

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

**Ключевые слова:** TLRs, врожденный и приобретенный иммунитет, инфекция, воспаление, онкогенез, мишени терапии.

## TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРЫ И ОНКОГЕНЕЗ

*Обзор представляет общую информацию о Toll-like рецепторах (Toll-like receptors — TLRs), их лигандах, свойствах при регуляции врожденного и приобретенного иммунитета. Основное внимание уделено значению экспрессии TLRs клетками различных опухолей человека и животных, влиянию их активации на рост опухоли. В связи с неоднозначностью влияния активации TLRs, экспрессируемых опухолевыми клеткам, рассматриваются возможные механизмы этого влияния. В частности, к числу механизмов стимулирующего действия относятся: индукция выделения провоспалительных цитокинов и других провоспалительных субстанций, индукция активности супрессорных клеток, участие в апоптозе и формировании резистентности, роль гипоксии в активности TLRs и др. Обсуждается также вопрос о возможности использования TLRs в качестве мишеней терапии с помощью их агонистов и антагонистов.*

В настоящее время Toll-like рецепторы (Toll-like receptors — TLRs) являются предметом активного изучения как в норме, так и при различных патологиях. В последние годы все возрастает интерес к изучению TLRs при опухолевом процессе. Это определяется не только включением этих рецепторов в общие механизмы иммунологической защиты, но и рядом других фактов: 1) многие опухолевые клетки (ОК) способны экспрессировать различные TLRs; 2) взаимодействие TLRs ОК со своими лигандами сопровождается синтезом и продукцией цитокинов; 3) существует взаимодействие между TLRs и факторами, индуцирующими гипоксию (hypoxia-inducible factors — HIFs); 4) имеются данные, указывающие на связь между экспрессией TLRs и формированием резистентности; 5) намечены определенные подходы к использованию TLRs в качестве мишеней при иммунотерапии.

### ОБЩЕЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О TLRs

TLRs впервые выявлены у *Drosophila melanogaster*. Это стало открытием, за которое в 2011 г. авторы В. Botler (США), J. Hofman (Люксембург) и R. Steinman (Канада) были удостоены Нобелевской премии. Основная биологическая роль TLRs у дрозофил связана с защитой против инфекций (антифунгальная защита) и участием в процессах регенерации. В последующем TLRs выявлены R. Medzhitov, на клетках млекопитающих было показано, что они имеют общий цитоплазматический домен с IL-1R (interleukin-1 receptor) [1]. Установлено, что в ответе на действие лигандов многих TLRs, подобно взаимодействию IL-1/IL-1R, центральное место занимает адапторный протеин — MyD88 [2]. К настоящему времени TLRs обнаружены у млекопитающих, включая человека, и даже у растений.

TLRs относятся к большому семейству рецепторов, распознающих паттерны, — pattern recognition receptor (PRR); к этому семейству относятся и NLRs — NOD-подобные лектин-обогащенные

рецепторы (NOD — нуклеотидсвязывающий олигомеризированный домен) [3]. Из общего семейства PRR в настоящее время наиболее изучены TLRs и NLRs, так как они определяются как центральные компоненты индукции различных иммунологических ответов. В высшей степени интересным является доказательство их участия и в одной из форм клеточной смерти — пироптозе. Механизм включения этой формы рецепторов в клеточную смерть связан с: 1) усилением аутофагии, что увеличивает поступление патогенов в лизосомы; 2) активным выделением таких провоспалительных цитокинов, как IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33 [3]. Согласно сложившемуся представлению, TLRs — эволюционно консервативные белковые структуры, рассматриваемые как ключевой компонент врожденного и приобретенного иммунитета у млекопитающих, их относят к первому типу трансмембранных гликопротеинов [4–7].

Лигандами для TLRs могут быть молекулы многих патогенов — патогенассоциированные молекулярные паттерны — pathogen-associated molecular pattern (PAMP), которые распознаются TLRs в структуре микроорганизмов, инициируют врожденный и приобретенный иммунитет. В роли паттернов могут выступать самые разнообразные структуры микроорганизмов различных групп [8]. TLRs связывают не только эндогенные, но и экзогенные PAMP, концентрация которых резко повышается при повреждении тканей (воспаление, опухолевый процесс), и образуются молекулы, связанные с повреждением ткани — DAMP (damage-associated molecular patterns); к настоящему времени таких эндогенных лигандов описано более 50 [9, 10].

TLRs экспрессируются не только всеми клетками системы иммунитета, но и клетками многих органов и тканей, включая эпителий слизистых оболочек, миоциты сердца, эндотелий сосудов, кератиноциты, клетки микроглии, астроциты, нейроны и др. [11]. Большинство TLRs располагаются на поверхности клетки — TLR-1, TLR-2, TLR-5, TLR-6,

TLR-10; примером внутриклеточного расположения могут быть TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9; некоторые TLRs могут экспрессироваться как внутриклеточно, так и экстраклеточно (TLR-4, TLR-11, TLR-12, и TLR-13) [12]. На основе особенностей экстраклеточных доменов суперсемейство TLRs распределено на 2 подгруппы: TLRs первой группы имеют иммуноглобулинсодержащий домен, второй — домен, обогащенный лектинами (LRR); к первой группе относятся также такие рецепторы как IL-1R, IL-18R, ST2, SIGIRR (регуляторный ингибирующий белок, относящийся к семейству IL-1R-подобных рецепторов) [13, 14].

Сигналы, индуцируемые TLRs, в большинстве случаев связаны с активацией транскрипционных факторов семейства NF-κappaB и различными адапторными белками (MyD88, MAL, TRIF, TRAM и др.); некоторые из них могут использовать и механизмы, не связанные с адапторными белками, в частности TLR-3 [15]. В активацию MyD88-зависимых сигнальных путей включается и протеинкиназа D1, которая способна активировать лиганды некоторых TLRs [16]. Лиганды TLRs не только активируют различные сигнальные пути, но и могут регулировать экспрессию этих рецепторов.

Экспрессия TLRs клетками различных органов и систем обеспечивает широкий диапазон их регуляторной роли в поддержании гомеостаза. Процесс эволюции надежно закрепил эту способность TLRs, и она особенно ярко проявляется как в регуляции врожденного, так и приобретенного иммунитета, что осуществляется с участием различных механизмов. Участие TLRs во **врожденном иммунитете** обеспечивается: 1) инициацией выделения провоспалительных цитокинов, необходимых для физиологического иммунологического ответа при различных воздействиях, среди которых одно из центральных мест занимают различные инфекции [17–20]; 2) регуляцией активности нейтрофилов; особую роль при этом играют TLR-2 и TLR-4, первый из которых защищает клетки от апоптоза, а второй проявляет себя как важный регулятор выживаемости нейтрофилов [21, 22] (рис. 1); 3) контролем активации, дифференциации и выживаемости В-лимфоцитов, в котором активное участие принимают TLR-2, TLR-4 и TLR-9 (этот путь активации В-лимфоцитов сопровождается усилением выброса кальция, фосфорилированием некоторых киназ, усилением эндоцитоза, синтеза иммуноглобулинов и рассматривается как альтернативный путь активации В-лимфоцитов) [23]; 4) обеспечением поддержания врожденного иммунитета кишечника, что связано с экспрессией TLRs эпителиальными клетками его слизистой [24]; 5) участием в функционировании клеток центральной нервной системы, большинство которых экспрессируют TLRs (микроглия, нейроны, астроциты, эндотелиальные клетки сосудов мозга), имеются данные о дифференцированном влиянии TLRs на функции микроглии [25–27].

Не менее важно участие TLRs в **приобретенном иммунитете**, что также осуществляется с участием ряда механизмов: 1) активацией CD4- и CD8-Т-лимфоцитов [28, 29]; 2) стимуляцией функций различных антиген-распознающих клеток: дендритных, которые экспрессируют TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-9 [30–32] (рис. 2); 3) активацией макрофагов, тучных клеток, в частности, с участием TLR-9, что особенно выражено при действии генетического материала ДНК-вирусов бактерий, грибов [21, 33]; 4) активным включением в экспансию и функционирование регуляторных клеток — Т-рег, которые экспрессируют высокий уровень TLR-4, TLR-5, TLR-7 и TLR-8 [34, 35] (рис. 3); 5) регуляции гомеостаза фибробластов, миофибробластов,

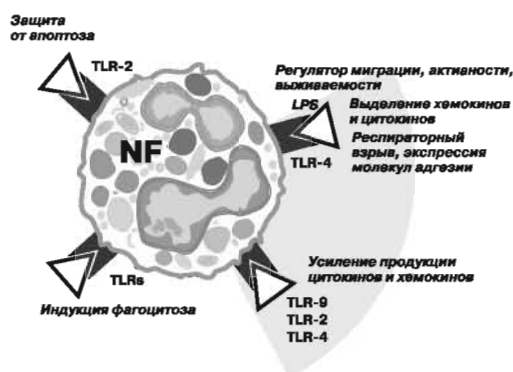


Рис. 1. Влияние TLRs на функции нейтрофилов

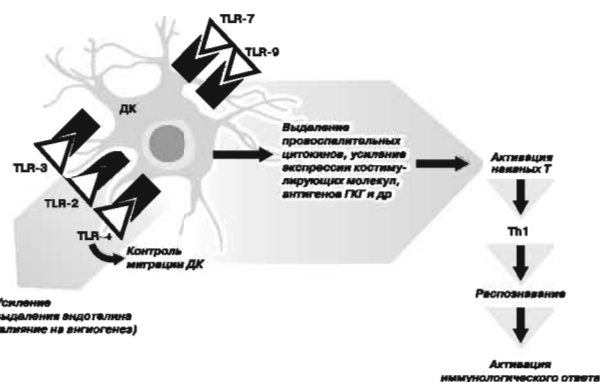


Рис. 2. Влияние экспрессии TLRs на функции дендритных клеток (ДК). ГКГ — главный комплекс гистосовместимости

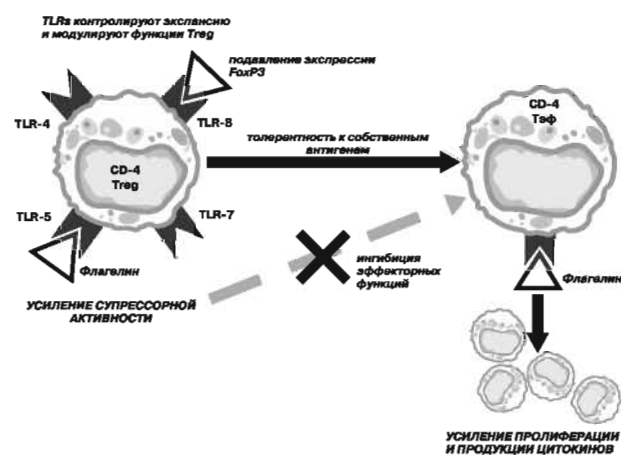


Рис. 3. Различный характер влияния активации TLRs на T-reg



фибробластоподобных синовиоцитов, эндотелиальных и эпителиальных клеток, в частности, с участием TLR-2, TLR-4, TLR-6 [36, 37]; 5) регуляцией клеток нормального эпителия (TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5), а также клеток эндотелия [38–40]; 6) потенцированием приобретенного иммунитета с включением различных механизмов [41].

Итак, TLRs являются активными регуляторами не только врожденного и приобретенного иммунитета, но и гомеостаза различных клеток, что обосновывает развитие нового иммунотерапевтического направления на основе использования иммуномодуляторов — агонистов и антагонистов TLRs [7].

**TLRs: ИНФЕКЦИЯ, ВОСПАЛЕНИЕ, ОНКОГЕНЕЗ**

Более чем 100 лет тому назад R. Virchow сформулировал представление о связи воспаления с малигнизацией. Сегодня оно является основополагающим в понимании патогенетической сущности развития рака и получает множество неоспоримых доказательств уже на уровне современных методических возможностей. Сейчас уже не остается сомнений в том, что ответ на вопрос: «Воспаление и рак: назад к Вирхову?» может быть только утвердительным, что, безусловно, является прогрессом в понимании патогенеза рака [42]. Именно хроническая инфекция является индуктором развития сложного процесса, который включает: хроническое воспаление, экспрессию TLRs, выделение хемокинов, цитокинов провоспалительного и ангиогенного действия, генотоксических факторов (молекул оксидативного стресса).

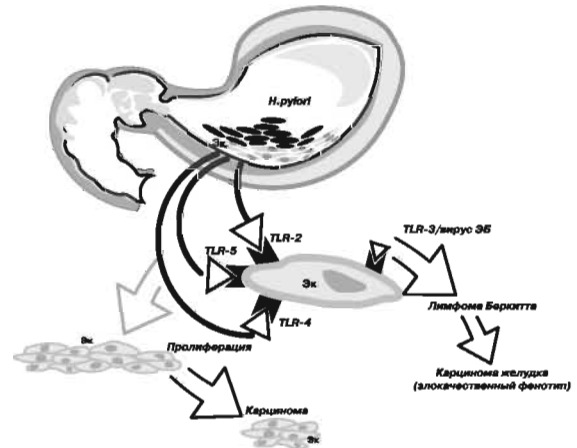
Многие микроорганизмы, как хорошо известно, могут вызывать развитие воспаления, отдельным из них принадлежит особенно значительная роль в индукции трансформации. К таким микроорганизмам, прежде всего, относится *Helicobacter pylori*, которая проникает в слизистую оболочку желудка, двенадцатиперстной кишки, в настоящее время рассматривается в гигиенических классификациях Международного агентства по изучению рака, Евросоюза, США, России как канцероген 1-й категории, именно с ней ассоциированы многие случаи развития рака желудка.

Основной механизм, с помощью которого *H. pylori* реализует свои эффекты, связан с TLRs. Не менее существенно и то, что отдельные компоненты этой бактерии дифференцированно регулируют экспрессию TLRs эпителиальными клетками желудка: LPS стимулирует экспрессию TLR-4 и выделение IL-1 $\beta$ , флагеллин — TLR-2, TLR-5 и выделение TNF- $\alpha$  [43]. Наиболее часто имеет место усиление экспрессии TLR-2 и TLR-5, что сочетается с индукцией провоспалительных сигналов [44]. Имеются данные, что при карциноме желудка, развивающейся на фоне инфицирования *H. pylori*, провоспалительные сигналы реализуются именно через

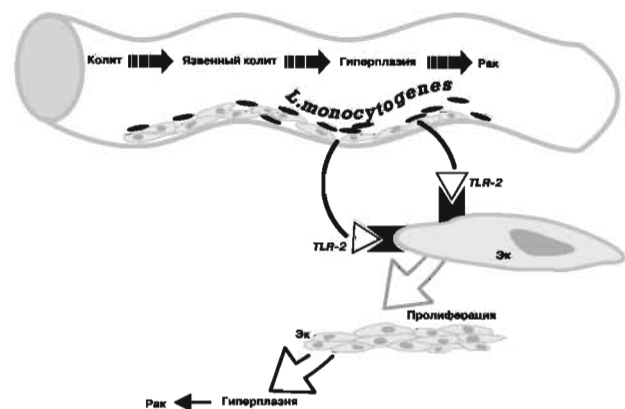
TLR-2 [45]. В последнее время появились данные, из которых следует, что *H. pylori* может взаимодействовать и с TLR-9 [46]. Инфицирование *H. pylori* приводит к усилению пролиферации эпителиальных клеток желудка с инфильтрацией подслизистого слоя желудка антигенпрезентирующими клетками и Т-лимфоцитами [47] (рис. 4). Многие сопутствующие бактерии кишечника усиливают развитие спорадического рака на фоне различных колитов (язвенный колит, болезнь Крона и др.).

К микроорганизмам, которые ассоциируются с малигнизацией, относится и *Listeria monocytogenes*. В исследованиях клеток линии гепатокарциномы H22 и на модели этой опухоли у мышей установлено, что культивирование ОК с *L. monocytogenes* приводит к усилению их пролиферации; введение указанных микроорганизмов мышам с гепатокарциномой усиливает ее рост; эти процессы сопровождаются активацией митоген-активированной протеинкиназы и NF- $\kappa$ B в ОК, продукцией NO и IL-6, что в конечном итоге приводит к пролиферации ОК. Взаимодействие с ОК осуществляется через TLR-2, но не, как подчеркивают авторы, TLR-4 [48] (рис. 5).

Разнообразные вирусные инфекции нередко также являются причиной воспаления с последующим развитием рака. Антигены многих вирусов



**Рис. 4.** Инфекция *H. pylori* и экспрессия TLRs эпителиальными клетками желудка



**Рис. 5.** Инфекция *L. monocytogenes* и экспрессия TLRs эпителиальными клетками кишечника

распознаются TLRs; к таким вирусам, в первую очередь, относятся вирус гепатита С, некоторые аденовирусы, вирус Епштейна — Барр (EBV). Например, на модели гепатокарциномы мышей показано, что инфицирование вирусом гепатита С приводит к экспрессии и активации TLR-4 с последующим синтезом IL-1 $\beta$  клетками Купфера [49, 50]. При изучении опухолей, ассоциированных с EBV, который распознается TLR-3, отмечена экспрессия этого рецептора при лимфоме Беркитта, карциноме желудка и носоглотки. Взаимодействие EBV с клетками различных опухолей характеризуется дифференцированным выделением цитокинов: при лимфоме выявляют продукцию IL-10, при карциномах — инсулиноподобный фактор роста и IL-9. Частота экспрессии TLRs (TLR-2, TLR-3 и TLR-4) при лимфоме Беркитта во многом зависит от характера стимула, особенностей микроокружения и др. [50, 51].

Общая закономерность — связь хронического воспаления со злокачественной трансформацией — отмечают и в других органах и системах. Например, компоненты некоторых бактерий (*E. coli*) и ДНК-вирусов (HPV, HSV) усиливали экспрессию TLR-4 и пролиферацию клеток эпителия предстательной железы, под влиянием CpG — TLR-9; в обоих случаях активируется NF- $\kappa$ B [52]. Авторы приходят к заключению о том, что указанные компоненты патогенов, находящиеся в мочеполовой системе, могут приводить к злокачественной трансформации нормальных клеток эпителия предстательной железы.

Примером связи малигнизации и хронического воспаления может быть и развитие злокачественных опухолей в легком. Хорошо известен факт, согласно которому частые хронические инфекции легких, особенно пневмония, являются благоприятным фоном для развития малигнизации. Эпидемиологические наблюдения, проведенные при исследовании больных с различными инфекциями (*Legionella pneumophila*, *Chlamydia species*, *Coxiella burnetii* или *Mycoplasma pneumoniae*), показывают, что сочетание этих инфекций с другими вредными воздействиями (курение, радиация) следует рассматривать как фактор высокого риска развития рака легкого [53, 54].

Многие опухоли инфицированы и другими микроорганизмами. Например, карцинома мочевого пузыря и кишечника часто ассоциируется с инфицированием шистосомами (*Schistosoma spp.*), что подтверждается и многочисленными клиническими и эпидемиологическими наблюдениями [55, 56].

Из приведенных данных следует, что воспаление различной инфекционной этиологии и его переход в хроническое течение — благоприятный фон для озлокачествления нормальных клеток. В цепи этих событий центральное место принадлежит экспрессии TLRs и их взаимодействию со своими лигандами.

## ЭКСПРЕССИЯ TLRs ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ

В настоящее время получены убедительные доказательства того, что TLRs экспрессируются ОК различного происхождения и локализации: колоректального рака, рака молочной железы, предстательной железы, яичника, пищевода, желудка, легкого, головы и шеи, меланомы, нейробластомы, глиобластомы и др. [57–60].

При изучении клеток *рака легкого*, а также клеток различных линий этой опухоли выявлено, что они экспрессируют внутриклеточные рецепторы TLR-7 и TLR-8. Стимуляция этих рецепторов соответствующими лигандами приводит к активации NF- $\kappa$ B, повышению экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2, увеличению выживаемости ОК, а также развитию химиорезистентности [61].

При исследовании образцов ткани плоскоклеточной *карциномы носоглотки* человека показано, что клетки этой опухоли экспрессируют TLRs как поверхностно (TLR-2), так и внутриклеточно (TLR-3, TLR-4); наиболее часто экспрессировались TLR-2. Отмечается, что экспрессия TLR-4 коррелировала со степенью дифференциации, а связывание этого рецептора с LPS усиливало пролиферацию, что сопровождалось активацией фосфатидилинзитол-3-киназы, транслокацией NF- $\kappa$ B и увеличением продукции IL-6, IL-8, VEGF, GM-CSF. Более того, также продемонстрировано, что активация TLR4 защищает ОК от лизиса естественных киллеров [58]. На клетках карциномы носоглотки выявлен и TLR-9, который экспрессировался одновременно с TLR-4. Авторы указывают на различную роль экспрессии этих рецепторов в развитии опухоли: если экспрессия TLR-4 сопровождается прогрессированием опухоли, то экспрессия TLR-9 повышала чувствительность к различным химиопрепаратам [62].

Способностью к экспрессии TLR-4 характеризуются и клетки *рака молочной железы* как человека, так и животных. В опытах с клетками линии MDA-MB-23 показано наличие TLR-4 на поверхности клеток, а блокада этих рецепторов приводила к выраженной ингибиции пролиферации [63]. В клетках мыши MCF-7 выявлена экспрессия TLRs 1–6, 9 и 10; отсутствовала экспрессия TLR 7, 8. Воздействие LPS *E. coli* повышало уровень TLR-4 и TLR-9 в этих клетках и снижало чувствительность к апоптогенному действию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> — одного из цитотоксических агентов макрофагов [64].

Исследование клеток первичного рака молочной железы (фолликулярная форма) выявило экспрессию TLR-4, которая сочеталась с высоким уровнем интегрин  $\beta$ 1, который коррелировал с выраженной инвазивностью ОК; этот факт имел место только при указанной форме рака молочной железы. Анализ результатов экспрессии интегрин  $\beta$ 1 и TLR-4 с учетом выживаемости и безрецидивного периода

не выявил четкой корреляции между этими показателями, однако авторы считают возможным рассматривать указанные структуры как дополнительный клинический маркер оценки течения заболевания [65].

**Клетки меланомы** также способны к экспрессии TLRs. В частности, на этих клетках выявлены TLR-2, TLR-3, TLR-4, число которых увеличивается на клетках метастазов в лимфатических узлах, а также экспрессия TLR-7, TLR-8, TLR-9 [66]. К настоящему времени сложно оценить роль экспрессии TLRs клетками меланомы, так как есть данные о том, что активация TLR-4 клеток меланомы B16 характеризуется слабым развитием опухоли на фоне усиления продукции INF- $\beta$  ОК и изменения экспрессии генов интерферонов I типа [67].

Разнообразные TLRs экспрессируют и клетки **плоскоклеточной карциномы пищевода**. В частности, выявлен высокий уровень экспрессии, во-первых, TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-9 ОК, во-вторых — TLR-4, TLR-9 мононуклеарными клетками внутри опухоли и, в-третьих — TLR-9 фибробластоподобными клетками микроокружения. Анализируя полученные данные, авторы приходят к заключению, что высокий уровень экспрессии TLR-4 связан с риском развития метастазов в лимфатических узлах и инвазией опухоли. В отличие от этого, высокий уровень экспрессии TLR-9 фибробластоподобными клетками стромы свидетельствует о низком уровне риска метастазирования и инвазии [68]. Полученные данные показывают неоднозначную роль TLRs в патогенезе плоскоклеточной карциномы пищевода.

TLR-4 экспрессируется и клетками **рака яичника** человека, а его активация происходит с участием адапторного белка MyD88 и сочетается не только с усилением роста опухоли, но и развитием резистентности ОК к некоторым химиопрепаратам — факт, который заслуживает пристального внимания [69]. Связывание TLR-4 со своим лигандом сопровождается выделением провоспалительных цитокинов IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$  и активацией NF- $\kappa$ B. Клетки **рака шейки матки** активно экспрессируют TLR-9. При анализе большого клинического материала показано, что у таких больных имеет место полиморфизм гена *TLR-9*; выявлены изменения в аллеле TLR-9—1486T/C (rs187084), что рассматривается авторами как фактор риска развития рака шейки матки [70].

Экспрессия TLR-4 и TLR-9 характерна и для клеток **карциномы предстательной железы**, что продемонстрировано при совместном культивировании этих клеток с LPS; в отличие от карциномы носоглотки, экспрессия обоих рецепторов сопровождалась выраженным усилением пролиферации клеток [52]. Способность клеток карциномы предстательной железы экспрессировать TLR-4 подтверждена и другими исследователями. Рассматривая вопрос о значении этой экспрессии ОК, авторы приходят к заключению, что у лиц с наследственной

предрасположенностью к развитию данной опухоли экспрессия TLR-4 может способствовать усилению роста опухоли; такое усиление осуществляет с участием адапторного белка MyD88 и активацией NF- $\kappa$ B [71].

Экспрессия TLRs характерна и для различных клеток нервной ткани человека и животных. В опытах с клетками **глиомы** мышей линии GL261 выявлен высокий уровень экспрессии TLR-3, значительно более низкий — TLR-2, TLR-4 и незначительный — TLR-5, TLR-7, TLR-9 [72]. Важно, что клетки глиомы экспрессируют TLR-9 и в своем составе имеют молекулы, которые служат лигандами для этого рецептора [73]. В первичных культурах менингиом человека выявлена экспрессия TLR 1–4 (в 100% культур), TLR-10 (в 90%), TLR-5, 6 и 9 (в 80%) [64].

Исследование клеток **множественной миеломы**, инфицированной различными микроорганизмами, выявило, что они экспрессируют большинство известных TLRs, но наиболее часто — TLR-1, TLR-7 и TLR-9. Культивирование этих клеток с лигандами TLR-7 и TLR-9 усиливало рост миеломы, что сопровождалось активной секрецией IL-6; предполагается, что размножение бактерий способствует усилению роста опухоли [74].

Естественно, что факт экспрессии TLRs ОК вызывает много вопросов, одним из основных является: каким образом экспрессия TLRs отражается на течении опухолевого процесса? Сложности анализа результатов соответствующих исследований определяются, во-первых, неоднозначностью полученных результатов, а во-вторых, тем, что TLRs экспрессируются и клетками системы иммунитета с последующей стимуляцией врожденного и приобретенного иммунитета. Поэтому очень трудно и не всегда возможно провести грань между тем, где заканчивается положительный эффект взаимодействия TLRs с лигандами и начинается его негативное влияние.

Объективность оценки значения экспрессии TLRs ОК нуждается в учете ряда обстоятельств, которые определяют конечный результат. Во-первых, необходимо иметь в виду, что TLRs могут экспрессировать как ОК, так и клетки микроокружения опухоли: фибробласты, эндотелиальные, эпителиальные, дендритные и др. [75]. Во-вторых, не всегда экспрессия TLRs увеличивается под влиянием лигандов, характерных для конкретного рецептора. В-третьих, уровень экспрессии TLRs отдельными клетками, например центральной нервной системы, различен: TLRs под влиянием LPS экспрессируют как клетки микроглии, так и астроциты, наиболее высокий уровень имеет экспрессия TLR-2, а низкий — TLR-1, TLR-4, TLR-5, TLR-9 [76]. В-четвертых, роль гетерогенности ОК отражается и на экспрессии TLRs. Например, клетки различных линий нейробластомы по-разному отвечают на стимуляцию LPS [77]. Высказывается предположение, что в этих случаях отсутствуют интернали-



зация LPS клетками определенной линии и передвижение комплекса TLR-4-CD14-MD2 к аппарату Гольджи, что исключает возможность инициации сигнала трансдукции [78].

Итак, можно заключить, что в большинстве случаев экспрессия TLRs ОК способствует их пролиферации и инвазии. Несмотря на неоднозначность имеющихся данных, представляется возможным выделить некоторые механизмы, обеспечивающие стимуляцию роста опухоли под влиянием взаимодействия TLRs со своими лигандами.

### МЕХАНИЗМЫ СТИМУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ АКТИВАЦИИ TLRs ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

**Продукция провоспалительных цитокинов и других провоспалительных субстанций.** Выделение различных провоспалительных субстанций при активации TLRs соответствующими лигандами отмечено при изучении многих опухолей. Так, экспрессия TLR-4 клетками карциномы головы и шеи во всех случаях коррелирует со степенью дифференциации ОК, а активация TLR-4 LPS усиливала их пролиферацию, повышала экспрессию IRAK, индуцировала транслокацию NF-κB, усиливала продукцию IL-6, IL-8, VEGF, GM-CSF, что способствовало прогрессированию этой опухоли [58, 79].

В такой же степени интересны и данные, полученные при изучении клеток других опухолей (рак кишечника, молочной железы, предстательной железы, легкого и меланома): взаимодействие TLR-4 с LPS на клетках этих опухолей способствует уходу опухоли из-под иммунологического контроля, сопровождается ингибированием T-клеточной пролиферации и снижением активности естественных киллеров [80]. Выделение провоспалительных субстанций — IL-1, TNF-α, COX-2 отмечали и при стимуляции LPS клеток меланомы, которые экспрессировали TLR-2, TLR-3 и TLR-4 [81].

На различных моделях опухолевого процесса (меланома, карцинома, нейроblastoma) показано, что ОК отвечают на воздействие LPS усилением миграции, инвазии, метастазированием, что сопровождается экспрессией мРНК TLR-4 на поверхности этих клеток [82, 83]. Такие свойства LPS предполагают, что этот бактериальный компонент может проявлять себя и как кофактор при воздействии различных канцерогенов.

Провоспалительное действие экспрессии TLR-2 и TLR-4 усиливается выделением таких провоспалительных субстанций, как COX-2 и PGE-2. При экспериментальном раке желудка и кишечника было показано, что сигнал, индуцированный активацией TLR-4, приводит к повышению уровня COX-2 и PGE-2 — процесс сопровождается выраженной пролиферацией клеток слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и снижением апоптоза [84, 85]. Накоплению провоспалительных субстанций способствуют макрофаги, ин-

фильтрующие опухоль, которые экспрессируют TLR-2 и TLR-4 и являются активными источниками PGE-2; в этих случаях наблюдается усиление роста опухоли. Продукция провоспалительных цитокинов зависит от этапа роста опухоли — на ранних этапах превалирует секреция TNF-α и CXCL14, а на поздних — IL-1β, IL-6, MIP-2, GM-CSF, HGF, VEGF [43]. Инфицирование некоторыми бактериями, в частности *H. pylori*, способствует продукции COX-2, которая стимулирует выделение цитокинов (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α). Выделение PGE-2 и COX-2 осуществляется и миофибробластами [43, 86]. Усиление продукции COX-2 сочетается с экспрессией EGFR, что также усиливает риск малигнизации.

Наконец, экспрессия TLRs (в частности TLR-4) может изменять и адгезивные свойства ОК, что может быть обусловлено различными механизмами: активацией системы урокиназы — активатора плазминогена и NF-κB [87].

**Индукция супрессорных клеток.** Одной из важных особенностей TLRs является их способность участвовать в регуляции T-reg. В микроокружении опухоли они индуцируют активность этих клеток, подавляют противоопухолевый ответ и оказывают негативное влияние на результаты иммунотерапии; вследствие активации T-reg нарушается баланс между этой субпопуляцией и другими CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитами [88]. Заслуживает большого внимания факт, в соответствии с которым молекулы многих некротизированных ОК могут быть лигандами для TLR-4, который стимулирует супрессорную субпопуляцию лимфоцитов MDSC — Gr-1<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>F4/80<sup>+</sup>; последние, в свою очередь, индуцируют апоптоз только активированных T-клеток. Стимуляция супрессорных клеток сопровождается выделением больших количеств аргиназы 1, IL-10, NO-синтазы 2, IL-12 (лиганды TLR-4), а блокада TLR-4 защищает от указанных негативных последствий его активации [89].

**Участие в апоптозе и резистентности.** Взаимодействие TLRs со своими лигандами может также оказывать влияние на апоптоз и формирование резистентности как к киллерному действию эффекторных клеток, так и химиопрепаратам. В этом плане несомненный интерес вызывают работы с изучением клеток рака яичника. В частности, работами T. Whiteside и соавторов показано, что клетки нормального эпителия яичника практически не экспрессируют TLR-4; уровень экспрессии в клетках рака яичника и различных линиях колеблется; инкубация с LPS приводит к усилению пролиферации ОК; инкубация с паклитаксолом и LPS усиливает выделение IL-8, IL-6, VEGF и приводит к развитию резистентности к апоптозу, индуцированному химиопрепаратом [79]. Не менее значима и способность TLR-4, активированного LPS, усиливать побочные эффекты цисплатина с увеличением экспрессии этого рецептора в ткани ушного

лабиринта [90]. Экспрессию TLR-4 клетками рака яичника при участии адапторного белка MyD88, которая сочетается с усилением роста, является фактором формирования резистентности, в частности, к паклитакселу и коррелирует с экспрессией антиапоптотических молекул, а взаимодействие TLR-4 со своими лигандами сопровождается выделением IL-6, TNF- $\alpha$  [69].

Антиапоптотический эффект экспрессии другого рецептора — TLR-9 — отмечен при изучении клеток рака легкого человека и различных линий этой опухоли [91]. Наконец, экспрессия этого рецептора может быть связана не только с формированием резистентности к химиопрепаратам и киллерным клеткам, но и с усилением побочных эффектов химиопрепаратов, что показано при активации TLR-4 клеток рака легкого LPS и развитием резистентности к TNF- $\alpha$ - и TRAIL-индуцированному апоптозу [92].

**TLRs и гипоксия.** Одним из сравнительно новых представлений о TLRs является предположение, что их экспрессия может модулироваться гипоксией на уровне транскрипции [93]. К сожалению, соответствующая информация еще крайне мало отражена в литературе, но описаны некоторые молекулярные механизмы, которые рассматриваются как характерные для TLRs в условиях гипоксии при любой патологии, включая рак. Во-первых, продемонстрировано, что в условиях гипоксии в TLR-2 и TLR-6 выявляют участок связывания с HIF-1 [93]. Во-вторых, при LPS-индуцированной активации TLR-4 его сигнальные пути перекрещиваются с HIF-1 $\alpha$  и ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase), что показано в клетках миелоидной моноцитарной лейкемии человека (линия THP-1); оба пути опосредуются активацией протеинкиназы [94, 95]. В-третьих, HIF-1 $\alpha$  играет важную роль в TLR-4-зависимом выделении провоспалительных цитокинов [96]. В-четвертых, выяснилось, что в условиях гипоксии аденозин, который является синергистом — A2AR, взаимодействует со своим рецептором — A2AR, что приводит к повышению экспрессии VEGF макрофагами мышей; синергизмом с A2AR обладают и TLR-2, TLR-7, TLR-9, но не TLR-5 и TLR-3 [97]. Исключительный интерес представляет работа, выполненная на большом клиническом материале (аденокарцинома поджелудочной железы), в которой показано, что у больных с этой опухолью наблюдается экспрессия TLR-4, повышение уровня HIF-1 $\alpha$  и активация NF- $\kappa$ B. Авторы заключают, что TLR-4 и HIF-1 $\alpha$  являются синергистами в усилении роста аденокарциномы поджелудочной железы человека [98].

Наконец, HIF-1 $\alpha$  накапливается в макрофагах, что приводит к повышению выживаемости миелоидзависимых макрофагов человека и поддерживает продукцию этими клетками провоспалительных цитокинов в условиях активации TLR-7 и TLR-8 [99] (рис. 6).

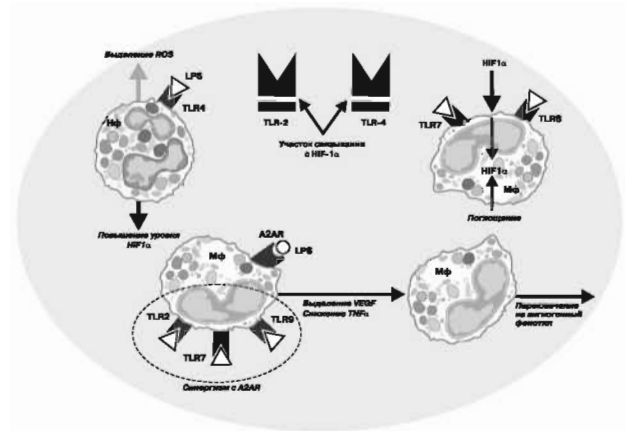


Рис. 6. Взаимодействие TLRs с различными клетками в условиях гипоксии

**Генетические изменения TLRs.** В настоящее время получены убедительные доказательства, что при многих опухолях существуют изменения в генах, контролирующих TLRs, что может рассматриваться как фактор риска развития опухоли. Так, при исследовании больных карциномой желудка различной локализации и рака пищевода выявлен полиморфизм гена *TLR-4*, что сочеталось с инфекцией *H. pylori*. Сравнительный анализ особенностей гена *TLR-4* в клетках различных опухолей желудка привел к заключению, что функциональный полиморфизм этого гена может быть фактором риска развития карциномы желудка и предшествующих ей состояний; исключение составляет область привратника [100]. Известно, что раку кишечника нередко предшествуют колиты, и такие опухоли диагностируют как колитассоциированные. В опытах на мышах с генетическими нарушениями (ослабление экспрессии *TLR-4*) развитие рака кишечника существенно снижено. Сделан вывод, что нейтрализация сигналов, осуществляемых с помощью TLR-4, может быть защитой от колитассоциированного рака [101]. С полиморфизмом генов, кодирующих *TLR-6* и *TLR-10*, связывают риск развития рака предстательной железы [102]. Полиморфизм гена *TLR-9* может быть фактором риска и при таких опухолях, как назофарингеальная карцинома и карцинома желудка [103].

На основании изучения генов *TLR-2*, *TLR-3*, *TLR-4*, *TLR-5* и др. у больных с меланомой кожи удалось выявить гаплотип гена *TLR-4* (TLR-4 rs2149356), наличие которого ассоциируется со слабым риском развития меланомы кожи [104].

Наряду с достаточно широким участием TLRs в усилении роста опухоли в отдельных случаях отмечали гибель ОК. Такое действие на рост опухоли также осуществляется с участием различных механизмов, в частности проявлением выраженного проапоптотического и противовоспалительного действия.

**Индукция апоптоза.** Исследование клеток рака молочной железы выявило, что экспрессия TLR-3 сопровождается апоптозом этих клеток при уча-



стии адапторной молекулы TRIF, а использование dsRNA TLR-3 сочеталось с выраженным эффектом торможения роста опухоли и выделением INF- $\beta$  [105]. Экспрессия TLR-3 и ее значение для роста опухоли исследовалась при использовании различных клеток меланомы: первичных опухолей, отдельных линий, а также нормальных меланоцитов. Выявлено, что клетки многих линий первичных опухолей и нормальные меланоциты экспрессировали TLR-3, однако уровень этой экспрессии клетками меланомы был выше с различиями в уровне экспрессии отдельных клеток первичной опухоли. Использование синтетического аналога dsRNA и лиганда TLR-3 оказывало выраженное проапоптотическое действие. Отмечено также, что TLR-3 является эффективным индуктором внутриклеточных антимикробных субстанций, которые могут проявлять себя как адьюванты, и поэтому TLR-3 может быть охарактеризован как мультифункциональный адьювант, способный усиливать эффективность иммунотерапии [83].

**Ингибция воспаления.** Иллюстрацией ингибции воспаления могут служить и данные изучения TLR-8 у трансгенных мышей: активация этого рецептора сопровождается ингибцией воспаления слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта — свидетельство негативной регуляции TLR-8 интестинального воспаления и его роли в контроле за развитием малигнизации при хроническом воспалении в кишечнике [106].

Таким образом, влияние TLRs на рост опухоли неоднозначно (как стимуляция, так и ингибция), и механизмы этого влияния подлежат дальнейшему изучению. На примере клеток рака легкого показано разнонаправленность влияния TLR-4 (рис. 7).

### TLRs КАК МИШЕНИ ИММУНОТЕРАПИИ

Современный уровень представлений о роли TLRs в опухолевом процессе послужил основанием для формирования новых подходов к иммунотерапии. Такие подходы могут реализовываться в двух направлениях: 1) воздействие на TLRs, которые экспрессируются ОК, и 2) влияние на TLRs клеток систе-

мы иммунитета. Примером первого могут быть работы с внутритуморальным введением агониста TLR-2/TLR-6 — липопептида-2 макрофагов больным с карциномой поджелудочной железы, что приводило (1-я фаза клинических испытаний) к выраженному увеличению продолжительности жизни [107]. Положительные результаты получены и при применении CpG ODN — лиганда TLR-9 (1-я фаза клинических испытаний) при часто рецидивирующих глиобластомах [108]. Имеется и опыт локального применения (внутритуморально и подкожно) CpG ODN при нейробластоме у мышей и крыс с выраженным повышением выживаемости, которая связана с активацией каспазозависимого апоптоза [109]. Предполагается, что положительный эффект введения CpG ODN обусловлен локальным изменением инфильтрации лимфоцитами, преимущественно за счет снижения CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> субпопуляции лимфоцитов [110]. Основываясь на факте, что экспрессия TLR-3 сочетается с ингибцией пролиферации и гибелью клеток меланомы, были использованы агонисты TLR-3 в 2 вариантах: 1) сочетанное применение агонистов в комбинации с INF I типа; 2) использование агонистов в качестве адьюванта при получении противораковых вакцин. Результаты применения агонистов показали определенную результативность и привели к заключению, что они могут быть использованы не только благодаря их иммуностимулирующему, но и цитостатическому, и цитотоксическому действию [83].

В реализации второго направления показано, что при воздействии на TLRs клеток системы иммунитета возможно усиление врожденного и приобретенного иммунитета, что продемонстрировано при использовании воздействия на TLRs, в частности, дендритных клеток при применении лиганда TLR-9 — олигодоксинуклеотида у больных меланомой [111, 112]. Оптимистические результаты получены при комбинированном внутритуморальном введении агонистов TLR-3 и TLR-9 в комбинации с Т-лимфоцитами, активированными антигеном меланомы gp100 [113]. Имеется опыт воздействия и на TLR-7 дендритных клеток; стимуляция этого

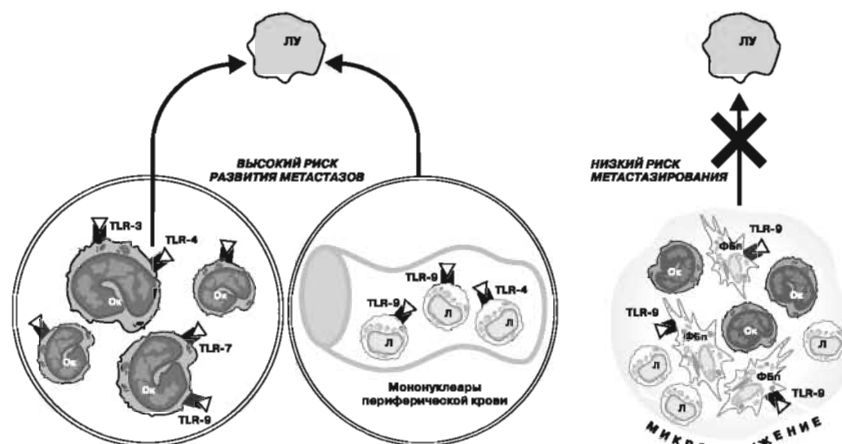


Рис. 7. Неоднозначность значения экспрессии TLRs клетками больных плоскоклеточной карциномой



рецептора ассоциируется с изменением миграции дендритных клеток, а использование таких клеток, нагруженных антигенами меланомы в комплексе с агонистами TLR-7, приводило к усилению противоопухолевой активности, преимущественно за счет активации CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [114].

Известно и о применении вакцины с использованием белков теплового шока, которые являются лигандами для некоторых TLRs. Показано, что эффект такой вакцины в отношении различных эпителиальных опухолей зависит от сигналов, осуществляемых через TLR-2 и TLR-3; в этих случаях в формирование противоопухолевой защиты включается и сквенджер-рецептор эндотелиальных клеток — SREC-1 [115].

Определено еще одно направление — генно-инженерная модификация дефектов TLRs, что показано на многих экспериментальных моделях (карцинома кишечника, аденокарцинома молочной железы, остеосаркома) [116].

Таким образом, в настоящее время существует достаточно возможностей для осуществления модуляции активности различных TLRs. Такие возможности определили и синтезирование различных синтетических как агонистов, так и антагонистов действия TLRs — препаратов, которые уже сегодня проходят клинические испытания и представляют собой один из новых направлений фармакологической промышленности.

## ВЫВОДЫ

Подводя итоги, можно констатировать следующее: TLRs — важнейшие регуляторы врожденного и приобретенного иммунитета; экспрессия TLRs имеет значение не только для регуляции клеток системы иммунитета, но и других органов и систем; TLRs экспрессируются ОК и могут включаться в различные этапы опухолевого процесса; взаимодействие TLRs ОК со своими лигандами может проявляться стимуляцией и ингибированием роста опухоли с превалированием стимулирующих влияний; стимуляция роста опухоли в результате взаимодействия TLRs со своими лигандами обеспечивается различными механизмами; TLRs могут рассматриваться как мишени для иммунотерапии.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Xu Y, Tao X, Shen B, *et al.* Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains. *Nature* 2000; **408**: 111–5.
- Mijares LA, Medzhitov R, Kazmierczak BI, *et al.* Airway epithelial MyD88 restores control of *Pseudomonas aeruginosa* murine infection via an IL-1-dependent pathway. *J Immunol* 2011; **186** (12): 7080–8.
- Bortoluci KR, Medzhitov R. Control of infection by pyroptosis and autophagy: role of TLR and NLR. *Cell Mol Life Sci* 2010.
- Heldwein KA, Liang MD, Andresen TK, *et al.* TLR2 and TLR4 serve distinct roles in the host immune response against *Mycobacterium bovis* BCG. *J Leukoc Biol* 2003; **74** (2): 277–86.
- Kuhlicke J, Frick JS, Morote-Garcia JC, *et al.* Hypoxia inducible factor (HIF)-1 coordinates induction of Toll-like receptors TLR2 and TLR6 during hypoxia. *PLoS One* 2007; **2**: 1364.
- Wan Y, Xiao H, Affolter J, *et al.* Interleukin-1 receptor-associated kinase 2 is critical for lipopolysaccharide-mediated post-transcriptional control. *J Biol Chem* 2009; **284** (16): 10367–75.
- Basith S, Manavalan B, Lee G, *et al.* Toll-like receptor modulators: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2011; **21** (6): 927–44.
- Hasan UA, Trinchieri G, Vlach J. Toll-like receptor signaling stimulates cell cycle entry and progression in fibroblasts. *J Biol Chem* 2005; **280** (21): 20620–7.
- Palm NW, Medzhitov R. Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity. *Immunol Rev* 2009; **227** (1): 221–33.
- Тухватуллин АИ, Логунов ДЮ, Щербинин ДН. Toll-подобные рецепторы и их адапторные молекулы. *Биохимия* 2010; **75** (9): 1224–43.
- McGettrick AF, O'Neill LA. Localisation and trafficking of Toll-like receptors: an important mode of regulation. *Curr Opin Immunol* 2010; **22** (1): 20–7.
- Barton GM, Medzhitov R. Toll-like receptor signaling pathways. *Science* 2003; **300**: 1524–5.
- Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; **87** (6): 2095–147.
- Riva F, Bonavita E, Barbati E, *et al.* TIR8/SIGIRR is an interleukin-1 receptor/Toll like receptor family member with regulatory functions in inflammation and immunity. *Front Immunol* 2012; **3**: 322.
- O'Neill LA. Primer: Toll-like receptor signaling pathways — what do rheumatologists need to know? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008; **4**: 319–27.
- Park SM, Ko HJ, Shim DH, *et al.* MyD88 signaling is not essential for induction of antigen-specific B cell responses but is indispensable for protection against *Streptococcus pneumoniae* infection following oral vaccination with attenuated *Salmonella* expressing PspA antigen. *J Immunol* 2008; **181** (9): 6447–55.
- Engel AL, Holt GE, Lu H. The pharmacokinetics of Toll-like receptor agonists and the impact on the immune system. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2011; **4** (2): 275–89.
- Liu Y, Chen H, Sun Y, Chen F. Antiviral role of Toll-like receptors and cytokines against the new 2009 H1N1 virus infection. *Mol Biol Rep* 2012; **39** (2): 1163–1172.
- Yonkers NL, Rodriguez B, Asaad R, *et al.* Systemic immune activation in HIV infection is associated with decreased MDC responsiveness to TLR ligand and inability to activate naive CD4 T-cells. *PLoS One* 2011; **6** (9): e23884.
- Wolska A, Lech-Maranda E, Robak T. Toll-like receptors and their role in hematologic malignancies. *Curr Mol Med* 2009; **9** (3): 324–35.
- Huang LY, Dumontelle JL, Zolodz M, *et al.* Use of toll-like receptor assays to detect and identify microbial contaminants in biological products. *J Clin Microbiol* 2009; **47** (11): 3427–34.
- Mashima R, Saeki K, Yoshimura A, *et al.* FLN29, a novel interferon- and LPS-inducible gene acting as a negative regulator of toll-like receptor signaling. *J Biol Chem* 2005; **280** (50): 41289–97.
- Jain S, Chodisetti SB, Agrewala JN, *et al.* CD40 signaling synergizes with TLR-2 in the BCR independent activation of resting B cells. *PLoS One* 2011; **6**: 20651.
- Wang Y, Lehner T. Induction of innate immunity in control of mucosal transmission of HIV. *Curr Opin HIV AIDS* 2011; **6** (5): 398–404.
- Mishra BB, Gundra UM, Teale JM. Expression and distribution of Toll-like receptors 11–13 in the brain during murine neurocysticercosis. *J Neuroinflammation* 2008; **5**: 53.
- Hanisch UK, Johnson TV, Kipnis J. Toll-like receptors: roles in neuroprotection? *Trends Neurosci* 2008; **31** (4): 176–82.
- Holley MM, Zhang Y, Lehmann E, *et al.* Toll-like receptor 2 (TLR2)-TLR9 crosstalk dictates IL-12 family cytokine production in microglia. *Glia* 2012; **60** (1): 29–42.

28. Salem ML, El-Naggar SA, Cole DJ. Cyclophosphamide induces bone marrow to yield higher numbers of precursor dendritic cells *in vitro* capable of functional antigen presentation to T cells *in vivo*. *Cell Immunol* 2010; **261** (2): 134–43.
29. Asproditis N, Zheng L, Geng D, *et al.* Engagement of Toll-like receptor-2 on cytotoxic T-lymphocytes occurs *in vivo* and augments antitumor activity. *FASEB J* 2008; **22** (10): 3628–3637.
30. Pasare C, Medzhitov R. Toll-dependent control mechanisms of CD4 T cell activation. *Immunity* 2004; **21** (5): 733–41.
31. Lin Q, Li M, Fang D, *et al.* The essential roles of Toll-like receptor signaling pathways in sterile inflammatory diseases. *Int Immunopharm* 2011; **11** (10): 1422–32.
32. Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors: balancing host resistance with immune tolerance. *Curr Opin Immunol* 2003; **15** (6): 677–82.
33. Macedo L, Pinhal-Enfield G, Alshits V, *et al.* Wound healing is impaired in MyD88-deficient mice: a role for MyD88 in the regulation of wound healing by adenosine A2A receptors. *Am J Pathol* 2007; **171** (6): 1774–88.
34. Crellin NK, Garcia RV, Hadisfar O, *et al.* Human CD4+ T cells express TLR5 and its ligand flagellin enhances the suppressive capacity and expression of FOXP3 in CD4+CD25+ T regulatory cells. *J Immunol* 2005; **175** (12): 8051–9.
35. Suttmuller RP, Morgan ME, Netea MG, *et al.* Toll-like receptors on regulatory T cells: expanding immune regulation. *Trends Immunol* 2006; **27** (8): 387–93.
36. Hasan UA, Trinchieri G, Vlach J. Toll-like receptor signaling stimulates cell cycle entry and progression in fibroblasts. *J Biol Chem* 2005; **280** (21): 20620–7.
37. Jung YO, Cho ML, Lee SY, *et al.* Synergism of toll-like receptor 2 (TLR2), TLR4, and TLR6 ligation on the production of tumor necrosis factor (TNF)-alpha in a spontaneous arthritis animal model of interleukin (IL)-1 receptor antagonist-deficient mice. *Immunol Lett* 2009; **123** (2): 138–43.
38. Zhou M, McFarland-Mancini MM, Funk HM, *et al.* Toll-like receptor expression in normal ovary and ovarian tumors. *Cancer Immunol Immunother* 2009; **58** (9): 1375–85.
39. Lu Q, Darveau RP, Samaranayake LP, *et al.* Differential modulation of human [beta]-defensins expression in human gingival epithelia by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide with tetra- and penta-acylated lipid A structures. *Innate Immunol* 2009; **15** (6): 325–35.
40. Le Mandat Schultz A, Bonnard A, Barreau F, *et al.* Expression of TLR-2, TLR-4, NOD2 and pNF-kappaB in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis. *PloS One* 2007; **2**: 1102.
41. Aoki MP, Carrera-Silva EA, Cuervo H, *et al.* Nonimmune Cells Contribute to Crosstalk between Immune Cells and Inflammatory Mediators in the Innate Response to Trypanosoma cruzi Infection. *J Parasitol Res* 2012; **10**: 13.
42. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; **357**: 539–45.
43. Oshima H, Oshima M, Inaba K, Taketo MM. Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mP-GES-1 transgenic mice. *EMBO J* 2004; **23** (7): 1669–78.
44. Kumar Pachathundikandi S, Brandt S, Madassery J, Backert S. Induction of TLR-2 and TLR-5 expression by *Helicobacter pylori* switches cagPAI-dependent signalling leading to the secretion of IL-8 and TNF- $\alpha$ . *PloS One* 2011; **6**: 19614.
45. Smith SM, Moran AP, Duggan SP, *et al.* Tribbles 3: a novel regulator of TLR2-mediated signaling in response to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *J Immunol* 2011; **186** (4): 2462–71.
46. Ng M.T, Van't Hof R, Hold GL, *et al.* Increase in NF-kappaB binding affinity of the variant C allele of the toll-like receptor 9 -1237T/C polymorphism is associated with *Helicobacter pylori*-induced gastric disease. *Infect Immun* 2010; **78** (3): 1345–52.
47. Fukata M, Abreu MT. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies. *Oncogene* 2008; **27** (2): 234–43.
48. Huang B, Zhao J, Shen S, *et al.* Listeria monocytogenes promotes tumor growth via tumor cell toll-like receptor 2 signaling. *Cancer Res* 2007; **67** (9): 4346–52.
49. Machida K. TLRs, Alcohol, HCV, and Tumorigenesis. *Gastroenterol Res Pract* 2010; **10**: 8.
50. Iwakiri D, Takada K. Role of EBERs in the pathogenesis of EBV infection. *Adv Cancer Res* 2010; **107**: 119–36.
51. Siennicka J, Trzcinska A, Czescic A, Dunal M. Toll-like receptors expression on Burkitt lymphoma cells. *Med Dosw Mikrobiol* 2011; **63** (4): 349–54.
52. Kundu SD, Lee C, Billips BK, *et al.* The toll-like receptor pathway: a novel mechanism of infection-induced carcinogenesis of prostate epithelial cells. *Prostate* 2008; **68** (2): 223–9.
53. Littman AJ, Jackson LA, White E, *et al.* Interlaboratory reliability of microimmunofluorescence test for measurement of Chlamydia pneumoniae-specific immunoglobulin A and G antibody titers. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; **11** (3): 615–7.
54. Remmelts HH, Meijvis SC, Biesma DH, *et al.* Dexamethasone downregulates the systemic cytokine response in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Vaccine Immunol* 2012; **19** (9): 1532–8.
55. H Salim OE, Hamid HK, Mekki SO, *et al.* Colorectal carcinoma associated with schistosomiasis: a possible causal relationship. *World J Surg Oncol* 2010; **8**: 68.
56. Shacter E, Weitzman SA. Chronic inflammation and cancer. *Oncology (Williston Park)* 2002; **16** (2): 217–26.
57. Hasan A, Sadoh D, Palmer R, *et al.* The immune response to human and microbial heat shock proteins in periodontal disease with and without coronary heart disease. *Clin Exp Immunol* 2005; **142** (3): 585–94.
58. Szczepanski MJ, Czystowska M, Zeromski J, *et al.* Triggering of Toll-like receptor 4 expressed on human head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor development and protects the tumor from immune attack. *Cancer Res* 2009; **69** (7): 3105–13.
59. Yu L, Wang L, Chen S. Exogenous or endogenous Toll-like receptor ligands: which is the MVP in tumorigenesis? *Cell Mol Life Sci* 2012; **69** (6): 935–49.
60. Ivesaro JM, Merrell MA, Swain TM, *et al.* Toll like receptor-9 agonists stimulate prostate cancer invasion *in vitro*. *Prostate* 2007; **67** (7): 774–81.
61. Cherfils-Vicini J, Platonova S, Gillard M, *et al.* Triggering of TLR7 and TLR8 expressed by human lung cancer cells induces cell survival and chemoresistance. *J Clin Invest* 2010; **120** (4): 1285–97.
62. Zeromski J, Mozer-Lisewska I, Kaczmarek M. Significance of toll-like receptors expression in tumor growth and spreading: a short review. *Cancer Microenviron* 2008; **1** (1): 37–42.
63. Yang H, Zhou H, Feng P, *et al.* Reduced expression of Toll-like receptor 4 inhibits human breast cancer cells proliferation and inflammatory cytokines secretion. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; **29** (1): 92.
64. Bilko D. Toll-like receptor expression in cell lines and primary tumour material. *Наукові записки НАУКМА* 2008; **80**: 15–7.
65. Petricevic B, Vrbanc D, Jakic-Razumovic J, *et al.* Expression of Toll-like receptor 4 and beta 1 integrin in breast cancer. *Med Oncol* 2012; **29** (2): 486–94.
66. Saint-Jean M, Knol AC, Nguyen JM, *et al.* TLR expression in human melanoma cells. *Eur J Dermatol* 2011; **21** (6): 899–905.
67. Núñez NG, Andreani V, Crespo MI, *et al.* IFN $\beta$  produced by TLR4-activated tumor cells is involved in improving the antitumoral immune response. *Cancer Res* 2012; **72** (3): 592–603.
68. Sheyhidin I, Nabi G, Hasim A, *et al.* Overexpression of TLR-3, TLR-4, TLR-7 and TLR-9 in esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; **17** (32): 3745–51.
69. Kelly MG, Alvero AB, Chen R, *et al.* TLR-4 signaling promotes tumor growth and paclitaxel chemoresistance in ovarian cancer. *Cancer Res* 2006; **66** (7): 3859–68.



70. **Chen X, Wang S, Liu L, et al.** A genetic variant in the promoter region of Toll-like receptor 9 and cervical cancer susceptibility. *DNA Cell Biol* 2012; **31** (5): 766–71.
71. **Gatti G, Quintar AA, Andreani V, et al.** Expression of Toll-like receptor 4 in the prostate gland and its association with the severity of prostate cancer. *Prostate* 2009; **69** (13): 1387–97.
72. **Grauer OM, Molling JW, Bennink E et al.** TLR ligands in the local treatment of established intracerebral murine gliomas. *J Immunol* 2008; **181** (10): 6720–9.
73. **El Andaloussi A, Sonabend AM, Han Y, Lesniak MS.** Stimulation of TLR9 with CpG ODN enhances apoptosis of glioma and prolongs the survival of mice with experimental brain tumors. *Glia* 2006; **54** (6): 526–35.
74. **Jego G, Bataille R, Geffroy-Luseau A, et al.** Pathogen-associated molecular patterns are growth and survival factors for human myeloma cells through Toll-like receptors. *Leukemia* 2006; **20** (6): 1130–7.
75. **Guillot L, Medjane S, Le-Barillec K, et al.** Response of human pulmonary epithelial cells to lipopolysaccharide involves Toll-like receptor 4 (TLR4)-dependent signaling pathways: evidence for an intracellular compartmentalization of TLR4. *J Biol Chem* 2004; **279** (4): 2712–8.
76. **Jack CS, Arbour N, Manusow J, et al.** TLR signaling tailors innate immune responses in human microglia and astrocytes. *J Immunol* 2005; **175** (7): 4320–30.
77. **Hassan F, Islam S, Tumurkhuu G, et al.** Intracellular expression of toll-like receptor 4 in neuroblastoma cells and their unresponsiveness to lipopolysaccharide. *BMC Cancer* 2006; **6**: 281.
78. **Schromm AB, Lien E, Henneke P, et al.** Molecular genetic analysis of an endotoxin nonresponder mutant cell line: a point mutation in a conserved region of MD-2 abolishes endotoxin-induced signaling. *J Exp Med* 2001; **194** (1): 79–88.
79. **Szajnik M, Szczepanski MJ, Whiteside TL, et al.** TLR4 signaling induced by lipopolysaccharide or paclitaxel regulates tumor survival and chemoresistance in ovarian cancer. *Oncogene* 2009; **28** (49): 4353–63.
80. **Huang B, Zhao J, Li H, et al.** Toll-like receptors on tumor cells facilitate evasion of immune surveillance. *Cancer Res* 2005; **65** (12): 5009–14.
81. **Goto Y, Arigami T, Kitago M, et al.** Activation of Toll-like receptors 2, 3, and 4 on human melanoma cells induces inflammatory factors. *Mol Cancer Ther* 2008; **7** (11): 3642–53.
82. **Molteni M, Marabella D, Orlandi C, Rossetti C.** Melanoma cell lines are responsive *in vitro* to lipopolysaccharide and express TLR-4. *Cancer Lett* 2006; **235** (1): 75–83.
83. **Salaun B, Lebecque S, Matikainen S, et al.** Toll-like receptor 3 expressed by melanoma cells as a target for therapy? *Clin Cancer Res* 2007; **13**: 4565–74.
84. **Fukata M, Abreu MT.** TLR4 signalling in the intestine in health and disease. *Biochem Soc Trans* 2007; **35** (Pt. 6): 1473–8.
85. **Fukata M, Chen A, Klepper A, et al.** Cox-2 is regulated by Toll-like receptor-4 (TLR4) signaling: Role in proliferation and apoptosis in the intestine. *Gastroenterology* 2006; **131** (3): 862–77.
86. **Otte JM, Cario E, Podolsky DK.** Mechanisms of cross hyporesponsiveness to Toll-like receptor bacterial ligands in intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2004; **126** (4): 1054–70.
87. **Killeen SD, Wang JH, Andrews EJ, Redmond HP.** Bacterial endotoxin enhances colorectal cancer cell adhesion and invasion through TLR-4 and NF-kappaB-dependent activation of the urokinase plasminogen activator system. *Br J Cancer* 2009; **100** (10): 1589–602.
88. **Gao D, Wang R, Li B, et al.** WDR34 is a novel TAK1-associated suppressor of the IL-1R/TLR3/TLR4-induced NF-kappaB activation pathway. *Cell Mol Life Sci* 2009; **66** (15): 2573–84.
89. **Liu YY, Sun LC, Wei JJ, et al.** Tumor cell-released TLR-4 ligands stimulate Gr-1+CD11b+F4/80+ cells to induce apoptosis of activated T cells. *J Immunol* 2010; **185** (5): 2773–82.
90. **Oh GS, Kim HJ, Choi JH, et al.** Activation of lipopolysaccharide-TLR4 signaling accelerates the ototoxic potential of cisplatin in mice. *J Immunol* 2011; **186** (2): 1140–50.
91. **Droemann D, Goldmann T, Tiedje T, et al.** Toll-like receptor 2 expression is decreased on alveolar macrophages in cigarette smokers and COPD patients. *Respir Res* 2005; **6**: 68.
92. **He W, Liu Q, Wang L, et al.** TLR4 signaling promotes immune escape of human lung cancer cells by inducing immunosuppressive cytokines and apoptosis resistance. *Mol Immunol* 2007; **44**: 2850–9.
93. **Kuhlicke J, Frick JS, Morote-Garcia JC, et al.** Hypoxia inducible factor (HIF)-1 coordinates induction of Toll-like receptors TLR2 and TLR6 during hypoxia. *PLoS One* 2007; **2**: 1364.
94. **Nicholas SA, Burbnov VV, Yasinska IM, Sumbayev VV.** Involvement of xanthine oxidase and hypoxia-inducible factor 1 in Toll-like receptor 7/8-mediated activation of caspase 1 and interleukin-1 $\beta$ . *Cell Mol Life Sci* 2011; **68** (1): 151–8.
95. **Nicholas SA, Sumbayev VV.** The involvement of hypoxia-inducible factor 1 alpha in Toll-like receptor 7/8-mediated inflammatory response. *Cell Res* 2009; **19** (8): 973–83.
96. **Lall H, Coughan K, Sumbayev VV.** HIF-1alpha protein is an essential factor for protection of myeloid cells against LPS-induced depletion of ATP and apoptosis that supports Toll-like receptor 4-mediated production of IL-6. *Mol Immunol* 2008; **45** (11): 3045–9.
97. **Ramanathan M, Luo W, Csoka B, et al.** Differential regulation of HIF-1alpha isoforms in murine macrophages by TLR4 and adenosine A(2A) receptor agonists. *J Leukoc Biol* 2009; **86** (3): 681–9.
98. **Zhang JJ, Wu HS, Wang L, et al.** Expression and significance of TLR4 and HIF-1alpha in pancreatic ductal adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; **16**: 2881–8.
99. **Nicholas SA, Sumbayev VV.** The role of redox-dependent mechanisms in the downregulation of ligand-induced Toll-like receptors 7, 8 and 4-mediated HIF-1 alpha prolyl hydroxylation. *Immunol Cell Biol* 2010; **88** (2): 180–6.
100. **Hold GL, Rabkin CS, Chow WH, et al.** A functional polymorphism of toll-like receptor 4 gene increases risk of gastric carcinoma and its precursors. *Gastroenterology* 2007; **132** (3): 905–12.
101. **Fukata M, Abreu MT.** TLR4 signalling in the intestine in health and disease. *Biochem Soc Trans* 2007; **35** (Pt. 6): 1473–8.
102. **Sun J, Wiklund F, Hsu FC, et al.** Interactions of sequence variants in interleukin-1 receptor-associated kinase4 and the toll-like receptor 6–1–10 gene cluster increase prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; **15** (3): 480–85.
103. **Huang B, Wang Z, Xing C, et al.** Long-term survival results and prognostic factors of early gastric cancer. *Exp Ther Med* 2011; **2** (6): 1059–64.
104. **Gast A, Bernejo JL, Claus R, et al.** Association of inherited variation in Toll-like receptor genes with malignant melanoma susceptibility and survival. *PLoS One* 2011; **6**: 4370.
105. **Salaun B, Zitvogel L, Asselin-Paturel C, et al.** TLR3 as a biomarker for the therapeutic efficacy of double-stranded RNA in breast cancer. *Cancer Res* 2011; **71** (5): 1607–14.
106. **Garlanda C, Di Liberto D, Vecchi A, et al.** Damping excessive inflammation and tissue damage in Mycobacterium tuberculosis infection by Toll IL-1 receptor 8/single Ig IL-1-related receptor, a negative regulator of IL-1/TLR signaling. *J Immunol* 2007; **179** (5): 3119–25.
107. **Zeckey C, Tschernig T, Hildebrand F, et al.** Macrophage-activating lipopeptide-2 exerts protective effects in a murine sepsis model. *Shock* 2010; **33** (6): 614–9.
108. **Roux S, Bernat C, Al-Sakere B, et al.** Tumor destruction using electrochemotherapy followed by CpG oligodeoxynucleotide injection induces distant tumor responses. *Cancer Immunol Immunother* 2008; **57** (9): 1291–300.
109. **Brignole C, Marimpietri D, Di Paolo D, et al.** Therapeutic targeting of TLR9 inhibits cell growth and induces apoptosis in neuroblastoma. *Cancer Res* 2010; **70** (23): 9816–26.
110. **Marsh BJ, Stenzel-Poore MP.** Toll-like receptors: novel pharmacological targets for the treatment of neurological diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2008; **8** (1): 8–13.

111. **Idoyaga J, Moreno J, Bonifaz L.** Tumor cells prevent mouse dendritic cell maturation induced by TLR ligands. *Cancer Immunol Immunother* 2007; **56** (8): 1237–50.

112. **Pashenkov M, Goëss G, Wagner C, et al.** Phase II trial of a toll-like receptor 9-activating oligonucleotide in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2006; **24** (36): 5716–24.

113. **Amos SM, Pegram HJ, Westwood JA, et al.** Adoptive immunotherapy combined with intratumoral TLR agonist delivery eradicates established melanoma in mice. *Cancer Immunol Immunother* 2011; **60** (5): 671–83.

114. **Prins RM, Craft N, Bruhn KW, et al.** The TLR-7 agonist, imiquimod, enhances dendritic cell survival and promotes tumor antigen-specific T cell priming: relation to central nervous system antitumor immunity. *J Immunol* 2006; **176** (1) 157–64.

115. **Gong J, Zhu B, Murshid A, et al.** T cell activation by heat shock protein 70 vaccine requires TLR signaling and scavenger receptor expressed by endothelial cells-1. *J Immunol* 2009; **183** (5): 3092–8.

116. **Tesniere A, Apetoh L, Ghiringhelli F, et al.** Immunogenic cancer cell death: a key-lock paradigm. *Curr Opin Immunol* 2008; **20** (5): 504–11.

## TOLL-LIKE-RECEPTORS AND ONCOGENESIS

*N.M. Berezhnaya*

**Summary.** *In this review is presented general information about TLRs, their properties, ligands and regulation of acquired and innate immunity. The main attention*

*is given to role of TLRs expression by different human and animal tumor cells and influence of their activation on tumor growth. According to ambiguity of influence of TLRs activation tumor cells is viewed possible mechanisms of this influence. In particular: production of pro-inflammatory substancions, induction of suppressor cells activity, participation in appoptosis and resistance development, role of hypoxy in TLRs activity etc. Also, in this review are dicussed the question about possibility to use TLRs as target of therapy whith the help of agonists and antagonists.*

**Key words:** TLRs, aquired and innate immunity, infection, inflammation, oncogenesis, target of therapy.

### Адрес для переписки:

Бережная Н.М.  
03022, Киев, ул. Васильковская, 45  
Институт экспериментальной патологии,  
онкологии и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины  
E-mail: berezh@onconet.kiev.ua

Получено: 21.05.2013