

Received: 2012.10.24
Accepted: 2012.12.19
Published: 2013.03.25

Regulacja odpowiedzi zapalnej zależnej od receptorów Toll-podobnych*

Regulation of Toll-like receptors-dependent inflammatory response

Ewa Kowalczyk, Jakub Siednienko, Janusz Matuszyk

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Receptory Toll-podobne (TLR) należą do jednych z najważniejszych elementów wrodzonej odpowiedzi odpornościowej. Rozpoznając czynniki chorobotwórcze przekazują sygnał do wnętrza komórki, który uruchamia procesy mające na celu usunięcie patogenu z organizmu. W związku z naturą odpowiedzi na czynnik chorobotwórczy istnieje potrzeba jej ścisłej regulacji, ponieważ zaburzenia w przebiegu procesu zapalnego prowadzą do chorób autoimmunologicznych i karcynogenezy. Kaskada sygnałowa inicjowana przez aktywowany TLR jest wieloetapowa i bardzo złożona. Angażuje wiele białek adaptorowych, kinaz białkowych i efektorowych czynników transkrypcyjnych. Stwarza to możliwość regulacji tego procesu na wielu etapach. Modulacja przekazania sygnału może się odbywać poprzez zmianę ekspresji TLR, ingerencję skróconych białek adaptorowych zaangażowanych w kaskadę, czy też enzymów modyfikujących te białka. W pracy skupiono się na endogennych czynnikach wpływających na odpowiedź zależną od TLR oraz omówiono elementy farmakologicznej regulacji procesu zapalnego związanego z pierwotną odpowiedzią odpornościową.

Słowa kluczowe: receptory Toll – podobne • TLR • regulacja odpowiedzi zapalnej

Summary

Toll-like receptors (TLRs) are a pivotal part of our innate immune response. They recognize a wide variety of pathogens and instigate an immune response, thus facilitating the removal of the disease-causing agent. Due to the intense nature of this response its strict control is of key importance, as a prolonged inflammatory signal leads to carcinogenesis and autoimmune disorders. The signaling cascade initiated by the activated TLR is complex and consists of multiple stages. It involves a variety of adaptor proteins, protein kinases and effector transcription factors. The number of stages in this process enables many possible checkpoints and ways of regulation. Signal modulation involves differentiated expression of TLRs, splicing variants of their adaptor proteins, enzymes modifying proteins engaged in the cascade and many more. This review focuses on endogenous factors responsible for controlling the TLR-dependent inflammatory response as well as on pharmacological therapies designed for regulating the innate immune response.

Keywords: Toll-like receptors • TLR • regulation of the inflammatory response

*Projekt Homing Plus/2010-2/15 realizowany w ramach programu Homing Plus Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, współfinansowany przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1042228>

Word count: 4129

Tables: –

Figures: 2

References: 137

Adres autora: dr hab. Janusz Matuszyk, prof. PAN, Laboratorium Białek Sygnałowych Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: matuszyk@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **domena DD** – trzeciorzędowy motyw strukturalny występujący w białkach zaangażowanych w apoptozę i zapalenie, **IFN** – interferon, **IRAK** – kinaza białkowa z rodziny kinaz związanych z receptorem interleukiny 1, **LPS** – lipopolisacharyd, **Mal** – białko adaptorowe związane z MyD88, produkt genu *TIRAP*, **MyD88** – białko adaptorowe, **PAMP** – wzorce molekularne związane z patogenami, **TLR** – receptor Toll-podobny, **TRAF6** – białko z rodziny czynników związanych z receptorem TNF, **TRAM** – białko adaptorowe związane z TRIF, **TRIF** – białko adaptorowe posiadające domenę TIR indukującą interferon β , **SHP** – receptor sierocy z rodziny receptorów jądrowych, **SLE** – układowy toczeń rumieniowaty.

WSTĘP

Receptory Toll-podobne (Toll-like receptors – TLR) należą do rodziny białek błonowych pełniących główną rolę w odpowiedzi odpornościowej i stanowią jeden z wielu elementów pierwszej linii obrony przeciwko patogenom. Swoją nazwę zawdzięczają podobieństwu do produktu genu *toll* pierwszy raz opisanego przez Andersona i wsp. u *Drosophila melanogaster*, jako najważniejszego do prawidłowego wykształcenia osi grzbietowo-brzuszej u rozwijających się osobników [5], a następnie powiązanego z układem odpornościowym – zaangażowanego w odpowiedź przeciwgrzybiczą u muszki owocówki [64]. U ludzi odpowiednik genu *toll* zidentyfikowano w 1994 roku [83], natomiast jego produkt białkowy w 1997 r. [74]. Dotąd opisano 13 różnych receptorów Toll-podobnych u myszy i 11 u ludzi [128].

TLR należą do rodziny receptorów rozpoznających wzorce molekularne związane z patogenami (pathogen-associated molecular patterns – PAMP). PAMP to wysoce konserwowane, charakterystyczne dla danej klasy drobnoustrojów makrocząsteczki, takie jak peptydoglikany, lipopolisacharydy czy kwasy nukleinowe. W zależności od rozpoznawanego liganda i rodzaju indukowanej odpowiedzi receptory te charakteryzują się różnym umiejscowieniem w komórce oraz zaangażowaną w przekazanie sygnału pulą białek adaptorowych i efektorowych. Na skutek aktywacji TLR są wytwarzane m.in. interleukiny prozapalne (IL-2, -12, -15, -18), interferon α i β , których sekrecja ma na celu rekrutację innych komórek układu odpornościowego, np. komórek NK (natural killers) i usunięcie patogenu z organizmu [106]. Zapewnienie równowagi między aktywacją i inaktywacją TLR jest wielce istotnym aspektem odpowiedzi odpornościowej, bo pozwala na uniknięcie nadmiernej odpowiedzi za-

palnej. Powszechnie wiadomo, że zaburzenia kontroli aktywacji receptorów Toll-podobnych prowadzą do chronicznego stanu zapalnego oraz zaburzeń natury metabolicznej. Skutkiem tego jest rozwój chorób przewlekłych, takich jak miażdżyca, reumatoidalne zapalenie stawów, astma czy nowotwory [33,51,60,90]. Ze względu na następstwa indukowanej odpowiedzi pochodzącej od receptorów Toll-podobnych istnieje konieczność jej ścisłej kontroli. Odbyna się ona na kilku poziomach, poczynając od ekspresji i lokalizacji receptorów do regulacji ekspresji ich genów efektorowych.

ZNANE RECEPTORY TLR – KRÓTKA CHARAKTERYSTYKA

Najlepiej scharakteryzowanym receptorem Toll-podobnym pozostaje od dłuższego czasu TLR4 [74], który w kompleksie z takimi białkami jak CD14 i MD2 (myeloid differentiation protein-2) rozpoznaje lipopolisacharydy (lipopolisaccharyde – LPS) znajdujące się na błonie zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych [37, 94]. Proces ten jest precyzyjnie kontrolowany i przebiega w kilku etapach. W pierwszym LPS wiązany jest z białkiem wiążącym (lipopolisaccharyde binding protein – LBP) i zakotwiczonym w błonie białkiem CD14, a następnie kierowany jest do TLR4 i znajdującego się przy nim MD2, inicjując dimeryzację całego kompleksu [52]. Do innych ligandów TLR4 należą mannany z gatunku *Candida albicans* czy glikoinozytolofosfolipidy z rodzaju *Trypanosoma* [27]. Receptor ten jest również aktywowany przez cząsteczki pochodzenia endogenne, takie jak HSP60 [86], HSP70 [6], HSP gp96 [120], fibrynogen [105], oligosacharydy kwasu hialuronowego [116], zewnątrzkomórkową domenę A fibronektyny [88], siarczan heparanu [47], białka pochodzenia szpikowego Mrp8 i Mrp14 [121], utleniony LDL [75], nasycone kwasy tłuszczowe [59] czy β amyloid [109].

Pierwszym odkrytym receptorem Toll-podobnym jest TLR2, który rozpoznaje wiele ligandów, m.in. składniki komórek bakteryjnych, grzybów, wirusów, drożdży czy pasożytów [2]. Dodatkowo TLR2 dimeryzuje z TLR1 lub TLR6. Ligandem kompleksu TLR1/TLR2 jest triacylowany lipopeptyd pochodzący z bakterii Gram-ujemnych, natomiast kompleks TLR2/TLR6 rozpoznaje diacylowany lipopeptyd mikoplazm [112, 113]. Dodatkowo TLR2 rozpoznaje cząsteczki pochodzenia niebakteryjnego, takie jak HSP70 [6], HSP g96 [121], hialuronian [100], nasycone kwasy tłuszczowe [61] i karboksyalkilopirrole będące końcowym produktem oksydacji lipidów [129]. Oba receptory, TLR2 i TLR4, powiązane zostały z rozwojem chorób autoimmunologicznych oraz chronicznych stanów zapalnych, ponieważ rozpoznają cząsteczki pochodzące z tkanek gospodarza.

W przypadku TLR5 ligandem jest flagellina, białko motoryczne pochodzenia bakteryjnego [32]. W związku z tym receptor ten występuje głównie na powierzchni komórek nabłonkowych błon śluzowych i przewodu oddechowego [28, 31].

TLR11 rozpoznaje cząsteczki znajdujące się na powierzchni pasożyta *Toxoplasma gondii* (profiliny) [130]. Receptor ten występuje na powierzchni komórek nabłonkowych pęcherza u myszy. Osobniki niemające TLR11 odznaczają się zwiększoną podatnością na infekcje przewodu moczowego [136].

Mysi TLR13 jest odpowiedzialny za rozpoznanie fragmentu w 23S rybosomalnym RNA bakterii Gram-dodatnich. Fragment ten wiąże antybiotyki, takie jak makrolidy, linkozamidy i streptograminy, których mechanizm działania opiera się na blokadzie translacji bakteryjnych transkryptów; metylacja tego regionu rRNA warunkuje oporność na wymienione antybiotyki (tzw. fenotyp MLS). Okazuje się, że TLR13 zdolny jest do rozpoznania tylko niemodyfikowanych fragmentów 23S rRNA, ponieważ syntetycznie metylowane lub izolowane z opornego na erytromycynę szczepu *Staphylococcus aureus* 23S rRNA nie indukuje odpowiedzi zależnej od TLR13 [89]. Ponadto komórki niemające TLR13 są bardzo podatne na infekcje wirusem pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej VSV (vesicular stomatitis virus), co sugeruje udział tego receptora w rozpoznaniu komponentów VSV [104].

Do receptorów Toll-podobnych rozpoznających kwasy nukleinowe należą TLR3, 7, 8 i 9; aktywacja tych receptorów wywołuje syntezę interferonów typu I. TLR3 wiąże dwuniciowe RNA [3], TLR7 i 8 jednociowe RNA, np. wirusa grypy [69]. Ostatni z omawianych receptorów Toll-podobnych, TLR9, związany jest z rozpoznawaniem przez komórki gospodarza DNA mysiego wirusa cytomegalii [110], wirusa opryszczki pospolitej 1/2 [54] oraz niemetylowanych motywów CpG [34].

Ludzki TLR10 zidentyfikowali w 2001 roku Chuanga i wsp. [18], jednak do tej pory nie znaleziono jego liganda, co czyni go receptorem sierocym. Wiadomo, że filogene-

tycznie jest najbliższym spokrewnionym z TLR1 i TLR6. Najwyższą ekspresję tego receptora obserwuje się w tkankach limfoidalnych, takich jak śledziona, węzły chłonne, grasicę czy migdałki [18]. TLR12, podobnie jak TLR10, jest receptorem sierocym. Ulega ekspresji głównie w mysich neuronach oraz na komórkach układu odpornościowego infiltrujących tkanki nerwowe w mysim modelu wgrzyzcy neuronalnej [76].

BIĄŁKA ADAPTOROWE – GŁÓWNY ELEMENT ODPOWIEDZI KOMÓRKOWEJ

Wszystkie znane receptory Toll-podobne są białkami transmembranowymi zakotwiczonymi w błonie komórkowej bądź w endosomalnej. Z kolei efekt biologiczny wywołany aktywacją TLR związany jest z indukcją ekspresji odpowiednich genów. W związku z tym istnieje potrzeba przekazania sygnału zapalnego od aktywowanego receptora do odpowiednich czynników transkrypcyjnych w jądrze komórkowym. W tym celu do części cytosolowej TLR rekrutowane są swoiste białka adaptorowe, których zadaniem jest przekazanie sygnału z aktywowanego receptora na wiele kinaz białkowych i innych białek sygnałowych. Wewnątrzkomórkowa kaskada sygnałowa indukowana związaniem liganda przez TLR jest procesem kilkustopniowym, angażującym różne czynniki, gdzie każdy z poszczególnych etapów jest potencjalnym celem działania czynników regulatorowych.

Pierwszym białkiem w kaskadzie przekazania sygnału od aktywowanego receptora do wnętrza komórki jest MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88). Białko to oddziałuje prawie z wszystkimi receptorami Toll-podobnymi tym samym warunkując dalsze przekazanie sygnału w odpowiedzi na większość drobnoustrojów. Wyjątek stanowi aktywacja receptora TLR3, w której zaangażowany jest odpowiednik MyD88 – białko TRIF. Poprzez domenę TIR MyD88 wiąże się z homologiczną domeną w wewnątrzkomórkowej części receptora, przy czym oddziaływanie to może mieć charakter pośredni lub bezpośredni. Na N-końcowym fragmencie białko MyD88 ma domenę DD (death domain), której obecność umożliwia rekrutację innych białek mających domenę DD [65]. Powszechne zaangażowanie MyD88 w szlaki TLR-zależne sugeruje istnienie mechanizmów regulacji przekazania sygnału informującego o aktywacji TLR na poziomie białka MyD88. Dotychczas poznano kilka z nich.

MyD88s jest krótszą postacią MyD88 pozbawioną domeny DD. MyD88s tworzy heterodimery z MyD88. Do kompleksów tych rekrutowana jest kinaza białkowa IRAK1 (interleukin-1 receptor-associated kinase 1), jednak nie jest ona fosforylowana. Dzieje się tak, ponieważ oddziaływanie kompleksu z kinazą białkową odpowiedzialną za fosforylację kinaz białkowych IRAK1 i IRAK4 (interleukin-1 receptor-associated kinase 4) determinowane jest wiązaniem homologicznych domen DD w kinazie oraz w białku adaptorowym. Brak domeny DD w MyD88s uniemożliwia interakcję z IRAK4, co hamuje fosforylację IRAK1 skutkując zniesieniem sygnału od

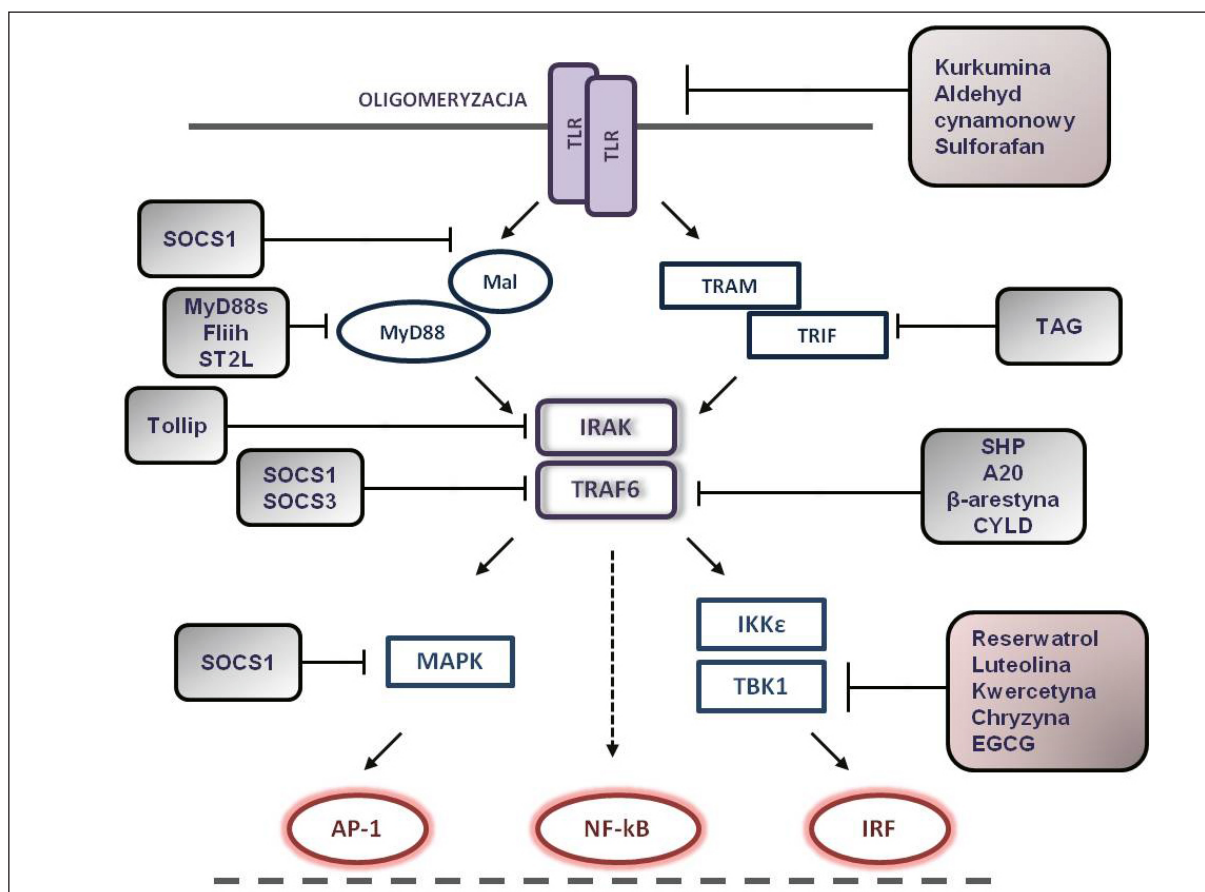
receptora Toll-podobnego [13, 41]. Ekspresję MyD88s wykryto w komórkach śledziony i w mniejszym stopniu w komórkach mózgu. Stężenie MyD88s wzrasta również w komórkach THP-1 (ludzkiej linii monocytarno-makrofagowej) stymulowanych LPS [1].

Wang i wsp. zidentyfikowali 16 białek oddziałujących z MyD88, a tym samym potencjalnie modulujących odpowiedź TLR-zależną. Jednym z tych białek jest Fliih (flightless I homologue). Wyciszenie jego ekspresji zwiększa aktywność NF- κ B po stymulacji komórek LPS. Fliih na N-końcowym fragmencie ma 16 powtórzeń LRR (leucine rich repeats), co umożliwia oddziaływanie z MyD88 [124].

Z kolei Brint i wsp. zaobserwowali pewien ciekawy rodzaj regulacji polegający na sekwestracji białek adaptorowych [10]. Receptor sierocy ST2L jest białkiem transmembranowym zawierającym trzy zewnątrzkomórkowe domeny immunoglobulinopodobne oraz jedną wewnątrzkomórkową domenę TIR. Receptor ten przez oddziaływanie między homologicznymi domenami TIR wiąże białka adaptorowe MyD88 i Mal, negatywnie wpływając na przekazanie sygnału od TLR4 i IL-1R.

Podczas gdy MyD88s wpływa na ścieżkę MyD88-zależną, białko TAG zaangażowane jest w ścieżkę MyD88-niezależną, w którą zaangażowane jest białko adaptorowe TRIF [92] (rycina 1). Białko TAG, będące wariantem splicingowym TRAM (białko adaptorowe oddziałujące z TRIF), w komórkach spoczynkowych jest umiejscowione w retikulum endoplazmatycznym i wczesnych endosomach. Po stymulacji LPS przemieszcza się do endosomów, gdzie może oddziaływać z kompleksem TLR4-TRAM. Na skutek tego oddziaływania dochodzi do dysocjacji kompleksu TLR4/TRAM, co powoduje wyciszenie sygnału i zahamowanie wytwarzania interferonów typu I.

Białko SHP (small heterodimer partner) jest natomiast receptorem sierocym należącym do rodziny receptorów jądrowych, a jego główną funkcją jest hamowanie transkrypcji zależnej od innych członków tej rodziny [63, 101]. Niedawno poznano także jego rolę w odpowiedzi TLR-zależnej, przy czym rola ta wydaje się mieć charakter dwufazowy. Wykazano, że w komórkach spoczynkowych SHP związane jest z podjednostką p65 czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, gdzie funkcjonuje jako represor transkrypcji. Podczas stymulacji komórek czynnikami



Ryc. 1. Endogenna i egzogenna regulacja aktywacji TLR. Czynniki farmakologiczne zaznaczono kolorem różowym. Częsteczkę MyD88s, ST2L oraz Fliih oddziałującą z Mal blokują dalsze przesłanie sygnału od aktywowanego receptora. Białko TAG, forma skrócona TRAM, oddziałując z heterodimerem TRAM/TRIF powoduje rozpad kompleksu. Receptor sierocy SHP w komórkach aktywowanych oddysocjuje od podjednostki p65 i wiążąc się z domeną RING TRAF6 uniemożliwia jego poliubikwitinację. Podobny mechanizm działania wykazuje β-arestyna. CYLD i A20 są enzymami deubikwitynującymi odcinającymi reszty poliubikwityny z TRAF6 hamując dalsze przekazywanie sygnału w komórce. SOCS1 i SOCS3 blokują indukowaną LPS ubikwitinację TRAF6, dodatkowo SOCS1 związany jest z procesem degradacji białka adaptorowego Mal. W komórkach spoczynkowych Tollip oddziałuje z IRAK hamując jego autofosforylację (wg [43] zmodyfikowano).

prozapalnymi SHP oddysocjowuje od p65 i wiąże się z domeną RING białka TRAF6 uniemożliwiając jego poliubikwitinację, niezbędną do dalszego przekazania sygnału. Ponieważ SHP oddziałuje z TRAF6, regulacja odpowiedzi TLR-zależnej odbywa się w tym przypadku zarówno na drodze MyD88-, jak i TRIF-zależnej [135].

W 2006 roku Wang i wsp. wykazali, że z TRAF6 oddziałuje również β -arestyna [125], białko cytosolowe dobrze znane ze swojej roli w wygaszaniu szlaków sygnałowych zależnych od receptorów połączonych z białkami G. Białko to po stymulacji komórki wchodzi w bezpośrednią interakcję z TRAF6 i, podobnie jak SHP, uniemożliwia jego autoubikwitinację.

Zarówno SHP jak i β -arestyna oddziałując z TRAF6 są zaważą steryczną dla enzymów ubikwitynujących. Innym sposobem regulacji na poziomie TRAF6 jest odłączenie reszt poliubikwityny z TRAF6, co daje podobny skutek jak w przypadku białek SHP i β -arestyny [30]. Do enzymów takich należą deubikwitynazy A20 i CYLD. A20 zostało początkowo zidentyfikowane jako białko wpływające na procesy śmierci komórkowej [91]. Jego rolę jako ubikwitynazy poznano w 2000 roku, kiedy Lee i wsp. powiązali aktywność tego białka z odpowiedzią odpornościową [57]. Po stymulacji komórek LPS białko A20 powoduje dysocjację białka TRAF6 od kompleksu ubikwitynującego E2, w skład którego wchodzi białko Ubc13 i UbcH5c. Następnie białko A20 katalizuje przeniesienie łańcucha poliubikwitynowego z TRAF6 na białko Ubc13 kierując tym samym ostatnie do degradacji proteasomowej [103, 127]. CYLD (cylindromatosis) jest białkiem należącym do rodziny deubikwitynaz USP. Wykazano, że oddziałując z białkowymi wtórnymi przekaźnikami sygnału hamuje aktywację NF- κ B [119] usuwając łańcuchy poliubikwitynowe z takich białek jak TRAF2, TRAF6 czy NEMO [11, 53].

Kolejnymi białkami wpływającymi na ubikwitinację białek sygnałowych zaangażowanych w odpowiedź zależną od receptorów Toll-podobnych są białka z rodziny SOCS (suppressor of cytokine signaling proteins). Pierwotnie rodzina ta wiązana była z odpowiedzią zapalną w komórkach dendrytycznych [29], jednak w 2007 roku Rothlin i wsp. zidentyfikowali dwa białka z tej rodziny: SOCS1 i SOCS3, jako białka blokujące indukowaną LPS ubikwitinację TRAF6 i TRAF3, co hamuje sygnał zarówno na drodze MyD88-, jak i TRIF-zależnej [96]. Ponadto wykazano, że hamujące działanie SOCS1 i SOCS3 zależy od aktywacji receptorowych kinaz tyrozynowych z rodziny TAM (Tyro-3, Axl i Mer). Ligandami tych receptorów są cytokiny i chemokiny wyrzucane przez komórkę na skutek aktywacji receptorów Toll-podobnych, takie jak IL-6 czy interferon. Sygnał pochodzący od aktywowanych receptorów TAM indukuje ekspresję genów kodujących białka SOCS, co w wyniku sprzężenia zwrotnego hamuje ekspresję genów zależną od receptorów Toll-podobnych. Dodatkowo wykazano, że SOCS1 zaangażowany jest w degradację Mal [71], natomiast razem z SOCS3 niekorzystnie wpływa na aktywację ścieżki JAK/STAT.

Jak już wcześniej wspomniano, aktywacja receptorów Toll-podobnych skutkuje sekrecją cytokin i chemokin, takich jak IL-6, RANTES, TNF- α czy interferonu typu I. Wykazano, że poziom wydzielanych na skutek stymulacji komórek LPSe cytokin zależy od białka Tollip (Toll interacting protein). Poziom cytokin u myszy pozbawionych genu kodującego białko Tollip był znacząco niższy w odpowiedzi na czynniki prozapalne niż u myszy typu dzikiego [23]. Dodatkowo nadekspresja Tollip hamuje TLR2 i TLR4-zależną aktywację NF- κ B [12]. Ponadto wykazano, że białko to w komórkach spoczynkowych oddziałuje z kinazą białkową IRAK blokując jej autofosforylację (ryc.1). Po aktywacji komórek Tollip podlega fosforylacji przez IRAK, co najprawdopodobniej skutkuje dysocjacją kompleksu Tollip-IRAK [137] i umożliwia przekazanie sygnału na TRAF6.

W związku ze złożonością kaskad sygnałowych aktywowanych przez receptory Toll-podobne istnieje możliwość kompleksowej regulacji tych szlaków na wielu poziomach. Większość białek adaptorowych i kinaz białkowych zaangażowanych w przekazanie sygnału od aktywowanego receptora do jądra komórkowego może być potencjalnym celem dla przeciwwzapalnych terapii celowanych. Dlatego też tak istotna jest identyfikacja biologicznych czynników regulujących odpowiedź zależną od TLR.

REGULACJA EKSPRESJI ORAZ UMIEJSCOWIENIE RECEPTORÓW W KOMÓRCIE

Umiejscowienie w komórce receptorów rozpoznających wzorce jest jednym z najważniejszych sposobów regulacji szlaków sygnałowych. Zmiana umiejscowienia receptora w trakcie działania stymulatora zapobiega nadmiernej aktywacji układu odpornościowego. Regulacja umiejscowienia receptora może się odbywać na kilku poziomach, od wędrówki białka z retikulum endoplazmatycznego do błony docelowej (komórkowej lub endosomalnej) aż po usunięcie receptora z miejsca ekspozycji na ligand i jego degradację.

W komórkach spoczynkowych receptor TLR4 umiejscowiony jest w aparacie Golgiego. Wyjątek stanowią monocyty, w których receptor ten znajduje się w błonie komórkowej. Wędrówka TLR4 z przedziału wewnątrzkomórkowego do błony komórkowej, gdzie jest ekspozowany do środowiska zewnątrzkomórkowego, możliwa jest dzięki glikoproteinie MD2 [77]. Białko to jest również niezbędne do oddziaływania receptora TLR4 z LPS. Kompleks składający się z TLR4, MD2 i CD14 przemieszcza się między aparatem Golgiego a błoną komórkową [56, 117] do czasu związania liganda. W chwili interakcji TLR4-LPS następuje przekazanie sygnału do wewnątrz komórki w procesie zależnym od klatryny i dynaminy, po czym cały trójbiałkowy kompleks kierowany jest do endosomu [38, 115], gdzie sam receptor jest ubikwitynowany, a następnie ulega degradacji w proteasomie. Translokacja TLR4 do endosomu jest niezbędna do prawidłowego przekazania sygnału od aktywowanego receptora. Hamowanie internalizacji TLR4 co prawda nie

wpływa na aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, prowadzi jednak do całkowitego zniesienia fosforylacji czynnika transkrypcyjnego IRF3, a tym samym do zahamowania wytwarzania interferonów typu I [49]. Jest to związane z istnieniem alternatywnej, interferonowej ścieżki przekazywania sygnału od aktywowanego receptora TLR4, w którą zaangażowane są białka adaptorowe TRIF i TRAM. Białko TRIF w komórkach spoczynkowych znajduje się w cytosolu [35]. Z kolei TRAM jest umiejscowione w błonie komórkowej [97], natomiast po stymulacji LPS przemieszcza się do endosomów i tworzy kompleks z TLR4 [92]. Sugeruje to, że translokacja TLR4 do endosomu jest niezbędna do aktywacji szlaku sygnałowego receptora prowadzącego do wytwarzania interferonów typu I [49].

Za umiejscowienie powierzchniowych TLR odpowiadają m.in. swoiste białka opiekuńcze. Do takich należą gp96 oraz PRAT4A [73], przy czym gp96 związane jest z różnymi receptorami, natomiast PRAT4A odpowiedzialne jest za wysyłanie receptorów Toll-podobnych do ich błon docelowych.

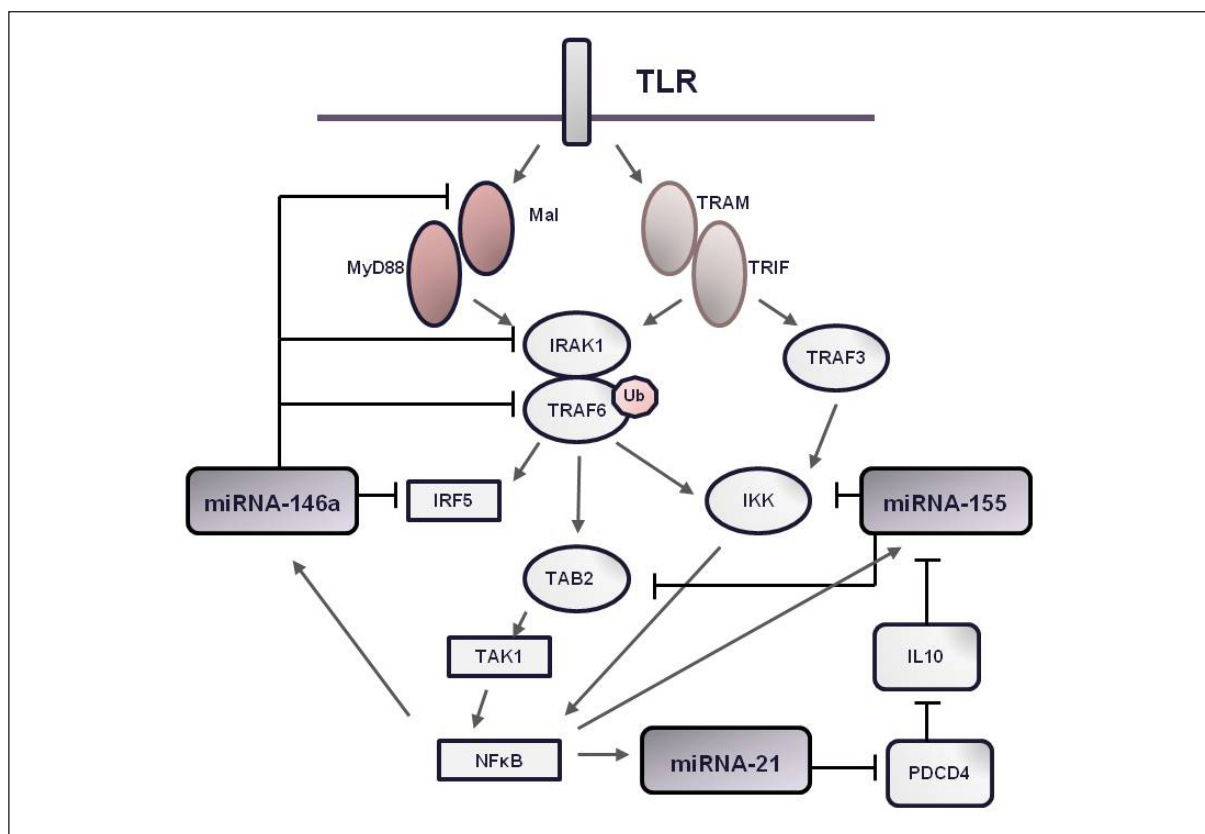
Występujące wewnątrzkomórkowo receptory TLR, takie jak TLR3, 7 i 9 w swojej sekwencji zawierają sygnały retencji, które po translacji białek odpowiedzialne są za utrzymanie tych receptorów w retikulum endoplazmatycznym. Uważa się, że takie umiejscowienie receptorów zapobiega niepożądaney aktywacji TLR przez kwasy nukleinowe komórek gospodarza. Ponadto wykazano, że istnieje TLR-niezależny system detekcji własnego DNA pochodzącego z komórek apoptotycznych związany z DN-azą II [87]. Po stymulacji wewnątrzkomórkowe receptory Toll-podobne przemieszczają się z retikulum do endosomów [46], jednak w przeciwieństwie do TLR4 translokacja ta nie jest zależna od oddziaływania receptora ze swoistym ligandem. Proces ten jest zależny od białka opiekuńczego Unc93B [50]. Oddziaływanie tego białka z domenami transmembranowymi receptorów TLR3, 7 i 9 jest niezbędne do prawidłowego funkcjonowania tych receptorów [9]. Jednak zależność aktywności receptorów od oddziaływania z Unc93B jest skomplikowana. Zróżnicowane wiązanie się tego białka do receptorów TLR7 i TLR9 zwiększa aktywność TLR9 kosztem TLR7, a tym samym przesuwając równowagę odpowiedzi przeciwwirusowej z indukowanej przez RNA w kierunku odpowiedzi indukowanej przez DNA [26]. Dodatkowo wykazano, że nadekspresja TLR9 w komórkach HEK293 hamuje odpowiedź zależną od TLR7 [123].

Skutecznym sposobem regulacji odpowiedzi TLR-zależnej jest degradacja receptorów uniemożliwiająca oddziaływanie z ligandem. Jednym z białek odpowiedzialnych za ten rodzaj regulacji jest Triad3A, które wiążąc się do domeny cytoplazmatycznej TLR4 i TLR9 powoduje ubikwitinację, a następnie degradację tych receptorów zależną od proteasomu. Nadekspresja Triad3A skutkuje zmniejszeniem aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B po stymulacji LPS i DNA zawierającym miejsca CpG [19].

MikroRNA

Jednym ze sposobów regulacji odpowiedzi odpornościowej zależnej od receptorów Toll-podobnych jest ścisła kontrola ekspresji zarówno genów kodujących same receptory, jak i genów kodujących białka sygnałowe zaangażowane w przekazanie sygnału od aktywowanego receptora. Oprócz typowej regulacji ekspresji związanej z czynnikami transkrypcyjnymi i zmianą topologii chromatyny istotnym czynnikiem wpływającym na transdukcję sygnału w komórkach są cząsteczki mikroRNA. Są to krótkie, długości około 22 par zasad, dwuniciowe cząsteczki kwasu rybonukleinowego, które wiążąc się do regionu 5' UTR mRNA obniżają poziom jego translacji, a tym samym negatywnie wpływają na ekspresję danego genu. Po raz pierwszy mikroRNA opisano w 1993 r. u *Caenorhabditis elegans* [62], jednak mechanizm wyciszania genów w pełni opisano dopiero w 1998 r. [25]. Rola mikroRNA jako regulatora odpowiedzi odpornościowej została potwierdzona, kiedy zidentyfikowano cząsteczki swoiste tylko dla komórek układu odpornościowego: miRNA-142a, -181a i -223 [16]. Dotąd zidentyfikowano ponad 700 różnych mikroRNA, których sekwencje można znaleźć w bazie internetowej Sanger Rfam. Wiele z nich pełni istotną rolę w układzie odpornościowym [66]. miRNA-16, ulegające ekspresji w większości komórek układu odpornościowego [55], oddziałuje z mRNA mającymi na końcu 3' UTR elementy bogate w AU [44], a do takich należą mRNA kodujące cytokiny prozapalne TNF- α , IL-8 czy IL-6. miRNA-29c w hepatocytach interferuje z mRNA enzymu deubikwitującego A20 [122]. miRNA-223 z kolei uczestniczy w regulacji proliferacji i aktywacji neutrofilów [45]. Ekspresja genów mikroRNA zaangażowanych w regulację odpowiedzi zależnej od receptorów Toll-podobnych zależy od samej aktywacji tych receptorów: przekazanie sygnału od receptora do białek efektorowych może skutkować zarówno indukcją ekspresji genów kodujących mikroRNA (miRNA-146a, miRNA-132, miRNA-147, miRNA-346) [4, 67, 111], bądź obniżeniem tego poziomu (miRNA-125b [118] czy let-7i, który jest komplementarny do mRNA receptora TLR4 [17]). Z aktywnością receptorów Toll-podobnych powiązane są głównie trzy mikroRNA [95] (ryc. 2).

Cząsteczka miRNA-146 występuje w dwóch postaciach: a i b. Indukcja ekspresji miRNA-146 znajduje się pod kontrolą promotorów aktywowanych przez NF- κ B. Dodatkowo struktura pierwszorzędowa miRNA-146a pozwala na oddziaływanie z końcem 3' UTR mRNA kodującego TRAF6 i IRAK1, co wskazuje na udział tego mikroRNA w pętli zwrotnej negatywnie regulującej odpowiedź odpornościową [111]. Zaburzenia tej modulacji związane są z onkogenezą [8] oraz chorobami zapalnymi, np. reumatoidalne zapalenie stawów, w którym obserwuje się polimorfizm w regionie 3' UTR mRNA interferującego z miRNA-146a [78]. Analiza profilu ekspresji mikroRNA u pacjentów z układowym toczeniem rumieniowatym (systemic lupus erythematosus-SLE) ujawniła całkowity brak miRNA-146a w chorych tkankach [22]. Dwa lata później Tang i wsp. wykazali, że miRNA-146a interferuje z transkryptem genu kodującego czynnik transkrypcyjny IRF5,



Ryc. 2. Udział mikroRNA w regulacji aktywacji TLR. Aktywacja NF-κB indukuje ekspresję miRNA-146a, które na zasadzie sprzężenia zwrotnego hamuje aktywność IRAK1, TRAF6 i IRF5. Z aktywacją promotorów zależnych od NF-κB wiąże się podwyższony poziom miRNA-155, którego białkami docelowymi są TAB2 i IKKε. Antyzapalna funkcja miRNA-21 związana jest z interferencją z transkrypcją genu kodującego białko PDCD4, które negatywnie wpływa na poziom antyzapalnej IL-10 (wg [96] zmodyfikowana).

którego aktywacja jest związana z wytwarzaniem interferonów typu I zależnie od receptora TLR7. Skutkiem obniżonego poziomu miRNA-146a w komórkach jest nadmierne wytwarzanie interferonów typu I [114]. Sporną pozostaje kwestia, czy podwyższony poziom interferonów typu I (zwłaszcza IFN-α) jest czynnikiem wywołującym SLE, czy też jest następstwem choroby [79]. Badania wykazały, że leczenie chorych z chronicznymi infekcjami wirusowymi z użyciem IFN-α skutkuje rozwojem SLE *de novo* [82]. Ponadto u bliskich krewnych pacjentów chorych na SLE obserwuje się podwyższony poziom IFN-α, co uważane jest za dziedziczny czynnik ryzyka sprzyjający rozwojowi choroby [80, 81]. Obniżony poziom miRNA-146a oraz miRNA-145 obserwuje się również w przypadku zespołu mielodysplastycznego związanego z delecją chromosomu w *locus* 5q [108]. Delecja ta ma charakter śródmiąższowy i skutkować może rozwojem ostrej białaczki szpikowej. Syndrom ten prowadzi najprawdopodobniej do efektu ilościowego, gdzie na skutek obniżonego poziomu transkryptów miRNA-146a i miRNA-145 dochodzi do nadmiernej ekspresji genów regulowanych przez mikroRNA: *TIRAP* (białkowy produkt Mal) i *TRAF6* (ryc. 2), a w efekcie do zaburzonej aktywacji wrodzonej odpowiedzi odpornościowej.

Natomiast miRNA-155 związany jest z różnicowaniem i proliferacją komórek B [21]. Ponadto po stymulacji LPS obserwuje się podwyższenie poziomu miRNA-155

w makrofagach, co sugeruje zależność ekspresji tego mikroRNA od promotorów aktywowanych przez NF-κB [85]. Dodatkowo miRNA-155 przypuszczalnie oddziałuje z mRNA kodującymi białka sygnałowe zaangażowane w odpowiedź zależną od TLR4, takie jak FADD czy IKKε. Ci sami autorzy wykazali, że miRNA-155 zwiększa poziom translacji mRNA kodującego TNF-α [119]. Kolejnym białkiem docelowym dla miRNA-155 jest fosfataza SHIP1 (SH2-containing inositol 5'-phosphatase). Silnie przeciwzapalna cytokina IL-10 obniża poziom indukowanego LPSem miRNA-155 niezależnie od STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), co skutkuje uwolnieniem transkryptu kodującego SHIP1 z kompleksu zawierającego mikroRNA i zwiększeniem poziomu białka SHIP1 w komórce [72]. Po stymulacji LPS w komórce obniża się poziom innego mikroRNA, miRNA-125b, które oddziałuje z końcem 3'mRNA TNF-α. Ten aspekt odpowiedzi na LPS, w połączeniu z podwyższeniem poziomu ekspresji miRNA-155, niezbędny jest do prawidłowego wytwarzania TNF-α w komórce [119]. miRNA-155 interferuje również z transkrypcją genu kodującego białko TAB2. Oddziaływanie to hamuje aktywację kinazy białkowej TAK1, a dalej czynnika transkrypcyjnego NF-κB, tym samym czyniąc to konkretne mikroRNA czynnikiem przeciwzapalnym [14]. Okazuje się, że myszy *miRNA-155^{-/-}* są bardziej odporne na autoimmunologiczne zapalenie mózgu niż ich odpowiedniki typu dzikiego,

co związane jest z rozwojem zapalenia zależnego od komórek T, bo miRNA-155 odgrywa również ważną rolę w polaryzacji komórek T_H17 [84]. Podwyższony poziom miRNA-155 obserwuje się w reumatoidalnym zapaleniu stawów [107] i mukowiscydozie [7].

Warunkiem niezbędnym do transformacji nowotworowej jest akumulacja mutacji w materiale genetycznym komórki. Poza tym istnieje wiele innych czynników wewnętrznych, takich jak produkty onkogenów czy genów supresorowych i zewnętrznych (środowisko tkankowe), które mogą zwiększać prawdopodobieństwo karcynogenezy. Jednym z czynników sprzyjających nowotworzeniu jest stan zapalny. Wykazano, że cytokiny prozapalne, np. IL-6 mogą indukować proliferację komórek nowotworowych w raku piersi i prostaty [99, 126]. Ponadto na skutek aktywacji receptorów Toll-podobnych translokacji do jądra komórkowego podlega czynnik transkrypcyjny NF-κB, którego indukcja skutkuje transkrypcją genów cytokin prozapalnych. Właśnie ten czynnik transkrypcyjny uważany jest za główny w połączeniu stanu zapalnego z onkogenezą, a jego konstytutywną aktywność obserwuje się w wielu rodzajach nowotworów [24, 98]. miRNA-21 początkowo uważane było za mikroRNA związane wyłącznie z onkogenezą – ze względu na jego zaburzony poziom w komórkach nowotworowych [15,20], jednak niedawno powiązano tę cząsteczkę ze stanem zapalnym. Iliopoulos i wsp. wykazali, że przejściowy sygnał prozapalny aktywujący białkowe kinazy tyrozynowe z rodziny Src prowadzi do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF-κB, co z kolei skutkuje zmniejszeniem poziomu let-7 miRNA (grupa mikroRNA m.in. obniżająca ekspresję onkogenów Ras [48]) w komórce i podwyższoną ekspresją cytokiny IL-6. Prowadzi to do zależnej od IL-6 aktywacji czynnika transkrypcyjnego STAT3, która z kolei owocuje sprzyjającą procesowi transformacji nowotworowej zwiększoną i długotrwałą aktywacją NF-κB [39]. Końcowym elementem tego szlaku nie jest jednak STAT3, ale miRNA-21, którego ekspresja jest indukowana w następstwie aktywacji STAT3. miRNA-21 oraz miRNA-181b-1 interferując odpowiednio z transkryptami genów kodujących białka PTEN (phosphatase and tensin homologue) i CYLD (cylindromatosis) zmniejszają poziom ich ekspresji w komórce [40]. Wykazano, że spadek ekspresji tych genów prowadzi do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF-κB zależnie od kinaz PI3K/Akt [43]. Indukowana w ten sposób zapętłona aktywacja czynnika NF-κB sprzyja procesowi nowotworzenia [40]. Wylaniający się obraz miRNA-21 jako aktywatora NF-κB został zaburzony przez prace Sheedy'ego i wsp. Wykazano, że miRNA-21 interferuje z 3' UTR transkryptu prozapalnego genu PDCD4 (programmed cell death 4) [68], którego białkowy produkt indukuje aktywację NF-κB jednocześnie obniżając poziom antyzapalnej IL-10 w komórce (ryc. 2). Ekspresja tego białka jest niezbędna do zależnej od LPSu i TLR4 odpowiedzi prozapalnej. Ludzkie monocyty z krwi obwodowej traktowane LPSem wykazują obniżony poziom ekspresji PDCD4, co jest uzależnione od MyD88 i NF-κB indukcji miRNA-21. Cząsteczka ta pełni funkcję molekularnego przełącznika

między prozapalną aktywacją NF-κB a przeciwzapalną odpowiedzią zależną od IL-10 [102].

FARMAKOLOGICZNA REGULACJA AKTYWNOŚCI TLR

Badając mechanizm działania leków przeciwzapalnych odkryto, że wynik działania tych związków jest ściśle związany z ich ingerencją w szlaki sygnałowe aktywowane przez TLR. Substancje czynne o działaniu przeciwzapalnym bardzo często interferują z kinazą białkową TBK1 odpowiedzialną za fosforylację IRF3 (ryc. 1). Dotychczas poznano kilka flawonoidów hamujących aktywność TBK1. Do nich należą resweratrol [133], luteolina i jej analogi strukturalne (kwercetyna, chryzyna, eriodiktioł) [58] czy gallusan epigallokatechiny (EGCG) [134]. Charakter antyzapalnego działania EGCG jest dwójaki: oprócz opisanego wcześniej hamowania aktywności TBK1 niedawno wykazano, że stymulacja komórek EGCG podwyższa poziom ekspresji Tollip [36], który hamuje aktywację czynnika transkrypcyjnego NF-κB.

Flawopiridol jest inhibitorem rodziny kinaz zależnej od cyklin. Oprócz działania przeciwnowotworowego wykazano jego działanie przeciwzapalne – w komórkach RAW 264.7 poddanych działaniu flawopiridolu obserwowano znaczący spadek aktywacji NF-κB oraz MAPK zależnie od MyD88 [111].

Stosunkowo niedawno opisano mechanizm działania przeciwzapalnego związku pochodzącego z muszkatołowca. *Malabarikon C* (Mal C) okazał się inhibitorem kanonicznej ścieżki aktywacji NF-κB. Przeciwzapalnie Mal C wpływa przez atenuację fosforylacji kinaz białkowych p38 i JNK [70]

Jednym z najważniejszych etapów w indukcji sygnału jest homo- lub heterodimeryzacja receptorów TLR. Stanowi ona podstawę do rekrutacji wewnątrzkomórkowych cząsteczek adaptorowych. Jako że jest to jeden z pierwszych etapów aktywacji receptorów TLR, warunkuje on dalsze przekazanie sygnału do wnętrza komórki. Hamowanie dimeryzacji receptorów TLR jest jednym z istotniejszych celów terapeutycznych w chorobach autoimmunologicznych. Oddziaływanie między receptorami uwarunkowane jest występowaniem grup tiolowych w domenach zewnątrzkomórkowych tych receptorów, stąd związki wykazujące aktywność modyfikującą te grupy stanowią mogą potencjalne leki przeciwzapalne. Zidentyfikowano kilka pochodnych tiolowych modyfikujących oligomeryzację receptorów, m.in. sulforafan [131], aldehyd cynamonowy, kurkuminę [132] czy izolikwiritigeninę [93].

Wrodzona odpowiedź odpornościowa stanowi pierwszą linię obrony organizmów wielokomórkowych przed patogenami, a jej komponenty, takie jak receptory Toll-podobne, są głównymi elementami warunkującymi odporność naszego organizmu. To od nich zależy indukcja nabytej odpowiedzi odpornościowej i skuteczne usunięcie czynnika chorobotwórczego z organizmu. Ze względu na swoją funkcję odpowiedź indukowana przez

TLR jest złożona i bardzo silna, dlatego podlega ściślej kontroli w organizmie. Stopień komplikacji odpowiedzi zależnej od TLR pozwala na jej wielopoziomą regulację w wielu punktach kontrolnych. Poznanie sposobów modulacji odpowiedzi przeciwzapalnej jest kluczem do lepszego zrozumienia funkcjonowania układu odpornościowego jako całości. Dokładny opis mechanizmów działania czynników regulujących odpowiedź induk-

owaną TLR pozwoli na rozwinięcie nowych, skutecznych terapii chorób autoimmunologicznych, nowotworowych czy posocznicy.

PODZIĘKOWANIA

Dziękujemy dr. Tomaszowi Lipińskiemu za krytyczne uwagi.

PIŚMIENICTWO

- [1] Adib-Conquy M., Adrie C., Fitting C., Gattolliat O., Beyaert R., Caillaud J.M.: Up-regulation of MyD88 and SIGIRR, molecules inhibiting Toll-like receptor signaling, in monocytes from septic patients. *Crit. Care Med.*, 2006; 34: 2377-2385
- [2] Akira S., Uematsu S., Takeuchi O.: Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006; 124: 783-801
- [3] Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A.: Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature*, 2001; 413: 732-738
- [4] Alsaleh G., Suffert G., Semaan N., Juncker T., Frenzel L., Gottenberg J.E., Sibilia J., Pfeffer S., Wachsmann D.: Bruton's tyrosine kinase is involved in miR-346-related regulation of IL-18 release by lipopolysaccharide-activated rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *J. Immunol.*, 2009; 182: 5088-5097
- [5] Anderson K.V., Jürgens G., Nüsslein-Volhard C.: Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell*, 1985; 42: 779-789
- [6] Asea A., Rehli M., Kabingu E., Boch J.A., Bare O., Auron P.E., Stevenson M.A., Calderwood S.K.: Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 15028-15034
- [7] Bhattacharyya S., Balakathiresan N.S., Dalgard C., Gutti U., Armistead D., Jozwik C., Srivastava M., Pollard H.B., Biswas R.: Elevated miR-155 promotes inflammation in cystic fibrosis by driving hyperexpression of interleukin-8. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 11604-11615
- [8] Bhaumik D., Scott G.K., Schokrpur S., Patil C.K., Campisi J., Benz C.C.: Expression of microRNA-146 suppresses NF-κB activity with reduction of metastatic potential in breast cancer cells. *Oncogene*, 2008; 27: 5643-5647
- [9] Brinkmann M.M., Spooner E., Hoebe K., Beutler B., Ploegh H.L., Kim Y.M.: The interaction between the ER membrane protein UNC93B and TLR3, 7, and 9 is crucial for TLR signaling. *J. Cell Biol.*, 2007; 177: 265-275
- [10] Brint E.K., Xu D., Liu H., Dunne A., McKenzie A.N., O'Neill L.A., Liew F.Y.: ST2 is an inhibitor of interleukin 1 receptor and Toll-like receptor 4 signaling and maintains endotoxin tolerance. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 373-379
- [11] Brummelkamp T.R., Nijman S.M., Dirac A.M., Bernards R.: Loss of the cylindromatosis tumour suppressor inhibits apoptosis by activating NF-κB. *Nature*, 2003; 424: 797-801
- [12] Bulut Y., Faure E., Thomas L., Equils O., Arditi M.: Cooperation of Toll-like receptor 2 and 6 for cellular activation by soluble tuberculosis factor and *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A lipoprotein: role of Toll-interacting protein and IL-1 receptor signaling molecules in Toll-like receptor 2 signaling. *J. Immunol.*, 2001; 167: 987-994
- [13] Burns K., Janssens S., Brissoni B., Olivos N., Beyaert R., Tschopp J.: Inhibition of interleukin 1 receptor/Toll-like receptor signaling through the alternatively spliced, short form of MyD88 is due to its failure to recruit IRAK-4. *J. Exp. Med.*, 2003; 197: 263-268
- [14] Ceppi M., Pereira P.M., Dunand-Sauthier I., Barras E., Reith W., Santos M.A., Pierre P.: MicroRNA-155 modulates the interleukin-1 signaling pathway in activated human monocyte-derived dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 2735-2740
- [15] Chan S.H., Wu C.W., Li A.F., Chi C.W., Lin W.C.: miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association. *Anticancer Res.*, 2008; 28: 907-911
- [16] Chen C.Z., Li L., Lodish H.F., Bartel D.P.: MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*, 2004; 303: 83-86
- [17] Chen X.M., Splinter P.L., O'Hara S.P., LaRusso N.F.: A cellular micro-RNA, let-7i, regulates Toll-like receptor 4 expression and contributes to cholangiocyte immune responses against *Cryptosporidium parvum* infection. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 28929-28938
- [18] Chuang T.H., Ulevitch R.J.: Identification of hTLR10: a novel human Toll-like receptor preferentially expressed in immune cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 2001; 1518: 157-161
- [19] Chuang T.H., Ulevitch R.J.: Triad3A, an E3 ubiquitin-protein ligase regulating Toll-like receptors. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 495-502
- [20] Conti A., Aguenouz M., La Torre D., Tomasello C., Cardali S., Angileri F.F., Maio F., Cama A., Germano A., Vita G., Tomasello F.: miR-21 and 221 upregulation and miR-181b downregulation in human grade II-IV astrocytic tumors. *J. Neurooncol.*, 2009; 93: 325-332
- [21] Costinean S., Zanesi N., Pekarsky Y., Tili E., Volinia S., Heerema N., Croce C.M.: Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in Eμ-miR155 transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 7024-7029
- [22] Dai Y., Huang Y.S., Tang M., Lv T.Y., Hu C.X., Tan Y.H., Xu Z.M., Yin Y.B.: Microarray analysis of microRNA expression in peripheral blood cells of systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*, 2007; 16: 939-946
- [23] Didierlaurent A., Brissoni B., Velin D., Aebi N., Tardivel A., Kasilin E., Sirard J.C., Angelov G., Tschopp J., Burns K.: Tollip regulates proinflammatory responses to interleukin-1 and lipopolysaccharide. *Mol. Cell. Biol.*, 2006; 26: 735-742
- [24] DiDonato J.A., Mercurio F., Karin M.: NF-κB and the link between inflammation and cancer. *Immunol. Rev.*, 2012; 246: 379-400
- [25] Fire A., Xu S., Montgomery M.K., Kostas S.A., Driver S.E., Mello C.C.: Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998; 391: 806-811
- [26] Fukui R., Saitoh S., Matsumoto F., Kozuka-Hata H., Oyama M., Tabeta K., Beutler B., Miyake K.: UNC93B1 biases Toll-like receptor responses to nucleic acid in dendritic cells toward DNA- but against RNA-sensing. *J. Exp. Med.*, 2009; 206: 1339-1350

- [27] Gazzinelli R.T., Roport C., Campos M.A.: Role of the Toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in host resistance and pathogenesis during infection with protozoan parasites. *Immunol. Rev.*, 2004; 201: 9-25
- [28] Gewirtz A.T., Navas T.A., Lyons S., Godowski P.J., Madara J.L.: Cutting edge: bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J. Immunol.*, 2001; 167: 1882-1885
- [29] Hanada T., Kinjyo I., Inagaki-Ohara K., Yoshimura A.: Negative regulation of cytokine signaling by CIS/SOCS family proteins and their roles in inflammatory diseases. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 2003; 149: 72-86
- [30] Harhaj E.W., Dixit V.M.: Regulation of NF- κ B by deubiquitinases. *Immunol. Rev.*, 2012; 246: 107-124
- [31] Hawn T.R., Verbon A., Lettinga K.D., Zhao L.P., Li S.S., Laws R.J., Skerrett S.J., Beutler B., Schroeder L., Nachman A., Ozinsky A., Smith K.D., Aderem A.: A common dominant TLR5 stop codon polymorphism abolishes flagellin signaling and is associated with susceptibility to legionnaires' disease. *J. Exp. Med.*, 2003; 198: 1563-1572
- [32] Hayashi F., Smith K.D., Ozinsky A., Hawn T.R., Yi E.C., Goodlett D.R., Eng J.K., Akira S., Underhill D.M., Aderem A.: The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*, 2001; 410: 1099-1103
- [33] Hedayat M., Netea M.G., Rezaei N.: Targeting of Toll-like receptors: a decade of progress in combating infectious diseases. *Lancet Infect. Dis.*, 2011; 11: 702-712
- [34] Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S.: A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, 2000; 408: 740-745
- [35] Honda K., Yanai H., Mizutani T., Negishi H., Shimada N., Suzuki N., Ohba Y., Takaoka A., Yeh W.C., Taniguchi T.: Role of a transductional-transcriptional processor complex involving MyD88 and IRF-7 in Toll-like receptor signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 15416-15421
- [36] Hong Byun E., Fujimura Y., Yamada K., Tachibana H.: TLR4 signaling inhibitory pathway induced by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate through 67-kDa laminin receptor. *J. Immunol.*, 2010; 185: 33-45
- [37] Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T., Sanjo H., Ogawa T., Takeda Y., Takeda K., Akira S.: Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J. Immunol.*, 1999; 162: 3749-3752
- [38] Husebye H., Halaas O., Stenmark H., Tunheim G., Sandanger O., Bogen B., Brech A., Latz E., Espevik T.: Endocytic pathways regulate Toll-like receptor 4 signaling and link innate and adaptive immunity. *EMBO J.*, 2006; 25: 683-692
- [39] Iliopoulos D., Hirsch H.A., Struhl K.: An epigenetic switch involving NF- κ B, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. *Cell*, 2009; 139: 693-706
- [40] Iliopoulos D., Jaeger S.A., Hirsch H.A., Bulik M.L., Struhl K.: STAT3 activation of miR-21 and miR-181b-1 via PTEN and CYLD are part of the epigenetic switch linking inflammation to cancer. *Mol. Cell*, 2010; 39: 493-506
- [41] Janssens S., Burns K., Vercammen E., Tschoep J., Beyaert R.: MyD88S, a splice variant of MyD88, differentially modulates NF- κ B and AP-1-dependent gene expression. *FEBS Lett.*, 2003; 548: 103-107
- [42] Jeong E., Lee J.Y.: Intrinsic and extrinsic regulation of innate immune receptors. *Yonsei Med. J.*, 2011; 52: 379-392
- [43] Jiang R., Gu L., Findley H., Zhou M.: Loss of PTEN expression induces NF- κ B via PI3K/Akt pathway involving resistance to chemotherapy in acute lymphoblastic leukemia cell lines. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 2004; 45: 5530 (Abstr.)
- [44] Jing Q., Huang S., Guth S., Zarubin T., Motoyama A., Chen J., Di Padova F., Lin S.C., Gram H., Han J.: Involvement of microRNA in AU-rich element-mediated mRNA instability. *Cell*, 2005; 120: 623-634
- [45] Johnnidis J.B., Harris M.H., Wheeler R.T., Stehling-Sun S., Lam M.H., Kirak O., Brummelkamp T.R., Fleming M.D., Camargo F.D.: Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. *Nature*, 2008; 451: 1125-1129
- [46] Johnsen I.B., Nguyen T.T., Ringdal M., Tryggstad A.M., Bakke O., Lien E., Espevik T., Anthonen M.W.: Toll-like receptor 3 associates with c-Src tyrosine kinase on endosomes to initiate antiviral signaling. *EMBO J.*, 2006; 25: 3335-3346
- [47] Johnson G.B., Brunn G.J., Platt J.L.: Cutting edge: an endogenous pathway to systemic inflammatory response syndrome (SIRS)-like reactions through Toll-like receptor 4. *J. Immunol.*, 2004; 172: 20-24
- [48] Johnson S.M., Grosshans H., Shingara J., Byrom M., Jarvis R., Cheng A., Labourier E., Reinert K.L., Brown D., Slack F.J.: RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*, 2005; 120: 635-647
- [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] Kim Y.M., Brinkmann M.M., Paquet M.E., Ploegh H.L.: UNC93B1 delivers nucleotide-sensing toll-like receptors to endolysosomes. *Nature*, 2008; 452: 234-238
- [51] Klonowska-Szymczyk A., Wolska A., Robak E.: Udział receptorów TLR w procesach autoimmunologicznych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 331-339
- [52] Kobayashi M., Saitoh S., Tanimura N., Takahashi K., Kawasaki K., Nishijima M., Fujimoto Y., Fukase K., Akashi-Takamura S., Miyake K.: Regulatory roles for MD-2 and TLR4 in ligand-induced receptor clustering. *J. Immunol.*, 2006; 176: 6211-6218
- [53] Kovalenko A., Chable-Bessia C., Cantarella G., Israël A., Wallach D., Courtois G.: The tumour suppressor CYLD negatively regulates NF- κ B signalling by deubiquitination. *Nature*, 2003; 424: 801-805
- [54] Krug A., Luker G.D., Barchet W., Leib D.A., Akira S., Colonna M.: Herpes simplex virus type 1 activates murine natural interferon-producing cells through toll-like receptor 9. *Blood*, 2004; 103: 1433-1437
- [55] Landgraf P., Rusu M., Sheridan R., Sewer A., Iovino N., Aravin A., Pfeffer S., Rice A., Kamphorst A.O., Landthaler M., Lin C., Socci N.D., Hermida L., Fulci V., Chiaretti S., Foa R., Schliwka J., Fuchs U., Novosel A., Müller R.U., Schermer B., Bissels U., Inman J., Phan Q., Chien M., Weir D.B., Choksi R., De Vita G., Frezzetti D., Trompeter H.I., Hornung V., Teng G., Hartmann G., Palkovits M., Di Lauro R., Wernet P., Macino G., Rogler C.E., Nagle J.W., Ju J., Papavasiliou F.N., Benzing T., Lichter P., Tam W., Brownstein M.J., Bosio A., Borkhardt A., Russo J.J., Sander C., Zavolan M., Tuschl T.: A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell*, 2007; 129: 1401-1414
- [56] Latz E., Visintin A., Lien E., Fitzgerald K.A., Monks B.G., Kurt-Jones E.A., Golenbock D.T., Espevik T.: Lipopolysaccharide rapidly traffics to and from the Golgi apparatus with the toll-like receptor 4-MD-2-CD14 complex in a process that is distinct from the initiation of signal transduction. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 47834-47843
- [57] Lee E.G., Boone D.L., Chai S., Libby S.L., Chien M., Lodolce J.P., Ma A.: Failure to regulate TNF-induced NF- κ B and cell death responses in A20-deficient mice. *Science*, 2000; 289: 2350-2354
- [58] Lee J.K., Kim S.Y., Kim Y.S., Lee W.H., Hwang D.H., Lee J.Y.: Suppression of the TRIF-dependent signaling pathway of Toll-like receptors by luteolin. *Biochem. Pharmacol.*, 2009; 77: 1391-1400
- [59] Lee J.Y., Sohn K.H., Rhee S.H., Hwang D.: Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 16683-16689

- [60] Lee J.Y., Zhao L., Hwang D.H.: Modulation of pattern recognition receptor-mediated inflammation and risk of chronic diseases by dietary fatty acids. *Nutr. Rev.*, 2010; 68: 38-61
- [61] Lee J.Y., Zhao L., Youn H.S., Weatherill A.R., Tapping R., Feng L., Lee W.H., Fitzgerald K.A., Hwang D.H.: Saturated fatty acid activates but polyunsaturated fatty acid inhibits Toll-like receptor 2 dimerized with Toll-like receptor 6 or 1. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 16971-16979
- [62] Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V.: The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993; 75: 843-854
- [63] Lee Y.S., Chanda D., Sim J., Park Y.Y., Choi H.S.: Structure and function of the atypical orphan nuclear receptor small heterodimer partner. *Int. Rev. Cytol.*, 2007; 261: 117-158
- [64] Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A.: The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle*/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 1996; 86: 973-983
- [65] Li C., Zienkiewicz J., Hawiger J.: Interactive sites in the MyD88 Toll/interleukin (IL) 1 receptor domain responsible for coupling to the IL1 β signaling pathway. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 26152-26159
- [66] Lindsay M.A.: microRNAs and the immune response. *Trends Immunol.*, 2008; 29: 343-351
- [67] Liu G., Friggeri A., Yang Y., Park Y.J., Tsuruta Y., Abraham E.: miR-147, a microRNA that is induced upon Toll-like receptor stimulation, regulates murine macrophage inflammatory responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 15819-15824
- [68] Lu Z., Liu M., Stribinski V., Klinge C.M., Ramos K.S., Colburn N.H., Li Y.: MicroRNA-21 promotes cell transformation by targeting the programmed cell death 4 gene. *Oncogene*, 2008; 27: 4373-4379
- [69] Lund J.M., Alexopoulou L., Sato A., Karow M., Adams N.C., Gale N.W., Iwasaki A., Flavell R.A.: Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 5598-5603
- [70] Maity B., Yadav S.K., Patro B.S., Tyagi M., Bandyopadhyay S.K., Chattopadhyay S.: Molecular mechanism of the anti-inflammatory activity of a natural diarylnonanoid, malabaricone C. *Free Radic. Biol. Med.*, 2012; 52: 1680-1691
- [71] Mansell A., Smith R., Doyle S.L., Gray P., Fenner J.E., Crack P.J., Nicholson S.E., Hilton D.J., O'Neill L.A., Hertzog P.J.: Suppressor of cytokine signaling 1 negatively regulates Toll-like receptor signaling by mediating Mal degradation. *Nat. Immunol.*, 2006; 7: 148-155
- [72] McCoy C.E., Sheedy F.J., Qualls J.E., Doyle S.L., Quinn S.R., Murray P.J., O'Neill L.A.: IL-10 inhibits miR-155 induction by toll-like receptors. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 20492-20498
- [73] McGettrick A.F., O'Neill L.A.: Localisation and trafficking of Toll-like receptors: an important mode of regulation. *Curr. Opin. Immunol.*, 2010; 22: 20-27
- [74] Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A.Jr.: A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 1997; 388: 394-397
- [75] Miller Y.I., Viriyakosol S., Worrall D.S., Boullier A., Butler S., Witztum J.L.: Toll-like receptor 4-dependent and -independent cytokine secretion induced by minimally oxidized low-density lipoprotein in macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 1213-1219
- [76] Mishra B.B., Gundra U.M., Teale J.M.: Expression and distribution of Toll-like receptors 11-13 in the brain during murine neurocysticercosis. *J. Neuroinflammation*, 2008; 5: 53
- [77] Nagai Y., Akashi S., Nagafuku M., Ogata M., Iwakura Y., Akira S., Kitamura T., Kosugi A., Kimoto M., Miyake K.: Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 667-672
- [78] Nakasa T., Miyaki S., Okubo A., Hashimoto M., Nishida K., Ochi M., Asahara H.: Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum.*, 2008; 58: 1284-1292
- [79] Niewold T.B.: Interferon alpha-induced lupus: proof of principle. *J. Clin. Rheumatol.*, 2008; 14: 131-132
- [80] Niewold T.B., Adler J.E., Glenn S.B., Lehman T.J., Harley J.B., Crow M.K.: Age- and sex-related patterns of serum interferon- α activity in lupus families. *Arthritis Rheum.*, 2008; 58: 2113-2119
- [81] Niewold T.B., Hua J., Lehman T.J., Harley J.B., Crow M.K.: High serum IFN- α activity is a heritable risk factor for systemic lupus erythematosus. *Genes Immun.*, 2007; 8: 492-502
- [82] Niewold T.B., Swedler W.I.: Systemic lupus erythematosus arising during interferon-alpha therapy for cryoglobulinemic vasculitis associated with hepatitis C. *Clin. Rheumatol.*, 2005; 24: 178-181
- [83] Nomura N., Nagase T., Miyajima N., Sazuka T., Tanaka A., Sato S., Seki N., Kawarabayashi Y., Ishikawa K., Tabata S.: Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. II. The coding sequences of 40 new genes (KIAA0041-KIAA0080) deduced by analysis of cDNA clones from human cell line KG-1. *DNA Res.*, 1994; 1: 223-229
- [84] O'Connell R.M., Kahn D., Gibson W.S., Round J.L., Scholz R.L., Chaudhuri A.A., Kahn M.E., Rao D.S., Baltimore D.: MicroRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development. *Immunity*, 2010; 33: 607-619
- [85] O'Connell R.M., Taganov K.D., Boldin M.P., Cheng G., Baltimore D.: MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 1604-1609
- [86] Ohashi K., Burkart V., Flohé S., Kolb H.: Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J. Immunol.*, 2000; 164: 558-561
- [87] Okabe Y., Kawane K., Akira S., Taniguchi T., Nagata S.: Toll-like receptor-independent gene induction program activated by mammalian DNA escaped from apoptotic DNA degradation. *J. Exp. Med.*, 2005; 202: 1333-1339
- [88] Okamura Y., Watari M., Jerud E.S., Young D.W., Ishizaka S.T., Rose J., Chow J.C., Strauss J.F.3rd: The extra domain A of fibronectin activates Toll-like receptor 4. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 10229-10233
- [89] Oldenburg M., Krüger A., Ferstl R., Kaufmann A., Nees G., Sigmund A., Bathke B., Lauterbach H., Suter M., Dreher S., Koedel U., Akira S., Kawai T., Buer J., Wagner H., Bauer S., Hochrein H., Kirschning C.J.: TLR13 recognizes bacterial 23S rRNA devoid of erythromycin resistance-forming modification. *Science*, 2012; 337: 1111-1115
- [90] O'Neill L.A., Bryant C.E., Doyle S.L.: Therapeutic targeting of Toll-like receptors for infectious and inflammatory diseases and cancer. *Pharmacol. Rev.*, 2009; 61: 177-197
- [91] Opipari A.W.Jr., Hu H.M., Yabkowitz R., Dixit V.M.: The A20 zinc finger protein protects cells from tumor necrosis factor cytotoxicity. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 12424-12427
- [92] Palsson-McDermott E.M., Doyle S.L., McGettrick A.F., Hardy M., Husebye H., Banahan K., Gong M., Golenbock D., Espevik T., O'Neill L.A.: TAG, a splice variant of the adaptor TRAM, negatively regulates the adaptor MyD88-independent TLR4 pathway. *Nat. Immunol.*, 2009; 10: 579-586
- [93] Park S.J., Youn H.S.: Suppression of homodimerization of toll-like receptor 4 by isoliquiritigenin. *Phytochemistry*, 2010; 71: 1736-1740
- [94] Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Van Huffel C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi-Castagnoli P., Layton B., Beutler B.: Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science*, 1998; 282: 2085-2088
- [95] Quinn S.R., O'Neill L.A.: A trio of microRNAs that control Toll-like receptor signalling. *Int. Immunol.*, 2011; 23: 421-425

- [96] Rothlin C.V., Ghosh S., Zuniga E.I., Oldstone M.B., Lemke G.: TAM receptors are pleiotropic inhibitors of the innate immune response. *Cell*, 2007; 131: 1124-1136
- [97] Rowe D.C., McGettrick A.F., Latz E., Monks B.G., Gay N.J., Yamamoto M., Akira S., O'Neill L.A., Fitzgerald K.A., Golenbock D.T.: The myristoylation of TRIF-related adaptor molecule is essential for Toll-like receptor 4 signal transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 6299-6304
- [98] Sakurai T., He G., Matsuzawa A., Yu G.Y., Maeda S., Hardiman G., Karin M.: Hepatocyte necrosis induced by oxidative stress and IL-1 α release mediate carcinogen-induced compensatory proliferation and liver tumorigenesis. *Cancer Cell*, 2008; 14: 156-165
- [99] Sasser A.K., Sullivan N.J., Studebaker A.W., Hendey L.F., Axel A.E., Hall B.M.: Interleukin-6 is a potent growth factor for ER- α -positive human breast cancer. *FASEB J.*, 2007; 21: 3763-3770
- [100] Scheibner K.A., Lutz M.A., Boodoo S., Fenton M.J., Powell J.D., Horton M.R.: Hyaluronan fragments act as an endogenous danger signal by engaging TLR2. *J. Immunol.*, 2006; 177: 1272-1281
- [101] Seol W., Choi H.S., Moore D.D.: An orphan nuclear hormone receptor that lacks a DNA binding domain and heterodimerizes with other receptors. *Science*, 1996; 272: 1336-1339
- [102] Sheedy F.J., Palsson-McDermott E., Hennessy E.J., Martin C., O'Leary J.J., Ruan Q., Johnson D.S., Chen Y., O'Neill L.A.: Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 141-147
- [103] Shembade N., Ma A., Harhaj E.W.: Inhibition of NF- κ B signaling by A20 through disruption of ubiquitin enzyme complexes. *Science*, 2010; 327: 1135-1139
- [104] Shi Z., Cai Z., Sanchez A., Zhang T., Wen S., Wang J., Yang J., Fu S., Zhang D.: A novel Toll-like receptor that recognizes vesicular stomatitis virus. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 4517-4524
- [105] Smiley S.T., King J.A., Hancock W.W.: Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J. Immunol.*, 2001; 167: 2887-2894
- [106] Sochocka M.: Rozpoznawanie patogenów przez wrodzony system odporności. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 676-687
- [107] Stanczyk J., Pedrioli D.M., Brentano F., Sanchez-Pernaute O., Kolling C., Gay R.E., Detmar M., Gay S., Kyburz D.: Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2008; 58: 1001-1009
- [108] Starczynowski D.T., Kuchenbauer F., Argiropoulos B., Sung S., Morin R., Muranyi A., Hirst M., Hogge D., Marra M., Wells R.A., Buckstein R., Lam W., Humphries R.K., Karsan A.: Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat. Med.*, 2010; 16: 49-58
- [109] Stewart C.R., Stuart L.M., Wilkinson K., van Gils J.M., Deng J., Halle A., Rayner K.J., Boyer L., Zhong R., Frazier W.A., Lacy-Hulbert A., El Khoury J., Golenbock D.T., Moore K.J.: CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 155-161
- [110] Tabeta K., Georgel P., Janssen E., Du X., Hoebe K., Crozat K., Mudd S., Shamel L., Sovath S., Goode J., Alexopoulou L., Flavell R.A., Beutler B.: Toll-like receptors 9 and 3 as essential components of innate immune defense against mouse cytomegalovirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 3516-3521
- [111] Taganov K.D., Boldin M.P., Chang K.J., Baltimore D.: NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 12481-12486
- [112] Takeuchi O., Kawai T., Mühlradt P.F., Morr M., Radolf J.D., Zychlinsky A., Takeda K., Akira S.: Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int. Immunol.*, 2001; 13: 933-940
- [113] Takeuchi O., Sato S., Horiuchi T., Hoshino K., Takeda K., Dong Z., Modlin R.L., Akira S.: Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J. Immunol.*, 2002; 169: 10-14
- [114] Tang Y., Luo X., Cui H., Ni X., Yuan M., Guo Y., Huang X., Zhou H., de Vries N., Tak P.P., Chen S., Shen N.: MicroRNA-146A contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 1065-1075
- [115] Tanimura N., Saitoh S., Matsumoto F., Akashi-Takamura S., Miyake K.: Roles for LPS-dependent interaction and relocation of TLR4 and TRAM in TRIF-signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008; 368: 94-99
- [116] Termeer C., Benedix F., Sleeman J., Fieber C., Voith U., Ahrens T., Miyake K., Freudenberg M., Galanos C., Simon J.C.: Oligosaccharides of hyaluronan activate dendritic cells via toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.*, 2002; 195: 99-111
- [117] Thieblemont N., Wright S.D.: Transport of bacterial lipopolysaccharide to the Golgi apparatus. *J. Exp. Med.*, 1999; 190: 523-534
- [118] Tili E., Michaille J.J., Cimino A., Costinean S., Dumitru C.D., Adair B., Fabbri M., Alder H., Liu C.G., Calin G.A., Croce C.M.: Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF- α stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. *J. Immunol.*, 2007; 179: 5082-5089
- [119] Trompouki E., Hatzivassiliou E., Tsichritzis T., Farmer H., Ashworth A., Mosialos G.: CYLD is a deubiquitinating enzyme that negatively regulates NF- κ B activation by TNFR family members. *Nature*, 2003; 424: 793-796
- [120] Vabulas R.M., Wagner H., Schild H.: Heat shock proteins as ligands of toll-like receptors. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2002; 270: 169-184
- [121] Vogl T., Tenbrock K., Ludwig S., Leukert N., Ehrhardt C., van Zoelen M.A., Nacken W., Foell D., van der Poll T., Sorg C., Roth J.: Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. *Nat. Med.*, 2007; 13: 1042-1049
- [122] Wang C.M., Wang Y., Fan C.G., Xu F.F., Sun W.S., Liu Y.G., Jia J.H.: miR-29c targets TNFAIP3, inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011; 411: 586-592
- [123] Wang J., Shao Y., Bennett T.A., Shankar R.A., Wightman P.D., Reddy L.G.: The functional effects of physical interactions among Toll-like receptors 7, 8, and 9. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 37427-37434
- [124] Wang T., Chuang T.H., Ronni T., Gu S., Du Y.C., Cai H., Sun H.Q., Yin H.L., Chen X.: Flightless I homolog negatively modulates the TLR pathway. *J. Immunol.*, 2006; 176: 1355-1362
- [125] Wang Y., Tang Y., Teng L., Wu Y., Zhao X., Pei G.: Association of β -arrestin and TRAF6 negatively regulates Toll-like receptor-interleukin 1 receptor signaling. *Nat. Immunol.*, 2006; 7: 139-147
- [126] Wegiel B., Bjartell A., Culig Z., Persson J.L.: Interleukin-6 activates PI3K/Akt pathway and regulates cyclin A1 to promote prostate cancer cell survival. *Int. J. Cancer*, 2008; 122: 1521-1529
- [127] Wertz I.E., O'Rourke K.M., Zhou H., Eby M., Aravind L., Seshagiri S., Wu P., Wiesmann C., Baker R., Boone D.L., Ma A., Koonin E.V., Dixit V.M.: De-ubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF- κ B signalling. *Nature*, 2004; 430: 694-699
- [128] West A.P., Koblansky A.A., Ghosh S.: Recognition and signaling by toll-like receptors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2006; 22: 409-437
- [129] West X.Z., Malinin N.L., Merkulova A.A., Tischenko M., Kerr B.A., Borden E.C., Podrez E.A., Salomon R.G., Byzova T.V.: Oxidative stress induces angiogenesis by activating TLR2 with novel endogenous ligands. *Nature*, 2010; 467: 972-976

- [130] Yarovsky F., Zhang D., Andersen J.F., Bannenberg G.L., Serhan C.N., Hayden M.S., Hieny S., Sutterwala F.S., Flavell R.A., Ghosh S., Sher A.: TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. *Science*, 2005; 308: 1626-1629
- [131] Youn H.S., Kim Y.S., Park Z.Y., Kim S.Y., Choi N.Y., Joung S.M., Seo J.A., Lim K.M., Kwak M.K., Hwang D.H., Lee J.Y.: Sulforaphane suppresses oligomerization of TLR4 in a thiol-dependent manner. *J. Immunol.*, 2010; 184: 411-419
- [132] Youn H.S., Lee J.K., Choi Y.J., Saitoh S.I., Miyake K., Hwang D.H., Lee J.Y.: Cinnamaldehyde suppresses toll-like receptor 4 activation mediated through the inhibition of receptor oligomerization. *Biochem. Pharmacol.*, 2008; 75: 494-502
- [133] Youn H.S., Lee J.Y., Fitzgerald K.A., Young H.A., Akira S., Hwang D.H.: Specific inhibition of MyD88-independent signaling pathways of TLR3 and TLR4 by resveratrol: molecular targets are TBK1 and RIP1 in TRIF complex. *J. Immunol.*, 2005; 175: 3339-3346
- [134] Youn H.S., Lee J.Y., Saitoh S.I., Miyake K., Kang K.W., Choi Y.J., Hwang D.H.: Suppression of MyD88- and TRIF-dependent signaling pathways of Toll-like receptor by (-)-epigallocatechin-3-gallate, a polyphenol component of green tea. *Biochem. Pharmacol.*, 2006; 72: 850-859
- [135] Yuk J.M., Shin D.M., Lee H.M., Kim J.J., Kim S.W., Jin H.S., Yang C.S., Park K.A., Chanda D., Kim D.K., Huang S.M., Lee S.K., Lee C.H., Kim J.M., Song C.H., Lee S.Y., Hur G.M., Moore D.D., Choi H.S., Jo E.K.: The orphan nuclear receptor SHP acts as a negative regulator in inflammatory signaling triggered by Toll-like receptors. *Nat. Immunol.*, 2011; 12: 742-751
- [136] Zhang D., Zhang G., Hayden M.S., Greenblatt M.B., Bussey C., Flavell R.A., Ghosh S.: A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science*, 2004; 303: 1522-1526
- [137] Zhang G., Ghosh S.: Negative regulation of toll-like receptor-mediated signaling by Tollip. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 7059-7065

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.