

ное (более 30 лет) развитие высыпаний, семейный анамнез, отсутствие типичных для вегетирующей пузырьчатки эрозивных вегетаций в естественных складках и на слизистых оболочках полости рта, полная эпителизация эрозий на коже туловища и конечностей при проведении глюкокортикоидной терапии и лишь частичное уплощение гиперкератотических бляшек на коже волосистой части головы на фоне ежедневной обработки очагов 5% салициловой мастью, а также гистологическая картина акантолитического себорейного кератоза все же позволяют исключить вегетирующую пузырьчатку и поставить диагноз гигантского акантолитического себорейного кератоза.

Перед нами встает вопрос, является ли акантолиз в препарате с кожи головы проявлением вульгарной пузырьчатки или все же это своеобразное проявление себорейного кератоза?

По данным мировой литературы, в редких случаях в очаге себорейного кератоза помимо типичных для этой патологии акантолитических тяжей, папилломатозных разрастаний и пролиферации клеток эпидермиса могут обнаруживаться признаки акантолиза [14—16]. Чаще всего их выявляют при так называемом раздраженном себорейном кератозе [14, 15], который гистологически характеризуется более выраженной лимфоцитарной инфильтрацией в поверхностном слое дермы и внутри новообразования, а также более явной плоскоклеточной дифференцировкой [17]. Так, М. Chen и соавт. [14] при исследовании 524 препаратов себорейного кератоза в 29 (5,5%) гистологически обнаружили акантолиз, который не был связан с такими сопутствующими заболеваниями, как истинная пузырьчатка, болезнь Дарье, актинический кератоз или акантолитический плоскоклеточный рак кожи. Очаги акантолиза преимущественно располагались около сквамозных клеток с дискератозом и спонгиозом. Клинически было отмечено, что такие акантолитические кератозы чаще (65,5%) располагаются на коже лица и волосистой части головы. Предполагается, что дискератоз, дегенеративные изменения кератиноцитов совместно со спонгиозом могут вызывать развитие акантолиза [14].

Эти данные еще раз подтверждают поставленный диагноз вульгарной пузырьчатки и акантолитического себорейного кератоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Махнева Н.В., Белецкая Л.В. Иммунофлюоресценция в клинике аутоиммунных буллезных дерматозов: Пособие для врачей. М.: Академия Естествознания; 2010.
2. Кацамбас А.Д., Лотти Т.М. Европейское руководство по лечению дерматологических заболеваний. М.: МЕДпресс-информ; 2008: 409—11.
3. Махнева Н.В. Клинические и патогенетические аспекты иммуноморфологических исследований материала больных пузырьчаткой и другими буллезными дерматозами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1997.
4. Kwon H.H., Kwon I.H., Chung J.H., Youn J.I. Pemphigus Foliaceus Associated with Psoriasis during the Course of Narrow-Band UVB Therapy: A Simple Coincidence? *Ann. Dermatol.* 2011; 23(Suppl. 3): S281—4.
5. Rallis E., Stavropoulos P., Christofidou E., Rigopoulos D., Koumantaki-Mathioudaki E. Pemphigus vulgaris with plaque-type psoriasis successfully treated with cyclosporine monotherapy. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2011; 12(4): 283—4. doi: 10.2165/11586680-000000000-00000.
6. Calebotta A., Cirocco A., Giansante E., Reyes O. Systemic lupus erythematosus and pemphigus vulgaris: association or coincidence. *Lupus.* 2004; 13(12): 951—3.
7. Hidalgo-Tenorio C., Sabio-Sánchez J.M., Tercedor-Sánchez J., León-Ruiz L., Pérez-Alvarez F., Jiménez-Alonso J. Pemphigus vulgaris and systemic lupus erythematosus in a 46-y-old man. *Lupus.* 2001; 10(1): 824—6.
8. Wolkenstein P., Chosidow O., Léonard F., Fraïtag S., Pelissier S., Roujeau J.C., et al. Association of pemphigus and Lyell's syndrome. *Ann. Dermatol. Venereol.* 1990; 117(11): 904—5.
9. Black M., Marshman G. Dermatomyositis and pemphigus vulgaris: association or coincidence? *Australas J. Dermatol.* 2011; 52(2): e11—4. doi: 10.1111/j.1440-0960.2010.00646.x.
10. Dudelzak J., Leshner J.L. Jr., Abdelsayed R.A. Pyogenic granuloma and pemphigus vulgaris: An unusual association. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2008; 58(2, Suppl): S52—53.
11. Yalçın B., Tamer E., Toy G.G., Öztas P., Alli N. Development of pemphigus vulgaris in a patient with vitiligo and Hashimoto's thyroiditis. *J. Endocrinol. Invest.* 2005; 28(6): 558—60.
12. Jappe U., Schröder K., Zillikens D., Petzoldt D. Tufted hair folliculitis associated with pemphigus vulgaris. *Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2003; 17(2): 223—6.
13. Danopoulou I., Stavropoulos P., Stratigos A., Chatziolou E., Chiou A., Georgala S., Katsambas A. Pemphigus vegetans confined to the scalp. *Int. J. Dermatol.* 2006; 45(8): 1008—9.
14. Chen M., Shinmori H., Takemiya M., Miki Y. Acantholytic variant of seborrheic keratosis. *J. Cutan. Pathol.* 1990; 17(1): 27—31.
15. Tagami H., Yamada M. Seborrheic keratosis: an acantholytic variant. *J. Cutan. Pathol.* 1978; 5(3): 145—9.
16. Uchiyama N., Shindo Y. An acantholytic variant of seborrheic keratosis. *J. Dermatol.* 1986; 13(3): 222—5.
17. Галил-Озлы Г.А., Молочков В.А., Сергеев Ю.В. Дерматоонкология. М.: Медицина для всех; 2005: 230—4.

Поступила 26.04.12

© Б.В. ПИНЕГИН, 2012
УДК 616.517-092:612.017.1]-08

Роль антимикробного пептида LL-37 в патогенезе псориаза

Б.В. Пинегин

Отдел иммунодиагностики и иммунокоррекции (зав. — проф. Б.В. Пинегин) ФГБУ Государственный научный центр Институт иммунологии ФМБА России, Москва

Представлен анализ данных литературы о роли антимикробного пептида LL-37 в инициации и ингибции псориазического воспаления. Рассмотрены возможные пути его терапевтического применения.

Ключевые слова: псориаз, клетки иммунной системы, цитокины, пептид LL-37

THE ROLE OF LL-37 ANTIBACTERIAL PEPTIDE IN THE PATHOGENESIS OF PSORIASIS

B.V.Pinegin

Published data on the role of LL-37 antibacterial peptide in initiation and inhibition of psoriatic inflammation are reviewed and probable approaches to its therapeutic use are discussed.

Key words: *psoriasis, immune system cells, cytokines, LL-37 peptide*

В настоящее время очевидно, что аутоиммунные процессы играют ведущую роль в развитии псориаза. Об этом свидетельствует интенсивная инфильтрация кожи практически всеми клетками иммунной системы. Эти клетки активированы и интенсивно продуцируют провоспалительные цитокины: фактор некроза опухоли (TNF- α), интерлейкин (IL)-1 β , IL-23, IL-6, IL-17, IL-22, IL-20, интерферон (IFN)- γ , IFN- α . На различных этапах воспалительного процесса действуют различные цитокины или их сочетания. Активированы также кератиноциты, продуцирующие провоспалительные цитокины. Избыточный синтез провоспалительных цитокинов — ведущая причина псориазического воспаления, однако неясно, что индуцирует их повышенный синтез.

Согласно одному из предположений, в развитии псориаза участвует комплекс из собственных нуклеиновых кислот (ауто-НК) и антимикробного пептида LL-37, продукта расщепления кателицидина hCAP-18.

Кателицидин hCAP-18 (human cationic antimicrobial peptide) синтезируется в нейтрофилах, кератиноцитах, клетках эпителия дыхательных путей в виде неактивного предшественника мол. массой 18 кД, состоящего из N-концевого кателицидиноподобного и C-концевого антимикробного доменов. При экзцитозе лейкоцитов протеаза-3 расщепляет кателицидин с образованием катионного пептида LL-37, состоящего из 37 аминокислотных остатков и 2 остатков лейцина на N-конце. В кератиноцитах расщепление неактивного предшественника с образованием активного пептида LL-37 осуществляет сериновая протеаза калликреин. Пептид LL-37 обладает антибактериальными, противогрибковыми и противовирусными свойствами [1] за счет электростатического взаимодействия LL-37 с мембранами клеток. Пептиды аккумулируются и ориентируются параллельно поверхности мембраны-мишени, затем электростатически взаимодействуют с анионными группировками фосфолипидных головок во многих участках, покрывая мембрану наподобие ковра. При достижении определенной критической концентрации происходит образование сквозных дыр в мембране-мишени, что приводит к лизису клетки. Так, по нашим данным, LC50 пептида LL-37 для *Staphylococcus aureus* составила $1,4 \pm 1,2$ мкг/мл [2]. В этих дозах пептид не токсичен для клеток крови человека, но оказывает на них разнообразное иммуномодулирующее действие. В концентрации, в 20—50 раз большей, чем для микробов, пептид LL-37 оказывает цитотоксическое действие и на эукариотические клетки [3], причем по механизму цитотоксического эффекта идентичен бактерицидному. Более высокая чувствительность бактерий к бактерицидному действию пептида LL-37 связана с большим отрицательным зарядом клеточной стенки бактерий по сравнению с таковой мембраны эукариотических клеток.

В норме синтез кателицидина в кератиноцитах очень незначительный, и он находится в непротессированной форме мол. массой 18 кД. При псориазе содержание кателицидина в коже резко повышено по сравнению с аналогичным

показателем в коже больных атопическим дерматитом или здоровых людей, и весь он находится в протессированной форме в виде пептида LL-37 мол. массой 4,5 кД [4]. Концентрация пептида LL-37 во всех слоях эпидермиса при псориазе резко повышена (средняя концентрация 304 мкмоль). В высокой концентрации этот пептид присутствует также в дерме, где находится в тесном контакте с плазматическими дендритными клетками (pDC) [5].

Содержание пептида LL-37 повышается при повреждениях кожи и различных стрессовых ситуациях, что дало основание отнести его к сигналам тревоги или аларминам [6]. Этот пептид является хематтрактантом для нейтрофилов, моноцитов, дендритных клеток и T-лимфоцитов; способствует созреванию дендритных клеток и развитию T-клеточного иммунного ответа. Он стимулирует ангиогенез в коже, индуцирует синтез и высвобождение ряда цитокинов, хемокинов и гистамина, способствует пролиферации, миграции кератиноцитов и реэпителизации раны [7, 8]. Его количество резко возрастает при заживлении раны, что дало основание некоторым авторам называть пептид LL-37 ростовым фактором кератиноцитов.

Остается вопрос, как в коже могут появиться свободные НК. В принципе они должны быстро разрушаться внеклеточными нуклеазами. НК могут появляться во внеклеточном пространстве при ушибах, сдавливании, небольших повреждениях кожи. По наблюдениям клиницистов, развитие псориаза нередко начинается с каких-то незначительных повреждений кожи или после ушиба. НК могут появляться во внеклеточном пространстве также в результате вытекания из стареющих или апоптотических клеток, особенно в тех случаях, когда фагоцитоз апоптотических клеток понижен. Далее события могут развиваться следующим образом. При появлении во внеклеточном пространстве свободных НК пептид LL-37 мгновенно образует с ними комплекс, основанный на электростатическом взаимодействии. Этот комплекс стабилен и устойчив к действию нуклеаз [9].

Свободная ДНК или РНК плохо подвергается эндоцитозу эукариотическими клетками. По-иному обстоит дело с комплексом НК/LL-37. Этот комплекс быстро проникает в клетки с помощью эндоцитоза. Процесс проникновения хорошо показан на модели CpG-олигодезоксинуклеотидов бактериальной ДНК. После 15 мин инкубации с комплексами флюоресцеина изотиоцианата-(ФИТЦ) CpG/LL-37 или ФИТЦ-CpG 10 и 0% соответственно мононуклеаров периферической крови становятся ФИТЦ-положительными. Мононуклеары, обработанные таким комплексом, становятся активированными и начинают экспрессировать костимуляторные молекулы CD40 и CD86, а также синтезировать IL-6 [10]. Аналогичные данные получены при изучении проникновения плазмидной ДНК в перевиваемые клетки яичника. Пептид LL-37 способствовал быстрому и эффективному проникновению ДНК в клетку в основном через рафты — участки мембраны, обогащенные холестерином и сфинголипидами.

Сведения об авторе:

Пинегин Б.В. — д-р мед. наук, проф. (bvpinegin@yandex.ru).

Разрушение рафтов с помощью метил- β -циклодекстрина снижает проникновение комплекса ДНК⁺LL-37 в клетки, но не влияет или даже повышает проникновение в клетку свободной ДНК [9].

Таким образом, пептид LL-37, связываясь с НК, делает НК устойчивой к действию нуклеаз и способствует эффективному проникновению ее в клетку.

Синтез большинства провоспалительных цитокинов является результатом активации Toll-чувствительных рецепторов (TLR) клеток врожденного иммунитета. На первых этапах развития псориазического воспаления дерма интенсивно инфильтрируется рDC, синтезирующими IFN 1-го типа [11] (этому цитокину отводят роль одного из инициаторов псориазического воспаления). В настоящее время выявлен фактор, который возможно, индуцирует в псориазической коже синтез IFN 1-го типа, — комплекс НК/LL-37. Установлено, что экстракт псориазической кожи стимулировал в рDC периферической крови синтез IFN- α . С помощью методов препаративной химии из кожи выделена активная субстанция мол. массой 4,5 кД. Антигена к LL-37, но не к псориазину, снимали стимулирующий эффект этой субстанции [5].

Далее установлено, что синтетический пептид LL-37, смешанный с супернатантом апоптотических клеток, индуцирует в рDC мощный синтез IFN- α . Этот синтез частично, но не полностью отменялся при обработке супернатанта ДНКазой или РНКазой. Полностью синтез IFN- α отменялся при совместной обработке супернатанта ДНКазой и РНКазой [12].

В модельных экспериментах *in vitro* показано, что искусственные комплексы LL-37/ДНК и LL-37/РНК являются мощными индукторами синтеза IFN- α в рDC [5, 12]. Как отмечалось выше, НК образуют прочный комплекс с пептидом LL-37, основанный на электростатическом взаимодействии. В комплексе ауто-ДНК/LL-37 α -спираль этого пептида стабилизирует двухспиральную ДНК. Предполагается, что в комплексе ауто-РНК/LL-37 этот пептид связывается с теми участками РНК, где образуются двойные спирали в виде шпилек. Как известно, эукариотическая РНК сильно метилирована и содержит большое количество псевдоуридина. Эти свойства препятствуют связыванию ауто-РНК с TLR7 и TLR8 дендритных клеток и индукции синтеза провоспалительных цитокинов. Вероятно, связывание с пептидом LL-37 так изменяет конформацию ауто-РНК, что она приобретает способность активировать TLR7 и TLR8.

Среди антимикробных пептидов (АМП) стимулирующая функция является уникальной для LL-37, так как комплекс β -дефензины/ДНК не индуцирует синтез IFN 1-го типа [5].

С помощью ингибиторного анализа с использованием коротких олигонуклеотидов, блокирующих функции соответствующих TLR, показано, что синтез IFN- α комплексами ДНК/LL-37 и РНК/LL-37 является результатом активации соответственно TLR9- и TLR7-сигнальных путей [5, 12].

Характер активации миелоидных дендритных клеток (mDC) комплексом LL-37/НК существенно отличается от активации рDC. Комплекс ауто-РНК/LL-37 вызывает в mDC синтез IL-6 и TNF- α , но не IFN- α . Этот комплекс в mDC распознается TLR8 [12].

С помощью конфокальной микроскопии установлено, что пептид LL-37 способствует не только проникновению ДНК в клетку, но и преимущественной ее локализации с ранними эндосомами, содержащими трансферриновые

рецепторы [5]. Это взаимодействие имеет существенное значение для характера активации клетки. Особенностью ранних эндосом рDC является их преимущественное взаимодействие с макромолекулярными комплексами. Активация TLR9-пути из ранних эндосом индуцирует синтез IFN- α . Особенностью поздних эндосом, содержащих лизосомальный маркер LAMP-1, является взаимодействие с мономерными соединениями. Активация TLR9-пути из поздних эндосом индуцирует синтез TNF- α , IL-6 и созревание рDC [13].

При иммуногистохимическом анализе в дерме псориазической кожи (в отличие от здоровой кожи или кожи при атопическом дерматите), обнаружены комплексы из внеклеточной ауто-РНК и ауто-ДНК, и большинство этих комплексов было ассоциировано с процессированной формой кателицидина hCAP-18/LL-37 — пептидом LL-37. В дерме при псориазе выявляют кластеры mDC. Как правило, эти кластеры локализовались с комплексами РНК/LL-37 [12].

Таким образом, пептид LL-37 не только делает НК устойчивыми к действию нуклеаз, но и доставляет их в эндосомальный компартмент клетки. Следствием этого является синтез рDC и mDC соответственно IFN-I или TNF- α /IL-6. Связываясь с ауто-ДНК или ауто-РНК пептид LL-37 способствует превращению неактивной, нестимулирующей ауто-ДНК или ауто-РНК в активатора синтеза провоспалительных цитокинов. В соответствии с этой схемой пептид LL-37 выполняет роль переносчика НК, а активаторами синтеза провоспалительных цитокинов являются НК, активирующие TLR7-, TLR8- и TLR9-сигнальные пути. По всей видимости, LL-37 не препятствует взаимодействию НК с этими рецепторами, а возможно, даже и усиливает его.

Исключением их этой схемы является TLR3. Лиганд этого рецептора — полиинозинполицитидиловая кислота [poly(I:C)], являющаяся аналогом двухспиральной РНК, вызывает в макрофагах, дендритных и глиальных клетках выраженный синтез TNF- α . В этих клетках пептиды LL-37 и CRAMP (мышинный аналог LL-37) вызывают дозозависимую ингибицию синтеза TNF- α , индуцированную poly(I:C). Так, в максимальной дозе 5 мкмоль LL-37 ингибирует этот синтез на 95%. С помощью циркулярного дихроизма показано, что poly(I:C) и LL-37 образуют прочный комплекс. В тесте ингибиции связывания TLR3 и poly(I:C) установлено, что CRAMP подавляет это связывание, но только в 100-кратном молярном избытке, т. е. обладает слабой ингибирующей активностью [14]. Вероятно, неспособность CRAMP ингибировать связывание poly(I:C) с TLR3 обусловлена неспособностью этого пептида полностью покрыть poly(I:C), длина которой колеблется от 8 до 200 kb. Тем не менее в присутствии CRAMP poly(I:C) теряет свои стимулирующие свойства, что, вероятно, связано с изменением структуры poly(I:C) и неспособностью ее попадать в эндосомы [14].

В развитии псориазического воспаления участвуют цитокины IL-1 β , IL-18 и IL-36 семейства IL-1 [15, 16]. IL-1 β индуцирует и усиливает синтез основных провоспалительных цитокинов — TNF- α , IL-6, IL-1 β и IL-23, способствует дифференцировке, пролиферации Th17-клеток и синтезу ими цитокинов этого профиля [17].

Как известно, IL-1 β и IL-18 синтезируются в виде неактивных предшественников, которые процессируются с помощью мультимолекулярного комплекса, инфламмосомы, формирующейся при активации клетки сигналами тревоги. Этот комплекс состоит из активированного

PRR-рецептора, адапторного апоптосассоциированного белка ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing CARD) и прокаспазы-1. Результатом образования инфламмосомы является активация каспазы-1, которая расщепляет неактивные предшественники IL-1 β и IL-18 с образованием активных секретируемых цитокинов.

Экспериментально показано образование инфламмосомы в коже больных псориазом [18]. Одним из таких доказательств является факт образования в пораженной коже больного псориазом активной каспазы-1. При исследовании с помощью иммуноблоттинга установлено, что количество прокаспазы-1 мол. массой 50 кД одинаковое в пораженной и непораженной коже. Но количество расщепленной формы мол. массой 30 кД в пораженной коже в 6,3 раза выше, чем в непораженной коже. Кератиноциты больных псориазом являются интенсивными продуцентами IL-1 β [18].

В настоящее время идентифицировано несколько факторов, индуцирующих образование инфламмосом в кератиноцитах. К таким факторам относится, например, УФ-облучение в дозах, соответствующих физиологическим нормам. Инфламмосома, образующаяся под влиянием этого воздействия, состоит из NALP1-рецептора из группы TLR-рецепторов, адапторного белка ASC и каспазы-1. Результатом работы этой инфламмосомы является секреция кератиноцитами IL-1 β [19]. Так как в физиологических дозах IL-1 повышает резистентность организма, то с этим повышением может быть связан положительный эффект УФ-облучения.

Другим фактором, который может вызвать в кератиноцитах образование инфламмосомы, является появление в цитоплазме клетки эукариотической ДНК. В норме ДНК в клетке находится только в ядре и митохондриях. Появление в цитоплазме клетки двуспиральной ДНК является чрезвычайной ситуацией и рассматривается клеткой как сигнал тревоги, на который должна последовать ответная защитная реакция. Эукариотическая ДНК в цитоплазме распознается семейством структурно родственных p200-рецепторов, кодируемых генами группы ISG (IFN-stimulated genes). Все рецепторы этого семейства содержат консервативный С-концевой домен, состоящий из 200 аминокислот (NIN-200) и обладающий способностью распознавать и связывать эукариотическую ДНК. В кератиноцитах выявлено несколько рецепторов этого семейства, в частности AIM2-рецептор (absent in melanoma), который можно рассматривать как классический представитель семейства PRR-рецепторов. Этот рецептор содержит N-концевой пириновый домен (PYD-домен), привлекающий адапторный белок ASC, и, как отмечалось выше, С-концевой NIN-200 домен [20]. Распознавание внутриклеточной ДНК NIP-200-доменом AIM2-рецептора ведет к образованию инфламмосомы и в итоге к синтезу и секреции кератиноцитами IL-1 β и IL-18 [21].

В цитоплазме 80% кератиноцитов, выделенных из псориазической бляшки, в отличие от кератиноцитов, выделенных из здоровой кожи или кожи больных атопическим дерматитом, выявляют фрагменты ауто-ДНК. Параллельно с этим в кератиноцитах резко повышен синтез AIM2-рецептора. Уровень экспрессии мРНК AIM2 в 50 раз выше, чем в непораженной коже, и этот повышенный уровень четко коррелирует с повышенным синтезом кератиноцитами IL-1 β [22].

Данные о роли AIM2-инфламмосомы в синтезе IL-1 β кератиноцитами псориазической кожи получили подтверждение на модели первичной культуры кератиноцитов. Показано, что в этой культуре ДНК [геномная ДНК

или poly(dA:dT)], IFN- γ или TNF- α по отдельности синтеза IL-1 β не вызывали. Но в кератиноцитах, предварительно обработанных совместно IFN- γ и TNF- α , липосомальная трансфекция клеток ДНК вызывала существенное увеличение продукции IL-1 β . Этот синтез зависел от образования в кератиноцитах AIM2 инфламмосомы, так как нокдаун с помощью интерферирующей РНК полностью отменял синтез IL-1 β . Роль цитокинов в индукции синтеза IL-1 β была праймирующей. IFN- γ индуцировал экспрессию AIM2 мРНК, TNF- α усиливал синтез про-IL-1 β [22].

Учитывая способность пептида LL-37 эффективно переносить НК через цитоплазматическую мембрану, полагаем логичным исследование роли пептида LL-37 в индукции с помощью ДНК синтеза IL-1 β в кератиноцитах. Оказалось, что при добавлении LL-37 флюорохром-меченая ДНК быстро появлялась в цитоплазме клетки. Однако синтеза IL-1 β не происходило. Не происходило также и образования AIM2-инфламмосомы. С помощью копреципитации показано, что в цитоплазме клетки пептид LL-37 образует прочный комплекс с ДНК и, по всей видимости, препятствует связыванию ДНК с NIP-200-доменом AIM2-рецептора [22].

В исследованиях роли ауто-ДНК в индукции инфламмосомы имеются некоторые пробелы. Во-первых, неясно, как появляется ауто-ДНК в цитоплазме кератиноцитов. Как отмечалось выше, внеклеточная ДНК плохо подвергается эндоцитозу, и в плазмацитоидные клетки она проникает с помощью пептида LL-37. Поэтому внеклеточная ДНК, выделившаяся из погибающих клеток, не может быть активатором воспаления — она либо сразу разрушается нуклеазами, либо образует комплекс с пептидом LL-37. Этот комплекс, как показали авторы, утрачивает способность стимулировать синтез IL-1 β . Поэтому в культуре первичных кератиноцитов для доказательства роли ДНК в образовании AIM2-инфламмосомы была применена трансфекция с помощью липофектамина. Такая передача ДНК в условиях *in vivo* является малореальной. Мы полагаем, что появление в цитоплазме ДНК является результатом межклеточного обмена, например, с помощью экзосом — микровезикул размером 30—90 нм, содержащих белки, фрагменты РНК и ДНК, размером до 1000 пар оснований [23]. Экзосомы выделяются стареющими клетками и могут сливаться с соседними кератиноцитами, в результате чего ДНК появляется в цитоплазме клетки. Возможно также появление ДНК в цитоплазме в результате вытекания из ядра при нарушении проницаемости ядерной мембраны.

Таким образом, пептид LL-37 помогает ДНК проникнуть в кератиноциты, но препятствует ее взаимодействию с AIM2-рецептором. Но в отношении TLR стимулирующий эффект пептида LL-37 в кератиноцитах сохраняется. Это проявляется в способности пептида индуцировать в повышенную экспрессию TLR9 [4]. Вероятно, поэтому в кератиноцитах пораженной кожи в отличие от непораженной кожи и кожи больных атопическим дерматитом существенно повышена экспрессия TLR9 [24]. В дерме кожи больных выявляют большое количество TLR9⁺-клеток, большинство которых колокализуются с пептидом LL-37. В присутствии этого пептида как геномная ДНК, так и CpG-мотивы ДНК выражено повышают в кератиноцитах экспрессию IFN-A2 и IFN-B1 mRNA и синтез IFN 1-го типа. Интересно, что стимуляция синтеза IFN 1-го типа в кератиноцитах происходила только в том случае, если первым добавлялся пептид LL-37, а затем CpG [4].

Эффект пептида LL-37 как стимулятора псориазического воспаления проявляется еще и в том, что он явля-

ется ингибитором апоптоза кератиноцитов и, следовательно, активатором незлокачественной пролиферации кератиноцитов. В значительной степени это связано с тем, что пептид LL-37 резко снижает активность каспазы-3, стимулированной классическим индуктором апоптоза камптотетцином. Параллельно с этим пептид LL-37 индуцирует в кератиноцитах экспрессию антиапоптотических генов *COX2* и *IAP-2* [25].

Возможное применение пептида LL-37 в лечебных целях. Из представленных данных видно, что эндогенный АМП LL-37 может давать как стимулирующий, так и ингибирующий эффект на синтез провоспалительных цитокинов.

На основании своих экспериментов R. Lande и соавт. [5] считают, что пептид LL-37 является главным стимулятором псориаза. Являясь сигналом тревоги, пептид LL-37 синтезируется в повышенном количестве при различных повреждениях кожи, что способствует ее более быстрому заживлению. Но при повреждениях кожи из погибающих клеток может освобождаться и ауто-ДНК/РНК, которые, соединяясь с LL-37, индуцируют более сильную, чем это нужно для заживления раны, воспалительную реакцию. Результатом этого могут быть аккумуляция в дерме рDC и непрерывный синтез IFN- α . Этот цитокин вызывает созревание и активацию mDC, синтез провоспалительных цитокинов и активацию Th1-клеток. Поэтому антагонисты пептида LL-37 можно рассматривать как терапевтическое средство для лечения псориаза.

В организме человека антагонистами пептида LL-37 являются белки сыворотки крови, а более конкретно — апополипротеин А-1 [26, 27]. Этот белок, связываясь с пептидом LL-37, полностью подавляет его цитотоксическую и антибактериальную активность. Представляют интерес исследования, направленные на подавление апополипротеином или его аналогами связывания пептида LL-37 с НК, что может привести к подавлению образования патогенного комплекса НК/LL-37. Возможно также рассмотрение в качестве лечебного средства анионных полимеров типа гепарина, подавляющих связывание пептида с НК.

На основании своих экспериментов J. Schaubert и соавт. [28] считают, что сам пептид LL-37 может применяться в качестве ингибитора псориазического воспаления, так как он подавляет связывание ДНК с AIM2-рецептором и тем самым подавляет образование IL-1 β . Предлагают это направление в лечении псориаза, авторы исходят из экспериментальных и клинических данных о том, что такие лечебные средства, как УФ-облучение и препараты витамина D₃, применяющиеся при псориазе, повышают уровень пептида LL-37 в коже, поэтому дают хороший лечебный эффект [29, 30].

Однако трудность выбора направления лечебного применения пептида LL-37 связана с неясностью, на каком этапе воспалительного процесса IFN- α и IL-1 β вносят наибольший вклад в его развитие. Неправильная оценка этого вклада может привести только к усилению воспаления.

Заключение. Процесс развития патологического процесса в коже характеризуется определенной стадийностью. На ранней стадии воспаления происходят инфильтрация кожи рDC и повышенная продукция IFN- α [15]. IFN- α оказывает множественное иммуностимулирующее действие на клетки иммунной системы, в частности активирует mDC и Т-клетки. В позднюю стадию в коже рDC отсутствуют, а преобладают mDC [31]. Провоспалительные цитокины TNF- α и IL-6, синтезируемые этими клетка-

ми, а также IL-1 β , синтезируемый кератиноцитами, привлекают в кожу и активируют Th1- и Th17-клетки. IFN- γ и IL-17A/F, синтезируемые этими клетками, активируют Th22- и Tc22-клетки и продукцию этими клетками IL-22, который совместно с IL-20 в конечном итоге индуцируют специфическое псориазическое воспаление [32]. Таким образом, можно проследить последовательное преобладание в коже следующих клеточных групп: рDC/mDC—Th1/Th17—Th22/Tc22. По всей видимости, наиболее целесообразным является применение пептида LL-37 на ранних этапах развития воспаления с целью прерывания синтеза рDC/mDC IFN- α и провоспалительных цитокинов. На поздних стадиях при развитии функционально активной популяции Th17-клеток индуцирующая роль пептида LL-37 практически отсутствует, и, вероятно, бы смысл применение препаратов IFN 1-го типа, ингибция которых с помощью LL-37 была целесообразной на первых этапах. IFN 1-го типа и особенно IFN- β являются мощными ингибиторами функциональной активности Th17-клеток [33], играющих центральную роль в псориазическом воспалении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lee P.H., Ohtake T., Zaiou M., Murakami M., Rudisill J.A., Lin K.H., Gallo R.L. Expression of an additional cathelicidin antimicrobial peptide protects against bacterial skin infection. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2005; 102(10): 3750—5.
2. Будихина А.С., Макаров Е.А., Пинегин Б.В. Применение проточной цитометрии для оценки противомикробной активности кателицидина LL-37. Иммунология 2011; 32(1): 35—7.
3. Кулаков В.В., Макаров Е.А., Пащенко М.В., Климова С.В., Пинегин Б.В. Цитотоксический эффект пептида LL-37 на перевиваемые миело- и лимфобластоидные клетки человека. Иммунология 2011; 32(2): 75—7.
4. Morizane S., Yamasaki K., Mühleisen B., Kotol P.F., Murakami M., Aoyama Y., et al. Cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 in psoriasis enables keratinocyte reactivity against TLR9 ligands. J. Invest. Dermatol. 2012; 132(1): 135—143. doi: 10.1038/jid.2011.259.
5. Lande R., Gregorio J., Facchinetti V., Chatterjee B., Wang Y.H., Homey B., et al. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. Nature 2007; 449(7162): 564—9.
6. Bianchi M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. J. Leukoc. Biol. 2007; 81(1): 1—5.
7. Dorschner R.A., Pestoniamp V.K., Tamakuwala S., Ohtake T., Rudisill J., Nizet V., et al. Cutaneous injury induces the release of cathelicidin antimicrobial peptides active against group A *Streptococcus*. J. Invest. Dermatol. 2001; 117(1): 91—7.
8. Heilborn J.D., Nilsson M.F., Kratz G., Weber G., Sørensen O., Borregaard N., Ståhle-Bäckdahl M. The cathelicidin anti-microbial peptide LL-37 is involved in re-epithelization of human skin wounds and is lacking in chronic ulcer epithelium. J. Invest. Dermatol. 2003; 120(3): 379—89.
9. Sandgren S., Wittrup A., Cheng F., Jönsson M., Eklund E., Busch S., Belting M. The human antimicrobial peptide LL-37 transfers extracellular DNA plasmid in nuclear compartment of mammalian cells via lipid rafts and proteoglycan-dependent endocytosis. J. Biol. Chem. 2004; 279(17): 17951—6.
10. Hurtado P., Peh C.A. LL-37 promotes rapid sensing of CpG oligodeoxynucleotides by B lymphocytes and plasmacytoid dendritic cells. J. Immunol. 2010; 184(3): 1425—35.
11. Nestle F.O., Conrad C., Tun-Kyi A., Homey B., Gombert M., Boyman O., et al. Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon- α production. J. Exp. Med. 2005; 202(1): 135—43.
12. Ganguly D., Chamilos G., Lande R., Gregorio J., Meller S., Facchinetti V., et al. Self-RNA-antimicrobial peptide complexes ac-

- tivate human dendritic cells through TLR7 and TLR8. *J. Exp. Med.* 2009; 206(9): 1983—94.
13. Guiducci C., Ott G., Chan J.H., Damon E., Calacsan C., Matray T., et al. Properties regulating the nature of the plasmacytoid dendritic cell response to Toll-like receptor 9 activation. *J. Exp. Med.* 2006; 203(8): 1999—2008.
 14. Hasan M., Ruksznis C., Wang Y., Leifer C.A. Antimicrobial peptides inhibit polyinosinic-polycytidilic acid-induced immune responses. *J. Immunol.* 2011; 187(11): 5653—9.
 15. Nestle F.O., Kaplan D.H., Barker J. Psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361(5): 496—509.
 16. Shepherd J., Little M.C., Nicklin M.J. Psoriasis-like cutaneous inflammation in mice lacking interleukin-1 receptor antagonist. *J. Invest. Dermatol.* 2004; 122(3): 665—9.
 17. Acosta-Rodriguez E.V., Napolitani G., Lanzavecchia A., Sallusto F. Interleukin 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat. Immunol.* 2007; 8(9): 942—9.
 18. Johansen C., Moeller K., Kragballe K., Iversen L. The activity of caspase-1 is increased in lesional psoriatic epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 2007; 127(12): 2857—64.
 19. Feldmeyer L., Keller M., Niklaus G., Hohl D., Werner S., Beer H.D. The inflammasome mediates UVB-induced activation and secretion of interleukin-1 β by keratinocytes. *Curr. Biol.* 2007; 17(13): 1140—5.
 20. Hornung V., Ablasser A., Charrel-Dennis M., Bauernfeind F., Horvath G., Caffrey D.R., et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature* 2009; 458(7237): 514—8.
 21. Fernandes-Alnemri T., Yu J.W., Datta P., Wu J., Alnemri E.S. AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature* 2009; 458(7237): 509—13.
 22. Dombrowski Y., Peric M., Koglin S., Kammerbauer C., Göss C., Anz D., et al. Cytosolic DNA triggers inflammasome activation in keratinocytes in psoriatic lesions. *Sci. Transl. Med.* 2011; 3(82): 82ra38
 23. Li X.B., Zhang Z.R., Schluesener H.J., Xu S.Q. Role of exosomes in immune regulation. *J. Cell Mol. Med.* 2006; 10(2): 364—75.
 24. Miller L.S., Sørensen O.E., Liu P.T., Jalian H.R., Eshtiagh-pour D., Behmanesh B.E., et al. TGF- α regulates TLR expression and function on epidermal keratinocytes. *J. Immunol.* 2005; 174(10): 6137—43.
 25. Chamorro C.I., Weber G., Grönberg A., Pivarcsi A., Stähle M. The human antimicrobial peptide LL-37 suppresses apoptosis in keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 2009; 129(4): 937—44.
 26. Johansson J., Gudmundsson G.H., Rottenberg M.E., Berndt K.D., Agerberth B. Conformation-dependent antibacterial activity of the naturally occurring human peptide LL-37. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(6): 3718—24.
 27. Wang Y., Agerberth B., Löthgren A., Almstedt A., Johansson J. Apolipoprotein A-1 binds and inhibits the antibacterial/cytotoxic peptide LL-37. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(50): 33115—8.
 28. Schaubert J., Dombrowski Y., Besch R. Pathogenic DNA. Cytosolic DNA promotes inflammation in psoriasis. *Cell Cycle* 2011; 10(18): 3038—9.
 29. Peric M., Koglin S., Dombrowski Y., Gross K., Bradac E., Büchau A., et al. Vitamin D analog differentially control antimicrobial peptide «alarmin» expression in psoriasis. *PLoS One* 2009; 4(7): e6340.
 30. Vähävihi K., Ala-Houhala M., Peric M., Karisola P., Kautiainen H., Hasan T., et al. Narrowband ultraviolet B treatment improves vitamin D balance and alters antimicrobial peptide expression in skin lesions of psoriasis and atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 2010; 163(2): 321—8.
 31. Albanesi C.C., Scarponi S., Pallotta R., Daniele R., Bosio D., Madonna S., et al. Chemerin expression marks early psoriasis skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *J. Exp. Med.* 2009; 206(1): 249—58.
 32. Wolk K., Haugen H.S., Xu W., Witte E., Waggie K., Anderson M., et al. IL-22 and IL-20 are key mediators of the epidermal alterations in psoriasis while IL-17 and IFN- γ are not. *J. Mol. Med. (Berl)*. 2009; 87(5): 523—36.
 33. Ramgolam V.S., Sha Y., Jin J., Zhang X., Markovic-Plese S. IFN- β inhibits human Th17 cell differentiation. *J. Immunol.* 2009; 183(8): 5418—27.

Поступила 20.04.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 615.26.03:616.517].036.8

Наш первый опыт применения адалимумаба при псориазе

Н. Г. Кочергин¹, Н. Н. Потеев², Л. М. Смирнова¹, Д. Н. Серов², О.Ю.Олисова¹, А.М. Бабушкин³

¹ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (ректор — член-корр. РАМН, проф. П.В. Глыбочко); ²Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии (директор — проф. Н.Н. Потеев), ³ Ханты-Мансийский клинический кожно-венерологический диспансер, Югры

Тяжелый рефрактерный псориаз нередко представляет собой трудно решаемую терапевтическую задачу. Классические виды системной антипсориазической терапии сегодня дополняются современными высокотехнологичными и высокоэффективными биологическими препаратами. Представлены основные сведения об антицитокиновых препаратах, и на примере первого российского опыта применения адалимумаба продемонстрирован его высокий клинический эффект с динамичной редукцией индекса активности и распространенности поражения при псориазе (PASI) и дерматологического индекса качества жизни (ДИКЖ), отличной комплаентностью и удобством использования в амбулаторной дерматологической практике.

Ключевые слова: псориаз, антипсориазическая терапия, адалимумаб, PASI, дерматологический индекс качества жизни