

УДК 578 571.27 616.9-002

DOI: 10.14427/jipai.2020.3.6

Внутриклеточный рецептор TLR3: структура и сигналинг

И.Р. Прохоренко¹, Н.И. Косякова²¹ ФГБУ «Институт фундаментальных проблем биологии РАН ФИЦ ПНЦБИ РАН», г. Пущино, Московская обл.² ФГАУЗ «Больница Пущинского научного центра РАН», г. Пущино, Московская обл.

Intracellular receptor TLR3: structure and signaling

I.R. Prokhorenko¹, N.I. Kosyakova²¹ Institute of Basic Biological Problems of Russian Academy of Sciences, Federal Research Center, Pushchino Scientific Center for Biological Research RAS, Pushchino, Russia² Hospital of Pushchino Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

Аннотация

Рецептор TLR3 служит активатором внутриклеточной сигнальной системы в ответ на многие вирусы. В обзоре представлены данные по структуре, локализации и механизмам активации рецептора TLR3 вирусной двухцепочечной РНК (dsRNA) или её синтетическим аналогом – полиинозиновой-полицитидиловой кислотой (poly(I:C)).

Ключевые слова

TLR3, dsRNA, poly(I:C), эндосома, сигналинг

Summary

The TLR3 receptor serves as an activator of intracellular signaling system for response of many viruses. The review presents data on the structure, localization and mechanisms of activation of the TLR3 receptor by viral double-stranded RNA (dsRNA) or its synthetic analog – polyinosine-polycytidylic acid (poly(I:C)).

Keywords

TLR3, dsRNA, poly(I:C), endosome, signaling

Введение

Во время вирусной инфекции продуцируется двухцепочечная RNA (dsRNA) либо как промежуточное соединение, либо как часть RNA генома вируса [1]. DNA-вирусы могут продуцировать dsRNA транскрипты, которые взаимодействуют с Толл-рецептором 3 (TLR3). Кроме того, dsRNA может высвобождаться из погибших клеток и активировать TLR3 [2]. TLR3 присутствует в клетках, которые непосредственно участвуют в адаптивных и других ответах [3, 4]. В 60-х годах было обнаружено, что нуклеиновые кислоты, такие как двухцепочечная RNA и синтетическая poly(I:C), могут индуцировать синтез интерферонов (IFN). IFN- β активирует 2-5-олигонуклеотид синтазы, протеинкиназу R, Mx GTP-азу и P56, которые проявляют антивирусный эффект, подавляя синтез белка и

репликацию вируса. Во время репликации большинство RNA-вирусов экспрессируют dsRNA в качестве интермедиата в цикле удвоения или как часть вирусного генома. Высвободившаяся внеклеточная dsRNA интернализуется посредством эндоцитоза, опосредованного клатрином. Много лет спустя было установлено, что двухцепочечная RNA связывается с TLR3, который является критическим сенсором вирусной dsRNA. На TLR3-дефицитных мышах, сенсibilizированных D-галактозамином, показана критическая роль TLR3 в распознавании poly(I:C). Мыши оказались резистентными к летальным эффектам poly(I:C) и нарабатывали значительно меньше провоспалительных цитокинов [5]. Следует отметить, что при вирусной инфекции роль TLR3 остаётся противоречивой и зависит от природы вируса [6].

TLR3 связывает длинную dsRNA, которая в норме отсутствует в цитозоле клеток и появление которой является индикатором чужеродных молекул [7]. dsRNA включается в активацию иммунной системы через рецептор TLR3. В качестве лиганда TLR3 также распознаёт высвобождаемую из некротических клеток одноцепочечную mRNA, которая содержит двухцепочечные участки [8, 9].

Синтетическая полиинозиновая кислота: полицитидиловая кислота – poly(I:C) вызывает ответы клеток, аналогичные ответам на dsRNA. Являясь лигандом TLR3, poly(I:C) опосредует адьювантные эффекты, усиливая ответы антиген-специфических CD8⁺T-клеток [10], кросс-презентацию антигена дендритными клетками [11] и непосредственно активирует эффекторные CD8⁺T-клетки и естественные киллеры (NK-клетки) к повышенной выработке и высвобождению интерферонов. В свою очередь, IFN препятствуют пролиферации и индуцируют апоптоз некоторых типов раковых клеток [12, 13].

Poly(I:C) распознаётся как эндосомальным рецептором TLR3, так и цитозольными рецепторами, включая RNA геликазы, такие как RIG-I и ассоциированный с дифференциацией меланомы ген 5 (MDA5). В индуцированных poly(I:C) иммунных ответах *in vivo* этот ген является критическим в индукции IFN- γ , тогда как TLR3 отвечает за высвобождение IL-12p40 [14]. Способность TLR3 запускать синтез IFN первого типа сделала его привлекательной мишенью в терапии рака, а poly(I:C) эффективным индуктором IFN [15]. TLR3 известен также как медиатор развития предракового воспаления, способствующего выживанию и пролиферации раковых клеток [16]. Однако TLR3 сигналинг многолик и может как тормозить, так и ускорять развитие рака [17].

Локализация TLR3 на разных типах клеток

Экспрессия и локализация TLR3 регулируются специфически в зависимости от типа клеток. TLR3 широко экспрессируется на иммунных клетках, таких как макрофаги и миелоидные дендритные клетки [18], на CD8⁺T-лимфоцитах [19], NK-клетках [20]; он экспрессируется также в нейронах [21]. TLR3 был детектирован на поверхности эпителиальных клеток A549 и бронхиальных эпителиальных клеток BEAS-2B человека при инфекциях респираторно-синцитиальным вирусом RSV и риновирусом RV, соответственно [22–24]. Если в миелоидных клетках иммунодефицитных состояний (iDCs) и в CD11c⁺

миелоидных клетках крови TLR3 локализуется внутриклеточно [25], то в фибробластах человека TLR3 локализуется в плазматической мембране и во внутриклеточных компартментах [26]. Предполагается, что эндосомальная активация TLR3 более сильная, чем активация TLR3 на поверхности клетки. Это может быть связано с меньшим количеством рецепторов на поверхности клетки или из-за клеточной локализации TRIF адаптера (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β) в спекл-подобных структурах, содержащих RIP1 – белок, взаимодействующий с рецептором, и NAP1 – белок, ассоциированный с киназой, активирующей NF- κ B [27].

В лейкоцитах (CD14, CD8, CD19 в моноцитах и гранулоцитах) методом ПЦР были исследованы уровни экспрессии mRNA известных Толл-рецепторов и некоторых значимых для функционирования TLR белков, таких как MD-1, MD-2, CD14, MyD88. Установлено, что CD14⁺ клетки экспрессируют более низкие в сравнении с CD14⁻клетками уровни mRNA TLR3, TLR9 и TLR10, но более высокие уровни mRNA TLR2, TLR4, TLR5 и TLR5. Интересно, что активация лейкоцитов посредством ЛПС повышает уровни mRNA рецепторов TLR 1–8, а также mRNA MyD88 [28]. Моноциты периферической крови человека не экспрессируют TLR3 [29]. Однако, преактивация моноцитов периферической крови или THP-1 клеток бактериальным ЛПС усиливает их ответ на опосредованную poly(I:C) экспрессию противовирусных цитокинов, таких как TNF- α и IFN- β [30]. Авторы предположили, что в моноцитах человека эта активность ЛПС опосредуется через усиление экспрессии TLR3 по MyD88-IRAK-TRAF6-NF- κ B сигнальному пути, зависимому от TLR4. Кристаллографические исследования объяснили на молекулярном уровне, каким образом TLR3 узнаёт dsRNA [31]. Исходя из кристаллической структуры, общие очертания TLR3 напоминают очертания димера CD14. Это указывает на то, что TLR3 подобно TLR4 может связываться с CD14 [32]. Экспериментально было показано, что TLR3 может сопреципитировать с CD14 независимо от poly(I:C). Более того, TLR3 и CD14 совместно обнаруживались в различных внутриклеточных компартментах, включая эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи. CD14 играл существенную роль для вхождения poly(I:C) в эндосомальный и лизосомальный компартменты клетки и усиления TLR3 сигналинга [33]. Результаты исследований показали, что эндоцитоз и подкисление эндосомы важны для усиленного TLR3 сигналинга, индуцирован-

ного poly(I:C). Самый сильный ответ на dsRNA достигается при значениях рН между 5.7 и 6.7, что соответствует диапазону рН в эндосоме [34].

Молекулярная организация TLR3

TLR3 является трансмембранным рецептором 1-го типа, состоящим из N-терминального внеклеточного домена (ECD), единственной трансмембранной спирали и C-терминального цитоплазматического сигнального домена семейства TIR (Toll/IL-1 рецептор). ECD локализован внутри эндосомы, в которой, встретившись и связавшись с dsRNA, трансдуцирует сигналы, инициирующие провоспалительные и адаптивные противовирусные ответы [31].

ECD можно описать как соленоид, состоящий из 23-х обогащённых лейцином повторностей (LRR) спиралей, наклонённых в форме подковы, завершающихся на N- и C-терминальных концах специализированными структурами, известными как LRR-NT и LRR-CT домены, соответственно. Консервативные аспарагиновые остатки формируют водородные связи, стабилизирующие структуру соленоида [32; 35]. N-терминальный внеклеточный домен TLR3 ECD «декорирован» 15-ю N-связанными глюканами и имеет одну поверхность, не покрытую глюканами, свободную для взаимодействия с dsRNA.

Участок N-терминального взаимодействия включает компоненты LRR-NT и 1–3 LRR, содержащие His39, His60, Gln62, Arg64, Phe84, His108, Glu110 и Ser112 (представлены идентичные АК-остатки для мышей и человека). Критическими для взаимодействия являются консервативные His39, His60 и His108. C-терминальная часть включает 19-21 компоненты LRR, состоящие из Asn515, Asn517, His539, Asn541, Arg544, и Ser571. Два эктодомена TLR3 образуют interface на C-терминальном конце LRR через Asp648, Glu652, Thr679, Pro680, and His682. Мутационный анализ TLR3 человека показал, что dsRNA взаимодействует с аминокислотами, His39, His60, His108, His539 и Asn541, а участок C-терминальной димеризации является критическим как для связывания dsRNA, так и для TLR3 сигналинга [31].

LRR домен, обогащённый лейциновыми повторностями, опосредует связывание лиганда, тогда как цитоплазматический TIR домен индуцирует внутриклеточный сигналинг. Трансмембранный домен TLR3 состоит из α -спирали, пронизывающей мембрану, а TIR – из пяти β -листов, окружённых α -спиралями. Эти два структурных элемента связаны петлями, где BB-петля, связывающая β B-петлю с α B-петлей,

взаимодействует с адаптерными молекулами TLR. В отличие от других TLR в TLR3 все консервативные пролиновые остатки в BB-петле замещены на аланиновые. Значимость этого АК-остатка доказана неспособностью Ala795His мутанта TLR3 связываться с адаптерным TRIF-белком [36]. Внеклеточный домен TLR3, обеспечивающий связывание с лигандом, состоит из 23 tandemно организованных остатков лейцина LRR. Семнадцать из 23-х LRR включают повторы, состоящие из XL2XXL5XL7XXN10XL12XX XXF20XXL23X, где L представляет облигатные гидрофобные остатки, в которых превалирует лейцин, F – консервативный фенилаланин, а N – консервативный аспарагин. Оставшиеся некононические LRR содержат включения, которые формируют большие вывернутые петли LRR12 и LRR20 [32, 35]. В дендритных клетках iDCs (monocyte-derived iDCs) TLR3 локализован в специфических внутриклеточных органеллах, в которых инициируется TLR3 сигналинг. Цитоплазматический участок (tail) TLR3 состоит из 179 АК-остатков (725-904), включая TIR-домен (756-904). Внутриклеточная локализация TLR3 обеспечивается АК 730-755 линкерного участка. В лиганд-индуцированной активации NF- κ B и активации промотора IFN- β существенную роль играют аминокислотные остатки Phe732, Leu742 и Gly743, которые расположены в цитоплазматической линкерной области рецептора TLR3. Этот линкер регулирует удержание рецептора внутри органеллы и сигналинг, который запускается TLR3 [37].

Внутриклеточная активация TLR3

Врождённый противовирусный иммунитет, включающий интерфероны 1-го типа (IFN- α/β) и провоспалительный ответ цитокинов (например, TNF, IL-6, IL-12), необходим, чтобы инициировать адаптивный иммунный ответ для клиренса вируса [38; 39]. Дендритные клетки не экспрессируют TLR3 на своей поверхности, однако, добавленная экзогенно dsRNA активирует их к продукции IFN- α/β and IL-12p70, подтверждая, что после интернализации dsRNA встречается с внутриклеточным TLR3 и активирует TLR3 сигналинг внутри клетки [34]. Эктодомен TLR3 полностью регулирует специфичность лиганда к рецептору, а цитозольный TIR домен определяет роль сигнальных адаптеров, а также потенцирование активации рецептора с помощью UNC93B1. Именно эктодомен, а не трансмембранный сегмент или цитозольный домен, определяет локализацию TLR3 в плазматической

мембране. Обобщая, можно заключить, что эндцитоз лиганда также, как подкисление эндосомы, значимы для сильного сигналинга TLR3 [40]. Локализация, трафик и сигналинг TLR3 в эндосому зависят от вспомогательного белка Unc93B1 [41]. В нестимулированных клетках Unc93B1 локализован в эндоплазматическом ретикулуме (ER)-Гольджи и лизосомах. Он является резидентным, пронизывающим ER белком, взаимодействующим с трансмембранным сегментом TLR3 [42]. UNC93B1 отвечает за трафик дифференциально гликозилированного TLR3 и за праймирование клеток нуклеиновой кислотой [43].

Являясь эндосомальным рецептором, TLR3, распознав вирусную RNA, запускает в инфицированных клетках активацию регуляторного фактора интерферона 3 IRF-3 и ядерного фактора NF-κB. При вирусной инфекции TLR3 перемещается по внутриклеточному трафику из эндоплазматического ретикулума (ER)-Гольджи в эндолизосомальный компартмент (EL), который формируется после слияния поздней лизосомы (LE) с лизосомой [44–46]. Находясь в люмене поздней лизосомы, TLR3, определив dsRNA, активирует входжение адаптерного TRIF белка в цитозоль к своему хвосту, а также сборку ключевых сигнальных комплексов, которые активируют IRF3 и NF-κB [46; 47]. На клеточном уровне показано, что макрофаги, в которых подавлен синтез адаптерного TRIF белка, более восприимчивы к противовирусной вакцине [48]. Пространственная регуляция компартиментализации эндосомального TLR3 является критической в его активации и реализации врожденной иммунной функции. В одной клетке могут активироваться несколько эндосомальных TLR (например, TLR3 и TLR7). Для созревания ранней эндосомы (EE), содержащей TLR3, в позднюю лизосому (LE) необходим важный клеточный фактор S100A9, который является Са-зависимым белком и экспрессируется миелоидными клетками [49]. Этот белок не только участвует в образовании LE, но также включается в регуляцию активации TLR3. В экспериментах на клетках HEK293 показано, что активация TLR3 посредством poly(I:C) направляет S100A9 в TLR3-положительные компартменты и запускает взаимодействие S100A9 с TLR3; т.е. после активации оба белка оказываются в одном клеточном компартменте. Иными словами, S100A9 включается в созревание TLR3-содержащей лизосомы (EE) в позднюю TLR3-содержащую лизосому (LE). Значимость трафика TLR3 в LE подтверждена в экспериментах, показавших отсутствие TLR3 в поздней

лизосоме клеток S100A9-КО, после их активации poly(I:C). Физиологическая роль белка S100A9 подтверждена отсутствием IFN-β и TNF-α в сыворотке S100A9-КО мышей, которым интраперитонеально был введен poly(I:C). На основании этих результатов авторы заключили, что S100A9 является регулятором TLR3-сигналинга [50].

TLR3 узнаёт dsRNA длиннее, чем 40 по (пар оснований, bp). Эктодомены двух молекул TLR3 связывают одну молекулу dsRNA таким образом, что цитоплазматические С-терминальные сигнальные домены примыкают друг к другу. Каждый эктодомен TLR3 связывает dsRNA в двух местах, локализованных на противоположных концах TLR3. Таким образом, межмолекулярный контакт между двумя TLR3-ECD С-терминальными доменами координирует и стабилизирует димер. Такая форма TLR3-ECD не изменяется при связывании с dsRNA [51]. TLR3 взаимодействует с рибозофосфатной основой dsRNA и не требует специфического сиквенса RNA. В физиологических условиях в отсутствие длинной dsRN TLR3 не активен. Связывание dsRNA с TLR3 индуцирует его димеризацию, вовлечение адаптерной молекулы TRIF, содержащей TIR-домен, и последующую активацию ядерного фактора транскрипции NF-κB и интерферон регуляторного фактора IRF3. Это приводит к продукции провоспалительных цитокинов и IFN [52]. В растворе TLR3-ECD представляет мономер. Для связывания с dsRNA он формирует димер, причём, чтобы связаться в димер и индуцировать сигналинг, длина dsRNA, как отмечалось выше, должна быть 40–50 по. Предполагается, что эктодомен играет существенную роль в запуске димеризации, вызванной связыванием с лигандом [53]. Связывание dsRNA с TLR3-ECD является первой ключевой стадией в TLR3 сигналинге, а сборка TLR3 в стабильный димер на один лиганд dsRNA необходима для сигналинга.

Внутриклеточный TLR3 сигналинг

Особенностью клеточных ответов, опосредованных TLR3, является низкий уровень провоспалительных цитокинов, нарабатываемых клетками в сравнении с другими рецепторами. Однако активация TLR3 индуцирует очень сильную секрецию IFN-β клетками, а также экспрессию костимуляторных молекул [54]. При активации TIR домен рецептора TLR3 связывает TRIF – адаптерный белок, содержащий TIR-домен, который опосредовано через ряд киназ активирует транскрипционные факторы NF-κB, IRF3 и активирующий белок AP-1. Нокаутные по

TRIF мыши дефектно отвечают на poly(I:C). Это указывает на то, что TRIF значим для опосредуемых TLR3 сигнальных путей [36; 55]. Чтобы опосредовать IRF3- активацию, TRIF связывается с комплексом ТВК-IKK ϵ через адаптерную NF- κ B-активирующую киназу (NAK), которая ассоциирована с белком NAP1 (Nucleosome assembly protein 1). RNA интерференция NAP1 приводит к недостаточной, опосредованной poly(I:C) активации IRF3 и, как следствие, к продукции IFN- β [56].

TLR3 через альтернативный адаптор, который идентифицирован как молекула, содержащая Толл-интерлейкин-1 рецепторный домен (TICAM)-1, связывающая TIR-домен TLR3 и активирующая промотор IFN- β в ответ на poly(I:C). TICAM-1 также может играть роль в других TLR-IFN- β сигнальных путях, которые формируют часть иммунных ответов клетки, независимых от MyD88 [36; 55]. TLR3-TICAM-1 сигналинг приводит к различным ответам клеток, включая наработку интерферонов 1-го типа и провоспалительных цитокинов, созревание дендритных клеток [57], кросс-презентацию экзогенных антигенов для пролиферации CD8⁺T-клеток [58], активацию NK-клеток [59] и апоптоз [60].

TLR3 через TRIF/TICAM-1 активирует ядерный фактор NF- κ B и IFN-регуляторный фактор 3 (IRF3). Последний является ключевым регуляторным фактором ответов клеток на вирусы, включая секрецию IFN- β . Молекулярной базой TRIF/TICAM-1 сигнального пути для TLR3 может быть присутствие аланиновых остатков в ключевой области цитоплазматического домена TLR3. Все остальные TLR содержат в этой области домена остатки пролина и используют MyD88-сигнальный путь [61]. Анализ сигналинга в клетках крови TRIF-дефицитных мышей показал, что TLR3-зависимая активация транскрипционного фактора NF- κ B лигандом dsRNA является TRIF зависимой. Сигнальные механизмы, регулирующие эту активацию NF- κ B, вовлекают RIP-киназы и TRAF3, в противоположность другим TLR, использующих интерлейкин-1 рецептор-ассоциированные киназы (IRAK-белки). Активация ядерного фактора NF- κ B опосредует два различных сигнальных пути, расходящихся от TRIF: один через рецептор-связывающий белок 1 (RIP1), другой – через TRAF6 [62]. Исходно, до активации TLR3 dsRNA-лигандом, TRIF локализован с рецептором, но сразу после активации он диссоциирует и перераспределяется в спекл-подобные структуры, которые предположительно действуют как «распределители» для

последующего сигналинга. В эти же структуры вовлекаются киназа NAP1 (Nucleosome assembly protein), активирующая NF- κ B, и киназа ТВК1 (Serin/threonine-protein kinase), активирующая IRF-3 [63].

В инициации или регуляции сигналинга TLR3 играет роль фосфорилирование тирозинных остатков. TLR3 содержит в цитоплазматической хвостовой части пять тирозиновых остатков, два из которых (Tyr759 и Tyr858) фосфорилируются и вносят вклад в полную активацию IRF3 и зависимую от NF- κ B экспрессию генов [64]. Сигналы, генерируемые фосфорилированным Tyr858, приводят к активации ТВК1, который фосфорилирует IRF-3, вызывая димеризацию и транслокацию в ядро. Однако, чтобы простимулировать индукцию IRF3-зависимого репортерного гена необходим дополнительный сигнал от рецептора [65]. Фосфорилирование Tyr759 приводит к вовлечению фосфатидилинозитол-3 киназы (PI3K) и активации последующей Akt-киназы, которая необходима для осуществления полного фосфорилирования и активации IRF3 в ядре. В этой двухстадийной модели для полной активации IRF3 необходимы обе ветви фосфорилирования, одна через TRIF и ТВК1, а другая через PI3K. Подобный путь двухстадийной активации также реализуется и в активации NF- κ B. Оба тирозина 758 и 759 рецептора TLR3 необходимы и достаточны для полной активации NF- κ B и инициации разных, но комплементарных ветвей сигналинга [66]. Иными словами, фосфорилирование тирозина всегда конвергирует с TRIF-зависимым сигнальным путём, приводящим к экспрессии генов, зависящей от полной активации IRF3 или NF- κ B.

Заключение

TLR3 является критическим сигнальным рецептором, который активируется довольно широким спектром вирусов. Активация TLR3 сопровождается множеством внутриклеточных процессов, обеспечивающих максимальный ответ клетки на вирус синтезом как провоспалительных цитокинов, так и противовоспалительных интерферонов. Данный обзор позволяет глубже понять механизм взаимодействия вирусов с различными иммунокомпетентными клетками. Рассматриваются сложные пути передачи внутриклеточного сигнала, а также роль TLR3 в развитии патологических процессов. Знание событий, проходящих в клетке в ответ на вирус, может позволить создать новую успешную терапию для лечения вирусной инфекции.

Литература

- Jacobs B.L., Langland J.O. When two strands are better than one: the mediators and modulators of the cellular responses to doublestranded RNA. *Virology*. 1996; 219: 339–349. DOI: 10.1006/viro.1996.0259.
- Kariko K, Ni H., Capodici M. et al. mRNA is an endogenous ligand for Toll-like receptor 3. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 12542–12550. DOI: 10.1074/jbc.M310175200.
- Tabiasco J., Devevre E., Rufer N. et al. Human effector CD8+ T lymphocytes express TLR3 as a functional coreceptor. *J. Immunol.* 2006; 177: 8708–8713. DOI: 10.4049/jimmunol.177.12.8708.
- Wesch D., Beetz S., Oberg H.H. et al. 2006. Direct costimulatory effect of TLR3 ligand poly(I:C) on human $\gamma\delta$ T lymphocytes. *J. Immunol.* 2006; 176: 1348–1354. DOI: 10.4049/jimmunol.176.3.1348.
- Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R. et al. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature*. 2001; 413: 732–738. DOI: 10.1038/35099560.
- Edelmann K.H., Richardson-Burns S., Alexopoulou L. et al. Does Toll-like receptor 3 play a biological role in virus infections? *Virology*. 2004; 322: 231–238. DOI: 10.1016/j.virol.2004.01.033.
- Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006; 124: 783–801. DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.015.
- Kariko K, Ni H., Capodici J., Lamphier M. et al. mRNA is an endogenous ligand for Toll-like receptor 3. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 12542–12550. DOI: 10.1074/jbc.M310175200.
- Cavassani K.A., Ishii M., Wen H. et al. TLR3 is an endogenous sensor of tissue necrosis during acute inflammatory events. *J. Exp. Med.* 2008; 205: 2609–2621. DOI: 10.1084/jem.20081370.
- Cui Z., Qiu F. Synthetic double-stranded RNA poly(I:C) as a potent peptide vaccine adjuvant: therapeutic activity against human cervical cancer in a rodent model. *Cancer Immunol. Immunother.* 2006; 55: 1267–1279.
- Schulz O., Diebold S., Chen M. et al. Toll-like receptor 3 promotes cross-priming to virus-infected cells. *Nature*. 2005; 433: 887–892. DOI: 10.1038/nature03326.
- Tabiasco J., Devevre E., Rufer N. et al. Human effector CD8+ T lymphocytes express TLR3 as a functional coreceptor. *J. Immunol.* 2006; 177: 8708–8713. DOI: 10.4049/jimmunol.177.12.8708.
- Salaun B., Coste I., Rissoan M. C. et al. TLR3 can directly trigger apoptosis in human cancer cells. *J. Immunol.* 2006; 176: 4894–4901. DOI: 10.4049/jimmunol.176.8.4894.
- Cheng Y.S., Xu F. Anticancer function of polyinosinic-polycytidylic acid. *Cancer Biol. Ther.* 2010; 10: 1219–1223. DOI: 10.4161/cbt.10.12.13450.
- Pradere J.P., Dapito D.H., Schwabe R.F. The yin and yang of Toll-like receptors in cancer. *Oncogene*. 2014; 33: 3485–3495. DOI: 10.1038/ncr.2013.302.
- Bugge M., Bergstrom B., Eide O.K., et al. Surface Toll-like receptor 3 expression in metastatic intestinal epithelial cells induces inflammatory cytokine production and promotes invasiveness. *J. Biol. Chem.* 2017, 292: 15408–15425. DOI: 10.1074/jbc.M117.784090.
- Kato H, Takeuchi O, Sato S. et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*. 2006; 441: 101–105. DOI: 10.1038/nature04734.
- Kadowaki N., Ho S., Antonenko S. et al. Subsets of human dendritic cell precursors express different Toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J. Exp. Med.* 2001; 194: 863–869. DOI: 10.1084/jem.194.6.863.
- Tabiasco J., Devevre E., Rufer N. et al. Human effector CD8+ T lymphocytes express TLR3 as a functional coreceptor. *J. Immunol.* 2006; 177: 8708–8713. DOI: 10.4049/jimmunol.177.12.8708.
- Schmidt K.N., Leung B., Kwong M. et al. APC-independent activation of NK cells by the Toll-like receptor 3 agonist double-stranded RNA. *J. Immunol.* 2004, 172: 138–143. DOI: 10.4049/jimmunol.172.1.138.
- Bsibsi M., Ravid R., Gveric D. et al. Broad expression of Toll-like receptors in the human central nervous system. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2002; 61: 1013–1021. DOI: 10.1093/jnen/61.11.1013.
- Tohyama M., Dai X., Sayama K. et al. dsRNA-mediated innate immunity of epidermal keratinocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 335: 505–511. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.07.105.
- Hewson C.A., Jardine A., Edwards M.R. et al. Toll-like receptor 3 is induced by and mediates antiviral activity against rhinovirus infection of human bronchial epithelial cells. *J. Virol.* 2005; 79: 12273–12279. DOI: 10.1128/JVI.79.19.12273-12279.2005.
- Matsumoto M., Kikkawa S., Kohase M. et al. Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 293:1364–1369. DOI: 10.1016/S0006-291X(02)00380-7.
- Fang F., Ooka K., Sun X. et al. A synthetic Toll-like receptor 3 ligand mitigates profibrotic fibroblast responses by inducing autocrine interferon signaling. *J. Immunol.* 2013; 191:2956–2966. DOI: 10.4049/jimmunol.1300376.
- Groskreutz D.J., Monick M.M., Powers L.S. et al. Respiratory syncytial virus induces TLR3 protein and protein kinase R, leading to increased double-stranded RNA responsiveness in airway epithelial cells. *J. Immunol.* 2006; 176:1733–1740. DOI: 10.4049/jimmunol.176.3.1733.
- Funami K., Sasai M., Ohba Y. et al. Spatiotemporal mobilization of Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor molecule-1 in response to dsRNA. *J. Immunol.* 2007; 179:6867–6872. DOI: 10.4049/jimmunol.179.10.6867.
- Zarembek K.A., Godowski P.J. Tissue expression of human Toll-Like receptors and differential regulation of Toll-Like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *J. Immunol.* 2002; 168:554–561. DOI: https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.2.554.
- Visintin A., Mazzoni A., Spitzer J.H. et al. Regulation of Toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. *J. Immunol.* 2001; 166:249–255. DOI: https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.1.249.
- Pan Z.K., Fisher C., Li J-D. et al. Bacterial LPS up-regulated TLR3 expression is critical for antiviral response in human monocytes: evidence for negative regulation by CYLD. *Intern. Immunol.* 2011; 23:357–364. DOI: 10.1093/intimm/dxr019.
- Wang Y., Liu L., Davies D.R. et al. Dimerization of Toll-like receptor 3 (TLR3) is required for ligand binding. *J. Biol.Chem.* 2010; 285:36836–36841. DOI: 10.1074/jbc.M110.167973.
- Choe J., Kelker M.S., Wilson I.A. Crystal structure of human Toll-like receptor 3 (TLR3) ectodomain. *Science*. 2005; 309:581–585. DOI: 10.1126/science.1115253.
- Lee H.K., Dunzendorfer S., Soldau K. et al. Doublestranded RNA-mediated TLR3 activation is enhanced by CD14. *Immunity*. 2006; 24:153–163. DOI: 10.1016/j.immuni.2005.12.012.
- de Bouteiller O., Merck E., Hasan U.A. et al. Recognition of double-stranded RNA by human Toll-like receptor 3 and downstream receptor signaling requires multimerization and an acidic pH. *J. Biol. Chem.* 2005; 280:38133–38145. DOI: 10.1074/jbc.M507163200.
- Bell J.K., Botos I., Hall P.R. et al. The molecular structure of the Toll-like receptor 3 ligand-binding domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005; 102:10976–10980. DOI: 10.1073/pnas.0505077102.
- Oshiumi H., Matsumoto M., Funami K. TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3-mediated interferon-beta induction. *Nat. Immunol.* 2003; 4:161–167. DOI: 10.1038/ni886.

37. Funami K., Matsumoto M., Oshiumi H. et al. The cytoplasmic "linker region" in Toll-like receptor 3 controls receptor localization and signaling. *Intern. Immunol.* 2004; 16:1143–1154. DOI: 10.1093/intimm/dxh115.
38. Uematsu S, Akira S. Toll-like receptors and type I interferons. *J. Biol. Chem.* 2007; 282:15319–15323. DOI: 10.1074/jbc.R700009200.
39. Versteeg G.A., García-Sastre A. Viral tricks to grid-lock the type I interferon system. *Curr. Opin. Microbiol.* 2010; 13:508–516. DOI: 10.1016/j.mib.2010.05.009.
40. Pohar J, Pirher N., Bencina M. et al. The ectodomain of TLR3 receptor is required for its plasma membrane translocation. *PLoS ONE.* 2014; 9(3):e92391. DOI:10.1371/journal.pone.0092391.
41. Kim Y.M., Brinkmann M.M., Paquet M.E. et al. UNC93B1 delivers nucleotide-sensing toll-like receptors to endolysosomes. *Nature.* 2008; 452:234–238. DOI: 10.1038/nature06726.
42. Brinkmann M.M., Spooner E., Hoebe K. et al. The interaction between the ER membrane protein UNC93B and TLR3, 7, and 9 is crucial for TLR signaling. *J. Cell. Biol.* 2007; 177:265–275. DOI: 10.1083/jcb.200612056.
43. Pohar J, Pirher N., Bencina M. et al. The role of UNC93B1 in surface localization of TLR3 and in cell priming to nucleic acid agonists. *J. Biol. Chem.* 2013; 288:442–454. DOI: 10.1074/jbc.M112.413922.
44. Muzio M, Bosisio D, Polentarutti N. et al. Differential expression and regulation of Toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: Selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J. Immunol.* 2000; 164:5998–6004. DOI: 10.4049/jimmunol.164.11.5998.
45. Matsumoto M., Funami K., Tanabe M. et al. Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J. Immunol.* 2003; 171:3154–3162. DOI: 10.4049/jimmunol.171.6.3154.
46. Barton G.M., Kagan J.C. A cell biological view of Toll-like receptor function: regulation through compartmentalization. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9:535–542. DOI: 10.1038/nri2587.
47. Lee B.L., Barton G.M. Trafficking of endosomal Toll-like receptors. *Trends Cell. Biol.* 2014; 24:360–369. DOI: 10.1016/j.tcb.2013.12.002.
48. Hoebe K., Du X., Georgel P. et al. Identification of Lps2 as a key transducer of MyD88-independent TIR signalling. *Nature.* 2003; 424:743–748. DOI: 10.1038/nature01889.
49. Donato R., Cannon B., Sorci G. et al. Functions of S100 proteins. *Curr. Mol. Med.* 2013; 13:24–57.
50. Tsai S.-Y., Segovia J.A., Chang S.-H. et al. Regulation of Toll-like receptor 3 activation by S100A9. *J. Immunol.* 2015; 195:4426–4437. DOI: 10.4049/jimmunol.1500378.
51. Liu L., Botos I., Wang Y. et al. Structural basis of Toll-like receptor 3 signaling with double-stranded RNA. *Science.* 2008; 320:379–381. DOI: 10.1126/science.1155406.
52. Matsumoto M., Oshiumi H., Seya T. Antiviral responses induced by the TLR3 pathway. *Rev. Med. Virol.* 2011; 21:67–77. DOI: 10.1002/rmv.680.
53. Takada E., Okahira S., Sasai M. et al. C-terminal LRRs of human Toll-like receptor 3 control receptor dimerization and signal transmission. *Mol. Immunol.* 2007; 44:3633–3640. DOI: 10.1016/j.molimm.2007.04.021.
54. Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R. et al. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature.* 2001; 413:732–738. DOI: 10.1038/35099560.
55. Yamamoto M., Sato S., Hemmi H. et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science.* 2003; 301:640–643. DOI: 10.1126/science.1087262.
56. Tabeta K., Georgel P., Janssen E. et al. Toll-like receptors 9 and 3 as essential components of innate immune defense against mouse cytomegalovirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2004; 101:3516–3521. DOI: 10.1073/pnas.0400525101.
57. Honda K., Sakaguchi S., Nakajima C. et al. Selective contribution of IFN- α/β signaling to the maturation of dendritic cells induced by double-stranded RNA or viral infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100:10872–10877. DOI:10.1073/pnas.1934678100.
58. Salem M.L., Kadima A.N., Cole D.J. et al. Defining the antigen-specific T-cell response to vaccination and poly(I:C)/TLR3 signaling: evidence of enhanced primary and memory CD8 T-cell responses and antitumor immunity. *J. Immunother.* 2005; 28:220–228. DOI: 10.1097/01.cji.0000156828.75196.0d.
59. Sivori S., Falco M., Della Chiesa M. et al. CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2004; 101:10116–10121. DOI: 10.1073/pnas.0403744101.
60. Salaun B., Coste I., Risoan M.C. et al. TLR3 can directly trigger apoptosis in human cancer cells. *J. Immunol.* 2006; 176:4894–4901. DOI: 10.4049/jimmunol.176.8.4894.
61. Boehme K.W., Compton T. Innate sensing of viruses by Toll-like receptors. *J. Virology.* 2004; 78:7867–7873. DOI: 10.1128/JVI.78.15.7867-7873.2004.
62. Meylan E., Burns K., Hofmann K. et al. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. *Nat. Immunol.* 2004; 5:503–507. DOI: 10.1038/ni1061.
63. Funami K., Sasai M., Ohba Y. et al. Spatiotemporal mobilization of Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor molecule-1 in response to dsRNA. *J. Immunol.* 2007; 179:6867–6872. DOI: 10.4049/jimmunol.179.10.6867.
64. Sarkar S.N., Smith H.L., Rowe T.M. et al. Doublestranded RNA signaling by Toll-like receptor 3 requires specific tyrosine residues in its cytoplasmic domain. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:4393–4396. DOI: 10.1074/jbc.C200655200.
65. Sarkar S.N., Peters K.L., Elco C.P. et al. Novel roles of TLR3 tyrosine phosphorylation and PI3 kinase in double-stranded RNA signaling. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2004; 11:1060–1067. DOI: 10.1038/nsmb847.
66. Sarkar S.N., Elco C.P., Peters K.L. et al. Two tyrosine residues of Toll-like receptor 3 trigger different steps of NF- κ B activation. *J. Biol. Chem.* 2007; 282:3423–3427. DOI: 10.1074/jbc.C600226200.

Сведения об авторах

Прохоренко Изабелла Рувимовна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной биомедицины ФГБУ «Институт фундаментальных проблем биологии РАН ФИЦ ПНЦБИ РАН», г. Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 2. Эл. почта: isabella03@rambler.ru. Тел. (8496) 773-07-44.

Косякова Нинель Ивановна – доктор медицинских наук, заведующая отделением иммунологии-аллергологии ФГАУЗ «Больница Пущинского научного центра РАН», г. Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 1. Эл. почта: nelia_kosiakova@mail.ru. Тел. (8496) 773-09-33.

Поступила 11.06.2020 г.