

Елистратова И.В.¹, Иванченко О.Б.², Гречко А.В.³, Морозов С.Г.⁴

Анализ экспрессии шаперонов DNAJB6/MRJ семейства HSP40 в клетках крови больных атопическим дерматитом при разных стадиях заболевания

¹ — ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь внутренних войск МВД России», 143930, Балашиха, мкр. Никольско-Архангельский, ш. Вишняковское, д. 101

² — ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет им. Петра Великого», институт «Торгово-экономический университет», 194021, Санкт-Петербург, ул. Новороссийская, д. 50

³ — ФГБНУ «Госпиталь для incurable больных — Научный лечебно-реабилитационный центр», 109240, Москва, ул. Солянка, д. 14, стр. 3

⁴ — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Целью работы было сравнение экспрессии белков теплового шока DNAJB6/MRJ у больных атопическим дерматитом на разных стадиях заболевания с показателями здоровых доноров. Тяжесть состояния при АД определяли по индексу SCORAD. **Методы.** Клетки крови разделяли на градиенте плотности Перколл, окрашивали антителами к DNAJB6/MRJ и анализировали на проточном цитометре. Бактериальную контаминацию кожи определяли методом ПЦР в реальном времени. Статистический анализ проводили по программе ANOVA. **Результаты.** Во всех образцах клеток крови, полученных от больных атопическим дерматитом, экспрессия белка DNAJB6/MRJ была выше по сравнению со здоровыми донорами. Наиболее выраженная интенсивность флуоресценции этого белка была в нейтрофилах по сравнению с лимфоцитами. Наиболее высокий уровень экспрессии DNAJB6/MRJ выявлен в острой стадии АД у наиболее тяжелых больных (по индексу SCORAD). В лимфоцитах экспрессия белка DNAJB6/MRJ была максимальной при подостром течении АД, а также имела тенденцию к повышению при верифицированной бактериальной контаминации кожи. **Выводы.** В нейтрофилах и лимфоцитах больных атопическим дерматитом повышена экспрессия внутриклеточного белка DNAJB6/MRJ семейства HSP40 по сравнению со здоровыми донорами. Максимальный уровень экспрессии DNAJB6/MRJ регистрируется в острой фазе атопического дерматита при наиболее тяжелом течении и постепенно снижается при хроническом течении заболевания.

Ключевые слова: атопический дерматит, HSP40, DNAJB6/MRJ, нейтрофилы, лимфоциты

Для корреспонденции: Морозов Сергей Георгиевич, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. РАН, зав. лаб. общей и перинатальной нейрориммунопатологии, врио директора ФГБНУ НИИОПП, e-mail: biopharm@list.ru

Для цитирования: Елистратова И.В., Иванченко О.Б., Гречко А.В., Морозов С.Г. Анализ экспрессии шаперонов DNAJB6/MRJ семейства HSP40 в клетках крови больных атопическим дерматитом при разных стадиях заболевания. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; 60(3): 23–30.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.03.2016

Elistratova I.V.¹, Ivanchenko O.B.², Grechko A.V.³, Morozov S.G.⁴

Heat shock protein HSP40 family chaperone DNAJB6/MRJ expression analysis in blood cells obtained from patients with atopic dermatitis in different phases

¹ — Main military clinical hospital of internal troops of the MIA Russia, 143930, Balashikha, Nikol'sko-Archangelsky, 101 Sh. Vishnyakovskoe

² — The Peter the Great St.-Petersburg's Polytechnic University, 194021, St. Petersburg, 50 Novorossiyskaya St.

³ — Federal State Budgetary Scientific Institution «Hospital for Incurable Patients — the Scientific Medical and Rehabilitation Center, 109240, Moscow, 14 — 3 Solyanka St.

⁴ — Scientific research institute of the general pathology and pathophysiology, 125315, Moscow, 8 Baltiyskaya St.

Heat shock protein HSP40 family molecular chaperone DNAJB6/MRJ expression has been analyzed in blood cells of patients with atopic dermatitis compared with healthy donors. Severity of disease was estimated according index SCORAD. **Methods.** Peripheral blood cells were separated using Percoll density gradient. Purified neutrophils and lymphocytes have been stained with antibodies to the heat shock protein DNAJB6/MRJ. Cells were analyzed using flow cytometry. Real time PCR method has been used to verify the bacterial contamination of the skin of patients with atopic dermatitis. Statisti-

cal analysis was performed by ANOVA. **Results.** Expression of DNAJB6/MRJ protein has been found to be elevated in all samples of cells obtained from patients with atopic dermatitis. The highest level of the DNAJB6/MRJ protein expression was shown in neutrophils at the acute phase of severe atopic dermatitis. DNAJB6/MRJ protein expression in lymphocytes of patients with atopic patients was less extensive compared with neutrophil level and was shown to be higher at subacute phase of disease. The DNAJB6/MRJ protein expression was found to be statistically significant higher in lymphocytes from atopic patients compared with healthy donors. The bacterial contamination of skin (verified by PCR) was shown to influence the DNAJB6/MRJ protein level in lymphocytes of atopic dermatitis patients. **Conclusions.** Expression of the heat shock protein DNAJB6/MRJ was elevated in neutrophils and lymphocytes of patients with atopic dermatitis compared with healthy donors. The highest level of the DNAJB6/MRJ protein was found to be in neutrophils at acute phase of severe atopic dermatitis and gradually decline as continue to the disease.

Key words: atopic dermatitis, HSP40, DNAJB6/MRJ, neutrophils, lymphocytes

For citation: Elistratova I.V., Ivanchenko O.B., Grechko A.V., Morozov S.G. Heat shock protein HSP40 family chaperone DNAJB6/MRJ expression analysis in blood cells obtained from patients with atopic dermatitis in different phases. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2016; 60 (3): 23–30. (in Russ).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received 20.03.2016

Введение

Патогенез атопического дерматита (АД) связан с многочисленными изменениями на уровне генов, белков, сигнальных путей, субклеточных структур, что обуславливает нарушение функциональной активности кожи и ряда систем организма. Заболеваемость атопическим дерматитом возрастает, при этом всё чаще регистрируются его тяжелые формы с редкими ремиссиями. Стресс играет значительную роль в обострении АД. Молекулярные механизмы стресса включают в себя функционирование системы молекулярных шаперонов — белков теплового шока (Heat Shock Proteins), которые контролируют качество внутриклеточных белков, предотвращают их агрегацию, способствуют фолдингу белков в нативную конформацию. В настоящее время имеется очень ограниченный список публикаций, касающихся роли HSP в патогенезе АД. Мы впервые обнаружили повышение экспрессии белков HSP90 у больных АД [1]. Также нами впервые установлена роль митохондриальных шаперонов DNAJC15 и DNAJA3 семейства HSP40 в патогенезе АД [2,3]. Данное исследование посвящено другому шаперону этого семейства — DANJB6 (также называется MRJ — mammalian relative of DnaJ), который, в отличие от первых двух, локализуется в цитозоле или в ядре, что обуславливает специфичность выполняемых им функций.

У человека обнаружено 49 белков семейства HSP40, включая 14 членов подсемейства В, в которое входит DNAJB6 [4]. Белки HSP40 (или DNAJ по названию консервативного J домена, который присутствует во всех белках этого семейства) классифи-

цируются на основании структурной организации [5]. Белки Hsp40 подсемейств А и В — гомодимеры, связывающие полипептид в щели между двумя мономерами за счет гидрофобных взаимодействий. Структурные различия между белками определяют специфичность к субстратам и различия в их внутриклеточной активности. Белки подсемейства А включают цинк-связывающий домен, а цитозольные белки подсемейства В имеют последовательность, распознающую мотив EEVD на С-конце белков HSP70, ко-шаперонами которых они являются [6].

Мутации в J-домене белков HSP40 (DNAJB2, DNAJB6, DNAJC5, DNAJC6, DNAJC13, DNAJC19, DNAJC29) приводят к заболеваниям человека, связанным в основном с центральной нервной системой [7].

Альтернативный сплайсинг гена *mrj* дает две изоформы белка — DNAJB6a (36 кДа, 326 а.к.о.) и DNAJB6b (26 кДа, 242 а.к.о.). DNAJB6a локализуется в ядре за счет наличия в структуре ядерно-локализирующего сигнала (NLS — nuclear localization sequence), а DNAJB6b — преимущественно в цитозоле. В ответ на стресс или гипоксию не наблюдается значительного повышения транскрипции гена *mrj*, но регистрируется быстрое повышение концентрации белка DNAJB6 в ядре за счет перемещения его малой изоформы в ядро, где DNAJB6b проявляет свойства, противоположные действию DNAJB6a, и работает как промотор пролиферации [8].

В лимфоцитах DNAJB6/MRJ может супрессировать клеточный цикл, так как негативно регулирует сигнальный путь с участием белка Slfn1 [9]. Ядерный

фактор активированных Т клеток (NFATc3 — Nuclear factor of activated T cells) сопряжен с шапероном DNAJB6/MRJ, который в ядре взаимодействует с гистон-деацетилазой II класса и ингибирует транскрипционную активность NFAT, в частности, снижает аффинность связывания NFATc3 с промотором гена TNF- α [10].

Сигнальные пути, сопряженные с DNAJB6/MRJ, включают в качестве вторичных мессенджеров циклин-зависимые киназы (cdk), а также гистон-деацетилазу (HDAC4), ингибирующую прохождение клеточного цикла [11].

В паре с HSP70 DNAJB6/MRJ блокирует NO-индуцированный апоптоз макрофагов путем ингибирования транслокации белка Bax к митохондриям [12].

DNAJB6/MRJ предотвращает агрегацию кератинов [13], регулирует обмен кератинов K8 и K18 — промежуточных филаментов эпителия. Как ко-шаперон HSP70 DNAJB6/MRJ специфически связывается с K18 и участвует в организации K8/K18 филаментов. [14]. Так как кератин подвергается интенсивной реорганизации при прохождении клеточного цикла, участие DNAJB6/MRJ в регуляции кератинов оказывает влияние на клеточный цикл кератиноцитов и эпителиальных клеток. В М-фазе клеточного цикла уровень белка DNAJB6/MRJ в клетке повышается, и он распределен по всей клетке, в интерфазе он локализуется в ядрышках [15].

Урокиназный тип рецептора активатора плазминогена (uPAR) регулирует адгезию клеток к витронектину, протеолиз в ECM, взаимодействие клеток с ECM, сигнальные пути. Ко-шаперон DNAJB6/MRJ специфически связывает uPAR и вместе с HSP70 формирует комплекс с uPAR, что повышает адгезию клеток (в т.ч. к эндотелию) и их миграцию [16]. DNAJB6/MRJ негативно регулирует сигнальные пути Wnt/-катенина (маркера эпителиально — мезенхимальных переходов) [17]. DNAJB6/MRJ участвует в самообновлении стволовых клеток нервной системы на ранних этапах развития [18], регулирует агрегацию белков и нейротоксичность при стрессе [11].

Цитозольные белки HSP40 подсемейства В выполняют функцию ко-шаперонов для HSP70. J-домен участвует в стимуляции N-концевого АТФ-азного домена HSP70, стабилизирует взаимодействие HSP70 с клиентскими белками за счёт конформационных изменений в пептид-связующем домене HSP70, который располагается между димерами HSP40, а С-концевая последовательность EEVD на HSP70 участвует в связывании Hsp40 и контролирует эффективность переноса полипептида с Hsp40 на Hsp70 [19].

Пары шаперонов HSP70/HSP40 I класса и HSP70/HSP40 II класса выполняют разные функции, но все регулируют фолдинг белков и препятствуют их агрегации. В цитозоле пара шаперонов HSP70/HSP40 II класса участвует в посттрансляционной транслокации вновь синтезированных предшественников белков и полипептидов через клеточные мембраны, в эндоплазматический ретикулум и в митохондрии [6].

Показано, что клетки разных организмов отвечают на термальный стресс по сходному сценарию для белков HSP40 и HSP70, которые, однако, имеют разную кинетику. HSP40 достигает максимума между 1 и 2 часом, после чего постепенно снижается. HSP70 повышается в 4 раза сильнее, чем HSP40, достигает пика между 2 и 3 часом и постепенно снижается [20].

Анализ экспрессии белков теплового шока в клетках даёт новую информацию о патогенезе атопического дерматита.

Цель исследования — изучение экспрессии белка DNAJB6/MRJ семейства HSP40 в клетках периферической крови больных атопическим дерматитом в разных стадиях.

Методика

Пациенты и доноры

В данном исследовании приняли участие 88 мужчин в возрасте от 18 до 36 лет, у которых диагностирован атопический дерматит (индекс SCORAD от 12 до 60) в острой (n = 28), подострой (n = 38) и хронической (n = 22) стадиях заболевания. Донорами были 36 здоровых мужчины в возрасте от 18 до 34 лет, которые обращались в медучреждение за справками.

Все пациенты и доноры подписывали форму информированного согласия. Критериями исключения пациентов из исследования были острые вирусные или бактериальные инфекции, системные аллергические или воспалительные заболевания, онкологические заболевания, соматическая патология, которая могла бы существенно изменить полученные результаты, а также состояние психического стресса.

Определение контаминации кожи патогенами

Взятие соскоба кожи проводили по правилам МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Пробы брали с предплечья в участках без признаков воспаления. Наличие бактериальной или грибковой контаминации верифицировали методом ПЦР в реальном времени с парами праймеров, синтезированных на основании соответствующих олигонуклеотидов патогенов, известных из базы данных [21]. В работе

использовали методику, применяемую для клинических исследований [22, 23].

Работа с клетками крови

Кровь получали из локтевой вены в вакутайенерах с ЭДТА, освобождали от эритроцитов лизирующим буфером (Becton Dickinson), отмывали в фосфатном буфере (PBS). Очищенные популяции нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов крови выделяли на градиенте плотности Перколла. Изотонический раствор Перколла (90%) получали из 27 мл исходного Перколла и 3 мл 10-кратного фосфатного буфера, его использовали для получения остальных ступеней градиента плотностью 81%, 70%, 60% и 55%, которые соответствовали известной средней плотности клеток крови. Градиенты центрифугировали 20 мин при $t +22^{\circ}\text{C}$ и ускорении 500g. После центрифугирования на дне пробирки концентрировались эритроциты, нейтрофилы выделялись в интерфазе между слоями плотностью 81% и 70%; лимфоциты — между слоями 70% и 60%. После этого клетки отмывали, переводили в полную среду RPMI 1640 с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и инкубировали 2 ч при $+37^{\circ}\text{C}$ и 5% CO_2 для восстановления мета-

болизма. Для исследования рецепторов плазматической мембраны (CD16, CD32, CD3, CD4, CD8 и др.) клетки окрашивали антителами, затем фиксировали в 4% параформальдегиде.

Окраска клеток на белки теплового шока

Для исследования внутриклеточных белков клетки сначала фиксировали в 4% параформальдегиде с 0,001% Тритоном X-100, отмывали, а затем окрашивали кроличьими поликлональными антителами к белку теплового шока DNAJB6 (ab96539) (Abcam). Вторыми антителами были антикроличьи F(ab)2 фрагменты иммуноглобулинов, меченные FITC (длина волны возбуждения лазера — 493 нм, длина волны эмиссии — 528 нм). Для двойной окраски пары шаперонов HSP40/HSP70 клетки одновременно окрашивали мышинными моноклональными антителами к белку теплового шока HSP70 [EPR16892] (ab204691), конъюгированными с фикоэритрином (длина волны возбуждения лазера — 488 нм, длина волны эмиссии — 575 нм). Интенсивность флуоресценции измеряли на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson) по программе SimulSet. В каждом образце регистрировали 10 000 событий.

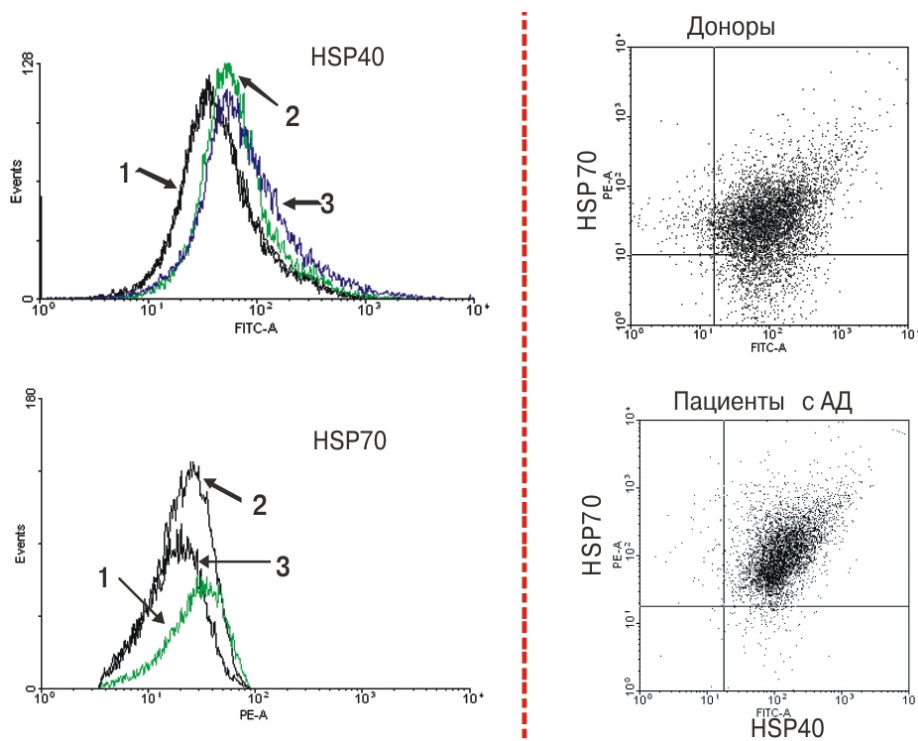


Рис. 1. Данные проточной цитометрии по двойной окраске на белки теплового шока HSP70 и HSP40 (DNAJB6/MRJ) нейтрофилов крови больных atopическим дерматитом и здоровых доноров.

Справа представлены данные проточной цитометрии по двойной окраске нейтрофилов периферической крови антителами к белкам теплового шока HSP40 (DNAJB6/MRJ) (канал FITC-A) и HSP70 (канал PE-A) здорового донора и больного atopическим дерматитом. Слева представлены гистограммы экспрессии белка HSP40 и белка HSP70 в нейтрофила: 1 — доноры, 2 — больные в острой фазе atopического дерматита, 3 — больные atopическим дерматитом в хронической стадии заболевания.

Статистический анализ

Полученные результаты анализировались по программе ANOVA. Сравнение между двумя группами проводили по критерию Стьюдента, статистический анализ нескольких групп проводился с помощью непараметрического анализа методом множественного сравнения по критерию Ньюмена—Кейлса. Статистически значимым различие между группами считали $p \leq 0,05$.

Результаты

Анализ одновременной экспрессии белков теплового шока HSP40 (DNAJB6/MRJ) и HSP70 в нейтрофилах крови

На первом этапе работы выделенные на градиенте плотности нейтрофилы были окрашены на шаперон HSP70 и его ко-шаперон HSP40 (белок DNAJB6/MRJ), которые совместно регулируют множество внутриклеточных функций). Гейт нейтрофилов крови больных АД (рис. 1) перемещается вверх по оси ординат, что указывает на повышение интенсивности флуоресценции белка HSP70 в нейтрофилах больных по сравнению с донорами. Представленные гистограммы отражают уровень интенсивности флуоресценции обоих белков у доноров и больных АД: повышение уровня экспрессии HSP70 существенно более выражено по сравнению с повышением уровня HSP40, что вполне согласуется с кинетикой изменения этих белков, показанной для разных организмов [20]. Уровень флуоресценции обоих белков повышается у больных АД по сравнению с донорами, достигает максимума в острой фазе АД, затем постепенно снижается по мере продолжения течения заболевания.

Измерение экспрессии белков теплового шока DNAJB6/MRJ в нейтрофилах

Результаты измерения интенсивности флуоресценции белка DNAJB6/MRJ, отражающей уровень его экспрессии в нейтрофилах, выделенных из периферической крови, представлены на рис. 2: в острой фазе АД экспрессия DNAJB6/MRJ максимальна и постепенно снижается по мере пролонгирования течения заболевания, во всех случаях оставаясь статистически значимо выше показателей доноров.

В острой стадии АД экспрессия белка DNAJB6/MRJ напрямую зависит от тяжести состояния больного (рис. 3): наиболее высокий уровень регистрируется у самых тяжелых больных. Уровень экспрессии белка DNAJB6/MRJ у больных с средней и более выраженной степенью тяжести заболевания не выявил статистически значимых различий, тогда как между соответствующими показателями больных

с легким течением АД и показателями у больных с более тяжелыми формами имеются статистически значимые различия.

В зависимости от наличия ($n = 56$) или отсутствия ($n = 32$) верифицированной методом ПЦР бактериальной контаминации кожи больных АД статистиче-

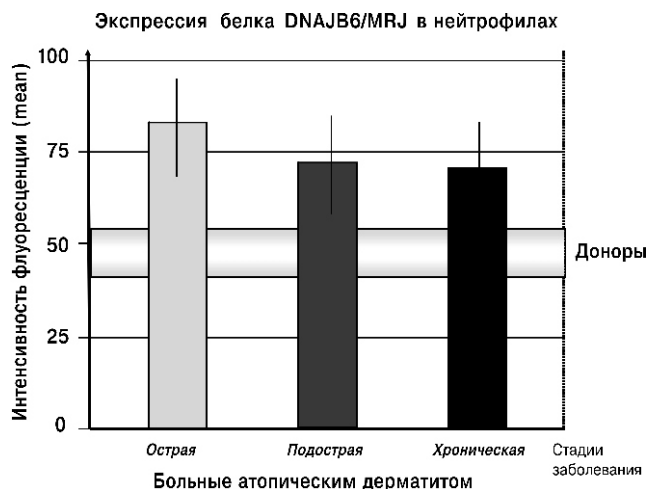


Рис. 2. Экспрессия белка DNAJB6/MRJ в нейтрофилах периферической крови больных атопическим дерматитом на разных стадиях заболевания.

Представлены данные проточной цитометрии. Интенсивность флуоресценции (в условных единицах) отражает уровень экспрессии белка DNAJB6/MRJ в нейтрофилах крови больных атопическим дерматитом ($n = 88$) в острой ($n = 28$), подострой ($n = 38$) и хронической ($n = 22$) стадии заболевания. Все показатели больных статистически значимо выше ($p < 0,05$) показателей доноров ($n = 36$).

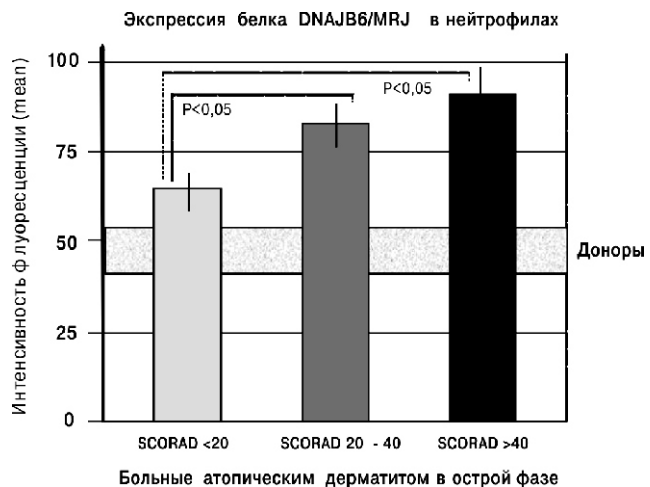


Рис. 3. Сравнение уровня экспрессии белка теплового шока DNAJB6/MRJ в нейтрофилах периферической крови здоровых доноров и больных атопическим дерматитом в острой фазе заболевания в зависимости от тяжести состояния.

Представлены данные проточной цитометрии. Интенсивность флуоресценции (mean) (в условных единицах) отражает уровень экспрессии белка DNAJB6/MRJ в нейтрофилах периферической крови здоровых доноров ($n = 36$) и больных атопическим дерматитом ($n = 88$) с легким течением (SCORAD < 20, $n = 24$), средней степени тяжести (SCORAD 20–40, $n = 56$) и тяжелым (SCORAD >40, $n = 8$).

ски значимых различий в экспрессии белка DNAJB6/MRJ в нейтрофилах не обнаружено, но проявилась тенденция к повышению этого показателя у больных АД с верифицированным золотистым стафилококком.

Измерение экспрессии белков теплового шока DNAJB6/MRJ в лимфоцитах

Выделенные на градиенте плотности Перколла лимфоциты периферической крови были окрашены на белок DNAJB6/MRJ, интенсивность флуоресценции проанализирована в общем гейте лимфоцитов без разделения на популяции и субпопуляции. У всех больных АД экспрессия белка DNAJB6/MRJ статистически значимо выше по сравнению с донорами. В остром периоде АД экспрессия DNAJB6/MRJ статистически значимо выше по сравнению с данными больных в подострой и хронической стадии заболевания (рис. 4). В острой стадии АД экспрессия белка DNAJB6/MRJ в лимфоцитах была максимальной у больных средней степенью тяжести и минимальной у больных с легким течением АД (рис. 5). Статистически значимые различия в экспрессии белка DNAJB6/MRJ в лимфоцитах показаны между группами доноров и больных АД, а также между больными АД с легким течением и АД средней тяжести.

У больных АД с верифицированной методом ПЦР бактериальной контаминацией кожи ($n = 56$) (в частности, *Staphylococcus aureus*) имелась выраженная тенденция к повышению уровня экспрессии белка DNAJB6/MRJ в лимфоцитах крови по сравнению с показателями больных АД, у которых не выявлено бактериальной контаминации кожи ($n = 32$) (рис. 6). Однако статистически значимых различий по этим показателям выявлено не было.

Таким образом, установлено повышение экспрессии белка теплового шока DNAJB6/MRJ семейства HSP40 в клетках крови больных АД по сравнению со здоровыми донорами. Известно, что при хроническом воспалении уровень экспрессии HSP повышается, что обусловлено их участием в распознавании патологически изменённых белков, которые присутствуют в тканях при воспалении. Однако до сих пор в открытой печати не было данных по экспрессии белка DNAJB6/MRJ в нейтрофилах или лимфоцитах крови больных АД, результаты показаны впервые. Наиболее выраженная экспрессия белка обнаружена у больных в острой стадии АД, а также при более тяжелых формах заболевания. Выявленные особенности в экспрессии этого белка у больных АД указывают на определенный уровень адаптации к патологическому состоянию по мере продолжения течения заболевания.

Выводы

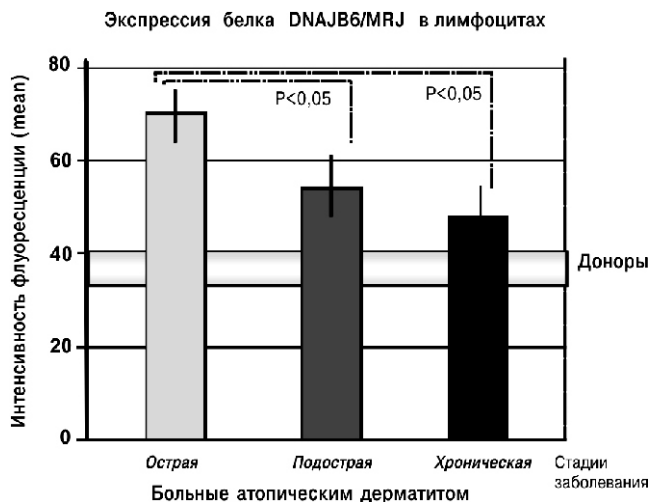


Рис. 4. Экспрессия белка DNAJB6/MRJ в лимфоцитах периферической крови больных atopическим дерматитом на разных стадиях заболевания.

Представлены данные проточной цитометрии. Интенсивность флуоресценции (в условных единицах) отражает уровень экспрессии белка DNAJB6/MRJ в лимфоцитах крови больных atopическим дерматитом ($n = 88$) в острой ($n = 28$), подострой ($n = 38$) и хронической ($n = 22$) стадии заболевания. Все показатели больных статистически значимо выше ($p < 0,05$) показателей доноров ($n = 36$).

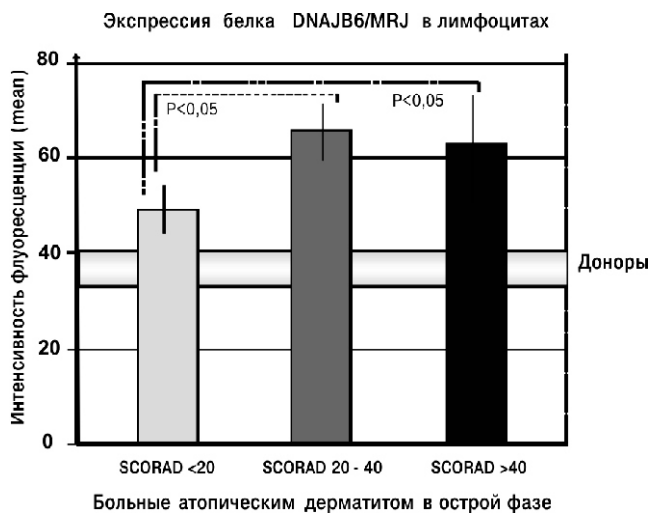


Рис. 5. Сравнение уровня экспрессии белка теплового шока DNAJB6/MRJ в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров и больных atopическим дерматитом в острой фазе заболевания в зависимости от тяжести состояния.

Представлены данные проточной цитометрии. Интенсивность флуоресценции (mean) (в условных единицах) отражает уровень экспрессии белка DNAJB6/MRJ в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров ($n = 36$) и больных atopическим дерматитом ($n = 88$) легкого течения (SCORAD <20, $n = 24$), средней степени тяжести (SCORAD 20–40, $n = 56$) и тяжелого течения (SCORAD >40, $n = 8$).

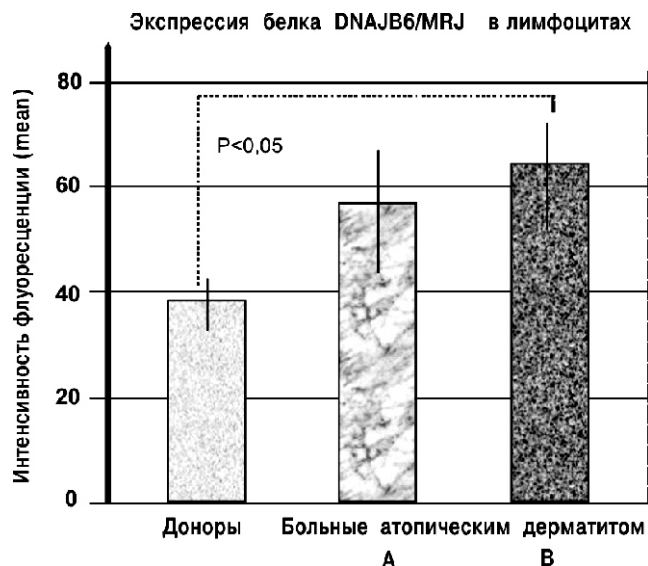


Рис. 6. Уровень экспрессии белка DNAB6/MRJ в лимфоцитах крови больных atopическим дерматитом в зависимости от бактериальной контаминации кожи.

Представлены данные проточной цитометрии. Интенсивность флуоресценции (в условных единицах) отражает уровень экспрессии белка DNAJB6/MRJ в лимфоцитах здоровых доноров ($n = 36$) и больных atopическим дерматитом ($n = 88$) с верифицированной методом ПЦР бактериальной контаминацией кожи (В, $n = 56$) или без таковой (А, $n = 32$).

1. В нейтрофилах и лимфоцитах больных atopическим дерматитом повышена экспрессия внутриклеточного белка DNAJB6/MRJ семейства HSP40 по сравнению со здоровыми донорами.

2. Максимальный уровень экспрессии DNAJB6/MRJ регистрируется в острой фазе atopического дерматита и при наиболее тяжелом течении заболевания.

3. По мере пролонгирования стадии обострения уровень экспрессии белка DNAJB6/MRJ постепенно снижается.

References

- Elistratova I.V., Morozov S.G., Zakharova I.A. PAR-2 receptor expression on the peripheral blood neutrophils of atopic dermatitis patients and its association with heat shock proteins HSP90. *Russkiy zhurnal kozhnykh i venerichedkikh bolezney*. 2016; (1): 53-7. (in Russian)
- Elistratova I.V., Ivanchenko O.B., Grechko A.V., Morozov S.G. Mitochondrial chaperon DNAJC15/MCJ level measuring in the blood cells of patients with atopic dermatitis of moderate severity. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya*. 2016; 60(2): 4-12. (in Russian)
- Elistratova I.V., Grechko A.V., Morozov S.G. Molecular chaperon DNAJA3/Tid1 expression in the peripheral blood lymphocytes obtained from patients with atopic dermatitis. *Patogenez*. 2015; (1): (in Russian)

4. HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee), Available at www.genenames.org/genefamilies/HSP#HSP40.

5. Feng P., Lin H., Chen W., Zuo Y. Predicting the types of J-proteins using clustered amino acids. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 935719.

6. Li J., Qian X., Sha B. Heat shock protein 40: Structural studies and their functional implications. *Protein Pept. Lett.* 2009; 16(6): 606-12.

7. Koutras C., Braun J. J protein mutations and resulting proteostasis collapse. *Front. Cell. Neurosci.* 2014; 8(8): 191-8.

8. Andrews J., Sykora L., Letostak T., Menezes M., Mitra A., Barik S. et al. Cellular stress stimulates nuclear localization signal (NLS) independent nuclear transport of MRJ. *Exp. Cell. Res.* 2012; 318(10): 1086-93.

9. Zhang Y., Yang Z., Cao Y., Zhang S., Li H., Ding Y., Liu X. The Hsp40 family chaperon protein DnaJB6 enhances Schlafen1 nuclear localization which is critical for promotion of cell-cycle arrest in T-cells. *Biochem. J.* 2008; 413(2): 239-50.

10. Dai Y., Xu J., Molkenin J. The DnaJ-related factor Mrj interacts with nuclear factor of activated T cells c3 and mediates transcriptional repression through class II histone deacetylase recruitment. *Mol. Cell. Biol.* 2005; 25(22): 9936-48.

11. Smith C., D'Mello S. Cell and context-dependent effects of the heat shock protein DNAJB6 on neuronal survival. *Mol. Neurobiol.* 2015; 52(2): 24-35.

12. Gotoh T., Terada K., Oyadomari S., Mori M. Hsp70-DNAJ chaperone pair prevents nitric oxide- and CHOP — induced apoptosis by inhibiting translocation of bax to mitochondria. *Cell Death Differentiation*. 2004; 11(4): 390-402.

13. Watson E., Geary-Joo C., Hughes M., Cross J. The Mrj co-chaperone mediates keratin turnover and prevents the formation of toxic inclusion bodies in trophoblast cells of the placenta. *Development*. 2007; 134(9): 1809-17.

14. Izawa I., Nishizawa M., Ohtakara K., Ohtsuka K., Inada H., Inagaki M. Identification of Mrj, a DnaJ/Hsp40 family protein, as a keratin 8/18 filament regulatory protein. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(44): 34521-7.

15. Dey S., Banerjee P., Saha P. Cell cycle specific expression and nucleolar localization of human J-domain containing co-chaperone Mrj. *Mol. Cell. Biochem.* 2009; 322(1-2): 137-42.

16. Lin Y., Peng N., Zhuang H., Zhang D., Wang Y., Hua Z. Heat shock proteins HSP70 and MRJ cooperatively regulate cell adhesion and migration through urokinase receptor. *BMC Cancer*. 2014; 14: 639-53.

17. Mitra A., Menezes M., Shevde L., Samant R. DNAJB6 induces degradation of beta-catenin and causes partial reversal of mesenchymal phenotype. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(32): 24686-94.

18. Watson E., Mattar P., Schuurmans C., Cross J. Neural stem cell self-renewal requires the Mrj co-chaperone. *Dev. Dyn.* 2009; 238(10): 2564-74.

19. Yu H., Ziegelhoffer T., Craig E. Functionality of Class A and Class B J-protein co-chaperones with Hsp70. *FEBS Letters*. 2015; 589(19 Pt B): 2825-30.

20. Foster N., Lukowiak K., Henry T. Time-related expression profiles for heat shock protein gene transcripts (HSP40, HSP70) in the central nervous system of *Lymanaea stagnalis* exposed to thermal stress. *Commun. Integr. Biol.* 2015; 8(3): e1040954.

21. GenBank database, Available at <http://www.ncbi.nih.gov/Genbank/>

22. White T., Bruns S., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal genes for phylogenetics. In: Innis M., Gelfand J., Sninsky J., White T., eds. PCR.

23. Buitrago M., Aguado J., Ballen A., Bernal-Martinez L., Prieto M., Garcia-Reyne A. et al. Efficacy of DNA amplification in tissue biopsy samples to improve the detection of invasive fungal disease, *Clin. Microbiol. Infect.* 2013, 19(6): E271-E277.

Сведения об авторах:

Елистратова Ирина Владимировна, врач дерматовенеролог отделения дерматовенерологии ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь внутренних войск МВД России»

Иванченко Ольга Борисовна, канд. биол. наук, доцент каф. химии и биотехнологии ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет им. Петра Великого», институт «Торгово-экономический университет»

Гречко Андрей Вячеславович, доктор мед. наук, проф. РАН, директор ФГБНУ «Госпиталь для incurable больных — Научный лечебно-реабилитационный центр»