

ГЕН *TAG7* И ЕГО ПРОДУКТ БЕЛОК TAG7: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ

© 2023 г. Д. В. Яшин^{а,*}, Л. П. Сащенко^{а,**}, Г. П. Георгиев^{а,***}

^аИнститут биологии гена РАН, Москва, Россия

*E-mail: yashin_co@mail.ru

**E-mail: sashchenko@genebiology.ru

***E-mail: georgiev@genebiology.ru

Поступила в редакцию 22.07.2023 г.

После доработки 11.08.2023 г.

Принята к публикации 16.08.2023 г.

В статье рассматриваются свойства, а также возможности медицинского применения гена *tag7* и белка Tag7, открытых в Институте биологии гена РАН. Tag7 — многофункциональный белок, обладающий противоопухолевым и противовоспалительным действием. Его взаимодействие с рецептором TREM-1 на моноцитах приводит к появлению лимфоцитов, убивающих опухолевые клетки. Tag7-Hsp70-комплекс связывается с рецептором TNFR1, вызывая гибель клеток ряда опухолей в процессе апоптоза и некроптоза. Комплекс Tag7-Mts1 взаимодействует с рецептором CCR5 и привлекает к опухоли цитотоксические лимфоциты. Взаимодействие самого Tag7 с рецепторами TNFR1 и TREM-1 препятствует связыванию других лигандов с этим рецептором, что инициирует противовоспалительный эффект. В составе Tag7 выявлены пептиды, имитирующие разные проявления его активности. Полученные результаты позволяют рассчитывать на возможное применение белка Tag7 в лечении онкологических и аутоиммунных заболеваний.

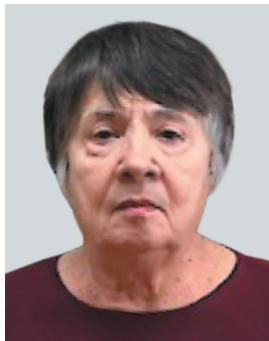
Ключевые слова: Tag7, Hsp70, Mts1, противоопухолевая активность, противовоспалительная активность.

DOI: 10.31857/S086958732309013X, **EDN:** BBQGDN

Ген *tag7* и кодируемый им белок Tag7 были открыты в Институте биологии гена РАН, и там же установлена их противоопухолевая активность [1, 2]. Первоначально *tag7* был проклонирован как ген, активно экспрессирующийся в опухолевой линии VMR-Liv с высоким уровнем метастазирования [1]. Однако оказалось, что это исключение, *tag 7* вообще не экспрессируется почти ни в одной

опухоли. Более того, белок Tag7 обладает сильной противоопухолевой активностью [3, 4].

Позднее тот же ген был описан западными авторами под названием peptidoglycan recognizing protein (PGRP или PGLYRP1) [5]. (Эти названия неудачны. Первое из них — лабораторное обозначение гена. Второе даёт представление лишь об одном свойстве белка.) Далее работы развивались



ЯШИН Денис Владимирович — доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммуногенетики рака ИБГ РАН. САЩЕНКО Лидия Павловна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной иммуногенетики рака ИБГ РАН. ГЕОРГИЕВ Георгий Павлович — академик РАН, научный руководитель ИБГ РАН.

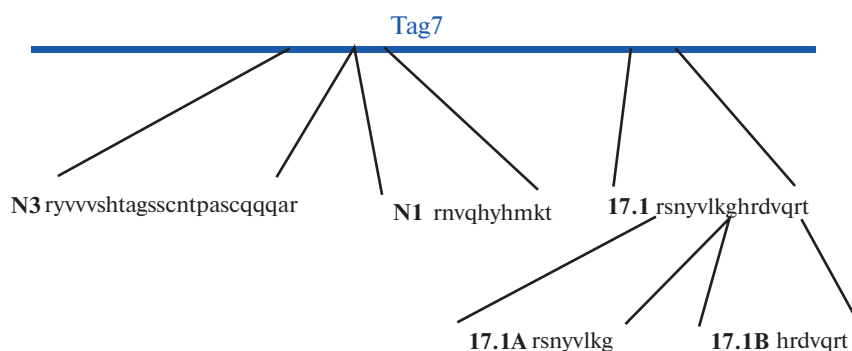


Рис. 1. Пептиды Tag7

в двух направлениях. На Западе они были сосредоточены на изучении роли белка PGRP во врожденном иммунитете. Исследователи продемонстрировали антибактериальную активность белка Tag7 [6, 7].

В ИБГ удалось установить роль белка Tag7 в противоопухолевой защите, поэтому работы сконцентрировались на выяснении механизма действия Tag7 и использовании его в терапевтических целях. Было показано, что трансфекция опухолевых клеток конструкцией, обеспечивающей синтез белка Tag7, приводит к подавлению опухолевого роста, а часто и к полному рассасыванию опухоли. Из первых работ по противоопухолевому действию Tag7 следовало, что этот белок, во-первых, вызывает инфильтрацию опухоли Т-лимфоцитами и, во-вторых, обладает цитотоксичностью по отношению к ряду опухолей [8].

Последнее положение базировалось на том факте, что среда после инкубации лимфоцитов человека и опухолевых клеток K562 обладает цитотоксичностью по отношению ко многим типам опухолевых клеток, а антитела к Tag7 полностью её подавляют [9]. Позднее выяснилось, что рекомбинантный Tag7 цитотоксичностью не обладает [5]. Последнюю определяет его комплекс с основным белком теплового шока Hsp70 [9]. Возникает вопрос о механизме действия Tag7. Каким образом осуществляется привлечение к опухоли Т-лимфоцитов и почему Tag7-Hsp70 проявляет цитотоксичность? Прежде всего предстояло выяснить, с какими рецепторами взаимодействуют Tag7 и Tag7-Hsp70. Оказалось, что Tag7 связывается с двумя клеточными рецепторами — TNFR1 [10] и TREM-1 [11].

Взаимодействие Tag7 с рецептором TNFR1, основным специфическим рецептором для важного и хорошо изученного цитокина — фактора некроза опухолей TNF [12]. Последний играет ключевую роль в развитии иммунной системы и в иммунном ответе. Как следует из названия, TNF способен также вызывать гибель опухолевых клеток. В зависимости от типа клеток связывание

TNF с рецептором TNFR1 может приводить к различным исходам: к активации генов, находящихся под контролем транскрипционного фактора NFκB, или к гибели клетки [13]. Активация указанных генов определяет пролиферацию клеток иммунной системы и провоспалительный иммунный ответ [14]. Вторым наиболее вероятным процессом, протекающим после взаимодействия TNF со своим рецептором, является клеточная смерть [14]. В частности, он способен вызывать гибель опухолевых клеток по одному из двух механизмов программируемой клеточной смерти — апоптозу или некроптозу [14].

Апоптоз служит основным механизмом избавления организма от ненужных клеток. Он происходит в короткие сроки, неиммуногенен и ассоциирован с активацией семейства сериновых протеаз — каспаз. В случае нарушения проведения сигнала в этой цепи включается запасной механизм программируемой клеточной смерти — некроптоз. Фенотип некроптоза близок к фенотипу неспецифической гибели клетки под действием неблагоприятных внешних факторов — некрозу. Некроптоз специфически запускается семейством киназ RIP. Он развивается в течение более длительного времени, чем апоптоз, и иммуногенен [15].

С рецептором TNFR1 может связываться и Tag7, и комплекс Tag7-Hsp70 [10]. При этом свободный Tag7 способен подавлять взаимодействие TNFR1 со всеми своими другими лигандами, прежде всего с TNF. Поэтому он может выступать в роли противовоспалительного агента [10]. Иными словами, выявилась ещё одна потенциальная функция Tag7.

Дальнейшие исследования позволили локализовать участок белка Tag7, ответственный за связывание с рецептором и синтезировать короткий пептид 17.1 (рис. 1), который способен связываться с TNFR1, предотвращая его связывание и активацию другими лигандами, в том числе TNF [16]. Можно было ожидать, что и Tag7, и пептид 17.1 будут проявлять противовоспалительную ак-

тивность, так как они подавляют взаимодействие основного провоспалительного цитокина TNF с рецептором клеток. Действительно, в опытах на мышах, у которых был индуцирован аутоиммунный артрит, внутривенное введение пептида 17.1 вело к значимому снижению разрушения хрящевой и костной ткани, характерного для данного заболевания. Также на модели вызванного с помощью липополисахарида (LPS) сепсиса мышей при введении пептида 17.1 происходило существенное увеличение выживаемости [16]. Таким образом, противовоспалительное действие пептида 17.1 проявлялось в опытах *in vivo*.

Как указывалось выше, с рецептором TNFR1 может взаимодействовать комплекс Tag7 с Hsp70. Это белок шаперон, обладающий сильным протективным действием, защищающим клетки от стрессов разного типа, что существенно и для защиты опухолевых клеток, которые большую часть своей жизни находятся в стрессовых условиях гипоксии, недостатка питательных веществ и противоопухолевого иммунного ответа. Белок Hsp70 помогает им выживать, служа защитником [17]. Однако при взаимодействии Hsp70 с Tag7 образуется комплекс, который сохраняет способность белка Tag7 связываться с рецептором TNFR1, но при этом приобретает новую функцию. Tag7-Hsp70 сам активирует этот рецептор, но эта активация приводит к программируемой смерти клеток [10].

Рецептор TNFR1 есть у многих опухолевых клеток. Инкубация ряда типов таких клеток с комплексом Tag7-Hsp70 приводит к их гибели в процессе апоптоза и некроптоза. Интересно, что хотя у многих опухолевых клеток имеются механизмы, препятствующие активации каспаз и апоптозу, некроптоз как запасной путь программируемой клеточной смерти у них исправно работает [18].

Инъекция комплекса Tag7-Hsp70 мышам с меланомой привела к двукратному увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных по сравнению с контролем [19]. В итоге противоопухолевый эффект комплекса был продемонстрирован не только *in vitro*, но и *in vivo*.

Взаимодействие пептида 17.1 с Hsp70 происходит аналогично взаимодействию с последним полноразмерного белка Tag7. Результирующий комплекс 17.1-Hsp70 может активировать TNFR1-рецептор и убивать опухолевые клетки, чувствительные к Tag7-Hsp70-комплексу [16].

Возникает вопрос, возможно ли разделить функции белка Tag7 и выявить его фрагменты, способные выполнять только один вид активности? Оказалось, что можно выделить два пептида, входящие в состав 17.1 и выполняющие разные функции. Один из них, пептид 17.1A, способен с высокой афинностью связываться с рецептором

и предотвращать связывание с TNFR1 всех остальных его лигандов, включая TNF [23]. При этом пептид 17.1A не связывается с Hsp70. Он так же, как и 17.1, предотвращает разрушение хрящевой и костной ткани при аутоиммунном артрите у мышей и снижает смертность при сепсисе [20].

В то же время другой фрагмент пептида 17.1 – пептид 17.1B, хотя и сохраняет способность взаимодействовать с TNFR1, но афинность такого взаимодействия слишком низкая для того, чтобы предотвратить связывание других лигандов с рецептором. Однако пептид 17.1B сохранил способность эффективно связываться с Hsp70 и образовывать комплекс 17.1B-Hsp70, который обладает противоопухолевой активностью (неопубликованные данные).

Нам удалось разделить виды активности белка Tag7 и выделить три пептида, способные выполнять различные функции полноразмерного белка. Пептид 17.1 полностью повторяет активность целого белка Tag7, вызывая блокирование рецептора TNFR1 и его активацию при образовании комплекса с белком Hsp70. Пептид 17.1A способен только блокировать рецептор, а пептид 17.1B только активировать данный рецептор при взаимодействии с Hsp70 (рис. 2).

Взаимодействие Tag7 с рецептором TREM-1.

В ходе исследований воспалительного иммунного ответа был обнаружен новый рецептор, с которым способен взаимодействовать белок Tag7. Им оказался TREM-1. Этот рецептор расположен на клетках врождённого иммунитета, в основном на моноцитах [21]. Взаимодействие Tag7 с TREM-1 может приводить к усилению экспрессии провоспалительных цитокинов [11]. Для TREM-1 известно точно только два лиганда: белок Tag7 и ядерный белок HMGB-1, ещё несколько белков рассматриваются в качестве кандидатов на эту роль [21].

Мы показали, что Tag7, связываясь с рецептором TREM-1 на поверхности моноцитов, вызывает активацию этих клеток и секрецию ими в среду провоспалительных цитокинов IL-1b, IL-6 и TNF [22]. Экспрессия IL-1b и IL-6 на моноцитах человека под действием Tag7 возрастает в 25 и в 130 раз соответственно. Образование TNF возрастает незначительно, в 2 раза. Секреция провоспалительных цитокинов моноцитами приводит к активации других клеток.

Опыты велись путём добавления Tag7 к клеткам РВМС. Последние представляют собою мононуклеарные клетки периферической крови, инкубируемые *in vitro*. После добавления Tag7 клетки в РВМС на 4-е и 6-е сутки приобретают способность лизировать опухолевые клетки, лишённые комплекса гистосовместимости. За убийство опухолевых клеток отвечает несколько популяций лимфоцитов, образующихся в ответ

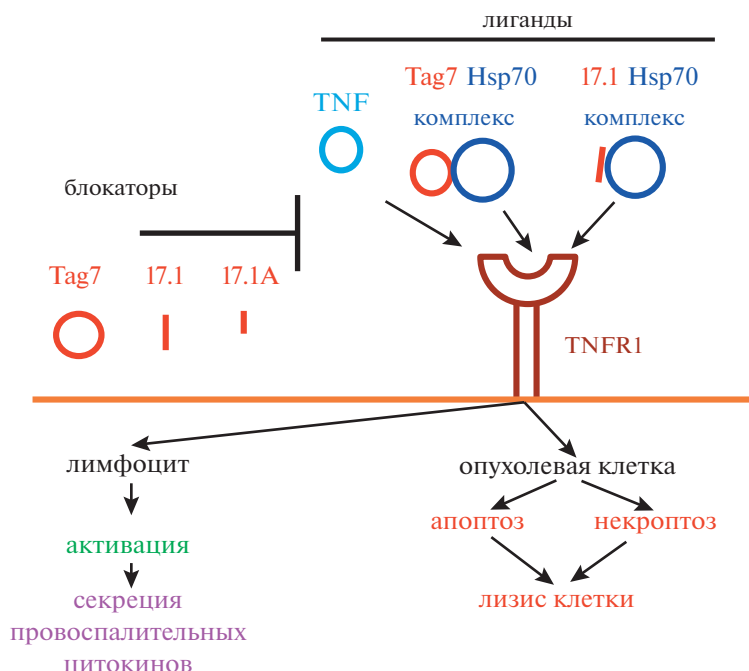


Рис. 2. Схема взаимодействия Tag7 и его пептидов с рецептором TNFR1. Лиганды TNF, Tag7-Hsp70-комплекс и 17.1-Hsp70-комплекс могут активировать рецептор. Блокаторы Tag7, 17.1 и 17.1A защищают рецептор от активации лигандами. В лимфоидных клетках основной механизм передачи сигнала активированным рецептором — секреция провоспалительных цитокинов. В опухолевых клетках чаще активируется программируемая клеточная смерть

на секрецию цитокинов моноцитами под действием Tag7. Все обладающие противоопухолевой активностью популяции лимфоцитов имеют общее свойство — способность распознавать опухолевые клетки с помощью активирующего рецептора NK-клеток, NKG2D [23]. Этот неклассический механизм распознавания раковых клеток позволяет субпопуляциям лимфоцитов бороться с опухолевыми клетками, зашедшими в своё развитие так далеко, что они избавились от комплекса гистосовместимости, необходимого для узнавания клеток при адаптивном иммунном ответе.

Всего в РВМС активируется три субпопуляции клеток, обладающих противоопухолевым эффектом. На 4-е сутки инкубации появляется субпопуляция цитотоксических NK-клеток. Они экспрессируют NKG2D-рецептор для распознавания опухолевых клеток, а лизис мишеней осуществляется с помощью гранзимов, специфических протеаз, проникающих внутрь клетки с помощью Hsp70, находящегося на поверхности опухолевых клеток [23].

Также на 4-е сутки появляются CD4⁺ Т-лимфоциты, которые тоже экспрессируют NKG2D-рецептор для распознавания опухолевых клеток. Лизис последних происходит в результате взаимодействия трансмембранного белка семейства Фактора некроза опухолей FasL (CD95L) с Fas-рецептором (CD95), что индуцирует программи-

руемую клеточную смерть путём апоптоза или некроптоза, осуществляющегося с участием RIP-киназ и клеточных органелл — лизосом и митохондрий [24]. Противоопухолевая цитотоксическая активность сохраняется у этой субпопуляции также и на 6-е сутки после добавления Tag7. Примерно каждый третий донор изначально обладает CD4⁺ Т-лимфоцитами такого типа, они составляют около 10% всех лимфоцитов крови [25]. На 6-е сутки активируется новая популяция — CD8⁺ Т-лимфоциты, которая, так же как CD4⁺ Т-лимфоциты, обладает способностью распознавать опухолевые клетки с помощью рецептора NKG2D и лизировать их в процессе апоптоза и некроптоза, вызванного взаимодействием FasL—Fas [22].

Полученные данные позволяют заключить, что белок Tag7 может изменять пролиферацию клеток иммунной системы человека и вызывать появление новых субпопуляций цитотоксических лимфоцитов, обладающих противоопухолевой активностью.

Интересно, что данные цитотоксические популяции клеток появляются только в том случае, когда инкубация РВМС с Tag7 происходит в отсутствие опухолевого антигена. В присутствии мембранных белков опухолевых клеток под действием Tag7 также активируются лимфоциты в РВМС и появляются цитотоксические популя-

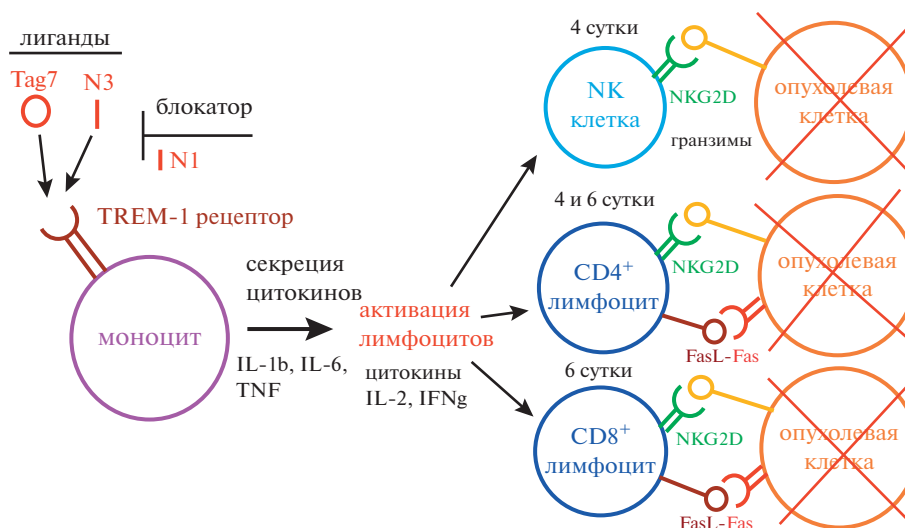


Рис. 3. Схема взаимодействия Tag7 и его пептидов с рецептором TREM-1. Tag7 и его пептид N3 могут активировать TREM-1 рецептор. Пептид N1 является блокатором связывания с рецептором. Взаимодействие лиганда с TREM-1-рецептором приводит к активации моноцитов, секреции ими провоспалительных цитокинов и последующей активации эффекторных противоопухолевых клеток — NK-клеток и CD4⁺ и CD8⁺ T-лимфоцитов. Эффекторные клетки используют NKG2D рецептор для распознавания опухолевых клеток и гранзимы или FasL-Fas взаимодействия для их лизиса

ции клеток. Однако они становятся специфическими по отношению к опухолевым клеткам, поверхностные антигены которых использовались при активации, и перестают убивать опухолевые клетки, утратившие комплекс гистосовместимости [26]. Таким образом, в присутствии антигена опухолевых клеток Tag7 способен вызывать пролиферацию классических лимфоцитов адаптивного иммунитета, как CD4⁺, так и CD8⁺ субпопуляций. Иначе говоря, Tag7 может стимулировать и адаптивный клеточный иммунитет.

Далее мы исследовали, какие пептиды в составе Tag7 отвечают за его взаимодействие с рецептором TREM-1 (рис. 3). Были выявлены пептиды N3 и N1, способные связываться с TREM-1 [27]. Пептид N3 проявляет те же свойства, что и полноразмерный белок Tag7. Он взаимодействует с TREM-1 на поверхности моноцитов, вызывает их активацию и секрецию цитокинов, в итоге это приводит к появлению противоопухолевой популяции лимфоцитов в PBMC. Пептид N1 тоже связывается с рецептором TREM-1, но не активирует моноциты, а препятствует взаимодействию рецептора с другими лигандами, в частности, с полноразмерным белком Tag7. Предварительная инкубация пептида N1 с моноцитами полностью блокирует их способность активироваться под действием Tag7.

Поскольку активация TREM-1 связана с секрецией провоспалительных цитокинов, было проведено исследование действия ингибирующего пептида N1 на модели индуцированного аутоиммунного артрита у мышей [28]. Оказалось, что

внутривенное введение пептида N1 значительно снижает характерное для этого заболевания разрушение костной и хрящевой тканей, то есть обладает выраженным терапевтическим эффектом.

В ходе наших работ выявлена новая цитотоксическая популяция лимфоцитов, способная распознавать и убивать опухолевые клетки, несущие на своей поверхности Fas-рецептор и молекулу Mts1 — лиганд для рецептора NKG2D. Эти обладающие противоопухолевой активностью лимфоциты появляются в составе PBMC человека после взаимодействия Tag7 с TREM-1-рецептором на поверхности моноцитов под действием секретированных моноцитами провоспалительных цитокинов.

Взаимодействие Tag7 и Mts1. Tag7 способен взаимодействовать с разными белками, что оказывает влияние на его активность. Так, мы обнаружили, что он может связываться с белком Mts1/S100A4, который входит в семейство S100 белков, секретируется метастазирующими опухолевыми клетками и служит сильным стимулятором метастазирования [29]. Mts1 конкурирует с Hsp70 за связывание с Tag7, разрушая цитотоксический Tag7-Hsp70-комплекс при высоких концентрациях, характерных для метастазирующих клеток, поэтому он, как правило, не обладает цитотоксичностью по отношению к клеткам метастазирующих опухолей [30].

Наряду с этим оказалось, что комплекс Tag7-Mts1 способен индуцировать хемотаксис, то есть направленное движение клеток иммунной системы по градиенту его концентрации [31]. В итоге

Tag7-Mts1 приобретает способность привлекать клетки иммунной системы к метастазирующим опухолям, приобретая дополнительную противоопухолевую активность.

Несмотря на то, что в структуре Tag7-Mts1 — комплекса нет специфического мотива, характерного для остальных лигандов рецепторов хемокинов, он взаимодействует с рецептором хемокинов CCR5 [32]. Комплекс выступает в роли нового лиганда хемокинового рецептора CCR5, и, возможно, это определяет ещё одну функцию белка Tag7.

Противоопухолевые вакцины с использованием белка Tag7. Можно сделать вывод, что белок Tag7 многофункционален. При этом ряд видов его активности имеет противоопухолевую направленность, поэтому возникла идея его использования в терапевтических целях путём создания вакцин на базе модифицированных опухолевых клеток, продуцирующих белок Tag7.

Протокол включал следующие этапы: 1 — получение опухолевого материала при операции, 2 — приготовление клеточной культуры из полученных опухолевых клеток, 3 — трансфекция клеток конструкцией, содержащей ген *tag7* и обеспечивающей синтез белка Tag7 в клетках культуры, 4 — инактивация клеток рентгеновским облучением, 5 — подкожное введение тому же пациенту, от которого взят операционный материал (на первом этапе планировалось использование аутологических вакцин).

В опытах, проведённых на мышах с разными линиями меланомы, при использовании подобной технологии было показано, что для многих опухолевых линий удаётся добиться полного уничтожения опухоли у большинства животных. Условием успеха стало то, что вакцина готовилась из клеток той же линии, которая бралась для перевивки [8].

В Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Петрова были проведены первая и вторая фазы клинических испытаний вакцин с участием больных с диагностированными меланомой или раком почек 3-й или 4-й стадии. Проводились многократные инъекции вакцины, на второй фазе испытаний — вплоть до 26 раз. На первой фазе испытаний, которую проводили с участием 21 пациента, была продемонстрирована полная безопасность вакцины и в ряде случаев частичное подавление опухолевого роста. Заметных эффектов не наблюдалось [8].

На второй фазе испытаний с участием 80 пациентов число инъекций было увеличено. 15-летние наблюдения за пролеченными больными показали существенно более высокую эффективность

терапии [33]. Выживаемость за три года составляла 25%. Спустя 5 лет были живы и находились в контакте с онкологами 12 человек. Прогрессии опухоли у них не наблюдалось. В течение 5–15 лет с ними постепенно утрачивался контакт, причём это не было связано с заболеванием. При последнем контакте признаки роста опухоли не были выявлены. Через 15 лет после проведения терапии контакт был утрачен с тремя последними пациентами. Их лечение начинали, когда им было от 33 до 40 лет.

Для дальнейшего анализа опухоли были разделены на три группы: 1-я группа — опухоли, не продуцирующие факторы подавления иммунитета (15 пациентов), 2-я — смешанная группа (53 пациента), 3-я — опухоли с активной продукцией иммунодепрессантов (12 больных). В 3-й группе больные погибали за 1–2 года. В 1-й группе выживаемость больных через 3, 5 и 10 лет составляла около 40%. Таким образом, разработанный метод вакцинотерапии при правильном подборе пациентов не уступал, а на 10-летнем отрезке даже превосходил лучшие результаты, полученные на Западе с использованием антител к PD1 или PDL1 [34].

Следует подчеркнуть, что при иммунотерапии сочетанное применение технологий с разным механизмом действия может давать сильный позитивный эффект. Действительно, введение дополнительных процедур существенно улучшает результаты терапии в опытах на животных. К сожалению, в связи с введением американских правил проведения испытаний все клинические испытания были приостановлены.

Подавление цитокинового шторма. Как было продемонстрировано выше, ряд пептидов белка врождённого иммунитета Tag7 обладает выраженными противовоспалительными свойствами. Пептиды 17.1 и 17.1A блокируют проведение сигнала через TNFR1-рецептор, а пептид N1 — через TREM-1-рецептор.

В связи с пандемией COVID-19 антицитокиновая противовоспалительная терапия привлекла повышенное внимание медицинских кругов. Оказалось, что вирус SARS-CoV-2 способен подавлять иммунный ответ больного до некоторого момента, а затем обнаружение вируса клетками иммунной системы приводит к чрезвычайно сильному иммунному ответу, известному в литературе как “цитокиновый шторм”. Этот механизм лежит в основе многих негативных эффектов вирусной инфекции [35].

В Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН была разработана модель острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), воспроизводящая процессы воспалительного ответа при

вирусной инфекции. Мы исследовали эффект введения пептидов 17.1, 17.1a и N1 на секрецию цитокинов после индукции ОРДС у мышей [36]. Эксперименты показали, что все три пептида снижают уровень провоспалительных цитокинов TNF, IL-6, IL-1b, а также ключевого цитокина для развития иммунного ответа IFNg. Следовательно, они могут рассматриваться в качестве кандидатов на роль терапевтических агентов для уменьшения эффектов “цитокинового шторма” у больных COVID-19.

Аутоиммунные заболевания получают всё более широкое распространение, и их терапия становится важным направлением современной медицины. Как показано выше, Tag7 и его пептиды, блокирующие рецепторы TNFR1 и TREM-1, эффективны в подавлении провоспалительных процессов у животных, что позволяет рассчитывать на их использование в медицине [37].

* * *

Итак, в настоящее время уже очевидно, что Tag7 является многофункциональным белком. В нашей статье рассматривается только часть видов его активности, связанных с противоопухолевым и противовоспалительным действием.

Противоопухолевая активность может реализовываться разными путями. Взаимодействуя с рецептором TREM-1 на моноцитах, Tag7 запускает образование цитокинов IL-1b и IL-6, что, в свою очередь, ведёт к появлению нескольких субпопуляций Т-лимфоцитов, убивающих опухолевые клетки. В зависимости от типа последних формируются цитотоксические Т-лимфоциты, характерные для врождённого или адаптивного иммунитета. В комплексе с белком Hsp70 Tag7 связывается с рецептором TNFR1, вызывая гибель клеток ряда опухолей в процессе апоптоза и некроптоза. Наконец, комплекс Tag7 с Mts1 взаимодействует с рецептором CCR5 и выполняет функцию хемокина для привлечения к опухоли Т-лимфоцитов.

Взаимодействие самого Tag7 с рецепторами TNFR1 и TREM-1 препятствует связыванию других лигандов с этим рецептором, что вызывает противовоспалительный эффект. В составе Tag7 выявлены пептиды, позволяющие разделить различные активности Tag7. Пептиды 17.1a и N1 связываются с рецепторами TNFR1 и TREM-1 соответственно и вызывают сильный противовоспалительный эффект, пептид N3 работает как цитокин и индуцирует появление в PBMC противоопухолевых лимфоцитов, а пептид 17.1b взаимодействует с Hsp70 и вызывает программируемую смерть клеток ряда опухолей.

Полученные результаты позволяют рассчитывать на возможное применение белка Tag7 в

лечении онкологических и аутоиммунных заболеваний. Клинические испытания аутологических вакцин на базе опухолевых клеток, трансфицированных конструкциями, которые обеспечивают синтез клетками Tag7, дали обнадеживающие результаты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kustikova O.S., Kiselev S.L., Borodulina O.R. et al. A.A. Cloning of the tag7 gene expressed in metastatic mouse tumors // *Genetika*. 1996. V. 32. P. 621–628.
2. Kiselev S.L., Kustikova O.S., Korobko E.V. et al. Molecular cloning and characterization of the mouse tag7 gene encoding a novel cytokine // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 18633–18639.
3. Kiselev S.L., Larin S.S., Gnuchev N.V., Georgiev G.P. tag7 Gene and gene therapy of cancer // *Genetika*. 2000. V. 36. P. 1431–1435.
4. Moiseyenko V.M., Danilov A.O., Baldueva I.A. et al. Phase I/II trial of gene therapy with autologous tumor cells modified with tag7/PGRP-S gene in patients with disseminated solid tumors: miscellaneous tumors // *Ann. Oncol.* 2005. V. 16. P. 162–168.
5. Liu C., Gelius E., Liu G. et al. Mammalian peptidoglycan recognition protein binds peptidoglycan with high affinity, is expressed in neutrophils, and inhibits bacterial growth // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 24490–24499.
6. Kashyap D.R., Rompca A., Gaballa A. et al. Peptidoglycan recognition proteins kill bacteria by inducing oxidative, thiol, and metal stress // *PLoS Pathog.* 2014. V. 10. e1004280.
7. Dzjarski R., Gupta D. How innate immunity proteins kill bacteria and why they are not prone to resistance // *Curr. Genet.* 2018. V. 64. P. 125–129.
8. Larin S.S., Korobko E.V., Kustikova O.S. et al. Immunotherapy with autologous tumor cells engineered to secrete Tag7/PGRP, an innate immunity recognition molecule // *J. Gene Med.* 2004. V. 6. P. 798–808.
9. Sashchenko L.P., Dukhanina E.A., Yashin D.V. et al. Peptidoglycan recognition protein tag7 forms a cytotoxic complex with heat shock protein 70 in solution and in lymphocytes // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 2117–2124.
10. Yashin D.V., Ivanova O.K., Soshnikova N.V. et al. Tag7 (PGLYRP1) in Complex with Hsp70 Induces Alternative Cytotoxic Processes in Tumor Cells via TNFR1 Receptor // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. P. 21724–21731.
11. Read C.B., Kuijper J.L., Hjorth S.A. et al. Cutting Edge: identification of neutrophil PGLYRP1 as a ligand for TREM-1 // *J. Immunol.* 2015. V. 194. P. 1417–1421.
12. Kitaura H., Marahleh A., Otori F. et al. Role of the Interaction of Tumor Necrosis Factor- α and Tumor Necrosis Factor Receptors 1 and 2 in Bone-Related Cells // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 1481.

13. Liu X., Xie X., Ren Y. et al. The role of necroptosis in disease and treatment // *MedComm* (2020). 2021. V. 2. P. 730–755.
14. Gough P., Myles I.A. Tumor Necrosis Factor Receptors: Pleiotropic Signaling Complexes and Their Differential Effects // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. Art. 585880.
15. Roberts J.Z., Crawford N., Longley D.B. The role of Ubiquitination in Apoptosis and Necroptosis // *Cell Death Differ.* 2022. V. 29. P. 272–284.
16. Romanova E.A., Sharapova T.N., Telegin G.B. et al. A 12-mer Peptide of Tag7 (PGLYRP1) Forms a Cytotoxic Complex with Hsp70 and Inhibits TNF-Alpha Induced Cell Death // *Cells.* 2020. V. 9. P. 488.
17. Hu C., Yang J., Qi Z. et al. Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities // *MedComm* (2020). 2022. V. 3. P. e161.
18. Yashin D.V., Ivanova O.K., Soshnikova N.V. et al. L.P. Tag7 (PGLYRP1) in Complex with Hsp70 Induces Alternative Cytotoxic Processes in Tumor Cells via TNFR1 Receptor // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. P. 21724–21731.
19. Dukhanina E.A., Yashin D.V., Lukjanova T.I. et al. Administration of the cytotoxic complex Tag7-Hsp70 to mice with transplanted tumors inhibits tumor growth // *Dokl. Biol. Sci.* 2007. V. 414. P. 246–248.
20. Telegin G.B., Chernov A.S., Kazakov V.A. et al. A 8-mer Peptide of PGLYRP1/Tag7 Innate Immunity Protein Binds to TNFR1 Receptor and Inhibits TNF α -Induced Cytotoxic Effect and Inflammation // *Front. Immunol.* 2021. V. 12. Art. 622471.
21. Arts R.J., Joosten L.A., van der Meer J.W., Netea M.G. TREM-1: intracellular signaling pathways and interaction with pattern recognition receptors // *J. Leukoc. Biol.* 2013. V. 93. P. 209–215.
22. Sharapova T.N., Ivanova O.K., Soshnikova N.V. et al. Innate Immunity Protein Tag7 Induces 3 Distinct Populations of Cytotoxic Cells That Use Different Mechanisms to Exhibit Their Antitumor Activity on Human Leukocyte Antigen- Deficient Cancer Cells // *J. Innate. Immun.* 2017. V. 9. P. 598–608.
23. Ivanova O.K., Sharapova T.N., Romanova E.A. et al. CD3+ CD8+ NKG2D+ T Lymphocytes Induce Apoptosis and Necroptosis in HLA- Negative Cells via FasL-Fas Interaction // *J. Cell Biochem.* 2017. V. 118. P. 3359–3366.
24. Yashin D.V., Romanova E.A., Ivanova O.K., Sashchenko L.P. The Tag7-Hsp70 cytotoxic complex induces tumor cell necroptosis via permeabilisation of lysosomes and mitochondria // *Biochimie.* 2016. V. 123. P. 32–36.
25. Sashchenko L.P., Dukhanina E.A., Shatalov Y.V. et al. Cytotoxic T lymphocytes carrying a pattern recognition proteinTag7 can detect evasive, tumor cells, HLA-negative but HSP-expressing thereby ensuring FasL/Fas-mediated contact killing // *Blood.* 2007. V. 110. P. 1997–2004.
26. Yashin D.V., Sashchenko L.P., Kabanova O.D. et al. The CD8+population of LAK cells can lyse both HLA-positive and HLA-negative cancer cell lines // *Dokl. Biol. Sci.* 2009. V. 426. P. 296–297.
27. Sharapova T.N., Ivanova O.K., Romanova E.A. et al. N-Terminal Peptide of PGLYRP1/Tag7 Is a Novel Ligand for TREM-1 Receptor // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. Art. 5752.
28. Telegin G.B., Chernov A.S., Minakov A.N. et al. Short Peptides of Innate Immunity Protein Tag7 Inhibit the Production of Cytokines in CFA-Induced Arthritis // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. Art. 12435.
29. Lukanidin E.M., Georgiev G.P. Metastasis-related mts1 gene // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1996. V. 213. P. 171–195.
30. Romanova E.A., Dukhanina E.A., Sharapova T.N. et al. Lymphocytes incubated in the presence of IL-2 lose the capacity for chemotaxis but acquire antitumor activity // *Dokl. Biol. Sci.* 2017. V. 472. P. 31–33.
31. Dukhanina E.A., Lukyanova T.I., Romanova E.A. et al. A new role for PGRP-S (Tag7) in immune defense: lymphocyte migration is induced by a chemoattractant complex of Tag7 with Mts1 // *Cell Cycle.* 2015. V. 14. P. 3635–3643.
32. Sharapova T.N., Romanova E.A., Sashchenko L.P., Yashin D.V. Tag7-Mts1 Complex Induces Lymphocytes Migration via CCR5 and CXCR3 Receptors // *Acta Naturae.* 2018. V. 10. P. 115–120.
33. Novik A.V., Danilova A.B., Sluzhev M.I. et al. An Open-Label Study of the Safety and Efficacy of Tag-7 Gene-Modified Tumor Cells-Based Vaccine in Patients with Locally Advanced or Metastatic Malignant Melanoma or Renal Cell Cancer // *Oncologist.* 2020. V. 25. P. e1303-e1317.
34. Lurain K., Ramaswami R., Yarchoan R., Uldrick T.S. Anti-PD-1 and Anti-PD-L1 Monoclonal Antibodies in People Living with HIV and Cancer // *Curr. HIV/AIDS Rep.* 2020. V. 17. P. 547–556.
35. Bukhari M.H., Zain S., Syed M. The new criteria for a COVID19 patient for the clinical practice to determine the need for an early therapeutic regimen and to decrease mortality // *Pak. J. Med. Sci.* 2021. V. 37. P. 1536–1539.
36. Sharapova T.N., Romanova E.A., Chernov A.S. et al. Protein PGLYRP1/Tag7 Peptides Decrease the Proinflammatory Response in Human Blood Cells and Mouse Model of Diffuse Alveolar Damage of Lung through Blockage of the TREM-1 and TNFR1 Receptors // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. Art. 11213.
37. Abdulmajid B., Blanken A.B., van Geel E.H. et al. Effect of TNF inhibitors on arterial stiffness and intima media thickness in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis // *Clin. Rheumatol.* 2023. V. 42. P. 999–1011.

GENE *TAG7* AND ITS TRANSCRIPT TAG7 PROTEIN: PERSPECTIVES OF MEDICAL APPLICATIONS

D. V. Yashin^{1,#}, L. P. Sashchenko^{1,##}, and G. P. Georgiev^{1,###}

¹*Institute of Gene Biology of RAS, Moscow, Russia*

[#]*E-mail: yashin_co@mail.ru*

^{##}*E-mail: sashchenko@genebiology.ru*

^{###}*E-mail: georgiev@genebiogy.ru*

Tag7 protein is a multifunctional protein with antitumor and anti-inflammatory effects. The interaction of Tag7 with the TREM-1 receptor on monocytes leads to the appearance of lymphocytes that kill tumor cells. The Tag7-Hsp70 complex binds to the TNFR1 receptor, causing cell death in a number of tumors through apoptosis and necroptosis. The Tag7-Mts1 complex interacts with the CCR5 receptor and attracts cytotoxic lymphocytes to the tumor. The interaction of Tag7 itself with TNFR1 and TREM-1 receptors prevents the binding of other ligands to this receptor, which gives an anti-inflammatory effect. Peptides imitating different Tag7 activities have been identified in Tag7. The results obtained allow us to count on possible applications of the Tag7 protein in the treatment of oncological and autoimmune diseases.

Keywords: Tag7, Hsp70, Mts1, antitumor activity, anti-inflammatory activity.