

УДК 571.27 + 577.112

О.Ю. Галкін, В.Є. Казмірчук, Н.П. Метальнікова

БІЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКУ: РОЛЬ У ФОРМУВАННІ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ

Aim of this work was to analyze the results of scientific studies of biological properties of heat shock proteins of pro- and eukaryotic beings and to identify the mechanisms of their interaction with human immune system. Heat shock proteins have been founded in pro- and eukaryotes, they are conserved molecules produced by cells in response to stress, and are present in intracellular space as well as in extracellular environment and under normal conditions. The most important biological function of these proteins is chaperon activity. Heat shock proteins are able to modulate of humoral and cellular immunity. High-conservative structure of the proteins of different organisms can cause the development of autoimmune diseases in humans. When a bacterial infection heat shock proteins activate antigen-specific immunity and stimulate the production of anti-inflammatory cytokines. Molecular complexes of proteins and tumor/viral peptides provide specific activation of immune responses and nonspecific stimulation of immune cells. Heat shock proteins, natural autoantibodies to them, other endogenous and exogenous proteins that are present in the human body, antigen presentation cells and different subpopulations of T lymphocytes form the self-regulatory immune system such as the idiotypical immune network.

Keywords: heat shock proteins, biological properties, immune system, immune idiotypic network.

Вступ

Білки теплового шоку (heat shock proteins, HSP) було відкрито в 1962 р. групою вчених на чолі з Ф. Рітосса: температурний шок індукував утворення незвичних пуфів і нетипову експресію генів політенних хромосом у клітинах слинних залоз личинок *Drosophila melanogaster* [1]. У 1974 р. було ідентифіковано продукти цих генів, які отримали назву "білки теплового шоку" [2]. HSP являють собою клас функціонально східних білків, експресія яких посилюється при підвищенні температури або за інших умов, що є стресовими для клітини. Встановлено, що підвищення експресії генів, які кодують білки теплового шоку, регулюється на етапі транскрипції. Надзвичайне посилення експресії генів, що кодують HSP, є частиною клітинної відповіді на тепловий шок і викликається в основному фактором теплового шоку (heat shock factor, HSF). Білки теплового шоку є висококонсервативними молекулами, які виявлені в клітинах усіх прокариотичних та еукаріотичних організмів, у т.ч. у рослин [3]. Білки теплового шоку локалізовані в різних внутрішньоклітинних компартментах, й у фізіологічних умовах деякі з цих білків функціонують як внутрішньоклітинні молекулярні шаперони або протеази. Шаперони, як відомо, беруть участь у зборці, стабілізації, фолдингу і транслокації олігомерних білків, тоді як протеази (у вигляді убіквітинзалежних протеасом) опосередковують деградацію пошкоджених білків [4]. Білки теплового шоку прийнято позначати відповідно до їх молекулярної маси: наприклад, найбільш ви-

вченими білками теплового шоку є HSP-60, HSP-70 і HSP-90, які належать до сімейств білків з молекулярними масами 60, 70 і 90 кДа відповідно. Убіквітин, який у т.ч. опосередковує функції HSP, є відносно невеликим білком з молекулярною масою 8 кДа [5]. Доведено, що HSP конститутивно експресуються в організмі людини (5–10 % від загального синтезованого людиною білка), проте їх внутрішньоклітинна концентрація може підвищуватися на фоні різних патологічних станів, зокрема при інсульті, що спричиняє неправильне укладання (фолдинг) білків. Слід зазначити, що визначення "білки теплового шоку" не повністю відображає біологічну активність цієї групи молекул, адже їх індукування відбувається не лише за умов теплового шоку, але й при окисному стресі, нестачі поживних речовин, ультрафіолетовому опроміненні, дії хімічних речовин (у т.ч. етанолу), внутрішньоклітинних інфекціях, ішемічних станах тощо [5].

Постановка задачі

Метою роботи є аналіз сучасних літературних даних щодо біологічних властивостей білків теплового шоку про- та еукаріотичних організмів і встановлення їх ролі у формуванні імунної відповіді у людини.

Індукування і регулювання експресії білків теплового шоку

Регулювання транскрипції генів, що кодують HSP, відбувається через взаємодію специ-

Таблиця 1. Характеристика HSF різних видів еукаріотів [6]

Характеристики	Тип HSF, організми							
	HSF1		HSF2			HSF3		HSF4
	Людина, миша, курка		Людина, миша, курка			Курка		Людина
Гомологічність	92 % гомології		92 % гомології			–		–
Експресія	Повсюдна		Повсюдна			Повсюдна		Тканеспецифічна (серце, скелетні м'язи, мозок)
Умови <i>in vivo</i>	37 °C	42 °C	37 °C	42 °C	Хемін/ MG132*	37 °C	45 °C	37 °C**
Розмір білка (кДа)								
– нативного	70	178	127	127	202			
– денатурованого	70	85	72	72	72	69	69	55
Субклітинна локалізація	Цито-плазма/ Ядро	Ядро	Цито-плазма/ Ядро	Цито-плазма/ Ядро	Ядро	Цито-плазма	Ядро	Ядро
Олігомерний стан	Мономер	Тример	Димер	Димер	Тример	Димер	Димер	Тример
Зв'язування з ДНК	–	+	–	–	+	–	+	+
Біохімічні модифікації	Конститутивне фосфорилування	Індуковане фосфорилування	–	–	–	–	–	–

* Хемін – залізовмісний білок, що є індуктором еритроїдного диференціювання в клітинах людини K562. MG-132 являє собою пептидий інгібітор убіквітинзалежної протеасоми.

** ДНК-зв'язувальна активність зникає за умов теплового шоку *in vitro*.

фічного фактора транскрипції HSF з елементами теплового шоку в області промотору відповідного гена. Активація HSF відбувається під дією зовнішніх чинників (тепловий шок, поява молекул-аналогів амінокислот, вільні окисні радикали, іони важких металів, інгібітори енергетичного метаболізму), патофізіологічних факторів (нейрогуморальний стрес, гіпертрофія, ішемія, вірусна чи бактерійна інфекція, лихоманка і запалення, пошкодження тканин), а також нестресових чинників (онкогени та проонкогени, розвиток і диференціація, ростові фактори) [6]. У хребетних було ідентифіковано чотири фактори теплового шоку (табл. 1), проте більш вивченими є лише два з них: HSF1 є основним фактором, що відповідальний за реагування на внутрішній та зовнішній стрес; HSF2 характеризується більшою селективністю і, в основному, індукується в процесі диференціювання та раннього розвитку [7]. За звичайних умов HSF1 наявний у цитоплазмі в неактивній формі, яка не здатна зв'язуватись із молекулою ДНК. В умовах стресу підвищується кількість ушкоджених білків, що активує HSF1, який гіперфосфорилується мітогенактивованою протеїнкіназою на зразок *ras*-залежного механізму. HSF1 перетвориться на фосфорильований три-

мер, який може зв'язуватися із ДНК і який переміщується із цитоплазми до клітинного ядра (рис. 1). HSF2 являє собою термолабільний білок, який інактивується при підвищенні температури, залишаючись у цитоплазмі й тим самим попереджуючи надмірну, спільну із HSF1,

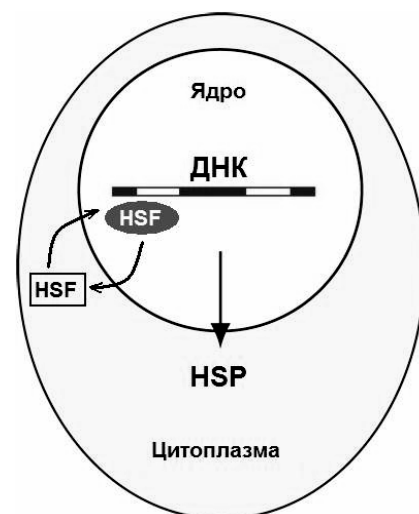


Рис. 1. Молекулярний механізм індукції синтезу білків теплового шоку (експресія генів теплового шоку відбувається після активації HSF і приєднання останнього до промоторного елемента ДНК)

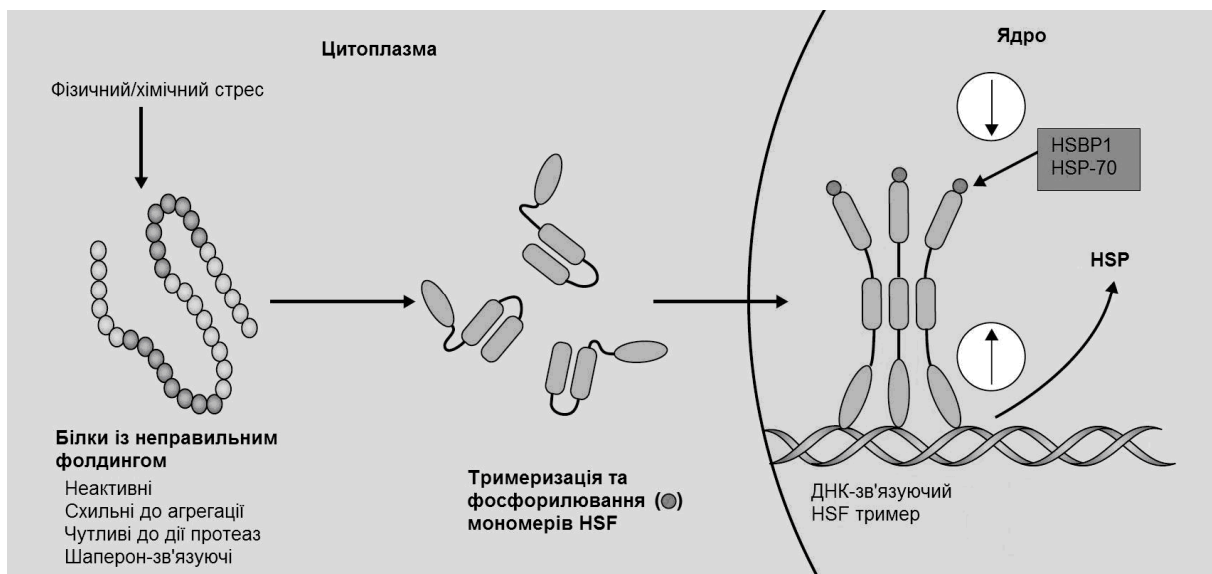


Рис. 2. Індукція та регуляція експресії HSP [3]

дію в клітинах, що перебувають у стресових умовах [8]. Індукція білків теплового шоку перебуває під жорстким контролем, оскільки їх надмірний (нерегульований) синтез буде негативно впливати на білковий гомеостаз і реалізацію внутрішньоклітинних функцій (рис. 2). Одним із механізмів, який регулює експресію білків теплового шоку, є зв'язування HSP-70 зі специфічною областю HSF1, що призводить до репресії гена, який кодує HSP. Взаємодія між HSP-70 й HSF1 не впливає на ДНК-зв'язувальну активність останнього, а також його фосфорилювання. Інший механізм регуляції синтезу HSP пов'язаний із взаємодією специфічного HSF-зв'язувального білка (heat shock protein binding factor 1, HSBP1), активованої химерної форми HSF1 і HSP-70, у результаті чого відбувається інгібування здатності HSF1 приєднуватися до ДНК. HSBP1 в основному локалізований у ядрі, а HSBP1 мРНК міститься у високих концентраціях у різних клітинах і тканинах тварин, нечутливих до теплового шоку [9].

Біологічні властивості білків теплового шоку

Білки теплового шоку, які опосередковують функції шаперонів, поділяють на п'ять класів (HSP-33, HSP-60, HSP-70, HSP-90, HSP-100), виокремлюють також малі білки теплового шоку (short HSP, sHSP) та убіквітин [3, 10, 11]. Характеристика родин білків теплового шоку ссавців та їх внутрішньоклітинна локалізація й функції наведені у табл. 2. Слід зазначити, що більшість фізіологічних функцій HSP адресу-

ється до реалізації низки захисних внутрішньоклітинних реакцій у відповідь на стреси різної природи, а також "інформаційні" міжклітинні взаємодії. Зважаючи на широту викладення матеріалу в експериментальних та оглядових [3, 5, 11] працях, а також нашу зацікавленість у розкритті участі білків теплового шоку в розвитку імунних реакцій, не будемо більш детально зупинятися на питанні внутрішньоклітинних і міжклітинних HSP-опосередкованих взаємодій.

Білки теплового шоку й імунна система

Будучи висококонсервативними та індукцйбельними біомолекулами, білки теплового шоку є ідеальними "інформаторами" клітинного стресу. Важливо зазначити, що переважна більшість відомих сьогодні патогенних мікроорганізмів мають гени, які кодують HSP і активуються при підвищенні температури макроорганізму під час інфекційного процесу, а також під дією інших стресових факторів при взаємодії з організмом хазяїна. Макроорганізми мають на озброєнні вроджені захисні механізми, у т.ч. здатність розпізнавати та реагувати на стресові сигнали. Ті самі молекули можуть "передавати" стрес організму хазяїна, наприклад після загибелі мікроорганізму. Природна роль білків теплового шоку може призводити до негативних наслідків для макроорганізму: функціональна активність імуноглобулінів і Т-клітинних рецепторів та наявність молекулярної мімікрії може зумовлювати запуск аутоімунних реакцій [13].

Таблиця 2. Характеристика родин білків теплового шоку ссавців і їх прокаріотичних аналогів [11, 12]

Родина та її представники (ссавці)	Прокаріотичний білок-аналог	Внутрішньоклітинна локалізація	Внутрішньоклітинні функції
Убіквітин	–	Цитоплазма, ядро	Деградація білків, позначених мультиубіквітиновими ланцюгами, за допомогою 26S-протеасоми, проліферація, розвиток і диференціювання клітин, реакція на стрес і патогени, репарація ДНК
Малі HSP			
α -кристаліни	–	Цитоплазма	Стабілізація цитоскелета. Білки-шаперони, що підтримують структуру білків кришталіка.
HSP-20	HslV	Цитоплазма	Регулювання м'язового скорочення; реакція на стрес; шаперонна активність; структурна складова кришталіка ока.
HSP-27 (HSPB1)	–	Цитоплазма, ядро	Функціонування актину, термотолерантність, інгібування апоптозу, регулювання розвитку клітин і диференціювання клітин.
HSP-27 (HSPB2)	–	Цитоплазма, ядро	Різноманітна регуляторна активність процесів запалення та імунітету, а також міотин-протеїнкінази.
HSP-27 (HSPB3)	–	Цитоплазма, ядро	Функціонування актину.
HSP-32 (Гемоксигеназа)	–	Цитоплазма, ендоплазматичний ретикулум, клітинна мембрана	Катаболізм гему, антиоксидантна активність.
HSP-40			
HSP-40	DnaJ	Цитоплазма, ядро	Регуляція активності HSP-70; зв'язування денатурованих білків.
HSP-47	–	Ендоплазматичний ретикулум	Процесинг проколагену; процесинг і секреція колагену.
HSP-60			
HSP-60	GroEL	Мітохондрія	Зв'язування із частково фолдованими білками та допомога у правильній укладці поліпептидного ланцюга
TCP-1	groL	Цитоплазма	
HSP-70			
Індуцибельні: HSP-70, HSP-70hom	DnaK	Цитоплазма, ядро	Зв'язування із розгорнутими поліпептидами. Запобігання агрегації неукладених пептидів.
Конститутивний: HSP-70	DnaK	Цитоплазма, пероксисома	Дисоціація деяких олігомерних структур.
Grp78/BiP	–	Ендоплазматичний ретикулум	Зв'язування із АТФ. АТФазна активність. HSP-70 інгібує HSF1
mtHsp70/Grp75	–	Мітохондрія	
HSP-90			
HSP-90 (α й β)	HtpG, C62.5	Цитоплазма	Зв'язування із іншими білками. Регуляція білкової активності. Попередження агрегації розгорнутих поліпептидів. Допомога у формуванні правильного фолдингу пептидів, що синтезуються.
Grp94/grp96/Hsp-100	clp-родина	Ендоплазматичний ретикулум	HSP-90 допомагає підтримувати мономерний стан HSF1 у нестресових умовах
HSP-110			
HSP-110 (людина)	–	Ядро, цитоплазма	Термочутливість.
Apg-1 (миша)	–	Цитоплазма	Рефолдинг білків.
HSP-105	clp-родина	Цитоплазма	–

TCP-1 = Tailless complex polypeptide; Grp = glucose regulated protein; HSP-70hom = testis-specific HSP-70; BiP = immunoglobulin heavy chain binding protein; mt = mitochondrial; Apg-1 = protein kinase essential for autophagy

Білки теплового шоку і вроджений імунітет. Було встановлено, що HSP ссавців активують вроджений імунітет через взаємодію із патерн-розпізнавальними рецепторами (pattern recognition receptors, PRR), які містяться на поверхні імунокомпетентних клітин і здатні розпізнавати "стандартні" молекулярні структури (патерни), специфічні для більшості груп патогенів. Із білками теплового шоку (зокрема, із HSP-70 та HSP-60) як із лігандами взаємодіють два сигнальні патерн-розпізнавальні рецептори, що належать до так званих toll-подібних рецепторів (toll-like receptor, TLR), – TLR2 і TLR4 [14].

Білки теплового шоку й аутоімунітет. Молекули HSP різних організмів не тільки виконують аналогічні чи схожі функції, але й характеризуються значною гомологічністю первинної структури (мають значну частину гомологічних епітопів). За даними Д. Джонса зі співавторами [15], білки теплового шоку містять чимало антигенних детермінант, що є схожими із різними аутоантигенами людини. Такі дані цілком узгоджуються з численними повідомленнями про розвиток аутоімунних процесів на тлі інфекційних захворювань [16]. Разом із тим аутоімунні патології є відносно непоширеними, а спектр аутоантигенів, які задіяні в імунопатогенезі таких хвороб, не такий вже й широкий. Вочевидь, такий стан речей зумовлений наявністю імунологічної толерантності. Відповідно до гіпотези, що була висунута І. Коеном [17], а згодом розвинута О. Полетаєвим [18], основні аутоантигени є домінантними, оскільки їх структура закодована самою імунною системою. Отже, з одного боку, білки теплового шоку є консервативними білками-аутоантигенами, а з іншого – сама імунна система через механізми імунологічної толерантності захищає їх від елімінації з організму.

Таким чином, існує взаємозв'язок між анти-HSP антитілами та регуляцією аутоімунних реакцій макроорганізму. Щоб цей аспект біологічної активності, що опосередковують білки теплового шоку, був більш зрозумілим, пропонуємо детальніше зупинитися на питанні природних аутоантитіл (ПААТ). Як відомо, природні антитіла утворюються в сироватці здорових людей без будь-якої активної чи пасивної імунізації [19]. Аутоантитіла (ААТ) здорових особин іпацієнтів з аутоімунною патологією реагують щонайменше із одним власним антигеном. Раніше не звертали уваги на важливість реактивності ПААТ із власними антигенами,

оскільки вважалося, що ауто толерантність залежить насамперед від делеції аутореактивних клонів лімфоцитів під час онтогенезу. На сьогодні доведено, що ПААТ наявні у всіх досліджених хребетних тварин і людини [20]; вони можуть належати до імуноглобулінів різних класів – IgG, IgM або IgA. Природні аутореактивні В-клітини здатні переключати ізотип синтезованих антитіл за відсутності відповідної взаємодії із Т-клітинами. ПААТ є поліреактивними та низькоафінними антитілами. У праці С. Лакруа-Деймаза [20] описано низку прикладів регуляції репертуару ААТ: обмежений характер реактивності відносно набору власних антигенів у здорових людей, який зберігається упродовж всього життя; спонтанність коливань концентрації (титру) ПААТ у часі; здатність нормального імуноглобуліну (n-Ig), введеного внутрішньовенно, пригнічувати аутореактивні клони В-клітин у пацієнтів з аутоімунними захворюваннями. Отже, імунорегуляторний ефект n-Ig зумовлений селекцією ідіотипу ААТ реципієнта, яка своєю чергою залежить від характеру V-ділянок імуноглобулінів, що вводяться пацієнтові, – фактично мова йде про функціонування ідіотипічної мережі в рамках теорії Н. Ерне [21]. Саме тому не дивно, що поліреактивність і характер залежності репертуару антитіл (такий, що обумовлений V-ділянками) ховають за собою низку взаємодій між ПААТ та імунологічно активними молекулами й, відповідно, імунокомпетентними клітинами, наприклад реактивність із цитокінами та цитокінновими рецепторами, клітинними рецепторами (зокрема, CD4 і молекули MHC I), молекулами адгезії, білками теплового шоку тощо [22]. Дослідження багатьох авторів свідчать про те, що в людини є ПААТ до різних білків теплового шоку (зокрема, анти-HSP-60, анти-HSP-70 і анти-HSP-90 IgG-антитіла), які мають доволі вузький репертуар – спрямовані до висококонсервативних імунодомінантних ділянок молекул HSP [22]. ПААТ до HSP-70, що належать до класів IgM та IgD, були виявлені у сироватці здорових мишей [23]. У праці [24] встановлено, що В-клітинні епітопи HSP-60 і рецептор-зв'язувальні ділянки HSP-60 частково перекриваються. Це своєю чергою може свідчити про здатність ПААТ регулювати біологічну активність HSP-60.

Білки теплового шоку і протибактерійний імунітет. Білки теплового шоку, що містяться в організмі людини, можуть походити як із клітин власного організму, так і з мікроорганізмів,

патогенних чи сапрофітних. Вирішальне значення для характеру взаємодії імунної системи та HSP мають походження останніх, їх сполучення із власними біомолекулами макроорганізму чи чужорідними структурами та, власне, стан самої імунної системи. Як вже зазначалося, білки теплового шоку є імунодомінантними молекулами, на антигенні детермінанти яких скеровується значна частина протимікробної імунної відповіді. Філогенетична близькість молекул HSP людини та мікроорганізмів (як наслідок – перехресна реактивність між ними та специфічними антитілами) може не тільки грати важливу роль у розвитку аутоімунних реакцій у макроорганізмі, а й впливати на характер протибактерійного імунітету [25]. Наявні дані [26] нашоують на думку про те, що білки теплового шоку опосередковують фізіологічну активність щодо регуляції прозапальних процесів. Наведемо декілька прикладів такого впливу. Встановлено фенотипні відмінності між Т-клітинами, які залучені у відповіді на еукаріотичний і прокаріотичний HSP-60, а також профілями секретованих нами цитокінів [26]. Було доведено, що власний HSP-70 та індуковані ауто-HSP-70 Т-клітини пригнічують розвиток експериментальних форм артриту через підвищення рівня синтезу протизапальних цитокінів (інтерлейкінів 4 і 10) Т-хелперами [27]. Аналогічні результати було отримано й у випадку HSP-60 у пацієнтів із ревматоїдним артритом [28]. На моделі ад'юватного артриту була доведена патогенетична роль Т-клітинної реактивності до неконсервативних епітопів мікобактерійного HSP-65 (амінокислотні залишки 180-188) [29]. Разом із тим при введенні експериментальним тваринам цілої молекули HSP-65, яка містила й консервативні епітопи (аналогічні до власних), не відбувалося розвитку захворювання [27]. Отже, протизапальні властивості аутогенних HSP-60 і HSP-70 не викликають сумніву. Не менш вражаючими є результати, отримані колективом авторів на чолі із О. Берком [30]: імунізація мишей ауто-HSP-60 або пептидами-аналогами консервативних ділянок HSP-60 сприяє відміні відторгнення аллотрансплантату шкіри (через модуляцію активності Т-хелперів 1 та 2 типів).

Білки теплового шоку і протипухлинний імунітет. Наявні наукові дані вказують на позитивну роль HSP при формуванні протипухлинного імунітету [31]. У праці П. Шривастава та співавторів [32] було показано, що імунізація мишей протеїном з молекулярною масою

96 кДа (gp96 – належить до родини HSP-90 (див. табл. 2)), виділеним із лізату ракових клітин саркоми, формували виражений проєктивний імунітет до цього виду пухлини. В інших працях [33, 34] була показана здатність білків сімейств HSP-70 і HSP-110 (так само виділених із мишиних пухлинних клітин) активувати пухлино-специфічні цитотоксичні Т-клітини та підсилювати протипухлинний імунітет загалом. Аналогічні результати було отримано й у експериментах з шпонковими жабами (використовували HSP-70 і gp96) [35]. Було сформовано припущення (підтвержене низкою експериментальних результатів [36]), що формування протипухлинного імунітету опосередковують не самі білки теплового шоку, а їх комплекс із пухлиноспецифічними пептидами. Такі результати цілком узгоджуються з уявленнями про функціональну активність HSP, адже білки теплового шоку, виконуючи роль внутрішньоклітинних шаперонів, з'єднуються з багатьма пептидами, що синтезуються клітинами. Накопичений експериментальний досвід щодо ролі HSP у формуванні протипухлинного імунітету дав змогу перейти до клінічних випробувань за участю людей, під час яких вдалося отримати обнадійливі результати: у половини досліджуваної групи пацієнтів вдалося викликати потужну пухлиноспецифічну Т-клітинну (CD8+) як відповідь проти власних пухлинних клітин при імунізації відповідними gp96-пептидними комплексами [37]. Значною перевагою цього терапевтичного прийому є відсутність необхідності ідентифікувати використовувані пухлинні антигени [3].

Докладено чимало зусиль, щоб встановити механізми, які задіяні у формуванні такого протипухлинного імунітету. Найбільш вдалим є вивчення дії білка gp96 [38]. Антиген-презентувальні клітини, зокрема дендритні клітини, поглинають gp96, з'єднанні з відповідними пептидами пухлинного походження, за механізмом рецептор-опосередкованого ендоцитозу – за допомогою α_2 -макроглобулінового рецептора A2MR (синоніми: CD91-рецептор і рецептор LRP1 – low density lipoprotein і receptor-related protein 1). Після внутрішньоклітинного процесингу пухлинні пептиди презентуються в комплексі з молекулами МНС I класу CD8+ Т-клітинам. Зрілі дендритні клітини, як відомо, експресують на своїй поверхні коstimулювальні молекули CD80 (синонім: B7-1) і CD86 (синонім: B7-2), які разом взаємодіють із рецептором CD28 цитотоксичних Т-лімфоцитів (CD8+),

додатково активуючі останні [39]. За таким механізмом реалізується антиген-специфічна активуюча дія gp96. Разом із тим відбувається активація дендритних клітин й неспецифічним чином, проте такий механізм наразі з'ясовано не повною мірою [3]. Взаємодія gp96 із невідомим рецептором на поверхні дендритної клітини приводить до її дозрівання (підсилення експресії низки рецепторів: МНС I і II класів, CD80 і CD86, а також молекули клітинної адгезії CD54) й секреції різноманітних цитокінів: прозапальних інтерлейкіну 1 і фактора некрозу пухлин альфа (tumor necrosis factor alfa, TNF- α), а також гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактора (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF). За аналогічним CD91-залежним механізмом відбувається активація протипухлинного імунітету й у випадку HSP-70 і HSP-90 [40]. Встановлено, що HSP-60 не взаємодіє із CD91-рецептором [41]; механізм його імунорегуляторної дії у випадку протипухлинної активності залишається не з'ясованим.

Білки теплового шоку і противірусний імунітет. Стимулювання специфічного противірусного імунітету відбувається за механізмом, що є аналогічним протипухлинній активності HSP. Білки теплового шоку, виділені із клітин, що трансформовані поліомавірусом SV40 або інфіковані вірусами грипу, специфічно активують цитотоксичні Т-лімфоцити та забезпечують протективний антивірусний імунітет у мишей [42]. Імунізація мишей білком р24 ВІЛ-1, ковалентно зшитим із мікобактерійним HSP-70, викликає утворення значного титру противірусних антитіл, вироблення цитокінів і проліферацію лімфоцитів [43]. Наголосимо на важливості противірусної активності білків теплового шоку як додаткового адаптивного механізму макроорганізмів, оскільки вивільнення HSP із некротизованих клітин сприяє активації вродженого та набутого імунітету, а також вторинній презентації вірусних пептидів, що містилися в цитозолі [44]. Таким чином, наявність HSP-опосередкованого механізму активації імунітету обертає на користь макроорганізму лізис власних вірус-інфікованих клітин.

Білки теплового шоку й імунні (ідіотипічні) мережі. Теорія імунних мереж є сучасною і перспективною теорією механізму саморегуляції імунної системи. Дослідження сукупності індивідуальних детермінант антитіл (ідіотипів) привели до виявлення ідіотипічних рецепторів на Т- і В-клітинах, що й стало початком ство-

рення загальної теорії мережових взаємодій. Піонерські праці Н. Ерне [21], які є фундаментом для сучасної ідіотипічної теорії, набули бурхливого розвитку, давши змогу розширити та поглибити вихідні принципи цієї теорії. Зазначимо, що теорія ідіотипічних мереж не відразу отримала визнання серед наукової спільноти – довгий час визнавалася виняткова роль елімінації аутореактивних клонів у забезпеченні імунологічної толерантності. Проте все нові й нові експериментальні дані щодо регуляторних функцій Т-лімфоцитів і природних аутоантитіл закріпили позиції теорії Н. Ерне, давши можливість пояснити низку раніше незрозумілих аспектів аутоімунітету. Накопичені на сьогодні наукові дані щодо взаємодії білків теплового шоку з імунною системою дають змогу стверджувати, що HSP є елементом імунної регуляторної мережі макроорганізму. На користь цього свідчить, по-перше, їх наявність як у прокариотів, так і в еукаріотичних організмів, по-друге, наявність у структурі HSP висококонсервативних ділянок, які до того ж є імунодомінантними, та, по-третє, висока імунологічна активність HSP. До HSP-залежної системи (мережі) стимулювання та регулювання запалення й аутоімунітету входять, щонайменше, такі елементи: власне HSP як поліреактивні антигени; ПААТ (у т.ч. антитіла до HSP); власні білки макроорганізму, що вивільняються із клітини внаслідок різних обставин; чужорідні білки (у т.ч. HSP-мікроорганізмів); антигенпрезентувальні клітини, що здатні активуватися під впливом HSP; ефекторні та регуляторні Т-лімфоцити, що взаємодіють із HSP [5, 12, 32]. Очевидно, що питання функціонування білків теплового шоку як частини імунної мережі вимагає подальших різносторонніх досліджень із використанням імунологічних, молекулярно-біологічних, біоінформаційних і математичних методів.

Висновки

За результатами аналізу літературних джерел було встановлено, що білки теплового шоку взаємодіють з імунною системою макроорганізмів на рівні як гуморального, так і клітинного імунітету. Висока консервативність HSP, що походять із різних живих систем, може призводити до запуску аутоімунних реакцій у людини за умов, наприклад, вірусної чи бактеріальної інфекції. Водночас такий сценарій реалізується не завжди, оскільки існують вроджені механізми імунологічної толерантності

макроорганізму до HSP, які базуються на функціонуванні мережі природних аутоантитіл до HSP.

Як наслідок аналізу низки експериментальних праць було показано, що білки теплового шоку характеризуються здатністю модулювати різні види імунітету. При бактеріальній інфекції HSP, по-перше, здатні підсилювати антиген-специфічну імунну відповідь і, по-друге, індукують синтез Т-хелперами протизапальних цитокінів (інтерлейкінів 4 і 10). Здатність комплексу білків теплового шоку та пухлиноспецифічних пептидів підсилювати протипухлинну реактивність організму зумовлена насамперед стимулюванням клітинної ланки імунітету (дендритних клітин і цитотоксичних Т-лімфоцитів). Неспецифічні HSP-опосередковані механізми протипухлинного імунітету адресовані до сти-

мулювання дозрівання дендритних клітин і синтезу ними протизапальних цитокінів, зокрема інтерлейкіну 1, фактора некрозу пухлин альфа та гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактора. Підсилення проти-вірусного імунітету за участю білків теплового шоку відбувається за механізмом, що є аналогічним специфічній протипухлинній активності цих білків.

Найбільш важливим науковим відкриттям є встановлення взаємозв'язків між білками теплового шоку та імунною системою макроорганізмів: HSP утворюють імунну мережу саморегуляції макроорганізму на зразок ідіотип-анти-ідіотипічної системи. Найбільш перспективним видається напрям досліджень із вивчення різних аспектів функціонування HSP-залежних імунних мереж.

Список літератури

1. *F.A. Ritossa*, "A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*", *Experientia*, vol. 18, pp. 571–573, 1962.
2. *A. Tissieres et al.*, "Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs", *J. Mol. Biol.*, vol. 84, pp. 389–398, 1974.
3. *A.G. Pockley*, "Heat shock proteins as regulators of the immune response", *Lancet*, vol. 362 (9382), pp. 469–476, 2003.
4. *L.E. Hightower*, "Heat shock, stress proteins, chaperones and proteotoxicity", *Cell*, vol. 66, pp. 191–197, 1991.
5. *R.I. Morimoto*, "Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators", *Genes Develop.*, vol. 12, pp. 3788–3796, 1998.
6. *W.J. Welch*, "How cells respond to stress", *Sci. American*, vol. 268, pp. 56–64, 1993.
7. *L. Pirkkala et al.*, "Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond", *FASEB J.*, vol. 15, pp. 1118–1131, 2001.
8. *A. Mathew et al.*, "Stress-specific activation and repression of heat shock factors 1 and 2", *Mol. Cell. Biol.*, vol. 21, pp. 7163–7171, 2001.
9. *S.H. Satyal et al.*, "Negative regulation of the heat shock transcriptional response by HSBP1", *Genes Develop.*, vol. 12, pp. 1962–1974, 1998.
10. *M.J. Schlesinger*, "Heat shock proteins", *J. Biol. Chem.*, vol. 265, no. 21, pp. 12111–12114, 1998.
11. *A.G. Pockley*, "Heat shock proteins in health and disease: therapeutic targets or therapeutic agents?", *Exp. Rev. Mol. Med.*, vol. 3, no. 23, pp. 1–21, 2001.
12. *J.S. Giuliano et al.*, "Extracellular heat shock proteins: alarmins for the host immune system", *Open Inflammation J.*, vol. 4 (1-M6), pp. 49–60, 2011.
13. *Z. Prohaszka*, "Chaperones as part of immune networks," in *Molecular aspects of the stress response: chaperones, membranes and networks*, P. Csermely and L. Vigh. Ed. New York: Springer Science+Business Media, 2007, pp. 159–166.
14. *A.K. Randhawa and T.R. Hawn*, "Toll-like receptors: their roles in bacterial recognition and respiratory infections", *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, vol. 6 (4), pp. 479–495, 2008.
15. *D.B. Jones et al.*, "Sequence homologies between Hsp60 and autoantigens", *Immunol. Today.*, vol. 14, pp. 115–118, 1993.
16. *L.G. Delogu et al.*, "Infectious diseases and autoimmunity", *J. Infect. Dev. Ctries.*, vol. 5, no. 10, pp. 679–687, 2011.
17. *I.R. Cohen and D.B. Young*, "Autoimmunity, microbial immunity and the immunological homunculus", *Immunol. Today*, vol. 12, no. 4, pp. 105–110, 1992.
18. *A.B. Poletaev et al.*, "Integrating immunity: The immunoculus and self-reactivity", *J. Autoimmunity*, vol. 30, no. 1-2, pp. 68–73, 2008.
19. *J. Milland and M.S. Sandrin*, "ABO blood group and related antigens, natural antibodies and transplantation", *Tissue Antigens*, vol. 68, no. 6, pp. 459–466, 2006.
20. *S. Lacroix-Desmazes et al.*, "Self-reactive antibodies (natural autoantibodies) in healthy individuals", *J. Immunol. Meth.*, vol. 216, pp. 117–137, 1998.
21. *N.K. Jerne*, "Towards a network theory of the immune system", *Ann. Immunol. (Paris)*, vol. 125C, no. 1-2, pp. 373–389, 1974.

22. *S. Lacroix-Desmazes et al.*, "Immunoglobulins and the regulation of autoimmunity through the immune network", *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 14, pp. S9–S15, 1996.
23. *A. Menoret et al.*, "Natural autoantibodies against heat-shock proteins hsp70 and gp96: implications for immunotherapy using heat-shock proteins", *Immunol.*, vol. 101, pp. 364–370, 2000.
24. *C. Habich et al.*, "Heat shock protein 60: identification of specific epitopes for binding to primary macrophages", *FEBS Lett.*, vol. 580, pp. 115–120, 2006.
25. *S.H.E. Kaufmann*, "Heat shock proteins and the immune response", *Immunol. Today*, vol. 11, pp. 129–136, 1996.
26. *J.M. Ramage et al.*, "T cell responses to heat shock protein 60: differential responses by CD4+ T cell subsets according to their expression of CD45 isotypes", *J. Immunol.*, vol. 162, pp. 704–710, 1999.
27. *S.M. Anderton et al.*, "Activation of T cells recognizing self 60-kDa heat shock protein can protect against experimental arthritis", *J. Exp. Med.*, vol. 181, pp. 943–952, 1995.
28. *J. van Roon et al.*, "Reactivity of T cells from patients with rheumatoid arthritis towards human and mycobacterial hsp60", *FASEB J.*, vol. 10, pp. A1312, 1996.
29. *W. van Eden et al.*, "Cloning of the mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis", *Nature*, vol. 331, pp. 171–173, 1988.
30. *O.S. Birk et al.*, "The 60-kDa heat shock protein modulates allograft rejection", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 96, pp. 5159–5163, 1999.
31. *K.V.V. Abhijanya and A.S. Sreedhar*, "Heat shock proteins in the cancer immunity: comprehensive review on potential chemotherapeutic interventions", *J. Clin. Cell. Immunol.*, vol. S5, pp. 1–8, 2012.
32. *P.K. Srivastava et al.*, "Tumor rejection antigens of chemically induced sarcomas of inbred mice", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 83, pp. 3407–3411, 1986.
33. *A.M. Ciupitu et al.*, "Immunization with heat shock protein 70 from methylcholanthrene-induced sarcomas induces tumor protection correlating with *in vitro* T cell responses", *Canc. Immunol. Immunother.*, vol. 51, pp. 163–170, 2002.
34. *X.-Y. Wang et al.*, "Characterization of heat shock protein 110 and glucose-regulated protein 170 as cancer vaccines and the effect of fever-range hyperthermia on vaccine activity", *J. Immunol.*, vol. 165, pp. 490–497, 2001.
35. *J. Robert et al.*, "Phylogenetic conservation of the molecular and immunological properties of the chaperone gp96 and hsp70", *Eur. J. Immunol.*, vol. 31, pp. 186–195, 2001.
36. *H. Udono and P.K. Srivastava*, "Comparison of tumor-specific immunogenicities of stress-induced proteins gp96, hsp90 and hsp70", *J. Immunol.*, vol. 152, pp. 5398–5403, 1994.
37. *S. Janetzki et al.*, "Immunization of cancer patients with autologous cancer-derived heat shock protein gp96 preparations: a pilot study", *Int. J. Cancer*, vol. 88, pp. 232–238, 2000.
38. *B. Berwin et al.*, "CD91-independent cross-presentation of grp94(gp96)-associated peptides", *J. Immunol.*, vol. 168, pp. 4282–4286, 2002.
39. *R.J. Peach et al.*, "Both extracellular immunoglobulin-like domains of CD80 contain residues critical for binding T cell surface receptors CTLA-4 and CD28", *J. Biol. Chem.*, vol. 270, no. 36, pp. 21181–21187, 1995.
40. *S. Basu et al.*, "CD91 is a common receptor for heat shock proteins gp96, hsp90, hsp70 and calreticulin", *Immunity*, vol. 14, pp. 303–313, 2001.
41. *C. Habich et al.*, "The receptor for heat shock protein 60 on macrophages is saturable, specific, and distinct from receptors for other heat shock proteins", *J. Immunol.*, vol. 168, pp. 569–576, 2002.
42. *N.E. Blachere et al.*, "Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted *in vitro*, elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity", *J. Exp. Med.*, vol. 186, pp. 1315–1322, 1997.
43. *K. Suzue and R.A. Young*, "Adjuvant-free hsp70 fusion protein system elicits humoral and cellular immune responses to HIV-1 p24", *J. Immunol.*, vol. 156, pp. 873–879, 1996.
44. *K.M. Anderson and P.K. Srivastava*, "Heat, heat shock, heat shock proteins and death: a central link in innate and adaptive immune responses", *Immunol. Lett.*, vol. 74, pp. 35–39, 2000.