathway in human hepatoma cells // *Oncogene.* 2000. V. 19. № 30. P. 3384—3394.
  87. *Pianko S., Patella S., Ostapowicz G. et al.* Fas-mediated hepatocyte apoptosis is increased by hepatitis C virus infection and alcohol consumption, and may be associated with hepatic fibrosis: mechanisms of liver cell injury in chronic hepatitis C virus infection // *J. Viral. Hepat.* 2001. V. 8. № 6. P. 406—413.
  88. *Pitti R.M., Marsters S.A., Ruppert S. et al.* Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 22. P. 12687—12690.
  89. *Polyak K., Xia Y., Zweier J.L. et al.* The model for p53-induced apoptosis // *Nature.* 1997. V. 389. № 6648. P. 300—305.
  90. *Roy D.J., Robert-Hebmann V., Hamington S. et al.* Murine gammaherpesvirus M11 gene product inhibits apoptosis and is expressed during virus persistence // *J. Virol.* 2000. V. 74. № 11. P. 2411—2420.
  91. *Schneider P., Bodmer J.L., Thome M. et al.* Characterization of two receptors for TRAIL // *FEBS Lett.* 1997. Vol. 416. P. 329—334.
  92. *Screaton G.R., Mongkolsapaya J., Xu X.N. et al.* TRICK2, a new alternatively spliced receptor that transduces the cytotoxic signal from TRAIL // *Curr. Biol.* 1997. V. 7. № 9. P. 693—696.
  93. *Screaton G.R., Xu X.N., Olsen A.L. et al.* LARD: a new lymphoid-specific death domain containing receptor regulated by alternative pre-mRNA splicing. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1997. V. 94. № 9. P. 4615—4619.
  94. *Sheridan J.P.; Marsters S.A., Pitti R.M. et al.* Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors // *Science.* 1997. V. 277. P. 818—821.
  95. *Shu H.B., Halpin D.R., Goeddel D.V.* Casper is a FADD- and caspase-related inducer of apoptosis // *Immunity.* 1997. V. 6. № 6. P. 751—763.
  96. *Simon H.-U.* Molecular mechanisms of programmed cell death // *Apoptosis.* 1996. V. 1. P. 107—109.
  97. *Smith C.A., Farrah T., Goodwin R.G.* The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death // *Cell.* 1994. V. 76. № 6. P. 959—962.
  98. *Sohn S., Iaitovitch-Groisman I., Benlimame N. et al.* Retroviral expression of the hepatitis B virus x gene promotes liver cell susceptibility to carcinogen-induced site specific mutagenesis // *Mutant. Res.* 2000. V. 460. № 1. P. 17—28.
  99. *Suda T., Nagata S.* Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis // *J. Exp. Med.* 1994. V. 179. № 3. P. 873—877.
  100. *Susin S.A., Lorenzo H.K., Zamzani N. et al.* Mitochondrial release of caspase-2 and -9 during the apoptotic process // *J. Exp. Med.* 1999. V. 189. № 2. P. 381—394.
  101. *Takizawa T., Matsukawa S., Higuchi Y. et al.* Induction of programmed cell death (apoptosis) by influenza virus infection

- tion in tissue culture cells // *J. Gen. Virol.* 1993. V. 74. № 11. P. 2347—2355.
102. *Tanaka M., Itai T., Adachi M., Nagata S.* Downregulation of Fas ligand by shedding // *Nat. Med.* 1998. V. 4. № 1. P. 31—36.
103. *Tanaka M., Suda T., Nakamura N.* Fas ligand in human serum // *Nature Med.* 1996. V. 2. P. 317—322.
104. *Tanaka M., Suda T., Yatomi T.* Lethal effect of recombinant human Fas ligand in mice pretreated with fropiobacterium asnes // *J. Immunol.* 1997. V. 158. № 5. P. 2303—2309.
105. *Tartaglia L.A., Ayres T.M., Wong G.H., Goeddel D.V.* A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death // *Cell.* 1993. V. 74. № 5. P. 845—853.
106. *Tartaglia L.A., Goeddel D.V.* Two TNF receptors // *Immunol. Today.* 1992. V. 13. № 5. P. 151—153.
107. *Taya N., Torimoto Y., Shindo M. et al.* Fas-mediated apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients with hepatitis C // *Br. J. Haematol.* 2000. V. 110. № 1. P. 89—97.
108. *Thome M., Schneider P., Hofmann K. et al.* Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors // *Nature.* 1997. V. 386. № 6624. P. 517—524.
109. *Thompson C.B.* Apoptosis in the pathogenesis of disease // *Science.* 1995. V. 267. P. 1456—1462.
110. *Tokano Y., Miyake S., Kayagaki N. et al.* Soluble Fas molecule in the serum of patients with systemic lupus erythematosus // *J. Clin Immunol.* 1996. V. 16. № 5. P. 261—265.
111. *Tolstaya E.A., Romanova L.I., Kolesnikova M.S.* Apoptosis-inducing and apoptosis-preventing functions of poliovirus // *J. Virol.* 1995. V. 69. № 2. P. 1181—1189.
112. *Tsukiyama-Kohara K., Tone S., Maruyama I. et al.* Activation of the CKI-CDK-Rb-E2F pathway in full genome hepatitis C virus-expressing cells // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 15. P. 14531—14541.
113. *Walczak H., Degli-Esposti M.A., Johnson R.S. et al.* TRAIL-R2: a novel apoptosis-mediating receptor for TRAIL // *EMBO J.* 1997. V. 16. № 17. P. 5386—5397.
114. *Wiley S.R., Schooley K., Smolak P.J. et al.* Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis // *Immunity.* 1995. V. 3. № 6. P. 73—682.
115. *Yang Y., Dong B., Mittelstadt P.R. et al.* HIV Tat Binds Egr Proteins and Enhances Egr-dependent Transactivation of the Fas Ligand Promoter // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. № 22. P. 19482—19487.
116. *Yao Z.Q., Eisen-Vandervelde A., Ray S., Hahn Y.S.* HCV core/gC1qR interaction arrests T cell cycle progression through stabilization of the cell cycle inhibitor p27Kip1 // *Virology.* 2003. V. 314. № 1. P. 271—282.
117. *Yeh W.-C., Pompa J.L., McCurrach M.E.* FADD: essential for embryo development and signaling from some, but not all // *Science.* 1998. V. 279. № 5358. P. 1954—1958.
118. *Yoo Y.G., Lee M.O.* Hepatitis B Virus X Protein Induces Expression of Fas Ligand Gene through Enhancing Transcriptional Activity of Early Growth Response Factor // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 35. P.36242—36249.
119. *Zhang J., Cado D., Chen A. et al.* Fas-mediated apoptosis and activation-induced T-cell proliferation are defective in mice lacking FADD/Mort1 // *Nature.* 1998. V. 392. № 6673. P.296—300.
120. *Zhang Y., Peng Z., Qiu G. et al.* Overexpression of cyclin A in hepatocellular carcinoma and its relationship with HBx gene integration // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2002. V. 24. № 4. P. 353—355.
121. *Zhu N., Ware C.F., Lai M.M.* Hepatitis C virus core protein enhances FADD-mediated apoptosis and suppresses TRADD signaling of tumor necrosis factor receptor // *Virology.* 2001. V. 283. № 2. P. 178—187.
122. *Zornig M., Hueber A.O., Evan G.* p53-dependent impairment of T-cell proliferation in FADD dominant-negative transgenic mice // *Curr. Biol.* 1998. V. 8. № 8. P. 467—470.

Поступила в редакцию 11.04.2006 г.