DOI: 10.23868/201808017

ПРОГРАММИРУЕМЫЙ НЕКРОЗ И РЕГЕНЕРАЦИЯ ТКАНЕЙ

Г.С. Копеина[1], А.В. Замараев[1], Б.Д. Животовский[1, 2], И.Н. Лаврик[1]

[1] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
[2] *Институт медицины окружающей среды, Каролинский институт, Стокгольм, Швеция*

PROGRAMMED NECROSIS AND TISSUE REGENERATION

G.S. Kopeina[1], A.V. Zamaraev[1], B.D. Zhivotovsky[1, 2], I.N. Lavrik[1]
[1] *M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
[2] *Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden*

e-mail: Boris.Zhivotovsky@ki.se

Програмируемый некроз или некроптоз, играет существенную роль в физиологических процессах в организме. Нарушение процесса некроптоза связано с избыточной гибелью клеток, развитием ряда патологических состояний, включая воспалительные и нейродегенеративные заболевания. В последнее время появляются данные об участии некроптоза в индукции пролиферации стволовых клеток и регенерации тканей. Запуск некроптотической гибели может осуществляться через рецепторы фактора некроза опухоли, TRAILR1/2, FAS, а также через эндосомальные Toll-подобные и NOD-подобные рецепторы. Основные механизмы регуляции некроптотической гибели осуществляются на уровне главных белков — RIPK1 и RIPK3, которые способны принимать участие в пролиферации стволовых клеток и процессе регенерации. Последние работы показали, что некротические процессы могут приводить к быстрой активации клеток-предшественниц и регенерации печени, а также на модели инфаркта миокарда была продемонстрирована некроптоз-индуцированная регенерация ткани и дифференцировка c-kit$^+$ клеток. Таким образом, изучение механизмов взаимосвязи некроптоза и регенерации поврежденных тканей позволит лучше понять фундаментальные аспекты программируемой гибели и деления клеток.

Ключевые слова: некроптоз, регенерация, гибель клеток.

Programmed necrosis or necroptosis plays an important role in cell physiology. Disturbances in necroptotic process are associated with excessive cell death, the development of a number of pathological conditions, including inflammatory and neurodegenerative diseases. Accumulated evidences suggest the involvement of necroptosis in the induction of stem cell proliferation and tissue regeneration. The necrotic death can be triggered through the family of receptors of tumor necrosis factor, TRAILR1/2, FAS, as well as endosomal Toll-like and NOD-like receptors. An important role in the regulation of necroptosis belongs to proteins RIPK1 and RIPK3, which also might be essential for proliferation of stem cells and the regeneration process. Recent study has shown that necroptosis can lead to rapid activation of progenitor cells and regeneration of the hepatic tissues, as well as a necrotic-induced tissue regeneration and differentiation of c-kit$^+$ cells in a model of myocardial infarction. Thus, the investigation of interplay between necroptosis and regeneration of damaged tissues will allow us to understand the fundamental aspects of programmed cell death and cell division.

Keywords: necroptosis, regeneration, cell death.

Введение

В последнее время границы регенеративной медицины существенно расширились благодаря активному изучению физиологического гомеостаза тканей организма. Наиболее актуальными и приоритетными стали исследования процессов программируемой гибели клеток (ПГК) в организме и их роли в процессах дифференцировки клеток и формирования тканей и органов. На текущий момент номенклатурный комитет по исследованию гибели клеток, по совокупности морфологических и биохимических изменений выделил четыре типичных вида клеточной смерти — апоптоз, некроз, аутофагию и корнификацию (ороговение), а также восемь атипичных видов [1, 2]. Процесс апоптотической клеточной гибели встречается у большинства эукариотов. В многоклеточных организмах он обеспечивает морфогенез и гомеостаз тканей, а также задействован в важных этапах развития и функционирования иммунной системы. Помимо апоптоза в настоящее время достаточно хорошо охарактеризован еще один тип ПГК, програмируемый некроз или некроптоз, который играет существенную роль в физиологических процессах. При этом его дисрегуляция связана с избыточной гибелью клеток и развитием ряда патологических состояний, включая воспалительные и нейродегенеративные заболевания. В последнее время появляются данные об участии некроптоза в индукции пролиферации стволовых клеток и регенерации тканей.

Некроптоз как форма программируемой гибели клеток

За последнее десятилетие парадигма регуляции клеточной гибели сильно изменилась. Доказано, что помимо апоптоза, регулируемым может быть и процесс некроза [3]. Одним из наиболее хорошо изученных типов программируемого некроза является тип клеточной гибели, который принято называть некроптозом. Некроптоз — не зависящий от каспаз процесс гибели клеток, запускаемый через рецепторы смерти и регулируемый киназами RIPK1, RIPK3 (Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1/3; рецептор-связанный белок 1/3) и MLKL (Mixed lineage kinase domain-like protein; псевдокиназа смешанного происхождения) [1]. Морфологически некроптоз обладает всеми характерными признаками некроза и достаточно сильно отличается от апоптоза: клетка увеличивается в размере, органеллы набухают, и происходит разрыв цитоплазматической мембраны. Однако, как отмечено выше, процесс некроптоза является генетически регулируемым механизмом гибели клеток по сравнению с некрозом, который происходит вследствие нерепарируемого механического, теплового или химического повреждений клеток. В отличие от апоптоза при некроптотической гибели все содержимое клеток выходит во внеклеточное пространство, что вызывает сильный иммунный ответ. Запуск некроптотической гибели может осуществляться через рецепторы фактора некроза опухоли (ФНО), TRAILR1/2, FAS, а также через эндосомальные Toll-подобные и NOD-подобные рецепторы [4]. Помимо рецепторов, индуктором некроптоза могут стать и внутренние стимулы, такие как повреждение ДНК, действие ДНК-зависимых регуляторных факторов интерферона DAI (DNA-dependent activator of interferon regulatory factors; ДНК-зависимый активатор регуляторных факторов интерферона) или протеинкиназы R [5].

Наиболее изученной моделью активации некроптоза является внешний путь, индуцируемый через рецептор ФНО и ингибирование каспаз (рис. 1). В зависимости от ткани, внешнего стимула и микроокружения клетки, связывание ФНО может приводить как к выживанию клетки, так и к апоптотической или некротической гибели [6]. После взаимодействия с ФНО, рецептор ФНО претерпевает конформационные изменения, которые способствуют связыванию белков TRADD, RIPK1, cIAP1/2 и TRAF2/5 (TNF receptor-associated factor 2/5; фактор, ассоциированный с рецептором ФНО). Такой высокомолекулярный мембранный комплекс называется комплекс I. cIAP (cellular inhibitor of apoptosis protein; клеточный ингибитор белков апоптоза) в данном комплексе является не только связующим звеном с TRAF2, но и способен участвовать в убиквитинилировании протеинкиназы RIPK1. Помимо cIAP, который осуществляет K63 убиквитинилирование RIPK1, RIPK1 также подвергается так называемому линейному (M1) убиквитинилированию под действием комплекса LUBAC (Linear UBiquitin chain Assembly Complex; комплекс, связывающий линейные цепи убиквитина). Степень убиквитинилирования RIPK1 является определяющим фактором в дальнейшей судьбе клетки. K63 и M1 полиубиквитинилирование RIPK1 приводит к связыванию белков NEMO (NF-κB essential modulator; модулятор фактора NF-κB) и IKKα/β, и последующей активации NF-κB пути (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; транскрипционный фактор NF-κB), что стимулирует выживание клетки [7]. Запуск NF-κB пути положительно регулирует экспрессию ряда анти-апоптотических генов таких, как *A20* и *c-FLIP*, что вызывает ингибирование ПГК. Однако, если RIPK1 подвергается деубиквитинилированию, например, при ингибировании белков cIAP, происходит высвобождение RIPK1 из комплекса I и его переход в цитоплазму, где он связывается с белками апоптотического или некроптотического путей. Во время апоптотической гибели активная каспаза-8 способна расщеплять RIPK1 и инактивировать данный белок. При блокировании каспазной активности синтетическим пан-каспазным ингибитором zVAD-fmk или вирусными белками серпинами RIPK1 не расщепляется и связывается с компонентом интернализированного комплекса I — TRADD, а также с белками FADD, RIPK3 и каспазой-8, образуя комплекс, называемый некросомой [8] (рис. 1). В дальнейшем, в составе этого комплекса происходит каскад пост-трансляционных модификаций, таких как фосфорилирование RIPK3, RIPK1, а также белка MLKL, который является ключевым звеном в передаче сигнала некроптоза [9–11]. Фосфорилирование MLKL ведет к олигомеризации данного белка и его связыванию с фосфатидилинозитол-фосфатом плазматической мембраны, что вызывает ее пермеабилизацию и выход содержимого клетки во внеклеточное пространство [12].

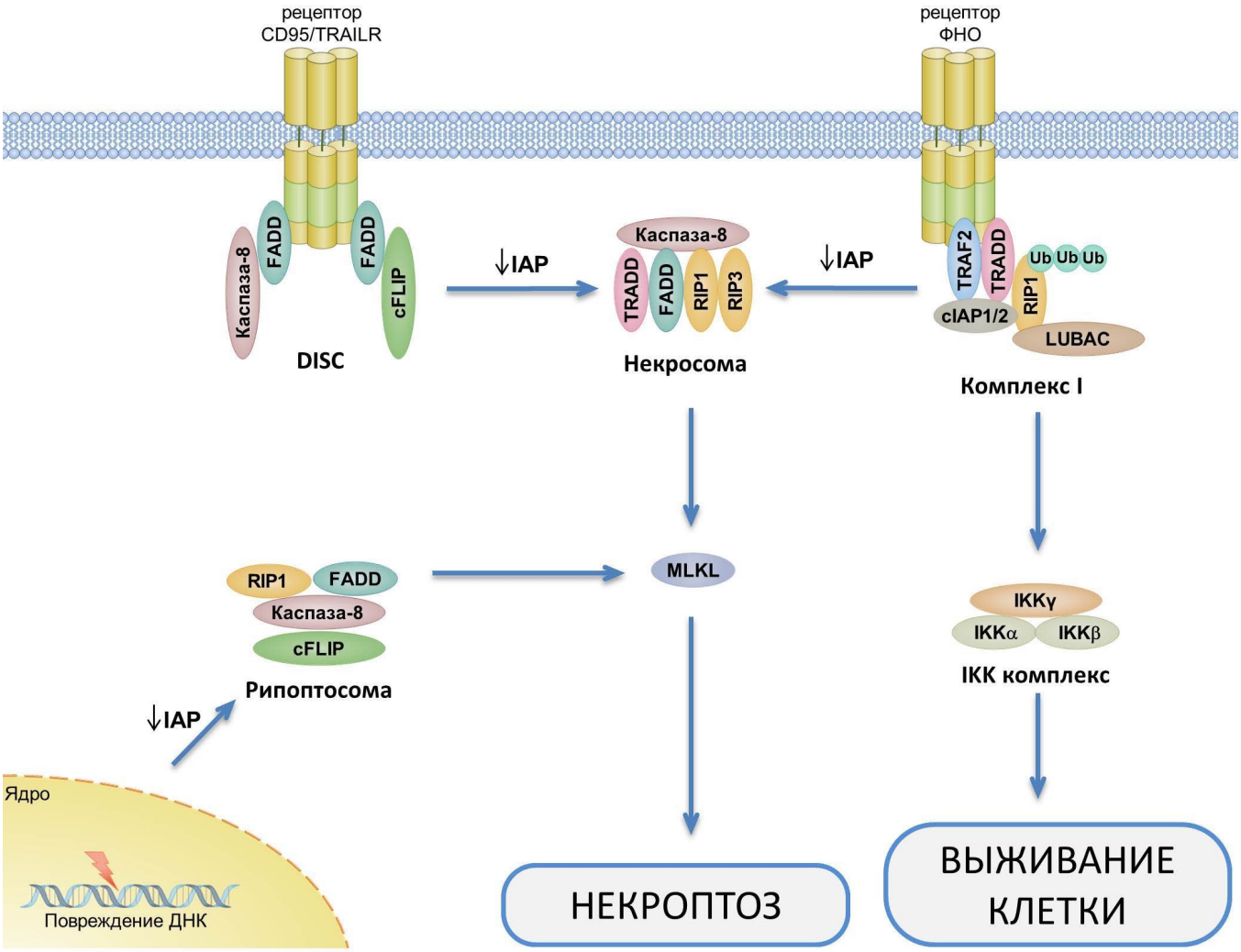

Рис. 1. Механизм активации различных высокомолекулярных комплексов, контролирующих ПГК и пути их регуляции. По [26] с изм.

Как отмечалось выше, некроптотическая гибель может быть также индуцирована внутренними стимулами в условиях пониженного содержания клеточных ингибиторов апоптоза cIAP1/2 [13, 14]. Такие условия предотвращают K63-убиквитинилирование RIPK1 и инициацию активации NF-κB пути. Внутренним стимулом может, в частности, выступать генотоксический стресс, ведущий к образованию комплекса каспаза-8/RIPK1/FADD/c-FLIP, называемого рипоптосомой [13, 14]. В составе этого комплекса может происходить как активация каспазы-8 и запуск апоптотического пути, так и инициация некроптотической гибели. Для инициации некроптотической клеточной гибели в клетках необходимо наличие белка RIPK3, который входит в состав комплекса каспаза-8/RIPK1/RIPK3/FADD/c-FLIP — некросомы. Важным фактором, определяющим дальнейшую судьбу клетки, является соотношение между каспазой-8 и ее ингибитором-белком c-FLIP, которые входят в состав данного комплекса [13, 15]. В ходе исследований было сделано предположение, что образование гомодимера каспазы-8 в составе комплекса способствует ее активации и запуску апоптоза. В случае образования гетеродимера каспазы-8 с длинной изоформой белка c-FLIP, последний ограничивает каталитическую активность каспазы-8, необходимую для запуска апоптоза, но достаточную для расщепления RIPK1. Такие условия приводят к разрушению некросомы и выживанию клетки. Однако, в случае образования гетеродимера каспазы-8 с короткой формой белка c-FLIP каспазная активность блокируется и происходит индукция некроптотической гибели [13, 15] (рис. 1). Таким образом, вышеприведенные факты демонстрируют ключевую роль образования комплексов — рипоптосомы или некросомы — в выборе клеткой типа гибели — апоптоза или некроптоза.

Некроптоз и регенерация

Усиление регенерации тканей после некроза — широко описанное в научной литературе явление, которое наблюдается, например, для тканей печени [16]. Так, синдром массированного некроза печени (МНП) характеризуется обширным поражением тканей печени и высокой смертностью. Однако, некротические процессы приводят к быстрой активации клеток-предшественниц и регенерации тканей печени, от интенсивности которой зависит клинический исход болезни [17]. Необходимо отметить, что механизм массовой гибели гепатоцитов в этом случае до конца не ясен, но у пациентов с МНП было зафиксировано повышение уровня фосфорилированной формы белка MLKL, ответственного за эффекторную фазу некроптоза [18]. Более того, исследование механизмов развития МНП на мышах показало, что ингибирование или нокаут гена ключевого регулятора некроптоза — белка RIPK3 — существенно снижало гибель гепатоцитов на ранней стадии развития заболевания [19]. Полученные результаты свидетельствуют, что при развитии данного заболевания клетки печени гибнут по механизму некроптоза. При этом быстрая активация клеток-предшественниц печени и их пролиферация в случае синдрома МНП, по-видимому, обусловлены воспалением, вызванным массовой гибелью гепатоцитов.

Другим примером некроптоз-индуцированной регенерации является пролиферация и дифференцировка c-kit$^+$ клеток, продемонстрированная на модели инфаркта миокарда у крыс [20]. Авторами исследования было показано, что введение в сердечную мышцу аденовирусного вектора, содержащего ген фактора роста гепатоцитов, повышало уровень экспрессии RIPK1 и RIPK3 в тканях сердца после инфаркта. Повышенный уровень этих белков индуцировал запуск некроптотической гибели кардиомиоцитов, что, в свою очередь, стимулировало активацию и деление c-kit$^+$ клеток. При этом ингибирование некроптоза кардиомиоцитов в данной экспериментальной модели вело к снижению пролиферации и дифференцировки c-kit$^+$ клеток, а также к подавлению ангиогенеза.

Однако, связь между регенерацией и некроптотическим типом гибели осуществляется не только на уровне системного ответа на воспаление, возникающего вследствие попадания содержимого погибших клеток в окружающие ткани. Более тонкие механизмы регуляции осуществляются на уровне главных белков-участников некроптоза — RIPK1 и RIPK3, которые могут принимать участие в пролиферации стволовых клеток отдельных типов и процессе регенерации тканей. Так, RIPK1 может регулировать активацию путей JNK (c-Jun N-terminal kinase; c-Jun N-концевая киназа) и фосфатидилинозитол-3-киназа/Akt, стимулирующих выживание и пролиферацию клеток [21, 22]. Например, было показано, что в экспериментах на мышах с тканеспецифичными нокуатами отсутствие RIPK1 приводило к гибели гемопоэтических стволовых клеток-предшественниц, что вызывало острую недостаточность костного мозга у животных [23]. При этом RIPK1-дефицитные клетки-предшественницы не были способны восстановить гемопоэз при их трансплантации животным, получившим смертельную дозу радиации. С другой стороны, также были получены данные о RIPK3-зависимой регенерации тканей после их повреждения. Так, в дефицитных по этому белку дендритных клетках экспериментальных мышей продуцировалось заметно меньше воспалительных цитокинов IL-1β, IL-23 и IL-22, что существенно снижало силу иммунного ответа на введение сульфата декстрана и активацию процессов регенерации тканей кишечника после повреждения [24, 25]. При этом RIPK3 нокаутные мыши были подвержены развитию колитов вследствие замедления обновления эпителиальных клеток кишечника. Несмотря на свою роль в процессе программируемого некроза, RIPK1 и RIPK3 обладают функциями запуска и контроля регенерации, что делает их перспективными мишенями для регенеративной медицины.

Заключение

Таким образом, изучение механизмов некроптоз-индуцируемого запуска пролиферации стволовых клеток и восстановления поврежденных тканей позволит понять фундаментальные аспекты взаимодействия противоположных физиологических процессов — программируемой гибели и размножения клеток. Поскольку при различного рода повреждениях органов и их систем некроз тканей является одним из наиболее часто наблюдаемых последствий, то поиск путей регуляции регенеративных процессов через некроптоз открывает возможности для минимизации таких последствий и сохранения поврежденного органа в его функциональном состоянии.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Благодарности

Работа выполнена за счет грантов РФФИ № 18-04-00207А, 18-015-00211А.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Galluzzi L., Vitale I., Aaronson S.A. et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. Cell Death Differ. 2018; 25(3): 486–541.
2. Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представления о клеточной гибели. Гены и Клетки 2018; 13(1): 6–19.
3. Zhou W., Yuan J. Necroptosis in health and diseases. Semin. Cell Dev. Biol. 2014; 35: 14–23.
4. Wu W., Liu P., Li J. Necroptosis: An emerging form of programmed cell death. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2012; 82(3): 249–58.
5. Linkermann A., Green D.R. Necroptosis. N. Engl. J. Med. 2014; 370(V): 455–65.
6. Wilson N.S., Dixit V., Ashkenazi A. Death receptor signal transducers: nodes of coordination in immune signaling networks. Nat. Immunol. 2009; 10(4): 348–55.
7. Hacker H., Karin M. Regulation and Function of IKK and IKK-Related Kinases. Sci. STKE 2006; 357: re13.
8. Cho Y.S., Challa S., Moquin D. et al. Phosphorylation-Driven Assembly of the RIP1-RIP3 Complex Regulates Programmed Necrosis and Virus-Induced Inflammation. Cell 2009; 137(6): 1112–23.
9. Moriwaki K., Chan F.K. RIP3: a molecular switch for necrosis and inflammation. Genes Dev. 2013; 27: 1640–9.
10. Sun L., Wang H., Wang Z. et al. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase. Cell 2012; 148: 213–27.
11. Murphy J.M., Czabotar P.E., Hildebrand J.M. et al. The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular switch mechanism. Immunity 2013; 39: 443–53.
12. Dondelinger Y., Declercq W., Montessuit S. et al. MLKL compromises plasma membrane integrity upon binding to phosphatidyl inositol phosphates. Cell Rep. 2014; 7: 1–11.
13. Feoktistova M., Geserick P., Kellert B. et al. CIAPs Block Ripoptosome Formation, a RIP1/Caspase-8 Containing Intracellular Cell Death Complex Differentially Regulated by cFLIP Isoforms. Mol. Cell 2011; 43: 449–63.
14. Tenev T., Bianchi K., Darding M. et al. The Ripoptosome, a Signaling Platform that Assembles in Response to Genotoxic Stress and Loss of IAPs. Mol. Cell 2011; 43: 432–48.
15. Feoktistova M., Geserick P., Panayotova-Dimitrova D. et al. Pick your poison: The Ripoptosome, a cell death platform regulating apoptosis and necroptosis. Cell Cycle 2012; 11: 460–7.
16. Craig C.E., Quaglia A., Selden C. et al. The Histopathology of Regeneration in Massive Hepatic Necrosis. Semin. Liver Dis. 2004; 24(1): 49–64.
17. Weng H., Cai X., Yuan X. et al. Two sides of one coin: Massive hepatic necrosis and progenitor cell-mediated regeneration in acute liver failure. Front. Physiol. 2015; doi:10.3389/fphys.2015.00178.
18. Wang H., Sun L., Su L. et al. Mixed Lineage Kinase Domain-like Protein MLKL Causes Necrotic Membrane Disruption upon Phosphorylation by RIP3. Mol. Cell 2014; 54: 133–46.
19. Ramachandran A., Mcgill M.R., Xie Y. et al. Receptor interacting protein kinase 3 is a critical early mediator of acetaminophen-induced hepatocyte necrosis in mice. Hepatology 2013; 58(6): 2099–108.
20. Liu J., Wu P., Wang H. et al. Necroptosis Induced by Ad-HGF Activates Endogenous C-Kit$^+$Cardiac Stem Cells and Promotes Cardiomyocyte Proliferation and Angiogenesis in the Infarcted Aged Heart. Cell. Physiol. Biochem. 2016; 40(5): 847–60.
21. Habib A.A., Chatterjee S., Park S.K. et al. The epidermal growth factor receptor engages receptor interacting protein and nuclear factor-kappa B (NF-kappa B)-inducing kinase to activate NF-kappa B. Identification of a novel receptor-tyrosine kinase signalosome. J. Biol. Chem. 2001; 276(12): 8865–74.
22. Park S., Zhao D., Hatanpaa K.J. et al. RIP1 activates PI3K-Akt via a dual mechanism involving NF-κB-mediated inhibition of the mTOR-S6K-IRS1 negative feedback loop and down-regulation of PTEN. Cancer Res. 2009; 69(10): 4107–11.
23. Roderick J.E., Hermance N., Zelic M. et al. Hematopoietic RIPK1 deficiency results in bone marrow failure caused by apoptosis and RIPK3-mediated necroptosis. PNAS USA 2014; 111(40): 14436–41.
24. Moriwaki K., Balaji S., McQuade T. et al. The Necroptosis Adaptor RIPK3 Promotes Injury-Induced Cytokine Expression and Tissue Repair. Immunity 2014; 41(4): 567–78.
25. Moriwaki K., Balaji S., Bertin J. et al. Distinct Kinase-Independent Role of RIPK3 in CD11c+Mononuclear Phagocytes in Cytokine-Induced Tissue Repair. Cell Rep. 2017; 18(10): 2441–51.
26. Zamaraev A.V., Kopeina G.S., Zhivotovsky B. et al. Cell death controlling complexes and their potential therapeutic role. Cell. Mol. Life Sci. 2015; 72(3): 505–17.

Поступила: 04.06.2018