® Postepy Hig Med Dosw (online), 2012; 66: 104-119
e-ISSN 1732-2693

www.phmd.pl
Review

Received: 2011.11.30
Accepted: 2012.02.03
Published: 2012.02.29

Rola receptorów zmiataczy klasy A, SR-A i MARCO, w układzie odpornościowym. Część 1. Budowa receptorów, repertuar wiązanych ligandów i zdolność do transdukcji sygnału*

The role of the class A scavenger receptors, SR-A and MARCO, in the immune system. Part 1. The structure of receptors, their ligand binding repertoires and ability to initiate intracellular signaling

Szczepan Józefowski

Katedra i Zakład Immunologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Streszczenie

W rozpoznaniu patogenów przez komórki odporności wrodzonej pośredniczą tzw. receptory rozpoznające wzrorce molekularne (PRR), do których zaliczane są receptory zmiatacze (SR). Receptory zmiatacze klasy A, SR-A/CD204 i MARCO, cechuje obecność domeny kolagenowej i charakterystycznej dla SR domeny bogatej w cysteinę (SRCR) w ich zewnątrzkomórkowej części. Głównym miejscem ich ekspresji są makrofagi i komórki dendrytyczne. Dzięki zdolności do wiązania bardzo wielu polianionowych ligandów SR klasy A uczestniczą w licznych funkcjach tych komórek, takich jak różne postaci endocytozy, adhezja do macierzy zewnątrzkomórkowej i do innych komórek. Do ligandów SR-A należą utlenione lipoproteiny i białka amyloidu-β, co wiąże SR-A z patogenezą arteriosklerozy i choroby Alzheimera. Mimo wykazania ważnej roli SR klasy A w tak wielu procesach, brak selektywnych ligandów uniemożliwiał jednoznaczne stwierdzenie czy receptory te zdolne są do transdukcji sygnału. W naszych badaniach, stosując selektywną ligację receptorów z użyciem przeciwciał wykazaliśmy, że SR-A i MARCO aktywują wewnątrzkomórkowy przekaz sygnału, modulujący aktywność prozapalną i bakteriobójczą makrofagów. Co zaskakujące, mimo podobieństw struktury i repertuaru wiązanych ligandów, SR-A i MARCO wywierają przeciwstawny, negatywny *versus* pozytywny wpływ na wytwarzanie w makrofagach interleukiny 12 (IL-12). Ligacja SR-A stymuluje ponadto wytwarzanie H_2O_2 i IL-10, ale nie wpływa na uwalnianie innych cytokin. Ograniczone skutki swoistej ligacji SR-A kontrastują z uogólnionym nasileniem reakcji odpornościowych obserwowanym u myszy pozbawionych SR-A. Niedawne badania ujawniły, że ten fenotyp komórek i zwierząt pozbawionych SR-A może być spowodowany w większym stopniu przez kompensacyjne zmiany ekspresji innych receptorów i/lub przez usunięcie hamującego wpływu wywieranego przez wewnątrzkomórkowy SR-A na transdukcję sygnału z receptorów należących do rodziny Toll/receptor IL-1, niż przez utratę funkcji receptorowej SR-A.

Słowa kluczowe: **SR-A • MARCO • rozpoznanie immunologiczne • receptory rozpoznające wzorce • oligodeoksynukleotydy CpG • *Candida albicans***

* Praca finansowana przez Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum grant nr K/ZDS/002326.

Summary

Recognition of pathogens by innate immune cells is mediated by pattern recognition receptors (PRR), which include scavenger receptors (SR). The class A SR, SR-A/CD204 and MARCO, are characterized by the presence of collagenous and SR cysteine-rich domains in their extracellular portions. Both receptors are expressed mainly on macrophages and dendritic cells. Thanks to their ability to bind to a wide range of polyanionic ligands, the class A SR may participate in numerous functions of these cells, such as endocytosis, and adhesion to extracellular matrix and to other cells. Among SR-A ligands are oxidized lipoproteins and β-amyloid fibrils, which link SR-A to the pathogenesis of arteriosclerosis and Alzheimer's disease. Despite the demonstration of class A SR involvement in so many processes, the lack of selective ligands precluded reaching definite conclusions concerning their signaling abilities. Using specific receptor ligation with antibodies, we showed that SR-A and MARCO trigger intracellular signaling, modulating pro-inflammatory and microbicidal activities of macrophages. Surprisingly, despite similarities in structure and ligand binding repertoires, SR-A and MARCO exert opposite effects on interleukin-12 (IL-12) production in macrophages. SR-A ligation also stimulated H_2O_2 and IL-10 production, but had no effect on the release of several other cytokines. These limited effects of specific SR-A ligation contrast with generalized enhancement of immune responses observed in SR-A-deficient mice. Recent studies have revealed that many of these effects of SR-A deficiency may be caused by compensatory changes in the expression of other receptors and/or disinhibition of signal transduction from receptors belonging to the Toll/IL-1R family, rather than by the loss of the receptor function of SR-A.

Key words: **SCARA1 • SCARA2 • immune recognition • pattern recognition receptors • CpG oligodeoxynucleotides • *Candida albicans***

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=984079

Word count: 7530
Tables: 1
Figures: 2
References: 98

Adres autora: dr Szczepan Józefowski, Katedra Immunologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Czysta 18, 31-121 Kraków; e-mail: szjozefowski@poczta.onet.pl

Wykaz skrótów: **AcLDL** – acetylowany LDL; **AGE** – końcowe produkty zaawansowanej glikacji (advanced glycation end products); **AM** – makrofagi pęcherzyków płucnych (alveolar macrophages); **APC** – komórki prezentujące antygeny (antigen presenting cells); **CF** – czynnik wiązkowy (cord factor); **CpG-ODN** – oligodeoksynukleotydy zawierające sekwencję CpG; **CR3** – receptor dopełniacza 3 (complement receptor 3); **CpG-A/B** – CpG-ODN klasy A/B; **DC** – komórki dendrytyczne (dendritic cells); **ERK** – kinazy białkowe regulowane przez bodźce zewnątrzkomórkowe (extracellular signal-regulated kinases); **Flt3L** – ligand podobnej do fms kinazy tyrozynowej 3 (fms-like tyrosine kinase 3 ligand); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte/macrophage colony stimulating factor); **IFN** – interferon; **IL** – interleukina; **iNOS** – indukowalna syntaza tlenku azotu (inducible nitric oxide synthase); **IP-10** – indukowane przez IFN-γ białko 10 (IFN-γ-inducible protein 10); **IRAK** – kinaza związana z receptorem IL-1 (IL-1 receptor-associated kinase); **IRF3** – czynnik regulujący gen dla interferonu 3 (interferon regulatory factor 3); **JNK** – kinaza N-końca c-Jun (c-Jun N-terminal kinase); **LDL** – lipoproteiny o małej gęstości (low density lipoproteins); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **LTA** – kwas lipotejchowy (lipoteichoic acid); **MARCO** – receptor makrofagów z domeną kolagenową (macrophage receptor with collagenous domain); **M-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów (macrophage colony stimulating factor); **Mincle** – indukowana w makrofagach lektyna typu C (macrophage inducible C-type lectin); **MIP** – białko hamujące makrofagi (macrophage inhibitory protein); **oxLDL** – utleniony LDL (oxidized LDL); **PAMP** – wzorce molekularne związanie z patogenami (pathogen-associated molecular patterns); **PEM** – makrofagi wysięku otrzewnowego (peritoneal exudate macrophages); **poli-C/G/I/U** – homopolimery nukleotydów C/G/I/U; **poli-I, C** – dwuniciowy RNA złożony z nici poli-I i poli-C; **PS-ODN** – ODN

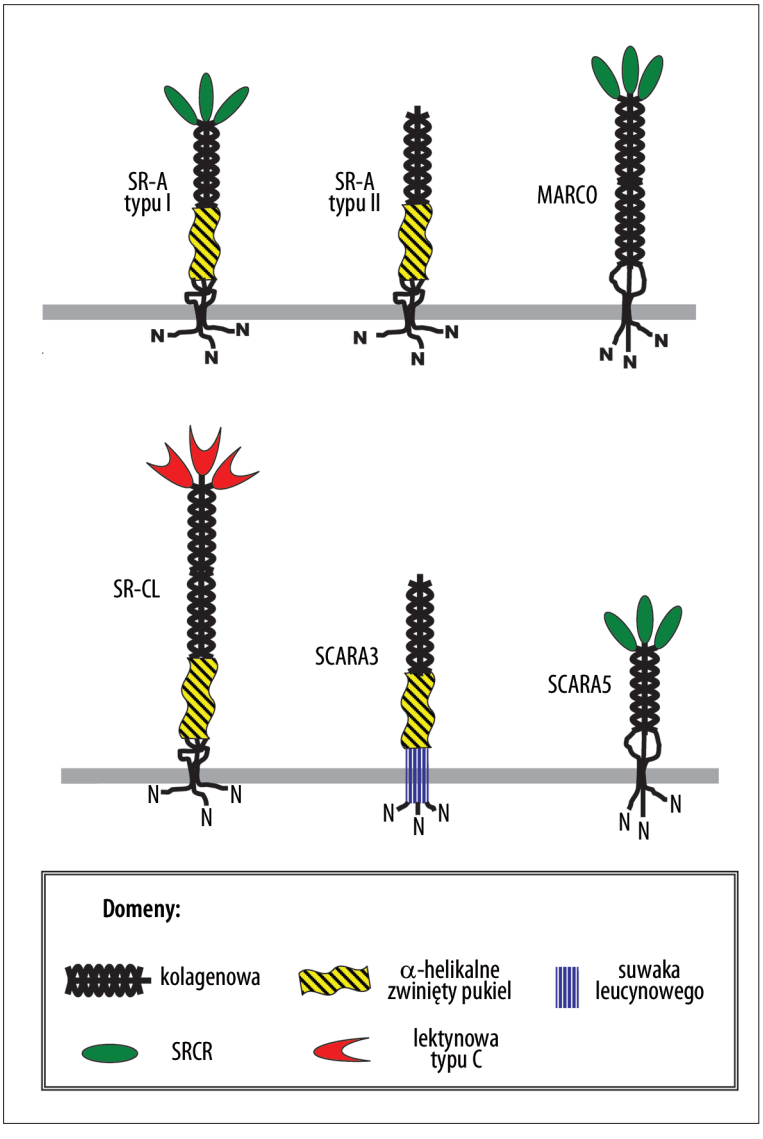
z ugrupowaniami fosforanowymi podstawionymi atomami siarki (phosphorothioate ODN); **SR** – receptory zmiatacze (scavenger receptors); **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor); **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów-α (tumor necrosis factor-α); **TRAF6** – związany z receptorem TNF czynnik 6 (TNF receptor-associated factor 6); **SP-A** – białko surfaktantu A (surfactant protein A); **SRCR** – charakterystyczna dla SR domena bogata w cysteinę (scavenger receptor cysteine-rich domain); **WT** – szczep dziki (wild type).

1. Podział i budowa receptorów zmiataczy

Receptory zmiatacze (SR) opisali w 1979 roku Goldstein i wsp. jako receptory pośredniczące w wychwycie przez makrofagi zmodyfikowanych kowalencyjnie (np. acetylowanych) lipoprotein o małej gęstości (LDL) [29]. W wyniku kowalencyjnej modyfikacji ładunki dodatnie grup ε-aminowych lizyn zostają zneutralizowane, co nadaje LDL wypadkowy ładunek ujemny. Ważną rolę wypadkowego ładunku ujemnego w wiązaniu ligandów do SR potwierdza to, że SR wiążą także wiele innych polianionów (ale nie wszystkie), w tym niebiałkowych. Niedługo potem odkryto, że SR pośredniczą również w wychwycie utlenionego LDL (oxLDL), co powiązało SR z patomechanizmem arteriosklerozy [87]. Po związaniu do SR na makrofagach, oxLDL jest internalizowany i hydrolizowany w lizosomach, a uwolniony cholesterol podlega ponownej estryfikacji w cytoplazmie. Masywne odkładanie się pochodzących z oxLDL estrów cholesterolu w makrofagach prowadzi do przekształcenia się tych komórek w tzw. komórki piankowe (foam cells), będące głównym składnikiem wczesnych blaszek miażdżycowych w ścianach naczyń krwionośnych [87].

1.1. SR-A

W 1990 roku sklonowano pierwszy SR, nazwany receptorem klasy A (SR-A) [55,79]. Głównym miejscem ekspresji



Ryc. 1. Budowa receptorów zmiataczy klasy A

Tabela 1. Ligandy SR-A i podobne do nich substancje niewiązane przez SR-A

	Wiązane	Niewiązane
Natywne białka	apolipoproteiny A-I i E4, białko prekursora amyloidu-β, białka szoku cieplnego, kalretikulina, białko C-reaktywne, białko NS3 wirusa zapalenia wątroby typu C, kolagen typu IV, owalbumina	kolagen typu I i III, albumina
Zdenaturowane białka	włókna β-amyloidu, kolagen typu I i III	kolagen typu IV
Kowalencyjnie zmodyfikowane białka	utleniony LDL, acetylowany LDL, malonodialdehyd-LDL, AGE-białka maleilowany LDL/albumina	LDL, acetylowana albumina
Kwasy nukleinowe	poli-I, poli-G, dwuniciowy RNA, PS-ODN	poli-A, poli-C, poli-U
Fosfolipidy	fosfatydyloseryna	fosfatydylocholina
Siarczany polisacharydów	siarczan dekstranu, fukoidan, karraginan	heparyna, siarczan chondroityny
Proteoglikany	biglikan, dekoryna, agrekan	
Glikolipidy	LPS, LTA, sulfatydy, czynnik wiązkowy	
Cząstki pyłu	TiO_2, Fe_2O_3, SiO_2, polistyren, krokidolitowy azbest	

SR-A są makrofagi, komórki dendrytyczne (DC) i komórki śródbłonkowe zatok żylnych wątroby, odgrywające ważną rolę w filtrowaniu krwi [6,42]. Ostatnie badania ujawniły jednak, że SR-A jest bardziej rozpowszechniony niż początkowo sądzono i np. występuje także na niektórych komórkach nabłonkowych i fibroblastach [16,62]. Co ciekawe, SR-A obecny jest na powierzchni DC wyhodowanych z komórek szpiku kostnego myszy pod wpływem czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF), ale nie pod wpływem liganda podobnej do fms kinazy tyrozynowej 3 (Flt3L). SR-A występuje *in vivo* na około 25% śledzionowych DC, głównie o fenotypie $CD11b^+$ $CD4^-$ $CD8a^-$ [6].

W natywnej postaci SR-A jest trimerem identycznych, częściowo oplecionych wokół siebie spiralnie polipeptydów (ryc. 1). Jego zewnątrzkomórkową część tworzą 4 domeny: krótki łącznik, domena „α-helikalnie zwinięty pukiel", domena kolagenowa i najbardziej dystalna, C-końcowa charakterystyczna dla SR domena bogata w cysteinę (SRCR). SRCR zawiera sześć reszt cysteinowych tworzących mostki siarkowe stabilizujące tę globularną domenę.

W wyniku alternatywnej obróbki mRNA powstają dwie postaci receptora: receptory typu I i II, przy czym w receptorze typu II brak domeny SRCR (ryc. 1). W wiązaniu ligandów do SR-A prawdopodobnie pośredniczy domena kolagenowa, zawierająca w C-końcowej części skupienie dodatnio naładowanych reszt lizynowych, tworzących wiązania jonowe z ujemnie naładowanymi ligandami [17]. Jednak to, że nie wszystkie polianiony są ligandami SR-A wskazuje, że w wiązaniu się ligandów do SR-A ważną rolę odgrywać może także rozmieszczenie przestrzenne ładunków elektrycznych (tab. 1).

SR-A wiąże bardzo różnorodne ligandy, obejmujące przedstawicieli wszystkich głównych typów makromolekuł, które mogą być zarówno endo- jak i egzogenne (tab. 1). Ta mnogość ligandów umożliwia SR-A udział w licznych funkcjach makrofagów. Oprócz endocytozy oxLDL, SR-A pośredniczy także w endocytozie lub adhezji makrofagów do innych natywnych, zdenaturowanych lub kowalencyjnie zmodyfikowanych białek. Ligandami SR-A są białka zmodyfikowane przez końcowe produkty zaawansowanej glikacji (AGE) [20,40], które akumulują się w tkankach wraz z wiekiem i u chorych na cukrzycę oraz białka amyloidu β [19], którego złogi tworzą się w mózgach chorych na chorobę Alzheimera. SR-A jest także jednym z wielu receptorów pośredniczących w wychwycie komórek apoptotycznych [74] i uczestniczy w adhezji makrofagów do składników macierzy międzykomórkowej, takich jak proteoglikany [81] i kolagen [30] oraz do innych komórek, np. limfocytów B [50,95]. Dzięki zdolności do wiązania składników macierzy zewnątrzkomórkowej SR-A wydaje się uczestniczyć w migracji makrofagów do ognisk zapalnych [81,93]. Co ciekawe, SR-A odpowiada również za swoistą dla makrofagów zdolność do przylegania do naczyń hodowlanych w obecności surowicy, a przy braku kationów dwuwartościowych [26].

1.2. MARCO

W 1995 r. sklonowano drugiego przedstawiciela rodziny SR klasy A – MARCO [21]. W zewnątrzkomórkowej części MARCO różni się od SR-A brakiem domeny α-helikalnie zwiniętego pukla, natomiast jego domena kolagenowa jest prawie czterokrotnie dłuższa od tej występującej w SR-A (ryc. 1). Mimo to wykazano, że wiązanie ligandów zachodzi do domeny SRCR w MARCO raczej niż do jego domeny kolagenowej [9,22]. MARCO różni się od SR-A także ekspresją. Podczas gdy SR-A występuje pospolicie na różnych populacjach makrofagów, ekspresja MARCO u myszy hodowanych w warunkach wolnych od patogenów jest ograniczona do makrofagów strefy brzeżnej

śledziony, makrofagów otrzewnowych i makrofagów w strefie rdzennej węzłów chłonnych [21]. Zaobserwowano ponadto różnice ekspresji MARCO u różnych szczepów myszy, np. MARCO podlega konstytutywnej ekspresji w makrofagach pęcherzyków płucnych (AM) myszy szczepu C57BL/6, ale nie Balb/c [31]. U człowieka MARCO podlega ekspresji w AM, makrofagach zatok węzłów chłonnych i komórkach Kupffera w wątrobie [4,23,72]. MARCO wykazuje podobny do SR-A repertuar wiązanych ligandów. Tak jak SR-A, MARCO ma zdolność wiązania cząstek pyłu (TiO_2, SiO_2, Fe_2O_3, kulek polistyrenowych) i niebiałkowych polianionowych makromolekuł (siarczanu dekstranu, fukoidanu, karraginanu, homopolimerów nukleotydów inozynowych i guanylowych). Najlepiej scharakteryzowaną funkcją MARCO jest jego udział w fagocytozie. MARCO wraz z SR-A są głównymi receptorami pośredniczącymi w niewymagającej opsonin fagocytozie bakterii i innych cząstek przez makrofagi i DC [2,3,72,91].

1.3. Inne receptory należące do rodziny SR klasy A

Oprócz SR-A (SCARA1) i MARCO (SCARA2) do rodziny SR klasy A należą 2 inne białka: SCARA3 (synonim: cellular stress response 1 – CSR1) i SCARA5 (synonim: testis expressed scavenger – Tesr). Struktura SCARA3 jest podobna do struktury zewnątrzkomórkowej części SR-A typu II (ryc. 1). Jest on homotrimerem zorganizowanym w 3 domeny: podobną do zamka leucynowego (być może transbłonową), α-helikalnie zwiniętego pukla i kolagenową [33]. Ekspresję SCARA3 w wielu typach komórek indukuje stres oksydacyjny i receptor ten działa jako wymiatacz rodników tlenowych [33] i antyonkogen (poprzez interferencję z dojrzewaniem mRNA) [98]. Z kolei SCARA5 zbudowany jest z tych samych typów domen, co MARCO: wewnątrzkomórkowej, transbłonowej, zewnątrzkomórkowego łącznika, kolagenowej i SRCR (ryc. 1). Komórki transfekowane SCARA5 wiązały bakterie *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*, ale nie oxLDL ani acetylowany LDL (AcLDL), a wiązanie bakterii hamowały niebiałkowe polianionowe ligandy SR. U dorosłych myszy ekspresja SCARA5 wydaje się ograniczona do niektórych populacji komórek nabłonkowych błon śluzowych, z największą ekspresją występującą w komórkach Sertoliego jąder [43]. Inne funkcje SCARA5 obejmują jego rolę jako receptora L-ferrytyny, uczestniczącego w dostarczaniu komórkom żelaza [61]. Podobnie jak SCARA3, SCARA5 jest także antyonkogenem [38]. Ponieważ nie stwierdzono ekspresji SCARA5 na mieloidalnych komórkach prezentujących antygeny (APC): makrofagach i DC, nie będzie on dokładniej omawiany. Do rodziny SR klasy A zaliczany jest ponadto przez niektórych autorów SR z domeną lektynową typu C (scavenger receptor with C-type lectin domain – SR-CL; collectin placenta 1 – CL-P1; SCARA4). Receptor ten należałoby jednak zaliczać do rodziny kolektyn, a nie do SR klasy A ponieważ ma on budowę typową dla tej pierwszej grupy białek, tzn. występują w nim domeny kolagenowa i lektynowa typu C, ale brak w nim domeny SRCR (ryc. 1). SR-CL podlega ekspresji w komórkach łożyska, komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych, ludzkich AM i na komórkach mysiej makrofagowej linii J774 [67,83]. SR-CL wiąże za pośrednictwem domeny kolagenowej i fagocytuje nie tylko bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, ale także drożdże (zymosan). SRCL wiąże także oxLDL i wiele polianionowych ligandów SR, ale nie AcLDL [69].

Oprócz SR klasy A, sztuczna rodzina SR (grupująca niespokrewnione receptory) obejmuje wiele innych, nieraz bardzo różniących się strukturalnie receptorów, które łączy zdolność do wiązania oxLDL. Jednak następstwa genetycznej delecji receptorów wskazują, że za wychwyt oxLDL przez makrofagi odpowiadają prawie w całości SR-A i SR klasy B – CD36 [59] i że SR-A jest głównym receptorem AcLDL [88].

2. Mechanizm wiązania i internalizacji ligandów przez SR klasy A

2.1. Wiązanie ligandów

Jak już wspomniano w poprzednim rozdziale, w wiązaniu ligandów do SR-A pośredniczy jego domena kolagenowa [17] i dotąd nie udało się przypisać funkcji domenie SRCR, obecnej w SR-A typu I, ale nie typu II. Obserwacja, że oxLDL tylko częściowo blokuje wiązanie AcLDL do SR-A, chociaż AcLDL całkowicie blokuje wiązanie oxLDL sugeruje, że wiązanie tych ligandów może zachodzić do nieidentycznych, oddziaływających ze sobą miejsc wiążących w domenie kolagenowej SR-A [27]. Mimo że homologiczna domena kolagenowa w MARCO jest kilkakrotnie dłuższa od tej występującej w SR-A, to wykazano, że to domena SRCR odpowiada za wiązanie ligandów do tego receptora. Wydaje się, że w domenie SRCR MARCO występują różne miejsca wiążące dla różnych ligandów [12,90]. Istnienie różnych miejsc wiążących mogłoby tłumaczyć obserwację, że niektóre ligandy MARCO, np. krystaliczna krzemionka, mają aktywność agonistyczną, podczas gdy inne, np. cząstki TiO_2, nie wywołują aktywacji makrofagów (podlegają tzw. flogistycznej fagocytozie). W wiązaniu bakterii do ludzkiego MARCO główną rolę odgrywają 22 początkowe reszty aminokwasowe domeny SRCR, zawierające motyw RGR [9,22]. Chociaż MARCO z mutacją delecyjną, zawierający tylko pierwsze 17-22 reszt aminokwasowych domeny SRCR wraz z motywem RGR, wiązał bakterie, to tak zmodyfikowany receptor nie wiązał cząstek TiO_2 ani krzemionki [12,90]. Oprócz skupienia reszt argininy (motyw RXR), ważną rolę w wiązaniu niektórych ligandów przez domenę SRCR MARCO wydaje się pełnić występująca w niej pętla zawierająca reszty kwaśnych aminokwasów i prawdopodobnie wiążąca jony metali [70]. W przeciwieństwie do SR-A, kationy dwuwartościowe są konieczne do wiązania niektórych ligandów przez MARCO, a mianowicie zdenaturowanego kolagenu typu I (żelatyny), kwasu poliinozynowego i cząstek TiO_2, ale nie kryształków krzemionki [70]. Ponieważ powierzchnia TiO_2 jest o wiele bardziej naładowana ujemnie niż powierzchnia krzemionki [90], rola kationów w wiązaniu ligandów do MARCO mogłaby polegać na zmniejszeniu odpychania elektrostatycznego pomiędzy negatywnie naładowanymi ligandami i skupieniem reszt kwaśnych aminokwasów występującym w pętli domeny SRCR.

Dostępne aktualnie przeciwciało anty-MARCO klonu ED31 rozpoznaje epitop w domenie SRCR i hamuje wiązanie ligandów do tej domeny. Ku naszemu zaskoczeniu, okazało się, że przeciwciało to nie hamowało wiązania do MARCO zidentyfikowanych przez nas nowych ligandów tego receptora: oligodeoksynukleotydów (ODN) i żywych drożdżaków *Candida albicans* [47,48]. Wysunęliśmy w związku z tym hipotezę, że przeciwciało ED31 jest niezdolne do

hamowania wiązania ODN i *C. albicans* ponieważ miejsce wiązania tych ligandów znajduje się poza domeną SRCR, być może w domenie kolagenowej MARCO. Taką ewentualność uprawdopodobniało to, że MARCO zawiera skupienie reszt aminokwasów zasadowych w końcowej części domeny kolagenowej, które występuje także w SR-A i pośredniczy w wiązaniu ligandów przez ten receptor [17,22]. Powyższą hipotezę testowaliśmy z użyciem komórek jajnikowych chomika chińskiego (CHO) transfekowanych delecyjnymi mutantami MARCO, w których brakowało różnej długości sekwencji domeny SRCR. Stwierdziliśmy, że transfekcja komórek niezmutowanym MARCO nasiliła wiązanie kulek polistyrenowych, *S. aureus* i *C. albicans*. W komórkach transfekowanych wariantem MARCO, którego domena SRCR zawierała tylko pierwsze 22 reszty aminokwasowe, wiązanie bakterii było zachowane chociaż obniżone, natomiast zdolność do wiązania kulek polistyrenowych była utracona całkowicie. Komórki CHO transfekowane mutantem receptora, z którego usunięto całą domenę SRCR nie wiązały ani *S. aureus* ani kulek polistyrenowych. Natomiast wiązanie *C. albicans* do obu form MARCO z obciętą domeną SRCR było nie tylko zachowane, ale nawet nasilone, co potwierdzało naszą hipotezę [48]. Na obecnym etapie badań wydaje się prawdopodobne, że *C. albicans* może dzielić miejsce wiązania w domenie kolagenowej MARCO z ODN. Tę możliwość wspiera obserwacja, że w komórkach J774 ze zwiększoną ekspresją MARCO ODN hamowały w ponad 50% wychwyt *C. albicans*, ale nie miały wpływu na wychwyt kulek polistyrenowych [48]. Można spekulować, że wspólnym swoistym ligandem MARCO w ODN i *C. albicans* są reszty fosforanowe, które odpowiadają za wypadkowy ujemny ładunek elektryczny zarówno ODN, jak i powierzchni *C. albicans* [35]. Być może także w wiązaniu bakterii do MARCO, oprócz motywu RGR w domenie SRCR, odgrywa pewną rolę sąsiadująca domena kolagenowa, ponieważ wyizolowana rekombinowana domena SRCR MARCO wiązała się bardzo słabo do bakterii [80].

2.2. Internalizacja rozpuszczalnych ligandów przez SR-A

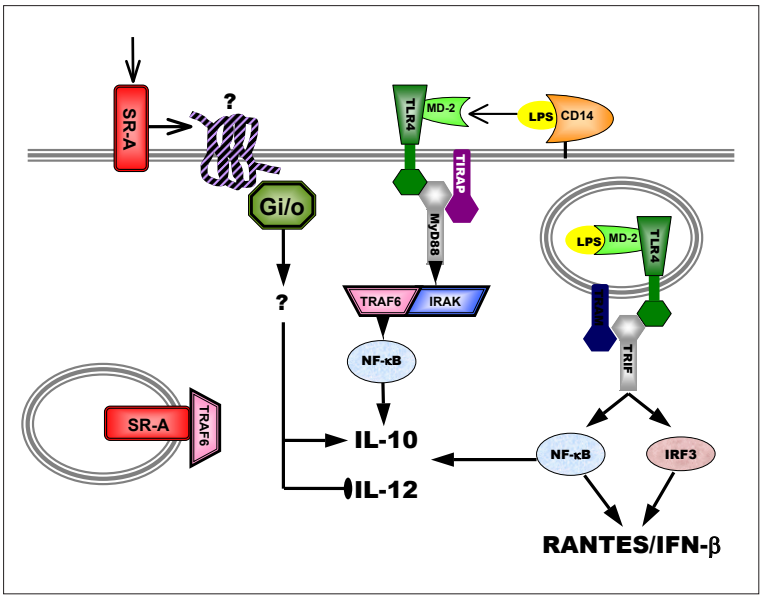
Endocytoza związanych przez SR-A zmodyfikowanych lipoprotein zachodzi głównie poprzez dołki opłaszczone klatryną i być może w mniejszym stopniu także poprzez kaweole/tratwy lipidowe i za pośrednictwem makropinocytozy [97]. Po związaniu ligandów SR-A przemieszczają się do dołków opłaszczonych klatryną a następnie podlegają raptownej internalizacji do endosomów. W endosomach ligandy oddysocjowują od receptorów i są transportowane w obrębie endosomów do lizosomów, podczas gdy wolny SR-A powraca na powierzchnię komórki. Rolę sensora pH, odpowiedzialnego za oddysocjowanie ligandów w kwaśnym środowisku endosomów wydaje się pełnić reszta histydyny w pozycji 260 domeny α-helikalnie zwiniętego pukla SR-A. Jej zamiana na resztę leucyny zapobiega wywołanemu przez kwaśne pH oddysocjowaniu ligandów od receptora i powrotowi receptora na powierzchnię komórki [18].

W endocytozie związanych przez SR-A ligandów zaangażowana jest jego domena wewnątrzkomórkowa, licząca ~50 reszt aminokwasowych [57]. Natura motywu sygnałowego do internalizacji w cytoplazmatycznej części SR-A nie została jeszcze całkowicie wyjaśniona. Główną rolę w internalizacji przypisywano pierwszym 27 N-końcowym resztom aminokwasowym, zwłaszcza fragmenowi 18–27, zawierającemu motyw VXFD [65]. Delecja pierwszych 27 reszt aminowkasowych SR-A obniżyła endocytozę AcLDL o ~60–72% [13,65]. Jednakże punktowe mutacje w obrębie sekwencji VXFD zahamowały internalizację kompleksu SR-A z AcLDL najwyżej w dwudziestukilku procentach [65]. Mniejszą w porównaniu z fragmentem 18–27 rolę w internalizacji ligandów przez SR-A wydaje się pełnić także motyw dwu sąsiadujących leucyn w pozycjach 31 i 32. Jego mutacja obniżyła wychwyt AcLDL o ~38% [13]. Ważną rolę w regulacji tempa internalizacji ligandów przez SR-A prawdopodobnie odgrywa również fosforylacja reszt serynowych w pozycjach 21 i 49 (48 w przypadku ludzkiego receptora) jego domeny cytoplazmatycznej, która być może wpływa na stopień ekspozycji motywów sygnałowych do internalizacji. Uniemożliwienie fosforylacji seryny w pozycji 49 przez zastąpienie jej resztą alaniny obniżyło o ~30% wychwyt AcLDL. Natomiast fosforylacja seryny w pozycji 21 SR-A wydaje się hamować endocytozę [25]. W późniejszych badaniach Ricci i wsp. [78] wykazali, że do internalizacji związanych przez SR-A zmodyfikowanych LDL konieczna jest fosforylacja seryn lub seryny w części cytoplazmatycznej receptora przez kinazę białkową N-końca c-Jun 2 (JNK2) [78]. Wyniki ostatnich badań sugerują, że aktywację kinaz białkowych p38 i JNK wywołuje endocytoza AcLDL za pośrednictwem kaweoli. A endocytoza poprzez opłaszczone klatryną dołki związana jest z aktywacją kinaz regulowanych przez bodźce zewnątrzkomórkowe (ERK) [97].

3. Zdolność SR klasy A do transdukcji sygnału

3.1. Wpływ nieselektywnych ligandów SR na aktywność komórek

Wykazanie ważnej roli SR-A w odporności wrodzonej, a także w patogenezie arteriosklerozy, choroby Alzheimera i w patologiach towarzyszących cukrzycy było motywem intensywnych badań nad zdolnością SR-A do transdukcji sygnału. Jednakże, mimo że obserwowano wpływ ligandów SR na różnorakie funkcje makrofagów [36,37,75], nieselektywność użytych ligandów uniemożliwiała bezsporną identyfikację pośredniczących receptorów. Na przykład użyte w tych doświadczeniach niebiałkowe polianiony, takie jak siarczan dekstranu czy fukoidan, wiążą się do większości SR (być może z wyjątkiem SR klasy B), a nawet do receptorów niezaliczanych do SR, np. selektyn [63]. Z kolei (z definicji) utleniony LDL wiąże się do wszystkich typów SR, a ponadto utlenienie LDL generuje aktywne biologicznie przekaźniki z jego części lipidowej, które działają przez jeszcze inny zestaw receptorów [11]. Problemy związane z nieselektywnością ligandów starano się obejść badając wpływ tych ligandów w liniach komórkowych transfekowanych SR-A, w nadziei, że porównanie ich odpowiedzi z odpowiedziami nietransfekowanych komórek pozwoli na wydedukowanie komponentu swoistego dla SR-A. Jednak i to podejście nie przyniosło pożądanych wyników. Jednym z powodów mógło być to, że transfekowane komórki są niezdolne do generowania niektórych odpowiedzi swoistych dla makrofagów. Oprócz tego nieselektywne ligandy mogą aktywować endogenne receptory w transfekowanych komórkach. Na takie problemy natknęli



Ryc. 2. Główne szlaki wewnątrzkomórkowego przekazu sygnału aktywowane przez TLR4 i ich regulacja przez SR-A. Makrofagi wykrywają niskie stężenia LPS za pośrednictwem kompleksu receptorowego złożonego z zakotwiczonego w błonie za pomocą kotwicy glukozofosfatydyloinozytolowej receptora CD14 i heterodimeru TLR4 z MD-2 (myeloid differentiation-2). CD14 wiąże monomery LPS prezentowane przez rozpuszczalne białko wiążące LPS (nie pokazano) i przekazuje je do MD-2, co indukuje dimeryzację kompleksów TLR4/MD-2/LPS (nie pokazano). Dwa oddzielne szlaki transdukcji sygnału inicjowane są przez TLR4/MD-2 po aktywacji przez LPS. Szlak MyD88-zależny indukowany jest przez TLR4 umiejscowiony w błonie komórkowej, natomiast szlak MyD88-niezależny/TRIF-zależny inicjuje TLR4 umiejscowiony we wczesnych endosomach. Wytwarzanie cytokin prozapalnych, takich jak IL-12, i przeciwzapalnej IL-10 kontrolują oba szlaki, podczas gdy tylko szlak MyD88-niezależny odpowiada za indukcję wytwarzania IFN-β i chemokiny RANTES. Aktywacja powierzchniowego SR-A wywołuje selektywne zahamowanie stymulowanego przez LPS wytwarzania IL-12 i nasilenie wytwarzania IL-10. Te efekty ligacji SR-A hamuje toksyna krztuśca – selektywny inhibitor heterotrimerycznych białek Gi/o, co wskazuje, że transdukcja sygnału z SR-A wymaga kooperacji z niezidentyfikowanym jeszcze receptorem metabotropowym (siedmiokrotnie przebijającym błonę komórkową). Oprócz tego, wewnątrzkomórkowy SR-A może tonicznie hamować transdukcję sygnału z TLR4 poprzez wiązanie TRAF6 i sekwestrację kompleksu SR-A z TRAF6 w późnych endosomach

się w swoich badaniach Hsu i wsp. [37]. Badacze ci zaobserwowali fosforylację bliżej niezidentyfikowanych białek pod wpływem AcLDL i fukoidanu w linii ludzkiej melanomy transfekowanej SR-A typu I. Jednakże ligandy te stymulowały słabszą fosforylację tych samych białek także w nietransfekowanych komórkach. Ponadto wzór fosforylacji w transfekowanych komórkach był różny w przypadku fukoidanu i AcLDL, a oba ligandy stymulowały fosforylację jeszcze innych białek w ludzkich makrofagowych komórkach THP-1 [37].

Dodatkowy problem związany z użyciem nieselektywnych ligandów SR stanowi ich zanieczyszczenie produktami bakteryjnymi o bardzo dużej aktywności biologicznej, takimi jak lipopolisacharyd/endotoksyna (LPS) lub lipopeptydy bakteryjne. W rozpoznaniu tych produktów bakteryjnych pośredniczy związany z błoną za pośrednictwem kotwicy glukozofosfatydyloinozytolowej receptor CD14, kooperujący z receptorem Toll-podobnym 4 (TLR4) lub TLR2 (ryc. 2). Kim i wsp. [52] ustalili, że w stymulowanej przez ligandy SR-A, fukoidan i kwas lipotejchowy (LTA), aktywacji 3-kinazy fosfatydyloinozytoli i wytwarzaniu prozapalnej cytokiny – czynnika martwicy nowotworów-α (TNF-α) pośredniczy CD14, a nie SR-A. Fukoidan i LTA nie stymulowały tych odpowiedzi w makrofagach niemających CD14, natomiast odpowiedź makrofagów bez SR-A (SR-A$^{-/-}$) była podobna do odpowiedzi makrofagów pozyskanych od myszy szczepu dzikiego majacych ten receptor (WT) [52].

Spośród ligandów SR, AcLDL wydaje się jednym z najbardziej selektywnych względem SR-A [44,47]. Oprócz SR-A, zdolność do wiązania AcLDL wykazano jedynie w przypadku SR SREC-I i FEEL-1/stabiliny 1. Wyniki początkowych badań wskazywały, że AcLDL nie stymuluje w makrofagach tworzenia wtórnych przekaźników ani ekspresji genów [32,64]. Między innymi AcLDL użyty w stężeniu wysycającym SR-A nie indukował w makrofagach wytwarzania TNF-α, uwalniania kwasu arachidonowego ani nie modulował wytwarzania TNF-α stymulowanego przez LPS [32].

Jeszcze inne podejście metodologiczne polegało na porównaniu odpowiedzi makrofagów pochodzących od myszy SR-A$^{-/-}$ i makrofagów myszy WT. Wyniki początkowych badań tego typu sugerowały, że ligacja SR-A nie jest związana z prozapalną lub bakteriobójczą aktywacją makrofagów [39,73]. Na przykład, chociaż w makrofagach SR-A$^{-/-}$ drastycznie obniżona była fagocytoza bakterii Neisseria meningitidis, bakterie te stymulowały podobne wytwarzanie TNF-α, interleukiny 6 (IL-6), IL-10 i IL-12 w makrofagach SR-A$^{-/-}$ i w makrofagach WT [73]. Jednak, jak to omówiono w rozdziale 5, badania opierające się wyłącznie na porównaniu odpowiedzi komórek WT i komórek z unieczynnionym genem kodującym dany receptor mogą prowadzić do błędnych konkluzji dotyczących funkcji tego receptora.

3.2. Skutki selektywnej ligacji SR-A przez przeciwciało

Aby uniknąć komplikacji związanych z użyciem nieselektywnych ligandów, w naszych badaniach postanowiliśmy zastosować selektywną ligację SR-A z użyciem swoistego przeciwciała. Ponieważ jednak także przeciwciała mogą generować nieswoiste efekty, wynikające z wiązania

się z receptorami fragmentów Fc lub krzyżowego reagowania z innymi receptorami, nasze doświadczenia obejmowały liczne kontrole. Udział receptorów Fcγ testowany był poprzez porównanie efektów swoistego przeciwciała z efektami kontrolnego przeciwciała o tym samym izotypie i w badaniach z użyciem makrofagów pochodzących od myszy z delecją łańcucha γ receptorów Fc, które nie mają receptorów FcγRI i FcγRIII. To, że obserwowane efekty przeciwciał wynikały ze swoistego pobudzenia SR-A potwierdził ich brak w makrofagach pobranych od zwierząt niemających SR-A. Nieobecność efektów przeciwciała anty-SR-A w makrofagach SR-A$^{-/-}$ i, odwrotnie, ich obecność w makrofagach myszy szczepu C3H/HeJ, które nie są aktywowane przez LPS, wykluczają także możliwość, że za obserwowane efekty odpowiadają zanieczyszczenia mikrobiologiczne. W wyniku tych doświadczeń ustaliliśmy, że ligacja SR-A z użyciem przeciwciał wywołuje w makrofagach wybuch tlenowy, mierzony wytwarzaniem nadtlenku wodoru [45]. Wytwarzanie w trakcie wybuchu tlenowego reaktywnych form tlenu stanowi jeden z głównych mechanizmów mikrobójczych makrofagów. Ligacja SR-A przez swoiste przeciwciało hamowała też selektywnie stymulowane przez LPS i interferon-γ (IFN-γ) wydzielanie IL-12, ale nie wpływała na wydzielanie IL-6, TNF-α ani tlenku azotu [45]. Co ciekawe, przeciwciało anty-SR-A hamowało syntezę NO stymulowaną przez inny, słabszy aktywator – agregaty zdenaturowanych białek [46]. Nasze ostatnie badania ujawniły ponadto, że przeciwciało anty-SR-A mocno nasila stymulowane przez LPS wytwarzanie przeciwzapalnej cytokiny IL-10 w makrofagach indukowanego tioglikolanem wysięku otrzewnowego (PEM) (w przygotowaniu). Spójnie z działaniem przeciwciał, LPS lub LPS plus IFN-γ stymulował znacznie większe wytwarzanie IL-12, ale nie NO w makrofagach z unieczynnionym genem kodującym SR-A [44]. Nasze wyniki są zgodne z wynikami późniejszych badań *in vivo* Fultona i wsp. [28]. Badacze ci stwierdzili, że w porównaniu z myszami WT, u myszy SR-A$^{-/-}$ LPS stymulował mniejsze wytwarzanie IL-10, ale takie samo TNF-α i IL-6 [28]. Rolę SR-A w regulacji wytwarzania IL-10 sugerują także wyniki Kurzaia i wsp. [60]. W badaniach tych, zarówno fagocytowane, jak i niefagocytowane szczepy *N. meningitidis* stymulowały podobne wytwarzanie IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, IFN-γ i GM-CSF w DC. Jednakże stymulacja wytwarzania IL-10 zależała od fagocytozy; otoczone kapsydem, niefagocytowane szczepy *N. meningitidis* stymulowały wielokrotnie mniej IL-10 niż te pozbawione kapsydu i fagocytowane za pośrednictwem SR-A [60].

Podsumowując, efekty selektywnego pobudzenia SR-A z użyciem przeciwciał wskazują, że chociaż sam SR-A jest niezdolny do indukcji wytwarzania cytokin, to reguluje on selektynie wytwarzanie IL-10 i IL-12, ale nie innych cytokin, stymulowane przez działający za pośrednictwem TLR4 LPS (ryc. 2). Jako jedyny spośród receptorów TLR, TLR4 aktywuje dwa główne szlaki transdukcji sygnału:

- zależny od białek adapterowych MyD88 i TIRAP/Mal (MyD88-zależny) oraz
- zależny od białek adapterowych TRAM i TRIF (MyD88-niezależny).

Szlak MyD88-zależny inicjowany jest po związaniu LPS przez TLR4 umiejscowiony w błonie komórkowej, którego cytoplazmatyczna domena TIR oddziałuje z białkami TIRAP i MyD88. Z kolei MyD88-niezależny szlak transdukcji sygnału aktywowany jest przez TLR4 umiejscowiony w endosomach [49]. Aktywację czynnika transkrypcyjnego NF-κB i wytwarzanie cytokin prozapalnych wydają się kontrolować oba szlaki, podczas gdy sam szlak MyD88-niezależny odpowiada za aktywację czynnika regulującego gen dla interferonu 3 (IRF3) i pobudzenie ekspresji większości indukowanych przez LPS genów, w tym IFN-β, genów indukowanych przez IFN-β i chemokiny RANTES (ryc. 2). Wyniki Seimona i wsp. [82] sugerują, że SR-A może hamować selektywnie MyD88-niezależny szlak transdukcji sygnału z TLR4. Ponieważ MyD88-zależny i MyD88-niezależny szlak transdukcji sygnału z TLR4 wpływają przeciwstawnie na żywotność makrofagów – odpowiednio, proapoptotycznie i antyapoptotycznie, łączna aktywacja TLR4 i SR-A promuje apoptozę w następstwie zahamowania antyapoptotycznego MyD88-niezależnego szlaku transdukcji sygnału z TLR4. Proapoptotyczne działanie SR-A wydawało się wynikać z jego hamującego wpływu na wytwarzanie IFN-β [82]. W niedawno opublikowanej pracy Zhu i wsp. [97] donoszą, że proapoptotyczne działanie liganda SR-A – fukoidanu wymaga jego endocytozy za pośrednictwem kaweoli i aktywacji kinaz białkowych p38 i JNK [97]. Jednakże postulowanej przez Seimona i wsp. selektywnej regulacji MyD88-niezależnego szlaku transdukcji sygnału z TLR4 przez SR-A nie potwierdzają efekty bezpośredniej ligacji SR-A. W naszych doświadczeniach przeciwciało anty-SR-A nie modulowało stymulowanego przez LPS wytwarzania chemokiny RANTES, której ekspresja zależy wyłącznie od szlaku MyD88-niezależnego (w przygotowaniu). Ponadto, w opublikowanej niedawno pracy Yu i wsp. wykazali, że SR-A jest silnym negatywnym regulatorem aktywowanego przez TLR4, MyD88-zależnego szlaku transdukcji sygnału [96].

3.3. Zdolność MARCO do transdukcji sygnału

Mimo że SR-A i MARCO wykazują duże podobieństwa struktury i repertuaru wiązanych ligandów, w naszych badaniach wykazaliśmy, że MARCO wywiera przeciwstawny do SR-A, aktywujący wpływ na makrofagi [44]. Do swoistej ligacji MARCO na powierzchni makrofagów użyliśmy przeciwciał zaadsorbowanych na płytkach opłaszczonych białkiem G paciorkowców, wiążącym swoiście fragmenty Fc przeciwciał, ponieważ w postaci rozpuszczalnej przeciwciało anty-MARCO wywierało silny nieswoisty wpływ, w których prawdopodobnie pośredniczyły receptory Fcγ makrofagów. W obecności IFN-γ, zaadsorbowane przeciwciało anty-MARCO stymulowało w PEM wytwarzanie niewielkiej ilości IL-12. Ten efekt wydawał się wynikać z ligacji MARCO, ponieważ nie występował w komórkach pochodzących od myszy MARCO$^{-/-}$, natomiast był obecny w komórkach pozbawionych receptorów FcγRI i III. Spójnie z rolą MARCO w kostymulacji wytwarzania IL-12, sam LPS stymulował wydzielanie IL-12 w PEM pozyskanych od myszy WT, ale nie MARCO$^{-/-}$. Natomiast wydzielanie stymulowane przez kombinację LPS i IFN-γ było znacznie obniżone w MARCO$^{-/-}$ PEM względem PEM mających receptor MARCO. Przeciwciało anty-MARCO nasilało też stymulowaną przez IFN-γ syntezę NO w WT, ale nie MARCO$^{-/-}$ PEM. Co ciekawe, w PEM, w których ekspresja MARCO była zwiększona w następstwie preinkubacji z CpG-ODN, samo przeciwciało anty-MARCO stymulowało syntezę NO, bez konieczności

kostymulacji dostarczanej przez IFN-γ. Jednakże, w przeciwieństwie do IL-12, ekspresja MARCO nie była konieczna do wytwarzania NO pod wpływem LPS, ponieważ LPS oraz LPS plus IFN-γ indukowało takie samo wytwarzanie NO w MARCO$^{-/-}$ PEM co w komórkach od myszy WT [44]. Wydaje się natomiast, że MARCO odgrywa rolę w indukcji syntazy NO (iNOS) pod wpływem ligandów receptora TLR9 (zob. rozdział 4.2). Ponadto, stymulowana przez *S. aureus* wytwarzanie NO w PEM było skorelowane z poziomem ekspresji MARCO, co sugeruje że MARCO może być zaangażowany także w kostymulacji wytwarzania NO wywołanego przez tę Gram-dodatnią bakterię [44]. W odróżnieniu, w badaniach Mukhopadhyaya i wsp. brak MARCO lub SR-A nie miał wpływu na wytwarzanie TNF-α i NO stymulowane przez Gram-ujemną bakterię *N. meningitidis* [66]. Wyniki te są spójne z obserwowanym w naszych badaniach brakiem wpływu genetycznej delecji SR klasy A na wytwarzanie NO stymulowane przez LPS – najbardziej aktywny biologicznie składnik bakterii Gram-ujemnych [44].

3.4. Mechanizm transdukcji sygnału

Niewiele wiadomo o mechanizmach transdukcji sygnału z SR klasy A. Wytwarzany pod wpływem ligacji SR-A H_2O_2 odgrywa rolę wtórnego przekaźnika w innych układach, dzięki jego zdolności do przenikania poprzez błony biologiczne i odwracalnego, selektywnego utleniania tylko niektórych reszt cysteinowych w białkach zaangażowanych w transdukcję sygnału. Jednakże wyniki naszych badań były niespójne z pośredniczącą rolą H_2O_2 w zahamowaniu wytwarzania IL-12 przez SR-A, ponieważ wymiatacze H_2O_2 (glutation i katalaza) nie odwracały tego zahamowania. Ponadto H_2O_2 generowany przez oksydazę glukozową nie naśladował hamującego wpływu przeciwciała anty-SR-A na wydzielanie IL-12. Natomiast wytwarzanie H_2O_2 stymulowane przez przeciwciało anty-SR-A, ale nie przez przeciwciało anty-FcγRII/III, było hamowane selektywnie przez inaktywującą heterotrimeryczne białka Go/i toksynę krztuśca [45]. Toksyna krztuśca zniosła także wpływ ligacji SR-A przez przeciwciała na stymulowane przez LPS wytwarzanie IL-10 i IL-12 w PEM (w przygotowaniu).

Brak w krótkiej cytoplazmatycznej domenie SR-A znanych motywów zaangażowanych w transdukcję sygnału sugeruje możliwość, że w transdukcji sygnału z SR-A pośredniczy inny typ receptora. Zgodnie z tą możliwością, podobnie jak stymulowane przez SR-A wytwarzanie H_2O_2, także adhezję, w której pośredniczy SR-A hamuje toksyna krztuśca [76], ale nie delecja prawie całej domeny cytoplazmatycznej SR-A [57]. Ponieważ jedynym typem receptorów, w których działaniu pośredniczą inaktywowane przez toksynę krztuśca heterotrimeryczne białka G są receptory metabotropowe (siedmiokrotnie przebijające błonę komórkową), wyniki te wskazują, że transdukcja sygnału z SR-A wymaga interakcji zewnątrzkomórkowej części SR-A z receptorem należącym do rodziny receptorów metabotropowych (ryc. 2). Wyniki późniejszych badań wskazują, że w niektórych efektach ligacji SR-A może także pośredniczyć transbłonowa receptorowa kinaza tyrozynowa Mer (Mertk). W makrofagach J774 fagocytoza apoptotycznych komórek stymulowała asocjację SR-A z Mertk. Ponadto w makrofagach SR-A$^{-/-}$ występowało obniżenie i opóźnienie stymulowanej przez komórki apoptotyczne fosforylacji Mertk [92]. Opublikowane niedawno wyniki sugerują, że endocytoza za pośrednictwem SR-A związana jest z aktywacją aktywowanych przez mitogeny kinaz białkowych: p38, ERK i JNK [97]. Jednakże w naszych ostatnich doświadczeniach selektywne inhibitory farmakologiczne tych kinaz nie przeciwdziałały modulującemu wpływowi ligacji SR-A na stymulowane przez LPS wytwarzanie IL-10 i IL-12 w PEM (w przygotowaniu). Wyniki te sugerują, że endocytoza i regulacja wytwarzania cytokin mogą być odrębnymi funkcjami SR-A, na co wskazują także wyniki innych badań omówionych w rozdziale 5.

Także MARCO może zawdzięczać zdolność do transdukcji sygnału kooperacji z innym typem receptora. Mikrokulki opłaszczone CF aktywowały ekspresję kontrolowanego przez NF-κB genu reporterowego w podobnym stopniu w komórkach linii ludzkich embrionalnych komórek nerkowych (HEK293) transfekowanych łącznie pełną wersją MARCO, TLR2 i CD14, co w komórkach HEK293 kotransfekowanych CD14, TLR2 i delecyjnym mutantem MARCO pozbawionym domeny wewnątrzkomórkowej [7]. Ostatnie badania sugerują, że jednym z receptorów kooperujących z MARCO może być – sprzężony z hamującymi cyklazę adenylową białkami Gi – receptor bakteryjnych formylowanych peptydów – FPRL1. W lizacie szczurzych komórkach glejowych MARCO koprecypitował z FPRL1. Obniżenie ekspresji zarówno FPRL1, jak i MARCO w szczurzych astrocytach z użyciem siRNA zahamowało aktywację kinaz ERK stymulowaną przez fukoidan, będący ligandem MARCO, ale nie FPRL1. Ponadto w komórkach HEK transfekowanych łącznie MARCO i FPRL1, ale nie samym MARCO, fukoidan stymulował fosforylację ERK1/2 i obniżał wywołaną przez forskolinę akumulację cyklicznego AMP [8]. Inne badania tego samego zespołu sugerują, że MARCO kooperujący z FPRL1 może też pośredniczyć w stymulowanym przez nadsącze z hodowli bakterii *N. meningitides* lub *Streptococcus pneumoniae* wytwarzaniu bakteriobójczego peptydu katelicydyny i IL-1β w komórkach glejowych [10].

4. Rola SR klasy A w aktywacji makrofagów przez składniki patogenów

4.1. Rola SR klasy A w aktywacji makrofagów przez składniki prątków gruźlicy

W późniejszych doniesieniach proponowano udział SR klasy A w odpowiedzi makrofagów na bioaktywne składniki prątków gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*). Czynnik wiązkowy (CF), będący pod względem chemicznym dwucukrem trehalozą zestryfikowaną dwoma resztami kwasu mikolowego, jest najobficiej występującym i najbardziej immunogennym składnikiem obecnym na powierzchni *M. tuberculosis*. Ozeki i wsp. [71] wykazali, że CF jest ligandem SR-A i że komórki Kupffera i AM pochodzące od myszy WT wytwarzały znacznie mniej TNF-α i białka hamującego makrofagi 1α (MIP-1α) pod wpływem CF niż makrofagi pozbawione SR-A. Wyniki te wskazują, że wiązanie CF do SR-A wywołuje zahamowanie wytwarzania cytokin [71]. Z kolei wyniki Bowdisha i wsp. [7] sugerują, że w rozpoznaniu i aktywacji makrofagów przez CF pośredniczy częściowo MARCO kooperujący z CD14 i TLR2. Transfekcja MARCO zwiększała silnie wiązanie mikrokulek opłaszczonych CF przez komórki CHO,

podczas gdy komórki transfekowane SR-A wykazywały tylko niewielki wzrost wiązania, pomimo znacznie większej ekspresji tego receptora. Mikrokulki opłaszczone CF aktywowały ekspresję kontrolowanego przez NF-κB genu reporterowego w komórkach HEK293 transfekowanych łącznie MARCO, TLR2 i CD14, podczas gdy aktywacja nie występowała w komórkach transfekowanych tylko TLR2 i CD14. Mimo że zarówno makrofagi SR-A$^{-/-}$, jak i makrofagi MARCO$^{-/-}$ wytwarzały istotnie mniej TNF-α pod wpływem CF, to tylko makrofagowe komórki RAW264.7 transfekowane MARCO, ale nie nietransfekowane komórki, wykazujące wysoki poziom ekspresji SR-A, wytwarzały TNF-α pod wpływem CF [7]. Powyższe wyniki sugerują, że w odpowiedzi makrofagów na CF pośredniczy MARCO, podczas gdy rola SR-A jako receptora CF jest wątpliwa. Także pod wpływem stymulacji całymi bakteriami *M. tuberculosis* makrofagi MARCO$^{-/-}$ wytwarzały mniej IL-1β i IL-6, ale nie TNF-α niż makrofagi WT [7,15]. Dodatkowe obniżenie stymulowanego przez prątki wytwarzania cytokin nie występowało w makrofagach pozbawionych zarówno SR-A, jak i MARCO (SR-A$^{-/-}$MARCO$^{-/-}$) [7], co wskazuje, że SR-A może nie pośredniczyć w tych odpowiedziach. Sugerowana przez powyższe badania ważna rola SR klasy A w stymulowanym przez CF wytwarzaniu cytokin wymaga pogodzenia z wykazaną przez Ishikawa i wsp. [41] główną rolą lektyny typu C – Mincle w aktywację układu immunologicznego przez CF. Makrofagi pozbawione Mincle (Mincle$^{-/-}$) były niezdolne do wytwarzania TNF-α, MIP-2 i tlenku azotu pod wpływem CF. CF *in vivo* stymulował wydzielanie cytokin i tworzenie ziarniniaków u myszy WT, ale nie u myszy Mincle$^{-/-}$ [41]. Ważną rolę SR klasy A jako receptorów CF podważa też obserwacja, że makrofagi MARCO$^{-/-}$, SR-A$^{-/-}$ oraz te pozbawione obydwu receptorów (SR-A$^{-/-}$MARCO$^{-/-}$) nie przejawiały defektu fagocytozy kulek opłaszczonych CF [7]. Wyniki wszechstronnych badań innego zespołu wskazują, że SR klasy A pełnią co najwyżej redundantną rolę w kontroli infekcji myszy wywołanych przez prątki. Ani brak SR-A ani brak MARCO nie upośledził bowiem odporności myszy na ostrą infekcję *M. tuberculosis*, mierzonej jako przeżywalność, kontrola replikacji bakterii i nasilenie odczynu zapalnego w płucach (tworzenie ziarniniaków oraz cytokin i chemokin) [15]. Jednakże u myszy pozbawionych MARCO lekko upośledzona była długotrwała kontrola infekcji, co przejawiało się zwiększoną liczbą prątków w płucach w 6 i 9 miesiącu zakażenia. Szczep H37Rv *M. tuberculosis* i *M. bovis* BCG stymulował takie samo wytwarzanie TNF-α i NO w makrofagach otrzewnowych pozyskanych od myszy SR-A$^{-/-}$ lub MARCO$^{-/-}$ co w makrofagach WT. Ani w makrofagach SR-A$^{-/-}$ ani w komórkach pozbawionych MARCO nie stwierdzono też upośledzonia fagocytozy *Mycobacterium bovis* BCG [15]. Wyniki ostatnich badań Sever-Chroneos i wsp. wskazują, że nasilenie reakcji odpornościowych typu komórkowego, występujące u myszy pozbawionych SR-A, sprzyja długotrwałej kontroli zakażenia przez prątki gruźlicy. W rezultacie, zainfekowane *M. tuberculosis* myszy SR-A$^{-/-}$ przeżywały średnio prawie dwukrotnie dłużej niż myszy WT [86].

4.2. Rola SR klasy A w aktywacji komórek przez RNA i DNA mikroorganizmów

DNA mikroorganizmów odróżnia od DNA kręgowców częstsze występowanie niemetylowanych sekwencji zawierających dwunukleotyd CpG. Sekwencje CpG w DNA mikrobów spełniają więc główne kryterium wzorców molekularnych związanych z patogenami (PAMP) i rzeczywiście są rozpoznawane za pośrednictwem rozpoznającego wzorce molekularne receptora TLR9. Z kolei wirusowe dwuniciowe (dsRNA) i jednoniciowe RNA (ssRNA) jest rozpoznawane odpowiednio przez TLR3 i TLR7/8. To, że kwasy nukleinowe nie są eksponowane w nienaruszonych wirusach i mikroorganizmach, a uwalniane dopiero po ich strawieniu w endosomach uzasadnia wewnątrzkomórkowe umiejscowienie TLR3, TLR7, TLR8 i TLR9. Jednakże aktywację endosomalnych TLR wywołuje także egzogenne podanie oczyszczonych kwasów nukleinowych, co implikuje współudział receptorów endocytarnych w aktywacji TLR przez kwasy nukleinowe. Zaobserwowano, że endocytoza kwasów nukleinowych hamowana jest przez polianionowe ligandy SR [89].

Oligodeoksynukleotydy zawierające sekwencje CpG (CpG-ODN) wywołują dużą aktywację APC, obejmującą wytwarzanie IL-12 i promują odpowiedzi immunologiczne typu Th1. Ponieważ jednocześnie CpG-ODN wykazują relatywnie niewielką toksyczność, trwają intensywne prace nad ich terapeutycznym zastosowaniem jako adiuwantów w szczepionkach oraz w immunoterapii chorób nowotworowych i alergicznych. Aby zwiększyć odporność na trawienie przez DNazy stosuje się CpG-ODN, w których jeden z niewiążących atomów tlenu w ugrupowaniach fosforanowych łączących nukleotydy zastąpiony jest atomem siarki (PS-CpG-ODN). PS-CpG-ODN cechuje zwiększona aktywność biologiczna, która prawdopodobnie nie wynika wyłącznie ze zwiększonej trwałości [58]. Wykazaliśmy, że zarówno SR-A, jak i MARCO należą do redundantnego systemu receptorów pośredniczących w endocytozie PS-ODN [47]. PS-CpG-ODN wiązane były przez SR-A i MARCO podlegające ekspresji w transfekowanych komórkach CHO. Chociaż ani brak SR-A ani MARCO nie obniżył wychwytu PS-CpG-ODN przez PEM, to w PEM niemających obu tych receptorów występowało znaczne obniżenie wychwytu. Podobnie jak w WT PEM, także w komórkach bez obu SR klasy A wychwyt PS-CpG-ODN blokowany był przez siarczan dekstranu, ale nie przez kontrolny polianion siarczan chondroityny, co sugeruje, że inne SR odpowiadają za pozostałą część wychwytu PS-CpG-ODN [47]. W opublikowanej w ubiegłym roku pracy Ezzat i wsp. wykazali, że w wychwycie PS-ODN mogą pośredniczyć receptory SCARA3 i SCARA5, które także blokowane są przez siarczan dekstranu [24].

TLR9 jest dominującym receptorem CpG-ODN. Jednakże obserwacja, że różne typy CpG-ODN stymulują jakościowo różne odpowiedzi w różnych typach komórek wskazuje, że inne receptory mogą kooperować z TLR9 w generowaniu odpowiedzi na CpG-ODN. CpG-ODN klasy A (CpG-A) i klasy B (CpG-B) znajdują się na przeciwnych krańcach zakresu biologicznej aktywności różnych typów CpG-ODN. CpG-A składają się z połączonej wiązaniami fosfodiestrowymi centralnej palindromowej sekwencji zawierającej CpG, flankowanej przez połączone wiązaniami PS łańcuchy nukleotydów guanylowych (poli-G). Z kolei, w CpG-B wszystkie nukleotydy połączone są wiązaniami PS i zawierają zwykle kilka sekwencji CpG, ale brak w nich motywów poli-G. CpG-A są wyjątkowo silnymi induktorami wytwarzania IFN-α w ludzkich plazmocytoidalnych prekursorach DC (pDC), ale słabymi

aktywatorami limfocytów B. Odwrotnie, CpG-B są silnymi aktywatorami limfocytów B, ale indukują co najwyżej niewielkie wytwarzanie IFN-α w pDC [51,58]. W naszych badaniach zaobserwowaliśmy, że stymulacja przez CpG-B wytwarzania IL-12 i tlenku azotu w PEM wymaga ekspresji MARCO. Wytwarzanie tych mediatorów stymulowane było przez CpG-B w PEM pozyskanych od myszy WT, ale nie od zwierząt pozbawionych MARCO. Chociaż kombinacja CpG-B i IFN-α stymulowała wytwarzanie IL-12 i NO także w PEM pozbawionych MARCO, to było ono jednak znacznie mniejsze. Obniżona wrażliwość MARCO$^{-/-}$ PEM na CpG-B raczej nie wynikała z mniejszej dostępności CpG-B dla TLR9 w endosomach, ponieważ MARCO$^{-/-}$ PEM endocytowały więcej CpG-B niż WT PEM [47]. To, że swoista ligacja MARCO przez zaadsorbowane przeciwciało anty-MARCO stymulowała wytwarzanie IL-12 i NO w obecności IFN-γ [44] i NO w obecności CpG-B [47], sugeruje, że ligacja MARCO przez CpG-B dostarcza sygnału kostymulującego do wytwarzania IL-12 i NO w PEM.

W przeciwieństwie do MARCO, SR-A wydaje się negatywnym regulatorem aktywacji makrofagów przez CpG-ODN. Nasze wyniki sugerują, że zwiększone powinowactwo CpG-A do SR-A, spowodowane prawdopodobnie przez obecność w nich sekwencji poli-G [53], odpowiada za obniżoną aktywność CpG-A w stymulacji wytwarzania IL-12 w PEM w porównaniu z CpG-B. Istotnie, CpG-A wiązał się do SR-A w transfekowanych komórkach z większym powinowactwem niż CpG-B, podczas gdy oba typy CpG-ODN wiązały się do MARCO z podobnym powinowactwem. Zgodnie z większym powinowactwem do SR-A, CpG-A znacznie silniej niż CpG-B hamowały w PEM wychwyt relatywnie selektywnego liganda SR-A – AcLDL. Podczas gdy w WT PEM CpG-B stymulowały znacznie większe wytwarzanie IL-12 niż CpG-A, CpG-A i CpG-B stymulowały takie samo wytwarzanie IL-12 w SR-A$^{-/-}$ PEM, co potwierdza, że SR-A jest receptorem rozróżniającym oba typy ODN [47]. Na podstawie naszych wyników sugerowaliśmy, że za różnice aktywności różnych CpG-ODN może odpowiadać ich zróżnicowane powinowactwo do koaktywujących i hamujących receptorów, takich jak MARCO i SR-A [47].

Jednakże skutkiem aktywacji SR-A przez CpG-ODN niekoniecznie jest uogólniona immunosupresja. SR-A mógłby uczestniczyć w stymulowanej przez CpG-A odpowiedzi przeciwwirusowej, którą charakteryzuje wytwarzanie niewielkiej ilości IL-12 i dużej ilości IFN typu I [51,53]. Ważną rolę SR-A w wykrywaniu wirusowych kwasów nukleinowych potwierdziły późniejsze badania [16,62]. W komórkach niebędących tak jak makrofagi profesjonalnymi fagocytami i APC, i w związku z tym gorzej wyposażonych w receptory endocytarne, SR-A okazał się pełnić nieredundantą rolę w wychwycie kwasów nukleinowych i aktywacji TLR umiejscowionych w endosomach. W ludzkich oskrzelowych komórkach nabłonkowych przeciwciało anty-SR-A silnie hamowało wychwyt kwasu poliinozynowego: policytydylowego (poli-I: C, mimetyk dwuniciowego wirusowego RNA) i stymulowane przez poli-I: C wytwarzanie cytokin [62]. Po podaniu do płuc, poli-I: C stymulował mniejszy naciek neutrofilów i obniżoną ekspresję cytokin prozapalnych, IFN typu I i genów stymulowanych przez IFN w płucach myszy pozbawionych SR-A w porównaniu z myszami WT [16,62]. W komórkach ludzkiej linii fibroblastowej HEL przeciwciało anty-SR-A prawie zablokowało wiązanie dsRNA i w ~76% zahamowało stymulowaną przez dsRNA transkrypcję genu indukowanego przez IFN-γ białka 10 (IP-10) [16]. Z kolei w mysich embrionalnych fibroblastach łączne wyciszenie ekspresji SR klasy A (SR-A, SCARA3, SCARA4 i SCARA5), ale nie samego SR-A, z użyciem swoistych siRNA, było konieczne do zahamowania wychwytu dsRNA i stymulowanej przez dsRNA odpowiedzi przeciwwirusowej, w której pośredniczyły wewnątrzkomórkowe receptory dsRNA [16].

Wprawdzie uznaje się powszechnie główną rolę TLR9 jako receptora CpG-ODN, to ostatnie wyniki Ramaprakasha i Hogaboama [77] sugerują ciekawą, wymagającą jeszcze weryfikacji możliwość, że w stymulacji wytwarzania IL-12, IFN-α i chemokiny CXCL16 przez CpG-ODN mogą, przynajmniej w niektórych typach komórek, pośredniczyć SR klasy A, a nie TLR9. Po podaniu do płuc CpG-ODN zwiększały całkowite stężenie IL-12 w płucach w podobnym stopniu u myszy TLR9$^{+/+}$, co u zwierząt pozbawionych tego receptora. Co jeszcze bardziej zaskakujące, CpG-ODN stymulowały transkrypcję chemokiny CXCL16 (po podaniu do płuc) i IFN-α (po podaniu dootrzewnowym) tylko w płucach myszy TLR9$^{-/-}$, ale nie TLR9$^{+/+}$. Natomiast myszy TLR9$^{-/-}$ były niezdolne do wytwarzania IL-10 pod wpływem CpG-ODN. Podane do płuc CpG-ODN hamowały wzrost grzybów *Aspergillus fumigatus* zarówno w płucach myszy TLR9$^{-/-}$, jak i TLR9$^{+/+}$. W zainfekowanych płucach myszy TLR9$^{-/-}$ występował około 20-krotnie większy poziom ekspresji MARCO i kilkakrotnie większy poziom ekspresji SR-A niż w płucach myszy TLR9$^{+/+}$ [77]. Możliwe więc, że u myszy TLR9$^{-/-}$ SR klasy A zastępuje TLR9 w indukcji IL-12 i odpowiadają za zwiększoną ekspresję CXCL16 i IFN-α pod wpływem CpG-ODN.

5. Analiza wpływu delecji genów może prowadzić do błędnych wniosków dotyczących funkcji receptorów

Wyniki początkowych i części późniejszych badań wskazywały, że SR-A nie reguluje stymulowanego przez bakterie lub ich produkty wytwarzania cytokin prozapalnych: IL-6 i TNF-α [32,59,64,73]. Także wyniki naszych doświadczeń [44,45] i Fultona i wsp. [28] sugerują, że SR-A hamuje stymulowane przez LPS wytwarzanie IL-12 i zwiększa wytwarzanie IL-10, ale nie wpływa na sekrecję IL-6 ani TNF-α. Wyniki te kontrastują z obserwowanym w innych badaniach uogólnionym nasileniem odczynu zapalnego u myszy SR-A$^{-/-}$. W modelu wywołanego przez tioglikolan lub kulki opłaszczone AGE-albuminą sterylnego zapalenia otrzewnej, u myszy pozbawionych SR-A występował zwiększony naciek neutrofilów, prawdopodobnie spowodowany zwiększonym wytwarzaniem chemokin MIP-2 i KC [14]. W następstwie infekcji płuc przez *S. pneumoniae*, w porównaniu z myszami WT, u myszy SR-A$^{-/-}$ występował znacznie nasilony odczyn zapalny, objawiający się jako zwiększony naciek neutrofilów i zwiększony poziom chemoatraktantów dla tych komórek – MIP-2 i TNF-α [5]. Także podanie LPS *in vivo* stymulowało większe stężenie w surowicy TNF-α, IL-6 i IFN-β u myszy SR-A$^{-/-}$ w porównaniu z myszami WT, co prawdopodobnie odpowiadało za zwiększoną śmiertelność myszy SR-A$^{-/-}$ [34,68,96].

Obserwowano znacznie zwiększone wytwarzanie czynników prozapalnych także w wyizolowanych komórkach

SR-A$^{-/-}$ *in vitro*. W pierwszym z badań tej serii zaobserwowano ponad dwukrotnie większe wytwarzanie chemokin MIP-2 i KC pod wpływem tioglikolanu lub kulek opłaszczonych AGE-albuminą, ale nie stymulowanej przez LPS, w rezydentnych makrofagach otrzewnowych pozyskanych od myszy SR-A$^{-/-}$ w porównaniu z makrofagami WT [14]. Z kolei w DC wyhodowanych z komórek szpiku myszy SR-A$^{-/-}$ LPS stymulował większe wytwarzanie TNF-α i IL-6 niż w WT DC [6,96]. W SR-A$^{-/-}$ DC LPS indukował także znacznie większą ekspresję kostymulującego receptora CD40 niż w komórkach WT [6]. Brak SR-A w makrofagach wyhodowanych z komórek szpiku kostnego pod wpływem GM-CSF prowadził do zwiększonej ekspresji iNOS i nasilonego wytwarzania NO oraz IFN-β pod wpływem LPS [56]. Także w makrofagach wyhodowanych z komórek szpiku pod wpływem czynnika stymulującego tworzenie kolonii makrofagów (M-CSF) brak SR-A związany był z nasileniem stymulowanego przez LPS wytwarzania TNF-α, IL-6 i IFN-β [68].

Zwiększone wytwarzanie cytokin i chemokin prozapalnych w trakcie infekcji bakteryjnych u myszy pozbawionych SR-A tłumaczono zwiększoną bakteriemią, spowodowaną upośledzeniem fagocytozy i zabijania bakterii. Jednakże ostatnie wyniki Amiel i wsp. [1] wskazują, że wywołane brakiem SR-A nasilenie wytwarzania cytokin prozapalnych pod wpływem bakterii Gram-ujemnych nie jest skorelowane z upośledzeniem eliminacji tych bakterii w wyniku fagocytozy. W SR-A$^{-/-}$ DC zwiększone wytwarzanie cytokin prozapalnych stymulowały także szczepy bakterii Gram-ujemnych (*E. coli* i *Pseudomonas aeruginosa*), których fagocytoza nie była obniżona na skutek braku SR-A. Także *in vivo*, myszy SR-A$^{-/-}$ przejawiały zwiększone wytwarzanie TNF-α i nasilenie wywołanej wstrząsem septycznym śmiertelności w trakcie otrzewnowej infekcji szczepami bakterii Gram-ujemnymi, których fagocytozy nie obniżał brak SR-A. Co istotne, chociaż fagocytoza szczepu DH5α *E. coli* była obniżona w DC SR-A$^{-/-}$, ale nie w komórkach heterozygotycznych SR-A$^{+/-}$, to DC SR-A$^{+/-}$ wykazywały takie samo nasilenie wytwarzania TNF-α i IL-6 jak homozygoty SR-A$^{-/-}$. Te ostatnie wyniki potwierdzają, że fagocytoza i regulacja wytwarzania cytokin stanowią odrębne funkcje SR-A [1]. W oparciu o te wyniki autorzy postulowali, że za zwiększone wytwarzanie cytokin prozapalnych u myszy pozbawionych SR-A może odpowiadać wyższe stężenie uwalnianego przez bakterie LPS, wynikłe z upośledzenia jego usuwania i detoksyfikacji przy braku SR-A [1]. Rzeczywiście, myszy SR-A$^{-/-}$ są bardziej podatne na wywołane przez LPS wstrząs septyczny i wytwarzają więcej TNF-α i IL-6 niż myszy WT [34,68,96]. Wychwycony przez SR-A LPS podlega w lizosomach defosforylacji do znacznie mniej biologicznie aktywnej jednofosforylowanej pochodnej [32]. Zastosowanie przeciwciała neutralizującego TNF-α potwierdziło, że zwiększone wytwarzanie tej cytokiny odpowiada częściowo za wywołaną przez LPS zwiększoną śmiertelność myszy SR-A$^{-/-}$ [34]. Jednak rola SR-A w usuwaniu LPS z organizmu jest kontrowersyjna i wymaga dokładniejszego zbadania. Myszy pozbawione SR-A wykazywały upośledzenie oczyszczania krwi z LPS po jego podaniu dootrzewnowym [54], ale nie po podaniu dożylnym [94]. Nawet po podaniu dootrzewnowym niewielkie różnice poziomu LPS w surowicy pomiędzy myszami SR-A$^{-/-}$ i WT nie przekładały się na różnice w prozapalnej aktywacji komórek: LPS indukował taki sam poziom TNF-α w surowicy myszy SR-A$^{-/-}$ i WT [54]. Mimo więc że SR-A może odgrywać pewną rolę w usuwaniu LPS z krwi przez makrofagi i komórki śródbłonka zatok wątrobowych, ta funkcja SR-A wydaje się redundantna. Podsumowując, zwiększonego wytwarzania cytokin u myszy SR-A$^{-/-}$ nie wyjaśnia w pełni ani zwiększona bakteriemia ani upośledzenie oczyszczania krwi z LPS.

Różnice pomiędzy ograniczonymi efektami bezpośredniej stymulacji SR-A a rozległymi efektami genetycznej delecji SR-A w postaci uogólnionego nasilenia odczynu zapalnego mogą wynikać ze spowodowanych brakiem SR-A zmian ekspresji innych receptorów. Na przykład w naszych badaniach zaobserwowaliśmy znacznie większy poziom ekspresji MARCO na powierzchni SR-A$^{-/-}$ PEM w porównaniu z PEM pozyskanymi od myszy WT [44]. Także ekspresja receptora dopełniacza 4 (CR4, β_2-integryny CD11c/CD18) występowała na dużo większym odsetku SR-A$^{-/-}$ AM w porównaniu z WT AM [84]. Ostatnie wyniki Sever-Chroneos i wsp. [84] wskazują, że za upośledzenie fagocytozy i nasilony odczyn zapalny w płucach myszy SR-A$^{-/-}$ w trakcie infekcji bakteryjnych mogą odpowiadać spowodowane brakiem SR-A zmiany ekspresji receptorów białka surfaktantu A (SP-A) na powierzchni AM [84]. Kolektyna SP-A spełnia ważną rolę w ochronie płuc przed infekcją *S. aureus*. SP-A jest zdolne do opsonizacji bakterii *S. aureus*, które następnie są fagocytowane za pośrednictwem receptora SP-A – SP-R210 na powierzchni AM i zabijane wewnątrzkomórkowo. Okazało się, że w AM WT i SR-A$^{-/-}$ podlegają ekspresji różne izoformy receptora SP-A. Na AM WT dominuje długa izoforma, SP-R210L, podczas gdy na AM SR-A$^{-/-}$ krótka izoforma, SP-R210S. Tylko izoforma SP-R210L, ale nie SP-R210S, wydaje się zdolna do internalizacji związanych ligandów. Zgodnie z możliwością, że obniżenie fagocytozy w makrofagach SR-A$^{-/-}$ jest raczej wtórne do zmian w ekspresji SP-R210, niż spowodowane brakiem SR-A, u myszy SR-A$^{-/-}$ występowało upośledzone oczyszczanie z płuc tylko szczepu *S. aureus* zdolnego do wiązania SP-A, ale nie izogenicznego szczepu nieopsonizowanego przez SP-A. W płucach myszy SR-A$^{-/-}$ infekcja *S. aureus* indukowała znacznie większy naciek neutrofilów, jednak różnica w tym parametrze zapalnym pomiędzy myszami WT i SR-A$^{-/-}$ była znacznie mniejsza w przypadku izogenicznego szczepu *S. aureus* niezdolnego do wiązania SP-A (2-krotna) niż w przypadku szczepu opsonizowanego przez SP-A (30-krotna) [84]. Sugeruje to, że także za nasilenie odczynu zapalnego u myszy pozbawionych SR-A odpowiadają w dużym stopniu zmiany ekspresji SP-R210. Być może zmiany ekspresji SP-R210 przyczyniają się także do nasilenia odczynu zapalnego występującego w płucach myszy MARCO$^{-/-}$ [3] ponieważ zaobserwowano dwukrotnie większy poziom konstytutywnej ekspresji tego receptora na AM wyizolowanych z myszy MARCO$^{-/-}$ w porównaniu z AM myszy WT [85].

Alternatywnego, ale niewykluczającego się z powyższym wyjaśnienia nasilonej, uogólnionej aktywności prozapalnej myszy SR-A$^{-/-}$ dostarczają ostatnie wyniki Yu i wsp. [96]. Dane te sugerują, że wewnątrzkomórkowy SR-A może hamować transdukcję sygnału z receptorów należących do rodziny Toll/receptor IL-1, niezależnie od jego funkcji receptorowych. Transdukcja sygnału z receptorów należących do tej rodziny obejmuje sekwencyjną rekrutację wielu białek adapterowych do cytoplazmatycznej domeny TIR receptora,

prowadzącego, za pośrednictwem kinaz IRAK, do aktywacji TRAF6. TRAF6 ma aktywność enzymatyczną ligazy ubikwityny i pośredniczy w aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF-κB i kaskad kinaz białkowych aktywowanych przez mitogeny, wspólnie indukujących transkrypcję cytokin prozapalnych (ryc. 2). Yu i wsp. wykazali, że obecny wewnątrzkomórkowo SR-A hamuje wywołaną przez LPS aktywację NF-κB i kinaz ERK1/2 oraz regulowaną przez NF-κB ekspresję IL-6 i TNF-α w następstwie wiązania się SR-A do TRAF6 i sekwestracji kompleksu SR-A z TRAF6 w późnych endosomach/lizosomach (ryc. 2). Sekwestracja ta zapobiega prowadzącej do aktywacji dimeryzacji i ubikwitynacji TRAF6. Co istotne, zdolność do wiązania TRAF6 i osłabienia stymulowanej przez TLR4 aktywacji NF-κB wykazywała sama N-końcowa domena cytoplazmatyczna SR-A, pozbawiona zewnątrzkomórkowych domen zaangażowanych w wiązanie ligandów, co potwierdza, że ta regulatorowa rola SR-A nie wymaga aktywacji SR-A przez związanie ligandów [96].

6. Podsumowanie

Badania ostatnich lat wykazały, że SR klasy A pełnią ważną rolę w tak różnorakich procesach jak patomechanizm arteriosklerozy, choroby Alzheimera i cukrzycy, oczyszczanie płuc z pyłu, utrzymanie prawidłowej struktury narządów limfatycznych, odporność przeciwbakteryjna, przeciwwirusowa i przeciwnowotworowa. Mimo to, brak selektywnych ligandów uniemożliwiał bezsporne stwierdzenie, czy oprócz pośredniczenia w endocytozie receptory te są także zdolne do aktywacji wewnątrzkomórkowego przekazu sygnału, modulującego aktywność prozapalną i bakteriobójczą immunocytów. W naszych badaniach, stosując selektywną ligację receptorów z użyciem przeciwciał, wykazaliśmy, że SR-A stymuluje w makrofagach syntezę reaktywnych form tlenu (tzw. wybuch tlenowy) oraz selektywnie hamuje stymulowane przez LPS wytwarzanie IL-12 i nasila wytwarzanie IL-10, ale nie wpływa na wydzielanie wielu innych cytokin prozapalnych. Pomimo podobieństwa budowy i repertuaru wiązanych ligandów, MARCO wydaje się wywierać przeciwstawny do SR-A, pozytywny wpływ na wytwarzanie IL-12 stymulowane przez ligandy wspólne dla MARCO i TLR4 lub TLR9. Ograniczone skutki swoistej ligacji SR-A kontrastują z uogólnionym nasileniem reakcji odpornościowych, występującym u myszy pozbawionych SR-A. Badania ostatnich dwu lat ujawniły, że wiele spośród efektów genetycznej delecji SR-A może wynikać z kompensacyjnych zmian ekspresji innych receptorów i/lub nasilonej transdukcji sygnału z receptorów należących do rodziny Toll/receptor IL-1 (TLR, receptor IL-1, receptor IL-18) raczej niż utraty funkcji receptorowej SR-A. Przypadek SR-A pokazuje, że badania ograniczające się do porównania odpowiedzi komórek pozyskanych od zwierząt kontrolych (WT) i tych z unieczynnionym genem (knockout) mogą prowadzić do błędnych wniosków dotyczących funkcji receptorów.

Piśmiennictwo

[1] Amiel E., Acker J.L., Collins R.M., Berwin B.: Uncoupling scavenger receptor A-mediated phagocytosis of bacteria from endotoxic shock resistance. Infect. Immun., 2009; 77: 4567–4573

[2] Amiel E., Nicholson-Dykstra S., Walters J.J., Higgs H., Berwin B.: Scavenger receptor-A functions in phagocytosis of *E. coli* by bone marrow dendritic cells. Exp. Cell Res., 2007; 313: 1438–1448

[3] Arredouani M., Yang Z., Ning Y., Qin G., Soininen R., Tryggvason K., Kobzik L.: The scavenger receptor MARCO is required for lung defense against pneumococcal pneumonia and inhaled particles. J. Exp. Med., 2004; 200: 267–272

[4] Arredouani M.S., Palecanda A., Koziel H., Huang Y.C., Imrich A., Sulahian T.H., Ning Y.Y., Yang Z., Pikkarainen T., Sankala M., Vargas S.O., Takeya M., Tryggvason K., Kobzik L.: MARCO is the major binding receptor for unopsonized particles and bacteria on human alveolar macrophages. J. Immunol., 2005; 175: 6058–6064

[5] Arredouani M.S., Yang Z., Imrich A., Ning Y., Qin G., Kobzik L.: The macrophage scavenger receptor SR-AI/II and lung defense against pneumococci and particles. Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., 2006; 35: 474–478

[6] Becker M., Cotena A., Gordon S., Platt N.: Expression of the class A macrophage scavenger receptor on specific subpopulations of murine dendritic cells limits their endotoxin response. Eur. J. Immunol., 2006; 36: 950–960

[7] Bowdish D.M., Sakamoto K., Kim M.J., Kroos M., Mukhopadhyay S., Leifer C.A., Tryggvason K., Gordon S., Russell D.G.: MARCO, TLR2, and CD14 are required for macrophage cytokine responses to mycobacterial trehalose dimycolate and *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathog., 2009; 5: e1000474

[8] Brandenburg L.O., Konrad M., Wruck C.J., Koch T., Lucius R., Pufe T.: Functional and physical interactions between formyl-peptide-receptors and scavenger receptor MARCO and their involvement in amyloid beta 1-42-induced signal transduction in glial cells. J. Neurochem., 2010; 113: 749–760

[9] Brännström A., Sankala M., Tryggvason K., Pikkarainen T.: Arginine residues in domain V have a central role for bacteria-binding activity of macrophage scavenger receptor MARCO. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2002; 290: 1462–1469

[10] Braun B.J., Slowik A., Leib S.L., Lucius R., Varoga D., Wruck C.J., Jansen S., Podschun R., Pufe T., Brandenburg L.O.: The formyl peptide receptor like-1 and scavenger receptor MARCO are involved in glial cell activation in bacterial meningitis. J. Neuroinflammation, 2011; 8: 11

[11] Chang P.Y., Luo S., Jiang T., Lee Y.T., Lu S.C., Henry P.D., Chen C.H.: Oxidized low-density lipoprotein downregulates endothelial basic fibroblast growth factor through a pertussis toxin-sensitive G-protein pathway: mediator role of platelet-activating factor-like phospholipids. Circulation, 2001; 104: 588–593

[12] Chen Y., Sankala M., Ojala J.R., Sun Y., Tuuttila A., Isenman D.E., Tryggvason K., Pikkarainen T.: A phage display screen and binding studies with acetylated low density lipoprotein provide evidence for the importance of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) domain in the ligand-binding function of MARCO. J. Biol. Chem., 2006; 281: 12767–12775

[13] Chen Y., Wang X., Ben J., Yue S., Bai H., Guan X., Bai X., Jiang L., Ji Y., Fan L., Chen Q.: The di-leucine motif contributes to class A scavenger receptor-mediated internalization of acetylated lipoproteins. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2006; 26: 1317–1322

[14] Cotena A., Gordon S., Platt N.: The class A macrophage scavenger receptor attenuates CXC chemokine production and the early infiltration of neutrophils in sterile peritonitis. J. Immunol., 2004; 173: 6427–6432

[15] Court N., Vasseur V., Vacher R., Frémond C., Shebzukhov Y., Yeremeev V.V., Maillet I., Nedospasov S.A., Gordon S., Fallon P.G., Suzuki H., Ryffel B., Quesniaux V.F.: Partial redundancy of the pattern recognition receptors, scavenger receptors, and C-type lectins for the long-term control of *Mycobacterium tuberculosis* infection. J. Immunol., 2010; 184: 7057–7070

[16] DeWitte-Orr S.J., Collins S.E., Bauer C.M., Bowdish D.M., Mossman K.L.: An accessory to the 'Trinity': SR-As are essential pathogen sensors of extracellular dsRNA, mediating entry and leading to subsequent type I IFN responses. PLoS Pathog., 2010; 6: e1000829

[17] Doi T., Higashino K., Kurihara Y., Wada Y., Miyazaki T., Nakamura H., Uesugi S., Imanishi T., Kawabe Y., Itakura H., Yazakij Y., Matsumoto A., Kodama T.: Charged collagen structure mediates the recognition of negatively charged macromolecules by macrophage scavenger receptors. J. Biol. Chem., 1993; 268: 2126–2133

[18] Doi T., Kurasawa M., Higashino K., Imanishi T., Mori T., Naito M., Takahashi K., Kawabe Y., Wada Y., Matsumoto A., Kodama T.: The histidine interruption of an α-helical coiled coil allosterically mediates a pH-dependent ligand dissociation from macrophage scavenger receptors. J. Biol. Chem., 1994; 269: 25598–25604

[19] El Khoury J., Hickman S.E., Thomas C.A., Cao L., Silverstein S.C., Loike J.D.: Scavenger receptor-mediated adhesion of microglia to β–-amyloid fibrils. Nature, 1996; 382: 716–719

[20] El Khoury J., Thomas C.A., Loike J.D., Hickman S.E., Cao L., Silverstein S.C.: Macrophages adhere to glucose-modified basement membrane collagen IV via their scavenger receptors. J. Biol. Chem., 1994; 269: 10197–10200

[21] Elomaa O., Kangas M., Sahlberg C., Tuukkanen J., Sormunen R., Liakka A., Thesleff I., Kraal G., Tryggvason K.: Cloning of a novel bacteria-binding receptor structurally related to scavenger receptors and expressed in a subset of macrophages. Cell, 1995; 80: 603–609

[22] Elomaa O., Sankala M., Pikkarainen T., Bergmann U., Tuuttila A., Raatikainen-Ahokas A., Sariola H., Tryggvason K.: Structure of the human macrophage MARCO receptor and characterization of its bacteria-binding region. J. Biol. Chem., 1998; 273: 4530–4538

[23] Elshourbagy N.A., Li X., Terrett J., Vanhorn S., Gross M.S., Adamou J.E., Anderson K.M., Webb C.L., Lysko P.G.: Molecular characterization of a human scavenger receptor, human MARCO. Eur. J. Biochem., 2000; 267: 919–926

[24] Ezzat K., Helmfors H., Tudoran O., Juks C., Lindberg S., Padari K., El-Andaloussi S., Pooga M., Langel U.: Scavenger receptor-mediated uptake of cell-penetrating peptide nanocomplexes with oligonucleotides. FASEB J., 2011 (w druku)

[25] Fong L.G., Le D.: The processing of ligands by the class A scavenger receptor is dependent on signal information located in the cytoplasmic domain. J. Biol. Chem., 1999; 274: 36808–36816

[26] Fraser I., Hughes D., Gordon S.: Divalent cation-independent macrophage adhesion inhibited by monoclonal antibody to murine scavenger receptor. Nature, 1993; 364: 343–346

[27] Freeman M., Ekkel Y., Rohrer L., Penman M., Freedman N.J., Chisolm G.M., Krieger M.: Expression of type I and type II bovine scavenger receptors in Chinese hamster ovary cells: lipid droplet accumulation and nonreciprocal cross competition by acetylated and oxidized low density lipoprotein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991; 88: 4931–4935

[28] Fulton W.B., Reeves R.H., Takeya M., De Maio A.: A quantitative trait *loci* analysis to map genes involved in lipopolysaccharide-induced inflammatory response: identification of macrophage scavenger receptor 1 as a candidate gene. J. Immunol., 2006; 176: 3767–3773

[29] Goldstein J.L., Ho Y.K., Basu S.K., Brown M.S.: Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979; 76: 333–337

[30] Gowen B.B., Borg T.K., Ghaffar A., Mayer E.P.: The collagenous domain of class A scavenger receptors is involved in macrophage adhesion to collagens. J. Leukoc. Biol., 2001; 69: 575–582

[31] Hamilton R.F. Jr., Thakur S.A., Mayfair J.K., Holian A.: MARCO mediates silica uptake and toxicity in alveolar macrophages from C57BL/6 mice. J. Biol. Chem., 2006; 281: 34218–34226

[32] Hampton R.Y., Golenbock D.T., Penman M., Krieger M., Raetz C.R.: Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. Nature, 1991; 352: 342–344

[33] Han H.J., Tokino T., Nakamura Y.: CSR, a scavenger receptor-like protein with a protective role against cellular damage caused by UV irradiation and oxidative stress. Hum. Mol. Genet., 1998; 7: 1039–1046

[34] Haworth R., Platt N., Keshav S., Hughes D., Darley E., Suzuki H., Kurihara Y., Kodama T., Gordon S.: The macrophage scavenger receptor type A is expressed by activated macrophages and protects the host against lethal endotoxic shock. J. Exp. Med., 1997; 186: 1431–1439

[35] Hobson R.P., Munro C.A., Bates S., MacCallum D.M., Cutler J.E., Heinsbroek S.E., Brown G.D., Odds F.C., Gow N.A.: Loss of cell wall mannosylphosphate in *Candida albicans* does not influence macrophage recognition. J. Biol. Chem., 2004; 279: 39628–39635

[36] Hsu H.Y., Chiu S.L., Wen M.H., Chen K.Y., Hua K.F.: Ligands of macrophage scavenger receptor induce cytokine expression via differential modulation of protein kinase signaling pathways. J. Biol. Chem., 2001; 276: 28719–28730

[37] Hsu H.Y., Hajjar D.P., Khan K.M., Falcone D.J.: Ligand binding to macrophage scavenger receptor-A induces urokinase-type plasminogen activator expression by a protein kinase-dependent signaling pathway. J. Biol. Chem., 1998; 273: 1240–1246

[38] Huang J., Zheng D.L., Qin F.S., Cheng N., Chen H., Wan B.B., Wang Y.P., Xiao H.S., Han Z.G.: Genetic and epigenetic silencing of SCARA5 may contribute to human hepatocellular carcinoma by activating FAK signaling. J. Clin. Invest., 2010; 120: 223–241

[39] Husemann J., Obstfeld A., Febbraio M., Kodama T., Silverstein S.C.: CD11b/CD18 mediates production of reactive oxygen species by mouse and human macrophages adherent to matrixes containing oxidized LDL. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2001; 21; 1301–1305

[40] Ilchmann A., Burgdorf S., Scheurer S., Waibler Z., Nagai R., Wellner A., Yamamoto Y., Yamamoto H., Henle T., Kurts C., Kalinke U., Vieths S., Toda M.: Glycation of a food allergen by the Maillard reaction enhances its T-cell immunogenicity: role of macrophage scavenger receptor class A type I and II. J. Allergy Clin. Immunol., 2010; 125: 175–183

[41] Ishikawa E., Ishikawa T., Morita Y.S., Toyonaga K., Yamada H., Takeuchi O., Kinoshita T., Akira S., Yoshikai Y., Yamasaki S.: Direct recognition of the mycobacterial glycolipid, trehalose dimycolate, by C-type lectin Mincle. J. Exp. Med., 2009; 206: 2879–2888

[42] Ito S., Naito M., Kobayashi Y., Takatsuka H., Jiang S., Usuda H., Umezu H., Hasegawa G., Arakawa M., Shultz L.D., Elomaa O., Tryggvason K.: Roles of a macrophage receptor with collagenous structure (MARCO) in host defense and heterogeneity of splenic marginal zone macrophages. Arch. Histol. Cytol., 1999; 62: 83–95

[43] Jiang Y., Oliver P., Davies K.E., Platt N.: Identification and characterization of murine SCARA5, a novel class A scavenger receptor that is expressed by populations of epithelial cells. J. Biol. Chem., 2006; 281: 11834–11845

[44] Józefowski S., Arredouani M., Sulahian T., Kobzik L.: Disparate regulation and function of the class A scavenger receptors SR-AI/II and MARCO. J. Immunol., 2005; 175: 8032–8041

[45] Józefowski S., Kobzik L.: Scavenger receptor A mediates H_2O_2 production and suppression of IL-12 release in murine macrophages. J. Leukoc. Biol., 2004; 76: 1066–1074

[46] Józefowski S., Marcinkiewicz J.: Aggregates of denatured proteins stimulate nitric oxide and superoxide production in macrophages. Inflamm. Res., 2010; 59: 277-289

[47] Józefowski S., Sulahian T.H., Arredouani M., Kobzik L.: Role of scavenger receptor MARCO in macrophage responses to CpG oligodeoxynucleotides. J. Leukoc. Biol., 2006; 80: 870–879

[48] Józefowski S., Yang Z., Marcinkiewicz J., Kobzik L.: Scavenger receptors and β-glucan receptors participate in the recognition of yeasts by murine macrophages. Inflamm. Res., 2012; 61: 113–126

[49] Kagan J.C., Su T., Horng T., Chow A., Akira S., Medzhitov R.: TRAM couples endocytosis of Toll-like receptor 4 to the induction of interferon-β. Nat. Immunol., 2008; 9: 361–368

[50] Karlsson M.C., Guinamard R., Bolland S., Sankala M., Steinman R.M., Ravetch J.V.: Macrophages control the retention and trafficking of B lymphocytes in the splenic marginal zone. J. Exp. Med., 2003; 198: 333–340

[51] Kerkmann M., Costa L.T., Richter C., Rothenfusser S., Battiany J., Hornung V., Johnson J., Englert S., Ketterer T., Heckl W., Thalhammer S., Endres S., Hartmann G.: Spontaneous formation of nucleic acid-based nanoparticles is responsible for high interferon-α induction by CpG-A in plasmacytoid dendritic cells. J. Biol. Chem., 2005; 280, 8086–8093

[52] Kim W.S., Ordija C.M., Freeman M.W.: Activation of signaling pathways by putative scavenger receptor class A (SR-A) ligands requires CD14 but not SR-A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2003; 310: 542–549

[53] Kimura Y., Sonehara K., Kuramoto E., Makino T., Yamamoto S., Yamamoto T., Kataoka T., Tokunaga T.: Binding of oligoguanylate to scavenger receptors is required for oligonucleotides to augment NK cell activity and induce IFN. J. Biochem., 1994; 116: 991–994

[54] Kobayashi Y., Miyaji C., Watanabe H., Umezu H., Hasegawa G., Abo T., Arakawa M., Kamata N., Suzuki H., Kodama T., Naito M.: Role of macrophage scavenger receptor in endotoxin shock. J. Pathol., 2000; 192: 263–272

[55] Kodama T., Freeman M., Rohrer L., Zabrecky J., Matsudaira P., Krieger M.: Type I macrophage scavenger receptor contains α-helical and collagen-like coiled coils. Nature, 1990; 343: 531–535

[56] Komohara Y., Takemura K., Lei X.F., Sakashita N., Harada M., Suzuki H., Kodama T., Takeya M.: Delayed growth of EL4 lymphoma in SR-A-deficient mice is due to upregulation of nitric oxide and interferon-γ production by tumor-associated macrophages. Cancer Sci., 2009; 100: 2160–2166

[57] Kosswig N., Rice S., Daugherty A., Post S.R.: Class A scavenger receptor-mediated adhesion and internalization require distinct cytoplasmic domains. J. Biol. Chem., 2003; 278: 34219–34225

[58] Krieg A.M.: CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. Annu. Rev. Immunol., 2002; 20: 709–760

[59] Kunjathoor V.V., Febbraio M., Podrez E.A., Moore K.J., Andersson L., Koehn S., Rhee J.S., Silverstein R., Hoff H.F., Freeman M.W.: Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. J. Biol. Chem., 2002; 277: 49982–49988

[60] Kurzai O., Schmitt C., Claus H., Vogel U., Frosch M., Kolb-Mäurer A.: Carbohydrate composition of meningococcal lipopolysaccharide modulates the interaction of *Neisseria meningitidis* with human dendritic cells. Cell. Microbiol., 2005; 7: 1319–1334

[61] Li J.Y., Paragas N., Ned R.M., Qiu A., Viltard M., Leete T., Drexler I.R., Chen X., Sanna-Cherchi S., Mohammed F., Williams D., Lin C.S., Schmidt-Ott K.M., Andrews N.C., Barasch J.: Scara5 is a ferritin receptor mediating non-transferrin iron delivery. Dev. Cell, 2009; 16: 35–46

[62] Limmon G.V., Arredouani M., McCann K.L., Corn Minor R.A., Kobzik L., Imani F.: Scavenger receptor class-A is a novel cell surface receptor for double-stranded RNA. FASEB J., 2008; 22: 159–167

[63] Malhotra R., Taylor N.R., Bird M.I.: Anionic phospholipids bind to L-selectin (but not E-selectin) at a site distinct from the carbohydrate-binding site. Biochem. J., 1996; 314: 297–303

[64] Misra U.K., Shackelford R.E., Florine-Casteel K., Thai S.F., Alford P.B., Pizzo S.V., Adams D.O.: Maleylated-BSA induces hydrolysis of PIP2, fluxes of Ca^{2+}, NF-κB binding, and transcription of the TNF-α gene in murine macrophages. J. Leukoc. Biol., 1996; 60: 784–792

[65] Morimoto K., Wada Y., Hinagata J., Imanishi T., Kodama T., Doi T.: VXFD in the cytoplasmic domain of macrophage scavenger receptors mediates their efficient internalization and cell-surface expression. Biol. Pharm. Bull., 1999; 22: 1022–1026

[66] Mukhopadhyay S., Chen Y., Sankala M., Peiser L., Pikkarainen T., Kraal G., Tryggvason K., Gordon S.: MARCO, an innate activation marker of macrophages, is a class A scavenger receptor for *Neisseria meningitidis*. Eur J. Immunol., 2006; 36: 940–949

[67] Nakamura K., Funakoshi H., Tokunaga F., Nakamura T.: Molecular cloning of a mouse scavenger receptor with C-type lectin (SRCL)1, a novel member of the scavenger receptor family. Biochim Biophys Acta., 2001; 1522: 53–58

[68] Ohnishi K., Komohara Y., Fujiwara Y., Takemura K., Lei X., Nakagawa T., Sakashita N., Takeya M.: Suppression of TLR4-mediated inflammatory response by macrophage class A scavenger receptor (CD204). Biochem. Biophys. Res. Commun., 2011; 411: 516–522

[69] Ohtani K., Suzuki Y., Eda S., Kawai T., Kase T., Keshi H., Sakai Y., Fukuoh A., Sakamoto T., Itabe H., Suzutani T., Ogasawara M., Yoshida I., Wakamiya N.: The membrane-type collectin CL-P1 is a scavenger receptor on vascular endothelial cells. J. Biol. Chem., 2001; 276: 44222–44228

[70] Ojala J.R., Pikkarainen T., Tuuttila A., Sandalova T., Tryggvason K.: Crystal structure of the cysteine-rich domain of scavenger receptor MARCO reveals the presence of a basic and an acidic cluster that both contribute to ligand recognition. J. Biol. Chem., 2007; 282: 16654–16666

[71] Ozeki Y., Tsutsui H., Kawada N., Suzuki H., Kataoka M., Kodama T., Yano I., Kaneda K., Kobayashi K.: Macrophage scavenger receptor down-regulates mycobacterial cord factor-induced proinflammatory cytokine production by alveolar and hepatic macrophages. Microb. Pathog., 2006; 40: 171–176

[72] Palecanda A., Paulauskis J., Al-Mutairi E., Imrich A., Qin G., Suzuki H., Kodama T., Tryggvason K., Koziel H., Kobzik L.: Role of the scavenger receptor MARCO in alveolar macrophage binding of unopsonized environmental particles. J. Exp. Med., 1999; 189: 1497–1506

[73] Peiser L., De Winther M.P., Makepeace K., Hollinshead M., Coull P., Plested J., Kodama T., Moxon E.R., Gordon S.: The class A macrophage scavenger receptor is a major pattern recognition receptor for *Neisseria meningitidis* which is independent of lipopolisaccharide and not required for secretory responses. Infect. Immun., 2002; 70: 5346–5354

[74] Platt N., Suzuki H., Kodama T., Gordon S.: Apoptotic thymocyte clearance in scavenger receptor class A-deficient mice is apparently normal. J. Immunol., 2000; 164: 4861–4867

[75] Pollaud-Chérion C., Vandaele J., Quartulli F., Séguélas M.H., Decerprit J., Pipy B.: Involvement of calcium and arachidonate metabolism in acetylated-low-density-lipoprotein-stimulated tumor-necrosis-factor--α production by rat peritoneal macrophages. Eur. J. Biochem., 1998; 253: 345–353

[76] Post S.R., Gass C., Rice S., Nikolic D., Crump H., Post G.R.: Class A scavenger receptors mediate cell adhesion via activation of Gi/o and formation of focal adhesion complexes. J. Lipid Res., 2002; 43: 1829–1836

[77] Ramaprakash H., Hogaboam C.M.: Intranasal CpG therapy attenuated experimental fungal asthma in a TLR9-dependent and -independent manner. Int. Arch. Allergy Immunol., 2010; 152: 98–112

[78] Ricci R., Sumara G., Sumara I., Rozenberg I., Kurrer M., Akhmedov A., Hersberger M., Eriksson U., Eberli F.R., Becher B., Borén J., Chen M., Cybulsky M.I., Moore K.J., Freeman M.W., Wagner E.F., Matter C.M., Lüscher T.F.: Requirement of JNK2 for scavenger receptor A-mediated foam cell formation in atherogenesis. Science, 2004; 306: 1558–1561

[79] Rohrer L., Freeman M., Kodama T., Penman M., Krieger M.: Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. Nature, 1990; 343: 570–572

[80] Sankala M., Brännström A., Schulthess T., Bergmann U., Morgunova E., Engel J., Tryggvason K., Pikkarainen T.: Characterization of recombinant soluble macrophage scavenger receptor MARCO. J. Biol. Chem., 2002; 277: 33378–33385

[81] Santiago-García J., Kodama T., Pitas R.E.: The class A scavenger receptor binds to proteoglycans and mediates adhesion of macrophages to the extracellular matrix. J. Biol. Chem., 2003; 278: 6942–6946

[82] Seimon T.A., Obstfeld A., Moore K.J., Golenbock D.T., Tabas I.: Combinatorial pattern recognition receptor signaling alters the balance of life and death in macrophages. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006; 103: 19794–19799

[83] Selman L., Skjodt K., Nielsen O., Floridon C., Holmskov U., Hansen S.: Expression and tissue localization of collectin placenta 1 (CL-P1, SRCL) in human tissues. Mol. Immunol., 2008; 45: 3278–3288

[84] Sever-Chroneos Z., Krupa A., Davis J., Hasan M., Yang C.H., Szeliga J., Herrmann M., Hussain M., Geisbrecht B.V., Kobzik L., Chroneos Z.C.: Surfactant protein A (SP-A)-mediated clearance of *Staphylococcus aureus* involves binding of SP-A to the staphylococcal adhesin Eap and the macrophage receptors SP-A receptor 210 and scavenger receptor class A. J. Biol. Chem., 2011; 286: 4854–4870

[85] Sever-Chroneos Z., Murthy A., Davis J., Florence J.M., Kurdowska A., Krupa A.,.Tichelaar J.W., White M.R., Hartshorn K.L., Kobzik L., Whitsett J.A., Chroneos Z.C.: GM-CSF modulates pulmonary resistance to influenza A infection. Antiviral Res., 2011; 92: 319–328

[86] Sever-Chroneos Z., Tvinnereim A., Hunter R.L., Chroneos Z.C.: Prolonged survival of scavenger receptor class A-deficient mice from pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* infection. Tuberculosis, 2011; 91(Suppl.1): S69–S74

[87] Steinbrecher U.P., Witztum J.L., Parthasarathy S., Steinberg D.: Decrease in reactive amino groups during oxidation or endothelial cell modification of LDL. Correlation with changes in receptor-mediated catabolism. Arteriosclerosis, 1987; 7: 135–143

[88] Suzuki H., Kurihara Y., Takeya M., Kamada N., Kataoka M., Jishage K., Ueda O., Sakaguchi H., Higashi T., Suzuki T., Takashima Y., Kawabe Y., Cynshi O., Wada Y., Honda M., Kurihara H., Aburatani H., Doi T., Matsumoto A., Azuma S., Noda T., Toyoda Y., Itakura H., Yazaki Y., Horiuchi S., Takahashi K., Kruijt J.K., van Berkel T.J., Steinbrecher U.P., Ishibashi S., Maeda N., Gordon S., Kodama T.: A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. Nature, 1997; 386: 292–296

[89] Takagi T., Hashiguchi M., Mahato R.I., Tokuda H., Takakura Y., Hashida M.: Involvement of specific mechanism in plasmid DNA uptake by mouse peritoneal macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1998; 245: 729–733

[90] Thakur S.A., Hamilton R.Jr., Pikkarainen T., Holian A.: Differential binding of inorganic particles to MARCO. Toxicol. Sci., 2009; 107: 238–246

[91] Thomas C.A., Li Y., Kodama T., Suzuki H., Silverstein S.C., El Khoury J.: Protection from lethal gram-positive infection by macrophage scavenger receptor-dependent phagocytosis. J. Exp. Med., 2000; 191: 147–156

[92] Todt J.C., Hu B., Curtis J.L.: The scavenger receptor SR-A I/II (CD204) signals via the receptor tyrosine kinase Mertk during apoptotic cell uptake by murine macrophages. J. Leukoc. Biol., 2008; 84: 510–518

[93] Usui H.K., Shikata K., Sasaki M., Okada S., Matsuda M., Shikata Y., Ogawa D., Kido Y., Nagase R., Yozai K., Ohga S., Tone A., Wada J., Takeya M., Horiuchi S., Kodama T., Makino H.: Macrophage scavenger receptor-A-deficient mice are resistant against diabetic nephropathy through amelioration of microinflammation. Diabetes, 2007; 56: 363–372

[94] Van Amersfoort E.S., Van Berkel T.J.C., Kuiper J.: Clearance of lipopolysaccharide in scavenger receptor knock out mice. J. Leukoc. Biol., 1996; 210 (Suppl): 48

[95] Yokota T., Ehlin-Henriksson B., Hansson G.K.: Scavenger receptors mediate adhesion of activated B lymphocytes. Exp. Cell Res., 1998; 239: 16–22

[96] Yu X., Yi H., Guo C., Zuo D., Wang Y., Kim H.L., Subjeck J.R., Wang X.Y.: Pattern recognition scavenger receptor CD204 attenuates Toll-like receptor 4 induced NF-αB activation by directly inhibiting ubiquitination of tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factor 6. J. Biol. Chem., 2011; 286: 18795–18806

[97] Zhu X.D., Zhuang Y., Ben J.J., Qian L.L., Huang H.P., Bai H., Sha J.H., He Z.G., Chen Q.: Caveolae-dependent endocytosis is required for class A macrophage scavenger receptor-mediated apoptosis in macrophages. J. Biol. Chem., 2011; 286: 8231–8239

[98] Zhu Z.H., Yu Y.P., Shi Y.K., Nelson J.B., Luo J.H.: CSR1 induces cell death through inactivation of CPSF3. Oncogene, 2009; 28: 41–51

Autor deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.