

СИНЕРГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕЦЕПТОРОВ NOD1 И TLR4 ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

© 2019 г. Н. Е. Муругина¹, А. С. Будихина¹, П. В. Максимчик²,
Ю. А. Дагиль¹, Л. С. Балясова¹, В. В. Муругин¹, Г. З. Чкадуа³,
Б. В. Пинегин¹, М. В. Пашенков^{1*}

*E-mail: mvpashenkov@yandex.ru

¹ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

²Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова,
Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия;

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Впервые проведено комплексное изучение экспрессии цитокинов и метаболического репрограммирования макрофагов при сочетанной стимуляции рецепторов NOD1 и TLR4 врожденного иммунитета. Агонисты NOD1 и TLR4 стимулировали основные параметры гликолиза (скорость закисления внеклеточной среды, потребление глюкозы, высвобождение лактата), однако изменения этих показателей при сочетанной стимуляции не превышали сумму изменений при отдельной стимуляции. В то же время при сочетанной стимуляции наблюдалось синергическое увеличение продукции провоспалительных цитокинов и экспрессии их мРНК на сравнительно поздних сроках (4–9 ч) после добавления агонистов. Таким образом, метаболическая перестройка может поддерживать синергическое увеличение синтеза цитокинов при сочетанной стимуляции NOD1 и TLR4, однако первопричина синергизма заключается в синергическом увеличении экспрессии генов цитокинов.

Ключевые слова: макрофаги, мурамилпептиды, метаболическое репрограммирование, гликолиз, NOD1, TLR4, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210006649-8

Адрес: 115522 Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, лаборатория клинической иммунологии. Пашенков Михаил Владимирович.
Тел: +7 (499) 617 76 49, +7 (909) 930 17 70
E-mail: mvpashenkov@yandex.ru

Авторы:

Муругина Н. Е., м.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

Будихина А. С., к.м.н., научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

Максимчик П. В., к.м.н., научный сотрудник лаборатории изучения механизмов апоптоза, Факультет фундаментальной медицины, Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия;

Дагиль Ю. А., научный сотрудник целевой поисковой лаборатории иммунологии Фонда перспективных исследований ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

Балясова Л. С., м.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

Муругин В. В., к.м.н., научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

Чкадуа Г. З., к.м.н., с.н.с. лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

Пинегин Б. В., д.м.н., профессор, заведующий отделом иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

Пашенков М. В., д.м.н., и.о. заведующего лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия.

NOD-подобные рецепторы (NOD1, NOD2) и Toll-подобные рецепторы (TLR) взаимодействуют синергически: цитокиновый ответ клеток на сочетанную стимуляцию двух рецепторов выше, чем сумма ответов на стимуляцию каждого рецептора по отдельности [1–3]. Полагают, что синергическое усиление продукции провос-

палительных цитокинов играет роль в развитии гипервоспалительного синдрома при сепсисе. С другой стороны, явление синергизма может быть использовано в терапевтических целях при создании иммуностимуляторов, содержащих малые дозы синергически действующих активаторов врожденного иммунитета [1].

Однако механизмы синергического взаимодействия NOD-TLR изучены плохо. Важное значение в физиологии клеток иммунной системы придается метаболическому репрограммированию, в первую очередь переходу активированной клетки с окислительного фосфорилирования на аэробный гликолиз [4], который поставляет энергию и метаболиты для анаболических процессов.

Целью исследования было оценить вклад транскрипции генов цитокинов и изменений метаболизма глюкозы в механизмы синергического взаимодействия рецепторов NOD1 и TLR4 в клетках врожденной иммунной системы человека. В качестве модели использовали макрофаги, полученные путем культивирования моноцитов крови доноров с ГМ-КСФ.

При анализе экспрессии цитокинов обнаружилось, что в ранние сроки после начала стимуляции (1 ч для уровней мРНК TNF, IL-6 и IL-1 β , 2–3 ч для секретированного TNF) имеет место простая суммация эффектов агонистов NOD1 (М-триДАП) и TLR4 (ЛПС), однако на более поздних сроках (4 ч и более) наблюдается выраженное синергическое увеличение секреции TNF и экспрессии мРНК TNF, IL-6 и IL-1 β . Агонисты NOD1 и TLR4 по отдельности стимулировали гликолиз, что проявлялось в повышении скорости закисления среды (в реальном времени), 24-часового потребления глюкозы и 24-часового высвобождения лактата. При стимуляции двумя агонистами наблюдалась суммация

их эффектов либо инфрааддитивные эффекты, синергическое действие на гликолиз отсутствовало. Также не было выявлено синергического влияния агонистов на активацию (фосфорилирование) ряда белков, участвующих в регуляции гликолиза и белкового обмена (киназы Akt, p70, p38, ERK, MNK, фактор инициации трансляции eIF4E). Полученные данные показывают, что события, приводящие к синергическому усилению выработки цитокинов при сочетанной стимуляции NOD1 и TLR4, происходят на уровне транскрипции мРНК цитокинов между 1 и 4 ч после добавления агонистов. Изменения метаболизма глюкозы при сочетанной стимуляции не являются синергическими, однако могут способствовать реализации транскрипционной программы клетки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Tukhvatulin A. I., Gitlin I. I., Shcheblyakov D. V., Artemicheva N. M., Burdelya L. G., Shmarov M. M., Naroditsky B. S., Gudkov A. V., Gintsburg A. L., Logunov D. Y.* Combined stimulation of Toll-like receptor 5 and NOD1 strongly potentiates activity of NF-kappaB, resulting in enhanced innate immune reactions and resistance to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection. *Infect Immun.* 2013, 81 (10), 3855–64.
2. *Van Heel D. A., Ghosh S., Butler M., Hunt K., Foxwell B. M. G., Mengin-Lecreulx D., Playford R. J.* Synergistic enhancement of Toll-like receptor responses by NOD1 activation. *Eur J Immunol.* 2005, 35, 2471–2476
3. *Fritz J. H., Girardin S. E., Fitting C., Werts C., Mengin-Lecreulx D., Caroff M., Cavaillon J.-M., Philpott D. J. and Adib-Conquy M.* Synergistic stimulation of human monocytes and dendritic cells by Toll-like receptor 4 and NOD1- and NOD2-activating agonists. *Eur J Immunol.* 2005, 35 (8), 2459–70.
4. *O'Neill L. A., Pearce E. J.* Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. *J Exp Med* 2015, 213, 15–23.

SYNERGISTIC INTERACTIONS OF NOD1 AND TLR4 RECEPTORS OF INNATE IMMUNITY

© 2019 N. E. Murugina¹, A. S. Budikhina¹, P. V. Maximchik²,
Y. A. Dagil¹, L. S. Balyasova¹, V. V. Murugin¹, G. Z. Chkadua³,
B. V. Pinegin¹, M. V. Pashenkov^{1*}

*E-mail: mvpashenkov@yandex.ru

¹National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

²Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine, Moscow, Russia;

³FSBI "N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology", Laboratory of experimental diagnostics and biotherapy of tumors, of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 12.03.2019

We performed a simultaneous analysis of cytokine expression and metabolic reprogramming of macrophages upon combined stimulation of NOD1 and TLR4 receptors of innate immunity. NOD1 and TLR4 agonists boosted main parameters of glycolysis (extracellular acidification rate, glucose consumption, lactate release). However, changes of these parameters upon combined stimulation were not greater than those induced by stimulation of each individual receptor. At the same time, combined stimulation synergistically induced pro-inflammatory cytokine production and mRNA expression at relatively late time points (4–9 hours) after addition of agonists. In all, metabolic reprogramming may support synergistic induction of cytokines upon combined NOD1 and TLR4 stimulation; however, the origin of this synergy is in the synergistic induction of cytokine gene expression.

Key words: macrophages, muramyl peptides, NOD1, TLR4, tumor necrosis factor

Authors:

Murugina N. E., junior researcher, Laboratory of Clinical Immunology, National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

Budikhina A. S., PhD, researcher, Laboratory of Clinical Immunology, National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

Maximchik P. V., PhD, researcher, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

Dagil Y. A., researcher, Laboratory of Clinical Immunology, National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

Balyasova L. S., junior researcher, Laboratory of Clinical Immunology, National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

Murugin V. V., PhD, researcher, Laboratory of Clinical Immunology, National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

Chkadua G. Z., PhD, senior researcher, Laboratory of experimental diagnostics and biotherapy of tumors, FSBI "N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

Pinegin B. V., Professor, Doctor of medical sciences, Head of the Department of immunodiagnostics and immunocorrection, National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

Pashenkov M. V., ✉ Doctor of medical sciences, Acting head of the Laboratory of Clinical Immunology, National Research Center "Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia. E-mail: mvpashenkov@yandex.ru