

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ БЕЛОК ТЕПЛООВОГО ШОКА 70 И ЕГО ФУНКЦИИ

© А. Л. Евдонин,<sup>1</sup> Н. Д. Медведева

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;

<sup>1</sup> электронный адрес: evdonin@mail.ru

Различные стрессовые воздействия вызывают накопление в клетках белков теплового шока, в частности белка теплового шока 70 (Hsp70), что рассматривается как важнейший компонент ответа клеток на стресс. Hsp70 до недавнего времени считался типично внутриклеточным белком, но в настоящее время обнаружено, что разные типы клеток способны секретировать его во внеклеточную среду. В нашем обзоре обсуждаются механизмы выхода белка Hsp70 из клеток и его иммуномодуляторная и сигнальная функции.

Ключевые слова: белок теплового шока 70, иммуномодулятор, передача внутриклеточного сигнала.

Принятые сокращения: HSP — белок теплового шока, МНС — основной комплекс гистосовместимости, NK-клетки — естественные киллерные клетки, TLR — Toll-like рецептор, TNF — фактор некроза опухоли.

Группа белков теплового шока состоит из нескольких семейств высококонсервативных белков (Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60 и Hsp40) и семейства мелких Hsp, обладающих множественными функциями в клетке (см. обзоры: Hartl, 1996; Nollen, Morimoto, 2002). Наиболее исследованное семейство белков теплового шока — семейство Hsp70 — включает в себя индуцируемый стрессовыми воздействиями Hsp70 и конститутивно экспрессируемый клетками белок, который в литературе фигурирует под названиями Hsp70, Hsp72, Hsp73, а в современной литературе чаще обозначается как Hsc70 (heat shock cognate protein 70 kDa). В настоящем обзоре пойдет речь о белке Hsp70, экспрессия и накопление которого в клетке регистрируются при различных стрессовых воздействиях.

Hsp70 обладает множественными функциями в клетке. Наибольший интерес исследователей привлекают его шаперонная активность и защитная функция, подтвержденная исследованиями на различных клеточных моделях (Jaattela et al., 1998; Маргулис, Гужова, 2000; Hut et al., 2005; Guzhova, Margulis, 2006). Кроме того, получены данные об участии Hsp70 в транспорте белков, протеасомозависимой деградации, образовании множественных белковых комплексов и проведения внутриклеточного сигнала (Guzhova, Margulis, 2006).

Hsp70 ранее считался типично внутриклеточным белком, однако в последнее время доказано его существование во внеклеточной среде — в тканевых жидкостях человека и животных и в кондиционной среде культур клеток. Важность исследований функций внеклеточного Hsp70 определяется тем, что он играет роль иммуномодулятора и, следовательно, является кандидатом на использование в терапевтических целях (Parmiani et al., 2004; Гужова и др., 2005; Schmitt et al., 2007). Цель настоящего обзора — суммировать данные о механизмах выхода из клеток и функциях внеклеточного Hsp70.

### Hsp70 в тканевых жидкостях человека и животных и во внеклеточной среде культур клеток

Общеизвестно, что стрессовые воздействия, и в первую очередь тепловой шок, вызывают накопление Hsp70 в клетках разного происхождения (см. обзоры: Georgopoulos, Welch, 1993; Hartl, 1996; Маргулис, Гужова, 2000). В настоящее время в литературе накапливаются данные о том, что при тепловом шоке происходит выход Hsp70 из клеток. Так, показано появление Hsp70 в культуральной среде эмбриональных клеток крысы (Hightower, Guidon, 1989), клеток крови человека (Hunter-Lavin et al., 2004), глиальных клеток (Guzhova et al., 2001), клеток карцином человека (Evdonin et al., 2004, 2006a, 2006b; Mambula, Calderwood, 2006), клеток поджелудочной железы (Lancaster, Febbraio, 2005), тучных клеток (Mortaz et al., 2006). Ионизирующее облучение также способно вызывать выход Hsp70 из опухолевых клеток (Gehrmann et al., 2005). Описан выход Hsp70 из тучных клеток при действии ацетилсалициловой кислоты (Mortaz et al., 2006). Действие интерферона гамма приводило к появлению Hsp70 в культуральной среде клеток эритролейкемии K562 (Vausero et al., 2005). Действие фармакологического ингибитора фосфолипаз С — вещества U73122 — вызывает выход Hsp70 из клеток карциномы человека A431 (Evdonin et al., 2004, 2006b).

Кроме того, рассматриваются случаи конститутивно-го выхода Hsp70 из клеток при его повышенной экспрессии, достигнутой трансфекцией клеток геном *hsp70* и его экспрессией (Wang et al., 2004; Lancaster, Febbraio, 2005; Mambula, Calderwood, 2006).

Появление внеклеточного белка описано при ряде заболеваний человека и животных. Повышение уровня внеклеточного Hsp70 отмечено при гипертонии (Pockley et

al., 2002), атеросклерозе (Pockley et al., 2003), почечных болезнях (Wright et al., 2000), а также при отеке легких (Ganter et al., 2006). Некоторые авторы рассматривают наличие в крови Hsp70 в качестве маркера повреждений миокарда (Dybdahl et al., 2002, 2004, 2005). Отмечено наличие Hsp70 в сыворотке крови при диабете второго типа (Hunter-Lavin et al., 2004). Hsp70 обнаружен в крови пациентов, перенесших травмы (Pittet et al., 2002).

Концентрация Hsp70 резко возрастает в крови инфицированных людей, в том числе при постоперационных инфекциях и некоторых вирусных инфекциях (Barreto et al., 2003; Njemini et al., 2003; Kimura et al., 2004). Действие бактериальных липополисахаридов — основных компонентов стенок бактерий — вызывает выход Hsp70 из клеток крови (Davies et al., 2006).

Обнаружено, что психологический стресс способен стимулировать появление Hsp70 в крови крыс (Campisi, Fleshner, 2003; Fleshner et al., 2004). Механический стресс вызывает появление Hsp70 в слюне человека (Fabian et al., 2003, 2007).

В то же время Hsp70 обнаружен и в сыворотке крови здоровых людей (Pockley et al., 1998; Chan et al., 1999; Molvarec et al., 2007). Так, показано повышение уровня внеклеточного Hsp70 при физических упражнениях (Walsh et al., 2001; Asea, 2003; Ortega et al., 2006; Melling et al., 2007).

### Механизмы выхода Hsp70 из клеток

Вопрос о том, как Hsp70 выходит из клеток, активно изучается, однако единого мнения относительно механизмов этого процесса не выработано. В литературе рассматриваются две возможности появления белка во внеклеточной среде: пассивный выход из поврежденных клеток и активный выброс из жизнеспособных клеток. Одним из источников внеклеточного Hsp70 считаются гнущие и поврежденные клетки. Так, Hsp70 выделяются во внеклеточную среду при лизисе клеток, вызванном вирусами (Moehler et al., 2005). В работах Базу и соавторов (Gallucci et al., 1999; Basu et al., 2000; Basu, Srivastava, 2000) показано, что при лизисе клеток, вызванном их повторным замораживанием и оттаиванием, происходит появление Hsp70 во внеклеточной среде, а если в тех же клетках индуцировали апоптоз (облучением), то выхода белка из клеток не обнаруживали. Это объясняется тем, что при апоптозе содержимое клетки не выбрасывается во внеклеточную среду, но попадает в апоптотические тела, которые захватываются клетками-фагоцитами.

Многие факты свидетельствуют о том, что Hsp70 способен выходить и из неповрежденных клеток. В качестве одного из транспортеров белка из клетки рассматриваются экзосомы. Экзосомы представляют собой внутренние везикулы мультивезикулярных тел, которые выходят во внеклеточную среду путем слияния с клеточной поверхностью (Raposo et al., 1996; Zitvogel et al., 1998, 1999). Выход Hsp70 из клеток в составе экзосом подтвержден следующими фактами: Hsp70 был обнаружен в составе экзосом, изолированных из клеток крови, миобластов и фибробластов (Lancaster, Febbraio, 2005), Hsp70 колокализировался с маркером экзосом Rab4 (Gastpar et al., 2005) и, наконец, методами электронной микроскопии Hsp70 выявлен на мембранах экзосом опухолевых клеток (Radons, Multhoff, 2005). Таким образом, экзосомы могут служить транспортерами Hsp70 при его выходе из клеток.

Выброс Hsp70 из клеток могут осуществлять секреторные лизосомы. Наличие Hsp70 в мембранах лизосом подробно описано, высказывалось предположение о том, что белок, увеличивая резистентность мембран лизосом к действию стрессовых факторов, предотвращает аутофагию клеток (Nylandsted et al., 2004). При действии теплового шока на клетки карциномы простаты Hsp70 выходил из клеток, при этом выход Hsp70 сопровождался появлением на поверхности клеток маркера лизосом Lamp1; кроме того, в этом случае Hsp70 предотвращался действие ингибиторов транспорта лизосом (Mambula, Calderwood, 2006; Mambula et al., 2007).

Hsp70 может секретироваться клеткой с использованием классического секреторного пути. Обнаружено, что при действии на клетки карциномы человека A431 фармакологического ингибитора фосфолипаз либо теплового шока Hsp70 выходит из клеток в составе гранул, несущих маркер секреторных гранул хромогранин А, и его секреция предотвращается действием ингибитора классических секреторных путей — Брефельдина А (Evdonin et al., 2006a). В процессе выхода из лимфоцитов комплекса белков Tag7 и Hsp70 этот комплекс колокализировался с аппаратом Гольджи и процесс выхода блокировался действием Брефельдина А (Sashchenko et al., 2004); это позволяет предполагать, что и в этом случае клетки используют классический секреторный путь.

Некоторые авторы высказывают предположение о том, что Hsp70 может проходить сквозь плазматическую мембрану клетки и не в составе везикул. Показано, что Hsp70 взаимодействует с фосфатидилсеринем, при этом высказывается предположение о том, что при таком взаимодействии Hsp70 транспортируется на наружный липидный слой плазматической мембраны (Arispe et al., 2004). Показано, что Hsp70 может ассоциироваться с кислыми липидами при помощи своего АТФазного и липидсвязывающего домена (Harada et al., 2007). С другой стороны, Hsp70 способен взаимодействовать с искусственными мембранами, образуя в них катионные каналы (Alder et al., 1990; Negulyaev et al., 1996; Arispe, De Maio, 2000; Arispe et al., 2002), что также указывает на его способность направленно проходить сквозь мембрану.

В литературе обсуждается роль богатых холестерином липидных микродоменов мембраны (рафтов) в процессе выхода Hsp70 из клеток. Протеомный анализ белков, связанных с липидными рафтами, показал наличие в них членов семейства Hsp70 (Triantafilou et al., 2001, 2002). Показано, что тепловой шок вызывает выброс Hsp70 клетками, а разрушение липидных рафтов при помощи метилциклодекстрина предотвращает этот процесс (Broquet et al., 2003; Bausero et al., 2005; Gastpar et al., 2005). Однако в работах других авторов показано, что метилциклодекстрин не предотвращал выход Hsp70 из клеток крови (Lancaster, Febbraio, 2005).

Суммируя, можно заключить, что появление Hsp70 во внеклеточной среде может быть результатом совершенно разных процессов. Белок может выходить как из гнущихся, так и из жизнеспособных клеток, причем во втором случае существует несколько механизмов его секреции. На наш взгляд, такое многообразие способов выведения белка из клеток свидетельствует о важности этого процесса. Вопрос о том, зависит ли механизм, с помощью которого клетки секретируют Hsp70, от типа клеток или уровня их трансформации, остается пока неясным.

## Функции внеклеточного Hsp70

В настоящее время в литературе накапливаются сведения о том, что внеклеточный Hsp70 обладает множественными функциями. Основным интерес исследователей связан с влиянием внеклеточного белка на клетки иммунной системы, поскольку именно это свойство Hsp70 позволяет использовать его для создания вакцин.

Иммуномодуляторная функция внеклеточного Hsp70. В классической иммунологии полагается, что иммунный ответ генерируется в ответ на «чужие» антигены. В настоящее время среди иммунологов очень популярна теория опасности, или теория тревоги (Matzinger, 1998). Суть этой теории заключается в том, что иммунная система реагирует не на «чужие» антигены, а на «опасные». Если клетка погибает не в результате запрограммированной клеточной гибели (апоптоза), а в результате некроза или цитолиза, то эта клетка выбрасывает во внеклеточную среду свои белки, которые клетки иммунной системы воспринимают как сигнал опасности. В последнее время белки теплового шока, в частности Hsp70, рассматриваются в качестве сигнала опасности для иммунной системы, поскольку они выходят из клеток при стрессе и при повреждении ткани (Prohaszka et al., 2002; Campisi et al., 2003; Davies et al., 2006).

Естественные киллерные клетки (NK-клетки) представляют собой эффекторные клетки врожденного иммунитета, вовлеченные в защитные реакции организма при вирусных и бактериальных инфекциях, а также опухолевом росте. Показано, что растворимый рекомбинантный Hsp70 способен стимулировать пролиферацию NK-клеток, увеличивать их миграцию к опухолевым клеткам, несущим на своей мембране Hsp70, и цитолитическую активность против этих клеток (Botzler et al., 1996; Multhoff et al., 1999). Выявлен и охарактеризован участок Hsp70, ответственный за активацию NK-клеток, им оказался пептид, состоящий из 14 аминокислот TKDNNLLGRFELSG, который авторы назвали TKD (Multhoff et al., 1999; Gastpar et al., 2004; Multhoff, 2007). Интересно отметить, что не только растворимый внеклеточный Hsp70 стимулировал активность NK-клеток, но и экзосомы, выходящие из клеток и несущие на своей поверхности связанный с мембраной Hsp70, обладали тем же действием (Gastpar et al., 2005). Следовательно, независимо от способа появления Hsp70 во внеклеточной среде этот белок способен активировать NK-клетки и способствовать лизису опухолевых клеток.

В настоящее время известно, что многие опухолевые клетки несут на своей наружной мембране Hsp70, в то время как нормальные клетки того же происхождения его лишены (Multhoff et al., 1995; Multhoff, Hightower, 1996). Исследование более 1000 образцов биопсийного материала от больных с опухолями разного происхождения (легкие, кишечник, желудок, поджелудочная железа, молочная железа) показало, что 50 % опухолей имеет на наружной мембране Hsp70 (Hantschel et al., 2000; Multhoff, 2007), а при исследовании нормальных тканей того же происхождения белок не был выявлен ни в одном из случаев. Обнаружено, что NK-клетки мигрируют к опухолевым клеткам и лизируют их, если эти опухолевые клетки несут на своей поверхности Hsp70, но не обладают таким действием по отношению к опухолевым клеткам, у которых Hsp70 на наружной мембране отсутствует (Gastpar et al., 2004). Более того, мембранный Hsp70 расположен так, что его пептид TKD направлен во внеклеточную среду и именно он узнается NK-клетками. Таким образом, Hsp70

обладает двойным влиянием на NK-клетки: с одной стороны, экспонированный на поверхности опухолевых клеток Hsp70 создает сайт для узнавания этих клеток NK-клетками, а с другой — внеклеточный Hsp70 стимулирует активность NK-клеток.

Сделаны попытки выяснения вопроса о том, почему только опухолевые клетки, несущие на мембране Hsp70, подвергаются лизису NK-клетками. Показано, что лизис клеток, содержащих мембранный Hsp70, осуществляется с участием гранзима В — сериновой протеазы, секретируемой NK-клетками. Гранзим В связывается с поверхностным Hsp70, который интернализуется, и в результате гранзим В попадает внутрь клетки и запускает апоптоз (Gross et al., 2003; Multhoff, 2007). Тонкие механизмы этого процесса пока неизвестны, однако в этом случае локализованный на мембране опухолевых клеток Hsp70 играет роль транспортера гранзима В в клетку.

Способность внеклеточного Hsp70 активировать не только NK-клетки, но и другие клетки иммунной системы подтверждена множеством экспериментальных данных (см. обзоры: Srivastava, 2002; Johnson, Fleshner, 2006; Multhoff, 2007). Введение Hsp70 мышам, несущим опухоли, приводило к уменьшению этих опухолей и увеличению времени жизни этих мышечей. Причем основным компонентом противоопухолевого ответа в этом случае были цитотоксические Т-лимфоциты (Shmitt et al., 2007). Эти данные приводят к предположению об использовании внеклеточного Hsp70 противоопухолевой терапии, и такие исследования в настоящее время интенсивно ведутся (Shmitt et al., 2007).

Показано, что внеклеточный Hsp70 способен принимать участие в презентации антигенов с участием белков основного комплекса гистосовместимости (МНС) (Li et al., 2002; Srivastava, 2002). Известно, что МНС I класса презентует на поверхности клеток пептиды, образованные из внутриклеточных антигенов, и в этом процессе принимает участие внутриклеточный Hsp70 (Srivastava et al., 1998). Внеклеточный Hsp70 за счет своей шаперонной активности способен связываться с внеклеточными антигенами и, как считается, участвует в переносе антигенов к антигенпрезентирующим клеткам для кросс-презентации. В экспериментах с экзогенно добавленными пептидами было показано, что Hsp70-пептидный комплекс интернализуется антигенпрезентирующими клетками (Bendz et al., 2007). Предполагается, что формирование комплекса Hsp70 с антигеном предотвращает гидролиз антигена внутриклеточными протеазами, что позволяет клетке накопить достаточное его количество для презентирования (Amoscato et al., 1998).

Одним из аспектов иммуномодуляторной функции внеклеточного Hsp70 является его способность стимулировать секрецию цитокинов. Показано, что действие Hsp70 стимулирует синтез и секрецию провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухолей TNF- $\alpha$  и интерлейкины 1b, 12, 6 (Asea et al., 2000a, 2000b; Wang et al., 2002) из макрофагов и лимфоцитов (Breloer et al., 1999; Todryk et al., 1999; Multhoff, 2002). Это цитокины в свою очередь вызывают неспецифическую активацию системы врожденного иммунитета. Суммируя, необходимо отметить, что внеклеточный Hsp70 обладает иммуномодуляторной функцией, участвуя одновременно в процессах активации врожденного и приобретенного иммунитета.

Сигнальная функция внеклеточного Hsp70. Способность связывать внеклеточный Hsp70

была показана для различных клеточных линий. Внеклеточный Hsp70 специфически связывается с поверхностной мембраной различных клеток иммунной системы (Multhoff et al., 1995, 1997; Arnold-Schild et al., 1999; Asea et al., 2000b, 2002; Reed, Nicchitta, 2000; Sondermann et al., 2000; Vabulas et al., 2002; Gross et al., 2003). Hsp70 способен также связываться с мембранами эндотелиальных и эпителиальных клеток (Theriault et al., 2005). Эти данные привели к гипотезе о существовании на наружной мембране клеток специфических рецепторов для связывания Hsp70. Действительно, в настоящее время обнаружена группа клеточных рецепторов, с которыми связывается внеклеточный Hsp70.

Toll-like рецепторы (TLR), родственные рецептору интерлейкина 1, представляют собой группу рецепторов, узнающих структурные компоненты различных бактерий, вирусов и грибов (Sumbayev, Yasinska, 2006). Связывание TLR с лигандом приводит к активации рецепторов, образованию их комплексов с адапторным белком MyD88 и запуску сигнальных путей клеток, включающих активацию серин-треониновых киназ семейства IRAK, и транскрипционных факторов NF-κB, AP-1, EIK-1, CREB и STAT; кроме того, обнаружена активация MAP-киназного сигнального каскада (Muzio et al., 1998; Akira, Sato, 2003; Vogel et al., 2003; Andreakos et al., 2004; Medvedev et al., 2007).

Исследование проведения сигнала, запускаемого внеклеточным Hsp70, показало, что он активирует TLR2 и TLR4 — рецепторы, узнающие компоненты стенок грамположительных и грамотрицательных бактерий соответственно (Asea et al., 2002; Vabulas et al., 2002; Evdonin et al., 2006b). При этом происходит активация транскрипционного фактора NF-κB и MAP-киназ (Vabulas et al., 2002). Кроме того, показано, что внеклеточный Hsp70 способен повышать концентрацию внеклеточного кальция, что также зависело от активации TLR2/4 (Asea et al., 2000a). Исследование запуска сигнальных каскадов в клетках иммунной системы показало, что наряду с TLR в этом процессе участвует корецептор CD14 (Asea et al., 2000a, 2000b, 2002).

Внеклеточный Hsp70 способен активировать TLR2/4 и NF-κB в моноцитах (Asea et al., 2002), макрофагах, антигенпрезентирующих клетках (Vabulas et al., 2002) и тучных клетках (Mortaz et al., 2006). Действие Hsp70 вызывает активацию TLR2 и TLR4, перекрест сигнальных систем TLR и рецептора ЭФР, трансактивацию рецептора ЭФР и активацию MAP-киназного сигнального каскада в клетках A431 (Evdonin et al., 2006a). Все эти данные получены при исследовании реакции клеток на добавление очищенного препарата белка. Доказательства того, что именно вышедший из клеток Hsp70 обладает сигнальной функцией, получены при изучении влияния теплового шока на сигнальные реакции клеток A431. Обнаружено, что на начальных этапах теплового шока Hsp70 секретируется клетками A431 (Evdonin et al., 2004). Кондиционная среда нагретых клеток (которая содержит Hsp70, секретируемый клетками) запускает сигнальные процессы в контрольных клетках, такие же, как и действие очищенного препарата Hsp70 (Evdonin et др., 2005a, 2005b; Evdonin et al., 2006a). Если из этой среды удалить Hsp70, то сигнальные реакции клеток не обнаруживаются (Evdonin et al., 2006a). Следовательно, Hsp70, секретируемый клетками на начальных этапах теплового шока, играет решающую роль в запуске внутриклеточных сигнальных реакций.

Большое внимание в литературе уделяется вопросу о том, не является ли сигнальная функция внеклеточного Hsp70 результатом загрязнения препаратов белка компонентами бактериальных стенок. Действительно, Hsp70 и компоненты бактериальных стенок узнаются одними и теми же рецепторами — TLR. Кроме того, обнаружено, что Hsp70 способен связывать липополисахарид (ЛПС) — основной компонент стенки грамотрицательных бактерий (Triantafilou et al., 2001, 2004; Triantafilou, Triantafilou, 2004). Было показано, что узнавание ЛПС происходит в липидных рафтах и что Hsp70 колокализуется с ЛПС в рафтах (Triantafilou et al., 2002, 2004; Triantafilou, Triantafilou, 2004). Однако в настоящее время доказано, что сигнальная функция Hsp70 не зависит от ЛПС. В пользу этого свидетельствуют следующие факты: 1) обработка препаратов выделенного Hsp70 полимиксином В — агентом, специфически связывающим ЛПС, не влияла на проведение сигнала, запускаемого Hsp70; 2) денатурация препаратов Hsp70 (нагреванием) полностью подавляла сигнальную функцию Hsp70, тогда как нагревание не влияет на действие ЛПС; 3) действие препаратов Hsp70 приводит к увеличению концентрации ионов внутриклеточного кальция, а действие ЛПС этим свойством не обладает (см. обзоры: Asea, 2003, 2008). Кроме того, обнаружено взаимное влияние Hsp70 и ЛПС при проведении сигнала (Campisi et al., 2003; Aneja et al., 2006).

Помимо TLR Hsp70 способен связываться и со скавенджер-рецепторами. Скавенджер-рецепторы представляют собой группу рецепторов, узнающих химически модифицированные формы липопротеинов, в частности окисленных или ацетилированных липопротеинов низкой плотности (Murphy et al., 2005; Adachi, Tsujimoto, 2006). Связывание этих рецепторов с лигандом ведет к активации транскрипционного фактора NF-κB (Li, Mehta, 2000) и повышению внутриклеточного уровня активных форм кислорода (Li et al., 2003). Было показано, что Hsp70 способен взаимодействовать по крайней мере с тремя представителями семейства скавенджер-рецепторов: LOX-1, SREC-1 и FEEL-1/CLEVER-1 (Delneste et al., 2002; Theriault et al., 2005, 2006). Hsp70 связывается с этими рецепторами и интернализуется (Theriault et al., 2006), однако анализ запускаемых действием Hsp70 сигнальных путей не проводился. Интересно отметить, что связывание АДФ-связанного Hsp70 с этими рецепторами значительно (примерно в 3 раза) сильнее, чем АДФ-связанного (Theriault et al., 2006). Кроме того, Hsp70 способен связывать рецептор α2 макроглобулина CD91 (Basu et al., 2001), также показано связывание Hsp70 с CD40, причем в условиях *in vitro* Hsp70 связывал CD40 в АДФ-связанной форме (Wang et al., 2001; Becker et al., 2002).

Суммируя, можно заключить, что внеклеточный Hsp70 связывается с различными клеточными рецепторами и обладает сигнальной функцией, запуская каскады передачи сигнала в клетках разного типа.

## Заключение

Анализ полученных в последнее время данных показал, что Hsp70 способен выходить из клеток разного типа, используя различные механизмы. Внеклеточный Hsp70 обладает множественными функциями, важнейшая из которых — иммуномодуляторная — подробно изучается. Обнаружена также и сигнальная функция внеклеточного белка, однако эта функция пока изучена недос-

таточно с использованием ограниченного числа клеточных моделей. Между тем попытки создания лекарственных препаратов на основе Hsp70 требуют ответа на многие вопросы, касающиеся функций внеклеточного белка. Важнейшие из них, на наш взгляд, следующие: как будет действовать введенный в организм белок на клетки разного типа, будет ли он стимулировать сигнальные каскады клеток, приводящие к повышенной устойчивости к повреждению, существуют ли механизмы регуляции функции внеклеточного Hsp70, выходят ли во внеклеточную среду белки, которые регулируют его функции?

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-00579), комплексной программы РАН «Молекулярная и клеточная биология» и гранта президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ-1135.2008.4).

### Список литературы

- Гужова И. В., Маргулис Б. А. 2005. Шаперон Hsp70 и перспективы его использования в противоопухолевой терапии. Цитология. 47 (3): 210—227.
- Евдонин А. Л., Цупкин Н. В., Василенко К. П., Медведева Н. Д. 2005а. Активация ЭФР-зависимых сигнальных путей при тепловом шоке в клетках карциномы человека А431. Цитология. 47 (7): 654—661.
- Евдонин А. Л., Цупкина Н. В., Никольский Н. Н., Медведева Н. Д. 2005б. Трансактивация рецептора ЭФР при тепловом шоке в клетках карциномы человека А431. Докл. РАН. 401 (5): 158—159.
- Маргулис Б. А., Гужова И. В. 2000. Белки стресса в эукариотической клетке. Цитология. 42 (4): 323—341.
- Adachi H., Tsujimoto M. 2006. Endothelial scavenger receptors. Prog. Lipid Res. 45: 379—404.
- Akira S., Sato S. 2003. Toll-like receptors and their mechanisms. Scand. J. Infect. Dis. 35: 555—562.
- Alder G. M., Austen B. M., Bashford C. L., Mehlert A., Pasternak C. A. 1990. Heat shock proteins induce pores in membranes. Biosci. Rep. 10: 509—518.
- Amoscato A. A., Prenovitz D. A., Lotze M. T. 1998. Rapid extracellular degradation of synthetic class I peptides by human dendritic cells. J. Immunol. 161: 4023—4032.
- Andreakos E., Foxwell B., Feldmann M. 2004. Is targeting Toll-like receptors and their signalling pathway a useful therapeutic approach to modulating cytokine-driven inflammation? Immunol. Rev. 202: 250—265.
- Aneja R., Odoms K., Dunsmore K., Shanley T. P., Wong H. R. 2006. Extracellular heat shock protein-70 induces endotoxin tolerance in THP-1 cells. J. Immunol. 177: 7184—7192.
- Arispe N., De Maio A. 2000. ATP and ADP modulate a cation channel formed by Hsp70 in acidic phospholipids membranes. J. Biol. Chem. 275: 30 839—30 843.
- Arispe N., Doh M., De Maio A. 2002. Lipid interaction differentiates the constitutive and stress-induced heat shock proteins Hsc70 and Hsp70. Cell Stress Chaperones. 7: 330—338.
- Arispe N., Doh M., Simakova O., Kurganov B., De Maio A. 2004. Hsc70 and Hsp70 interact with phosphatidylserine on the surface of PC12 cells resulting in a decrease of viability. FASEB J. 18: 1636—1645.
- Arnold-Schild D., Hanau D., Spehner D., Schmid C., Rammensee H. G., de la Salle H., Schild H. 1999. Cutting edge: receptor-mediated endocytosis of heat shock proteins by professional antigen-presenting cells. J. Immunol. 162: 3757—3760.
- Asea A. 2003. Chaperokine-induced signal transduction pathways. Exerc. Immunol. Rev. 9: 25—33.
- Asea A. 2008. Heat shock proteins and toll-like receptors. Handb. Exp. Pharmacol. 183: 111—127.
- Asea A., Kabingu E., Stevenson M. A., Calderwood S. K. 2000a. HSP70 peptide-bearing and peptide-negative preparations act as chaperokines. Cell Stress Chaperones. 5: 425—431.
- Asea A., Kraef S. A., Kurt-Jones E. A., Stevenson M. A., Chen L. B., Finberg R. W., Koo G. C., Calderwood S. K. 2000b. Hsp70 stimulated cytokine production through a CD14-dependent pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. Nat. Med. 6: 558—569.
- Asea A., Rehli M., Kabingu E., Boch J. A., Bare O., Auron P. E., Stevenson M. A., Calderwood S. K. 2002. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70. Role of Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. J. Biol. Chem. 277: 15 028—15 034.
- Barreto A., Gonzalez J. M., Kabingu E., Asea A., Fiorentino S. 2003. Stress-induced release of Hsc70 from human tumors. Cell. Immunol. 222: 97—104.
- Basu S., Binder R. J., Ramalingam T., Srivastava P. K. 2001. CD91 is a common receptor for heat shock proteins gp96, hsp90, hsp70, and calreticulin. Immunity. 14: 303—313.
- Basu S., Binder R. J., Suto R., Anderson K. M., Srivastava P. K. 2000. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappa B pathway. Int. Immunol. 11: 1539—1546.
- Basu S., Srivastava P. K. 2000. Heat shock proteins: the fountainhead of innate and adaptive immune responses. Cell Stress Chaperones. 5: 443—451.
- Bausero M. A., Gastpar R., Multhoff G., Asea A. 2005. Alternative mechanism by which IFN-gamma enhances tumor recognition: active release of heat shock protein 72. J. Immunol. 175: 2900—2912.
- Becker T., Hartl F. U., Wieland F. 2002. CD40, an extracellular receptor for binding and uptake of Hsp70-peptide complexes. J. Cell Biol. 158: 1277—1285.
- Bendz H., Ruhland S. C., Pandya M. J., Hainzl O., Riegelsberger S., Braüchle C., Mayer M. P., Buchner J., Issels R. D., Noessner E. 2007. Human heat shock protein 70 enhances tumor antigen presentation through complex formation and intracellular antigen delivery without innate immune signaling. J. Biol. Chem. 282: 31 688—31 702.
- Botzler C., Issels R., Multhoff G. 1996. Heat-shock protein 72 cell-surface expression on human lung carcinoma cells in associated with an increased sensitivity to lysis mediated by adherent natural killer cells. Cancer Immunol. Immunother. 43: 226—230.
- Breloer M., Fleischer B., von Bonin A. 1999. In vivo and in vitro activation of T cells after administration of Ag-negative heat shock proteins. J. Immunol. 162: 3141—3147.
- Broquet A. H., Thomas G., Masliah J., Trugnan G., Bachellet M. 2003. Expression of the molecular chaperone Hsp70 in detergent-resistant microdomains correlates with its membrane delivery and release. J. Biol. Chem. 278: 21 601—21 606.
- Campisi J., Fleshner M. 2003. Role of extracellular HSP72 in acute stress-induced potentiation of innate immunity in active rats. J. Appl. Physiol. 94: 43—52.
- Campisi J., Leem T. H., Fleshner M. 2003. Stress-induced extracellular Hsp72 is a functionally significant danger signal to the immune system. Cell Stress Chaperones. 8: 272—286.
- Chan Y. C., Shukla N., Abdus-Samee M., Berwanger C. S., Stanford J., Singh M., Mansfield A. O., Stansby G. 1999. Anti-heat-shock protein 70 kDa antibodies in vascular patients. Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 18: 381—385.
- Davies E. L., Bacelar M. M., Marshall M. J., Johnson E., Wardle T. D., Andrew S. M., Williams J. H. 2006. Heat shock proteins form part of a danger signal cascade in response to lipopolysaccharide and GroEL. Clin. Exp. Immunol. 145: 183—189.
- Delneste Y., Magistrelli G., Gauchat J., Haewuw J., Aubry J., Nakamura K., Kawakami-Honda N., Goetsch L., Sawamura T., Bonnefoy J., Jeannin P. 2002. Involvement of LOX-1 in dendritic cell-mediated antigen cross-presentation. Immunity. 17: 353—362.
- Dybdahl B., Slørdahl S. A., Waage A., Kierulf P., Espevik T., Sundan A. 2005. Myocardial ischaemia and the inflammatory response: release of heat shock protein 70 after myocardial infarction. Heart. 91: 299—304.

- Dybdahl B., Wahba A., Haaverstad R., Kirkeby-Garstad I., Kirerulff P., Espevik T., Sundan A. 2004. On-pump versus off-pump coronary artery bypass grafting: more heat-shock protein 70 is released after on-pump surgery. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 25 : 985—992.
- Dybdahl B., Wahba A., Lien E., Flo T. H., Waage A., Qureshi N., Sellevold O. F. M., Espevik T., Sundan A. 2002. Inflammatory response after open heart surgery release of heat-shock protein 70 and signaling through Toll-like receptor-4. *Circulation.* 105 : 685—690.
- Evdonin A., Guzhova I., Margulis B., Medvedeva N. 2004. Phospholipase C inhibitor, U73122, stimulates release of HSP70 stress protein from A431 human carcinoma cells. *Cancer Cell Intern.* 4 : 1—7.
- Evdonin A. L., Guzhova I. V., Margulis B. A., Medvedeva N. D. 2006a. Extracellular heat shock protein 70 mediates heat stress-induced epidermal growth factor receptor transactivation in A431 carcinoma cells. *FEBS Lett.* 580 : 6674—6678.
- Evdonin A. L., Martynova M. G., Bystrova O. A., Guzhova I. V., Margulis B. A., Medvedeva N. D. 2006b. The release of Hsp70 from A431 carcinoma cells is mediated by secretory-like granules. *Eur. J. Cell Biol.* 85 : 443—445.
- Fabian T. K., Fejérdy P., Nguyen M. T., Soti C., Csermely P. 2007. Potential immunological functions of salivary Hsp70 in mucosal and periodontal defense mechanisms. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*. 55 : 91—98.
- Fabian T. K., Gaspar J., Fejérdy L., Kaan B., Balint M., Csermely P., Fejérdy P. 2003. Hsp70 is present in human saliva. *Med. Sci. Monit.* 9 : 62—65.
- Fleshner M., Campisi J., Amiri L., Diamond D. M. 2004. Cat exposure induces both intra- and extracellular Hsp72: the role of adrenal hormones. *Psychoneuroendocrinology.* 29 : 1142—1152.
- Gallucci S., Lolkema M., Matzinger P. 1999. Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells. *Nat. Med.* 5 : 1249—1255.
- Ganter M. T., Ware L. B., Howard M., Roux J., Gartland B., Matthay M. A., Fleshner M., Pittet J. F. 2006. Extracellular heat shock protein 72 is a marker of the stress protein response in acute lung injury. *Amer. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 291 : 354—361.
- Gastpar R., Gehrman M., Bausero M. A., Asea A., Gross C., Schroeder J. A., Multhoff G. 2005. Heat shock protein 70 surface-positive tumor exosomes stimulate migratory and cytolytic activity of natural killer cells. *Cancer Res.* 65 : 5238—5247.
- Gastpar R., Gross C., Roszbacher L., Ellwart J., Riegger J., Multhoff G. 2004. The cell surface-localized heat shock protein 70 epitope TKD induces migration and cytolytic activity selectively in human NK cells. *J. Immunol.* 172 : 972—980.
- Gehrman M., Marienhagen J., Eichholtz-Wirth H., Fritz E., Ellwart J., Jaattela M., Zilch T., Multhoff G. 2005. Dual function of membrane-bound heat shock protein 70 (Hsp70), Bag-4, and Hsp40 protection against radiation-induced effects and target structure for natural killer cells. *Cell Death Differ.* 12 : 38—51.
- Georgopoulos C., Welch W. J. 1993. Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones. *Annu. Rev. Cell Biol.* 9 : 601—634.
- Gross C., Koelch W., DeMaio A., Arispe N., Multhoff G. 2003. Cell surface-bound heat shock protein 70 (Hsp70) mediates perforin-independent apoptosis by specific binding and uptake of Granzyme B. *J. Biol. Chem.* 278 : 41 173—41 181.
- Guzhova I., Kislyakova K., Moskaliyova O., Fridlanskaya I., Tytell M., Cheetham M., Margulis B. 2001. *In vitro* studies show that Hsp70 can be released by glia and that exogenous Hsp70 can enhance neuronal stress tolerance. *Brain Res.* 914 : 66—73.
- Guzhova I., Margulis B. 2006. Hsp70 chaperone as a survival factor in cell pathology. *Int. Rev. Cytol.* 254 : 101—149.
- Hantschell M., Pfister K., Jordan A., Scholz R., Andreesen R., Schmitz G., Schmetzer H., Hiddemann W., Multhoff G. 2000. Hsp70 plasma membrane expression on primary tumor biopsy material and bone marrow of leukemic patients. *Cell Stress Chaperones.* 5 : 438—442.
- Harada Y., Sato C., Kitajima K. 2007. Complex formation of 70-kDa heat shock protein with acidic glycolipids and phospholipids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 353 : 655—660.
- Hartl F. U. 1996. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature.* 381 : 571—579.
- Hightower L. E., Guidon P. T., Jr. 1989. Selective release from cultured mammalian cells of heat-shock (stress) proteins that resemble glia-axon transfer proteins. *J. Cell. Physiol.* 138 : 257—266.
- Hunter-Lavin C., Davies E. L., Bacelar M. F. V. G., Marshall M. G., Andrew S. M., Williams J. H. H. 2004. Hsp70 release from peripheral blood mononuclear cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 324 : 511—517.
- Hut H. M., Kampinga H. H., Sibon O. C. 2005. Hsp70 protects mitotic cells against heat-induced centrosome damage and division abnormalities. *Mol. Biol. Cell.* 16 : 3776—3785.
- Jaattela M., Wissing D., Kokholm K., Kallunki T., Egeblad M. 1998. Hsp70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases. *EMBO J.* 17 : 6124—6134.
- Johnson J. D., Fleshner M. 2006. Releasing signals, secretory pathways, and immune function of endogenous extracellular heat shock protein 72. *J. Leukocyte Biol.* 79 : 425—434.
- Kimura F., Itoh H., Ambiru S., Shimizu H., Togawa A., Yoshidome H., Ohtsuka M., Shimamura F., Kato A., Nukui Y., Miyazaki M. 2004. Circulating heat-shock protein 70 is associated with postoperative infection and organ dysfunction after liver resection. *Amer. J. Surg.* 187 : 777—784.
- Lancaster G. I., Febbraio M. A. 2005. Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins. *J. Biol. Chem.* 280 : 23 345—23 355.
- Li D., Mehta J. L. 2000. Upregulation of endothelial receptor for oxidized LDL (LOX-1) by oxidized LDL and implications in apoptosis of human coronary artery endothelial cells: evidence from use of antisense LOX-1 mRNA and chemical inhibitors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20 : 1116—1122.
- Li D., Williams V., Liu L., Chen H., Sawamura T., Romeo F., Mehta J. L. 2003. Expression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptors during ischemia-reperfusion and its role in determination of apoptosis and left ventricular dysfunction. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 41 : 1048—1055.
- Li Z., Menoret A., Srivastava P. 2002. Roles of heat shock proteins in antigen presentation and cross presentation. *Curr. Opin. Immunol.* 14 : 45—51.
- Mambula S. S., Calderwood S. K. 2006. Heat shock protein 70 is secreted from tumor cells by a nonclassical pathway involving lysosomal endosomes. *J. Immunol.* 177 : 7849—7857.
- Mambula S. S., Stevenson M. A., Ogawa K., Calderwood S. K. 2007. Mechanisms for Hsp70 secretion: crossing membranes without a leader. *Methods.* 43 : 168—175.
- Matzinger P. 1998. An innate sense of danger. *Semin. Immunol.* 10 : 399—415.
- Medvedeva A. E., Piao W., Shoenfelt J., Rhee S. H., Chen H., Basu S., Wahl L. M., Fenton M. J., Vogel S. N. 2007. Role of TLR4 tyrosine phosphorylation in signal transduction and endotoxin tolerance. *J. Biol. Chem.* 282 : 16 042—16 053.
- Melling C. W., Thorp D. B., Milne K. J., Krause M. P., Noble E. G. 2007. Exercise-mediated regulation of Hsp70 expression following aerobic exercise training. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293 : 3692—3698.
- Moehler M. H., Zeidler M., Wilsberg V., Cornelis J. J., Woelfel T., Rommelaere J., Galle P. R., Heike M. 2005. Parvovirus H-1-induced tumour cell death enhances human immune response *in vitro* via increased phagocytosis, maturation, and cross-presentation by dendritic cells. *Hum. Gene Ther.* 16 : 996—1005.
- Molvarec A., Rigó J., Nagy B., Walentin S., Szalay J., Füst G., Karádi I., Prohászka Z. 2007. Serum heat shock protein 70 levels are decreased in normal human pregnancy. *J. Reprod. Immunol.* 74 : 163—169.
- Mortaz E., Redegeld F. A., Nijkamp F. P., Wong H. R., Engels F. 2006. Acetylsalicylic acid-induced release of HSP70 from mast cells results in cell activation through TLR pathway. *Exp. Hematol.* 34 : 8—18.

- Multhoff G. 2002. Activation of natural killer cells by heat shock protein 70. *Int. J. Hyperthermia*. 18 : 576—585.
- Multhoff G. 2007. Heat shock protein 70 (Hsp70): membrane location, export and immunological relevance. *Methods*. 43 : 229—237.
- Multhoff G., Botzler C., Jennen L., Schmidt J., Ellwart J., Issels R. 1997. Heat shock protein 72 on tumor cells: a recognition structure for natural killer cells. *J. Immunol*. 158 : 4341—4350.
- Multhoff G., Botzler C., Wiesnet M., Muller E., Meier T., Wilmanns W., Issels R. D. 1995. A stress-inducible 72-kDa heat-shock protein (HSP72) is expressed on the surface of human tumor cells, but not on normal cells. *Int. J. Cancer*. 61 : 272—279.
- Multhoff G., Hightower L. E. 1996. Cell surface expression of heat shock proteins and the immune response. *Cell Stress Chaperones*. 1 : 167—176.
- Multhoff G., Mizzen L., Winchester C. C., Milner C. M., Wenk S., Eissner G., Kampinga H. H., Laumbacher B., Johnson J. 1999. Heat shock protein (Hsp70) stimulates proliferation and cytolytic activity of natural killer cells. *Exp. Hematol*. 27 : 1627—1636.
- Murphy J. E., Tedbury P. R., Homer-Vanniasinkam S., Walker J. H., Ponnambalam S. 2005. Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. *Atherosclerosis*. 182 : 1—15.
- Muzio M., Natoli G., Saccani S., Levrero M., Mantovani A. 1998. The human toll signaling pathway: divergence of nuclear factor kappaB and JNK/SAPK activation upstream of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6). *J. Exp. Med*. 187 : 2097—2101.
- Negulyaev Y. A., Vedernikova E. A., Kinev A. V., Voronin A. P. 1996. Exogenous heat shock protein Hsp70 activates potassium channels in U937 cells. *Biochem. biophys. acta*. 1282 : 156—162.
- Njemini R., Lambert M., Demanet C., Mets T. 2003. Elevated serum heat-shock protein 70 levels in patients with acute infection: use of an optimized enzyme-linked immunosorbent assay. *Scand. J. Immunol*. 58 : 664—669.
- Nollen E. A. A., Morimoto R. I. 2002. Chaperoning signaling pathways: molecular chaperones as stress-sensing «heat shock» proteins. *J. Cell Sci*. 115 : 2809—2816.
- Nylandsted J., Gyrd-Hansen M., Danielewicz A., Fehrenbacher N., Lademann U., Hoyer-Hansen M., Weber E., Multhoff G., Rohde M., Jäättelä M. 2004. Heat shock protein 70 promotes cell survival by inhibiting lysosomal membrane permeabilization. *J. Exp. Med*. 200 : 425—435.
- Ortega E., Giraldo E., Hinchado M. D., Martinez M., Obáñez S., Sidoncha A., Collazos M. E., Garcia J. J. 2006. Role of Hsp72 and norepinephrine in the moderate exercise-induced stimulation of neutrophils' microbicide capacity. *Eur. J. Appl. Physiol*. 98 : 250—255.
- Parmiani G., Testori A., Maio M., Castelli Ch., Rivoltini L., Pilla L., Belii F., Mazzaferro V., Coppa J., Patuzzo R., Sertoli M. R., Hoos A., Srivastava P. K., Santinami M. 2004. Heat shock proteins and their use as anticancer vaccines. *Clin. Cancer Res*. 10 : 8142—8146.
- Pittet J. F., Lee H., Morabito D., Howard M. B., Welch W. J., Mackersie R. C. 2002. Serum levels of Hsp72 measured early after trauma correlate with survival. *J. Trauma*. 52 : 611—617.
- Pockley A. G., De Faire U., Kiessling R., Lemne C., Thulin T., Frostegard J. 2002. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *J. Hypertens*. 20 : 1815—1820.
- Pockley A. G., Georgiades A., Thulin T., De Faire U., Frostegard J. 2003. Serum heat shock protein 70 levels predict the development of atherosclerosis in subjects with established hypertension. *Hypertension*. 42 : 235—238.
- Pockley A. G., Shepherd J., Corton J. M. 1998. Detection of heat shock protein 70 (Hsp70) and anti-Hsp70 antibodies in the serum of normal individuals. *Immunol. Invest*. 27 : 367—377.
- Prohaszka Z., Singh M., Nagy K., Kiss E., Lakos G., Duba J., Fust G. 2002. Heat shock protein 70 is a potent activator of the human complement system. *Cell Stress Chaperones*. 7 : 17—22.
- Radons J., Multhoff G. 2005. Immunostimulatory functions of membrane-bound and exported heat shock protein 70. *Exerc. Immunol. Rev*. 11 : 17—33.
- Raposo G., Nijman H. W., Stoovogel W., Liejendekker R., Harding C. V., Melief C. J., Geuze H. J. 1996. B lymphocyte secreted antigen-presenting vesicles. *J. Exp. Med*. 183 : 1161—1172.
- Reed R. C., Nicchitta C. V. 2000. Chaperone-mediated cross-priming: a hitchhiker's guide to vesicle transport. *Int. J. Mol. Med*. 6 : 259—254.
- Sashchenko L. P., Dukhanina E. A., Yashin D. V., Shatalov Y. V., Romanova E. A., Korobko E. V., Demin A. V., Lukyanova T. I., Kabanova O. D., Khaidukov S. V., Kiselev S. L., Gabibov A. G., Gnuchev N. V., Georgiev G. P. 2004. Peptidoglycan recognition protein Tag7 forms a cytotoxic complex with heat shock protein 70 in solution and in lymphocytes. *J. Biol. Chem*. 279 : 2117—2124.
- Schmitt E., Gehrman M., Brunet M., Multhoff G., Garrido C. 2007. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J. Leucocyte Biol*. 81 : 15—27.
- Sondermann H., Becker T., Mayhew M., Wieland F., Hartl F. U. 2000. Characterization of a receptor for heat shock protein 70 on macrophages and monocytes. *Biol. Chem*. 381 : 1165—1174.
- Srivastava P. 2002. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol*. 3 : 185—194.
- Srivastava P. K., Menoret A., Basu S., Binder R. J., McQuade K. L. 1998. Heat shock proteins come of age: primitive functions acquire new roles in an adaptive world. *Immunity*. 8 : 657—665.
- Sumbayev V. V., Yasinska I. M. 2006. Role of MAP kinase-dependent apoptotic pathway in innate immune responses and viral infection. *Scand. J. Immunol*. 63 : 391—400.
- Theriault J. R., Adachi H., Calderwood S. K. 2006. Role of scavenger receptors in the binding and internalization of heat shock protein 70. *J. Immunol*. 177 : 8604—8611.
- Theriault J. R., Mambula S. S., Sawamura T., Stevenson M. A., Calderwood S. K. 2005. Extracellular HSP70 binding to surface receptors present on antigen presenting cells and endothelia/epithelial cells. *Clin. Exp. Immunol*. 103 : 77—82.
- Todryk S., Melcher A. A., Hardwick N., Linardakis E., Bateman A., Colombo M. P., Stoppacciaro A., Vile R. G. 1999. Heat shock protein 70 induced during tumor cell killing induces Th1 cytokines and targets immature dendritic cell precursors to enhance antigen uptake. *J. Immunol*. 163 : 1398—1408.
- Triantafilou K., Triantafilou M., Ladha S., Mackie A., Derrick R. L., Fernandez N., Cherry R. 2001. Fluorescence recovery after photobleaching reveals that LPS rapidly transfers from CD14 to hsp70 and hsp90 on the cell membrane. *J. Cell Sci*. 114 : 2535—2545.
- Triantafilou M., Branderburg K., Kusumoto Sh., Fukase K., Mackie A., Seydel U., Triantafilou K. 2004. Combinational clustering of receptors following stimulation by bacterial products determines lipopolysaccharide responses. *Biochem. J*. 381 : 527—536.
- Triantafilou M., Miyake K., Golenbock D. T., Triantafilou K. 2002. Mediators of innate immune recognition of bacteria concentrate in lipid rafts and facilitate lipopolysaccharide-induced cell activation. *J. Cell Sci*. 115 : 2603—2611.
- Triantafilou M., Triantafilou K. 2004. Heat-shock protein 70 and heat-shock protein 90 associate with Toll-like receptor 4 in response to bacterial lipopolysaccharide. *Biochem. Soc. Trans*. 32 : 636—639.
- Vabulas R. M., Ahmad-Nejad P., Ghose S., Kirschning C. J., Issels R. D., Wagner H. 2002. Hsp70 as endogenous stimulus of the Toll/Interleukin-1 receptor signal pathway. *J. Biol. Chem*. 277 : 15 107—15 112.
- Vogel S. N., Fitzgerald K. A., Fenton M. J. 2003. TLRs: differential adapter utilization by toll-like receptors mediates TLR-specific patterns of gene expression. *Mol. Interv*. 3 : 466—477.
- Walsh R. C., Koukoulas I., Garnham A., Moseley P. L., Hargreaves M., Febbraio M. A. 2001. Exercise increases serum Hsp72 in humans. *Cell Stress Chaperones*. 6 : 386—393.

Wang M. H., Grossmann M. E., Young C. Y. 2004. Forced expression of heat-shock protein 70 increases the secretion of Hsp70 and provides protection against tumor growth. *Br. J. Cancer.* 90 : 926—931.

Wang Y., Kelly C. C., Karttunen J. T., Whittall T., Lehner P. J., Duncan L., Mac Ary P., Younson J. S., Singh M., Oehlmann W., Cheng G., Bergmeier L., Lehner T. 2001. CD 40 is a cellular receptor mediating mycobacterial heat shock protein 70 stimulation of CC-chemokines. *Immunity.* 15 : 971—983.

Wang Y., Kelly C. C., Singh M., McGowan E. G., Carrara A. S., Bergmeier L. A., Lehner T. 2002. Stimulation of Th1-polarizing cytokines, C-C chemokines, maturation of dendritic cells, and adjuvant function by the peptide binding fragment of heat shock protein 70. *J. Immunol.* 169 : 2422—2429.

Wright B. H., Corton J. M., El-Nahas A. M., Wood R. F., Pockley A. G. 2000. Elevated levels of circulating heat shock protein 70 (Hsp70) in peripheral and renal vascular disease. *Heart Vessels.* 15 : 18—22.

Zitvogel L., Fernandez N., Lozier A., Wolfers J., Regnault A., Raposo G., Amigorena S. 1999. Dendritic cells or their exosomes are effective biotherapies of cancer. *Eur. J. Cancer.* 35 : 36—38.

Zitvogel L., Regnault A., Lozier A., Wolfers J., Flament C., Tenza D., Ricciardi-Castagnoli P., Raposo G., Amigorena S. 1998. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat. Med.* 4 : 594—600.

Поступила 22 IX 2008

## THE EXTRACELLULAR HEAT SHOCK PROTEIN 70 AND ITS FUNCTIONS

A. L. Evdonin,<sup>1</sup> N. D. Medvedeva

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;

<sup>1</sup> e-mail: evdonin@mail.ru.

Various stress factors induce the accumulation of intracellular heat shock proteins, in particular heat shock protein 70 (Hsp70), which is considered as the main component of cellular response to stress. Though initially Hsp70 was thought to be a typical intracellular protein, the strong evidence now exists demonstrating that the Hsp70 exits mammalian cells not only following necrotic cell death but also by a process involving its active release. This review discusses the mechanisms of Hsp70 release and immunomodulatory and signaling functions of extracellular Hsp70.

Key words: heat shock protein 70, immunomodulator, intracellular signaling pathway.