

Received: 2011.01.26
Accepted: 2011.04.27
Published: 2011.05.31

Molekularne rozpoznawanie zakażeń wirusowych – stymulacja odpowiedzi immunologicznej*

Molecular recognition of viral infections – immune response stimulation

Małgorzata Gieryńska, Ada Schollenberger

Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie

Streszczenie

Układ odpornościowy ssaków rozwinął wiele mechanizmów pozwalających na skuteczną walkę z zakażeniami, zarówno bakteryjnymi jak i wirusowymi. Zdolność rozpoznania zakażenia wirusowego jest ściśle związana z wewnątrzkomórkowymi receptorami należącymi do mechanizmów odporności nieswoistej, które są odpowiedzialne za jak najszybszą identyfikację sygnałów niebezpieczeństwa i zainicjowanie kaskady wydarzeń prowadzących do skutecznej odpowiedzi przeciwwirusowej. Dotychczas scharakteryzowano kilka rodzajów receptorów rozpoznających komponenty wirusowe: receptory Toll-podobne, RIG-I-podobne, AIM2-podobne oraz DAI – zależny od DNA aktywator czynników regulatorowych interferonu. Są one zdolne do wiązania i rozpoznawania genomowych wirusowych kwasów nukleinowych i wszystkich pośrednich form replikacyjnych. W następstwie związania liganda receptory te aktywują odrębne szlaki przekazywania sygnału wewnątrz komórki, prowadzące do syntezy i uwalniania interferonu typu I i cytokin prozapalnych. Mediatorzy te pośredniczą w rozwoju nieswoistej i swoistej odpowiedzi przeciwwirusowej. Są one najważniejsze do zablokowania replikacji wirusa, zahamowania jego rozprzestrzeniania się w organizmie i wreszcie eliminacji. W artykule obszernie omówiono i porównano drogi przesyłania sygnału zależnego od RIG-I, drogi niezależnej od TLR i RIG-I oraz udział mechanizmów identyfikacji ligandów pochodzenia wirusowego w zapoczątkowaniu odpowiedzi immunologicznej w przebiegu zakażenia wirusowego.

Słowa kluczowe:

zakażenie wirusowe • kwasy nukleinowe • receptory komórkowe • interferony • cytokiny prozapalne • indukcja odpowiedzi immunologicznej

Summary

The mammalian immune system has evolved several mechanisms that allow bacterial and viral infections to be successfully fought. Animal cells are able to recognize viral infection and this recognition is dependent on the presence of intracellular sensors that instantly identify danger signals and initiate signal cascades leading to an effective antiviral response. Several host proteins have been identified as intracellular sensors, namely: Toll-like receptors, RIG-I-like receptors, AIM2-like receptors and DAI, DNA-dependent activator of IFN regulatory factor. They recognize and bind viral genomic nucleic acids and all their replicative intermediates. Receptor-ligand interaction leads to activation of specific metabolic pathways that include synthesis and release of type I interferons and proinflammatory cytokines. These mediators are in turn responsible for synchronizing mechanisms of innate and adaptive antiviral immunity. They are crucial

* Praca finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego grant nr N N308 07 4339, kierownik projektu dr Małgorzata Gieryńska.

for blocking viral replication, preventing the spread of infection and eventually eliminating the virus from the host. Signaling pathways dependent on RIG-I, independent of TLR and other viral ligand(s) identification mechanisms leading to antiviral immune response stimulation, are discussed in this review.

Key words: viral infection • nucleic acids • cellular receptors • interferons • proinflammatory cytokines • immune response stimulation

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=945199>

Word count: 5931

Tables: –

Figures: 6

References: 75

Adres autorki: dr Małgorzata Gieryńska, Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; malgorzata_gierynska@sggw.pl

Wykaz skrótów: **AIM2** – receptor AIM-2 (absent in melanoma); **ALR** – receptory AIM2-podobne (AIM2-like receptors); **AP-1** – czynnik transkrypcyjny AP-1 (activator protein 1); **ASC** – białko adaptorowe ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a carboxy-terminal CARD); **BTK** – kinaza tyrozynowa BTK (Brunton's tyrosine kinase); **CREB** – czynnik transkrypcyjny CREB (cAMP response element-binding); **CARD** – domena aktywacji i rekrutacji kaspaz (caspase activation recruitment domain); **Cardif** – białko adaptorowe stymulujące syntezę IFN-β zawierające domenę CARD (CARD adapter inducing IFN-β); **DAI** – zależny od DNA aktywator czynników regulatorowych IFN (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors); **DAMP** – wzorce molekularne związane z niebezpieczeństwem/uszkodzeniem (danger/damage associated molecular patterns); **DD** – domena śmierci (death domain); **EMCV** – wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (encephalomyocarditis virus); **FADD** – białko FADD (Fas-associated protein with death domain); **HIN200** – domena HIN200; (hematopoietic expression, IFN-inducible, nuclear localization and length of 200 amino acid domains); **HMGB1** – jądrowe/chromosomalne białko HMGB1 (high mobility group box protein-1); **HSV-1** – wirus opryszczki typu 1 (herpes simplex virus 1); **IFN** – interferon; **IKK** – kinaza inhibitora czynnika transkrypcyjnego (inhibitor of nuclear factor κB kinase); **IL-1RA** – antagonist receptoru IL-1β (IL-1 receptor antagonist); **IPS-1** – białko aktywujące promotor IFN-β 1 (IFN-β promoter stimulator 1); **IRAK** – kinaza IRAK (IL-1R-associated kinase); **IRF** – czynnik regulatorowy IFN (IFN regulatory factor); **ISRE** – elementy odpowiedzi stymulowanej przez interferon (IFN-stimulated response elements); **JAK** – kinaza Janusa (Janus kinase); **LGP2** – receptor LGP2 (laboratory of genetics and physiology-2); **LPS** – lipopolisacharyd; **LRR** – powtórzenia bogate w leucynę (leucin-rich repeats); **MAMP** – molekularne wzorce związane z mikroorganizmami (microbe-associated molecular patterns); **MAP** – kinaza MAP (mitogen activated protein); **MAPK** – kinaza MAPK (mitogen activated protein kinase kinase); **MAVS** – białko MAVS (mitochondrial antiviral signaling); **MDA5** – receptor MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5); **MEF** – płodowe fibroblasty myszy (mouse embryonic fibroblasts); **MITA** – białko pośredniczące w aktywacji czynnika IRF-3 (mediator of IRF-3 activation); **MyD88** – białko adaptorowe MyD88 (myeloid differentiation factor 88); **NK** – komórki naturalnie cytotoksyczne (natural killer cells); **NKT** – limfocyty NKT (natural killer T cells); **NF-κB** – czynnik jądrowy κB zidentyfikowany w limfocytach B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells); **NLR** – receptory NOD-podobne (nucleotide-binding domain leucine-rich repeat containing family [NOD]-like receptors); **PAMP** – molekularne wzorce związane z patogenami (pathogen-associated molecular patterns); **poly(I: C)** – kwas poliryboinozylowo: polirybocytydylowy (polyriboinosinic: polyribocytidilic acid); **PRR** – receptory rozpoznające wzorce (pattern recognition receptors); **PYD** – domena pyrynowa (pyrin domain); **PYHIN** – rodzina białek zawierających domenę pyrynową i domenę HIN200 (pyrin and HIN200 domain-containing proteins); **RD** – domena represorowa (repressor domain); **RIG-I** – receptor RIG-I (retinoic acid-inducible gene I); **RIP** – kinaza RIP (receptor-interacting protein); **RLH** – helikazy RIG-I-podobne (RIG-I-like helicases); **RLR** – receptory RIG-I-podobne (retinoic acid-inducible gene I [RIG-I]-like receptors);

SF2 – nadrodzina 2 (superfamily 2); **SLE-like syndrome** – zespół podobny do toczenia rumieniowatego układowego (systemic lupus erythematosus [SLE]-like syndrome); **STAT** – białko przetwarzające i aktywujące transkrypcję (signal transduction and activation of transcription); **STING** – białko stymulujące geny interferonu (stimulator of interferon genes); **TAK1** – kinaza TAK1 (transforming growth factor- β -activating kinase); **TAB** – białko wiążące kinazę TAK1 (TAK binding protein); **TBK-1** – kinaza TBK-1 (TANK binding kinase 1); **TICAM-1** – białko adaptorowe TICAM-1 (TIR-containing adaptor molecule 1); **TIR** – domena receptora Toll/IL-1 (Toll/IL-1 receptor domain); **TLR** – receptory Toll-podobne (Toll-like receptors); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **TNFR1** – receptor czynnika martwicy nowotworu 1 (tumor necrosis factor receptor type 1); **TRADD** – białko adaptorowe TRADD (tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein); **TRAF** – czynnik związany z receptorem TNF (tumor necrosis factor receptor-associated factor); **TRAP** – białko TRAP (translocon-associated protein); **TRIF** – białko adaptorowe zawierające domenę TIR indukujące IFN- β (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β); **VacV** – wirus krowianki (vaccinia virus); **VISA** – białko adaptorowe VISA (virus-induced signaling adapter); **VSV** – wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus).

1. WSTĘP

Wirusy są odpowiedzialne za zakażenia wszystkich żywych organizmów występujących na kuli ziemskiej: poczynając od najprostszych komórek bakteryjnych, a na złożonych organizmach ssaków kończąc. To sprawia, że konieczne było wykształcenie i rozwinięcie przez organizmy wyższe mechanizmów, pozwalających na szybkie wykrycie zakażenia wirusowego, a także mechanizmów umożliwiających ochronę przed tym zakażeniem. Głównym zadaniem odpowiedzi odpornościowej gospodarza na zakażenie wirusowe jest blokowanie cyklu replikacyjnego wirusa, a tym samym zahamowanie dalszego jego rozprzestrzeniania się w organizmie, zniszczenie zakażonych komórek i wreszcie eliminacja wirusa z organizmu. U zwierząt wyższych zaowocowało to powstaniem odporności swoistej charakteryzującej się zdolnością do wytwarzania swoistych przeciwciał i aktywnością limfocytów T swoście rozpoznających wirusowe peptydy i białka, co pozwala na uniemożliwienie związania wirusa z komórką docelową lub prowadzi do zniszczenia zakażonej komórki. Jednak uruchomienie mechanizmów odporności swoistej jest procesem stosunkowo długotrwałym, wymagającym co najmniej kilku dni do osiągnięcia najlepszego efektu, toteż mechanizmy odporności nieswoistej (komórki dendrytyczne, NK, NKT i makrofagi) oraz mediatory, głównie cytokiny prozapalne i interferony (IFN), mają za zadanie bronić organizmu przez czas konieczny do rozwoju odporności swoistej. Najważniejszymi mediatorami pośredniczącymi w synchronizacji mechanizmów nieswoistych i swoistych są interferony, pobudzające szlak przekazywania sygnałów hamujących replikację wirusa i blokujących jego dalsze rozprzestrzenianie się w organizmie oraz cytokiny prozapalne. Zanim jednak dojdzie do syntezy interferonów i cytokin prozapalnych wirus musi zostać w jak najkrótszym czasie zidentyfikowany. Jest to możliwe dzięki receptorom rozpoznającym określone wzorce molekularne (pattern recognition receptors – PRR), początkowo opisanymi u organizmów niższych, zdolnymi do identyfikacji wielu molekularnych wzorców związanych z patogenami (pathogen associated molecular patterns – PAMP). Wobec tego, że nie tylko patogeny wykazują ekspresję tych cząstek, są one także określane jako molekularne wzorce związane z mikroorganizmami (microbe-associated molecular patterns – MAMP) [14,38]. Do rozpoznania zakażenia wirusowego,

organizm wykorzystuje dwa główne typy receptorów: receptory Toll-podobne (Toll-like receptors – TLR) i receptory RIG-I-podobne (retinoic acid-inducible gene I [RIG-I]-like receptors – RLR). Białka te są strażnikami różnych przedziałów komórkowych i w przypadku zakażenia wirusowego, po związaniu z odpowiednim ligandem, przesyłają poprzez białka adaptorowe sygnał aktywujący odpowiedź przeciwwirusową. Niedawno do tych dwu grup dołączyły receptory rozpoznające wolny DNA cytosolowy, indukujące odpowiedź w sposób niezależny od receptorów Toll i RIG-I-podobnych [10,18,25,27,29,47,50].

TLR są przezbłonowymi receptorami, zbudowanymi z części zewnątrzkomórkowej bogatej w leucynę (leucine-rich repeats – LRR), rozpoznającej PAMP i części cytoplazmatycznej, czyli tzw. domeny receptora Toll/IL-1 (Toll/IL-1 receptor domain – TIR), przekazującej sygnał za pomocą białek adaptorowych. Dotychczas zidentyfikowano 10 typów TLR u ludzi i 13 typów u myszy, ale nie dla wszystkich receptorów (TLR 10, 12, 13) określono naturalne ligandy [31,48]. TLR są receptorami zdolnymi do rozpoznania wirusowych komponentów (białek i kwasów nukleinowych) zarówno w środowisku zewnątrzkomórkowym, jak i wewnątrz komórki, w endosomach cytoplazmatycznych. RLR (znane również jako RIG-I-like helicases [RLH]) są cytoplazmatycznymi receptorami rozpoznającymi wirusowy kwas nukleinowy, który znajduje się w cytosolu. Dotąd poznano trzy białka tej rodziny: RIG-I (retinoic acid-inducible gene I), MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5) i LGP2 (laboratory of genetics and physiology-2). Należą one do nadrodziny 2 (superfamily – SF2) helikaz/ATP-az. RIG-I i MDA5 są unikatowe w obrębie helikaz, ponieważ zawierają C'-terminalną domenę DexD/H o charakterze helikazy wiążącej dsRNA oraz N'-terminalne bliźniacze domeny aktywacji i rekrutacji kaspaz (caspase activation and recruitment domain – CARD), odpowiedzialne za przesyłanie sygnałów wewnątrzkomórkowych. Badania prowadzone na komórkach z celowaną delecją, wykazały dużą swoistość tych białek w rozpoznawaniu zakażeń wirusowych, co wyjaśnia ich różnicowanie w rozpoznawaniu odpowiednich ligandów. LGP2 zawiera tylko domenę o charakterze helikazy, jest zdolny do wiązania dsRNA, ale nie ma domeny CARD. Dodatkowo RIG-I i LGP2 mają C'-terminalną domenę represorową (repressor domain - RD), która jest odpowiedzialna za

blokowanie przesyłania sygnału wtedy, gdy receptor nie jest związany z ligandem [43, 53,55,73].

2. PRZESYLANIE SYGNAŁU ZALEŻNEGO OD RECEPTORÓW TOLL-PODOBNYCH

Identyfikacja wirusów poprzez TLR opiera się na rozpoznaniu komponentów wirusowych, takich jak białka lub kwas nukleinowy. W tym procesie zaangażowane są TLR 2, 3, 4, 7, 8, 9. Receptory Toll-podobne 2 i 4 są umiejscowione w błonie cytoplazmatycznej komórki i chociaż ich głównymi ligandami są komponenty ściany komórkowej bakterii i grzybów, to ich udział w stymulacji odpowiedzi przeciwwirusowej nie ulega wątpliwości. TLR2 wiążący różne lipoproteiny, nieklasyczny lipopolisacharyd (LPS) i zymosan, zaangażowany jest również w rozpoznawanie białek osłonki wirusowej [6,46]. TLR4 funkcjonuje jako główny detektor bakteryjnego LPS, ale podobnie jak TLR2, może być też aktywowany przez glikoproteiny pochodzące z osłonki wirusa [6,74]. Jednak najważniejszymi receptorami odpowiedzialnymi za wykrywanie zakażenia wirusowego są TLR3, TLR7, TLR8 (u ludzi) i TLR9, stymulowane wirusowym kwasem nukleinowym.

TLR7, TLR8 i TLR9 są spokrewnione filogenetycznie i strukturalnie, tworzą podrodzinę i zawsze występują w błonie pęcherzyków cytoplazmatycznych. Główną różnicą między TLR9 a TLR7 i TLR8 jest rodzaj rozpoznawanego przez nie i wiązanego liganda. Ligandem TLR9 są niemetylowane sekwencje CpG. Początkowo sądzono, że genom bakteryjny, w którym występują one z dużą częstością jest głównym stymulatorem TLR9. Jednak również genom wirusów DNA zawiera immunostymulujące sekwencje CpG indukujące odpowiedź przeciwwirusową [21,33,45,75]. Natomiast TLR7 i TLR8 rozpoznają wirusowy ssRNA. Receptory te odpowiadają również na sztuczne ligandy, którymi są związki imidazolochinolonowe stosowane w terapii przeciwnowotworowej i przeciwwirusowej [12,19,20,36,64].

Aktywacja zarówno TLR9, jak i TLR7 oraz TLR8, a co za tym idzie stymulacja odpowiedzi przeciwwirusowej, jest możliwa w następstwie wnikięcia wirusa do komórki, jego namnożenia się i obecności w pęcherzykach cytoplazmatycznych. Dopiero wtedy po związaniu liganda przez receptor następuje przesyłanie sygnału wewnątrzkomórkowego i stymulacja odpowiedzi przeciwwirusowej.

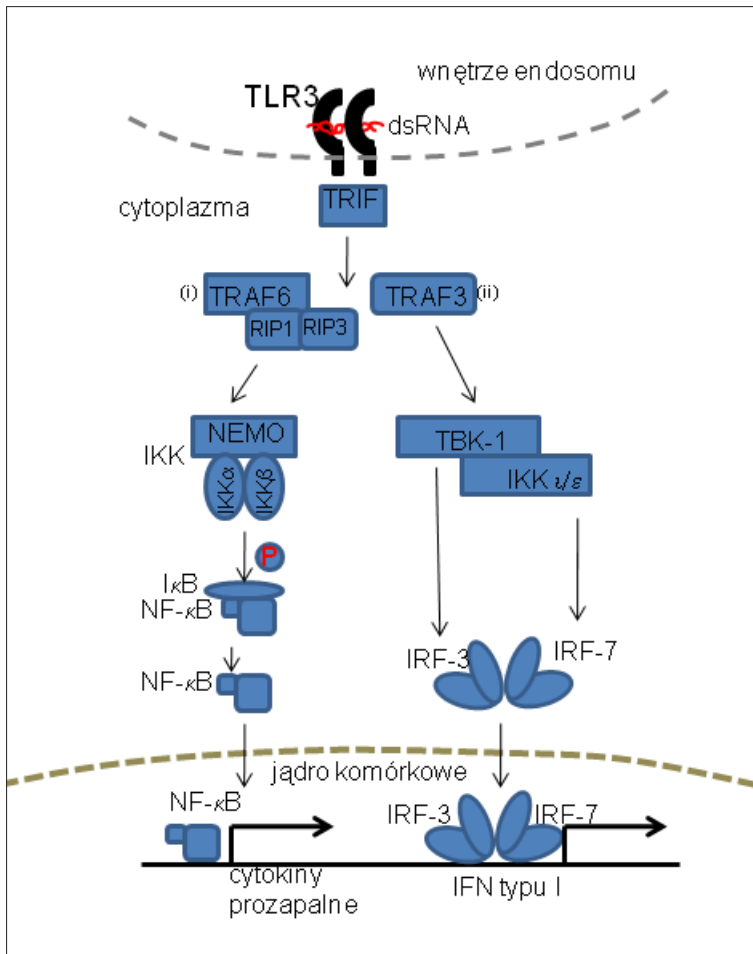
TLR3 jest receptorem odpowiedzialnym za rozpoznanie zakażenia dzięki wiązaniu wirusowego dsRNA. Lokalizacja TLR3 jest ściśle związana z typem komórek, co ma wpływ na ich udział w uruchomieniu odpowiedzi przeciwwirusowej. W ludzkich fibroblastach TLR3 obecny jest w błonie cytoplazmatycznej, natomiast w makrofagach i komórkach dendrytycznych jego ekspresja jest obserwowana w błonie pęcherzyków wewnątrzplazmatycznych [42,70]. Oba rodzaje receptorów, powierzchniowe i endosomalne, są stymulowane długimi fragmentami dsRNA oraz odpowiadają w ten sam sposób na stymulację syntetycznym polimerem poly(I: C) (kwas poliryboinozylozo: polirybocytydylowy – polyribinosinic: polyribocytidylic acid; poly(I: C)), będącym analogiem dsRNA. Domena wiążąca ligand, bogata w leucynę, przypomina kształtem końską podkowę, co ułatwia dimeryzację tego receptora w obecności fragmentów

dsRNA o długości 40–50 pz. Zgodnie z tym połączenie dwóch cząsteczek TLR3 odbywa się w taki sposób, że wewnątrzkomórkowa domena drugiej cząsteczki TLR3 obraca się o 180° aby połączyć się z komplementarną nicią dsRNA już związanego przez jeden TLR3. Połączenie liganda z ektodomeną stabilizuje powstały dimer, co w konsekwencji prowadzi do dimeryzacji domen TIR i rozpoczęcia przesyłania sygnału wewnątrzkomórkowego [49,65,70]. Ponieważ ligandem tego receptora jest dsRNA początkowo sądzono, że jest to receptor odpowiedzialny jedynie za rozpoznanie zakażeń spowodowanych wirusami RNA. Niedawne badania przeprowadzone u ludzi dowiodły jednak zaangażowania TLR3 także w zakażeniach herpeswirusami. Wydaje się, że indukcję TLR3 w trakcie zakażenia wirusami DNA można tłumaczyć tym, iż receptor rozpoznaje postaci przejściowe RNA powstające w cyklu replikacyjnym wirusa [43,59,74].

Po związaniu liganda przez TLR3 sygnał jest przesyłany za pośrednictwem białka adaptorowego TRIF (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β). TRIF oddziałuje z białkami TRAF3 (tumor necrosis factor [TNF] receptor-associated factor – czynnik związany z receptorem czynnika martwicy nowotworu) i TRAF6 co włącza dwa równoległe szlaki przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego. Białko TRAF6 (ryc. 1i) za pośrednictwem kinaz RIP1 i RIP3 (receptor-interacting protein) aktywuje kompleks kinazy inhibitora czynnika jądrowego κB (inhibitor of nuclear factor κB kinase – IKK). Dzięki temu następuje fosforylacja inhibitora IκB i uwolnienie czynnika jądrowego NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells). Uwolnienie NF-κB powoduje jego translokację do jądra komórkowego, gdzie zapoczątkowuje ekspresję genów cytokin prozapalnych.

Białko TRAF3 (ryc. 1ii) aktywuje kinazę TBK-1 (TANK binding kinase 1) i kinazę t/ε inhibitora czynnika jądrowego κB (IKK1/ε), która fosforyluje czynniki regulatorowe IRF-3 i IRF-7 (IFN regulatory factor). Aktywowane IRF-3 i IRF-7 tworzą homodimery i/lub heterodimery, przechodzą do jądra komórkowego, gdzie wiążą się z elementami odpowiedzi stymulowanych przez interferon – ISRE (IFN-stimulated response elements), indukując ekspresję genów IFN typu I. Aktywacja TRAF3 prowadzi do ekspresji genów IFN typu I (głównie IFN-β), podczas gdy aktywacja TRAF6 i RIP1 powoduje uwolnienie NF-κB i w konsekwencji syntezę cytokin prozapalnych [43,44,65] (ryc. 1).

TLR7, TLR8 i TLR9 w odpowiedzi na wirusowy RNA i/lub DNA uruchamiają inną ścieżkę przesyłania sygnałów (ryc. 2). Następuje aktywacja białka adaptorowego MyD88 (myeloid differentiation factor 88) (ryc. 2i), zawierającego domenę TIR i domenę śmierci (death domain – DD). MyD88 rekrutuje kinazy IRAK i BTK (Brunton's tyrosine kinase). Do tego kompleksu dołączane jest białko TRAF6 (ryc. 2ii). W zależności od rodzaju aktywowanych komórek do kompleksu MyD88, IRAK1 i TRAF6 mogą zostać przyłączone TRAF3, IKK i IRF-7 w plazmacytoidalnych komórkach dendrytycznych (ryc. 2iii) lub IRF-1 i IRF-5 w mieloidalnych komórkach dendrytycznych i makrofagach (ryc. 2iv), co włącza równoległe szlaki prowadzące do rozpoczęcia syntezy cytokin prozapalnych oraz IFN typu I.



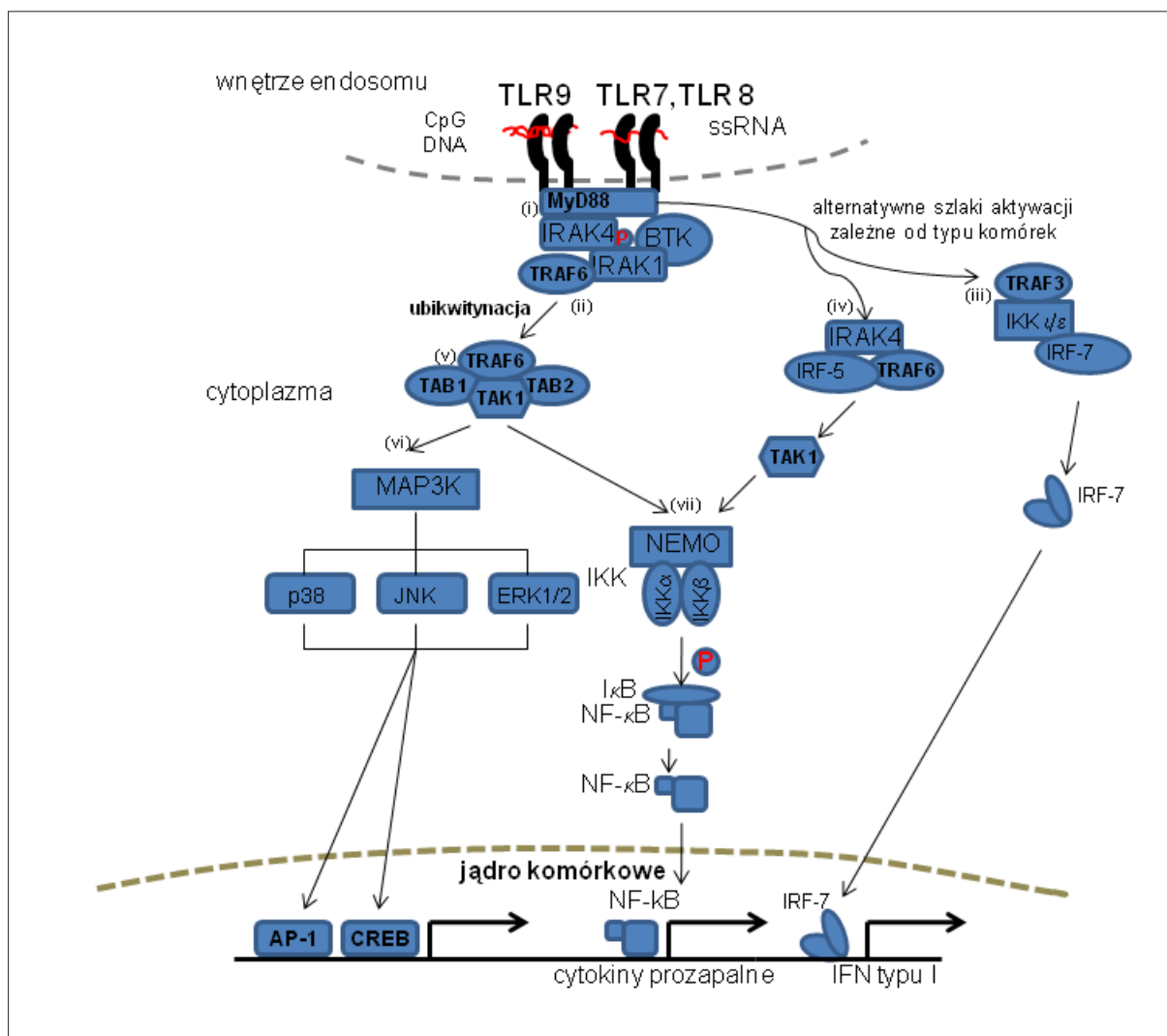
Ryc. 1. Szlak przesyłania sygnału poprzez aktywację TLR3 endosomalnym dsRNA, stymulujący syntezę IFN typu I i cytokin prozapalnych (opracowanie autorskie)

Fosforylacja kinazy IRAK1 przez kinazę IRAK4 pozwala na odłączenie od kompleksu białek IRAK1 i TRAF6 (ryc. 2v). Uwolniony TRAF6 tworzy kompleks z kinazą TAK1 (transforming growth factor- β -activating kinase) i białkami wiążącymi kinazę TAK1 (TAK binding protein) – TAB1 i TAB2. Ubikwitynacja TRAF6 prowadzi do aktywacji kinazy TAK1, co w konsekwencji uruchamia szlak kinaz MAP (mitogen activated protein) (ryc. 2vi) i kompleksu IKK (ryc. 2vii). Za pośrednictwem kinaz p38, JNK, ERK1/2 następuje aktywacja czynników transkrypcyjnych CREB (cAMP response element-binding) i AP-1 (activator protein 1), które włączają geny docelowe. Z kolei aktywacja kompleksu IKK prowadzi do fosforylacji inhibitora κ B i uwolnienia czynnika jądrowego NF- κ B. Następuje translokacja NF- κ B do jądra, gdzie dochodzi do zapoczątkowania ekspresji genów cytokin prozapalnych [2,11,60] (ryc. 2).

3. PRZESYŁANIE SYGNAŁU ZALEŻNEGO OD RECEPTORÓW RIG-I-PODOBNYCH

TLR3, TLR7 i TLR8 wykrywają RNA w obszarach komórki, w których własny RNA w warunkach fizjologicznych nie powinien się znajdować (powierzchnia komórki, pęcherzyki endosomalne). Jednak ze względu na obfitość własnego cytosolowego RNA, wykrywanie RNA wirusowego w cytoplazmie podlega innym zasadom i w proces ten zaangażowane są RLR.

Rodzina receptorów RIG-I-podobnych składająca się z RIG-I, MDA5 i LGP2 odgrywa ogromną rolę w wykrywaniu zakażeń wirusowych przez rozpoznanie wirusowego RNA obecnego w cytoplazmie zakażonej komórki oraz przesyłanie sygnału indukującego syntezę IFN typu I. Ekspresja RIG-I, MDA5 i LPG2 w komórce wzrasta w obecności IFN typu I, chociaż w wielu tkankach RIG-I jest prezentowany na niskim poziomie. Dopóki RIG-I nie zwiąże liganda występuje jako monomer i jest nieaktywny. Zakażenie wirusowe, a właściwie wirusowy RNA oraz wysoka ekspresja monomerów RIG-I zapoczątkowuje samoaranżację i multimeryzację tego receptora, co jest koniecznym etapem w przesłaniu sygnału. Dodatkowo zdolność do tworzenia multimerów RIG-I jest zależna od obecności RD, która jest odpowiedzialna za proces autoregulacji. Aktywacja receptora MDA5 przebiega w podobny sposób, tworzone są homokompleksy konieczne do przesyłania sygnału. RIG-I preferencyjnie wiąże krótkie fragmenty dsRNA oraz ssRNA zawierający 5' trifosforan na końcu cząsteczki i motywy homopolirydynowe oraz homopoliryboadeninowe. Z kolei MDA5 rozpoznaje długie fragmenty dsRNA [9,26,32,43,53,55,65]. Obecność grup fosforanowych na końcu 5' ssRNA jest charakterystyczna zarówno dla wirusowych jak i komórkowych (własnych) molekuł RNA. Jednakże w komórkach eukariotycznych ssRNA syntetyzowany w jądrze komórkowym ulega następnie modyfikacji poprzez usunięcie intronów i łączenie eksonów, dodanie na końcu 5' struktury czapeczki (*cap*),

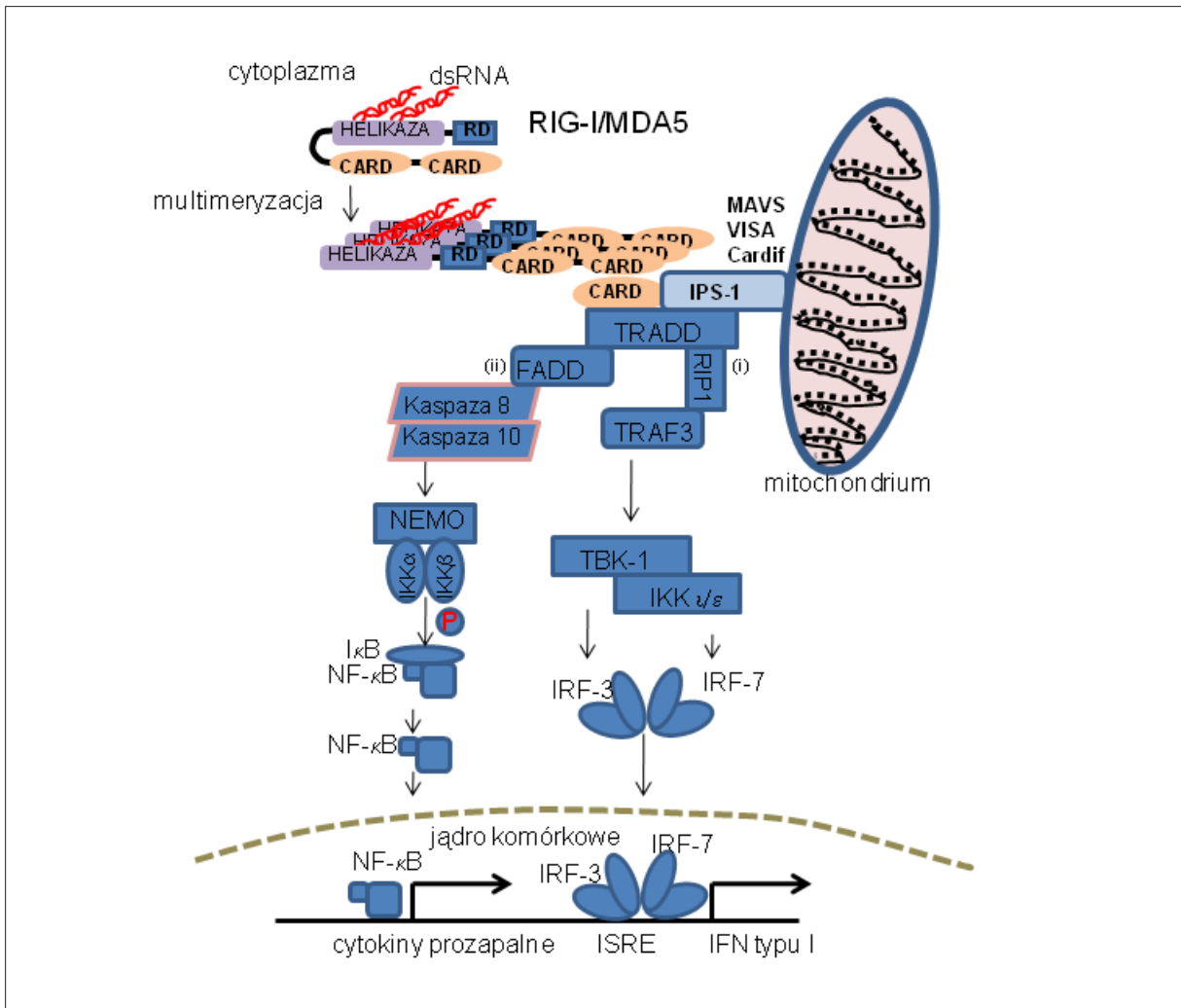


Ryc. 2. Szlak przesyłania sygnału poprzez aktywację TLR9 (endosomalnym CpG), TLR7 (endosomalnym ssRNA), TLR8 (endosomalnym ssRNA), stymulujący syntezę IFN typu I i cytokin prozapalnych (opracowanie autorskie)

chroniącej migrujący do cytoplazmy własny ssRNA przed komórkowymi endonukleazami oraz dodanie na końcu 3' sekwencji adeninowych. Tak przygotowany własny ssRNA jest uwalniany do cytoplazmy. Natomiast wykrycie w cytoplazmie niezmodyfikowanego ssRNA jest sygnałem niebezpieczeństwa rozpoznawanym przez RIG-I i stymuluje komórki układu odpornościowego do natychmiastowej reakcji. Podobnie jest z wykryciem dsRNA, który nie jest syntetyzowany przez komórki eukariotyczne. Komórki zaangażowane w mechanizmy odporności nieswoistej łatwo odróżniają własny, cytosolowy RNA od niefizjologicznych molekuł RNA, co prowadzi do indukcji odpowiedzi immunologicznej. Obydwa receptory, RIG-I i MDA5, rozpoznają nowo powstający dsRNA w przebiegu zakażenia wirusami RNA i dzięki ich zdolności do wiązania nemodyfikowanych form dsRNA o różnej długości, możliwe jest rozpoznanie sygnału niebezpieczeństwa na każdym etapie cyklu replikacyjnego wirusa [9,55,65].

Wirusowy RNA jest wiązany przez RD i przez domenę o charakterze helikazy, przy czym uznaje się, że domena o charakterze helikazy nie służy do rozwijania dsRNA, ale

do zmiany konformacji przestrzennej RIG-I w celu ułatwienia przesyłania sygnału przez domenę CARD [65]. W komórkach spoczynkowych RD jest odpowiedzialna za utrzymanie konformacji receptora w taki sposób, że domena CARD jest zamaskowana domeną o charakterze helikazy i przesyłanie sygnału jest niemożliwe. W trakcie zakażenia wirusowego aktywacja RIG-I jest kilkustopniowa i zależna od związania dsRNA. Przyłączenie wirusowego RNA indukuje bowiem zmiany w konformacji receptora oraz łączenie się monomerów w multimery, prawdopodobnie z udziałem ATP, co pozwala na przemieszczenie RD, odsłonięcie domen CARD i umożliwienie przesyłania sygnału poprzez interakcję z białkiem adaptorowym. Syntetyzowany w odpowiedzi na zakażenie wirusowe IFN typu I jest odpowiedzialny za podwyższenie poziomu RIG-I w cytoplazmie, co także może prowadzić do multimeryzacji receptorów i wzrostu aktywności przeciwwirusowej. Również w przypadku receptora MDA5 stwierdzono tworzenie homokompleksów koniecznych do przesyłania sygnału wewnątrzkomórkowego.



Ryc. 3. Wykrywanie cytosolowych, wirusowych form RNA przez RIG-I i MDA5 oraz przesyłanie sygnału stymulującego syntezę IFN typu I i cytokin prozapalnych (opracowanie autorskie)

Po związaniu liganda przez RIG-I lub MDA5 domena CARD tych receptorów oddziałuje z domeną CARD białka adaptorowego IPS-1 (IFN- β promotor stimulator-1; znane również jako mitochondrial antiviral signaling [MAVS]; virus-induced signaling adapter [VISA] lub CARD adapter inducing IFN- β [Cardif]) zlokalizowanego w błonie zewnętrznej mitochondriów, co sugeruje udział tych organeli w stymulacji wytwarzania IFN. RLR i receptor czynnika martwicy nowotworu 1 (tumor necrosis factor receptor 1 – TNFR1) mają wspólne białka adaptorowe pozwalające na przesyłanie sygnału. Białko adaptorowe TRADD (tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein), konieczne w szlaku przesyłania sygnałów zależnych od TNFR, jest przyłączane do IPS-1.

Poprzez aktywację białka adaptorowego TRADD włączane są dwa równoległe szlaki przesyłania sygnału wewnątrzkomórkowego: zależny od białka TRAF3, który prowadzi do aktywacji genów odpowiedzialnych za syntezę IFN typu I (ryc. 3i) oraz zależny od białka FADD (Fas-associated protein with death domain) włączający drogę aktywacji NF- κ B (ryc. 3ii). Białko TRADD tworzy kompleks z białkiem FADD i kinazą RIP1 poprzez jej DD, co umożliwia

oddziaływanie z TRAF3. Białko TRAF3 (ryc. 3i) aktywuje kinazę TBK-1 i IKK ϵ/ι , która fosforyluje czynniki regulatorowe IRF-3 i IRF-7. Aktywowane IRF-3 i IRF-7 tworzą homodimery i/lub heterodimery, które przechodzą do jądra komórkowego, gdzie wiążą się z fragmentem ISRE indukując ekspresję genów IFN typu I. Komórki pozbawione zarówno IRF-3 jak IRF-7 nie są zdolne do wytwarzania interferonu w odpowiedzi na zakażenie wirusowe [23,24,53,65].

Po utworzeniu kompleksu TRADD z białkiem FADD (ryc. 3ii), aktywowana jest równoległa ścieżka przesyłania sygnału zależna od RIG-I/MDA5 prowadząca do uwolnienia NF- κ B, jego translokacji do jądra komórkowego i rozpoczęcia transkrypcji genów cytokin prozapalnych. Białko FADD oddziałuje z kaspazami 8 i 10, których aktywność katalityczna jest konieczna do uwolnienia czynnika jądrowego NF- κ B i jego przejścia do jądra, a w konsekwencji zapoczątkowania syntezy cytokin prozapalnych. Tak więc RIG-I i MDA5 stymulują wydzielanie zarówno IFN typu I jak i cytokin prozapalnych [61,65] (ryc. 3).

Trzeci receptor należący do rodziny RLR, LGP2, niemający domeny CARD jest odpowiedzialny za kontrolę przesyłania

sygnału wewnątrzkomórkowego. Badania *in vitro* wskazują, że białko LGP2 pełni funkcję negatywnego regulatora przesyłania sygnału z udziałem RIG-I. Jego ekspresja w komórce gwałtownie wzrasta w odpowiedzi na wytwarzanie IFN typu I, zakażenie wirusowe lub obecność dsRNA w cytoplazmie. Zwiększona ekspresja LGP2 działa hamująco na syntezę IFN typu I, RIG-I i MDA5. Aby wyjaśnić ten mechanizm zaproponowano kilka modeli. Ponieważ LGP2 nie ma domeny CARD, ale jest zdolny do wiązania dsRNA, w pierwszym modelu zaproponowano mechanizm negatywnej regulacji komórkowej odpowiedzi przeciw wirusowej opierający się na sekwestracji dsRNA, co zapobiega aktywacji receptorów RIG-I i MDA5 poprzez ich domeny CARD [52]. Drugi model kładzie nacisk na zaangażowanie RD receptora LGP2. LGP2, jako negatywny regulator, jest zdolny do zahamowania przesyłania sygnału zależnego od stymulacji RIG-I przez powstrzymanie samoaranżacji/multimeryzacji (etapu koniecznego do przesłania sygnału), a także przez przerwanie interakcji domeny CARD receptora RIG-I z białkiem IPS-1 przez przyłączenie RD LGP2 [53]. Trzeci model sugeruje współzawodnictwo pomiędzy receptorem LGP2 a kinazą IKK α / ϵ o wspólne miejsce wiązania na białku IPS-1. Badania *in vitro* wykazały, że LGP2 może tworzyć kompleks z białkiem adaptorowym w mitochondrialnej przezłonowej domenie białka IPS-1 (pozycja 300–440 aa), ale nie jest to domena CARD. Domena CARD w IPS-1 w tym czasie jest wolna i może się angażować w interakcje z domeną CARD receptorów RIG-I i MDA5. Dalsze badania wykazały, że IKK1/ ϵ w trakcie przesyłania sygnału łączy się z tym samym regionem białka IPS-1 co LGP2 [34].

Z kolei badania prowadzone na myszach *Lgp2*^{-/-} wykazały zwiększoną ekspresję IFN typu I w odpowiedzi na stymulację poly(I: C) lub wirusem pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus – VSV), natomiast nie stwierdzono syntezy IFN typu I po stymulacji wirusem zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (encephalomyocarditis virus – EMCV). Próby wyjaśnienia roli LGP2 jako regulatora przesyłania sygnału zależnego od aktywacji RIG-I i MDA5 sugerowały, że receptor ten może regulować przekazywanie sygnału również w sposób pozytywny [69]. Badania prowadzone na myszach *Lgp2*^{-/-} i myszach z mutacją punktową w genie kodującym helikazę receptora LGP2. Konwencjonalne komórki dendrytyczne i płodowe fibroblasty myszy (mouse embryonic fibroblast – MEF) pobrane od zwierząt *Lgp2*^{-/-} wykazywały znacząco upośledzone wytwarzanie IFN typu I pod wpływem zakażenia pikornawirusami, rozpoznawanymi przez MDA5. Co więcej, odpowiedź na wirusy rozpoznawane przez RIG-I również była upośledzona. Komórki pochodzące od zwierząt *Lgp2*^{-/-} i z mutacją punktową w genie helikazy były bardzo wrażliwe na zakażenie EMCV. Odpowiedź na stymulację poly(I: C) była porównywalna z odpowiedzią uzyskaną w komórkach pochodzących od myszy szczepów dzikich. Badania Satoh i wsp. wykazały duże zaangażowanie LGP2 w rozpoznawanie wirusowego RNA przez RIG-I i ułatwienie rozpoczęcia przesyłania sygnału wewnątrzkomórkowego przez MDA5. Receptor ten, w przypadku zakażenia pikornawirusami, jest prawdopodobnie odpowiedzialny za interakcję z rybonukleoproteiną wirusową, co zmienia jej lokalizację i zwiększa jej dostępność dla MDA5 i RIG-I [54].

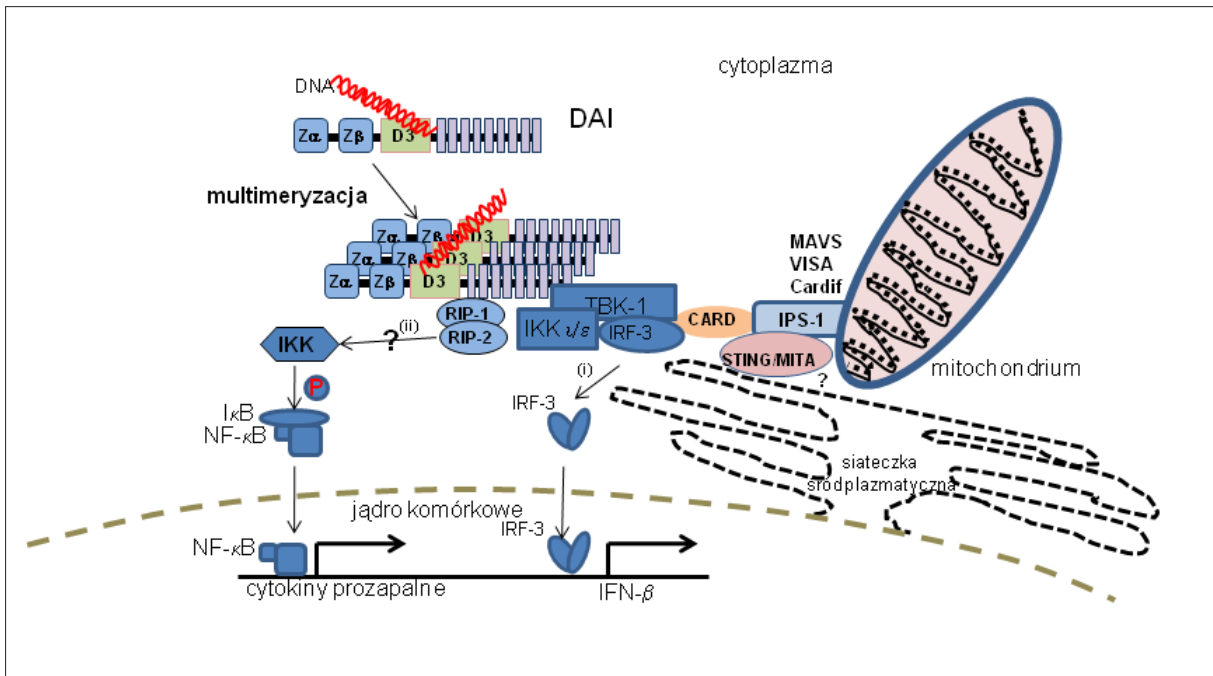
Receptor LGP2 na pewno pełni rolę regulatorową i kontroluje przesyłanie sygnału wewnątrzkomórkowego hamując bądź stymulując odpowiedź w postaci syntezy IFN typu I. Uzyskane wyniki wykazujące alternatywną rolę tego receptora nie muszą się wykluczać, gdyż mimo ogromnej wiedzy jaką uzyskano w ciągu ostatnich lat na temat receptorów stymulowanych wirusowym RNA, wiele mechanizmów czeka jeszcze na wyjaśnienie.

Przesyłanie sygnału poprzez RIG-I jest dodatkowo pozytywnie i negatywnie regulowane dzięki ubikwitynacji. Do rozpoczęcia przesyłania sygnału konieczna jest ubikwitynacja domeny CARD receptora RIG-I. Natomiast ligaza RNF125 dzięki ubikwitynacji RIG-I przeprowadza proteosomalną degradację tego receptora, dzięki czemu wyhamowane jest przesyłanie sygnału po jego nieprawidłowej stymulacji [5].

4. SZLAKI PRZESYŁANIA SYGNAŁU NIEZALEŻNE OD RECEPTORÓW TOLL- I RIG-I-PODOBNYCH

Jak już wcześniej wspomniano receptory Toll-podobne i RIG-I-podobne odgrywają pierwszoplanową rolę w rozpoznawaniu zakażeń wirusowych. Szlak przesyłania sygnału wewnątrzkomórkowego analogiczny do szlaków indukowanych stymulacją RIG-I i MDA5, jest aktywowany obecnością, rozpoznaniem i związaniem DNA w cytosolu. Podobnie jak dsRNA i niezmodyfikowany ssRNA, również DNA ma właściwości immunostymulujące, co stwierdzono podczas aktywacji odpowiedzi immunologicznej zależnej od TLR9, który rozpoznaje i wiąże niemetylowane sekwencje CpG DNA. Jednak badania prowadzone nad wirusami DNA dowiodły, że w zakażeniu wirusem opryszczki typu 1 (herpes simplex virus 1 – HSV-1), odpowiedź immunologiczna jest stymulowana zarówno w sposób zależny, jak i niezależny od TLR9 [22,63]. Podobnie było w przypadku zakażeń bakteriami wewnątrzkomórkowymi, takimi jak *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri*, *Mycobacterium tuberculosis* i *Streptococcus* z grupy A [9,62]. Obecnie wielkie zainteresowanie budzą mechanizmy odpowiedzi nieswoistej ukierunkowanej na rozpoznanie egzogenego DNA, zwłaszcza że ten proces jest niezwykle ważny do zrozumienia jakie mechanizmy komórkowe są włączane w odpowiedzi na DNA wirusowy, bakteryjny i swój własny.

Uwalnianie własnego DNA do środowiska pozakomórkowego jest cechą wspólną komórek nekrotycznych i apoptozy. Do zachowania integralności organizmu konieczna jest obecność mechanizmów immunologicznych (tolerancja i ignorowanie), które nie będą rozpoznawały własnego DNA. Kontrola odróżnienia własnego DNA od DNA pochodzącego od czynnika zakaźnego odbywa się na co najmniej trzech poziomach. Po pierwsze, subkomórkowa lokalizacja TLR9 pozwala na indukcję odpowiedzi immunologicznej przeciwko tym czynnikom zakaźnym, które wniknęły do komórki w procesie endocytozy, podczas gdy własny DNA nigdy w sposób spontaniczny nie osiąga tego przedziału komórkowego. Po drugie, duża aktywność DNaz w przestrzeni pozakomórkowej zapewnia szybką degradację własnego DNA, który jest uwalniany z ginących komórek, ale nie dotyczy to DNA pochodzenia wirusowego lub bakteryjnego. Znaczenie tego szlaku w zapobieganiu odpowiedzi autoimmunologicznej zostało potwierdzone w badaniach na myszach pozbawionych



Ryc. 4. Szlak wykrywania cytosolowego DNA zależny od receptora DAI (DLM-1/ZBP1) prowadzący do zapoczątkowania syntezy IFN-β (opracowanie autorskie)

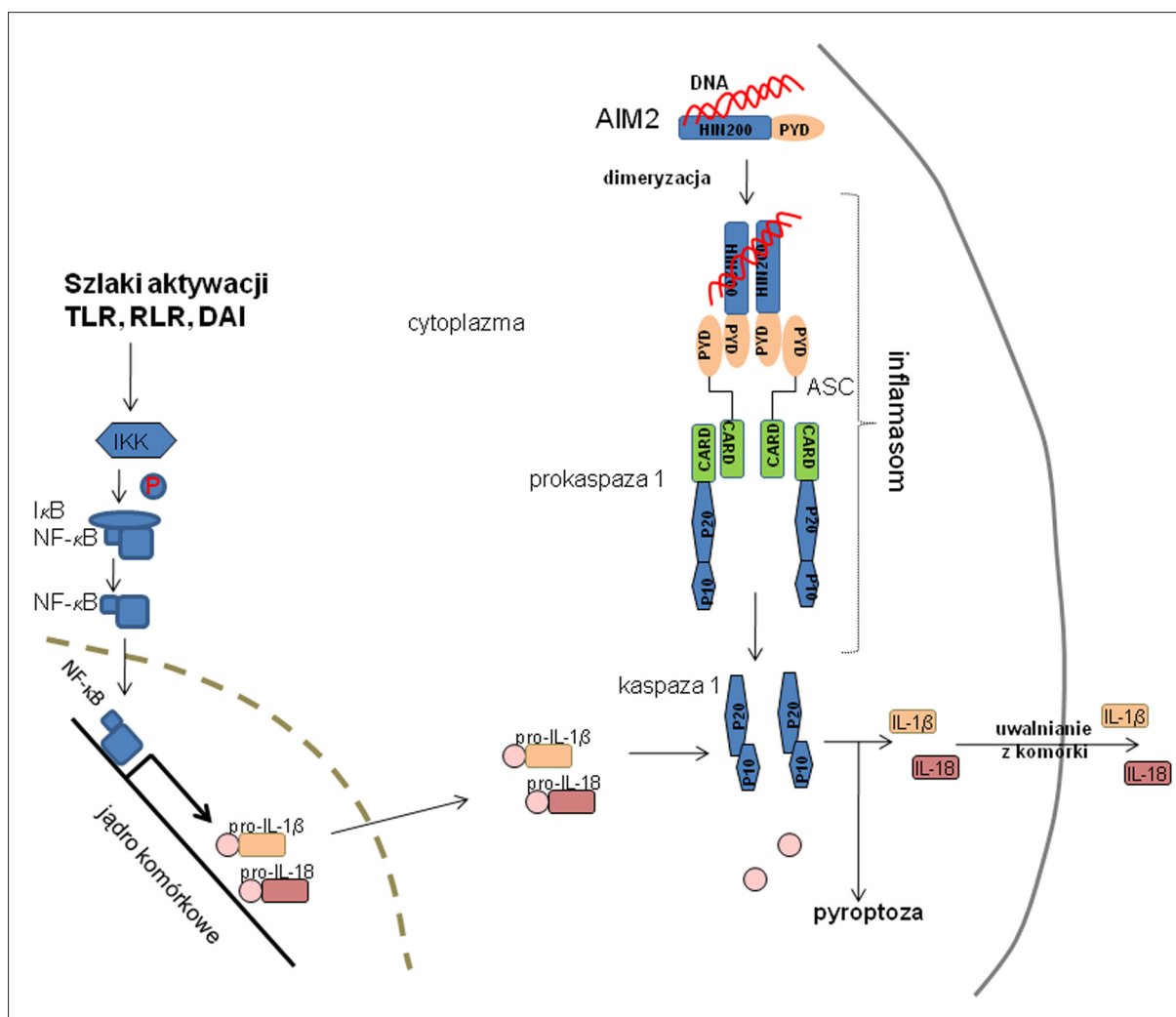
DNazy 1, u których rozwinął się zespół podobny do toczenia rumieniowatego układu (systemic lupus erythematosus [SLE]-like syndrome). Opiswane są też przypadki chorych z SLE z mutacją w genie kodującym DNazę 1. Po trzecie, wirusowy i bakteryjny DNA zawiera wielokrotnie powtórzone, niemetylowane sekwencje CpG, które są rozpoznawane i wiązane przez TLR9, podczas gdy komórkowy DNA zawiera znacznie mniejszą liczbę motywów CpG, które dodatkowo są maskowane przez metylację. Wprawdzie niskometylowane sekwencje CpG, wiązane przez TLR9 zostały zlokalizowane także w DNA ssaków, jednak takie wyspy niskometylowanych CpG są często odnajdywane w fragmentach DNA uwalnianych przez komórki nekrotyczne lub apoptotyczne i są obecne również w kompleksach immunologicznych wykrywanych w toczeniu układowym [18].

4.1. Szlak wykrywania cytosolowego DNA zależny od receptora DAI

DAI, pierwszy receptor stymulujący odpowiedź immunologiczną po rozpoznaniu cytosolowego DNA został określony jako zależny od DNA aktywator czynników regulatorowych IFN (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors; znany również jako DLM-1 lub ZBP1). Stymuluje on szlak prowadzący do aktywacji IRF-3 z udziałem kinazy TBK-1, co w konsekwencji prowadzi do syntezy IFN typu I [9,63].

W wielu komórkach wykryto, włączając w to komórki śledziony, grasicy, wątroby, płuc i serca ekspresję mRNA białka DAI. Receptor DAI jest rozproszony w cytoplazmie, ale jednocześnie jego lokalizacja jest częściowo połączona z ziarnistościami wewnątrzkomórkowymi. Wewnątrzkomórkowa kompartmentalizacja pozwala na rozpoznanie cytosolowego DNA i prawdopodobnie biorą

w tym udział autofagosomy i agregosomy. Własny DNA zwykle jest związany z przestrzenią, którą ogranicza błona jądrowa. Nawet wtedy, gdy w trakcie podziału komórki błona jądrowa zanika, DNA komórkowy tworzy skondensowaną strukturę ściśle połączoną z białkami histonowymi i innymi białkami związanymi z DNA. Prawdopodobnie taki kompleks przyczynia się do izolowania komórkowego DNA od receptorów rozpoznających DNA. Dlatego też zakażenie wirusami DNA i pojawienie się w cytoplazmie dużej ilości DNA lub niedokładne usunięcie ginących komórek i ich materiału genetycznego może prowadzić do aktywacji receptorów DAI. Receptor ten zbudowany jest z trzech domen: Zα-Zβ-D3 odpowiedzialnych za wiązanie określonej formy DNA. Domeny Zα i Zβ są umiejscowione N-terminalnie i domena Zα jest odpowiedzialna za wiązanie lewoskrętnych form Z DNA (Z-DNA). Natomiast od strony C-terminalnej znajdują się wielokrotne powtórzenia seryno/treoninowych miejsc fosforylacji (domena sygnałowa), odpowiedzialnych za aktywację czynników transkrypcyjnych rodziny IRF. Region Zα receptora DAI wykazuje dużą homologię do regionu Zα białka E3L wirusa krowianki (vaccinia virus – VacV), które jest niezbędne do ucieczki tego wirusa przed układem odpornościowym gospodarza. Takaoka i wsp. wykazali, że silniejszym aktywatorem receptora DAI jest forma B DNA (B-DNA) niż Z-DNA, jednakże domena Zα nie jest zdolna do jej rozpoznania. Przypuszcza się, że domeny Zα i D3 są regionami odpowiedzialnymi za rozpoznanie DNA pochodzącego z wirusów, bakterii, a nawet własnego DNA. Ponadto domena Zα wiąże DNA w sposób niezależny od sekwencji nukleotydów, natomiast jest bardzo prawdopodobne, że wiązanie B-DNA przez Zβ jest zależne od pewnych sekwencji w kwasie nukleinowym [63,71]. Na podstawie otrzymanych wyników zaproponowano model aktywacji receptora DAI. Podobnie jak w przypadku RIG-I konieczna jest oligomeryzacja receptora DAI, tworzą się multimery



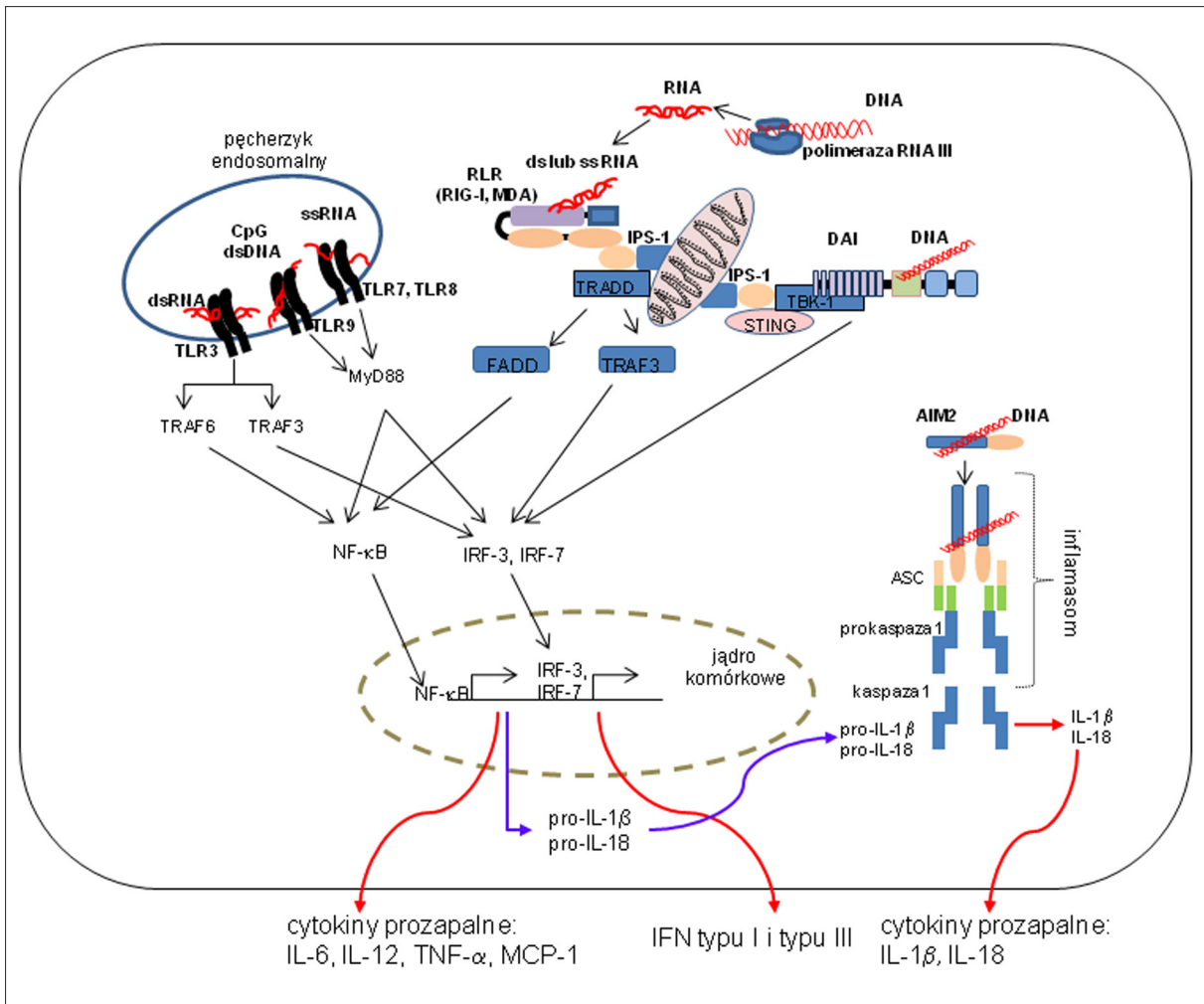
Ryc. 5. Powstawanie platform molekularnych, inflamasomów, zależnych od białka AIM2 odpowiedzialnych za dojrzewanie procytokin w wyniku wykrycia cytosolowego DNA (opracowanie autorskie)

łącznie się z DNA. B-DNA jest wiązany przez domenę D3, a następnie wiązanie to jest stabilizowane przez domeny Z α i Z β . Powstały multimer jest swego rodzaju szkieletem, do którego przyłączają się mediatory sygnałowe. W wyniku związania z DNA włączane są dwa szlaki: szlak IRF-3 (ryc. 4i) i szlak NF- κ B (ryc. 4ii). Czynniki IRF-3 jest aktywowany po związaniu B-DNA w szlaku zależnym od kinazy TBK-1 i IKKt/ ϵ . Zostaje utworzony ścisły kompleks między receptorem/multimerem DAI na końcu C-terminalnym, a białkami TBK-1 i IRF-3. W przesyłaniu sygnału nie biorą udziału białko adaptorowe TRIF i TICAM-1 (TIR-containing adaptor molecule 1), uczestniczące w szlaku indukcji syntezy IFN- β . Wprawdzie w aktywację IFN typu I zaangażowane jest białko IPS-1, ale jego udział nie został w pełni wyjaśniony.

Niedawno określono nowe białko adaptorowe uczestniczące w szlaku przesyłania sygnału stymulowanego związaniem B-DNA przez DAI. Jest to białko stymulujące geny interferonu/białko pośredniczące w aktywacji czynnika IRF-3 (stimulator of interferon genes/mediator of IRF-3 activation – STING/MITA). Białko STING/MITA zawiera przezłonowe domeny i tworzy kompleks z białkami

IPS-1, TBK-1 i IRF-3. Badania na zwierzętach pozbawionych białka STING/MITA wykazywały obniżone wytwarzanie IFN- β , co wskazuje, że to białko jest łącznikiem pomiędzy kinazą TBK-1 i białkiem IPS-1 w szlaku przesyłania sygnału wewnątrzkomórkowego. Nadal jednak nie jest określona do końca lokalizacja STING/MITA. Część badaczy wskazuje błonę pęcherzyków siateczki śródplazmatycznej, gdzie łączy się ono z białkiem TRAP (translocon-associated protein). Inni badacze uważają, że STING/MITA występuje w błonie mitochondrium, gdzie oddziałuje z białkiem IPS-1 i kinazą TBK-1 [30,62,72]. Aktywowane czynniki IRF-3 tworzą homodimery, przechodzą do jądra i stymulują syntezę IFN typu I.

Multimer DAI może oddziaływać z kinazami RIP-1 i RIP-3 (ryc. 4ii), co powoduje aktywację czynnika jądrowego NF- κ B w szlaku zależnym od kompleksu IKK. Jednak w badaniach prowadzonych przez Takaoka i wsp., aktywacja czynnika jądrowego NF- κ B nie następowała aż do 120 min po stymulacji B-DNA. To opóźnienie aktywacji NF- κ B może sugerować, że jest to odpowiedź na stymulację cytokinami, a nie aktywację przez związanie B-DNA [62,71] (ryc. 4).



Ryc. 6. Współpraca receptorów wewnątrzkomórkowych wykrywających obecność wirusów prowadząca do indukcji odpowiedzi immunologicznej poprzez stymulację syntezy cytokin (opracowanie autorskie)

4.2. Zaangażowanie białka AIM-2 w tworzenie inflamasomów

Jednymi z ważniejszych cytokin prozapalnych, których synteza jest włączana w wyniku zakażenia zarówno bakteryjnego jak i wirusowego są IL-1 β i IL-18. Są one odpowiedzialne za wiele biologicznych funkcji związanych z zapaleniem i procesami autoimmunologicznymi. Uczestniczą w inicjacji ogólnej i miejscowej odpowiedzi immunologicznej w trakcie zakażenia, uszkodzenia i urazu oraz reakcji immunologicznych. Aktywność IL-1 β jest regulowana poziomem ekspresji, wytwarzaniem i reakcją z naturalnie występującym inhibitorem, antagonistą receptora IL-1 β (IL-1 receptor antagonist – IL-1RA). Początkowy sygnał (PAMP) pochodzący od czynnika zakaźnego, rozpoznany przez PRR skutkuje wewnątrzkomórkową akumulacją tych białek w postaci procytokin, zarówno pro-IL-1 β jak i pro-IL-18. Obie cytokiny aktywność biologiczną uzyskują w następstwie proteolitycznego cięcia przez kaspazę 1. Kaspaza 1 jest kaspazą zapalenia i nie uczestniczy w procesie apoptozy, lecz po aktywacji jest zaangażowana w takie mechanizmy komórkowe jak przekształcanie procytokin prozapalnych w ich aktywną postać, glikolizę i jeden z rodzajów śmierci komórki – pyroptozę [13,15,37, 56].

Żeby mogło to nastąpić konieczne jest utworzenie wewnątrzkomórkowej, multiproteinowej platformy molekularnej – inflamasomu. Inflamasomy są odpowiedzialne za aktywację kaspazy 1 i powstają pod wpływem niektórych PAMP lub czynników określanych obecnie jako wzorce molekularne związane z niebezpieczeństwem/uszkodzeniem (danger/damage associated molecular patterns – DAMP). Można do nich zaliczyć czynniki pochodzenia zakaźnego, takie jak elementy ściany komórkowej bakterii, toksyna *Bacillus anthracis*, liczne bakterie i wirusy, ale również czynniki niezakaźne, takie jak jądrowe/chromosomalne białko HMGB1 (high mobility group box protein-1), białka szoku cieplnego, kwas moczowy, pył azbestowy, pył krzemionkowy czy własny DNA [37,40,57]. DAMP są w większości przypadków rozpoznawane przez receptory NOD-podobne (nucleotide-binding domain leucine-rich repeat containing family [NOD]-like receptors - NLR), co prowadzi do utworzenia inflamasomu, aktywacji kaspazy 1, przekształcenia w aktywną postać cytokin prozapalnych IL-1 β IL-18, IL-33 i IL-1F7 oraz inicjacji zapalenia. DNA cytosolowy, który należy do DAMP, stymuluje powstanie inflamasomu i przekształcenie pro-IL-1 β i pro-IL-18 w ich formy aktywne wtedy, gdy jest rozpoznany przez białko AIM2 (absent in melanoma), nienależące do

rodziny NLR. Białko AIM2 będące receptorem cytoplazmatycznym stymuluje powstawanie inflamasomów w sposób zależny od białka adaptorowego ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a carboxy-terminal CARD) [13,25,47,50]. Białko to należy do rodziny PYHIN (pyrin and HIN200 domain-containing proteins). U myszy rodzina PYHIN składa się przynajmniej z dziewięciu spokrewnionych strukturalnie białek, których geny znajdują się na 1 chromosomie w obrębie *locus* 1H3, natomiast u ludzi wykryto 4 geny (MNDA, IFI16, AIM2, IFIX) zlokalizowane na chromosomie w obrębie 1 *locus* 1q22 [7]. Wspólnym elementem tych białek jest domena HIN200, której nazwa jest akronimem: hematopoietic expression, IFN-inducible, nuclear localization and length of 200 amino acid domains. Zarówno mysie, jak i ludzkie białko AIM2 wyróżnia się tym, że jest odnajdywane w cytoplazmie komórki, a nie jak pozostałe białka w jądrze komórkowym oraz tym, że jedynie domena pyrynowa (pyrin domain – PYD) tego białka oddziałuje z domeną PYD białka adaptorowego ASC. Białko ASC jest dwubiegunowe i zbudowane z N'końcowej domeny PYD i C'końcowej domeny CARD, dzięki czemu jest ono łącznikiem między białkiem AIM2 i prokaspazą 1 w wyniku homotypowych interakcji białko-białko [6,37,40].

Związanie liganda przez domenę HIN200 białka AIM2 powoduje oligomeryzację/dimeryzację tego receptora i rekrutację białka adaptorowego ASC poprzez interakcję domen PYD-PYD. Połączone w swego rodzaju platformę molekularną białka AIM2 i ASC rekrutują nieaktywne prokaspazy 1 poprzez bezpośrednie homotypowe interakcje domen CARD-CARD białka ASC i prokaspazy 1. Formowanie inflamasomu inicjuje autokatalityczną aktywację kaspazy 1 poprzez przybliżenie dwu albo trzech zymogenów, co prowadzi do „aktywacji wymuszonej przez bliskość”, a to z kolei do powstania aktywnej postaci enzymu funkcjonującego jako tetramer utworzony z dwu podjednostek dużych (20 kDa) i dwu podjednostek małych (10 kDa). Aktywna kaspaza 1 tnie pro-IL-1 β i pro-IL-18 prowadząc do powstania ich aktywnych postaci. Mechanizm uwalniania z komórki IL-1 β i IL-18 jeszcze nie został wyjaśniony [25,41] (ryc. 5).

Białko AIM2 nie wydaje się swoiste, jeśli chodzi o rozpoznanie dsDNA. Zarówno wirusowy, bakteryjny jak eukariotyczny dsDNA może stymulować szlak przekazywania sygnału, czyli lokalizacja tego typu kwasu nukleinowego w cytoplazmie ma znaczenie w stymulacji odpowiedzi immunologicznej. Białko to odpowiada tylko na dłuższe odcinki dsDNA, natomiast krótkie odcinki dsDNA i ssDNA nie pobudzają tego receptora. Może to sugerować udział receptora AIM2 w patogenezie chorób autoimmunologicznych. Poza tym, że inflamasomy powstałe pod wpływem białka AIM2 stymulują przekształcanie pro-IL-1 β i pro-IL-18 w ich postaci aktywne, są one też odpowiedzialne za zaprogramowaną specyficzną śmierć komórki – pyroptozę. Ten rodzaj śmierci komórki charakteryzuje się utratą integralności błony cytoplazmatycznej (przeciwnie niż w przypadku apoptozy), a także fragmentacją DNA za pomocą jak dotąd niezidentyfikowanej nukleazy, zależnej od kaspazy 1. Nie prowadzi to do utworzenia typowej drabinki DNA jak w apoptozie, tylko do jego kondensacji w nieuszkodzonym jądrze komórkowym. Wydaje się, że ten rodzaj śmierci komórki jest ważnym czynnikiem

w ograniczaniu rozprzestrzeniania się czynników zakaźnych [16,27,40]. Mysie białko p202 należące do rodziny HIN200 jest negatywnym regulatorem tworzenia inflamasomów pod wpływem dimeryzacji białka AIM2. Białko to zawiera dwie domeny HIN200, ale nie ma domeny PYD. Jest zdolne do swoistego wiązania dsDNA, ale nie może związać białka adaptorowego ASC. Jak do tej pory nie zidentyfikowano ludzkiego ortologa tego białka [51].

4.3. Polimeraza RNA III – stymulacja szlaków zależnych od receptorów RIG-I-podobnych

Dalsze badania dotyczące wykrywania cytosolowego DNA zasugerowały zaangażowanie białka adaptorowego IPS-1 w przesyłanie sygnału po aktywacji przez dsDNA. W komórkach pozbawionych białka IPS-1 po stymulacji dsDNA obserwowano wyraźną redukcję syntezy IFN typu I i cytokin prozapalnych [29]. Co więcej, inne badania wykazały, że komórki pozbawione funkcjonalnego receptora RIG-I nie były zdolne do syntezy IFN typu I po stymulacji poly(dA: dT), odpowiednikiem B-DNA *in vitro* [8]. Zarówno receptor RIG-I, jak i białko adaptorowe IPS-1 uczestniczą w rozpoznawaniu zakażenia wirusami RNA, a nie wirusami DNA. W celu wyjaśnienia tej sprzeczności został zaproponowany model wskazujący na udział polimerazy RNA III w syntezie liganda dla receptorów RIG-I i MDA. Zasugerowano, że DNA nie jest bezpośrednim stymulatorem tych receptorów, ale prowadzi do syntezy endogennej RNA i to on jest bezpośrednim ligandem RIG-I. Polimeraza RNA III w sposób niezależny od promotora może przeprowadzić transkrypcję, co prowadzi do powstania transkryptów. Co więcej, enzym ten jest aktywny zarówno w jądrze, jak i cytoplazmie, co wskazuje na jego udział w rozpoznawaniu cytosolowego DNA i sugeruje nowy szlak stymulacji odpowiedzi immunologicznej. Prawdopodobnie ligandy RIG-I i MDA5 są syntetyzowane zarówno w cytoplazmie jak i jądrze, a powstałe transkrypty są następnie transportowane do cytoplazmy, gdzie włączają szlak stymulacji zależny od RIG-I [1,10,27] (ryc. 6).

4.4. Przesyłanie sygnału zależnego od receptorów AIM2-podobnych

W zakażeniach pokswirusami i herpeswirusami wykazano, że DNA VacV i DNA HSV-1 zawierają motywy odpowiedzialne za indukcję syntezy IFN- β w szlaku niezależnym od receptorów DAI, TLR i polimerazy RNA III, zależnym natomiast od białka STING/MITA, kinazy TBK-1 i czynnika IRF-3. To wskazało na istnienie nowego rodzaju receptora stymulowanego wirusowym dsDNA. Ustalono, że jest to białko IFI16 należące do rodziny PYHIN. Do niedawna uznawano, że tylko białko AIM2 należące do tej samej rodziny, jest umiejscowione w cytoplazmie, natomiast pozostałe białka należące do rodziny PYHIN występują zawsze w jądrze komórkowym. Mimo że oba omawiane wirusy należą do wirusów DNA, pokswirusy namnażają się w cytoplazmie komórki, natomiast herpeswirusy replikują się w jądrze komórkowym. W trakcie prowadzonych badań stwierdzono, że 70mer DNA VacV był wiązany przez białko IFI16 i utworzony kompleks został zlokalizowany w cytoplazmie. Natomiast 60mer DNA HSV stymulował białko IFI16 i tworzył z nim kompleks w jądrze komórkowym. Nie wiadomo jeszcze w jaki sposób następuje translokacja białka IFI16 do cytoplazmy, a także jakie sekwencje

determinują interakcje między wirusowym DNA i na jakiej zasadzie dochodzi do stymulacji białka IFI16. Białko IFI16 wiązało w sposób bezpośredni wirusowy motyw DNA i wówczas następowała rekrutacja STING/MITA. Zasugerowano, że DNA o określonej długości obecny w cytoplazmie indukował oligomeryzację białka IFI16 prowadząc do powstania szkieletu zdolnego do rekrutacji białka STING/MITA i przesyłania sygnału. Mysi ortolog IFI16, białko p204, w podobny sposób wiąże te same motywy wirusowego dsDNA. Jednocześnie nie obserwowano indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej wyraźnej syntezą IFN- β po stymulacji wirusami RNA. Oba białka, IFI16 i p204, należą do tej samej rodziny co białko AIM2 odpowiedzialne za przesyłanie sygnału wewnątrzkomórkowego z udziałem białka adaptorowego ASC, co prowadzi do rekrutacji prokaspazy 1, formowania inflamasomu i przekształcania pro-IL-1 β i pro-IL-18 w ich postaci aktywne. Jednakże białka IFI16 i p204 nie angażują białka adaptorowego ASC tylko białko STING/MITA, czego skutkiem jest aktywacja syntezy IFN- β . Ponieważ białka IFI16 i p204 są strukturalnie podobne do białka AIM2 i podobnie jak ono rozpoznają cytosolowy DNA, zaproponowano utworzenie nowej rodziny receptorów stymulowanych DNA – receptorów AIM2-podobne (AIM2-like receptors – ALR) [67].

5. PODSUMOWANIE

Wniknięcie wirusa do komórek gospodarza aktywuje jego układ odpornościowy. Efektywna odpowiedź na zakażenie wirusowe wyraża się indukcją syntezy cytokin prozapalnych i interferonów typu I. Jest to wynik przesyłania sygnałów przez liczne receptory wewnątrzkomórkowe, zdolne do wykrycia wirusowych kwasów nukleinowych, takich jak genomowy RNA, DNA i wszystkich replikacyjnych form pośrednich. Indukcja syntezy IFN typu I przez zakażone wirusem komórki jest kluczowym etapem w odpowiedzi przeciwwirusowej. Głównym zadaniem tej odpowiedzi jest zablokowanie replikacji wirusa, zniszczenie zakażonych komórek, eliminacja wirusa zahamowanie dalszego jego rozprzestrzeniania się w organizmie. Interferony, chociaż najlepiej znane ze swoich właściwości przeciwwirusowych, są też bardzo ważnymi regulatorami proliferacji komórek i mają silne działanie immunomodulujące. Działają bezpośrednio, hamując replikację wirusa w komórkach zakażonych lub pośrednio stymulując odpowiedź nieswoistą i swoistą. Tak szeroki zakres działania wynika z tego, że przesyłanie sygnału wewnątrzkomórkowego poprzez swoiste receptory prowadzi do modulacji i ekspresji licznych genów odpowiedzialnych za wiele procesów biologicznych w komórce [17,66]. Interferony inicjują autokryny i parakryny sygnał aktywując szlak zależny od kinaz JAK/STAT (Janus kinase/signal transduction and activation of transcription), co prowadzi do odpowiedzi chroniącej komórki docelowe przed zakażeniem wirusowym, a także pełniąc rolę pomocniczą w stymulacji i rozwoju odporności nabytej [28]. IFN typu I bezpośrednio aktywują komórki dendrytyczne i komórki NK, a także są odpowiedzialne za przeżywanie

i utrzymanie funkcji efektorowych limfocytów T i B, łącząc w ten sposób odpowiedź wrodzoną z odpowiedzią nabytą [39,66]. Bez wątplenia IFN typu I przez swoją aktywność mogą wpływać na dojrzewanie i osiedlanie się komórek, na ich funkcje efektorowe i apoptozę. Ponadto pod wpływem IFN typu I syntetyzowane są kolejne mediatory, bezpośrednio oddziałujące z wirusami i hamujące ich namnażanie [66]. Niedawno do tej grupy przekaźników dołączyły IFN typu III, których synteza jest stymulowana przez aktywację TLR. U ludzi są to: IFN- λ 1, - λ 2, - λ 3 lub IL-29 (λ 1) oraz IL-28A/B (λ 2/3). U myszy tylko IFN- λ 2/3 jest funkcjonalnym interferonem, gdyż gen kodujący IFN- λ 1 jest pseudogenem. Aktywność IFN typu III jest bardzo podobna do IFN typu I, ponieważ stymulują one bezpośrednią odpowiedź przeciwwirusową. Podobnie jak IFN typu I stymulują szlak JAK/STAT jednakże wpływ IFN typu III jest determinowany przez ekspresję receptora tego mediatora. W przeciwieństwie do receptora IFN typu I, receptor IFN typu III jest prezentowany tylko na niektórych populacjach komórek. Jak do tej pory ich funkcje regulatorowe zostały słabo określone [3,4,35,58,68].

Receptory odpowiedzialne za wykrywanie zakażenia wirusowego stymulują syntezę i wydzielanie cytokin prozapalnych i chemokin. Zarówno komórki dendrytyczne, jak i makrofagi wydzielają TNF- α , IL-6, białko chemotaktyczne monocytów 1 (monocyte chemoattractant protein 1 – MCP-1) oraz IL-12 w odpowiedzi na zakażenie wirusowe. Cytokiny prozapalne odpowiadają za aktywację komórek śródbłonna naczyń i przyciąganie komórek układu odpornościowego, w początkowym etapie głównie monocytów i neutrofilów, do miejsca zakażenia. W wyniku rozwoju zapalenia może dojść do eliminacji wirusa, a jednocześnie zachodzi indukcja odpowiedzi swoistej. Dzięki aktywacji AIM2 następuje przekształcanie IL-1 β i IL-18 w ich postaci aktywne odpowiedzialne m.in. za naciekanie leukocytów do ogniska zapalenia, a także za stymulację syntezy IFN- γ w aktywowanych limfocytach T i komórkach NK. Powoduje to polaryzację odpowiedzi immunologicznej w kierunku Th1, indukcję ekspresji FasL, inicjację syntezy drugorzędowych cytokin i chemokin prozapalnych oraz białek adhezyjnych i tlenku azotu [13].

W walce z wirusami układ odpornościowy zwierząt rozwinął wiele niezależnych strategii wykrywania zakażenia i chociaż szlaki aktywacji i przesyłanie sygnału za pośrednictwem TLR, RLR, DAI i ALR różnią się, to jednak zawsze następuje stymulacja genów IFN typu I, IFN typu III i cytokin prozapalnych, co prowadzi do powstania nieswoistej i swoistej odpowiedzi przeciwwirusowej (ryc 6). W trakcie stymulacji odpowiedzi immunologicznej zachodzi współpraca między TLR, RLR, DAI oraz AIM-2. Pierwsza grupa receptorów jest odpowiedzialna za stymulację syntezy cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-6, IL-12, MCP-1, RANTES, IL-8 i innych), także proIL-1 β i proIL-18. AIM-2 jest odpowiedzialny za przekształcanie proIL-1 β i proIL-18 w ich formę aktywną.

PIŚMIENNICTWO

[1] Ablasser A., Bauernfeind F., Hartmann G., Latz E., Fitzgerald K.A., Hornung V.: RIG-I-dependent sensing of poly(dA:dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate. *Nat. Immunol.*, 2009; 10: 1065–1072

[2] Akira S., Takeda K.: Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 499–511

[3] Ank N., Paludan S.R.: Type III IFNs: new layers of complexity in innate antiviral immunity. *Biofactors*, 2009; 35: 82–87

- [4] Ank N., West H., Bartholdy C., Eriksson K., Thomsen A.R., Paludan S.R.: Lambda interferon (IFN- λ), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against selected virus infections *in vivo*. *J. Virol.*, 2006; 80: 4501–4509
- [5] Arimoto K., Takahashi H., Hishiki T., Konishi H., Fujita T., Shimotohno K.: Negative regulation of the RIG-I signaling by the ubiquitin ligase RNF125. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 7500–7505
- [6] Bauernfeind F., Ablasser A., Bartok E., Kim S., Schmid-Burgk J., Cavar T., Hornung V.: Inflammasomes: current understanding and open questions. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011; 68: 765–783
- [7] Boo K.H., Yang J.S.: Intrinsic cellular defenses against virus infection by antiviral type I interferon. *Yonsei Med. J.*, 2010; 51: 9–17
- [8] Cheng G., Zhong J., Chung J., Chisari F.V.: Double-stranded DNA and double-stranded RNA induce a common antiviral signaling pathway in human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 9035–9040
- [9] Chi H., Flavell R.A.: Innate recognition of non-self nucleic acids. *Genome Biol.*, 2008; 9: 211.1–211.7
- [10] Chiu Y.H., Macmillan J.B., Chen Z.J.: RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG-I pathway. *Cell*, 2009; 138: 576–591
- [11] Colonna M.: TLR pathways and IFN regulatory factors: to each its own. *Eur. J. Immunol.*, 2007; 37: 306–309
- [12] Diebold S.S.: Recognition of viral single-stranded RNA by Toll-like receptors. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008; 60: 813–823
- [13] Dinarello C.A.: Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Ann. Rev. Immunol.*, 2009; 27: 519–550
- [14] Eberl G., Boneca I.G.: Bacteria and MAMP-induced morphogenesis of the immune system. *Curr. Opin. Immunol.*, 2010; 22: 448–454
- [15] Fernandes-Alnemri T., Wu J., Yu J.W., Datta P., Miller B., Jankowski W., Rosenberg S., Zhang J., Alnemri E.S.: The pyroptosome: a supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation. *Cell Death Differ.*, 2007; 14: 1590–1604
- [16] Fink S.L., Cookson B.T.: Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect. Immun.*, 2005; 73: 1907–1916
- [17] Garcia-Sastre A.: Mechanisms of inhibition of the host interferon α/β -mediated antiviral responses by viruses. *Microbes Infect.*, 2002; 4: 647–655
- [18] Gilliet M., Cao W., Liu Y.J.: Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 594–606
- [19] Goodman M.G.: A new approach to vaccine adjuvants. Immunopotentiality by intracellular T-helper-like signals transmitted by loxoribine. *Pharm. Biotechnol.*, 1995; 6: 581–609
- [20] Hemmi H., Kaisho T., Takeuchi O., Sato S., Sanjo S., Hoshino K., Horiuchi T., Tomizawa H., Takeda K., Akira S.: Small anti-viral compounds activate immune cells via TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 196–200
- [21] Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S.: A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, 2000; 408: 740–745
- [22] Hochrein H., Schlatter B., O’Keefe M., Wagner C., Schmitz F., Schiemann M., Bauer S., Suter M., Wagner H.: Herpes simplex virus type-1 induces IFN- α production via Toll-like receptor 9-dependent and -independent pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 11416–11421
- [23] Honda K., Takaoka A., Taniguchi T.: Type I interferon gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. *Immunity*, 2006; 25: 349–360
- [24] Honda K., Yanai H., Negishi H., Asagiri M., Sato M., Mizutani T., Shimada N., Ohba Y., Takaoka A., Yoshida N., Taniguchi T.: IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses. *Nature*, 2005; 434: 772–777
- [25] Hornung V., Ablasser A., Charrell-Dennis M., Bauernfeind F., Horvath G., Caffrey D.R., Latz E., Fitzgerald K.A.: AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1 activating inflammasome with ASC. *Nature*, 2009; 458: 514–518
- [26] Hornung V., Ellegast J., Kim S., Brzózka K., Jung A., Kato H., Poeck H., Akira S., Conzelmann K.K., Schlee M., Endres S., Hartmann G.: 5’-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science*, 2006; 314: 994–997
- [27] Hornung V., Latz E.: Intracellular DNA recognition. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010; 10: 123–130
- [28] Horvath, C.M.: The Jak-STAT pathway stimulated by interferon alpha or interferon beta. *Sci. STKE*, 2004: tr10
- [29] Ishii K.J., Coban C., Kato H., Takahashi K., Torii Y., Takeshita F., Ludwig H., Sutter G., Suzuki K., Hemmi H., Sato S., Yamamoto M., Uematsu S., Kawai T., Takeuchi O., Akira S.: A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. *Nat. Immunol.*, 2006; 7: 40–48
- [30] Ishikawa H., Barber G.N.: STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signaling. *Nature*, 2008; 455: 674–678
- [31] Iwasaki A., Medzhitov R.: Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 987–995
- [32] Kato H., Takeuchi O., Mikamo-Sato E., Hirai R., Kawai T., Matsushita K., Hiiragi A., Dermody T.S., Fujita T., Akira S.: Length-dependent recognition of double stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-1 and melanoma differentiation-associated gene 5. *J. Exp. Med.*, 2008; 205: 1601–1610
- [33] Klinman D.M.: Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 249–258
- [34] Komuro A., Horvath C.M.: RNA- and virus-independent inhibition of antiviral signaling by RNA helicase LGP2. *J. Virol.*, 2006; 80: 12332–12342
- [35] Kotenko S.V., Gallagher G., Baurin V.V., Lewis-Antes A., Shen M., Shah N.K., Langer J.A., Sheikh F., Dickensheets H., Donnelly R.P.: IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 69–77
- [36] Kumagai Y., Takeuchi O., Akira S.: TLR9 as a key receptor for the recognition of DNA. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008; 60: 795–804
- [37] Lamkanfi M., Dixit V.M.: Inflammasomes: guardians of cytosolic sanctity. *Immunol. Rev.*, 2009; 227: 95–105
- [38] Lazzaro B.P., Rolff J.: Danger, microbes and homeostasis. *Science*, 2011; 332: 43–44
- [39] Marrack P., Kappler J., Mitchell T.: Type I interferons keep activated T cells alive. *J. Exp. Med.*, 1999; 189: 521–530
- [40] Martinon F., Mayor A., Tschopp J.: The inflammasomes: guardians of the body. *Annu. Rev. Immunol.*, 2009; 27: 229–265
- [41] Martinon F., Tschopp J.: Inflammatory caspases: linking an intracellular innate immune system to autoinflammatory diseases. *Cell*, 2004; 117: 561–574
- [42] Matsumoto M., Funami K., Tanabe M., Oshiumi H., Shingai M., Seto Y., Yamamoto A., Seya T.: Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J. Immunol.*, 2003; 171: 3154–3162
- [43] McCartney S.A., Colonna M.: Viral sensors: diversity in pathogen recognition. *Immunol. Rev.*, 2009; 227: 87–94
- [44] Meylan E., Burns K., Hofmann K., Blancheteau V., Martinon F., Kelliher M., Tschopp J.: RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF- κ B activation. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 503–507
- [45] Modlin R.L.: A Toll for DNA vaccines. *Nature*, 2000; 408: 659–660
- [46] Morrison L.A.: The Toll of herpes simplex virus infection. *Trends Microbiol.*, 2004; 12: 353–356
- [47] Muruve D.A., Pétrilli V., Zais A.K., White L.R., Clark S.A., Ross P.J., Parks R.J., Tschopp J.: The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response. *Nature*, 2008; 452: 103–107
- [48] Pasare C., Medzhitov R.: Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity. *Microbes Infect.*, 2004; 6: 1382–1387
- [49] Pirher N., Ivičak K., Pohar J., Benčina M., Jerala R.: A second binding site for double-stranded RNA in TLR3 and consequences for interferon activation. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2008; 15: 761–763
- [50] Rathinam V.A., Jiang Z., Waggoner S.N., Sharma S., Cole L.E., Waggoner L., Vanaja S.K., Monks B.G., Ganesan S., Latz E., Hornung V., Vogel S.N., Szomolanyi-Tsuda E., Fitzgerald K.A.: The AIM2 inflammasome is essential for host defense against cytosolic bacteria and DNA viruses. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 395–402
- [51] Roberts T.L., Idris A., Dunn J.A., Kelly G.M., Burnton C.M., Hodgson S., Hardy L.L., Garceau V., Sweet M.J., Ross I.L., Hume D.A., Stacey K.J.: HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science*, 2009; 323: 1057–1060
- [52] Rothenfusser S., Goutagny N., DiPerna G., Gong M., Monks B.G., Schoenemeyer A., Yamamoto M., Akira S., Fitzgerald K.A.: The RNA helicase Lgp2 inhibits TLR-independent sensing of viral replication by retinoic acid-inducible gene-1. *J. Immunol.*, 2005; 175: 5260–5268
- [53] Saito T., Hirai R., Loo Y.M., Owen D., Johnson C.L., Sinha S.C., Akira S., Fujita T., Gale M.Jr.: Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 582–587

- [54] Satoh T., Kato H., Kumagai Y., Yoneyama M., Sato S., Matsushita K., Tsujimura T., Fujita T., Akira S., Takeuchi O.: LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 1512–1517
- [55] Schlee M., Hartmann E., Coch C., Wimmenauer V., Janke M., Barchet W., Hartmann G.: Approaching the RNA ligand for RIG-I? *Immunol. Rev.*, 2009; 227: 66–74
- [56] Shao W., Yeretssian G., Doiron K., Hussain S.N., Saleh M.: The caspase-1 digestome identifies the glycolysis pathway as a target during infection and septic shock. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 36321–36329
- [57] Shaw M.H., Reimer T., Kim Y.G., Nunez G.: NOD-like receptors (NLRs): bona fide intracellular microbial sensors. *Curr. Opin. Immunol.*, 2008; 20: 377–382
- [58] Sheppard P., Kindsvogel W., Xu W., Henderson K., Schlutsmeyer S., Whitmore T.E., Kuestner R., Garrigues U., Birks C., Roraback J., Ostrander C., Dong D., Shin J., Presnell S., Fox B., Haldeman B., Cooper E., Taft D., Gilbert T., Grant F.J., Tackett M., Krivan W., McKnight G., Clegg C., Foster D., Klucher K.M.: IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 63–68
- [59] Tabeta K., Georgel P., Janssen E., Du X., Hoebe K., Crozat K., Mudd S., Shamel L., Sovath S., Goode J., Alexopoulou L., Flavell R.A., Beutler B.: Toll-like receptors 3 and 9 as essential components of innate immune defense against mouse cytomegalovirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 3516–3521
- [60] Tabeta K., Mack A., Moresco E.M.Y., Beutler B.: Record for CpG1, updated Sep 07, 2010. MUTAGENETIX (TM), B. Beutler and colleagues, Department of Genetics, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA. <http://mutagenetix.scripps.edu/> (12.11.2010)
- [61] Takahashi K., Kawai T., Kumar H., Sato S., Yonehara S., Akira S.: Roles of caspase-8 and caspase-10 in innate immune responses to double-stranded RNA. *J. Immunol.*, 2006; 176: 4520–4524
- [62] Takaoka A., Taniguchi T.: Cytosolic DNA recognition for triggering innate immune responses. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008; 60: 847–857
- [63] Takaoka A., Wang Z., Choi M.K., Yanai H., Negishi H., Ban T., Lu Y., Miyagishi M., Kodama T., Honda K., Ohba Y., Taniguchi T.: DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. *Nature*, 2007; 448: 501–505
- [64] Takeda K., Kaisho T., Akira S.: Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol.*, 2003; 21: 335–376
- [65] Takeuchi O., Akira S.: Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.*, 2009; 227: 75–86
- [66] Theofilopoulos A.N., Baccala R., Beutler B., Kono D.H.: Type I interferons (α/β) in immunity and autoimmunity. *Annu. Rev. Immunol.*, 2005; 23: 307–336
- [67] Unterholzner L., Keating S.E., Baran M., Horan K.A., Jensen S.B., Sharma S., Sirois C.M., Jin T., Latz E., Xiao T.S., Fitzgerald K.A., Paludan S.R., Bowie A.G.: IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 997–1004
- [68] Uzé G., Monneron D.: IL-28 and IL-29: newcomers to the interferon family. *Biochimie*, 2007; 89: 729–734
- [69] Venkataraman T., Valdes M., Elsyby R., Kakuta S., Caceres G., Saijo S., Iwakura Y., Barber G.N.: Loss of DEXD/H box RNA helicase LGP2 manifests disparate antiviral responses. *J. Immunol.*, 2007; 178: 6444–6455
- [70] Vercammen E., Staal J., Beyaert R.: Sensing of viral infection and activation of innate immunity by Toll-like receptor 3. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008; 21: 13–25
- [71] Vilaysane A., Muruve D.A.: The innate immune response to DNA. *Semin. Immunol.*, 2009; 21: 208–214
- [72] Yanai H., Savitsky D., Tamura T., Taniguchi T.: Regulation of the cytosolic DNA-sensing system in innate immunity: a current view. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009; 21: 17–22
- [73] Yoneyama M., Fujita T.: Function of RIG-I-like receptors in antiviral innate immunity. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 15315–15318
- [74] Zhang S.Y., Jouanguy E., Ugolini S., Smahi A., Elain G., Romero P., Segal D., Sancho-Shimizu V., Lorenzo L., Puel A., Picard C., Chappier A., Plancoulaine S., Titeux M., Cognet C., von Bernuth H., Ku C.L., Casrouge A., Zhang X.X., Barreiro L., Leonard J., Hamilton C., Lebon P., Héron B., Vallée L., Quintana-Murci L., Hovnanian A., Rozenberg F., Vivier E., Geissmann F., Tardieu M., Abel L., Casanova J.L.: TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis. *Science*, 2007; 317: 1522–1527
- [75] Zheng M., Klinman D.M., Gieryńska M., Rouse B.T.: DNA containing CpG motifs induces angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 8944–8949

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.