

## РОЗДІЛ 9. ЦИТОКІНИ

**Загальна характеристика.** Цитокіни - це численна група різних за місцем утворення, структурою та біологічною активністю білкових молекул, синтез яких індукується екзо- або ендogenousними антигенами та які регулюють утворення, розвиток, ріст і функціонування різних клітин організму, насамперед клітин імунної системи. Цитокіни є основним фактором взаємодії між клітинами імунної системи та між соматичними клітинами і клітинами імунної системи. Відомо їх понад 100. У міру відкриття цитокінів їх називали за ефектом дії на певні клітини (наприклад, В-клітинний ростовий фактор), а групову назву давали залежно від клітини-продуцента. Так, цитокіни, що синтезувалися лімфо-цитами, називали лімфокінами, моноцитами, макрофагами - монокінами, нейтрофілами - нейтрофілокінами. Після детального вивчення біологічної активності та визначення первинної структури запропоновано називати їх інтерлейкінами — медіаторами міжлейкоцитарної взаємодії й надавати їм відповідний номер. Нині відомо понад 30 інтерлейкінів. Однак деякі цитокіни зберегли свою первинну назву (інтерферони, фактори некрозу пухлин, колонієстимулювальні фактори, онкостатин М, фактори росту та ін.). Окрему групу цитокінів складають речовини, які регулюють міграцію лейкоцитів в організмі. Їх називають *хемокінами*.

Класифікувати цитокіни досить складно, оскільки вони мають різну структуру, можуть синтезуватися багатьма клітинами різної тканинної диференціації, мати плеотропну дію, тобто впливати одночасно на різноманітні клітини, чинити ефекти, які можуть бути навіть протилежними залежно від оточення, взаємодії з іншими факторами, стадії розвитку реакцій тощо, а один і той самий ефект може бути індукований кількома цитокінами. Нерідко спостерігається синергізм дії цитокінів, а також виявляється каскадний характер утворення цитокінів. При цьому новоутворені цитокіни індукують синтез інших цитокінів, які, в свою чергу, стимулюють продукування ранніх цитокінів, що сприяє ампліфікації процесу і залученню до нього більшої кількості клітин.

**Продуценти цитокінів.** Цитокіни можуть синтезуватися різноманітними клітинами, серед яких виділяють три відносно автономні групи клітин-продуцентів, що виробляють основну масу цитокінів. Це стромальні клітини кісткового мозку (ендотеліоцити, фібробласти), що продукують переважно цитокіни, які регулюють гемопоез, - ГМ-, Г-, М-КСФ, інтерлейкіни 6, 7, 8, 11, інтерферон  $\beta$ , трансформівний фактор росту  $\beta$ . Індукторами цих цитокінів є бактеріальні антигени та контактна взаємодія клітин. Рівень продукування цитокінів стромальними клітинами в нормі невеликий і зумовлений, можливо, контактом цих клітин з кровотворними клітинами. Синтез цих цитокінів значно збільшується при дії продуктів мікробного походження і не

тільки в кровотворних органах, а й у місцях агресії або ушкоджень. Після

індукування цитокини виробляються дуже швидко, мРНК з'являється впродовж першої години, а пік секреції спостерігається через 3-4 год.

Другою групою клітин-продуцентів є моноцити/макрофаги, які у відповідь на взаємодію з мікроорганізмами та їх продуктами синтезують інтерлейкіни 1, 6, 10, 12, 15, ФНП- $\alpha$ , М-, Г-, М-КСФ, ТФР- $\beta$ , ІФН- $\alpha$ , хемокіни, які беруть участь у регуляції запальних процесів. мРНК виявляється впродовж першої години, а пік синтезу цитокинів спостерігається через 6-14 год.

До третьої групи клітин-продуцентів належать усі лімфоцити, проте основними виробниками цитокинів є CD4Т-лімфоцити — Тх0, Тх1 і Тх2. Тх0 активно продукують ІЛ-2 і менш активно ІЛ-3, -4, -5, -6, -10, -13, ІФН- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$  і ФНП- $\beta$ , ГМ-КСФ. Індукція синтезу цитокинів (ІЛ-2, ІЛ-3, ІФН- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$  і ФНП- $\beta$ , ГМ-КСФ, хемокіни) лімфоцитами Тх1 відбувається після зв'язування антигену або мітогену через ТкР (CD3/CD28) за наявності ІЛ-12; пік секреції цитокинів спостерігається через 10-48 год, а мРНК виявляється через 5-8 год. Тх2 синтезують цитокини (ІЛ-4, -5, -6, -9, -10, -13, -3, ГМ-КСФ, хемокіни) після зв'язування антигену або мітогену за наявності інтерлейкіну 4; пік синтезу спостерігається через 24-48 год, а мРНК виявляється через 5-8 год.

Джерелом природних цитокинів є культуральне середовище стимульованих поліклональними активаторами (фітогемаглютиніном, конконаваліном А, ліпополісахаридами) мононуклеарних клітин крові, селезінки, лімфовузлів. Для багатьох цитокинів виявлено суперпродуценти - трансформовані лінії клітин. Оскільки нормальні клітини виробляють цитокини в незначній кількості, розроблено промислове отримання так званих рекомбінантних форм цитокинів за допомогою рекомбінантних ДНК шляхом перенесення генів цитокинів людини в різні клітини: бактеріальні, дріжджові, комах та ін.

Характерною ознакою цитокинів є відсутність здатності депонуватися; їх синтез відбувається тільки короткочасно, імпульсно у відповідь на дію індукторних факторів, матрична їх РНК дуже короткоживуча. Винятком є ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1, які здатні депонуватися відповідно в мастоцитах і кератоцитах.

Визначають цитокини за проявом їх біологічної активності або на цитокинзалежних лініях клітин, або за допомогою МкАТ.

Слід зазначити, що процеси, які індукуються в клітинах цитокинами, запрограмовані в клітинах, і цитокини під час взаємодії з відповідними зовнішніми структурами рецепторів тільки запускають ці процеси.

**Рецептори цитокинів.** Взаємодія цитокинів з клітинами-мішенями опосередковується відповідними високоспецифічними мембранними

рецепторами, які можуть бути двох типів - високо- і низькоафінними. Роль низькоафінних рецепторів невідома, оскільки тільки високоафінні рецептори ( $K_d=10^{-10}-10^{-11}$ ) здатні за-нурюватися разом з цитокином усередину клітини й викликати відповідь. Високоспецифічні рецептори складаються з декількох одиниць, які самостійно здатні зв'язувати відповідні цитокини, але з меншою афінністю. Всі рецептори цитокинів є трансмембранними глікопротеїнами, позаклітинна частина яких зумовлює зв'язування певного цитокину. Цитоплазматичні ділянки рецепторів для цитокинів зв'язані з кіназами родини Janus - Jak 1, Jak 2, Jak 3, Тук 2. Після приєднання цитокину до відповідного рецептора відбувається гомо- або гетероолігомеризація субодиниць рецептора і просторове зближення цитоплазматичних ділянок, що сприяє приєднанню кіназ та індукції фосфорилування у місці залишків тирозину. Це створює умови для приєднання провідників сигналу й активаторів транскрипції -молекул з родини STAT (від англ. *signal transducer and activator of transcription*). Відомо сім молекул STAT — 1, 2, 4, 5а, 5б, 6. У місці залишку тирозину кінази Janus фосфорилують молекули STAT, які після димеризації переміщуються в ядро та активують транскрипцію. Виділяють кілька груп рецепторів для цитокинів.

**Суперродина рецепторів цитокинів першого типу.** Це гетеродимери. До цієї суперродини належить більшість рецепторів, що функціонують в імунній і гемопоетичній системах, та ряд рецепторів ростових гормонів і пролактину. В родині цих рецепторів існує консервативна амінокислотна послідовність в екстрацелюлярному домені - 4 цистеїнових залишки (СССС) і консервативна послідовність WSXWS, де W - тирозин, S - серин, X - неконсервативна амінокислота. Для цитокінових рецепторів характерна 4-альфа-спіральна структура. Рецептор складається з двох (альфа- і гамма-) або трьох (альфа-, бета- і гамма-) субодиниць: цитокін специфічної субодиниці (альфа-) і сигналіндукувальних субодиниць (бета- і гамма-), які зазвичай неспецифічні до цитокинів. Субодиниця, що індукуює сигнал, необхідна для високоафінного зв'язування цитокину. Виділяють кілька субродин цих цитокинів.

Субродина рецепторів типу ІЛ-2 включає рецептори інтерлейкінів 2, 4, 7, 9, 13, 15, 21. До складу рецепторів ІЛ-2 і ІЛ-15 входить одна цитокінспецифічна (альфа-) і дві (бета- і гамма-) сигналіндукувальні субодиниці. Для димерних форм рецепторів цієї родини гамма-ланцюг (CD132) рецептора ІЛ-2 є відповідальним за трансдукцію сигналу.

Субродина рецепторів гемопоетичних цитокинів включає рецептори ІЛ-3, ІЛ-5 і ГМ-КСФ. Цитокінспецифічною субодиницею є  $\alpha$ -субодиниця з низькою афінністю. Сигналіндукувальною одиницею є  $\beta$ -ланцюг (CD131). Всі три низькоафінні субодиниці можуть некова-

лентно зв'язуватися з  $\beta$ -одиницею. Такий кластер має підвищену афінність і ефективно передає індукований сигнал через мембрану після зв'язування цитокіну.

*Субродина рецепторів ІЛ-6* включає ІЛ-6, ІЛ-11, ІЛ-12, ІЛ-31, онкотатин М, лейкомієінгібівний фактор (ЛІФ). Кандидатами в цю групу є рецептори ІЛ-23, ІЛ-27, ІЛ-30. Загальна сигналіндукуваль-на субодина (CD130) зв'язана з однією або двома різними цитокінспецифічними субодинами. Цитокіни цієї групи здатні перекривати власні біологічні властивості.

**Суперродина рецепторів цитокінів другого типу** містить два їх типи: фібронектин III-подібні домени і два імуноглобулінподібні домени. До цієї суперродини входить дві групи рецепторів - інтерферонові та рецептори типу рецепторів ІЛ-10. Для останніх характерна будова молекул, до складу яких входить дві альфа- і дві бета субодина. До інтерферонових рецепторів входять рецептори інтерферонів альфа-, бета- і гамма-. Група рецепторів ІЛ-10 включає рецептори ІЛ-10, ІЛ-19, ІЛ-20, ІЛ-22, ІЛ-24, ІЛ-26, ІЛ-28, ІЛ-29.

**Суперродина рецепторів типу ФНП.** Ця суперродина включає рецептори ФНП- $\alpha$ , ФНП- $\beta$ , ЛТ- $\beta$ , CD40, Fas (CD95), фактор росту нервів, TRAIL (*TNF-receptor apoptosis-inducing ligand*) та ін. Для ФНП характерні рецептори двох типів: I - 55 кД (CD120 альфа-) і II - 75 кД (CD120 бета-). У термінальній частині ці рецептори мають багату на цистеїн ділянку завдовжки близько 40 амінокислотних залишків. ЛТ- $\beta$  і ФНП- $\alpha$  зв'язуються з субодинами p55 і p75. Кілінг-ефект ФНП- $\alpha$  здійснюється через CD120-альфа, яка містить консервативну послідовність, що називається "доменом смерті" (TRADD) і залучається в апоптоз. CD120-бета містить домен, який визначає родину білків - фактори, зв'язані з ФНП (TRAFs). Вони активують фактор транскрипції NF $\kappa$ B і протеїнкіназу, що регулює фактор транскрипції AP-1.

**Суперродина Іg-подібних рецепторів.** До цієї суперродини входять рецептори ІЛ-1, ІЛ-18, М-КСФ, СКФ.

**Суперродина хемокінових рецепторів.** За своєю структурою ці рецептори належать до С-білокзв'язаних семидоменних трансмембранних рецепторів.

Рецептори ряду цитокінів (ІЛ-14, ІЛ-16, ІЛ-17, ІЛ-20, ІЛ-25) не входять до жодної суперродини. До складу рецептора ІЛ-16 входить білок родини CD4, а ІЛ-25 у своєму складі містить тимусзагальний антиген TSA-1.

Клітини, що перебувають у спокої, як правило, містять на своїх мембранах невелику кількість цитокінових рецепторів і тільки в процесі активації збільшується їх кількість, що зумовлює активну взаємодію клітин з цитокінами.

Деякі рецептори мають спільні субодина. Так, інтерлейкіни 2, 4, 7, 9, 13, 15, 21 мають спільну для них  $\gamma$ -субодина (CD132), а інтер-

лейкіни 3, 5 і ГМ-КСФ  $\beta$ -субодиницю (CD131). Рецептори для ІЛ-6, ІЛ-11, ІЛ-31, онкостатину М і фактора, що інгібує лейкозні клітини, мають спільний компонент - CD130. Білки суперродини імуноглобулінів, характерні для рецепторів до ІЛ-1, входять до складу спільного  $\alpha$ -ланцюга рецепторів до ІЛ-3, ІЛ-5, ГМ-КСФ, М-КСФ і фактора стовбурових клітин В.

На відміну від позаклітинних ділянок рецепторів внутрішньоклітинні ділянки рецепторів однієї родини значно різняться за структурою та розмірами.

Слід зазначити, що в процесі росту і диференціації клітин крові, а також при формуванні імунної відповіді відбувається модуляція (індукування, посилення, послаблення) експресії рецепторів, що змінює чутливість клітин до певних цитокінів. Самі цитокіни можуть змінювати експресію різних рецепторів, і нерідко власних.

**Механізми дії цитокінів.** Більшість цитокінів, на відміну від гормонів, є молекулами ближньої, місцевої (паракринної) дії - вони продукуються, виявляють свою дію і утилізуються клітинами, які близько розміщені. Нерідко виявляють і аутокринну дію, тобто діють на ті клітини, що їх продукують. У поодиноких випадках де-які цитокіни (ФНП- $\alpha$ , 171-1, ІЛ-6, ГМ-КСФ) здатні впливати на інші клітини ендокринним шляхом - мігрувати на деякі відстані від клітин-продуцентів і викликати певні ефекти у віддалених клітинах. Секреція цитокінів має короткостроковий характер. Як правило, вони синтезуються *de novo* внаслідок активації гена, при цьому мРНК швидко інактивується. Мала тривалість транскрипції генів цитокінів і нестабільність мРНК зумовляють короткий період біосинтезу цитокінів. Продукція і біологічна активність різних цитокінів взаємопов'язані. Вони утворюють так звану цитокінову сітку, в якій регулюються утворення і властивості окремих цитокінів. Так, за відсутності антигенного подразнення імунної системи цитокінова сітка функціонує на мінімальному рівні - більшість цитокінів не синтезується, за винятком гемопоетичних і ряду цитокінів, які продукуються моноцитами/макрофагами - ІЛ-6 і ІЛ-10 та кератиноцитами - ІЛ-1. Це зумовлено в основному тим, що для активації більшості генів цитокінів потрібні індуктори, тобто транскрипційні фактори. У клітинах, що перебувають у стані спокою, транскрипційних факторів немає; вони формуються тільки в процесі активації клітин. Активувальні фактори клітин є одночасно й індукторами синтезу цитокінів, і факторами експресії рецепторів цих цитокінів. Цей факт, а також значно довший період експресії відповідних рецепторів порівняно з періодом синтезу цитокінів зумовляють місцевий характер дії цитокінів і швидку їх утилізацію. Умовно цитокіни залежно від індукованих ними біологічних ефектів розподіляють на такі групи:

1. Гемопоетичні фактори - фактор стовбурових клітин (ФСК), коло-ніестимулювальні фактори, інтерлейкіни 3, 7, 11, еритропоетин. Продуценти - клітини строми кісткового мозку, а також активовані макрофаги і лімфоцити.

2. Регулятори природної резистентності - інтерферони  $\alpha$  і  $\beta$ , інте-лейкіни 1, 6 і 12, ФНП- $\alpha$ , хемокіни (ІЛ 8, MCP-1, RANTES та ін.). Ці фактори є основними активаторами й регуляторами неспецифіч-них реакцій організму з його захисту від колонізації носіями чужорідної генетичної інформації. Основними мішенями цих факторів є макро-фаги, ПМЯЛ, ПК. Продуцентами в основному є тканинні макрофаги у відповідь на контакт з мікроорганізмами.

3. Цитокіни, які регулюють запальний процес, - це прозапальні (ІНФ- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$ ), ФНП- $\beta$ , інтерлейкіни 1, 2, 3, 6, 9, 11, 12 та антизапальні (ІЛ-4, ІЛ-10). Основна функція - активація або гальмування цитотоксичних макрофагів, НК, цитотоксичних Т-лімфоцитів. Продуценти - зрілі імунні Т-лімфоцити та деякі анти-генпрезентувальні клітини.

4. Цитокіни, що регулюють специфічні імунні реакції, - ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13, ТФР- $\beta$  через регуляцію росту, диференціацію і активацію зрілих лімфоцитів. Продукують їх в основному активовані Т-лімфоцити.

5. Цитокіни, що гальмують ріст клітин пухлин, - ФНП, ЛТ, онкоста-тин М, ІЛ-2, ІЛ-12, 15, 21, 24.

6. Окрему групу становлять цитокіни, що регулюють рух лейкоцитів - хемокіни. Відомо їх понад 40, основні - ІЛ-8, ІЛ-10, CXCL1-3, MIP-1, 3, RANTES та ін.

Поділ цитокінів на групи дуже умовний, оскільки окремий цитокін може діяти на різні клітини-мішені і викликати різно-манітні ефекти.

Цитокіни беруть участь у регуляції багатьох процесів, однак особ-ливо важлива їхня роль у регуляції кровотворення, формуванні запал-лення та імунної відповіді. Різні етапи кровотворення контролюються послідовно кількома факторами, серед яких виділяються основні (до-мінуючі) і допоміжні, як кофактори. Можна виділити ранні цитокіни (ФСК, ІЛ-3 та ін.), що діють на стовбурові клітини та недиференційо-вані попередники кровотворних клітин, і пізні, або лінійно-специфічні, цитокіни, що діють на уже диференційовані в різних стадіях клітини. У міру дозрівання кровотворних клітин змінюються й домінуючі цитокіни. Так, для стовбурових і недиференційованих по-передників домінуючими виступають ІЛ-3 та ФСК, для юних міелоїд-них клітин - ГМ-КСФ, для недиференційованих лімфоїдних клітин - ІЛ-7 і т. д. Слід зазначити, що ранні цитокіни відіграють певну роль на всіх стадіях кровотворення, а також впливають на зрілі клітини, виступаючи як кофактори лінійно-специфічних цитокінів.

Дія цитокінів на кровотворення спрямована в основному в двох напрямках — регуляція проліферації клітин і забезпечення їх виживання шляхом блокади програми апоптозу. Поряд з активувальними цитокінами існують супресорні, що гальмують розмноження клітин або блокують активність інших цитокінів.

Індукування запального процесу зумовлене, насамперед цитокінами, що продукуються активованими макрофагами, НК та ендотеліоцитами на місці виникнення травми й появи мікроорганізмів. Надалі в процесі розвитку запальної реакції синтезуються цитокіни, які регулюють становлення запального процесу шляхом індукування міграції лейкоцитів у зону запалення, їх активації та продукування ними ряду цитокінів, дія яких спрямована на знешкодження інфекційних агентів і відновлення гомеостазу.

Цитокіни відіграють активну роль у формуванні специфічної імунної відповіді шляхом стимуляції експресії молекул МНС класу I і II, які беруть участь у розпізнаванні й презентації антигену Т-лімфоцитам (інтерферони  $\alpha$ ,  $\beta$  й особливо інтерферони  $\gamma$ ). Цитокіни також збільшують на клітинах імунної системи експресію адгезивних молекул, що стимулює міжклітинну взаємодію (ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ , інтерферони), активують моноцити/макрофаги (так звані запальні цитокіни -ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ , ГМ-, Г- і М-КСФ, хемокини, інтерферони). Деякі цитокіни сприяють міграції різних клітин: дендритних клітин — ГМ-КСФ, ФНП- $\alpha$ ; макрофагів і лімфоцитів -  $\beta$ -хемокини, ІЛ-1 та ін.

Ряд цитокінів стимулюють проліферацію Т-клітин - в основному ІЛ-2, а також ІЛ-4, ІЛ-7, ІЛ-9, а сумісно з іншими цитокінами - ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-12, ФНП- $\alpha$ . ІЛ-2 і ІФН- $\gamma$  сприяють диференціюванню Тх0 на Тх1, а ІЛ-4 - на Тх2. Ріст В-лімфоцитів стимулюють інтерлейкіни 1, 2, 4, 5, 6, 10, 13, а сумісно з іншими - інтерферони, ФНП- $\alpha$  і ФНП- $\beta$ , ІЛ-3 і ІЛ-7. ІЛ-4 індукує переключення синтезу імуноглобулінів на IgG 1 і на IgE; ІФН- $\gamma$  на IgG2a і IgG3; ТФР- $\beta$ 1 — на IgG2b та IgG2a.

Цитокіни беруть активну участь у формуванні цитотоксичних клітин (ІФН- $\gamma$  ІЛ-2, ІЛ-12). Велике значення для прояву активності цитотоксичних Т-клітин і НК мають виділювані ними цитокіни -ФНП- $\alpha$  і ФНП- $\beta$ , ІФН- $\gamma$ , які здатні індукувати апоптоз.

Нині проводяться широкі експериментальні роботи із застосування цитокінів у лікуванні різних захворювань, особливо онкологічних. Отримано певні позитивні результати. Одночасно при застосуванні великих доз цитокінів (інтерферонів, ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-3, ГМ- і Г-КСФ, ФНП- $\alpha$  та ін.) виявлено їх здатність зумовлювати токсичні ефекти у хворих - грипоподібний синдром, значне підвищення проникності капілярів, що спричинює набряки, втрати рідинної частини крові, токсично-подібний синдром зі зниженням кров'яного тиску, пропасницею та іншими проявами. Це пояснюється в основному широкою взаємодією цитокінів і здатністю їх зумовлювати каскадний цикл ін-

дукції цитокінів, серед яких утворюються цитокіни, здатні спричинювати токсичні ефекти, - ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ , хемокіни та ін.

Завдяки досягненням генної інженерії останнім часом отримано рекомбінантні форми цитокінів, що дало змогу детальніше вивчити їх будову, біологічну активність і проводити експерименти із застосування цитокінів у медичній практиці. Ряд цитокінів, особливо їх рекомбінантні форми, знайшли широке застосування при лікуванні онкозахворювань, деяких анемій та інших хвороб. Дія антипухлинних цитокінів спрямована як безпосередньо на пухлинні клітини - цитотоксична й цитостатична дія, гальмування проліферації, індукування апоптозу, так і регулювання різних реакцій природної резистентності та специфічного імунітету з метою активації НК, цитотоксичних Т-клітин, туморінфільтрівних лімфоцитів і макрофагів. Цитокіни здатні також підвищувати імуногенність пухлинних клітин, змінювати експресію антигенів МНС та специфічних пухлинних антигенів. Застосування рекомбінантних препаратів ІФН- $\alpha$  та ІЛ-2 дало позитивні результати при лікуванні хворих на рак нирок. Особливо відчутні позитивні результати отримано при застосуванні рекомбінантного ІФН- $\gamma$  людини в онкогематології, рекомбінантних ГМ- та Г-КСФ при лікуванні різного роду мієлосупресивних станів, зумовлених застосуванням цитостатиків, променевого лікування, аварією на ЧАЕС, пересаджуванням кісткового мозку тощо.

Про важливу роль цитокінів у гомеостазі організму свідчать результати, отримані при так званому "нокауті" (блокаді, інактивзації, видаленні) певних генів цитокінів та генів їхніх рецепторів. При цьому отримані результати не завжди відповідають очікуванню, отриманим *in vitro* (табл. 37). Це зумовлено широкою взаємодією цитокінів, здатністю їх замінювати один одного, каскадним характером їх активації.

Далі наведено коротку характеристику окремих цитокінів.

**Таблиця 37. Наслідки інактивзації генів цитокінів та їхніх рецепторів**

	Види наслідків інактивзації генів	Інактивовані гени
1	Множинні дефекти імунної системи	Інтерферон $\gamma$ , Р ФНП- $\alpha$ (CD 120a)
2	Порушення противірусного захисту	Р інтерферонів $\alpha$ і $\beta$ (CD118)



3	Лімфопенія	ІЛ-7
4	Анемія	ІЛ-2, ІЛ-10, β-ланцюга рецептора (P) ІЛ-2 (CD122)
5	Аутоімунні процеси	ТФР-β
6	Дефекти макрофагів	Г-КСФ
7	Дефекти ПМЯЛ	Г-КСФ
8	Відсутність еозинофілів	ІЛ-5
9	Відсутність природних кілерів	Загальний γ-ланцюг P (CD132)
10	Зменшення утворення цитотоксичних Т-лімфоцитів	ІЛ-6
11	Дефекти фолікулярних дендритних клі-	ФНП-β (ЛТ-α), ЛТ-Р
12	Відсутність лімфовузлів та інші дефекти лімфатичної системи	ФНП-β (ЛТ-α), ЛТ-Р
13	Порушення розвитку В- і Т-клітин	ІЛ-7, P ІЛ-7 (CD127), загальний γ-ланцюг P (CD 132)
14	Зменшення утворення Тх1	ІЛ-12
15	- " - Тх2	ІЛ-4, ІЛ-5
16	- " - IgG	ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-12
17	- " - IgA	ІЛ-6
18	- " - IgE	ІЛ-4
19	Інгібування утворення антитіл до еритроцитів барана	Інтерферон γ
20	Збільшення утворення імуноглобулінів G	ІЛ-2, β-ланцюг P ІЛ-2 (CD122)
21	Зменшення утворення інтерферону γ	ІЛ-12
22	Порушення утворення білків гострої фази	ІЛ-6
23	Зменшення маси тіла	ТФР-β
24	Патологія легень	ГМ-КСФ, загальний βланцюг P (CD131)
25	Патологія кісток	ІЛ-6, М-КСФ
26	Ентероколіт	ІЛ-2, ІЛ-10

№	Види наслідків інактивації генів	Інактивовані гени
---	----------------------------------	-------------------

27	Порушення розвитку міокарда	Загальний β-ланцюг Р цитокінів (CD130), еритропоетин, Р еритро-
28	Загибель плоду	поетину
29	Підвищення стійкості до септичного шоку	Загальний β-ланцюг Р цитокінів (CD130)
30	- " - чутливості до лістерій	ІА-12
31	Стійкість до індукції некрозу при введенні ЛПЦ	ІА-6, Р ФНП-α (CD120 a ), Р ІФНγ (CD119)
32	Стійкість до індукції некрозу при введенні ФНП	Р ФНП-а (CD120a), Р ІФН-γ (CD119)
33	Відсутність γδТ-клітин	Р ФНП-α і β (CD120α, β)
34	Збільшення утворення ІgE	Загальний γ-ланцюг Р (CD132)
35	Збільшення маси лімфовузлів та селезінки	ІА-2, β-ланцюг Р ІА-2 (CD122)
36		Р ІА-8 (CD128)
37	Гальмування розвитку В-клітин	ІА-7
38	Знеклітинення тимуса	ІА-7
	Патологія шкіри	ІА-31

Примітка. Р — рецептор.

## 9.1. ІНТЕРЛЕЙКІНИ

Інтерлейкін 1 (ІА-1). ІА-1 відомий з 1972 р. як фактор, що підтримує проліферацію тимоцитів (костимулятор) і продукується макрофагами при їх активації мітогенами. Колишні назви - "фактор, який активує лімфоцити", "ендогенний піроген", "мітогенний фактор макрофагального походження", "фактор, який активує В-лімфоцити", "В-клітинний диференціальний фактор" та інші свідчать про широкий спектр його активності. Відомо дві форми ІА-1 людини - ІА-1α і ІА-1β, що мають ідентичний спектр біологічної активності, але значно різняться за нуклеотидною та амінокислотною послідовністю - гомологія за амінокислотною послідовністю становить лише 22-26 %, а за нуклеотидною - 40-45 %. Вони також різняться за ізоелектричною точкою — ІА-1α належить до кислих, а ІА - 1β - до нейтральних білків.

Обидві форми ІА-1 контролюються розміщеними близько один від одного неалельними генами в другій хромосомі й синтезуються у вигляді незрілих великих білків-попередників, що містяться в цитоплазмі клітин, а також на поверхні макрофагів. У позаклітинному просторі ІА-1 може з'являтися тільки після протеолізу молекул-попередників сериновими протеазами — каспазами. Домінуючою формою в людини є ІА-1β, у мишей — ІА- 1α.

У здорових людей обидві форми ІА-1 у крові не виявляються; вони можуть з'являтися тільки під час стресів або сильних фізичних навантажень. ІА-1β виявляється в крові при різних патологічних станах - опіках, септичних процесах, після тяжких операцій і травм. ІА-1α при різних захворюваннях у крові майже не виявляється. Це пов'язано з

фактом тісного зв'язку ІЛ-1 $\alpha$  з цитозолем клітини і можливістю виходу його в міжклітинний простір тільки після загибелі клітини.

ІЛ-1 продукується в основному активованими моноцитами й макрофагами. Крім того, ІЛ-1 може продукуватися багатьма іншими клітинами (клітинами Лангерганса, нормальними й трансформованими Т- і В-лімфоцитами, епітеліальними й ендотеліальними клітинами, фібробластами, нейтрофілами та ін.). Індукторами продукування ІЛ-1 може бути необмежена кількість речовин: антигени різної природи, мітогени, імунні комплекси, а також різні речовини, які можуть у тій чи іншій формі взаємодіяти з фагоцитами або іншими клітинами. Сильним індуктором ІЛ-1 є ФНП, ще сильнішим - ФНП разом з комплексом Аг—Ат.

Експресія відповідних генів у клітин - продуцентів ІЛ-1 відбувається в разі їх активації певними стимуляторами уже в першу годину після активації, і максимум досягається через 6 год для ІЛ-1 $\alpha$  і через 12-16 год — для ІЛ-1 $\beta$ . Інгібують синтез ІЛ-1 простагландини Е2, глюкокортикоїди, а також фактори, що підвищують рівень цАМФ.

Чутливими до дії ІЛ-1 є багато клітин, що мають рецептори до нього. Виявлено два різновиди рецепторів до ІЛ-1: ІЛ-1Р I типу (CD121a) та ІЛ-1Р II типу (CD121b). Обидва рецептори є загальними для  $\alpha$ - і  $\beta$ -форм ІЛ-1 і належать до суперродини імуноглобулінів. Цитоплазматичні ділянки помітно різняться за довжиною - рецептор I типу має 213, рецептор II типу - 29 амінокислотних залишків.

CD121a виявляється здебільшого на тимоцитах, Т-клітинах, фібробластах, ендотеліальних клітинах, гепатоцитах тощо, а CD121b - на В-лімфоцитах, моноцитах, макрофагах, ПМЯЛ, кістковомозкових клітинах-попередниках. Зв'язування рецептора CD121b не призводить до активації клітин. Кількість рецепторів до ІЛ-1 на Т-лімфоцитах залежить від стану клітини: на Т-клітині, яка перебуває в спокої, їх виявлено близько 40, а на активованій - близько 350.

Важливу роль у регуляції активності ІЛ-1 відіграє рецепторний антагоніст ІЛ-1 - Р ІЛ-1, який відмінняє біологічний ефект ІЛ-1. Він належить до родини білків, до якої належать також ІЛ-1 $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$ , має споріднення до рецепторів ІЛ-1, його ген розміщений на 2-й хромосомі поряд з генами ІЛ-1 $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$ .

ІЛ-1 має дуже широкий спектр біологічної активності *in vivo* та *in vitro* і діє як на клітини імунної системи, так і на інші типи клітин. Найвідоміші біологічні ефекти ІЛ-1 - участь в індукції та регуляції імунної відповіді, у формуванні запальної реакції, регуляції кровотворення, міжсистемних взаємодіях.

У культурі *in vitro* він здатний індукувати проліферацію тимоцитів, фібробластів, ендотеліальних та інших клітин, підвищує секрецію імуноглобулінів В-лімфоцитами. *In vitro* він бере участь в ініціації формування імунної відповіді, насамперед через залучення Тх2. У свою

чергу, T $\alpha$ 2 після взаємодії з ІЛ-1 продукують ІЛ-3, -4, -5. Мембранний ІЛ-1 забезпечує контакт Т-лімфоцитів з макрофагами. ІЛ-1 стимулює синтез простагландинів і колагеназ фібробластами.

ІЛ-1 стимулює продукування різними клітинами ряду цитокінів - ІЛ-2, -3, -4, -5, -6, -7, -10, -12, і в багатьох випадках біологічний ефект зумовлений не тільки його прямою взаємодією з клітинами-мішенями, а й дією індукованих ним біологічно активних речовин. ІЛ- $\beta$  при введенні разом з антигеном стимулює антитілоутворення, ІЛ-1 $\alpha$  такого ефекту не має. ІЛ-1 стимулює експресію рецептора ІЛ-2 $\beta$ .

ІЛ-1 є одним з основних медіаторів запуску неспецифічних факторів захисту, передусім при запаленні. ІЛ-1 активує ендотелій судин, що сприяє підвищенню здатності клітин ендотелію зв'язувати лейкоцити крові і цим самим сприяти їх міграції в осередок запалення, підвищує рухливість нейтрофілів, активність фагоцитів та НК, генерацію бактерицидних речовин, активує ряд клітин у зоні запалення, що призводить до посиленого продукування багатьох цитокінів, простагландинів, колагену, фібронектину. Він індукує утворення деяких білків гострого запалення - С-реактивного, манозозв'язувального та ін. ІЛ-1 є пірогенним фактором й індукує пропасницю. Він відмінняє летальний ефект у мишей з нейтропенією, яка індукована циклофосфаном при введенні їм *Candida albicans* або *Pseudomonas aeruginosa*, а також захищає нормальні клітини - гемопоетичні попередники - від дії хемотерапевтичних агентів (циклофосфану), а лейкозні клітини не захищає.

Слід зазначити, що позитивний результат впливу ІЛ-1 спостерігається при короткочасній його дії. У разі довготривалої надмірної дії він може спричинити негативні наслідки аж до ушкодження органів та збільшення числа смертельних випадків. ІЛ-1 стимулює ранні фази еритропоезу, в пізніші фази гальмує його, оскільки є антагоністом еритропоетину. Він стимулює мієлопоез. ІЛ-1 підвищує активність НК і лімфокінактивованих клітин (ЛАК); можливо, це зумовлено не лише прямою дією ІЛ-1, а й деякими цитокінами, що індукуються ІЛ-1.

Відносно впливу ІЛ-1 на пухлинні процеси отримано суперечливі дані. Виявлено, що пухлинні клітини здатні продукувати ІЛ-1. Показано, що ІЛ-1 може як гальмувати ріст пухлинних клітин, так і активувати їх проліферацію та метастазування. ІЛ-1 має виражений радіозахисний ефект, що виявляється як при введенні перед опромінюванням, так і після нього.

ІЛ-1 відіграє важливу роль у реалізації міжсистемної взаємодії, особливо з нейро-ендокринною системою. Він може синтезуватися ендотеліоцитами судин і клітинами глії в центральній нервовій системі, а також проникати з крові в зони III та IV шлуночків головного мозку. На клітинах різних ділянок головного мозку виявлено рецептори до ІЛ-1. ІЛ-1 здатний збільшувати утворення багатьох гормонів гіпотала-

муса, гіпофіза, стимулювати про-дукування тимуліну тимусом. ІЛ-1 разом з іншими цитокінами бере активну участь у регулюванні поведінки, сну.

Відомо кілька інгібіторів ІЛ-1, які виділені із сечі людей з різними захворюваннями. Від хворих з підвищеною температурою виділено так званий фебриальний інгібітор ІЛ-1 з молекулярною масою 30 кД, який відмінняє біологічний ефект ІЛ-1 при взаємодії з рецептором ІЛ-1. Від хворих на моноцитарний лейкоз виділено інгібітор ІЛ-1 з молекулярною масою 26 кД, який є структурним аналогом рецептора для ІЛ-1 Т-лімфоцитів та фібробластів і при взаємодії з ним відмінняє біологічний ефект ІЛ-1.

Виявлено інгібіторну дію кортикостероїдів на синтез і продукування ІЛ-1.

Тестування — здатність за наявності малих концентрацій мітогену індукувати проліферацію тимоцитів.

**Інтерлейкін 2 (ІЛ-2).** Вперше ІЛ-2 описано в 1976 р. Раніше ІЛ-2 позначали як "Т-лімфоцитарний фактор росту", "мітогенний фактор тимоцитів", "тимоцит-активувальний фактор", "тимоцитстимулювальний фактор", "хелперний фактор кілерів", "фактор, що індукує вторинні цитотоксичні клітини", "лімфоцитарний мітогенний фактор", "фактор диференціації Т-клітин і НК". Усі ці назви ІЛ-2 свідчать про певний спектр його біологічної активності. Ген ІЛ-2 включає 4 екзони і знаходиться в 4-й хромосомі. ІЛ-2 людини - це мономерний глікопротеїн з молекулярною масою близько 15 кД, містить 133 амінокислотних залишки.

Зрілий ІЛ-2 формується в процесі трансляції з попередника ІЛ-2, який містить 153 амінокислотних залишки, в тому числі 20, що формують сигнальну послідовність, яка зникає в процесі виходу молекули ІЛ-2 з цитоплазми. Молекула інтерлейкіну містить один дисульфідний зв'язок, який відіграє вирішальну роль у збереженні біологічної активності, в конформації молекул. Молекула ІЛ-2 виявляє значну стійкість до рН в інтервалі 2-10. Біологічна активність зумовлена амінокислотними залишками, які розміщені по всій довжині молекули.

ІЛ-2 синтезується переважно Т-лімфоцитами: Т-хелперами (CD4) - близько 90 % та Т-кілерами (CD8) - близько 10 % у процесі активації антигенами або мітогенами. Серед Т-хелперів основними продуцентами ІЛ-2 є Тх1. НК та макрофаги також можуть продукувати ІЛ-2.

ІЛ-2 людини має певну видову специфічність - він стимулює Т-клітини мишей та щурів, але не навпаки. Активність ІЛ-2, очевидно, дублюється іншими цитокінами, найвірогідніше - ІЛ-15, оскільки у мишей, які позбавлені гена ІЛ-2, відмічається нормальне функціонування імунної системи.

Експресія гена ІЛ-2 відбувається паралельно з активацією клітини і досягає максимуму через 8-16 год. *In vitro* ІЛ-2 секретується через 3-4 год після стимуляції, досягає максимуму секреції через 8-12 год і

припиняється через 24 год. *In vivo* після імунізації максимум секреції ІЛ-2 спостерігається на 3-4-ту добу, і цей рівень зберігається впродовж 12 діб. Синтез ІЛ-2 активованими лімфоцитами регулюється широким набором біологічно активних речовин. Так, низка цитокінів, таких як ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП, ІНФ- $\gamma$ , гормони тимуса (тимозин, сироватковий фактор тимуса), лейкотрієни і фактори, що інгібують активність фосфоліпази й циклоксигенази, опромінення в дозі 10-15 Гр, стимулюють продукування ІЛ-2 або сприяють диференціюванню незрілих тимоцитів у клітини — продуценти ІЛ-2. Циклогексамід, який інгібує синтез регуляторних білків ядра, спричинює суперіндукцію ІЛ-2. Крім того, ряд речовин, таких як глюкокор-тикоїди, гангліозиди, простагландини та інші, які здатні підвищувати рівень цАМФ, пригнічують продукування ІЛ-2.

Рецептор для ІЛ-2 побудований з трьох нековалентно сполучених ланцюгів-полі-пептидів - CD25 ( $\alpha$ -ланцюг), CD122 ( $\beta$ -ланцюг) і CD132 ( $\gamma$ -ланцюг). І тільки об'єднання всіх трьох ланцюгів створює високоафінний рецептор для ІЛ-2 ( $K_d = 10-11$  М), який здатний ефективно передавати сигнали у середину відповідних клітин і активувати їх. Високоафінний ІЛ-2 виявляється на активованих Т- і В-лімфоцитах, макрофагах, при цьому в процесі активації клітин експресується відсутній до цього  $\alpha$ -ланцюг.  $\alpha$ -Ланцюг виявляється на субпопуляціях тимоцитів. Субодиниці  $\beta$  і  $\gamma$  належать до суперродини цитокінових рецепторів, а  $\alpha$ -субодиниця не належить до жодної відомої родини рецепторів. Ген  $\alpha$ -ланцюга ІЛ-2Р людини знаходиться в 10-й хромосомі,  $\beta$ -ланцюга - в 22-й хромосомі,  $\gamma$ -ланцюга — в 10-й хромосомі.

Кількість рецепторів до ІЛ-2 в процесі активації збільшується з 85 на одну клітину до 3-20 тисяч. При цьому молекули  $\alpha$ -ланцюга синтезуються в 10-кратному надлишку, що зумовлює утворення низькоафінних рецепторів з невизначеною функцією. Високоафінні рецептори становлять 5-10 % загальної кількості рецепторів до ІЛ-2, але в основному тільки вони забезпечують активувальну дію ІЛ-2 на Т-клітини.

Після дії активатора синтез  $\alpha$ -ланцюга рецептора починається через 6 год, на 3-4-ту добу досягається максимум синтезу і припиняється через 5 діб. Експресію ІЛ-2-рецептора стимулює  $\gamma$ -інтерферон і гальмують ІЛ-4, активатори протеїнкінази С, інгібітори глікозилювання. НК та моноцити експресують тільки  $\beta\gamma$ -димер рецептора до ІЛ-2.

У деяких випадках у сироватці, сечі та інших біологічних рідинах виявляється розчинний рецептор для ІЛ-2, який є скороченим  $\beta$ -ланцюгом, що може зв'язувати ІЛ-2. Його поява пов'язана з гематологічними неоплазіями, вірусними захворюваннями, трансплантаціями органів, грануломатозними та аутоімунними захворюваннями. Надлишок рецептора до ІЛ-2 в біологічних рідинах призводить до розвит-

ку імунодепресії. Все це свідчить про те, що рівень ІЛ-2 в сироватці може бути діагностичним показником при багатьох захворюваннях.

ІЛ-2 стимулює проліферацію Т-лімфоцитів, НК, ЛАК, еозинофілів, тромбоцитів. Кількість попередників кілерів після культивування спленоцитів мишей з ІЛ-2 збільшується в 75-80 разів. За відсутності ІЛ-2 Т-лімфоцити гинуть через 24 год. ІЛ-2 сприяє диференціюванню Т-кілерів, особливо за сумісної дії з ІЛ-6, ІЛ-4, ІЛ-7, ІЛ-12. За своєю дією ІЛ-2 є одним з ростових факторів попередньо активованих В-лімфоцитів; він також підвищує синтез ІgM, ІgG і ІgA.

При культивуванні *in vitro* великих гранулярних лімфоцитів ІЛ-2 необхідний для підтримання проліферативної й цитотоксичної активності. ІЛ-2 захищає активовані клітини від апоптозу, перешкоджає розвитку імунологічної толерантності і навіть відмінняє її.

*In vitro* та *in vivo* виявлено антипухлинну дію ІЛ-2. Вона зумовлена головним чином активацією ІЛ-2 НК і формуванням за допомогою ІЛ-2 ЛАК, основою яких є активовані НК.

Дія ІЛ-2 на природні кілери багатогранна. Це й підсилення проліферативної активності та диференціювання НК, і сильна активація їх цитотоксичності як проти чутливих, так і стійких до дії НК клітин-мішеней.

Нині активно ведуться експериментальні роботи з активації *in vitro* інтерлейкіном-2 виділених лімфоцитів з крові хворих на онкозахворювання з подальшим введенням їх донорам цих клітин з лікувальною метою. У деяких випадках отримано позитивні результати. Це перспективний шлях пошуку імунобіологічних підходів до лікування онкозахворювань.

Тестування — оцінка рівня проліферації клітин лінії цитотоксичних Т-лімфоцитів.

**Інтерлейкін 3 (ІЛ-3).** Інтерлейкін-3 відомий з 1981 р. Він мав такі назви: "фактор детермінування В-лімфоцитів", "фактор росту макрофагів", "фактор росту поліморфноядерних лейкоцитів", "фактор росту мастоцитів", "мультипотентний колонієстимулювальний фактор". ІЛ-3 називають "ростовим фактором для мультипотентних гемопоетичних клітин". Ці назви свідчать про широкий спектр його імунобіологічної активності.

ІЛ-3 — це високо глікозильований білок з молекулярною масою 21-36 кД. Коливання маси молекул ІЛ-3 зумовлені вмістом різної кількості вуглеводів (в основному сіалових кислот). Білкова частина включає 133 амінокислотних залишки з молекулярною масою 15 кД. У молекулі ІЛ-3 міститься дисульфідний зв'язок, який відіграє важливу роль у прояві активності. ІЛ-3 людини має 29 % гомології амінокислотних залишків з ІЛ-3 мишей, але не має її з іншими цитокінами людини. Вуглеводна частина молекули ІЛ-3 не відіграє помітної ролі в прояві його біологічної активності. Ген ІЛ-3 локалізований у 5-й хромосомі в одній копії і складається з 5 екзонів.

Основними продуцентами ІЛ-3 є Тх1 і Тх2, а також деякі інші клітини (В-лімфоцити, міелоїдні клітини, кератиноцити, астроцити головного мозку, мастоцити, еозинофіли). Активація гена ІЛ-3 відбувається через 4 год після дії стимулятора клітин і триває кілька діб; максимум секреції ІЛ-3 спостерігається на 16-ту годину після стимуляції і триває близько 2 діб. Інгібується активація глюкокортикоїдами, циклоспорином А.

Клітинами-мішенями ІЛ-3 є в основному юні кровотворні, зокрема поліпотентні попередники, що містяться в кістковому мозку, а також попередники гранулоцитів, моноцитів і мегакаріоцитів.

Рецептори до ІЛ-3 також виявлено на еозинофілах, нейтрофілах, моноцитах, макрофагах, ендотеліальних клітинах, однак на нейтрофілах у міру їх дозрівання вони зникають.

Рецептор інтерлейкіну 3 складається з двох субодиниць -  $\alpha$  і  $\beta$ . Сигналіндукувальна  $\beta$ -субодиниця (CD131) має 360 амінокислотних залишків з молекулярною масою 70 кД і є спільною для рецепторів ІЛ-3, ІЛ-5, ГМ-КСФ. Цитокінспецифічна  $\alpha$ -субодиниця (CD123) містить 881 амінокислотний залишок з молекулярною масою 120-140 кД, має гомологію перших 100 амінокислотних залишків з  $\alpha$ -ланцюгом рецепторів до ІЛ-5 та ГМ-КСФ і сама по собі не зв'язує ІЛ-3, однак сумісно з  $\beta$ -ланцюгом формує високоафінний рецептор для ІЛ-3.

ІЛ-3 діє як гемопоетичний фактор росту, який стимулює проліферацію і функцію клітин всіх ростків кровотворення. Він, очевидно, забезпечує зв'язок імунної системи з кровотворенням з метою здійснення захисних і репаративних процесів унаслідок стимуляції та функціонування гемопоетичних клітин. Дія його спрямована фактично на всі ростки кровотворення.

Однією з характерних активностей ІЛ-3 є гальмування утворення НК з кістково-мозкових попередників. Він діє тільки на клітини - попередники НК, які перебувають на ранніх стадіях диференціювання, і може повністю блокувати індукування НК у кістковому мозку. ІЛ-3 стимулює ріст мастоцитів, а також стимулює і підтримує тривалий час культивування *in vitro* нейтрофілів, еозинофілів, базофілів, моноцитів, ендотеліальних клітин. Таким чином, ІЛ-3 можна віднести до поліпоетинів, які регулюють кровотворення різних популяцій клітин на ранніх етапах кровотворення, особливо в екстрених випадках.

Тестування - здатність ІЛ-3 індукувати утворення в рідкому агарі клітинами кісткового мозку змішаних колоній клітин, або спричинювати проліферацію ІЛ-3-залежних клітинних ліній.

**Інтерлейкін 4 (ІЛ-4).** ІЛ-4 відкрито в 1981 р. Раніше він був відомий як "колоніестимулювальний фактор В-лімфоцитів", "фактор росту В-лімфоцитів I", "колоніестимулювальний фактор", "В-клітин-ний диференціювальний фактор", "фактор, що індукує синтез IgG1".



ІЛ-4 належить до глікопротеїнів, молекулярна маса 19-22 кД, в тому числі білкової частини — 15 кД. Зрілий ІЛ-4 має 129 амінокислотних залишків. Вуглеводні компоненти молекули ІЛ-4 помітної ролі в біологічній активності не відіграють. Ген, який кодує ІЛ-4, тісно зв'язаний з геном для ІЛ-5 і разом з генами для ІЛ-3 і ГМ-КСФ утворює цитокіновий кластер у довгому плечі 5-ї хромосоми людини або в 11-й хромосомі мишей.

ІЛ-4 характеризується видовою специфічністю — ІЛ-4 людини активує тільки клітини людини, а ІЛ-4 мишей — тільки клітини мишей.

Основними продуцентами є Тх2. Пік експресії гена ІЛ-4 спостерігається на 6-ту годину після активації клітини, а синтез — через 48 год. Крім Тх2 ІЛ-4 продукують мастоцити, базофіли, В-клітинні лінії, клітини строми кісткового мозку. Стимуляторами синтезу ІЛ-4 є ІЛ-2, глюкокортикоїди; при старінні збільшується синтез ІЛ-4.

Рецептори до ІЛ-4 виявлено на багатьох клітинах — В-лімфоцитах, Т-клітинах, макрофагах, мастоцитах, природних кіле-рах, фібробластах, кістково-мозкових попередниках. Рецептор до ІЛ-4 (ІЛ-4R) складається з двох субодиниць - цитокінспецифічної  $\alpha$ -субодиниці (CD124, молекулярна маса 140 кД, 800 амінокислотних залишків, може активно зв'язувати ІЛ-4) і сигналіндукувальної  $\gamma$ -субодиниці (CD132, молекулярна маса 64 кД, 347 амінокислотних залишків). Існують високо- і низькоафінні рецептори, а також розчинні форми ІЛ-4R. Кількість рецепторів на одній клітині при активації може збільшуватися в 4-10 разів і досягати 3-5 тис. на клітину. ІЛ-4 стимулює гемопоєз і сприяє виживанню клітин крові.

ІЛ-4 є одним з основних найбільш ранніх ефективних ростових факторів для В-лімфоцитів. Він реалізує свої ростові потенції переважно на активовані В-клітини, однак може і самостійно активувати і викликати проліферацію В-клітин, які перебувають у спокої. ІЛ-4 індукує синтез IgG4, IgE і гальмує синтез IgG2, IgG3, IgM та IgA.

Характерною особливістю активності ІЛ-4 є його участь у розвитку алергічних реакцій. Це зумовлено його здатністю переключати С-гени імуноглобулінів із синтезу IgG на синтез IgE, підвищувати експресію на В-лімфоцитах і мастоцитах і секрецію низькоафінного рецептора до IgE-CD23 - ефективного стимулятора продукування IgE та стимулювання проліферації мастоцитів серозних порожнин.

ІЛ-4 є важливим фактором регуляції формування й активності деяких популяцій Т-лімфоцитів. Так, він є основним фактором диференціювання CD4-лімфоцитів у Тх2, а також CD8-клітин - у цитотоксичні лімфоцити, які виробляють однакові з Тх2 цитокіни. ІЛ-4 також спричинює проліферацію тимоцитів і активованих Т-лімфоцитів, в основному CD8-лімфоцитів; серед Тх-лімфоцитів він діє тільки на Тх2. Дія ІЛ-4 на Т-лімфоцити є антагоністичною до дії ІЛ-2. ІЛ-4 галь-

мує хелперний ефект ІЛ-2, пригнічує утворення і функцію ІЛ-2-активованих НК.

ІЛ-4 підвищує експресію ряду антигенів МНС класу II, а також антигенпрезентувальну активність АПК. Він підвищує ци-тотоксичність макрофагів, міграцію нейтрофілів у зону запалення.

ІЛ-4 має протизапальну активність, яка зумовлена його здатністю пригнічувати секрецію макрофагами прозапальних цитокінів - ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП. В експериментах виявлено його антипухлинну дію, а також цитотоксичну активність відносно деяких бактерій та протозойних паразитів.

Тестування - оцінка росту Т-клітинних бластів за наявності антитіл до ІЛ-2 або оцінка проліферативної активності ІЛ-4-залежних ліній Т-клітин (МО7).

**Інтерлейкін 5 (ІЛ-5).** Уперше ІЛ-5 описано в 1982 р. Його колишні назви - "фактор росту В-клітин II", "фактор диференціювання В-лімфоцитів", "фактор диференціювання еозинофілів", "фактор, що замінює Т-клітини". Це глікопротеїн, гомодимер, значно гліколізований, має ділянки глікозилування, молекулярна маса зрілого ІЛ-5 становить 45—60 кД, білкового компонента - 22,5 кД, складається з 115 амінокислотних залишків. Ген ІЛ-5 розміщений в одному кластері з генами ІЛ-3, ІЛ-4 і ГМ-КСФ у 5-й хромосомі людини. Гомологія між ІЛ-5 людини й миші становить 70 %.

Клітинами - продуцентами ІЛ-5 є стимульовані мітогенами або антигенами лімфоцити. Експресія гена ІЛ-5, а також його секреція виявляються запізно — після взаємодії клітини з активаторами, максимум спостерігається через 3 доби. Клітини, які перебувають у спокої, не експресують ген ІЛ-5 і не синтезують ІЛ-5.

Рецептор для ІЛ-5 (ІЛ-5Р) складається з  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць. Цитокін-специфічна  $\alpha$ -субодиниця (CD125) складається з 400 амінокислотних залишків з молекулярною масою 60 кД, може зв'язуватися самостійно з ІЛ-5, однак у сукупності з Р-субодиницею ефективність зв'язування ІЛ-5 зростає. Сигналіндукувальна  $\beta$ -суб-одиниця з молекулярною масою 120 кД складається з 881 амінокислотного залишку, є спільною для рецепторів до ІЛ-3, ІЛ-5, ГМ-КСФ. Обидві субодиниці належать до суперродини цитокінових рецепторів першого типу. Трапляється розчинна форма рецептора до ІЛ-5. Відомі високо- і низькоафінні рецептори, число яких різко зростає після активації клітин. Клітинами-мішенями для ІЛ-5 є В-лімфоцити, еозинофіли, цитотоксичні Т-лімфоцити, базофіли, попередники еозинофільного, гранулоцитарного і моноцитарного рядів кровотворення.

ІЛ-5 сприяє диференціюванню В-лімфоцитів у плазматичні клітини, які в основному синтезують IgM. ІЛ-5 збільшує утворення IgA і меншою мірою - IgM, IgG1, IgE. У результаті активації росту і диференціювання попередників еозинофілів, а також активації зрілих еози-

нофілів ІЛ-5 виявляє протигельмінтну активність. ІЛ-5 може блокувати у еозинофілів антиген, який відповідає за апоптозну активність (CD95), а також індукувати утворення цитотоксичних Т-лімфоцитів, особливо за сумісної дії з ІЛ-2.

Тестування — оцінка здатності індукувати диференціювання еозинофілів або за підсиленням проліферації ІЛ-5-залежних ліній клітин мишей (BCL1), або людини (TF1).

**Інтерлейкін 6 (ІЛ-6).** ІЛ-6 відомий під різними назвами завдяки своїй поліфункціональності: "інтерферон p2", "В-клітинний стимулювальний фактор 2", "фактор росту гібридом і плазмоцитів", "колонієстимулювальний фактор В-клітин", "фактор диференціювання В-клітин", "гепатоцитостимулювальний фактор", "стимулятор продукування імуноглобулінів".

ІЛ-6 людини - це глікопротеїн з молекулярною масою 20-30 кД, білкова частина має 19 кД. ІЛ-6 включає 183 амінокислотних залишки. Гомологія з ІЛ-6 мишей становить 42 %, і ІЛ-6 людини може активувати клітини мишей, але не навпаки. В структурі ІЛ-6 виявлено гомологію окремих ділянок з інтерфероном  $\beta$  та Г-КСФ. Ген ІЛ-6 людини знаходиться в 6-й хромосомі.

Основними продуцентами є моноцити, макрофаги, фібробласти, атакож широкий спектр різних клітин - Т- і В-лімфоцити, гепатоцити, кератиноцити, ендотеліальні, кровотворні клітини, клітини пухлин різного походження.

Індуктором ІЛ-6 є в основному інфікуючі агенти - бактерії, віруси та інші мікроорганізми й продукти їх життєдіяльності, мітогени різного походження, а також ІЛ-1, ФНП- $\alpha$ , ІФНи, КСФи. ІЛ-6 виявляють у сироватці крові людей при інфекційних захворюваннях, які індуковані грамнегативними бактеріями, при значних опіках, при ревматоїдних артритих, після пересаджування нирок, складного хірургічного втручання, а також у синовіальній рідині хворих на ревматоїдний артрит і в сечі після пересаджування нирок, що свідчить про певну роль ІЛ-6 у запальних процесах.

Після активації клітин експресія мРНК для ІЛ-6 відбувається впродовж першої години, а секреція ІЛ-6 - через кілька годин. Рівень ІЛ-6 у сироватці крові після внутрішньовенного введення ЛПЦ збільшується через 2 год в 1000 разів.

Як бачимо, ІЛ-6 належить до ранніх цитокинів, що підкреслює його значну роль у швидкому реагуванні на агресію патогенів або пошкодження тканин і формуванні відповідних захисних реакцій.

Рецептор для ІЛ-6 виявлено на різноманітних клітинах — стовбурових кровотворних клітинах, клітинах крові, на різних сполучнотканинних клітинах, клітинах імунної та нейроендокринної систем, на гепатоцитах, епітеліальних, ендотеліальних та інших клітинах. Високоафінний рецептор ІЛ-6 складається з 2 субодиниць, як і ковалентно

не зв'язані, - а і р. Цитокінспецифічна  $\alpha$ -субодиниця (CD126) має 449 амінокислотних залишків з молекулярною масою 80 кД, зв'язується з високою афінністю з ІЛ-6. Сигналіндукувальна  $\beta$ -субодиниця (CD130), молекулярна маса якої 130 кД, містить 896 амінокислотних залишків. Характерною ознакою обох субодиниць рецептора є наявність Ig-подібного домену і характерної для суперродини цитокинових рецепторів по-слідовності.  $\beta$ -Субодиниця рецептора ІЛ-6 є загальною для групи цитокинів родини ІЛ-6. Кількість рецепторів на одній клітині залежить від типу клітин - у середньо-му виявляється близько 1,5 тис. рецепторів на клітину. В сечі виявлено розчинну форму рецептора ІЛ-6. Установлено, що  $\alpha$ -макроглобулін сироватки крові є носієм ІЛ-6, він також захищає його від протеаз, проте не впливає на біологічні функції та здатність зв'язуватися з відповідними рецепторами.

ІЛ-6 має широкий спектр біологічної активності і бере участь у регуляції майже всіх фізіологічних параметрів захисних реакцій організму при різних патологічних процесах. У здійсненні більшості регуляторних захисних реакцій ІЛ-6 взаємодіє з іншими цитокінами.

ІЛ-6 сприяє формуванню та функціонуванню запального процесу, розвитку імунної реакції, регуляції кровотворення. Спектри біологічних ефектів ІЛ-6, ІЛ-1 та ФНП- $\alpha$  значною мірою подібні, нерідко перекриваються і часто їх важко розрізнити. ІЛ-6 виділяється трохи пізніше за ІЛ-1 та ФНП і гальмує їх утворення, а ІЛ-1 і ФНП стимулюють його утворення.

ІЛ-6 бере участь у дерепресії генів клітин печінки, які контролюють синтез ряду білків гострої фази при запаленні - СРБ, фібронектину та ін. ІЛ-6 відіграє певну роль як у хронізації гострих запалень, так і в загостренні хронічних форм запалень. ІЛ-6 бере участь у підвищенні температури тіла.

Однією з основних мішеней для ІЛ-6 є В-лімфоцити та їх попередники. Він є активним кофактором проліферації і окремим диференціювальним фактором В-клітин. Він стимулює плазмоцити, що зумовлює синтез імуноглобулінів усіх класів. ІЛ-6 також підсилює ріст гібридом, міелом і може бути аутокринним фактором росту пухлинних клітин.

ІЛ-6, як диференціювальний фактор, зумовлює перехід попередників антиген-специфічних цитолітичних Т-лімфоцитів у зрілі ефекторні клітини. ІЛ-6 як костимулятор, бере участь у підготовці проліферативної відповіді Т-клітин на мітогени й антигени, підсилює продукцію Т-хелперами, які розпізнали антиген, ІЛ-2. Він підвищує цитотоксичний ефект ФНП- $\alpha$ , разом із ІФН- $\gamma$ - активує НК з ІЛ-2 сприяє утворенню ЛАК.

Деякі автори відносять ІЛ-6 до гемопоетичних ростових факторів. Він виступає в основному як фактор стимулювальної активності ІЛ-3, ГМ- і М-КСФ. ІЛ-6 ефективно стимулює колонієутворення всіх типів

на пізніх стадіях кровотворення, прискорює дозрівання мегакаріоцитів і тромбоцитів.

IL-6 сприяє проліферації тимоцитів, фібробластів, ендотеліальних клітин. Може діяти на клітини мозку і зумовлювати синтез і викид адренкортикотропних гормонів та викликати диференціювання нервових клітин.

Показано, що IL-6 виробляється також фолікулозірчастими клітинами передньої частки гіпофіза. Ці клітини за деякими властивостями подібні до макрофагів. Припускають, що IL-6 бере участь у регуляції секреторної активності гіпофіза і, можливо, є одним з медіаторів, за допомогою яких відбувається взаємодія імунної та ендокринної систем.

Тестування - оцінка здатності підсилювати проліферацію IL-6-залежної лінії В9 або збільшення секреції імуноглобулінів В-клітинами людини, що трансформовані вірусом Епштейн-Барр.

**Інтерлейкін 7 (IL-7).** Відомий із 1988 р. як фактор, що спричинює проліферацію попередників В-лімфоцитів, інша назва - "лімфопоетин 1".

IL-7 людини є глікопротеїн розміром 152 амінокислотних залишки з молекулярною масою 25 кД. Білкова частина має 17 кД. Має 60 % гомології з IL-7 мишей, що свідчить про відсутність видової специфічності. Ген IL-7 розміщений у 8-й хромосомі людини. Продуцентами IL-7 є стромальні клітини кісткового мозку та тимуса - фібробласти, ендотеліальні клітини, а в тимусі й епітеліальні клітини, макрофаги. Клітинами-мішенями для IL-7 є кістково-мозкові попередники лімфоцитів, зрілі Т-лімфоцити, тимоцити, моноцити.

Рецептор IL-7 (IL-7R) складається з двох субодиниць -  $\alpha$  і  $\beta$ . Цитокинінспецифічна  $\alpha$ -субодиниця з молекулярною масою 68 кД має 439 амінокислотних залишків. Сигналіндукувальний  $\gamma$ -ланцюг (CD132) є спільним для рецепторів IL-2, IL-4 та інших цитокінів. Виявлено високо- і низькоафінні ділянки зв'язування IL-7.

IL-7 є одним з основних лімфопоетинів. Він сприяє комітуванню і розвитку клітин крові в бік В-лімфоцитів, а також зумовлює виживання і ріст попередників В-клітин; є стимулятором проліферації внутрішньотимусних попередників Т-лімфоцитів і зумовлює антигенне-залежне розмноження Т-лімфоцитів за межами тимуса. Він спричинює проліферацію зрілих активованих Т-клітин і диференціювання Т-кілерів, може індукувати утворення лімфокінактивованих лімфоцитів. IL-7 здатний підсилювати експресію інгібітора апоптозу bcl-2 і так само сприяти виживанню попередників Т-лімфоцитів. На моноцитах людини IL-7 індукує експресію запального цитокіну MIP-1 $\beta$ .

IL-7 не має біологічно активних аналогів, тому відсутність або блокада гена IL-7 чи його рецептора моноклональними антитілами приз-

водить до спустошення тимуса, формування лімфопенії та важкого імунodefіциту.

Тестування — за рівнем проліферації попередників В-лімфоцитів або мітогенстимульованих Т-клітин.

**Інтерлейкін 8 (ІЛ-8).** Інтерлейкін 8, або "фактор хемотаксису нейтрофілів", "нейтрофілактивувальний фактор", "фактор хемотаксису Т-лімфоцитів", "хемотаксичний пептид для гранулоцитів", "фактор атракції нейтрофілів", є бетатромбоглобу-ліновий протеїн з молекулярною масою близько 8 кД, містить 72 амінокислотних залишки з двома дисульфідними зв'язками. Ген ІЛ-8 розміщений на 4-й хромосомі.

Продуцентами ІЛ-8 є макрофаги, моноцити, Т-лімфоцити, фібробласти, гепатоцити, ендотеліальні та інші клітини. Індукторами ІЛ-8 є мітогени (особливо ЛПС) або ендогенні фактори: ІЛ-1, ІЛ-3, ФНП- $\alpha$ , ГМ-КСФ та ін. Виділяється він через 4 год після активації. Клітинами-мішенями є нейтрофіли, еозинофіли, макрофаги, лімфоцити, базофіли, меланомні клітини.

Виявлено два типи рецепторів до ІЛ-8-високо- та низькоафінний, які мають 77 % гомології. Високоафінний рецептор містить 350 амінокислотних залишків з молекулярною масою 44-58 кД, а низькоафінний рецептор має 355 амінокислотних залишків і молекулярну масу 67-70 кД. Рецептори ІЛ-8 сім разів пронизують мембрану клітин і належать до суперродини родопсинів. Високоафінний рецептор зв'язує тільки ІЛ-8, а низькоафінний здатний зв'язувати й інші цитокіни. На одному нейтрофілі виявлено близько 20 тисяч рецепторів до ІЛ-8.

Основна функція ІЛ-8 — індукувати хемотаксис нейтрофілів, лімфоцитів, макрофагів, еозинофілів та інших клітин у зону запалення. Крім того, ІЛ-8 зумовлює підсилення адгезивних властивостей нейтрофілів, їх активацію та секрецію нейтрофілами й макрофагами лізосомальних ферментів та інших БАР, активацію експресії інтегринів та інших адгезивних молекул на відповідних клітинах. *In vivo* ІЛ-8 індукує нейтрофільний лейкоцитоз. ІЛ-8 активує нейтрофіли *in vitro* дуже швидко - уже в перші секунди після добавлення ІЛ-8 у нейтрофілах у цитозолі збільшується кількість кальцію, змінюється форма клітин і активується система їх руху. Через 15 с актин мікрофіламентів накопичується в субкапсулярній ділянці, а через 1-2 хв змінюється полярність нейтрофілів і вони стають гудзикоподібними. ІЛ-8 підтримує ріст меланомних клітин *in vitro*.

Тестування - за здатністю індукувати хемотаксис і активацію нейтрофілів.

**Інтерлейкін (ІЛ-9).** Відомий як "Т-клітинний фактор росту", "цитокін Ph". Він являє собою лужний глікопротеїн з молекулярною масою 30-40 кД, має 126 амінокислотних залишків, 5 дисульфідних зв'язків. Гомологія з мишачим ІЛ-9 становить 55 %, ІЛ-9 мишею активує відпо-

відні клітини людини, але ІЛ-9 людини не активує відповідні клітини мишей.

Ген ІЛ-9 локалізований у хромосомі 5 людини. Продуцентами ІЛ-9 є стимульовані CD4T-лімфоцити типу Th2. Ефективним індуктором синтезу ІЛ-9 є ІЛ-1; ІЛ-9 утворюється пізніше від інших цитокінів — експресію мРНК виявляють через 24 год після стимуляції клітин.

Клітинами-мішенями є активовані хелперні лімфоцити, макрофаги, мастоцити, клітини—попередники кровотворення.

Рецептором до ІЛ-9 є глікопротеїн, який складається з двох субодиниць. Цитокінспецифічний  $\alpha$ -ланцюг з молекулярною масою 64 кД має 482 амінокислотних залишки, а сигналіндукувальний  $\gamma$ -ланцюг (CD132), який є спільним для ІЛ-2, має 347 амінокислотних залишків з молекулярною масою 64 кД. Зв'язування ІЛ-9 з клітинами індукує фосфорильовання ряду клітинних білків.

Основна функція ІЛ-9 — підтримання проліферації активованих Т-хелперів. Крім того, він бере участь у підтриманні росту мастоцитів, сприяє кровотворенню, особливо еритропоезу, є ефективним індуктором проліферації тимічних лімфом мишей. ІЛ-9 здатний захищати клітини тимуса від апоптозу, зокрема й індукованого кортикостероїдами, що свідчить про його можливу роль у регуляції запрограмованої смерті клітин.

**Інтерлейкін 10 (ІЛ-10).** Відомий із 1989 р., мав назви "фактор, який інгібує синтез цитокінів", "інгібітор активності Th1". ІЛ-10 - білок, гомодимер з молекулярною масою 35-40 кД і 160 амінокислотними залишками. ІЛ-10 людини і мишей мають високий рівень гомології: за нуклеотидною послідовністю - 80 %, за амінокислотною - 73 %. Проте якщо ІЛ-10 людини активний відносно клітин і людини, і мишей, то мишачий неактивний у людини.

ІЛ-10 людини і мишей мають значну гомологію з геномом вірусу Епштейн-Барр. Ця ділянка у вірусу експресується в пізній, літичній стадії розвитку вірусу і відома як вірусний ІЛ-10, який має супресорну активність, як і ІЛ-10. Ген ІЛ-10 розміщений у 1-й хромосомі людини і мишей.

ІЛ-10 продукується в основному активованими CD8-T-лімфоцитами, крім того, його синтезують активовані ЛПЦ моно-цити. Біосинтез ІЛ-10 починається пізніше від біосинтезу ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- $\alpha$ , Г-КСФ.

Рецептор до ІЛ-10 належить до групи інтерферонових рецепторів, поліпептидний ланцюг якого містить 557 амінокислотних залишків з молекулярною масою 90-110 кД і виявляється переважно на В-лімфоцитах, тимоцитах, макрофагах.

Основний напрям біологічної дії ІЛ-10-сприяння розвитку гуморальної імунної відповіді. Це здійснюється за рахунок як активувального, так і супресорного впливу на окремі ланки індукування та форму-

вання імунної відповіді. Так, ІЛ-10 стимулює проліферацію незрілих В-клітин, тимоцитів і мастоцитів, синтез ІgM, ІgA, ІgG 4, захищає їх від апоптозу, виступає як кофактор ІЛ-2 і ІЛ-7.

З іншого боку, він пригнічує синтез цитокінів Тх1 (виступає як антагоніст  $\gamma$ -інтерферону), знижує антигенпрезентувальну та ефекторну функцію макрофагів, гальмує окисний метаболізм і синтез ФПН- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-8, ІЛ-12, колоніестимулювальних факторів, пригнічує експресію молекул МНС класу II, макрофагозалежну проліферацію Т-клітин та гіперчутливість сповільненого типу. Крім того, ІЛ-10 є сильним інгібітором протипухлинної цитотоксичності циркулюючих моноцитів і альвеолярних макрофагів. Він стимулює ріст деяких пухлин і його підвищена концентрація в крові при онкозахворюваннях свідчить про несприятливий прогноз. У поєднанні з іншими цитокінами він стимулює ріст і диференціювання попередників багатьох клітин.

Виражена протизапальна дія ІЛ-10 дала підставу дослідникам застосовувати його при лікуванні хронічних запальних процесів.

Тестування - за впливом на проліферацію мишачої лінії мастоцитів MC/9, яка реагує на цитокіни миші й людини.

**Інтерлейкін 11 (ІЛ-11).** Відомий також як "фактор, що стимулює утворення колоній мегакаріоцитів". ІЛ-11 належить до глікозилізованих поліпептидів, складається з 179-199 амінокислотних залишків, молекулярна маса 23 кД, його ген локалізований на 19-й хромосомі людини. Продукується ІЛ-11 клітинами строми кісткового мозку, фібробластами після стимуляції ІЛ-1.

На клітинах-мішенях існують відповідні рецептори, які мають подібність із рецептором до ІЛ-6, оскільки до складу обох рецепторів входить  $\beta$ -субодиниця (CD130).

Клітинами-мішенями є широке коло різних за походженням та функціями клітин. Насамперед ІЛ-11 є гемопоетичним фактором для найбільш ранніх кровотворних кістково-мозкових попередників, стимулює мієло- та еритропоез, дозрівання мегакаріоцитів і тромбоцитів, диференціювання нейтрофілів, вироблення білків гострої фази запалення.

Експериментальними дослідженнями на тваринах показано, що ІЛ-11 підвищує в крові кількість клітин — попередників лейкоцитів, передусім нейтрофілів та тромбоцитів, завдяки збільшенню відповідних клітин-попередників. Він також сприяє дозріванню клітин - попередників нейронів та інших клітин. Отже, за деякими активностями ІЛ-11 подібний до ІЛ-6. Однак ІЛ-6 має ширший спектр біологічної активності.

Тестування - оцінка проліферативної активності відносно клітин ІЛ-6-залежних плазмоцитом (наприклад, T1165).

**Інтерлейкін 12 (ІЛ-12).** Попередні його назви "фактор, який стимулює НК", "фактор дозрівання цитотоксичних Т-лімфоцитів". Біоло-



гічні ефекти ІЛ-12 відомі з 1989 р., а в 1994 р. його включено до групи інтерлейкінів.

ІЛ-12 є гетеродимером з молекулярною масою близько 70 кД, утворений двома поліпептидними ланцюгами, які сполучені ковалентним дисульфідним зв'язком. Одна з субодиниць із молекулярною масою 40 кД складається з 196 амінокислотних залишків (її ген локалізований на 5-й хромосомі людини) і гомологічна позаклітинній ділянці рецептора ІЛ-6. Інша суб-одиниця з молекулярною масою 36 кД складається з 306 амінокислотних залишків (ген її локалізований на 3-й хромосомі людини) і має певну гомологію з ІЛ-6 і Г-КСФ. ІЛ-12 нагадує лігандорецепторний комплекс і має фрагменти, подібні до гемопоетичних факторів.

Основними клітинами — продуцентами ІЛ-12 є активовані бактеріальними продуктами В-лімфоцити та моноцити, оскільки лише вони здатні синтезувати субодиницю з молекулярною масою 36 кД, а інша субодиниця, з молекулярною масою 40 кД синтезується багатьма клітинами.

Клітинами-мішенями для ІЛ-12 є Т-лімфоцити, НК, а також В-лімфоцити. На клітинах-мішенях виявлено три типи рецепторів для ІЛ-12, які різняться за афінністю. Високоафінним рецептором є білок з молекулярною масою 180 кД, який складається з цитокінспецифічного ланцюга і сигналіндукувальних  $\beta_1$  і  $\beta_2$  -ланцюгів.  $\beta_1$ -Ланцюг асоційований з Jak2,  $\beta_2$ -ланцюг - з Tyk2.  $\beta_2$ -Ланцюг експресований на Tх1 і відсутній на Tх2. Субодиниця  $\beta_2$  є основою для проведення сигналу в середину CD4Tх0-лімфоцитів для диференціації їх у Tх1. Рецептори до ІЛ-12 виявлено на активованих Т-клітинах, серед яких понад 90 % є CD3 Т-клітинами, а також на активованих НК, В1-клітинах. ІЛ-12 належить до ефективних регуляторів формування і функціонування природних факторів стійкості, є посередником між природженим і набутим імунітетом, між макрофагами та лімфоцитами при захисті від проникнення патогенів. У разі агресії патогенів ІЛ-12 сприяє формуванню клітинної імунної відповіді стимулює диференціювання Tх0 в хелпери запалення Tх1, проліферацію і активність НК, диференціювання і розвиток цитотоксичних Т-лімфоцитів; при цьому індукується синтез Т-клітинами і НК  $\gamma$ -інтерферону, який підвищує ефективність дії ІЛ-12. ІЛ-12 збільшує утворення ЛАК, а також сприяє активації В-1 популяції В-лімфоцитів, підвищує кількість залежного від  $\gamma$ -інтерферону IgG2а. Він діє як костимулятор лімфоцитів, які інфільтрують пухлини, особливо разом з ІЛ-2.

Водночас ІЛ-12 пригнічує утворення IgE, гальмує індукування Tх2, сприяє виходу стовбурових кровотворних клітин у кров'яне русло і формуванню гепато- і спленомегалії при частому його введенні.

Разом з іншими цитокінами ІЛ-12 бере участь у регуляції кровотворення. ІЛ-12 ефективно стимулює антимікробну активність організ-

му при різних бактеріальних, паразитарних та вірусних інфекціях. При підшкірному введенні ІЛ-12 індукує розсмоктування деяких пухлин і метастазів. Припускають, що протипухлинний ефект ІЛ-12 може бути зумовлений низкою його ефектів: індукуванням синтезу  $\gamma$ -інтерферону, активацією цитотоксичної активності НК, цитотоксичних Т-лімфоцитів CD8, пухлиноінфільтруючих лімфоцитів, макрофагів, ЛАК.

ІЛ-12 бере участь у здійсненні апоптозу індукуванням синтезу ІФН- $\gamma$  і ФІН- $\alpha$ , які беруть безпосередню участь у запуску апоптозу.

Отже, ІЛ-12 є перспективним для застосування його як ефективного антимікробного й протипухлинного агента, зважаючи на його незначну токсичність порівняно з ІЛ-2.

Тестування - оцінка впливу на проліферацію фітогемаглютинінактивованих лімфобластів; для нейтралізації дії ІЛ-2 в систему вводять антитіла до нього.

**Інтерлейкін 13 (ІЛ-13).** Інтерлейкін 13 - це глікозильований, з двома дисульфідними зв'язками поліпептид з молекулярною масою 17-24 кД, містить 112 амінокислотних залишків. Послідовність амінокислот інтерлейкіну 13 на 30 % гомологічна такій інтерлейкіну 4. Гомологія з інтерлейкіном мишей становить 58 %. Ген інтерлейкіну-13 локалізований на хромосомі 5q людини поряд з геном ІЛ-4 і входить до спільного для ІЛ-4, ІЛ-5 і ГМ-КСФ генного кластера. Клітинами — продуцентами ІЛ-13 в основному є активовані CD8Т-лімфоцити, Тх2 та мастоцити.

Хоча рецептор до ІЛ-13 ще повністю не ідентифікований, проте показано, що за своєю функціональною активністю він відрізняється від рецептора до ІЛ-4 і складається із загального у-ланцюга (CD132) і, можливо, CD24.

Клітинами-мішенями є моноцити, В-лімфоцити. За деякими параметрами біологічної дії ІЛ-13 подібний до ІЛ-4 та ІЛ-10. ІЛ-13 гальмує синтез активованими моноцитами прозапальних цитокінів - ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  ІЛ-6, ІЛ-8, а також супресує синтез ІЛ-2. Він збільшує експресію на моноцитах людини хемокінових рецепторів у 20 разів на рівні транскрипції гена, ряду мембранних молекул (CD23, антигенів гістосумісності класу II) на моноцитах та В-клітинах і підвищує їх антигенпрезентувальну активність, він сприяє також росту В-клітин, стимулює їх активність за секрецією IgM, IgE, IgG4, яка індукується антимуноглобулінами або антитілами до CD40-антигену. Під впливом ІЛ-13 наївні В-лімфоцити проліферують активніше, ніж В-лімфоцити пам'яті.

ІЛ-13 індукує синтез рецептора - антагоніста ІЛ-1 $\alpha$ , що зумовлює його можливу роль у реалізації протизапальних механізмів захисту організму. ІЛ-13 залучає в зону запалення еозинофіли, отже, він є важ-

ливим медіатором у патогенезі астми та захищає мишей від летального кінця при інфікуванні шистосомами.

Тестування — оцінювання комітогенної активності ІЛ-13 відносно В-лімфоцитів.

**Інтерлейкін 14 (ІЛ-14).** Інша назва "високомолекулярний В-клітинний ростовий фактор". ІЛ-14 — це великий глікозильований білок з молекулярною масою 60 кД і 483 амінокислотними залишками. Він має певну гомологію з Вb- компонентом системи комплементу, який здатний зв'язуватися з рецептором до ІЛ-14. Продуцентами ІЛ-14 є Т-лімфоцити, а також деякі В-клітинні пухлини, особливо лімфома Burkitt.

Рецептор до ІЛ-14 виявлено на В-лімфоцитах. ІЛ-14 підсилює проліферацію активованих В-лімфоцитів та клітин В-лімфом; сприяє формуванню В-клітин пам'яті, підвищує стійкість В-клітин до апоптозу підсиленням експресії *bcl-2*, пригнічує продукування антитіл. Припускають, що дія ІЛ-14 в основному здійснюється в зародкових центрах.

Тестування — оцінювання стимулювання проліферації активованих *Staphylococcus aureus* В-клітин.

**Інтерлейкін 15 (ІЛ-15).** ІЛ-15 це поліпептидний глікозильований ланцюг з молекулярною масою 15 кД, містить 114 амінокислотних залишків. За своєю структурою, а також за функцією ІЛ-15 близький до ІЛ-2. Продуцентами ІЛ-15 є широкий набір клітин — макрофаги, стромальні клітини кісткового мозку, епітеліальні клітини.

Рецептор ІЛ-15 складається з цитокін-специфічного  $\alpha$ -ланцюга та сигналіндукувальних  $\beta$ -(CD122 - 75 кД, 525 амінокислотних залишків) і  $\gamma$ -(CD132 - 64 кД, 347 амінокислотних залишків) суб-одиниць. Відсутність передавання сигналу з рецептора ІЛ-15 зумовлює нестачу в організмі НК.

ІЛ-15 підтримує проліферацію активованих Т-клітин, зокрема цитотоксичних, активує цитотоксичну активність НК і продукування ними багатьох важливих цитокінів ( $\gamma$ -інтерферону, ФНП- $\alpha$ , ГМ-КСФ), сприяє проліферації й активації нормальних В-клітин. ІЛ-15 індукує експресію на поверхні культивованих ендотеліальних клітин лімфовузлів рецептора ІЛ-15 ( $\beta$  і  $\gamma$ -ланцюги рецептора ІЛ-2) і сприяє виходу із судин активованих Т-лімфоцитів. ІЛ-15 виявляє виражену антипухлинну активність, яка, можливо, зумовлена активацією цитоцидної активності НК та моноцитів.

Тестування - оцінка проліферації лінії мишачих цитотоксичних лімфоцитів при індукції ІЛ-15.

**Інтерлейкін 16 (ІЛ-16).** Одна з перших назв — "фактор хемоатракції лімфоцитів". ІЛ-16 – полі пептид-гомотетрамер з молекулярною масою 56-80 кД і 130 амінокислотними залишками. Містить 4 ланцюги з молекулярною масою по 14-17 кД.

Клітинами — продуцентами ІЛ-16 є в основному Т-лімфоцити CD8 і CD4, а також еозинофіли, мастоцити, епітеліальні клітини. Гістамін стимулює секрецію цими клітинами ІЛ-16. Показано, що в CD4 і CD8Т-лімфоцитах при активації специфічним антигеном або антитілами проти CD3 накопичується мРНК ІЛ-16 і білка - попередника ІЛ-16, а також відбувається секреція зрілих молекул ІЛ-16. При цьому в CD4 (але не в CD8) активується каспаза 3, яка формує перехід молекули попередника в зрілий ІЛ-16.

Інгібітори каспази гальмують синтез ІЛ-16. Фібробласти людини різного походження синтезують мРНК ІЛ-16, але білкових молекул ІЛ-16 не виявляється. Стимуляція фібробластів ІЛ-1 $\beta$  індукує синтез мРНК ІЛ-16 і власних молекул ІЛ-16; інгібітори каспази 3 відмінюють стимулювальну дію ІЛ-1(3).

Рецептор для ІЛ-16 належить до білків родини CD4, однак низка експериментальних даних свідчить про наявність у рецепторі ще й іншої молекули. ІЛ-16 є сильним хемоатрактантом для CD4Т-лімфоцитів, моноцитів, макрофагів, еозинофілів, однак не впливає на міграцію нейтрофілів. ІЛ-16 захищає від апоптозу Т-лімфоцити, які активовані ІЛ-2. Він індукує синтез прозапальних цитокінів. Встановлено, що ІЛ-16 здатний гальмувати реплікацію ВІЛ-1 у мононуклеарах крові, що зумовлює необхідність детального вивчення його противірусної дії.

Тестування — індукування хемотаксису CD4Т-лімфоцитів, яка відмінюється антитілами до ІЛ-16.

**Інтерлейкін 17 (ІЛ-17).** ІЛ-17, або *mCT4A-8*, - мономер, має 155 амінокислотних залишків, на 72 % ідентичний із HVS-13 і на 63 % - з мишачим аналогічним цитокіном (CTLA-8). Виявлено кілька різновидів ІЛ-17: В, С, D, Е, F і відповідні рецептори.

Основні клітини-продуценти - CD4Т-лімфоцити - Тх0, Тх1, CD4Т-лімфоцити пам'яті. Синтезується також синовіальними клітинами за ревматоїдного артриту; при цьому ІЛ-17 сприяє розвитку запальної реакції.

Рецептор ІЛ-17 людини (CDw217) кодується геном хромосоми 22. На 76 % ідентичний з відповідним мишачим рецептором і не належить до будь-якої родини цитокінових рецепторів.

Біологічний ефект - стимуляція секреції ряду цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-8, ГМ-КСФ) епітеліальними, ендотеліальними і фібробластними клітинами. ІЛ-17 активує ПМЯА, збільшує секрецію моноцитарно-го хемоатрактичного білка (МХБ-1), індукує експресію мРНК ІЛ-8 і МХБ-1, індукує в фібробластах здатність підсилювати проліферацію попередників CD-34 гемопоетичних клітин і сприяє їх диференціюванню на нейтрофіли, стимулює ангиогенез як прискоренням міграції епітеліальних клітин, так і індукуванням ряду ростових факторів.

**Інтерлейкін 18 (ІЛ-18).** ІЛ-18, або фактор індукції  $\gamma$ -інтерферону, - мономер, неглікозильований білок з молекулярною масою 24 кД, містить 193 амінокислотних залишків у людини і 192 у мишей, має 65 % гомології з аналогічним цитокином мишей. ІЛ-18 мишей і щурів гомологічний на 91 % за амінокислотним складом і нуклеотидною послідовністю.

ІЛ-18 синтезується як біологічно малоактивний білковий попередник. У формуванні біологічно активного ІЛ-18 беруть участь каспаза 1 і незалежно від каспази - протеїназа 3 нейтрофілів (мієлобластин).

Клітини-продуценти - активовані макрофаги і насамперед купферовські та дендритні клітини, зокрема незрілі кератиноцити, Т- і В-лімфоцити. Моноцити і макрофаги продукують багато різних видів ІЛ-18, чимало з яких є неактивними димерами. ІЛ-18 типу 2 є фрагментом ІЛ-18, має незначну здатність індукувати інтерферон, у крові зв'язується з ІgМ і в значній концентрації виявляється в 30 % людей. ІЛ-18 експресується на багатьох клітинах - моноцитах, макрофагах, Т- і В-лімфоцитах, дендритних та ендотеліальних клітинах, кератиноцитах, астроцитах, клітинах мікроглії. Його експресія виникає під час активації фактора NF $\kappa$ B.

Рецептор ІЛ-18 належить до родини Іg-подібних рецепторів.

Основні клітини-мішені - Т-лімфоцити, НК.

ІЛ-18 належить до прозапальних цитокинів і має широкий спектр біологічної активності. Він індукує утворення  $\gamma$ -інтерферону, регулює ріст та диференціювання Тх, розвиток імунної відповіді за Тх1-типом, активує НК, є частиною комплексу, що спричинює апоптоз клітин. Він індукує продукування ІФН- $\gamma$  В-лімфоцитами, що зумовлює гальмування секреції ІgЕ; збільшує синтез інтерферону у Т-лімфоцитами, а разом з ІЛ-12 - НК; стимулює продукування багатьох цитокинів - ФНП- $\alpha$ , ІЛ- $\beta$ , ІЛ-8, МІР- $\alpha$ , ІЛ-5, ІЛ-6, ГМ-КСФ, Г-КСФ. За відсутності ІЛ-12 він разом з ІЛ-2 і ІЛ-3 індукує вироблення ІЛ-4, що сприяє розвитку імунної відповіді за Тх2-типом та формування алергічних реакцій. ІЛ-18 може виявляти нейромодуляторну активність, бере активну участь у формуванні захисних реакцій проти різних патогенів завдяки продукуванню ІФН- $\gamma$ , особливо проти внутрішньоклітинних патогенів (лістерій, шигел, сальмонел, мікобактерій), а також виявляє протипухлинну активність, зумовлену індукцією апоптозу внаслідок підсилення взаємодії Fas/FasL через стимуляцію ІЛ-18 продукування мРНК FasL. Введення гена ІЛ-18 у пухлинні клітини мишей гальмує їх проліферацію. Він здатний відмінити у мишей розвиток хронічної хвороби "трансплантат проти хазяїна", підтримувати запальний процес унаслідок стимуляції синтезу  $\gamma$ -інтерферону, ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1В, ІЛ-8, МІР $\alpha$ . Разом (але не окремо) з ІЛ-12 він зумовлює токсичні ефекти через залежні й незалежні від  $\gamma$ -інтерферону механізми; нейтралізація ІЛ-18 у разі летальної ендотоксемії захищає мишей від летального кі-

нця. За гіперпродукування ІЛ-18 виникають деструктивні запальні процеси, зокрема аутоімунні захворювання Т-клітинного типу.

Видалення гена ІЛ-18 значно не впливає на життєздатність та плодючість мишей, на перебіг інфекційних захворювань.

Виявляють ІЛ-18 в ELISA-тестах, а також у цитокінзалежній лінії культури клітин KG-1 людини.

**Інтерлейкін 19 (ІЛ-19).** ІЛ-19, або ІЛ-10С, містить 177 амінокислотних залишків, має молекулярну масу 20 кД, належить до родини цитокінів ІФН/ІЛ-10. Існує у двох ізоформах. Виявлено два різновиди мРНК. Експресія мРНК ІЛ-10 у стимульованих моноцитах проявляється через 2 год, а мРНК ІЛ-19 - через 4 год. Ген ІЛ-19 має п'ять екзонів, розташований у хромосомі 1q32 людини. Структури генів ІЛ-19 та ІЛ-10 подібні, а цитокіни мають близько 25 % гомології за амінокислотними залишками, однак ІЛ-19 не зв'язується з рецептором ІЛ-10. ІЛ-19 синтезується моноцитами після оброблення їх бактеріальними ЛПЩ і його синтез збільшується за наявності ІЛ-4 або ІЛ-13 і гальмується ІФН. ГМ-КСФ індукуює в моноцитах експресію гена ІЛ-19. ІЛ-19 стимулює продукування ІЛ-6 і ФНП-а та індукуює апоптоз через ФНП- $\alpha$ , зв'язується з рецептором ІЛ-20, активує сигнальний індуктор та активатор транскрипції (STAT3).

**Інтерлейкін 20 (ІЛ-20).** ІЛ-20, або ІЛ-10D, - димер, містить 176 амінокислотних залишків, кодується геном хромосоми 1 людини поряд із генами ІЛ-10, ІЛ-19, ІЛ-24. Має за амінокислотними залишками 26 % гомології з ІЛ-10 і 41 % -з ІЛ-19. За структурною організацією ІЛ-20 подібний до ІЛ-10. ІЛ-20 синтезується кератиноцитами і належить до аутокринних факторів - регулює участь кератиноцитів у запальних реакціях. Надлишкове продукування ІЛ-20 у трансгенних мишей індукуює загибель новонароджених через пошкодження шкірного покриву внаслідок порушення епідермальної диференціації. Рецептор цього інтерлейкіну - гетеродимер, який складається з двох субодиниць ( $\alpha$  і  $\beta$ ), містить 553 амінокислотних залишки, має 21 % гомології з рецептором ІЛ-10, кодується геном у хромосомі 6q22 людини. Рецептор експресується на кератиноцитах шкіри і в особливо великій кількості при псоріазі шкіри. Вбудовування рецептора в клітинні лінії кератиноцитів сприяє активації одного з членів STAT-білків - STAT3. Рецепторний комплекс ІЛ-20 зв'язує також ІЛ-19 та ІЛ-24.

**Інтерлейкін 21 (ІЛ-21).** ІЛ-21 має молекулярну масу 18,6 кД, містить 131 амінокислотний залишок і значною мірою споріднений з ІЛ-2 та ІЛ-15.

Ген ІЛ-21 міститься на хромосомі людини 4q 26-27 біля гена ІЛ-12. Після активації клітин мРНК ІЛ-21 експресується на CD4Т-лімфоцитах і не виявляється в CD8Т-клітинах, моноцитах, В-лімфоцитах.

Рецептор ІЛ-21 - гетеродимер, має молекулярну масу 59 кД, 538 амінокислотних залишків і значну спорідненість до  $\beta$ -субодиниці рецептора людського ІЛ-2 (CD122), знаходиться в хромосомі людини 16p11. Рецепторний комплекс ІЛ-21 містить спільний для рецепторів ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-7, ІЛ-9, ІЛ-15  $\gamma$ -ланцюг (CD132). Рецепторний комплекс ІЛ-21 активує Janus кінази Jak1, Jak3 та STAT-протеїни - STAT1, STAT3. Рецептор експресується на лімфоїдній тканині, особливо в тимусі й селезінці, НК, Т-лімфоцитах. Моноклональні антитіла до CD3 збільшують експресію рецептора ІЛ-21.

ІЛ-21 ефективно стимулює проліферацію CD8Т-клітин і значно меншою мірою - CD4Т-клітин пам'яті та стимулює проліферацію В-клітин, які активовані перехресним зв'язуванням CD40-антигену, гальмує проліферацію, стимульовану ІЛ-4 і анти-IgM, збільшує стимуляцію проліферації наївних Т-клітин (CD45 RA) і не впливає на клітини пам'яті (CD45 RO) Т-лімфоцитів у разі приєднання CD3, за наявності ІЛ-15 стимулює проліферацію кістковомозкових CD16 та CD3 клітин-попередників, експресію маркера природних кілерів CD56. За наявності ІЛ-21 в культурі клітин кісткового мозку людини або мишей число кровотворних клітин-попередників збільшується вдвічі, при цьому також удвічі збільшується і число попередників макрофагів.

ІЛ-21 виявляє антипухлинну активність на мишах, і рекомендується провести дослідження щодо застосування його для лікування онко-та інфекційних захворювань.

**Інтерлейкін 22 (ІЛ-22).** Відомий раніше як Т-клітинний індукований фактор (TIF), що має спорідненість до ІЛ-10, - це глікозильований білок з молекулярною масою 25 кД і 180 амінокислотами, має 20 % гомології з ІЛ-10 людини і 79 % гомології з ІЛ-22 мишей. Синтез ІЛ-22 регулюється Txl.

Гени ІЛ-22 людини і мишей складаються з шести екзонів; ген людини розміщений у хромосомі 12q15 (недалеко від гена ІНФ- $\gamma$  та ІЛ-26). У мишей ген ІЛ-22 також розміщений у ділянці гена ІНФ- $\gamma$ . Ген ІЛ-22 у мишей деяких ліній існує в одиночних копіях, а в інших - у подвоєній формі. ІЛ-22 з двома копіями позначаються як ІЛ-22 $\alpha$ , а з однією - ІЛ-22 $\beta$ . Обидві форми мають 98 % нуклеотидної ідентичності, а ген ІЛ-22 $\beta$  має делецію 658 нуклеотидів і може бути не-активним.

Експресія ІЛ-22 може індукуватися ІЛ-9 у Т-клітинах, клітинах тимусних лімфом, мастоцитах, апри індукуванні лектинами  $\gamma$  свіжовиділених спленоцитах. ІЛ-22 постійно експресується в тимусі та головному мозку. Експресія ІЛ-22 в клітинах не потребує синтезу білка і залежить від активації Janus-кіназ і STAT-білків. ІЛ-22 належить до прозапальних цитокинів - при його ін'єкції індукується синтез білків гострої фази та базофілія нирок, і його синтез зумовлюється бактеріальними ЛПЦ. На відміну від ІЛ-10, ІЛ-22 не інгібує вироблення проза-

пальних цитокінів моноцитами при дії ЛПЩ. ІЛ-22 інгібує продукування ІЛ-4 Тх2.

Рецептор ІЛ-22 належить до родини цитокінових рецепторів типу 2 і містить два ланцюги, один з яких є бета-ланцюгом рецепторного комплексу ІЛ-10, а другий належить до групи рецепторів CRF2-4, що експресується в нормі на клітинах печінки та нирок, містить 574 амінокислотних залишки. Антитіла до бета-ланцюга ІЛ-10 блокують зумовлене ІЛ-22 індукування білків гострої фази. Деякі клітини, що не відповідають на ІЛ-10, взаємодіють з ІЛ-22 активацією STAT1, STAT3 і STAT5. Обидва ланцюги рецептора можуть самостійно зв'язуватися з ІЛ-22, але зв'язування ІЛ-22 з рецепторним комплексом значно ефективніше. Такі сумісні використання рецепторних субодиниць подібні до сумісного використання спільного гамма-ланцюга такими цитокінами, як ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-7, ІЛ-9, ІЛ-15.

Виявлено і розчинний рецептор, який позначено як ІЛ-22-зв'язувальний білок (22ВР) з 231 амінокислотою і 34 % гомології амінокислотних залишків з позаклітинним доменом бета-ланцюга рецептора ІЛ-22. Ген, що кодує цей рецептор, міститься на хромосомі людини 6q24, недалеко від гена рецептора 1 ІНФ- $\gamma$ . Він експресується на різних клітинах, значна його кількість виявляється на клітинах молочної залози, легень, товстої кишки. Розчинний рецептор зв'язує ІЛ-22 та інгібує його активність і таким чином виступає як антагоніст цього цитокіну.

**Інтерлейкін 23 (ІЛ-23).** Цей інтерлейкін складається із субодиниці р40 ІЛ-12 і білка р19 (молекулярна маса 19 кД), який споріднений до ІЛ-6, Г-КСФ і субодиниці р35 ІЛ-12. Окремо р19 не активний, а в комплексі з р40 - активний. Повноцінний ІЛ-23 секретується активованими дендритними клітинами.

ІЛ-23 людини стимулює індуковане ФГА продукування ІНФ- $\gamma$  бластними Т-клітинами і Т-клітинами пам'яті. Він індукує проліферацію цих клітин. Вірус Сендай (але не вірус грипу А) індукує продукування ІЛ-23 макрофагами людини.

Рецептор ІЛ-23 складається з двох субодиниць - білка рецептора ІЛ-23 і бета-1 субодиниці рецептора ІЛ-12. Рецептор ІЛ-23 зв'язується з бета-1 (але не з бета-2) субодиницею ІЛ-12 і при цьому зумовлює активацію STAT4 на ФГА-індукованих Т-бластах. Ген рецептора ІЛ-23 розміщений у 1-й хромосомі людини.

Експресія білка 19 у трансгенних мишах призводить до карликовості, системного запалення, безпліддя і летальності в тримісячному віці. В сироватці виявляється високий рівень прозапальних цитокінів - ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1, кількість нейтрофілів збільшена, постійно виявляються білки гострої фази. У тварин, у яких білок 19 експресується в печінці, ніяких порушень не виявлено. Експресія р19, очевидно, існує на гемопоетичних клітинах, оскільки трансплантація клітин кісткового



мозку з експресією p19 зумовлює той самий ефект, що і в трансгенних тварин.

**Інтерлейкін 24 (ІЛ-24).** Відомий раніше у людей як білок -- супресор здатності зумовлювати пухлини - 16 (ST16), або продукт гена, пов'язаний з диференціюванням меланоми (МДА-7); у щурів - *mov 5*, C49a, у мишей - FISP.

Ген ІЛ-24 розміщений на хромосомі людини 1q32 і тісно зв'язаний з генами, які кодують ІЛ-10, ІЛ-19, ІЛ-20. ІЛ-24 має 206 амінокислотних залишків, значно гальмує ріст меланомних клітин і ріст колоній цих клітин, вибірково супресує ріст ракових клітин грудної залози людини внаслідок стимуляції апоптозу. Індукція експресії ІЛ-24 реплікацією дефектного аденовірусу сприяє підвищенню супресивної активності та індукуванню апоптозу ряду пухлинних клітин - меланом, різних форм гліобластом, остеосарком, карцином грудної залози, легень, товстої кишки та ін. Будь-якого несприятливого ефекту не спостерігали після експресії ІЛ-24 на нормальних епітеліальних та фіброblastних клітинах. У гемопоетичних клітинах людини експресія ІЛ-24 індукується в процесі диференціювання мегакаріоцитів. Рецептором для ІЛ-24 є рецепторний комплекс ІЛ-20, він зв'язує також ІЛ-19. ІЛ-24 *in vitro* індукує апоптоз у пухлинних клітинах.

**Інтерлейкін 25 (ІЛ-25).** ІЛ-25 з молекулярною масою 18,5 кД містить 161 амінокислотний залишок, кодується геном хромосоми 14q11 людини. Раніше відомий як стимулювальний фактор клітинної проліферації 20 (SF20), виділяється стромальними клітинами кісткового мозку. Він був виявлений під час пошуку факторів, що стимулюють клітинну проліферацію. ІЛ-25 підтримує проліферацію клітин лімфоїдного походження, але не має міелопоетичної активності.

Рецептор ідентифікований як тимусний загальний антиген 1 (TSA-1). Антитіла до рецептора ІЛ-25 відмінюють індуковану ІЛ-25 проліферацію як клітин з постійною наявністю цього рецептора, так і клітин з відсутністю експресії рецептора ІЛ-25, але штучно індукованої. ІЛ-25 після введення у ніс мишам індукує продукування ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-13, мРНК еотаксину в легенях і значну еозинофілію в бронхоальвеолярному лезажі та в легеневої тканині. У цих тварин розвивається також гіперплазія епітеліальних клітин, збільшується секреція слизу та гіперреактивність дихальних шляхів. Позбавлення мишей експресії спільної гамма-субодиниці рецептора ІЛ-25 відмінює появу еозинофілії на введення ІЛ-25.

**Інтерлейкін 26 (ІЛ-26).** ІЛ-26 з молекулярною масою 20 кД містить 171 амінокислотний залишок. Відомий раніше як білок АК155 і ML-1, але амінокислотна послідовність АК155 і ML-1 не однакова. ІЛ-26 і ІЛ-10 характеризуються певною гомологією - ІЛ-26 має 25 % ідентичної і 47 % подібної послідовності амінокислот з ІЛ-10. ІЛ-26 є гомодимером, подібним до ІЛ-10.

Ген ІЛ-26 розташований на хромосомі 12q15 недалеко від гена ІФН- $\alpha$  та гена ІЛ-22. У трансформованих вірусом герпесу Т-клітинах виявляється значно збільшена кількість генів ІЛ-26. ІЛ-26 незначною мірою транскрибується деякими лініями Т-клітин та нативними клітинами периферичної крові, але не В-клітинами.

**Інтерлейкін 27 (ІЛ-27).** ІЛ-27 (ІЛ-17D) -гетеродимер, містить 202 амінокислоти, має молекулярну масу 22 кД, до його скла-ду входять білок ЕВІ-3, що має спорідненість до р40-субодиниці ІЛ-12, і білок р28, який має спорідненість до р35-субодиниці ІЛ-12. Ген ІЛ-27 розміщений у хромосомі 13q11 та експресується в мозку.

Рецептор ІЛ-27 належить до родини цитокінових рецепторів - WSX-1 (ТССР). ІЛ-27 є продуктом активованих АПК і стимулює швидку клональну експансію наївних CD4Т-клітин, за винятком клітин пам'яті. Відмічається синергізм ІЛ-27 та ІЛ-12 у запуску продукування ІФН наївними CD4Т-клітинами. Він має протипух-линну активність.

**Інтерлейкін 28 (ІЛ-28).** Внаслідок інфікування вірусами ряду ліній культур клітин в останніх продукуються подібні до інтерферонів першого типу білки, які мають значну гомологію і були позначені як ІЛ-28 та ІЛ-29. Вони кодуються генами, розміщеними в 19-й хромосомі людини, поряд з генами інтерферонів першого типу. ІЛ-28 існує в двох формах - ІЛ-28А (раніше описаний як ІФН- $\lambda$ 2) і ІЛ-28В (раніше описаний як ІФН-  $\lambda$ 3). ІЛ-28 має 200 амінокислот і належить до родини інтерферонів першого типу. За послідовністю амінокислот обидві форми ІЛ-28 ідентичні на 96 %, а з ІЛ-29 - на 81 %. Невеликий рівень гомології виявляється між ІЛ-28 та ІЛ-10, ІФН- $\alpha$ 2 та ІЛ-22. ІЛ-28 експресується на клітинах багатьох типів після обробки їх дволанцюговою РНК або у відповідь на вірусну інфекцію. Обробка клітин ІЛ-28 захищає їх від вірусної інфекції, але не індукує антипроліферативну активність. Для обох форм ІЛ-28 і для ІЛ-29 характерні різні рецепторні композиції субодиниць  $\alpha$ -ланцюга Р ІЛ-28 (CRF2-12) та субодиниці  $\beta$ -ланцюга Р2 ІЛ-10 (CRF2-14).  $\alpha$ -Ланцюг належить до родини цитокінових рецепторів типу 2 і має різну кількість амінокислот - описані варіанти з 211, 491 і 520 амінокислотами.  $\alpha$ -Ланцюг з 211 амінокислотними залишками буває у розчинній формі. Рецептор ІЛ-28 постійно експресується на клітинах багатьох людських ліній і тканинах та активується через Як-STAT-систему. Така система рецептор - ліганд є одним з механізмів анти вірусного захисту, але не залежного від індукованого інтерферонами першого типу.

**Інтерлейкін 29 (ІЛ-29).** Раніше описаний як ІФН- $\lambda$ 1, молекулярна маса 22 кД, містить 200 амінокислотних залишків. Він на 81% ідентичний з обома формами ІЛ-28, кодується геном хромосоми 19q13 . Всі властивості його такі самі, як ІЛ-28. Три гени (ІЛ-28А, ІЛ-28В і ІЛ-29) у 19-й хромосомі людини формують цитокіновий генний кластер.

**Інтерлейкін 30 (ІЛ-30).** ІЛ-30 містить розчинну форму субодиниці р28 ІЛ-27 (вона є субодиницею р35 ІЛ-12). Ген ІЛ-30 розміщений у хромосомі людини 16, взаємодіє з вірусом Епштейн-Барр, стимулює проліферацію наївних CD4Т-клітин, але не клітин пам'яті, індукує синтез ІНФ- $\gamma$ , регулює диференціювання Тх1, зв'язується рецептором ІЛ-27.

**Інтерлейкін 31 (ІЛ-31).** Рецептор ІЛ-31 має дві субодиниці - ІЛ-31РА (GLMR, CRL3) і субодиницю рецептора цитокіну OSM - OSMP. ІЛ-31Р експресується в активованих моноцитах і постійно в епітеліальних клітинах. Субодиниця ІЛ-31РА є сигналіндукувальною - потенціює функції моноцитів і макрофагів і є спільною для цитокінових рецепторів родини ІЛ-6. Ген ІЛ-31РА міститься в хромосомі 5я11.2 людини і в 13-й хромосомі мишей. Продукується ІЛ-31 в основному активованими Тх2, стимулює розвиток запального процесу, інфільтрацію його клітинами, відіграє певну роль у розвитку atopічних захворювань шкіри. У мишей, позбавлених ІЛ-31Р, виникає aloпеція, ураження шкіри.

**Інтерлейкін 32 (ІЛ-32).** ІЛ-32, раніше відомий як НК-4 (*natural killer cell transcript 4*) існує в НК у чотирьох варіантах -  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ . Ген ІЛ-32 локалізований у хромосомі 16p13.3 мРНК ІЛ-32 експресується в основному на клітинах імунної системи. ІЛ-32 відіграє важливу роль у регуляції запальних і аутоімунних процесів, значно збільшує продукування ФНП $\alpha$ , ІЛ-8, МІР-2.

## 9.2.ІНТЕРФЕРОНИ

Інтерферони (ІФН) - велика група біологічно активних білків (глікопротеїнів), які синтезуються різними клітинами макроорганізму в процесі активації вірусами, бактеріями, мітогенами. Вперше ІФНи було виявлено під час вивчення вірусної інтерференції, зумовленої, як виявилось пізніше, ІФНами. Інформація про структуру молекул ІФН- $\alpha$  і ІФН- $\beta$  людини (ІФНи I типу) - закодована в клітинному геномі в 9-й, а ІФН- $\gamma$  (ІФНи II типу) - у 12-й хромосомі. У мишей гени ІФН- $\alpha$  і ІФН- $\beta$  знаходяться в 4-й, а ген ІФН- $\gamma$  - у 10-й хромосомі.

Нині відомо понад 20 різновидів ІФНів, які за структурою, біологічними властивостями і місцем утворення об'єднані в 3 види ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ): ІФН- $\alpha$  синтезується лейкоцитами під дією вірусів і називається ще лейкоцитарним; ІФН- $\beta$  синтезується фібробластами та іншими соматичними клітинами під дією вірусів, і його ще називають фібробластним, ІФН- $\gamma$ , або імунний, або ІФН II типу, синтезується сенсibiliзованими активованими Тх1, цитотоксичними Т-лімфоцитами та НК. ІФН- $\alpha$  та ІФН- $\beta$  — білки з молекулярною масою 20-40 кД, які мають високу стійкість до рН, осаджуються насиченим розчином сульфатамонію.  $\alpha$ - та  $\beta$ -ІФНи на 40-50 % гомологічні і зв'язуються спільними для них рецепторами.  $\gamma$ -ІФН термолабільний і не витримує рН = 2. ІФ-

Ни мають видову специфічність. Рецептори до ІФН- $\alpha$  та ІФН- $\beta$  виявляються на більшості клітин організму і відрізняються від рецепторів до ІФН- $\gamma$  (CD119), які виявляються переважно на моноцитах, макрофагах, ендотеліальних клітинах.

ІФНи і за складом, і за біологічною активністю відрізняються від антитіл - дія їх неспецифічна. Вони мають видову специфічність, діють в основному на внутрішньоклітинні процеси і мають широкий спектр захисних реакцій. Вони можуть перешкоджати розмноженню вірусів, гальмувати розвиток бактеріальних інфекцій, підвищувати активність багатьох ланок неспецифічної резистентності та специфічних реакцій. Противірусна активність зумовлена не прямою дією ІФНів, а дією їх на клітини. Під час вірусної інфекції інфіковані клітини виділяють у позаклітинний простір ІФН, який зв'язується з відповідними рецепторами незаражених клітин і проникає в них. Під впливом ІФНів у клітинах синтезується 2,5-олігоаденілатсинтетаза, що активує латентну ендорибонуклеазу, яка руйнує вірусну РНК. Крім цього, ІФНи активують серинтреонінову протеїназу, яка фосфорилує фактор ініціації білкового синтезу eTF2, що і зумовлює пригнічення реплікації вірусу. Особливо важливу роль відіграє ІФН- $\gamma$  у формуванні захисних реакцій при запаленні. Він різко підвищує активність фагоцитів, природних кілерів, активує ендотеліальні клітини і цим самим сприяє прискоренню міграції лейкоцитів у зону запалення.

При онкозахворюваннях ІФНи можуть інгібувати пухлинний ріст прямою блокадою проліферації пухлинних клітин, лізувати пухлинні клітини, активувати онкоцидну активність природних кілерів та макрофагів шляхом імуномодуляції.

ІФН- $\alpha$  і ІФН- $\beta$  чинять цитостатичну дію на пухлинні клітини в усіх фазах клітинного циклу, меншою мірою вони виявляють цитотоксичну дію. ІФН- $\gamma$  цитотоксично діє у фазі G1 клітинного циклу. Слід зазначити, що сумісна протипухлинна дія  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -ІФН ефективніша, ніж одного з них. Так з 6 видів пухлин ІФН- $\alpha$  інгібує 2, а ІФН- $\beta$  - 4; за сумісного введення ІФН- $\alpha$  і ІФН- $\beta$  пригнічується ріст усіх шести видів пухлин та гальмується ріст трьох типів клітин пухлин легень, які нечутливі до окремо взятих ІФНів. У разі зниження рівня ІФНів під час різних патологічних процесів введення препаратів ІФНу призводить до нормалізації ІФНогенезу.

ІФНи мають широкий спектр імуномодуляційної дії під час різних патологічних процесів, що спричинюють порушення функціонування різних ланок захисних систем. Основні з них - рекрутування ефекторних клітин шляхом модуляції процесів їх диференціювання, й проліферації; активація ефекторних клітин — макрофагів, моноцитів, природних кілерів; збільшення експресії антигенів, насамперед антигенів МНС, які підвищують ефективність імунного розпізнавання.

ІФНи захищають нормальні фібробласти від дії природних кілерів, але не захищають інфіковані вірусами клітини.

Слід мати на увазі, що останнім часом отримано багато форм рекомбінантних ІФНів, які знайшли широке застосування в профілактиці та лікуванні вірусних і бактеріальних інфекцій, а також при онкозахворюваннях та деяких видах імунодефіциту.

### **9.3. ФАКТОРИ РЕГУЛЯЦІЇ ГЕМОПОЕЗУ**

#### **Гранулоцито-макрофагальний колонієстимулювальний фактор (ГМ-КСФ).**

ГМ-КСФ, або колонієстимулювальний фактор  $\alpha$  (КСФ- $\alpha$ ), людини — це глікопротеїн, близько 50 % якого становлять вуглеводи, розміщені в N-глікозидних ланцюгах, містить 127 амінокислотних залишків і має молекулярну масу білкової частини 22 кД. Виявлено ряд форм, які відрізняються ступенем глікозилювання. Цитокін має видову специфічність, і гомологія з мишачим аналогом становить 56 %. За просторовою будовою ГМ-КСФ належить до родини чотири спіральних цитокінів - ІЛ-2, -4, -5 і М-КСФ.

Рецептори до ГМ-КСФ виявлено на гранулоцитах, моноцитах, фібробластах, ендотеліоцитах. Рецептор до ГМ-КСФ складається з  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць. Цитокінспецифічна  $\alpha$ -субодиниця (CDw116) - білок з молекулярною масою 88 кД і 378 аміно-кислотними залишками. Сигналіндукувальна (CD131)  $\beta$ -субодиниця з масою 120-140 кД має 882 амінокислотних залишки і є загальною для рецепторів ГМ-КСФ, ІЛ-3 та ІЛ-5, гомологічними є і N-кінцеві ділянки їх  $\alpha$ -субодиниць. Зв'язування ліганду індукує фосфорилування за тирозином деяких клітинних білків. Ген ГМ-КСФ локалізований у 5-й хромосомі поряд з генами ІЛ-3 і рецептора М-КСФ.

Клітинами - продуцентами ГМ-КСФ є стимульовані лімфоцити, макрофаги, фібробласти, ендотеліоцити. В крові фактор не виявляється. Клітинами-мішенями є гемопоетичні попередники мієлоїдних клітин, гранулоцити, моноцити, еозинофіли. Разом з ІЛ-3 ГМ-КСФ належить до ранніх поліпотентних гемопоетичних факторів. Біологічна функція - підтримання проліферації та диференціювання ростків мієлопоезу та моноцитопоезу в кістково-му мозку, а також прискорення проліферації й диференціювання ряду лейкоцитів - нейтрофілів, моноцитів та дендритних клітин. Він підтримує ріст колоній ПМЯЛ, макрофагів у напівтвердому агарі, разом з еритропоєтином індукує утворення колоній еритроцитів і змішаних колоній з мегакаріоцитами.

ГМ-КСФ стимулює протипухлинну і антимікробну активність макрофагів, нейтрофілів, еозинофілів, індукує синтез ними цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, М-КСФ; інгібує міграцію нейтрофілів і тим самим сприяє їх накопиченню в зоні запалення.

При нокауті гена виникають патологічні зміни альвеол легень.

Тест визначення - підтримання клонального росту кістковомозкових попередників гранулоцитів-макрофагів.

**Гранулоцит-колонієстимулювальний фактор (Г-КСФ).** Г-КСФ, або колонієстимулювальний фактор  $\beta$ , - глікозилований білок з молекулярною масою 19 кД і 174 або 177 амінокислотними залишками; остання форма має в 20 разів більшу активність. Кодуються обидві форми в хромосомі 17. За характером просторової структури належать до родини чотириспіральных цитокінів. Видова специфічність відсутня; з мишачим аналогом має 70 % гомології.

Продуцентами цього цитокіну є макрофаги, фібробласти, клітини ендотелію та стромі кісткового мозку.

Рецептор Г-КСФ має молекулярну масу 150 кД і містить 759 або 812 амінокислотних залишків, має 46 % гомології з  $\beta$ -ланцюгом ІЛ-6. Рецептор Г-КСФ виявляється на клітинах кісткового мозку, нейтрофілах, ендотеліоцитах.

Біологічний ефект - підтримання росту, диференціювання нейтрофілів у кістковому мозку, підсилення активності зрілих нейтрофілів. Виявляється в кровотоці. У разі блокади гена - дефект мієлопоезу, нейтропенія.

Тест визначення - колонієутворення у напіврідкому агарі та стимулювання проліферації клітин лінії NFS 60.

**Макрофаго-колонієстимулювальний фактор (М-КСФ).** М-КСФ, або колонієстимулювальний фактор 1 (КСФ-1), існує в трьох формах, що різняться за кількістю амінокислотних залишків (522, 406, 224), з молекулярною масою білкової частини 45-90 кД. Усі три форми є продуктами одного гена в 5-й хромосомі і не різняться за біологічною активністю.

Молекула М-КСФ є дисульфідзв'язаним гомодимером, біологічна активність якого тісно пов'язана з першими 149 амінокислотними залишками з N-кінця молекули. Просторова будова М-КСФ подібна до такої ГМ-КСФ, ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-4. Рецептор М-КСФ (CD115) належить до родини Ig-подібних рецепторів, має молекулярну масу 150 кД з 953 амінокислотними залишками. Цей рецептор виявляється на моноцитах, макрофагах та їх попередниках. Цитоплазматична ділянка рецептора має тирозинкіназну активність. Зв'язування М-КСФ із рецептором індукує димеризацію останнього. Під час взаємодії М-КСФ з відповідним рецептором (CD115) індукується кіназна активність та фосфорилування як самого рецептора, так і низки білків клітин. Рецептор М-КСФ сполучений з С-білком і при активації рецептора відбувається переміщення протеїнкінази С до клітинної мембрани.

Продуцентами М-КСФ є багато клітин: моноцити, макрофаги, фібробласти, ендотеліальні клітини тощо. В кровотоці М-КСФ не виявлено. Він стимулює ріст макрофагальних колоній з кістковомозкових попередників, а також індукує проліферацію макрофагів *in vitro* і ак-

тивує зрілі макрофаги, які секретують ІЛ-1, Г-КСФ, інтерферони, простагландини; підсилює їх цитоцидність відносно інфікованих та пухлинних клітин. М-КСФ людини активує мишачі клітини, але не навики.

Тест на виявлення - колонієутворення в напіврідкому агарі та використання М-КСФ-залежної лінії клітин мишей М-NFS 60.

**Стовбурово-клітинний фактор (СКФ).** Відомий також під назвами "фактор Стіла", "с-Kit-ліганд", "фактор росту мастоцитів". Виявлено дві форми СКФ — розчинний та мембранозв'язаний. Рецептором для СКФ є CD-117 (с-Kit, який був відкритий як онкоген).

Продуценти - різні стромальні клітини кісткового мозку: фібробласти, епітеліальні клітини, ендотеліальні клітини судин; утворюються переважно локально у великій кількості; їх активність значно підвищується при сумісній дії з іншими цитокінами (ІЛ-3, ІЛ-7, ГМ- і Г-КСФ, еритропоетин).

СКФ належить до головних регуляторів кровотворення. Він підтримує існування, проліферацію та диференціювання поліпотентних стовбурових кровотворних клітин, клітин-попередників різних рядів кровотворення. Сумісна дія СКФ і ІЛ-6 або ІЛ-3 ефективно стимулює диференціацію поліпотентних стовбурових кровотворних клітин у бік комітованих попередників з подальшим утворенням імунокомпетентних та кровотворних клітин.

Існує синергізм між СКФ і ІЛ-11 при їх дії на поліпотентні стовбурові кровотворні клітини, а також між СКФ і ІЛ-2 при дії на природні кілери.

Для мастоцитів він є основним фактором росту і хемокіном.

**Еритропоетин.** Еритропоетин - глікопротеїн з молекулярною масою 34 кД і 166 амінокислотними залишками. Молекула еритропоетину містить два дисульфідних зв'язки, що забезпечує активну конформацію трьох сіаловмісних N-глікозидних та O-глікозидних ланцюгів. Деглікозилювання підвищує спорідненість еритропоетину до відповідного рецептора і його активність *in vitro*, проте зовсім відмінняє активність *in vivo*. Існує дві форми еритропоетину -  $\alpha$  і  $\beta$ , які різняться тільки кількістю вуглеводів, але при цьому мають однакову біологічну активність. Виявлено високу гомологію (80-95 %) між еритропоетином людини та інших ссавців, що зумовлює відсутність видової специфічності. Ген еритропоетину знаходиться в 7-й хромосомі.

В неонатальному періоді він утворюється в основному в печінці, у постнатальному - синтезується епітелієм нирок і в незначній кількості (10-15 %) печінкою. За нормальних умов концентрація його в крові становить 0,01 мМ; при гіпоксії його рівень підвищується. Нокаут гена еритропоетину або його рецептора спричинює загибель організму в ембріональному періоді.

Рецептор еритропоетину належить до суперродини цитокинових рецепторів і має масу 85-100 кД і 444 амінокислотних залишки.

Основна функція еритропоетину - регуляція разом з іншими цитокинами (ІЛ-3, ІЛ-6, ІЛ-11, ГМ-КСФ) утворення еритроцитів із незрілих кістковомозкових попередників. Він також захищає від апоптозу еритроїдні клітини-попередники на пізніх стадіях розвитку і перспективий щодо застосування при різноманітних анеміях.

Тест на виявлення еритропоетину - його здатність викликати утворення еритроцитарних колоній з кістковомозкових попередників у метилцелюлозі або стимуляція проліферації клітинної лінії TF-1.

**Трансформівний ростовий фактор  $\beta$  (ТФР- $\beta$ ).** ТФР- $\beta$  являє собою родину близьких за структурою молекул ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ ), поліпептидна частина яких складається з 112 амінокислотних залишків з молекулярною масою 25 кД. Основною формою є ТФР- $\beta 1$  - дисульфідзв'язаний гомодимер з молекулярною масою близько 25 кД, який синтезується в латентній формі й активується в процесі протеолітичного розщеплення. Привертає увагу консерватизм ТФР- $\beta 1$  - ці білки у людини і бика ідентичні, а мишачий відрізняється одним амінокислотним залишком. Виявлено три гени, які кодують цей цитокін. ТФР- $\beta 1$  і ТФР- $\beta 2$  відрізняються певною мірою за структурою, але в прояві функціональної активності відмінності не виявлено. Гени ТФР- $\beta$  знаходяться в 19-й хромосомі.

Клітинами-продуцентами є широкий набір клітин і тканин - активовані Т-лімфоцити, макрофаги, тромбоцити, клітини нирок і плаценти тощо.

Рецептори до ТФР- $\beta$  виявлено на тих самих клітинах, які його секретують, що свідчить про можливість його аутокринної дії. Відомо три типи рецепторів до ТФР- $\beta$  - два високоафінні та низько-афінний, які зв'язують усі три ізоформи цього цитокину і мають молекулярну масу відповідно 55, 80 і 250-350 кД.

ТФР- $\beta$  має широкий спектр біологічної дії. Він викликає *in vitro* трансформацію фібробластів, супресує проліферацію Т- і В-клітин, інгібує утворення цитотоксичних Т-лімфоцитів і активацію макрофагів та ПМЯЛ. Отже, він діє антизапально, і справді, у мишей, які позбавлені гена ТФР- $\beta$ , розвиваються неконтрольовані запальні процеси. Разом з тим ТФР- $\beta$  відіграє важливу роль у розвитку гуморальної імунної відповіді — він переключає біосинтез імуноглобулінів на ІgА-ізотип. Він здатний індукувати ріст судин, а також виявляти *in vitro* антипроліферативну активність відносно ендотеліальних, епітеліальних і ранніх стовбурових гемопоетичних клітин.

ТФР- $\beta$  визначають за його здатністю гальмувати ріст клітин лінії MV-1-Lu.

## 9.4. ЦИТОТОКСИЧНІ ФАКТОРИ



**Фактори некрозу пухлин та інші цитотоксичні фактори.** Важливими гуморальними факторами неспецифічної резистентності є фактори некрозу пухлин — ФНП- $\alpha$  і ФНП- $\beta$  (лімфотоксин). Вони здатні лізувати великий набір пухлинних клітин *in vitro* та *in vivo*. Нещодавно виявлено ще один член цієї родини - мембранний лімфотоксин ЛТ $\beta$ , а ФНП- $\beta$  (ЛТ) почали називати ЛТ $\alpha$ . Крім розчинної форми лімфотоксину а існує ще мембранозв'язана його форма. Всі три представники родини факторів некрозу пухлин мають багато спільних ознак - спричинюють подібний біологічний ефект - цитоліз пухлинних клітин, мають загальні рецептори на чутливих клітинах, гомологію на 34 %, гени всіх трьох факторів розміщені тандемно в хромосомі 6. Всі три фактори гомологічні з Fas-лігандом, мембранними молекулами CD30 і CD40, фактором росту нервів і створюють особливу родину білків, для яких на чутливих клітинах існують дві форми спільних рецепторів - gp55 і gp75. Слід зазначити, що Fas-ліганд індукуює апоптоз і виявляється в gp55, але не в gp75. ЛТ $\beta$  має особливий рецептор на стромальних клітинах лімфоїдних органів, який сприймає сигнал від мембранного ЛТ.

ФНП- $\alpha$  продукується моноцитами, макрофагами, ендотеліоцитами, мастоцитами, клітинами нейроглії і в окремих випадках - Т- і В-лімфоцитами і має 157 амінокислотних залишків з молекулярною масою 17 кД. Основними індукторами ФНП- $\alpha$  є мікроорганізми, їхні продукти життєдіяльності та інші фактори, що активують фагоцити.

Основними продуцентами ФНП- $\beta$  є Т-лімфоцити - як CD4, так і СБ8. ФНП- $\beta$  має молекулярну масу близько 20 кД і 171 амінокислотний залишок. Індукторами ФНП- $\beta$  є специфічні антигени або мітогени.

ФНП- $\alpha$  і ФНП- $\beta$  різняться за швидкістю їх секреції - ФНП- $\alpha$  секретується вже через 40 хв після стимуляції, а ФНП- $\beta$  - тільки через 2-3 доби після дії на Т-клітини специфічних антигенів або мітогенів.

У сироватці крові здорових людей ні ФНП- $\alpha$ , ні ФНП- $\beta$  не виявляються. Проте під час інфекційних захворювань, онкозахворювань та деяких неінфекційних патологій у сироватці крові з'являються ФНП.

Спектр біологічної дії ФНП дуже широкий. Основні - це лізис пухлинних, трансформованих та вірусінфікованих клітин і регуляція багатьох функцій організму. Цитотоксична активність ФНП проявляється у двох формах - індукції апоптозу та індукції на клітинній мембрані цитоцидних факторів - активних форм кисню, азоту, супероксид-радикалів. ФНП- $\alpha$  бере активну участь у здійсненні цитоцидної функції НК і ЛАК-клітин. Дія ФНП спрямована в основному на змінені (трансформовані) й пухлинні клітини. Проте не всі пухлини *in vitro* і не всі лінії культивованих пухлинних клітин чутливі до дії ФНП. Деякі пухлини та лінії клітин стійкі до цієї дії. Попередня обробка таких клітин  $\gamma$ -ІФНОм надає їм чутливості до ФНП, і вони лізуються ними. Ос-

новним механізмом підвищення цитоцидної активності ФНП ІФНами є підсилення ними експресії рецепторів до ФНП на пухлинних клітинах.

Під час взаємодії з пухлинними клітинами ФНП здатні індукувати експресію на них антигенів гістосумісності класу I, що сприяє розпізнаванню їх ефекторними клітинами. Вони також можуть підвищувати проникність ендотелію судин, що зумовлює збільшення міграції ефекторних клітин до пухлин або до осередку запалення. ФНП також здатні активувати ефекторні клітини (природні кілери, макрофаги, поліморфноядерні лейкоцити), які можуть руйнувати пухлинні клітини. Цитотоксична дія ФНП зумовлена в основному деградацією ДНК і порушенням функціонування мітохондрій. Слід зазначити, що до дії факторів некрозу пухлин чутливі й нормальні клітини, однак ця чутливість виражена в них набагато менше.

Показано, що тумороцидна активність макрофагів тісно пов'язана з наявністю в клітинній мембрані ФНП- $\alpha$ , кількість якого різко збільшується після обробки ІФН- $\gamma$ , що призводить до значного зростання цитоцидної активності. ФНП- $\alpha$  має противірусну активність - він гальмує репродукування деяких вірусів. Ця дія, можливо, зумовлена індукуванням ІФН- $\gamma$ , оскільки моноклональні антитіла до останнього відміняють антивірусну дію ФНП- $\alpha$ .

ФНП- $\alpha$  гальмує також ріст рикетсій, особливо під впливом ІФН- $\gamma$ , стимулює кандидоцидну активність поліморфно-ядерних лейкоцитів. Крім того, ФНП- $\alpha$  може діяти як ростовий фактор, як індуктор диференціювання пухлинних клітин, регулювати функції нейтрофілів, еозинофілів, макрофагів, Т- і В-лімфоцитів, ендотелію судин, стимулювати каскад арахідонової кислоти з утворенням простагландинів і лейкотрієнів, спричинювати хемотаксис нейтрофілів і стимулювати їх адгезію до ендотелію судин, підвищувати температуру, зумовлювати експресію рецепторів до інтерлейкінів.

ФНП відіграють важливу регульовальну роль у функціонуванні захисних сил організму. Так, вони індукують продукування імунокомпетентними клітинами багатьох біологічно активних речовин, що регулюють функціональну активність певних ланок захисних сил організму. Це ІЛ-1, ІЛ-6, КСФ-ГМ, простагландин Е2, ІФНи. Крім того, деякі біологічно активні речовини (ІФН- $\gamma$ , ІЛ-1, КСФ-1), що виробляються імунокомпетентними клітинами, індукують синтез ФНП.

У багатьох випадках дія фактора некрозу пухлин більш виражена при взаємодії з ІФН- $\gamma$  та з ІЛ-1. Разом з ІЛ-1 вони стимулюють проліферацію макрофагів, продукування фібробластами людини фактора стимуляції виникнення колоній гра-нулоцитів-макрофагів і гранулоцитів, транс-модифікують рецептори епідермального фактора росту на фібробластах.

Рекомбінантний ФНП- $\alpha$  має радіопротекторні властивості, викликає пірогенний ефект, діючи безпосередньо на органи-мішені за межами гематоенцефалічного бар'єра.

Отже, ФНП є одними з первинних медіаторів у патогенезі різних патологічних процесів - ушкодження, запалення, в захисних реакціях організму й тканинного гомеостазу. Біологічні ефекти ФНП можуть бути захисними або ушкоджувальними залежно від взаємодії з іншими медіаторами, клітинного оточення, концентрації й тривалості взаємодії з клітинами.

Слід мати на увазі, що ФНП мають також низку токсичних ефектів на рівні організму, що стримує їх клінічне застосування. Так, вони є основними медіаторами летального шоку при експериментальному введенні бактеріального ендотоксину, сприяють резорбції хряща й кісток, що зумовлює їх патогенетичну роль при деяких захворюваннях.

**Онкостатин М** - глікопротеїн, який містить 227 амінокислотних залишків з молекулярною масою 16 кД, має широкий спектр біологічної дії. Він здатний гальмувати ріст клітин пухлинних ліній та солідних пухлин, моделювати ріст і диференціювання гемопоетичних клітин, сприяти утворенню ІЛ-6, гострозапальних білків, регулювати різноманітну функціональну активність цитокінів родини ІЛ-6, що продукуються макрофагами й моноцитами.

Специфічні рецептори до онкостатину М виявлено на різних клітинах. Встановлено, що до складу рецептора для онкостатину М входить компонент CD130, який є спільним для ІЛ-6, ІЛ-11, ЛІФ, та цитокінеспецифічний ланцюг OSMR- $\beta$ . Онкостатин М зв'язується з рецептором ЛІФ й активує його, тоді як ціла молекула ЛІФ не може зв'язатися з рецептором онкостатину М.

**Лейкемієінгібівний фактор (ЛІФ).** ЛІФ, або фактор інгібування мієлоїдної лейкемії, має понад 10 назв. Це глікозилований білок із молекулярною масою 58 кД і 179 амінокислотними залишками. Виділяють ЛІФ-А і ЛІФ-В, які відрізняються за ступенем глікозилювання, але останній не впливає на біологічну активність фактора. ЛІФ людини і мишей мають 79 % гомології за амінокислотними залишками. Існують фіксовані на клітинах, розчинні та зв'язані з позаклітинним матриксом ЛІФ.

Ген ЛІФ містить три екзони. Він розміщений у хромосомі 22q12 людини недалеко від гена онкостатину М. Ген ЛІФ мишей знаходиться в хромосомі 11 і має близько 75 % гомології з аналогічним геном людини.

ЛІФ продукується активованими моноцитами і фібробластами, антигенстимульованими Т-клітинами та мітогенстимульованими спленоцитами, асцитними клітинами Кребса й Ерліха. Фібробласти легень людини продукують ЛІФ постійно. Синтез ЛІФ індукують ІЛ-1 $\alpha$ , Т-

ростовий фактор В. Рецептор ЛІФ складається з двох компонентів. Один із них, глікопротеїн gp130, є також компонентом цитокінів субродини ІЛ-6 і функціонує як сигнальна трансдуквальна одиниця рецептора. Альфа-ланцюг відповідає за зв'язування рецептора з цитокіном. Із сироватки мишей виділено глікопротеїн з молекулярною масою 90 кД, який специфічно зв'язує ЛІФ і позначається як ЛІФ Р-В, або ЛІФ-зв'язувальний протеїн. Він є розчинною формою  $\alpha$ -ланцюга клітинного рецептора й, очевидно, є інгібітором зв'язування цитокіну з клітинними рецепторами. На моноцитах і макрофагах та їх попередниках експресується приблизно 300-500 високоафінних рецепторів на одну клітину. ЛІФ людини з великою афінністю може зв'язувати рецептори ЛІФ мишей, але останні не здатні зв'язувати ЛІФ людини. Біологічна активність ЛІФ деякою мірою зумовлена його здатністю зв'язуватися з позаклітинним матриксом і діяти на сусідні клітини. Ряд фактів свідчать про різну біологічну активність розчинних і мембранозв'язаних форм ЛІФ. ЛІФ гальмує ріст багатьох міелоїдних лейкоцитів та індукує їх диференціювання на макрофаги. ЛІФ не виявляє колонієстимулювальну активність для ранніх CD34-клітин кісткового мозку і не впливає на колонієутворення, що індукуються ГМ-КСФ, Г-КСФ, М-КСФ, ІЛ-3. Це свідчить про те, що ЛІФ регулює розвиток уже досить зрілих гемопоетичних клітин. Нормальні клітини стромы кісткового мозку при культивуванні постійно експресують ЛІФ і при дії ІЛ-1, ТФР- $\beta$  і ФНП- $\alpha$  значно збільшують рівень мРНК ЛІФ. ЛІФ сам або разом з іншими цитокинами в кістковомозковому мікрооточенні можуть впливати на нормальні й малігнізовані гемопоетичні процеси. ЛІФ інгібує проліферацію ендотеліальних клітин і утворення адипоцитів, стимулює накопичення остеобластів у кістковому мозку, бере участь у рості й розвитку нервової системи, регулює ріст і розвиток трофобластів та ембріональних стовбурових клітин. Він у процесі диференціювання дуже рано експресується на ембріональних стовбурових клітинах. Експресія ЛІФ на клітинах стінки матки є показником закріплення бластоциста і може регулювати ріст бластоциста й імплантованого ембріона. ЛІФ необхідний для виживання нормального пулу стовбурових клітин, але він не впливає на кінцеве їх диференціювання. ЛІФ є важливим фактором для культивування ембріональних клітин та розмноження трансгенних тварин. ЛІФ індукує синтез білків гострої фази гепатоцитами, відіграє важливу роль у функціонуванні епітелію тимуса, що сприяє Т-клітинному дозріванню.

У трансгенних мишей, позбавлених гена ЛІФ, відсутні мезодермальні клітини, інгібується гастрואляція ембріона, що супроводжується летальністю. Видалення гена ЛІФ у Т-клітинах індукуює порушення функції тимуса і лімфовузлів. Епітелій тимуса значно дезорганізується, кортикальні Т-лімфоцити (CD4 і CD8) із тимуса зникають, але число В-лімфоцитарних фолікулів збільшується. У тварин, позбавлених гена

ЛІФ, різко зменшується число стовбурових клітин у селезінці й кістковому мозку. Виявляють ЛІФ за допомогою ліній клітин, які залежать або відповідають на ЛІФ (Da, M1, NBEL), в ELISA-тестах, у полімеразно-ланцюговій реакції.

## 9.5. ХЕМОКІНИ

До хемокінів належить велика група цитокінів, які регулюють міграцію лейкоцитів. Загальну характеристику їх наведено в розд. 1. Крім регулювання руху лейкоцитів багато хемокінів беруть участь у регуляції запалення та аутоімунних процесів, росту й диференціювання імунокомпетентних та інших клітин, у тому числі й пухлинних, тощо. Кілька конститутивних рецепторів хемокінів експресуються специфічно при деяких захворюваннях (СНІД, онкозахворювання, бронхіальна астма). Експресія низки хемокінів може бути пов'язана з певними захворюваннями. Так, у мишей, позбавлених гена хемокіну CCL3 (MIP-1), вірус Коксаки В3 не здатний індукувати міокардит. Значну роль відіграють хемокіни в розвитку атеросклерозу. На певну увагу заслуговують хемокіни CXCL (1-3), вони ж GRO $\alpha$  (MSGA- $\alpha$ , NAP-3), GRO $\beta$  (MSGA- $\beta$ , MIP-2 $\alpha$ , HSF), GRO $\gamma$  (MIP-2 $\beta$ ).

За амінокислотним складом вони на 90 % ідентичні. Кожний фактор містить 73 амінокислотних залишки. Гени розміщені в хромосомі 4q21 і складаються з чотирьох екзонів. У мишей і щурів виявлені також подібні білки (відповідно KC і CIN), які мають гомологію з CXCL (1-3)-факторами людини. Всі три форми CXCL-факторів за біологічною активністю подібні до CXCL 8 і зв'язуються з тим самим рецептором (CXCR 2), що й CXCL 8, але з різною афінністю. Хемокіни CXCL (1-3) продукуються багатьма клітинами - різними лініями пухлинних клітин, моноцитами периферичної крові, фібробластами, астроцитами. Вони експресуються на моноцитах після їх активації, на фібробластах, на ендотеліальних, синовіальних та деяких лініях пухлинних клітин. Культивовані пухлинні клітини продукують повноцінні за довжиною CXCL (1-3) білки, тоді як моноцити периферичної крові продукують переважно лише термінальні ділянки, які в 30 разів активніші за цілі молекули цитокінів.

Хемокіни CXCL (1-3) належать до прозапальних і рістрегулювальних білків. Вони є сильними хемоатрактантами для нейтрофілів, підвищують їх де грануляцію і вихід лізосом, стимулюють ріст фібробластів та ендотеліальних клітин, є аутостимуляторними ростовими факторами меланомних клітин (аутокринна активність). ІЛ-1, ІЛ-6 і ФНП стимулюють експресію GRO-білків приблизно в 100 разів.

## ВИСНОВКИ

До цитокінів належить велика кількість біологічно активних речовин, які продукуються переважно клітинами імунної системи, активованими різними факторами екзо- й ендогенного походження, а також соматичними клітинами (епітеліальними, фібробластними, ендотеліальними, нервовими та ін.).

Цитокіни мають широкий спектр біологічної дії: індукція формування та регуляції імунної відповіді, активація або гальмування функцій різних клітин, пряма участь в антиінфекційному та протипухлинному захисті. Слід зазначити, що при деяких захворюваннях може відбуватися перепродукування окремих цитокінів, що може бути причиною розладу регуляторних процесів, погіршення стану хворого і навіть летального кінця.

Отримано рекомбінантні форми більшості цитокінів, ряд цитокінів знайшли практичне застосування при лікуванні інфекційних та онкологічних захворювань.

### **Контрольні запитання**

1. Що таке цитокіни? Які види цитокінів вам відомі?
2. Які механізми дії цитокінів?
3. Які цитокіни належать до гемопоетичних і яка їхня роль в онтогенезі окремих популяцій клітин імунної системи?
4. Яка роль цитокінів у формуванні запальних процесів?
5. Яка роль цитокінів у протипухлинному захисті?
6. Схарактеризуйте властивості та функціональну активність ІЛ-1.
7. Яка роль ІЛ-2 у захисних реакціях організму?
8. Які особливості функціональної активності ІЛ-6 у формуванні протективних реакцій організму?
9. Які властивості має ІЛ-12 і яка його роль у розвитку імунної відповіді?