Успехи биологической химии, т. 59, 2019, с. 393–418

ИНТЕРЛЕЙКИН-17: ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ; ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КАЧЕСТВЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ МИШЕНИ

©2019 г. О. С. КОСТАРЕВА, А. Г. ГАБДУЛХАКОВ, И. А. КОЛЯДЕНКО, М. Б. ГАРБЕР, С. В. ТИЩЕНКО

Институт белка РАН, г. Пущино, Московская область

I. Введение. II. Клеточные источники цитокина IL-17. III. Полиморфизм генов IL-17A и IL-17F. IV. Сигнальные пути с участием белков семейства IL-17. V. Регуляция функционирования IL-17A. VI. Структурные исследования цитокина IL-17 и его комплексов. VII. Ингибиторы IL-17A. VIII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Ген интерлейкина-17 (IL-17) впервые был найден в кДНК Т-клеток мыши в 1993 году. Белок вначале был назван цитотоксическим Т-лимфоцит-ассоциированным антигеном 8 (CTLA-8), поскольку его аминокислотная последовательность сильно отличалась от других известных на тот момент цитокинов, но имела высокую гомологию (57%) с открытой рамкой считывания Т-лимфотропного вируса *Herpesvirus saimriri* [1]. В 1995 году в связи с открытием специфического рецептора к этому белку, он был отнесен к классу интерлейкинов [2]. Годом позже было показано, что при ревматоидном артрите IL-17 индуцирует синтез других цитокинов (IL-6 и IL-8) в синовиоцитах [3]. Эти исследования явились началом изучения роли IL-17 при развитии иммуновоспалительных заболеваний.

IL-17 играет ключевую роль в защите организма от внеклеточных бактериальных и грибковых инфекций [4]. Однако чрезмерная продукция этого белка ассоциирована с иммуновоспалительными и аутоиммунными заболеваниями (например, псориаз, псориазный артрит, ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева-Штрюмпелля-Мари, системная красная волчанка) [5]. IL-17 стал важной терапевтической мишенью при лечении различных хронических воспалительных заболеваний человека. Началась интенсивная работа по поиску взаимо-

Адрес для корреспонденции: oskostareva@gmail.com

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №17-74-10156.

действующих с этим белком агентов, в том числе, специфических антител. Первое антитело, специфичное к IL-17 (анти-IL-17), которое используется при лечении псориаза, зарегистрировано в 2015 году.

Семейство интерлейкина 17 включает шесть белков-цитокинов с массой 20–30 кДа, отличающихся по своей функциональной активности: IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (или IL-25) и IL-17F. Все белки семейства на 20—55% являются гомологами IL-17A (наиболее близкий гомолог – IL-17F) и продуцируются одними и теми же типами клеток. Все молекулы несут консервативную С-концевую область, содержащую 4 цистеиновых остатка, формирующих внутримолекулярные дисульфидные связи. Наиболее изученными членами семейства являются IL-17A и IL-17F, которые могут существовать в виде гомодимеров или гетеродимера IL-17A/F [6, 7]. Функции данных белков похожи, однако, IL-17A более активен, чем IL-17F, а гетеродимер обладает промежуточной активностью [8]. Роль IL-17B, IL-17C и IL-17D в качестве цитокинов не вполне ясна. IL-17E обладает самой низкой гомологией с белками семейства IL-17 и вовлечен в ответ Th2 клеток (Т-хелперные лимфоциты) на развитие аллергии и паразитарных заболеваний [7].

II. КЛЕТОЧНЫЕ ИСТОЧНИКИ ЦИТОКИНА IL-17

Известно, что, в зависимости от набора секретируемых цитокинов, факторов транскрипции и путей передачи сигналов, эффекторные CD4+ Т-хелперные лимфоциты подразделяются на Th1, Th2, Th3 и Th17-субпопуляции. Основным источником белков семейства IL-17 являются Th17 клетки, которые впервые описаны в 2005 году. Эта субпопуляция уникальна, поскольку путь ее развития отличается от путей дифференцировки Th1 и Th2 клеток. Наивные (т.е. не имевшие контакта с антигеном) $CD4^+$ Т клетки трансформируются в Th17 в ответ на стимуляцию цитокинами IL-1b, IL-6, TGF-β (трансформирующий фактор роста β) и IL-21 [9, 10]. На этой стадии они экспрессируют IL-17 и рецептор к IL-23, который необходим при окончательной дифференцировке клеток [11, 12]. Известно, что основным транскрипционным фактором Th17 клеток является RORγt (retinoid orphan nuclear receptor) [13].

Th17 клетки продуцируют IL-17, IL-21, IL-22, а также фактор, стимулирующий рост колоний гранулоцитарных макрофагов (GM-CSF) [14, 15]. Th17 клетки индуцируют процессы местного воспаления и аутоиммунитет. Они связаны с опухолями, аутоиммунными и воспалительными заболеваниями, важны для защиты хозяина от внеклеточных бактерий и играют ключевую роль в активации нейтрофилов.

Позднее было показано, что другие популяции клеток также являются важными источниками IL-17A и IL-17F. Эти популяции включают $CD8^-$ цитотоксические клетки [16, 17] и врожденные тканеспецифические клетки, которые быстро активируются при травме или проникновении патогенов. Среди этих врожденных субпопуляций присутствуют γσ Т клетки (включающие Vg4+ и Vg6+ клетки [18], врожденные лимфоидные клетки (ILCs, особенно субпопуляция ILC3)) [19], «натуральные» $CD4^-$ Th17 клетки [20], и клетки-натуральные киллеры [21]. Все продуцирующие интерлейкин-17 клетки имеют общую зависимость от IL-23 и от транскрипционного фактора RORγt, а также экспрессируют хемокиновый рецептор CCR6 [18].

Предполагается, что миелоидные клетки, включая макрофаги, нейтрофилы и тучные клетки, также способны экспрессировать IL-17 [22, 18, 23]. Тем не менее, результаты этих исследований остаются спорными, поскольку, во-первых, в этих клетках детектируется довольно низкий уровень IL-17, а, во-вторых, сами клетки способны к фагоцитозу. Так, недавно показано, что тучные клетки могут поглощать IL-17 из внеклеточного пространства через рецептор-опосредованный эндоцитоз и впоследствии выбрасывать его для стимуляции воспаления [24]. Предположительно, нейтрофилы аналогичным образом высвобождают IL-17 через внеклеточные ловушки [25].

III. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ IL-17A И IL-17F

Полиморфизм генов IL-17A и IL-17F активно исследуется в настоящее время. Актуальность таких работ обусловлена требованиями современной персонализированной медицины. Ведется поиск мутаций (генетических маркеров), связанных с предрасположенностью человека к тому или иному заболеванию, а также выясняются возможные причины неэффективности в ряде случаев антицитокиновой терапии.

К настоящему времени найдено около полусотни вариантов полиморфизма одиночных нуклеотидов в генах IL-17A и IL-17F, однако, лишь в некоторых случаях исследован результат такой замены. Рассмотрим некоторые из изученных вариантов полиморфизма генов, кодирующих IL-17A (IL-17F).

Большей частью замены расположены в некодирующих областях генов цитокинов. В минорных аллелях rs2275913 (G/A) и rs3819024 (A/G) вариации расположены в 5'-нетранслируемой области гена IL-17A и могут быть связаны с пониженным риском развития ревматоидного артрита [73]. В аллели rs22759133 нуклеотид G в положении -197 находится в промоторной области гена IL-17A

вблизи мотивов, связывающихся с двумя ядерными факторами активированных Т-клеток. Этот участок нужен для экспрессии гена IL-17A, показано, что замена G в этом положении на A приводит к повышенной продукции цитокина. Такая мутация в гене IL-17A является достоверным маркером деструкции костной ткани у пациентов с ювенильным ревматоидным артритом [74].

Одним из факторов риска развития ювенильного ревматоидного артрита является также аллель rs763780 гена IL-17F, при наличии которой синтезируется белок с заменой гистидинового остатка в положении 161 на аргининовый [74]. По данным других исследователей, IL-17F с данной заменой не способен активировать сигнальный путь MAPK, блокируя индукцию синтеза IL-8. Показано также, что у людей, гомозиготных по данной аллели, снижен риск развития астмы [75].

К настоящему времени имеется очень много часто противоречащих друг другу данных о полиморфизме генов цитокинов. Так, имеются данные о том, что в популяциях людей, проживающих в разных странах, одни и те же мутации могут приводить к разным последствиям. Например, показано, что полиморфизм нуклеотидов в аллели rs2275913 может быть сопряжен с риском развития ревматоидного артрита в Мексике [76], однако, в Польше такой корреляции не обнаружено [77]. Статистическая обработка пятнадцати различных исследований показала, что полиморфизм нуклеотидов в данном положении может быть сопряжен с пониженным риском развития ревматоидного артрита [73]. К настоящему времени совершенно непонятно, в чем причина таких противоречивых сведений, и какую роль играют различия в популяциях людей разных стран или размер выборки пациентов в каждом конкретном случае.

IV. СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ С УЧАСТИЕМ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА IL-17

Рецепторы для белков семейства IL-17 экспрессируются многими клетками — эпителиальными, фибробластами, клетками иммунной системы, в частности, нейтрофилами. Основным результатом взаимодействия IL-17 с рецептором является, как и в случае других провоспалительных цитокинов, индукция канонического транскрипционного ядерного фактора kβ (NF-kβ), контролирующего экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла, а также экспрессия многочисленных NF-kβ-зависимых генов.

Все белки семейства IL-17 взаимодействуют со специфическими рецепторами семейства IL-17R [2]. Это семейство трансмембранных структурно консервативных рецепторов включает 5 белков, IL-17R

(A–E) [26]. Структурно эти белки состоят из двух внеклеточных фибронектин II-подобных доменов и внутриклеточного SEFIR домена [27].

Рецептор функционирует в виде гетеродимера, состоящего из IL–17RA, и второй молекулы, определяющей лиганд, который связывается с рецептором. Второй молекулой могут быть: IL-17RC – для взаимодействия с IL-17A и IL-17F [28], IL-17RB – для взаимодействия с IL-17E [29], и IL-17RE – для взаимодействия с IL-17C [30]. IL-17B взаимодействует с IL-17RB, хотя и с меньшей аффинностью, чем IL-17E [31], кроме того, обсуждается возможность взаимодействия IL-17B с IL-17RA для передачи сигнала. Рецептор для IL-17D пока не обнаружен [32].

Цитокины IL-17A и IL-17F изучены наиболее детально, их функции похожи, причем, IL-17A обладает большей активностью. В рамках данного обзора, в основном, будут рассмотрены функциональные и структурные особенности белка IL-17A.

Взаимодействие рецептора с IL-17A провоцирует такие конформационные изменения рецептора, которые позволяют ему формировать контакты между SEFIR доменом рецептора и сигнальным белком-адаптером Act1 [33]. Act1, также известный как CIKS (Connection to IKK), необходим для всех известных сигнальный путей IL-17. Рассмотрим два известных к настоящему времени сигнальных пути с участием IL-17: 1) канонический и 2) неканонический (рис. 1).

Канонический сигнальный путь активирует транскрипцию IL-17A-целевых генов, которые играют ключевые роли при воспалении и защите организма от инфекций. В частности, по данному сигнальному пути IL-17A индуцирует продукцию IL-6 и IL-8 в синовиальных фибробластах при ревматоидном артрите [34].

В основе канонического пути лежит E3-лигазная активность Act1, которая опосредует убиквитинирование по Lys63 TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6) [35]. Эта модификация TRAF6 приводит к активации транскрипционного фактора NF-kβ и путей митоген-активированной белковой киназы (MAPK), которые включают внеклеточную сигнал-регулируемую киназу (ERK), p38, c-Jun аминоконцевую киназу (JNK), также как и путь CCAAT-энхансер-связывающих белков (C/EBPs) [2, 36]. Все вышеперечисленные белки являются транскрипционными факторами.

Одним из IL-17A-целевых генов является ген липокалина 2 [37]. Липокалин 2 – маленький секретируемый белок, изначально идентифицированный как белок острой фазы воспаления в тканях печени, индуцируемый фактором некроза опухолей α (TNFα). Его роль заключается в защите организма от бактериальных инфекций. Поскольку большинство патогенных организмов для выживания нуж-

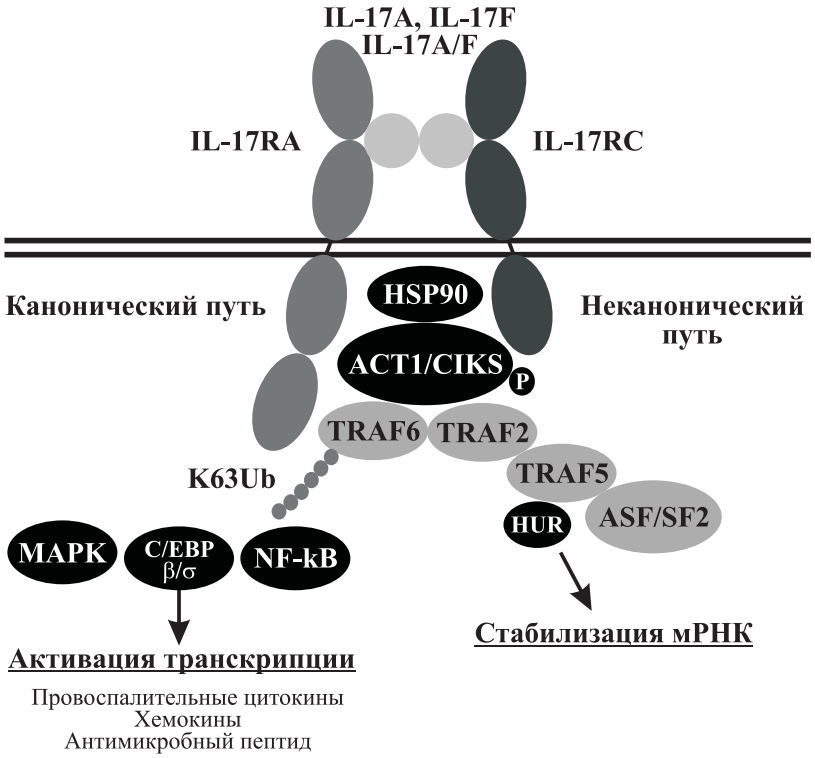

Рис.1. Сигнальные пути IL-17-IL-17RA/RC. Рисунок взят из статьи [32] и адаптирован.

даются в железе, важным механизмом защиты млекопитающих от инфекций является предотвращение доступа бактерий к свободному железу. Липокалин 2 связывается с сидерофорами (соединения, переводящие железо в растворимую форму) катехолатного типа и блокирует получение железа определенными типами бактерий, например, такими как *E. coli* [38]. IL-17A активирует транскрипцию гена липокалина 2.

Известно, что IL-17A часто действует совместно с TNFα. Синергетическое действие IL-17A и TNFα приводит к повышению уровня синтеза белка Shnurri 3 (Shn3). У мышей, лишенных гена белка Shn3, наблюдается увеличение костной массы за счет активации остеобластов и снижения количества остеокластов [39]. При повышении уровня Shn3 при ревматоидном артрите и анкилозирующем спондилоартрите кости разрушаются [40].

Второй, **неканонический путь** (рис.1), **приводит к стабилизации уже транскрибированных мРНК,** в частности тех, которые кодируют нестабильные в обычных условиях белки, такие как цитокины и хемокины. Этот путь зависит от Iκβ киназы (IKKi) и TBK1-опосредованного фосфорилирования белка Act1 [41, 42]. Белки TRAF2 и TRAF5 взаимодействуют с комплексом IL-17 с рецептором, что приводит к связыванию с ним молекул, контролирующих оборот мРНК [43]. В частности, TRAF2 и TRAF5 могут изолировать РНК-дестабилизирующий фактор ASF/SF2 и рекрутировать мРНК-стабилизирующий фактор HuR, увеличивающий время полужизни различных мРНК [43, 44]. Кроме того, Act1 взаимодействует с Hsp90, что в свою очередь приводит к активации IL-17 [45].

Известно, что мРНК многих хемокинов и цитокинов нестабильна из-за наличия UA-богатых последовательностей в 3'-нетранслируемой области [46, 47]. Нестабильность данных мРНК является важным механизмом для подавления экспрессии кодирующих их генов при отсутствии воспалительных процессов. При наличии воспаления необходимо увеличить время полужизни таких мРНК. Синергетический эффект TNFα и IL-17 на мРНК детально изучен на примере мРНК хемокина CXCL1 [48]. Показано, что TNFα стимулирует инициацию транскрипции мРНК, а IL-17 стабилизирует уже синтезированную мРНК. Авторами были также найдены еще 12 генов с таким же механизмом регуляции их экспрессии.

В целом, события, связанные с IL-17 как на посттранскрипционном, так и на посттрансляционном уровнях, усиливают продукцию генов цитокинов и хемокинов, антимикробных пептидов, белков острой фазы заболеваний и других провоспалительных эффекторов [6]. Кроме этого, существуют отдельные, ткане-специфичные гены, контролируемые IL-17 [49] (рис. 2). Например, IL-17 регулирует экспрессию нескольких генов белков, находящихся, в основном, в кишечном эпителии, таких как *ocln* (окклюдин), *reg3g* (регенерирующий островковый белок 3γ), *muc1* (муцин), которые нужны для поддержания целостности кишечного барьера. В клетках-натуральных киллерах IL-17 индуцирует экспрессию гена *csf2* (фактор, стимулирующий рост колоний гранулоцитарных макрофагов) [50]. В клетках почечного эпителия IL-17 стимулирует экспрессию гена *klk1*, кодирующего белок калликреин 1, который играет важную роль в защите организма от рассеянного кандидоза [51]. Известна также регуляция IL-17 экспрессии генов гистатинов в слюнных железах для защиты от *Candida albicans* [52].

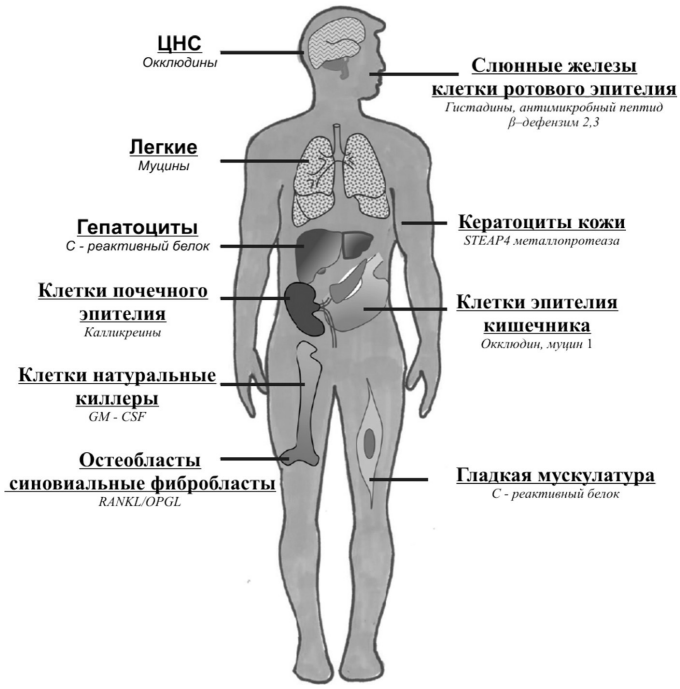

Рис.2. Ткане-специфические белки, синтез которых регулируется цитокином IL-17, и их локализация в организме человека.

V. РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ IL-17A

Наиболее изученным представителем семейства IL-17 является цитокин IL-17A. Этот цитокин играет центральную роль в воспалительных процессах, поэтому регуляция его функционирования имеет огромное значение для организма. Известны многочисленные механизмы сигнальных путей такой регуляции, предположительно, нейтрализующие побочные эффекты воспаления. Ниже приведено несколько примеров таких механизмов.

Известно, что белки TRAF3 и TRAF4 могут нарушать канонический сигнальный путь IL-17A на ранней стадии, конкурируя с Act1 или TRAF6 за связывание с IL-17RA [54. 55].

Активации NF-kβ и MAPK может препятствовать деубиквитиназа A20, которая удаляет убиквитин с белка TRAF6. Поскольку синтез деубиквитиназы A20 индуцируется белком IL-17A, она является регулятором канонического сигнального пути IL-17A по принципу обратной связи [56]. Похожим образом деубиквитиназа USP25 дейст-

вует на белки TRAF5 и TRAF6, также ингибируя сигнальные пути IL-17A [57].

РНК-связывающие белки рокины совместно с эндорибонуклеазой MCPIP1 способны снижать уровень экспрессии IL-17A. Рокины связываются с мРНК генов *Il6, Nfkbiz, Il17ra* и *Il17rc,* которые кодируют белки, важные для синтеза IL-17A [58, 59, 60], а эндорибонуклеаза MCPIP1 может расщеплять эти мРНК [61].

Некоторые микроРНК также способны регулировать сигнальные пути IL-17A. Например, miR-30a индуцирует деградацию мРНК, которая кодирует белок Act1, предотвращая тем самым активацию сигнальных путей NF-kβ и MAPK [62].

VI. СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИТОКИНОВ IL-17 И ИХ КОМПЛЕКСОВ

Первой была определена в 2001 году кристаллическая структура IL-17F с разрешением 2.85 Å [63]. В таблице приведены все известные к настоящему времени структуры IL-17A, IL-17F и их гетерокомплексов.

ДИМЕР IL-17

Цитокины семейства IL-17 существуют в виде гомо-или гетеродимеров. Два мономера формируют димер, состоящий из параллельно расположенных мономеров. Структура мономера представляет собой два антипараллельных β-листа, содержащих β-тяжи β1–β2 и β3–β4 (рис. 3). Между собой β-листы стабилизированы дисульфидными связями. В С-концевой области белка два консервативных цистеина формируют внутримолекулярную дисульфидную связь. В N-концевой области дисульфидная связь видна лишь в структуре изолированного гомодимера IL-17F [63]. Общая структура имеет укладку «цистеиновый узел» [71], который формируют 4 цистеиновых и 2 сериновых остатка. Димеризация мономеров схожа с димеризацией нейротрофических факторов [72].

Анализ структур гомодимеров IL-17A, IL-17F и гетеродимера IL-17A/F показал, что они очень похожи (среднеквадратичное отклонение атомов (rmsd) главной цепи составляет около 1Å). Структурно-вариабельные области белков находятся в участках с низкой гомологией аминокислотных последовательностей, в основном, в N-концевой области белка. На данном участке формируется тяж β0, который, согласно биохимическим данным, важен для стабилизации молекулы [65], а также гибкая перетяжка между β0 и основным β-листом. Эта область вовлечена в формирование межмолекулярного интерфейса при образовании гетеродимера [70].

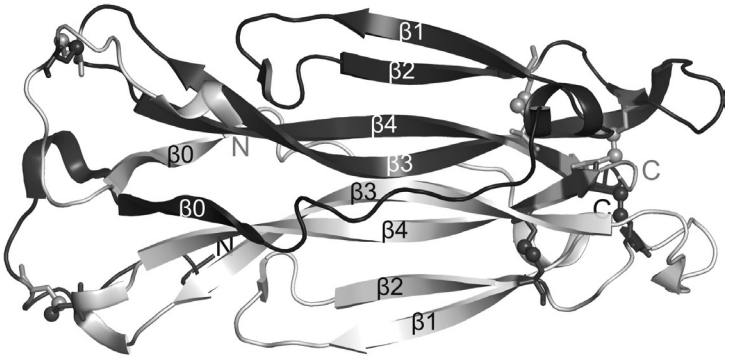

Рис.3. Пространственная структура гомодимера IL-17F в свободном состоянии (PDB код 1JPY).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДИМЕРОВ IL-17 С РЕЦЕПТОРОМ

Пять рецепторов семейства IL-17R не имеют гомологии с другими известными рецепторами и значительно отличаются по аминокислотной последовательности. Тем не менее, все они состоят из двух внеклеточных фибронектин-подобных доменов III типа (D1 и D2) и цитоплазматического SEFIR домена (Similar Expression to FIbRoblast growth factor) [27]. IL-17 взаимодействует лишь с фибронектин-подобными доменами, поэтому определены 3 комплекса рецептора, содержащего D1, D2 домены IL-17RA, и гомо-(A и F) (PDB коды 4HSA (рис. 4) и 3JVF, соответственно) и гетеродимер (A/F) IL-17 (PDB код 5NAN) (таблица). Комплексы состоят из димера IL-17 и одной молекулы рецептора.

Область межмолекулярного взаимодействия во всех трех случаях очень похожа и включает 3 участка (рис.4), в формировании которых участвуют оба мономера IL-17. Участок 1 сформирован N-концевой областью IL-17A(F) и доменом D1 IL-17RA. Конформация гомодимеров в комплексе на данном участке имеет значительные отличия от структуры IL-17A(F) в свободном состоянии.

Участок 2 образован центральной частью β-листов димера IL-17A(F) и доменом D1 IL-17RA. В свободном состоянии данный участок в гомодимерах IL-17A, IL-17F и гетеродимере прикрыт гибкой перетяжкой между β0 и основным β-листом. Образование комплекса приводит к существенному смещению данной перетяжки за счет взаимодействия с доменом D2 IL-17RA.

Участок 3 включает С-концевую область IL-17 с гибкой перетяжкой между β0 и основным β-листом и домен D2 IL-17RA.

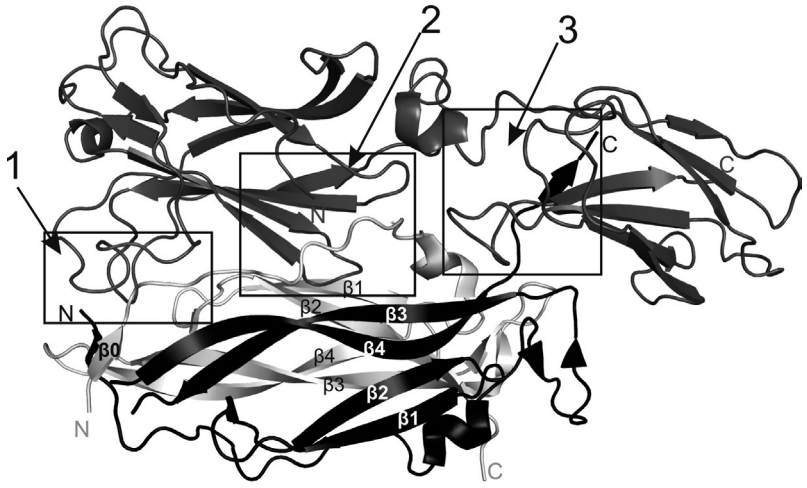

Рис.4. Кристаллическая структура комплекса гомодимера IL-17A с рецептором IL-17RA (PDB код 4HSA).

Цепь A IL-17A окрашена светло серым цветом, цепь B – черным, рецептор IL-17RA – серым. Квадратами выделены участки взаимодействия 1, 2 и 3.

Сродство димеров IL-17 к рецептору отличается. Аффинность IL-17A к IL-17RA самая высокая (K_D = 0.7 нМ), сродство гетеродимера ниже (K_D = 17.5 нМ), гомодимер IL-17F взаимодействует с рецептором еще слабее (K_D = 136.0 нМ) [70].

Сравнительный структурный анализ позволил объяснить различия в сродстве белков. Несмотря на высокую гомологию IL-17A и IL-17F, в области контакта с рецептором найдено тринадцать отличающихся аминокислотных остатков [65]. Гомодимер IL-17A в участках взаимодействия 2 и 3 формирует более плотный контакт с рецептором, чем IL-17F. В случае гетеродимера при взаимодействии с рецептором формируется промежуточное взаимодействие [70].

Известно, что гомодимер IL-17 может координировать два различных рецептора IL-17RA и IL-17RC [65, 70]. Анализ структуры комплекса IL-17RA с димером IL-17F показал возможность образования потенциального второго рецептор-связывающего интерфейса [69]. Однако, поскольку структура комплекса IL-17 с IL-17RC не определена, детали данного взаимодействия пока неизвестны.

Таблица. **Кристаллические структуры IL-17A, IL-17F и их гетерокомплексов**

Белок/комплекс	Разрешение, Å	PDB code	Ссылка
IL-17A			
IL-17A/ Fab CAT 2200	2.63	2VXS	[64]
IL-17A	2.48	4HR9	[65]
IL7A/ IL-17RA	3.15	4HSA	[65]
IL-17A/Fab 6785	2.2	4QHU	нет публикации
IL-17A (укороченная и полная версия белка)/ Fab CAT 2200/ ингибитор (пептид HAP)	2.2, 3.0	5HHV, 5HHX	[66]
IL-17A/ HAP/Fab CAT 2200/ ингибитор (соединения 1, 2, 3)	2.15, 1.8, 1.8	5HI3, 5HI4, 5HI5	[67]
IL-17A/ ингибитор (пептид 18-902)	1.7	5VB9	[68]
IL-17F			
IL-17F	2.85	1JPY	[63]
IL-17F- IL-17RA	3.3	3JVF	[69]
IL-17A/F			
IL-17A/F	2.3	5N92	[70]
IL-17A/F- IL-17 RA	3.3	5NAN	[70]

КОМПЛЕКСЫ IL-17A С ИНГИБИТОРАМИ

IL-17 является важной терапевтической мишенью при лечении ревматоидного артрита, псориаза и других болезней. В настоящее время разработано множество ингибиторов его взаимодействия с рецептором. Для поиска молекулярных основ ингибирования этого цитокина определяются кристаллические структуры его комплексов с различными ингибиторами. Получены структуры комплекса IL-17A с Fab-фрагментом нейтрализующего антитела CAT 2200 [64] и тройственный комплекс с добавлением пептида-ингибитора HAP (High Affinity Peptide) [66].

Комплекс антитела CAT 2200 с IL-17A включает димер IL-17A, с которым взаимодействуют 2 молекулы Fab-фрагмента антитела

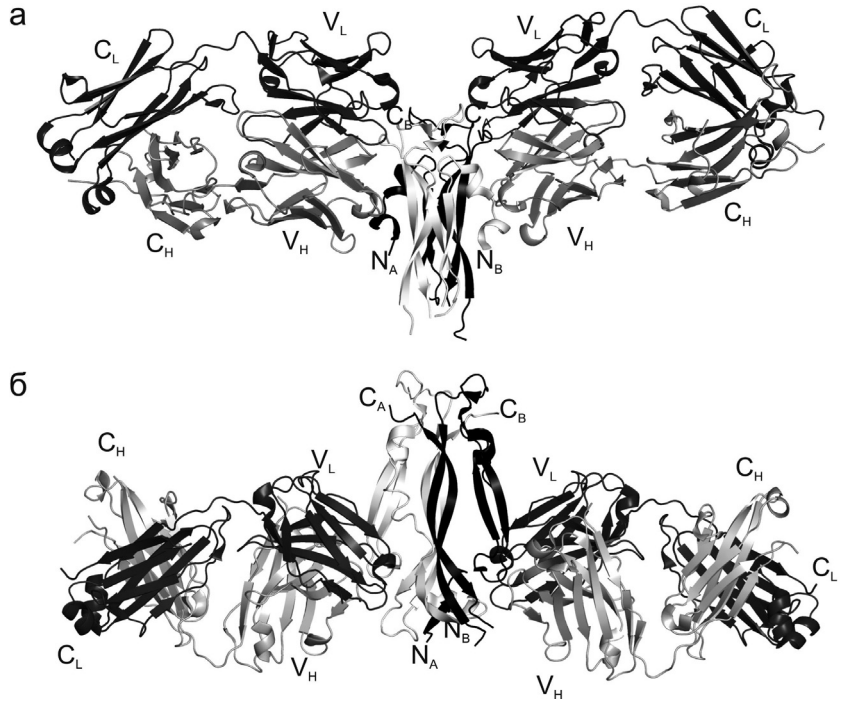

Рис.5. Структура комплексов IL-17A.

(а) IL-17A/Fab-фрагмент антитела CAT 2200.

(б) IL-17A/Fab-фрагмент антитела 6785.

Черным и светло-серым цветом показаны мономеры IL-17A, темно-серым и серым – легкие (L) и тяжелые (H) цепи антитела, соответственно.

(рис. 5а). Сродство IL-17A к антителу (K_D= 2.1 нМ) сравнимо с его сродством к рецептору IL-17RA (K_D= 0.7 нМ). Площадь контакта IL-17A с каждой молекулой антитела невелика (в 3 раза меньше, чем с рецептором) и включает 12 аминокислотных остатков со стороны IL-17A (эпитоп) и 16 аминокислотных остатков антитела (паратоп). В эпитоп-паратоп взаимодействие вовлечены CDR (Complementarity Determining Regions) области тяжелой и лёгкой цепей антитела и аминокислотные остатки обоих мономеров IL-17A. N-концевая часть IL-17A не видна на картах электронной плотности данного комплекса и, по-видимому, не вовлечена во взаимодействие с антителом. С антителом взаимодействуют участки 2 и 3 IL-17A/F, также контактирующие с рецепторами (рис.4), N-концевая часть белка (участок 1) в образовании комплекса, по всей видимости, не участвует, и поэтому не упорядочена. Предположительно ингибирующий эффект антитела

заключается в деформации рецептор-связывающих участков цитокина. Сродство антитела CAT 2200 к IL-17F на три порядка ниже, чем к IL-17A. В IL-17F из 12 аминокислотных остатков паратопа пять остатков отличаются от IL-17A, что может объяснить пониженное сродство цитокина к антителу.

В базе данных белковых структур представлена также структура IL-17A в комплексе с Fab-фрагментом антитела 6785 (PDB код 4QHU). В отличие от комплекса цитокина с Fab-фрагментом антитела CAT 2200, область белок–белкового контакта смещена в N-концевую область IL-17A (рис. 5б) и частично перекрывается с участком, соответствующим области 1 в комплексе IL-17A с рецептором IL-17RA. Кроме того, во взаимодействии участвует преимущественно легкая цепь антитела, а не тяжелая, как в комплексе IL-17A/CAT 2200. К сожалению, поскольку данная работа не опубликована, информация об эффективности связывания данного антитела с цитокином отсутствует.

В рамках поиска ингибиторов взаимодействия IL-17A с рецептором были синтезированы различные пептиды длиной 15 аминокислотных остатков и проведен анализ их эффективности методом фагового дисплея. Найден самый эффективный ($К_D$= 2.6 нМ) пептид-ингибитор (HAP) и определены структуры этого пептида в комплексе с IL-17A (как полноразмерным (PDB код 5HHX), так и лишённым N-концевого неупорядоченного пептида (PDB код 5HHV) и с Fab-фрагментом антитела CAT 2200 [66]).

Структурный анализ показал, что с димером IL-17A симметрично взаимодействуют два пептида. N-концевая часть HAP формирует β-тяж, который входит между двумя мономерами IL-17A, а α-спираль С-концевой части блокирует участок 1, взаимодействующий с рецептором (рис. 6а). Несмотря на маленькую площадь контакта, данное взаимодействие полностью нейтрализует связывание IL-17A с рецептором.

Комбинированное применение методов кристаллографии, фагового дисплея, водородно-дейтериевого обмена и функциональных исследований позволило найти другие пептиды-ингибиторы [68], блокирующие взаимодействие между IL-17A и рецептором. В отличие от определённой ранее структуры IL-17A/HAP/ Fab-фрагмент антитела [66], авторам удалось закристаллизовать и определить структуру комплекса цитокина с пептидом без фрагмента антитела (рис. 6б). Две области связывания рецептора IL-17RA на IL-17A, так называемые, «α-спиральный» и «β-шпилечный» карманы, формируют два участка взаимодействия (участки 1 и 2 на рис. 4). Показано, что два различных пептида могут связываться в разных участках на молекуле IL-17A. Так, пептид в структуре комплекса

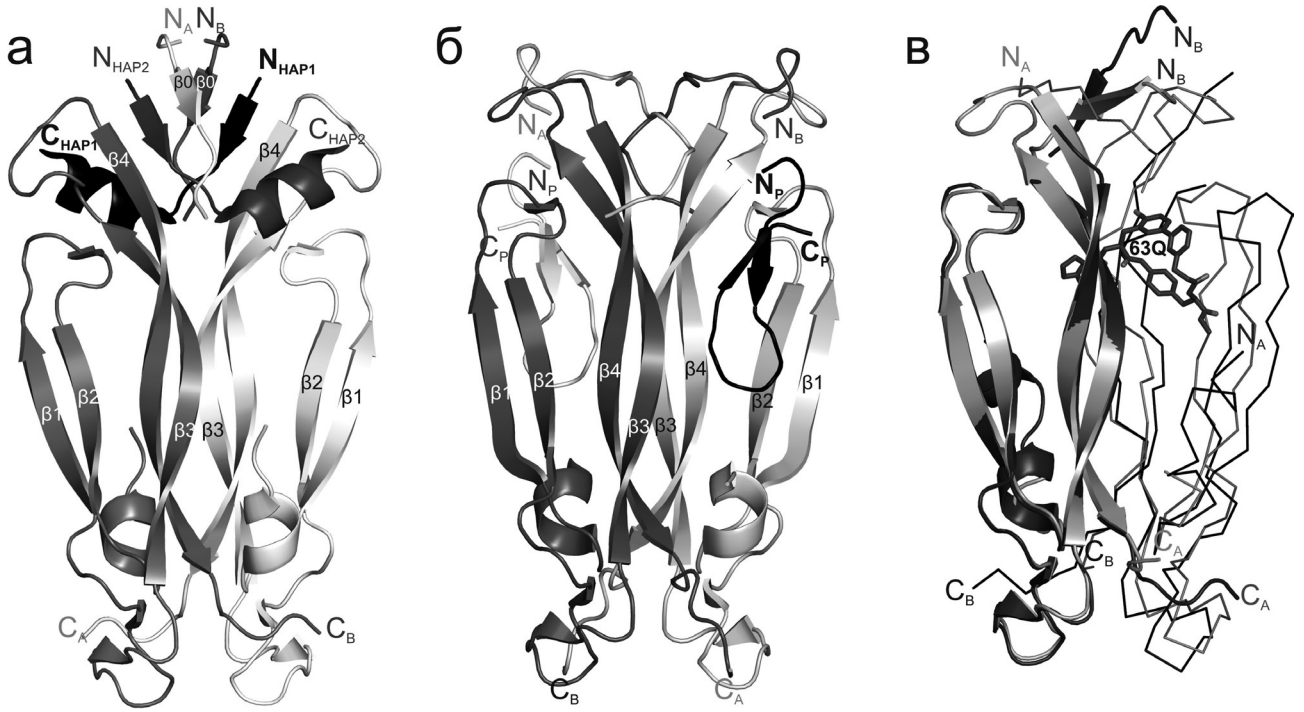

Рис. 6. (а) Фрагмент структуры комплекса IL-17A с HAP и Fab-фрагментом антитела CAT 2200 (Fab не показан). Молекулы в димере IL-17A обозначены как A и B. (б) Структура IL-17A в комплексе с пептидом 18-902 (обозначен как P). (в) Наложение фрагмента структуры комплекса IL-17A с макроциклическим лигандом 63Q (PDB код 5HI5) на структуру цитокина в свободном состоянии (PDB код 4HR9).

Мономеры цитокина показаны различными оттенками серого цвета.

находится в «β-шпилечном» кармане цитокина, другой пептид, как показано методом водородно-дейтериевого обмена, взаимодействует с «α-спиральным» участком белка. Таким образом, связывание с пептидом затрудняет взаимодействие цитокина с рецептором. Полученные пептиды [68] являлись высокоспецифичными к IL-17A и не проявляли активности по отношению к другим цитокинам семейства IL-17.

Известно, что оба участка связывания рецептора на цитокине способны взаимодействовать также с малыми и циклическими молекулами. Кристаллическая структура IL-17A с макроциклическим лигандом от компании Pfizer, Fab-фрагментом антитела и HAP пептидом [67] показала, что область центральной полости между димерами цитокина в комплексе расширена (рис. 6в). Центральное фенольное кольцо соединения формирует гидрофобные взаимодействия с лейциновыми остатками двух молекул димера, способствуя формированию канала между мономерами и переходу цитокина в «открытую» конформацию. В молекуле IL-17F на месте лейцина располагается гидрофильный остаток треонина, что может объяснить специфичность действия лиганда против IL-17A.

VII. ИНГИБИТОРЫ IL-17A(F)

Для нейтрализации IL-17A(F) или рецептора IL-17RA при лечении таких болезней, как псориаз, ревматоидный артрит, спондилоартрит, ювенильный ревматоидный артрит, системная красная волчанка и даже астма, разрабатываются многочисленные ингибиторы. Чаще всего используются моноклональные антитела. Применению ингибиторов IL-17A в клинических исследованиях посвящено множество обзоров (например, [78–80]). При вводе «IL-17A» в качестве предмета клинических исследований на ресурсе https://clinicaltrials.gov, содержащем наиболее полную базу данных о клинических испытаниях лекарств, сообщается о более 100 находящихся на разных стадиях работах, где IL-17A используется в качестве мишени. В этой главе будут рассмотрены лишь соединения, используемые в качестве ингибиторов IL-17A, а также новые подходы для их разработки.

Секукинумаб (от компании Novartis) – первый терапевтический препарат на основе моноклонального антитела, специфичного к IL-17A, зарегистрирован для лечения псориаза в 2015 г. [81]. Годом позже зарегистрирован препарат икзекинумаб (от компании Eli Lilly) [82], также представляющий собой гуманизированное моноклональное антитело, специфичное к IL-17A. В 2017 году одобрено применение бродалумаба (от компании AstraZeneca) – антитела, специфического к рецептору IL-17RA[83]. На заключительной третьей стадии кли-

нических испытаний находится антитело BCD-085 (от российской компании БИОКАД) [84], специфичное к IL-17A.

Помимо классических антител, для нейтрализации IL-17A могут применяться также наноантитела (основанные на монодоменных антителах из *Lama glama*), например, разработанный компаниями Merck и Ablynx anti-IL17A/F MSB0010841(ALX-0761/M1095) [85]. Их преимущество по сравнению с классическими антителами обусловлено их малым размером и удлинёнными вариабельными петлями. Наноантитела обладают высоким сродством к мишени и могут узнавать недоступные для классических антител эпитопы.

В последнее время все более популярным направлением является получение биспецифических и триспецифических антител к IL-17A/F и TNFα. Такой комбинированный подход показывает лучшие результаты, чем использование моноспецифических антител. К настоящему времени известны биспецифическое антитело адалимумаб (ABT-122) против TNFα и IL-17A от компании AbbVie, биспецифическое наноантитело ALX-0761/M1095, нейтрализующее IL-17A и IL-17F, гуманизированные моноклональные антитела бимекизумаб (UCB Biopharma) и NI-1401 (Novoimmune/Genenteck), ингибирующие IL-17A и IL-17F, а также биспецифическое антитело против IL-17A и IL-1β [86]. Для получения таких антител используются различные подходы [80] (рис. 7). ABT-122 представляет собой, так называемый, Crossmab, в котором разные Fab-фрагменты антитела обладают специфичностью к разным белкам [87]. ABT-122 успешно прошёл вторую стадию клинических исследований среди пациентов, страдающих ревматоидным артритом и псориатическим артритом [88]. Бимекизумаб находится на I и II фазах клинических испытаний среди пациентов, страдающих псориазом и псориатическим артритом, соответственно; данные об испытаниях NI-1401 отсутствуют [80]. COVA 322 от компании Covagen представляет собой антитело-финомер (FynomAb), в котором с классическим антителом, специфичным к TNFα, слито производное SH3-домена Fyn (тирозиновой киназы), обладающее высокой специфичностью к IL-17A. Финомер – это маленький глобулярный белок (весом 7 кДа), производное SH3-домена Fyn киназы, которое может быть сконструировано так, чтобы обладать специфичностью к определенным белкам с аффинностью, сравнимой с таковой для антител [89]. Клинические испытания COVA 322 были остановлены в связи с низким уровнем безопасности препарата [90]. В BCD-121 от российской компании Биокад успешно реализована так называемая технология Minotavr, при которой с тяжелой цепью классического антитела, специфичного к TNFα, слиты монодоменные антитела, специфичные к IL-17A и IL-17F (рис.7).

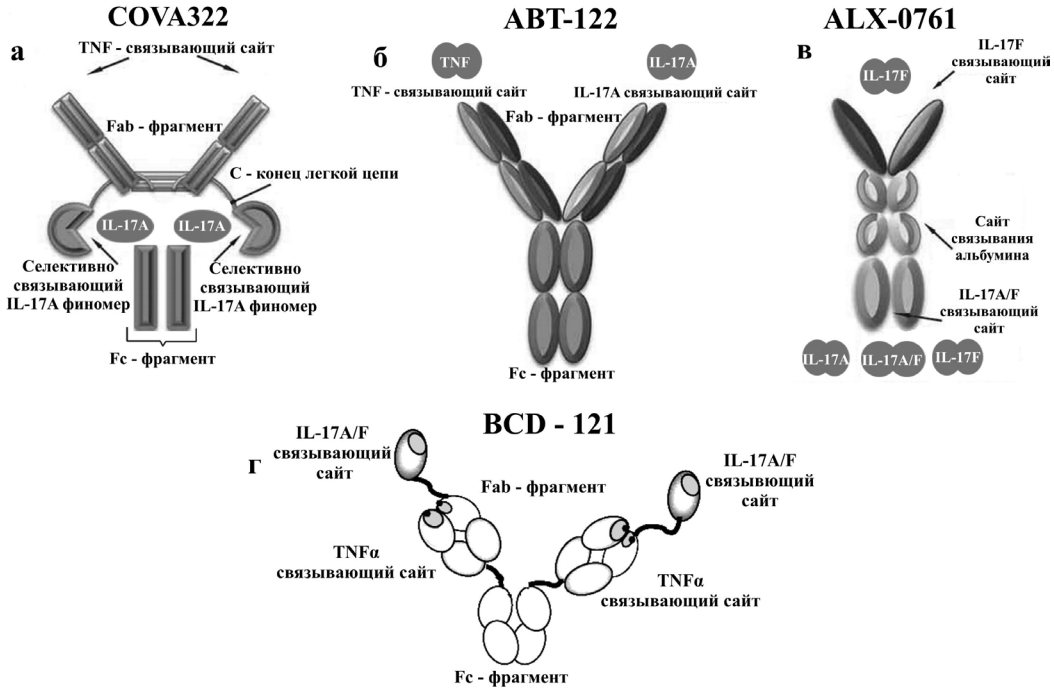

Рис. 7. Способы дизайна биспецифических антител.

(а) COVA 322 – антитело-финомер, специфичное к IL-17A, слитое с С-концом лёгкой цепи гуманизированного антитела против TNFα. (б) ABT-122 – биспецифическое антитело, нейтрализующее TNFα и IL-17A. (в) ALX-0761 – тривалентное биспецифическое наноантитело, взаимодействующее с альбумином и блокирующее IL-17A и IL-17F. (г) триспецифическое антитело BCD-121, сконструированное по технологии «MINOTAVR», специфичное к IL-17A и IL-17F.

BCD-121 характеризуется высокой растворимостью и стабильностью. В 2017 году начата первая фаза клинических испытаний BCD-121 [91]. Интересен также дизайн биспецифического наноантитела ALX-0761, в котором основой молекулы является альбумин-связывающий домен, с N- и C-концами которого слиты монодоменные антитела к IL-17A и IL-17F, соответственно [92]. Наличие альбумин-связывающего домена увеличивает время полужизни ALX-0761 в плазме. Препарат успешно прошёл стадию 2b клинических испытаний среди пациентов, страдающих псориазом [93].

Новым интересным терапевтическим подходом является разработка вакцины Qβ-IL-17 против IL-17A [94]. Введение мышам вирусоподобных частиц-производных бактериофага Qβ, коньюгированных с рекомбинантным IL-17A, стимулировало выработку высокоспецифичных к IL-17A антител [95]. Клинические испытания вакцины ещё не проводились.

В последнее время интенсивно разрабатываются различные низкомолекулярные ингибиторы IL-17A. Примером может служить пептид HAP [66] и макроциклические соединения [67]. Однако в настоящее время на рынке лекарственных препаратов представлены лишь классические антитела, специфичные к IL-17A.

VIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существенным прорывом в разработке новых подходов к лечению различных заболеваний является развитие методов биологической терапии. Поскольку цитокины семейства IL-17 играют важную роль в патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний, то весьма актуальным является применение иммунотерапевтического подхода, основанного на ингибировании их активности. Ингибирование иммунных реакций, зависимых от IL-17A(F), представляет собой перспективное направление в лечении широкого круга хронических заболеваний. Основные требования к разрабатываемым препаратам-ингибиторам цитокинов включают сочетание таких факторов, как высокая эффективность и приемлемая безопасность для организма. Следует отметить, что на рынке лекарственных препаратов в настоящее время представлены только классические антитела, специфичные к IL-17A(F). Другие типы антител – би(три)специфические антитела и наноантитела, блокирующие взаимодействие IL-17A(F) с рецептором, стали разрабатываться сравнительно недавно. Малые молекулы-антагонисты IL-17A (пептиды и макроциклические соединения) могут иметь бо́льшие побочные эффекты по сравнению с остальными ингибиторами, их применение также требует дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rouvier, E., Luciani, M.F., Mattéi, M.G., Denizot, F., and Golstein, P. (1993) CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J. Immunol.*, **150**, 5445–5456.
2. Yao, Z., Fanslow, W.C., Seldin, M.F., Rousseau, A.-M., Painter, S.L., Comeau, M.R., Cohen, J.I., and Spriggs, M.K. (1995) Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity*, **3**, 811–821.
3. Fossiez, F., Djossou, O., Chomarat, P., Flores-Romo, L., Ait-Yahia, S., Maat, C., Pin, J.J., Garrone, P., Garcia, E., Saeland, S., Blanchard, D., Gaillard, C., Das Mahapatra, B., Rouvier, E., Golstein, P., Banchereau, J., and Lebecque, S. (1996) T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J. Exp. Med.*, **183**, 2593–2603.
4. Cypowyj, S., Picard, C., Maródi, L., Casanova, J.-L., and Puel, A. (2012) Immunity to infection in IL-17-deficient mice and humans. *Eur. J. Immunol.*, **42**, 2246–2254.
5. Beringer, A., Noack, M., and Miossec, P. (2016) IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting. *Trends Mol. Med.*, **22**, 230–241.
6. Onishi, R.M., and Gaffen, S.L. (2010) Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*, **129**, 311–321.
7. Reynolds, J.M., Angkasekwinai, P., and Dong, C. (2010) IL-17 family member cytokines: regulation and function in innate immunity. *Cytokine Growth Factor Rev.*, **21**, 413–423.
8. Gaffen, S.L. (2009) Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat. Rev. Immunol.*, **9**, 556–567.
9. Bettelli, E., Carrier, Y., Gao, W., Korn, T., Strom, T.B., Oukka, M., Weiner, H.L., and Kuchroo, V.K. (2006) Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*, **441**, 235–238.
10. Mangan, P.R., Harrington, L.E., O'Quinn, D.B., Helms, W.S., Bullard, D.C., Elson, C.O., Hatton, R.D., Wahl, S.M., Schoeb, T.R., and Weaver, C.T. (2006) Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature*, **441**, 231–234.
11. Cua, D.J., Sherlock, J., Chen, Y., Murphy, C.A., Joyce, B., Seymour, B., Lucian, L., To, W., Kwan, S., Churakova, T., Zurawski, S., Wiekowski, M., Lira, S.A., Gorman, D., Kastelein, R.A., and Sedgwick, J.D. (2003) Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*, **421**, 744–748.
12. Awasthi, A., Riol-Blanco, L., Jäger, A., Korn, T., Pot, C., Galileos, G., Bettelli, E., Kuchroo, V.K., and Oukka, M. (2009) Cutting edge: IL-23 receptor gfp reporter mice reveal distinct populations of IL-17-producing cells. *J. Immunol.*, **182**, 5904–5908.
13. Ivanov, I.I., McKenzie, B.S., Zhou,L., Tadokoro, C.E., Lepelley, A., Lafaille, J.J., Cua, D.J., and Littman, D.R. (2006) The orphan nuclear receptor RORgammat directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*, **126**, 1121–1133.
14. Park, H., Li, Z., Yang, X.O., Chang, S.H., Nurieva, R., Wang, Y.-H., Wang, Y., Hood, L., Zhu, Z., Tian, Q., and Dong, C. (2005) A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat. Immunol.*, **6**, 1133–1141.
15. Liang, S.C., Tan, X.-Y., Luxenberg, D.P., Karim, R., Dunussi-Joannopou-

los, K., Collins, M., and Fouser, L.A. (2006) Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J. Exp. Med.*, **203**, 2271–2279.

16. He, D., Wu, L., Kim, H.K., Li, H., Elmets, C.A., and Xu, H. (2006) CD8+ IL-17-producing T cells are important in effector functions for the elicitation of contact hypersensitivity responses. *J. Immunol.* , **177**, 6852–6858.
17. Huber, M., Heink, S., Pagenstecher, A., Reinhard, K., Ritter, J., Visekruna, A., Guralnik, A., Bollig, N., Jeltsch, K., Heinemann, C., Wittmann, E., Buch, T., Prazeres da Costa, O., Brüstle, A., Brenner, D., Mak, T.W., Mittrücker, H.-W., Tackenberg, B., Kamradt, T., and Lohoff, M. (2013) IL-17A secretion by CD8+ T cells supports Th17-mediated autoimmune encephalomyelitis. *J. Clin. Invest.*, **123**, 247–260.
18. Cua, D.J., and Tato, C.M. (2010) Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, **10**, 479–489.
19. Villanova, F., Flutter, B., Tosi, I., Grys, K., Sreeneebus, H., Perera, G.K., Chapman, A., Smith, C.H., Di Meglio, P., and Nestle, F.O. (2014) Characterization of innate lymphoid cells in human skin and blood demonstrates increase of NKp44+ ILC3 in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, **134**, 984–991.
20. Marks, B.R., Nowyhed, H.N., Choi, J.-Y., Poholek, A.C., Odegard, J.M., Flavell, R.A., and Craft, J. (2009) Thymic self-reactivity selects natural interleukin 17-producing T cells that can regulate peripheral inflammation. *Nat. Immunol.*, **10**, 1125–1132.
21. Kronenberg, M. (2005) Toward an understanding of NKT cell biology: progress and paradoxes. *Annu. Rev. Immunol.*, **23**, 877–900.
22. Hoshino, A., Nagao, T., Nagi-Miura, N., Ohno, N., Yasuhara, M., Yamamoto, K., Nakayama, T., and Suzuki, K. (2008) MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils in vitro via classical complement pathway-dependent manner. *J. Autoimmun. 31*, 79–89.
23. Li, L., Huang, L., Vergis, A. L., Ye, H., Bajwa, A., Narayan, V., Strieter, R.M., Rosin, D.L., and Okusa, M.D. (2010) IL-17 produced by neutrophils regulates IFN-gamma-mediated neutrophil migration in mouse kidney ischemia-reperfusion injury. *J. Clin. Invest.*, **120**, 331–342.
24. Noordenbos, T., Blijdorp, I., Chen, S., Stap, J., Mul, E., Cañete, J. D., Lubberts, E., Yeremenko, N., and Baeten, D. (2016) Human mast cells capture, store, and release bioactive, exogenous IL-17A. *J. Leukoc. Biol.*, **100**, 453–462.
25. Lin, A.M., Rubin, C.J., Khandpur, R., Wang, J.Y., Riblett, M., Yalavarthi, S., Villanueva, E.C., Shah, P., Kaplan, M.J., and Bruce, A.T. (2011) Mast cells and neutrophils release IL-17 through extracellular trap formation in psoriasis. *J. Immunol.*, **187**, 490–500.
26. Aggarwal, S., and Gurney, A. L. (2002) IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *J. Leukoc. Biol.*, **71**, 1–8.
27. Novatchkova, M., Leibbrandt, A., Werzowa, J., Neubüser, A., and Eisenhaber, F. (2003) The STIR-domain superfamily in signal transduction, development and immunity. *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 226–229.
28. Toy, D., Kugler, D., Wolfson, M., Vanden Bos, T., Gurgel, J., Derry, J., Tocker, J., and Peschon, J. (2006) Cutting edge: interleukin 17 signals through a heteromeric receptor complex. *J. Immunol. 177*, 36–39.
29. Rickel, E.A., Siegel, L.A., Yoon, B.-R.P., Rottman, J.B., Kugler, D.G., Swart, D.A., Anders, P.M., Tocker, J.E., Comeau, M.R., and Budelsky, A.L. (2008) Identification of

functional roles for both IL-17RB and IL-17RA in mediating IL-25-induced activities. *J. Immunol.*, **181**, 4299–4310.

30. Ramirez-Carrozzi, V., Sambandam, A., Luis, E., Lin, Z., Jeet, S., Lesch, J., Hackney, J., Kim, J., Zhou, M., Lai, J., Modrusan, Z., Sai, T., Lee, W., Xu, M., Caplazi, P., Diehl, L., de Voss, J., Balazs, M., Gonzalez, L., Jr, Singh, H., Ouyang, W., and Pappu, R. (2011) IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner. *Nat. Immunol.*, **12**, 1159–1166.
31. Shi, Y., Ullrich, S. J., Zhang, J., Connolly, K., Grzegorzewski, K.J., Barber, M.C., Wang, W., Wathen, K., Hodge, V., Fisher, C.L., Olsen, H., Ruben, S.M., Knyazev, I., Cho, Y.H., Kao, V., Wilkinson, K.A., Carrell, J.A., and Ebner, R. (2000) A novel cytokine receptor-ligand pair. Identification, molecular characterization, and in vivo immunomodulatory activity. *J. Biol. Chem.*, **275**, 19167–19176.
32. Monin, L., and Gaffen, S.L. (2018) Interleukin 17 Family Cytokines: Signaling Mechanisms, Biological Activities, and Therapeutic Implications. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **10**, pii: a028522.
33. Qian, Y., Liu, C., Hartupee, J., Altuntas, C. Z., Gulen, M. F., Jane-Wit, D., Xiao, J., Lu, Y., Giltiay, N., Liu, J., Kordula, T., Zhang, Q.-W., Vallance, B., Swaidani, S., Aronica, M., Tuohy, V.K., Hamilton, T., and Li, X. (2007) The adaptor Act1 is required for interleukin 17-dependent signaling associated with autoimmune and inflammatory disease. *Nat. Immunol.*, **8**, 247–256.
34. Hwang, S.-Y., and Kim, H.-Y. (2005) Expression of IL-17 homologs and their receptors in the synovial cells of rheumatoid arthritis patients. *Mol. Cells*, **19**, 180–184.
35. Schwandner, R., Yamaguchi, K., and Cao, Z. (2000) Requirement of tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)6 in interleukin 17 signal transduction. *J. Exp. Med.*, **191**, 1233–1240.
36. Ruddy, M.J., Wong, G.C., Liu, X.K., Yamamoto, H., Kasayama, S., Kirkwood, K.L., and Gaffen, S.L. (2004) Functional cooperation between interleukin-17 and tumor necrosis factor-alpha is mediated by CCAAT/enhancer-binding protein family members. *J. Biol. Chem.*, **279**, 2559–2567.
37. Shen, F., Hu, Z., Goswami, J., and Gaffen, S.L. (2006) Identification of common transcriptional regulatory elements in interleukin-17 target genes. *J. Biol. Chem.*, **281**, 24138–24148.
38. Goetz, D.H., Holmes, M.A., Borregaard, N., Bluhm, M.E., Raymond, K.N., and Strong, R.K. (2002) The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol. Cell*, **10**, 1033–1043.
39. Wein, M.N., Jones, D.C., Shim, J.-H., Aliprantis, A.O., Sulyanto, R., Lazarevic, V., Poliachik, S.L., Gross, T.S., and Glimcher, L.H. (2012) Control of bone resorption in mice by Schnurri-3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 8173–8178.
40. Osta, B., Lavocat, F., Eljaafari, A., and Miossec, P. (2014) Effects of Interleukin-17A on Osteogenic Differentiation of Isolated Human Mesenchymal Stem Cells. *Front. Immunol.*, **5**, 425.
41. Bulek, K., Liu, C., Swaidani, S., Wang, L., Page, R.C., Gulen, M.F., Herjan, T., Abbadi, A., Qian, W., Sun, D., Lauer, M., Hascall, V., Misra, S., Chance, M.R., Aronica, M., Hamilton, T., and Li, X. (2011) The inducible kinase IKKi is required for IL-17-dependent signaling associated with neutrophilia and pulmonary inflammation. *Nat. Immunol.*, **12**, 844–852.

42. Qu, F., Gao, H., Zhu, S., Shi, P., Zhang, Y., Liu, Y., Jallal, B., Yao, Y., Shi, Y., and Qian, Y. (2012) TRAF6-dependent Act1 phosphorylation by the IκB kinase-related kinases suppresses interleukin-17-induced NF-κB activation. *Mol. Cell. Biol.*, **32**, 3925–3937.
43. Sun, D., Novotny, M., Bulek, K., Liu, C., Li, X., and Hamilton, T. (2011) Treatment with IL-17 prolongs the half-life of chemokine CXCL1 mRNA via the adaptor TRAF5 and the splicing-regulatory factor SF2 (ASF). *Nat. Immunol.*, **12**, 853–860.
44. Herjan, T., Yao, P., Qian, W., Li, X., Liu, C., Bulek, K., Sun, D., Yang, W.-P., Zhu, J., He, A., Carman, J.A., Erzurum, S.C., Lipshitz, H.D., Fox, P.L., Hamilton, T.A., and Li, X. (2013) HuR is required for IL-17-induced Act1-mediated CXCL1 and CXCL5 mRNA stabilization. *J. Immunol.*, **191**, 640–649.
45. Wang, C., Wu, L., Bulek, K., Martin, B. N., Zepp, J.A., Kang, Z., Liu, C., Herjan, T., Misra, S., Carman, J. A., Gao, J., Dongre, A., Han, S., Bunting, K.D., Ko, J.S., Xiao, H., Kuchroo, V.K., Ouyang, W., and Li, X. (2013) The psoriasis-associated D10N variant of the adaptor Act1 with impaired regulation by the molecular chaperone hsp90. *Nat. Immunol.*, **14**, 72–81.
46. Chen, C.Y., and Shyu, A.B. (1995) AU-rich elements: characterization and importance in mRNA degradation. *Trends Biochem. Sci.*, **20**, 465–470.
47. Shaw, G., and Kamen, R. (1986) A conserved AU sequence from the 3' untranslated region of GM-CSF mRNA mediates selective mRNA degradation. *Cell*, **46**, 659–667.
48. Hartupee, J., Liu, C., Novotny, M., Li, X., and Hamilton, T. (2007) IL-17 enhances chemokine gene expression through mRNA stabilization. *J. Immunol.*, **179**, 4135–4141.
49. Chang, S.H., and Dong, C. (2011) Signaling of interleukin-17 family cytokines in immunity and inflammation. *Cell. Signal.*, **23**, 1069–1075.
50. Bär, E., Whitney, P.G., Moor, K., Reis e Sousa, C., and LeibundGut-Landmann, S. (2014) IL-17 regulates systemic fungal immunity by controlling the functional competence of NK cells. *Immunity*, **40**, 117–127.
51. Ramani, K., Garg, A.V., Jawale, C.V., Conti, H.R., Whibley, N., Jackson, E.K., Shiva, S.S., Horne, W., Kolls, J.K., Gaffen, S.L., and Biswas, P.S. (2016) The Kallikrein-Kinin System: A Novel Mediator of IL-17-Driven Anti-Candida Immunity in the Kidney. *PLoS Pathog.*, **12**, e1005952.
52. Conti, H.R., Baker, O., Freeman, A.F., Jang, W.S., Holland, S.M., Li, R.A., Edgerton, M., and Gaffen, S.L. (2011) New mechanism of oral immunity to mucosal candidiasis in hyper-IgE syndrome. *Mucosal Immunol.*, **4**, 448–455.
53. Amatya, N., Garg, A.V., and Gaffen, S.L. (2017) IL-17 Signaling: The Yin and the Yang. *Trends Immunol.*, **38**, 310–322.
54. Zhu, S., Pan, W., Shi, P., Gao, H., Zhao, F., Song, X., Liu, Y., Zhao, L., Li, X., Shi, Y., and Qian, Y. (2010) Modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis through TRAF3-mediated suppression of interleukin 17 receptor signaling. *J. Exp. Med.*, **207**, 2647–2662.
55. Zepp, J.A., Liu, C., Qian, W., Wu, L., Gulen, M.F., Kang, Z., and Li, X. (2012) Cutting edge: TNF receptor-associated factor 4 restricts IL-17-mediated pathology and signaling processes. *J. Immunol.*, **189**, 33–37.
56. Garg, A.V., and Gaffen, S.L. (2013) IL-17 signaling and A20: a balancing act. *Cell Cycle*, **12**, 3459–3460.
57. Johnston, A., Fritz, Y., Dawes, S.M., Diaconu, D., Al-Attar, P.M., Guzman, A.M., Chen, C.S., Fu, W., Gudjonsson, J.E., McCormick, T.S.,

and Ward, N.L. (2013) Keratinocyte overexpression of IL-17C promotes psoriasiform skin inflammation. *J. Immunol.*, **190**, 2252–2262.

58. Sønder, S.U., Saret, S., Tang, W., Sturdevant, D.E., Porcella, S.F., and Siebenlist, U. (2011) IL-17-induced NF-kappaB activation via CIKS/Act1: physiologic significance and signaling mechanisms. *J. Biol. Chem.*, **286**, 12881–12890.
59. Garg, A.V., Amatya, N., Chen, K., Cruz, J.A., Grover, P., Whibley, N., Conti, H.R., Hernandez Mir, G., Sirakova, T., Childs, E.C., Smithgall, T.E., Biswas, P.S., Kolls, J.K., McGeachy, M.J., Kolattukudy, P.E., and Gaffen, S.L. (2015) MCPIP1 Endoribonuclease Activity Negatively Regulates Interleukin-17-Mediated Signaling and Inflammation. *Immunity*, **43**, 475–487.
60. Somma, D., Mastrovito, P., Grieco, M., Lavorgna, A., Pignalosa, A., Formisano, L., Salzano, A.M., Scaloni, A., Pacifico, F., Siebenlist, U., and Leonardi, A. (2015) CIKS/DDX3X interaction controls the stability of the Zc3h12a mRNA induced by IL-17. *J. Immunol.*, **194**, 3286–3294.
61. Jeltsch, K.M., Hu, D., Brenner, S., Zöller, J., Heinz, G.A., Nagel, D., Vogel, K.U., Rehage, N., Warth, S.C., Edelmann, S.L., Gloury, R., Martin, N., Lohs, C., Lech, M., Stehklein, J.E., Geerlof, A., Kremmer, E., Weber, A., Anders, H.-J., Schmitz, I., Schmidt-Supprian, M., Fu, M., Holtmann, H., Krappmann, D., Ruland, J., Kallies, A., Heikenwalder, M., and Heissmeyer, V. (2014) Cleavage of roquin and regnase-1 by the paracaspase MALT1 releases their cooperatively repressed targets to promote T(H)17 differentiation. *Nat. Immunol.*, **15**, 1079–1089.
62. Wan, Q., Zhou, Z., Ding, S., and He, J. (2015) The miR-30a Negatively Regulates IL-17-Mediated Signal Transduction by Targeting Traf3ip2. *J. Interferon Cytokine Res.*, **35**, 917–923.
63. Hymowitz, S.G., Filvaroff, E.H., Yin, J.P., Lee, J., Cai, L., Risser, P., Maruoka, M., Mao, W., Foster, J., Kelley, R. F., Pan, G., Gurney, A. L., de Vos, A.M., and Starovasnik, M.A. (2001) IL-17s adopt a cystine knot fold: structure and activity of a novel cytokine, IL-17F, and implications for receptor binding. *EMBO J.*, **20**, 5332–5341.
64. Gerhardt, S., Abbott, W.M., Hargreaves, D., Pauptit, R.A., Davies, R.A., Needham, M.R. C., Langham, C., Barker, W., Aziz, A., Snow, M.J., Dawson, S., Welsh, F., Wilkinson, T., Vaugan, T., Beste, G., Bishop, S., Popovic, B., Rees, G., Sleeman, M., Tuske, S.J., Coales, S.J., Hamuro, Y., and Russell, C. (2009) Structure of IL-17A in complex with a potent, fully human neutralizing antibody. *J. Mol. Biol.*, **394**, 905–921.
65. Liu, S., Song, X., Chrunyk, B.A., Shanker, S., Hoth, L.R., Marr, E.S., and Griffor, M.C. (2013) Crystal structures of interleukin 17A and its complex with IL-17 receptor A. *Nat. Commun.*, **4**, 1888.
66. Liu, S., Desharnais, J., Sahasrabudhe, P.V., Jin, P., Li, W., Oates, B.D., Shanker, S., Banker, M.E., Chrunyk, B.A., Song, X., Feng, X., Griffor, M., Jimenez, J., Chen, G., Tumelty, D., Bhat, A., Bradshaw, C.W., Woodnutt, G., Lappe, R.W., Thorarensen, A., Qiu, X., Withka, J.M., and Wood, L.D. (2016) Inhibiting complex IL-17A and IL-17RA interactions with a linear peptide. *Sci. Rep.*, **6**, 26071.
67. Liu, S., Dakin, L.A., Xing, L., Withka, J.M., Sahasrabudhe, P.V., Li, W., Banker, M.E., Balbo, P., Shanker, S., Chrunyk, B.A., Guo, Z., Chen, J.M., Young, J.A., Bai, G., Starr, J.T., Wright, S.W., Bussenius, J., Tan, S., Gopalsamy, A., Lefker, B.A., Vincent, F., Jones, L.H., Xu, H., Hoth, L.R., Geoghegan, K.F., Qiu, X., Bunnage, M.E., and Thorarensen, A. (2016) Binding site elucidation and structure

guided design of macrocyclic IL-17A antagonists. *Sci. Rep.*, **6**, 30859.

68. Ting, J.P., Tung, F., Antonysamy, S., Wasserman, S., Jones, S.B., Zhang, F.F., Espada, A., Broughton, H., Chalmers, M.J., Woodman, M.E., Bina, H.A., Dodge, J.A., Benach, J., Zhang, A., Groshong, C., Manglicmot, D., Russell, M., and Afshar, S. (2018) Utilization of peptide phage display to investigate hotspots on IL-17A and what it means for drug discovery. *PLoS One*, **13**, e0190850.
69. Ely, L.K., Fischer, S., and Garcia, K.C. (2009) Structural basis of receptor sharing by interleukin 17 cytokines. *Nat. Immunol.*, **10**, 1245–1251.
70. Goepfert, A., Lehmann, S., Wirth, E., and Rondeau, J.-M. (2017) The human IL-17A/F heterodimer: a two-faced cytokine with unique receptor recognition properties. *Sci. Rep.*, **7**, 8906.
71. McDonald, N.Q., and Hendrickson, W.A. (1993) A structural superfamily of growth factors containing a cystine knot motif. *Cell*, **73**, 421–424.
72. He, X.-L., and Garcia, K.C. (2004) Structure of nerve growth factor complexed with the shared neurotrophin receptor p75. *Sciencеб* **304**, 870–875.
73. Lee, Y.H., and Bae, S.-C. (2017) Associations between circulating IL-17 levels and rheumatoid arthritis and between IL-17 gene polymorphisms and disease susceptibility: a meta-analysis. *Postgrad. Med. J.*, **93**, 465–471.
74. Вдович О. В. (2011) Ювенильный ревматоидный артрит: молекулярно-генетические факторы риска, особенности течения в зависимости от полиморфизма гена IL-17. *Россия молодая: передовые технологии – в промышленность*, № 2, 168–170.
75. Kawaguchi, M., Takahashi, D., Hizawa, N., Suzuki, S., Matsukura, S., Kokubu, F., Maeda, Y., Fukui, Y., Konno, S., Huang, S.-K., Nishimura, M., and Adachi, M. (2006) IL-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **117**, 795–801.
76. García de la Peña, M., Méndez Cruz, R., Garrido Guerrero, E., Galicia López, A., Pozo Molina, G., and Herrera González, N.E. (2017) Polymorphism rs2275913 of Interleukin-17A is related to more intensive therapy with disease-modifying anti rheumatic drugs in Mexican patients with Rheumatoid Arthritis. *Acta Reumatol. Port.*, **42**, 155–161.
77. Pawlik, A., Kotrych, D., Malinowski, D., Dziedziejko, V., Czerewaty, M., and Safranow, K. (2016) IL17A and IL17F gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.*, **17**, 208.
78. Miossec, P. (2017) Update on interleukin-17: a role in the pathogenesis of inflammatory arthritis and implication for clinical practice. *RMD Open*, **3**, e000284.
79. Насонов Е.Л. (2017) Новые возможности фармакотерапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний: фокус на ингибиторы интерлейкина 17. *Научно-практическая ревматология.* **55**, 68–86.
80. Torres, T., Romanelli, M., and Chiricozzi, A. (2016) A revolutionary therapeutic approach for psoriasis: bispecific biological agents. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **25**, 751–754.
81. Muñoz-Santos, C., Sola-Ortigosa, J., and Guilabert, A. (2018) Treatment optimization with secukinumab 150 mg for moderate-to-severe psoriasis in clinical practice: a single-center open-label 52-week study. *Int. J. Dermatol.*, **57**, 615–617.
82. Toussirot, E. (2018) Ixekizumab: an anti- IL-17A monoclonal antibody

for the treatment of psoriatic arthritis. *Expert Opin. Biol. Ther.*, **18**, 101–107.

83. Puig, L. (2017) Brodalumab: the first anti-IL-17 receptor agent for psoriasis. *Drugs Today*, **53**, 283–297.
84. First-in-human Study to Evaluate Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of Various Doses of BCD-085 in Healthy Subjects. (NCT02380287).
85. Multiple Ascending Dose Trial of MSB0010841 (Anti-IL17A/F Nanobody) in Psoriasis Subjects NCT02156466.
86. Wang, Y., Wu, Q., Liu, Z., Guo, X., Zhou, L., Wang, Y., Song, L., Wang, N., Zheng, Q., Wang, W., Ren, G., and Li, D. (2017) A recombinant IgG-like bispecific antibody acting as interleukin-1β and interleukin-17A inhibitor exhibits a promising efficacy for rheumatoid arthritis. *Biomed. Pharmacother.*, **89**, 426–437.
87. Fischer, J.A.A., Hueber, A.J., Wilson, S., Galm, M., Baum, W., Kitson, C., Auer, J., Lorenz, S.H., Moelleken, J., Bader, M., Tissot, A. C., Tan, S.-L., Seeber, S., and Schett, G. (2015) Combined inhibition of tumor necrosis factor α and interleukin-17 as a therapeutic opportunity in rheumatoid arthritis: development and characterization of a novel bispecific antibody. *Arthritis Rheumatol.*, **67**, 51–62.
88. Phase 2, multicenter, open-label extension study with ABT-122 in rheumatoid arthritis subjects who have completed the preceding M12-963 study. (NCT02433340).
89. Silacci, M., Lembke, W., Woods, R., Attinger-Toller, I., Baenziger-Tobler, N., Batey, S., Santimaria, R., von der Bey, U., Koenig-Friedrich, S., Zha, W., Schlereth, B., Locher, M., Bertschinger, J., and Grabulovski, D. (2016) Discovery and characterization of COVA322, a clinical-stage bispecific TNF/IL-17A inhibitor for the treatment of inflammatory diseases. *MAbs*, **8**, 141–149.
90. Safety and tolerability study of COVA322 in patients with stable chronic moderate-to-severe plaque psoriasis. (NCT02243787).
91. First-in-human study to evaluate safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of various doses of BCD-121 in healthy subjects. (NCT03103451).
92. Vanheusden, K., Detalle, L., Hemeryck, A., Grenningloh, R., Poelmans, S., Wouters, H., and Stöhr, T. (2013) Pre-clinical proof-ofconcept of ALX-0761, a nanobody (R) neutralizing both IL-17A and F in a cynomolgus monkey collage induced arthritis model. *Arthritis and rheumatism*, **65**, S543–S543.
93. Svecova, D., Krueger, J.G., Sverdlov, O., Mackenzie, H., Willen, D., Hatzis, E., Grenningloh, R., Lubell, M.W. (2017) Safety and efficacy of multiple ascending doses of subcutaneous M1095, an anti-interleukin-17A/F bispecific nanobody, in patients with moderate-to-severe psoriasis. www.ablynx.com.
94. Röhn, T.A., Jennings, G.T., Hernandez, M., Grest, P., Beck, M., Zou, Y., Kopf, M., and Bachmann, M.F. (2006) Vaccination against IL-17 suppresses autoimmune arthritis and encephalomyelitis. *Eur. J. Immunol.*, **36**, 2857–2867.
95. Dallenbach, K., Maurer, P., Röhn, T., Zabel, F., Kopf, M., and Bachmann, M.F. (2015) Protective effect of a germline, IL-17-neutralizing antibody in murine models of autoimmune inflammatory disease. *Eur. J. Immunol.*, **45**, 1238–1247.