

БЕЛКИ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ, КОМПЛЕМЕНТА И КАТЕПСИН G В САМОРЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Т.С.Замолодчикова*, Е.В.Свиршевская, А.В.Котов***

PROTEINS OF CELL ADHESION, COMPLEMENT, AND CATHEPSIN G IN SELF-REGULATORY FUNCTIONS OF INTESTINAL EPITHELIUM

T.S.Zamolodchikova*, E.V.Svirshchevskaia, A.V.Kotov***

*Институт биоорганической химии имени академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,
Москва, esvir@yandex.ru*

**Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина,
Москва, tatyana zam@yandex.ru*

***Институт медицинского образования НовГУ, lab_motiv@mail.ru*

Иницирующий компонент классического пути активации комплемента — C1q, является фактором воспалительного процесса и может играть роль в регуляции гомеостаза и защитных реакций в кишечном эпителии с потенциальным участием регуляторной протеазы катепсина G и белков клеточной адгезии — кадгеринов. С целью установления предполагаемой роли была исследована клеточная локализация C1q в воспалённой слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки человека (СОДПК) (дуоденит II-III степени) методом конфокальной микроскопии с использованием специфических антител. Полученные результаты свидетельствуют о выраженном присутствии C1q в различных зонах СОДПК — как в эпителиальном слое, так и в собственной пластинке. C1q был выявлен также в подслизистом слое в зоне расположения дуоденальных (бруннеровых) желёз. Ко-локализация C1q, катепсина G и кадгеринов свидетельствует об их возможном взаимодействии при участии в регуляции тканевого метаболизма, модификации и поддержании барьерных свойств кишечного эпителия при развитии защитного и/или патологического процессов.

Ключевые слова: комплемент, C1q, катепсин G, кишечный барьер, кадгерин

The initiation component of the classical complement pathway — C1q, is a factor of the inflammatory process and may play a role in the regulation of homeostasis and protective responses in the intestinal epithelium with the potential involvement of regulatory protease of cathepsin G and cell adhesion proteins (cadherins). In order to establish its proposed role, the cell localization of C1q in the inflamed mucous membrane of the human duodenum (duodenitis II-III degree) was investigated by confocal microscopy using specific antibodies. The obtained results indicate the pronounced presence of C1q in different areas of the duodenal mucosa both in the epithelial layer and in the lamina propria. C1q was also detected in the submucosal layer in the area of the duodenal (Brunner) glands. Co-localization of C1q, cathepsin G and cadherins indicates their possible interaction when involved in the regulation of tissue metabolism, modification and maintenance of the barrier properties of the intestinal epithelium in the development of protective and/or pathological processes.

Keywords: complement, C1q, cathepsin G, intestinal barrier, cadherins

Слизистая оболочка кишечника постоянно подвергается атаке чужеродными антигенами, следовательно, для поддержания гомеостаза иммунной системы и предотвращения возникновения неконтролируемого воспаления необходима точная регуляция функции кишечного барьера. Защитные реакции в кишечном эпителии обеспечиваются сложной системой взаимодействия эпителиальных и иммунных клеток, где белки клеточной адгезии (кадгерин) играют важную роль [1]. Сериновая протеаза иммуноцитов — катепсин G (Кат G) — участвует в регуляции иммунного ответа и считается фактором поддержания равновесия между защитой ткани и ее повреждением в условиях воспаления [2,3]. Ранее мы впервые показали, что Кат G, традиционно рассматриваемый как один из эффекторов воспалительного процесса, синтезируется в нормальной слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки (СОДПК), не имеющей клини-

чески выраженных признаков воспаления [4]. Экспрессия Кат G в СОДПК человека различными типами иммунокомпетентных клеток и специализированными эпителиоцитами кишечных желёз (клетками Панета) указывают на роль этой протеазы в кишечном иммунитете. В то же время способность Кат G активировать локальную ренин-ангиотензиновую систему (РАС) и взаимодействовать с белками клеточной адгезии предполагает участие фермента в регуляции гомеостаза и защитных реакций эпителия [5,6].

Барьерной функции кишечного эпителия и развитию локального иммунного ответа способствует кишечная система комплемента, которая является высоко консервативной частью врожденной иммунной системы и способна узнавать и уничтожать не только бактерии, но и апоптотические и злокачественные клетки. Активация кишечного комплемента

играет важную роль в функционировании эпителиальных клеток кишечника и в реакции слизистой оболочки на проникновение бактерий. Кроме того, компоненты комплемента C1q, C4, C3 и fB индуцируют пролиферацию стволовых клеток кишечного эпителия и инициируют запуск провоспалительных сигнальных каскадов [7]. Известно, что активация РАС воздействует на системы врожденного и приобретенного иммунитета, в том числе на систему комплемента [8]. Дисбаланс в активации и регуляции кишечной системы комплемента препятствует эффективной барьерной функции и приводит к серьёзному воспалению кишечника [7]. C1q, первый компонент классического пути активации комплемента, имеет ряд независимых от комплемента активностей, таких как хемотаксис, ангиогенез, нейрональный прунинг [9]. Локально секретируемый C1q участвует в регуляции воспалительного процесса, воздействуя на экспрессию иммунными клетками провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [9].

С целью установления предполагаемой роли системы комплемента в регуляции гомеостаза и защитных реакций в кишечном эпителии с потенциальным участием Кат G и кадгеринов была исследована клеточная локализация фактора комплемента C1q в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки человека (СОДПК), имеющей признаки воспаления (дуоденит II-III степени). Для анализа экспрессии компонента комплемента C1q и катепсина G использовали антитела козы против C1q человека (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского, Москва), а также мышинные антитела против Кат G, меченые FITC (Novus Biologicals, USA) и вторичные антитела против IgG козы, меченные FITC и PE (фирма Invitrogen). Образцы анализировали с помощью конфокального сканирующего микроскопа Nikon TE 2000 Eclipse (Япония).

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном присутствии компонента комплемента C1q в различных зонах СОДПК при воспалении как в эпителиальном слое, так и в собственной пластинке, где C1q локализуется в области базолатеральной мембраны энтероцитов и некоторых свободных клетках. В некоторых случаях C1q был выявлен в подслизистом слое в зоне расположения секреторных эпителиоцитов и протоках дуоденальных (бруннеровых) желёз, что может указывать на синтез и секрецию C1q дуоденальными железами. Ко-локализация C1q и Кат G в некоторых иммунных клетках свидетельствует о возможной функциональной взаимосвязи этих белков при активации иммунной реакции. Клеточная локализация и каталитические свойства Кат G дают основание предполагать существование Кат G-зависимого пути активации локальной РАС дуоденума, которая оказывает влияние на адаптационные и защитные реакции кишечника, в том числе активируя локальную систему комплемента. Поскольку ангиотензин II является провоспалительным фактором и вызывает апоптоз кишечных эпителиоцитов, нарушая барьерные свойства эпите-

лия, в этой связи можно предполагать опосредованное участие Кат G в повышении проницаемости эпителиального слоя при воспалении. Сигнальные свойства C1q обуславливают его участие в адгезии клеток [9], что, в свою очередь, предполагает опосредованное взаимодействие C1q с кадгеринами, такими, как десмоглеин 2 и E-кадгерин, локализованными ранее нами в СОДПК [10].

Ко-локализация белков клеточной адгезии, C1q и Кат G в эпителии СОДПК свидетельствует о возможности их взаимодействия при дифференцированном участии в регуляции тканевого метаболизма, модификации и поддержании барьерных свойств эпителия с участием локальных РАС при развитии защитного и/или патологического процессов.

1. Sumagin R., Parkos C.A. Epithelial adhesion molecules and the regulation of intestinal homeostasis during neutrophil transepithelial migration // *Tissue Barriers*. 2015. V.3. №1-2. P.e969100
2. Korkmaz B., Moreau T., Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions // *Biochimie*. 2008. V.90. P.227-242.
3. Замолотчикова Т.С., Толпыго С.М., Шойбонов Б.Б., Котов А.В. Катепсин G человека — многофункциональная протеаза иммунитета // *Иммунология*. 2018. Т.39. №2-3. С.151-157.
4. Замолотчикова Т.С., Щербаков И.Т., Хренников Б.Н. и др. Катепсин G в иммунной защите двенадцатиперстной кишки человека: новые источники биосинтеза // *Физиология человека*. 2017. Т.43. №3. С.102-110.
5. Замолотчикова Т.С., Толпыго С.М., Смирнская Е.В. Роль катепсина G в модуляции иммунных реакций с участием локальных ренин-ангиотензиновых систем // *Медицинская иммунология*. 2017. Т.19. Специальный выпуск. С.41.
6. Yui S., Osawa Y., Ichisugi T., Morimoto-Kamata R. Neutrophil Cathepsin G, but Not Elastase, Induces Aggregation of MCF-7 Mammary Carcinoma Cells by a Protease Activity-Dependent Cell-Oriented Mechanism // *Mediators Inflamm*. 2014. V.2014. P.971409. doi: 10.1155/2014/971409.
7. Sina C., Kemper C., Derer S. The intestinal complement system in inflammatory bowel disease: Shaping intestinal barrier function // *Semin. Immunol*. 2018. V.37. P.66-73. doi: 10.1016/j.smim.2018.02.008.
8. Luft F.C., Dechend R., Müller D.N. Immune mechanisms in angiotensin II-induced target-organ damage // *Ann. Med*. 2012. V.44. Suppl. 1. P.S49-54. doi: 10.3109/07853890.2011.653396.
9. Thielens N.M., Tedesco F., Bohlson S.S. et al. C1q: A fresh look upon an old molecule // *Mol. Immunol*. 2017. V.89. P.73-83. doi: 10.1016/j.molimm.2017.05.025.
10. Замолотчикова Т.С., Толпыго С.М., Смирнская Е.В. Кадгерины и катепсин G в регуляции гомеостаза и защитных реакций в кишечном эпителии. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология // 2018. Т.154. №6. С.74–77.

References

1. Huo Sumagin R., Parkos C.A. Epithelial adhesion molecules and the regulation of intestinal homeostasis during neutrophil transepithelial migration. *Tissue Barriers*, 2015, vol. 3, no. 1-2, pp. 96-100.
2. Korkmaz B., Moreau T., Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions. *Biochimie*, 2008, vol. 90, pp. 227-242.
3. Zamolodchikova T.S., Tolpygo S.M., Shoybonov B.B., Kotov A.V. Cathepsin G cheloveka — mnogofunktsional'naya proteaza immuniteta [Human cathepsin G — multifunctional protease of immunity]. *Immunologiya*, 2018, v.39, no.2-3, p.151-157.

4. Zamolodchikova T.S., Shcherbakov I.T., Khrennikov B.N. et al. Kathepsin G v immunoj zashchite dvenadtsati-perstnoj kishki cheloveka: novye istochniki biosin-teza [Cathepsin G in the immune defense of the human duodenum: new sources of biosynthesis]. *Fiziologija cheloveka*, 2017, v.43, no.3, p.102-110.
5. Zamolodchikova T.S., Tolpygo S.M., Svirshchevskaia E.V. Rol' katepsina G v moduliatsii immunnykh reaktsii s uchastiem lokal'nykh renin-angiotenzinovykh sistem [The role of cathepsin G in the modulation of immune reactions involving local renin-angiotensin systems]. *Medical Immunology (Russia)*, 2017, vol. 19. Special issue. P.41.
6. Yui S., Osawa Y., Ichisugi T., Morimoto-Kamata R. Neutrophil Cathepsin G, but Not Elastase, Induces Aggregation of MCF-7 Mammary Carcinoma Cells by a Protease Activity-Dependent Cell-Oriented Mechanism. *Mediators Inflamm.*, 2014, pp. 97-109. doi: 10.1155/2014/971409.
7. Sina C., Kemper C., Derer S. The intestinal complement system in inflammatory bowel disease: Shaping intestinal barrier function. *Semin. Immunol.*, 2018, vol. 37, pp.66-73. doi: 10.1016/j.smim.2018.02.008.
8. Luft F.C., Dechend R., Müller D.N. Immune mechanisms in angiotensin II-induced target-organ damage. *Ann. Med.*, 2012, vol.44, suppl.1, pp. 49-54. doi: 10.3109/07853890.2011.653396.
9. Thielens N.M., Tedesco F., Bohlson S.S. et al. C1q: A fresh look upon an old molecule. *Mol. Immunol.*, 2017, vol.89, pp.73-83. doi: 10.1016/j.molimm.2017.05.025.
10. Zamolodchikova T.S., Tolpygo S.M., Svirshchevskaia E.V. Kadgeriny i katepsin G v reguliatsii gomeostaza i zashchitnykh reaktsii v kischechnom epiteli [Cadherins and cathepsin G in the regulation of homeostasis and protective reactions in the intestinal epithelium]. *Eksperimental'naja i klinicheskaja gastroenterologija*, 2018, vol.154, no. 6, pp. 74–77.