

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОЛИ CD14 В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК

Карагандинский государственный университет имени академика Е.А. Букетова,
Казахстан

CD14 - мембранный гликозилфосфатидилинозитол-связанный белок, экспрессированный на поверхности клеток миелоидного ряда, особенно макрофагах, компонент рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2, распознающего липополисахарид. Белок содержит 10 повторяющихся лейцин - богатых фрагментов. Ген CD14 кодирует две формы белка: 50 и 55 кДа. Белок 55 кДа (mCD14) содержит участок с гликозилфосфатидилинозитолом, который удерживает белок в мембране. Он служит ко-рецептором в клеточном рецепторном комплексе CD14/TLR4/MD2, который распознаёт бактериальный липополисахарид и участвует, таким образом, в иммунном ответе. Укороченная форма белка 50 кДа (sCD14) не содержит участка с якорем и является растворимым белком, который моноциты и клетки печени секретируют в кровь. Также связывает липополисахарид [1].

CD14 представляет собой рецептор распознавания структур. Важна роль молекулы во врожденном иммунитете. С момента своего открытия и последующей классификации в 1982 году молекулы CD14, была предложена идея о роли этого агента в качестве антигена лейкоцитами дифференцировки. Кроме того, стало ясно, что CD14 также экспрессируется многими немиелоидными клетками. В настоящее время рассматривается возможное влияние низкого количества копий CD14 на немиелоидные клетки. Обнаружено, что молекулы CD14, являются вездесущими и поэтому неправомерной, оказалась позиция о том, что они зависят только от миелоидных клеток [2].

Молекулы CD14 впервые были выявлены на поверхности моноцитов и макрофагов. На семинаре в Париже в 1982 году было выявлено несколько моноклональных антител, связывающиеся с тем же эпитопом на моноцитах человека, которые были обозначены как временный CD14 кластер. Первоначально его функцией была определена как антиген лейкоцитарной дифференцировки. Позже появились публикации, в которых сообщалось, что наблюдается уровень экспрессии CD14 на этих клетках порядка 30000-45000 копий. Другой очень тщательный анализ с использованием обоих эталонных структур и анализ Скэтчарда оценил, что число копий возможно больше: примерно 110000 молекул на 1 моноцит. Из-за его большого количества на этих клетках CD14 стали широко использовать в качестве маркера моноцитов и макрофагов в иммуногистохимии, а также в проточной цитометрии. CD14 представляет собой гликопротеин, весом 55 кДа, богатый множеством лейциновых повторов. Он кодируется геном, расположенным на хромосоме 5q23-31, вместе с IL-3, GM-CSF, который является эпидермальным фактором роста (ЭФР), бета-2-адренергическим рецептором и фактором роста тромбоцитов (PDGF). CD14 присоединяется к клеточной мембране с помощью

гликозилфосфотидилинозитольного (GPI) якоря, ген которого расположен в X - хромосоме [3].

CD14 является специфической молекулой с широким набором функций и ассоциаций. В настоящее время широко признано, что CD14 служит в качестве рецептора узнавания образцов врожденного иммунитета для различных лигандов, начиная от апоптотических клеток грибов, размножающихся в бактериях, а также части микробных клеточных стенок и даже целых бактерий. В частности, CD14 является самонаводящимся рецептором для LPS (эндотоксина) грамотрицательных бактерий. В естественных условиях применение анти-CD14 антитела защищает мышей и кроликов от смерти в результате эндотоксинового шока. В отличие от этого, трансгенные мыши экспрессируют дополнительный человеческий CD14 с повышенной чувствительностью к LPS28. Что касается других возможных физиологических ролей CD14, одним из наиболее интересных открытий было обнаружение его связи с IL-2 сигнализацией, по меньшей мере, в моноцитах. Было выявлено, что CD14, как небольшой GPI-привязанный гликопротеин, не смог сигнализировать. Поэтому должен был быть второй связанный мембранный белок, который остается недостижимым в течение длительного времени. И, наконец, человеческие Toll-подобные рецепторы (hTLR) были идентифицированы как это недостающее звено в передаче сигналов LPS.[4] Открытие девяти hTLR и исследование их роли в возникновении врожденного иммунитета стимулировали исследования по определению роли молекулы CD14. Проведенные эксперименты позволили выявить связь CD14, в том числе, различные полиморфизмы этой молекулы, с болезнями. В качестве примеров можно отметить следующее: полиморфизмы CD14 связаны с частотой и тяжестью сердечно-сосудистой системы; однако, при подробном рассмотрении обнаруживается в лучшем случае очень слабая корреляция CD14/-260T генотипа с атеросклерозом и коронарной недостаточностью. Дети, которые являются гомозиготными носителями полиморфизма гена CD14/-159 обладают значительно более высоким уровнем общего сывороточного IgE. Клинические исследования IC14 (анти-CD14 антитела) у людей с сепсисом продолжаются после получения первоначальных результатов [5].

Исследования ученых вывели также, что CD14 может играть определенную роль в резорбции кости через LPS-опосредованную дифференциацию остеокластов. И анти-CD14 моноклональные антитела, и антисмысловые олигонуклеотиды CD14 вместе не позволяли LPS провести резорбцию кости, индуцированную в мышинных эмбриональных костях свода черепа (cells47). Недавние исследования показали, что CD14 вовлечен также в патогенез болезни Альцгеймера. Было высказано предположение, что CD14 на клетках микроглии связывается с амилоидным пептидом Альцгеймера, который токсичен для этих клеток. Однако стали обнаруживаться механизмы, которые не были совместимы с общепринятой моделью, описанной выше, и даже противоречат им. Во-первых, важные уроки были извлечены при изучении CD14 в клетках мышей. Оказалось, что удаление важного регулятора врожденного иммунного ответа не смертельно [6]. Мыши, зараженные грамотрицательными бактериями, у которых функционируют молекулы CD14,

клинически менее больны, чем представители контрольной группы дикого типа. Такой результат вполне объясним, так как отсутствие сигнализации hTLR4 приводит к меньшей воспалительной реакции со значительно сниженной продукцией ФНО - альфа и других провоспалительных цитокинов. В то время как CD14-мыши имеют повышенное количество циркулирующих бактериальных организмов в их крови, они менее диссеминированы по сравнению с тканями мышей дикого типа. Это приводит к меньшей бактериальной нагрузке в таких органах, как костный мозг, легкие и селезенка. Это может быть истолковано как свидетельство того, что CD14 может быть важным фактором в содействии вторжению грамотрицательных микроорганизмов через сосудистую стенку в ткани. Кроме того, при изучении синергии между LPS и цитокинами в воспалительной реакции, используют одно пассирование эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC). Обнаружено, что эти клетки реагировали на низкие концентрации LPS даже в отсутствие сыворотки. Ответом может быть только блокирование анти-CD14 моноклональных антител. Эти наблюдения противоречат в целом распространенному мнению о том, что эндотелиальные клетки не экспрессируют CD14. Изучая этот вопрос, ученые обнаружили, что эндотелиальные клетки действительно экспрессируют CD14, хотя и в условиях низкого количества копий [7].

Помимо чувствительности техники и выбора антител, главная причина того, почему экспрессия CD14 на эндотелиальных клетках не была определена ранее, вероятно, использование многократно посеянных клеток (например, в HUVEC CD14 становится почти невозможно обнаружить). Наконец, клетки эпителия дыхательных путей, роговицы, эпителиальные клетки цилиарного тела также оказались CD14 положительны. Кроме того, сообщается об экспрессии CD14 в гладких мышечных клетках, фибробластах, сперматозоидах и панкреатическом островке. Приведенные выше перечисленные исследования документально доказывают наличие CD14 на поверхности клетки путем проточной цитометрии и иммуногистохимии в качестве первого шага [8].

Таким образом, учитывая убедительные доказательства, подтверждающие, что CD14 антиген экспрессируется многочисленными типами клеток, необходимо признать, что экспрессия CD14 не ограничена клетками миелоидного происхождения [9].

Список литературы

1. Freudenberg M.A., Tchaptchet S., Keck S., et al. Lipopolysaccharide sensing an important factor in the innate immune response to Gram-negative bacterial infections: benefits and hazards of LPS hypersensitivity. - 1998.
2. «Beta 2 (CD11/CD18) integrins can serve as signaling partners for other leukocyte receptors» // J. Lab. Clin. Med.
3. Серова В.В., Пальцева М.А. - М.: Медицина, 1998. - 640 с.
4. Setoguchi M, Nasu N, Yoshida S, Higuchi Y, Akizuki S, Yamamoto S (July 1989). Mouse and human CD14 (myeloid cell-specific leucine-rich

glycoprotein) primary structure deduced from cDNA clones // *Biochimica et Biophysica Acta*.

5. "CD14 Is Expressed and Released as Soluble CD14 by Human Intestinal Epithelial Cells In Vitro: Lipopolysaccharide Activation of Epithelial Cells Revisited".

6. Tapping RI, Tobias PS (2000). Soluble CD14-mediated cellular responses to lipopolysaccharide // *Chemical Immunology. Chemical Immunology and Allergy*.

7. Yu B, Wright SD (1995). LPS-dependent interaction of Mac-2-binding protein with immobilized CD14 // *Journal of Inflammation*.

8. Kelley SL, Lukk T, Nair SK, Tapping RI (February 2013). The crystal structure of human soluble CD14 reveals a bent solenoid with a hydrophobic aminoterminal pocket // *Journal of Immunology*.

9. Simmons DL, Tan S, Tenen DG, Nicholson-Weller A, Seed B (January 1989). Monocyte antigen CD14 is a phospholipid anchored membrane protein // *Blood*.