БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Том 18 * № 5 * 1992

УДК 577.112.853.088

© 1992 г. *Н. П. Арбатский, А. О. Желтова, Е. В. Чернохвостова*, Г. П. Герман**

СТРУКТУРА УГЛЕВОДНЫХ ЦЕПЕЙ IgG4-ПАРАПРОТЕИНОВ ЧЕЛОВЕКА, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО СПОСОБНОСТИ СВЯЗЫВАТЬСЯ С КЛЕТОЧНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва;
** Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского*

Антитела субкласса G4 к аллергенам несомненно имеют существенное значение в патогенезе атопической аллергии. В отличие от IgE-антител, реагиновая функция которых твердо установлена, IgG4-антитела, по-видимому, могут играть различную роль, являясь в одних случаях реагинами, а в других – блокирующими (протективными) антителами [1, 2]. Одной из причин столь противоположных функций антител, относящихся к одному и тому же изотипу, может быть структурная неоднородность IgG4 [1]. На это, в частности, указывают данные о наличии двух аллотипов миеломных IgG4 [3], а также данные о структурной (антигенной) неоднородности G4-парапротеинов, выявляемой моноклональными антителами к субкласс-специфическим детерминантам [4]. Кроме того, показано, что G4-парапротеины различаются по способности фиксироваться на тучных клетках человека и вызывать выделение гистамина при последующем воздействии анти-IgG4-антисыворотки, а также по способности тормозить реакцию пассивной кожной анафилаксии (ПКА) у обезьян, вызываемую IgE-реагинами [1]. Высказано предположение [1], что в этих функциональных различиях G4-парапротеинов, отражающих их различную способность к взаимодействию с рецепторами эффекторных клеток, существенная роль может принадлежать олигосахаридным цепям, связанным с F_c-фрагментом молекулы IgG. Однако экспериментальные данные о наличии какой-либо взаимосвязи между рецепторсвязывающими свойствами IgG4 и структурой его углеводной цепи отсутствуют.

Цель настоящей работы состояла в выяснении наличия или отсутствия различий в структуре углеводных цепей функционально различающихся G4-парапротеинов.

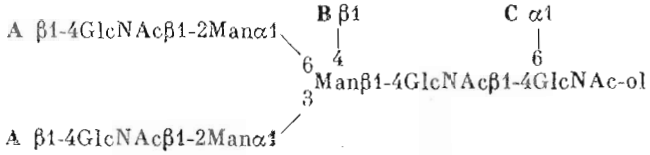
В лаборатории гуморального иммунитета МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского было выделено и идентифицировано 27 G4-парапротеинов, большинство из которых реагировало с каждым из шести имеющихся в распоряжении субкласс-специфических моноклональных антител и только пять парапротеинов (условно названных нетипичными) не реагировали с одним из этих антител – IH2*. Различия между типичными и нетипичными G4-парапротеинами подтверждены также в реакции ПКА на обезьянах резус** по методу, описанному ранее [5]. Так, из трех типичных и одного нетипичного (IgG4-Ауд) парапротеинов лишь послед-

* Предоставлено проф. В. Б. Климовичем (НИИ рентгенологии и радиологии, Санкт-Петербург).

** Исследования проведены на базе Института экспериментальной патологии и терапии (Сухуми) в лаборатории проф. Э. К. Джикидзе.

ний не давал реакции ПКА после внутривенного введения анти-IgG4 с синькой Эванса.

Для сравнительного анализа углеводных цепей использовали три препарата G4-парапротеинов: типичные G4-Мат, G4-Злы и нетипичный G4-Анд. Изучение структуры и гетерогенности олигосахаридных фрагментов IgG4 проводилось разработанным ранее методом [6, 7], основанным на идентификации олигосахаридов (ОС) с помощью ВЭЖХ. Образцы IgG4 (2—3 мг) десиалилировали, подвергали восстановительному расщеплению под действием $LiBH_4$, полученные олигосахариды отделяли от гликопептидов ионообменной хроматографией и анализировали ВЭЖХ на колонке Ultrasphere-C18. Условия хроматографии были подобраны так, чтобы наиболее полно разделить все типы олигосахаридов, имеющиеся в IgG (рисунок, *а*). При этом удается разделить 12 типов олигосахаридов, соответствующих нефукозилированным биантенным (ОС-1 — ОС-3) и биссектным (ОС-4 — ОС-6), а также фукозилированным биантенным (ОС-7 — ОС-9) и биссектным (ОС-10 — ОС-12) цепям, содержащим соответственно 0, 1 и 2 концевых остатка галактозы.

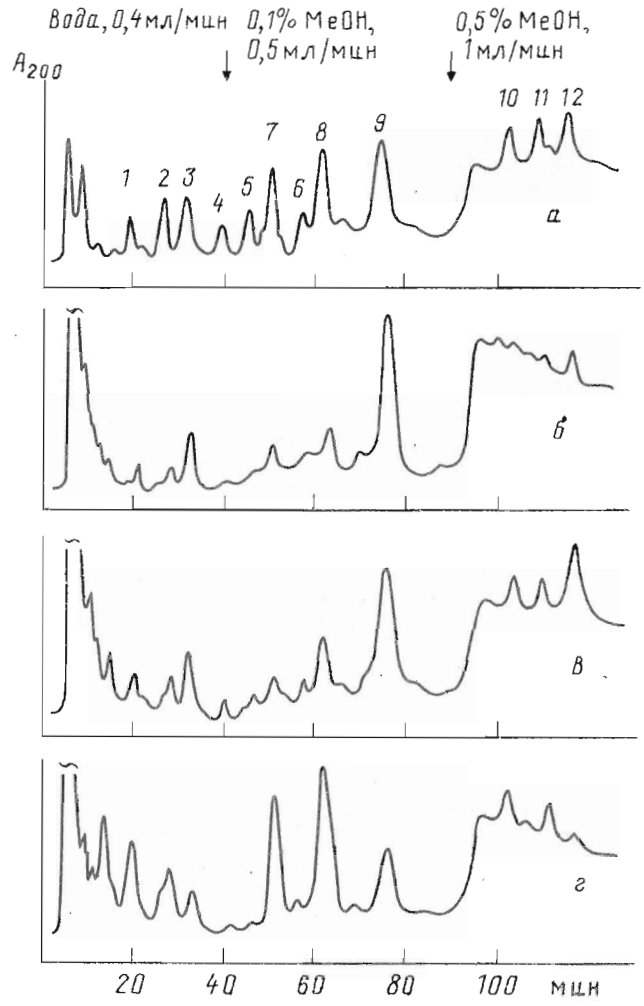


Олигосахарид	A	B	C
1	—	—	—
2	Gal	—	—
3	Gal, Gal	—	—
4	—	GlcNAc	—
5	Gal	GlcNAc	—
6	Gal, Gal	GlcNAc	—
7	—	—	Fuc
8	Gal	—	Fuc
9	Gal, Gal	—	Fuc
10	—	GlcNAc	Fuc
11	Gal	GlcNAc	Fuc
12	Gal, Gal	GlcNAc	Fuc

Проведение анализа в стандартных условиях позволяет сравнить соотношение названных выше олигосахаридов в каждом G4-парапротеине. Так, в G4-Мат (рисунок, *б*) имеются в основном биантенные цепи, причем соотношение олигосахаридов, имеющих 2, 1 и 0 остатков галактозы, равно ~7 : 2 : 1, а степень фукозилирования олигосахаридов составляет не менее 80%. Гораздо большая гетерогенность олигосахаридов наблюдается в G4-Злы (рисунок, *в*), где в соизмеримых количествах присутствуют все типы структур. По сравнению с G4-Мат в G4-Злы содержится значительно больше биссектных цепей, тем не менее и в этом случае преобладают дигалактозил-олигосахариды (ОС-3, ОС-9, ОС-12).

IgG4-Анд существенно отличается от двух первых парапротеинов (рисунок, *г*). Главная его особенность — резкое увеличение относительного количества олигосахаридов, не имеющих одного или обоих остатков галактозы, причем это касается всех типов цепей: биантенных и биссектных, фукозилированных и нефукозилированных. В среднем (для всех типов цепей) соотношение олигосахаридов, содержащих 2, 1 и 0 остатков галактозы, равно ~1 : 3 : 3.

Таким образом, наблюдается явно выраженное различие в структуре углеводных цепей типичного и нетипичного G4-парапротеина: нетипичный IgG4 содержит гораздо больше недостроенных агалактоцепей. Пока трудно сказать, что «аномальные» антигенные свойства нетипичного



ВЭЖХ олигосахаридов из IgG на колонке Ultrasphere-C18. *а* – модельная смесь олигосахаридов; *б*, *в*, *г* – олигосахариды из IgG4-Мат, IgG4-Злы и IgG4-Анд

IgG4, проявляемые в реакции с моноклональным антителом IH2,— прямое следствие отсутствия у большинства молекул IgG4-Анд концевых остатков галактозы. Тем не менее вполне возможно, что остатки галактозы непосредственно или косвенным образом влияют на формирование эпитопа, реагирующего с антителом IH2.

Взаимодействие антител-реагинов с клеточными рецепторами является ключевой стадией, инициирующей аллергические реакции. В последние годы опубликовано много новых данных о структуре рецепторов IgE [8, 9] и IgG [10, 11]. Предполагается, что $F_c\varepsilon$- и $F_c\gamma$-рецепторы тучных клеток могут действовать синергически [12], причем углеводный компонент Ig, по-видимому, участвует в процессах связывания [3, 13]. Приведенные здесь данные, хотя и получены лишь на нескольких образцах G4-парапротеинов, заслуживают внимания, так как являются первым, насколько нам известно, экспериментальным свидетельством в пользу существования определенной взаимосвязи между структурой углевод-

ной цепи IgG4 и способностью его к взаимодействию с рецепторами эффекторных клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stanworth D. R.* // Monogr. Allergy. 1986. V. 19. Karger, Basel. P. 227–240.
2. *Chernokhvostova E. V., German G. P., Kotova T. S., Atovmian O. I.* // Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 1990. V. 92. № 3. P. 217–222.
3. *Kunkel H. G., Joslin F. C., Penn G. M., Natwig J. B.* // J. Exp. Med. 1970. V. 132. № 3. P. 508–520.
4. *Walker M. R., Bird P., Ulacto D. O., Vartdall D. M., Jeffris R.* // Immunology. 1986. V. 57. № 1. P. 25–28.
5. *Vijay A. Perelmutter L.* // Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 1977. V. 53. № 1. P. 78–87.
6. *Арбатский Н. П., Мартынова М. Д., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.* // Докл. АН СССР. 1987. Т. 297. № 4. С. 995–999.
7. *Арбатский Н. П., Мартынова М. Д., Алешкин В. А., Деревицкая В. А.* // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 2. С. 175–180.
8. *Shimizu A., Tepler I., Benfley P. N., Berenstein E. H., Siraganian R. P., Leder P.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 6. P. 1907–1911.
9. *Blank U., Ra C., Miller L., White K., Metzger H., Kinet J.-P.* // Nature. 1989. V. 337. № 6203. P. 187–189.
10. *Simmons D., Seed B.* // Nature. 1988. V. 333. № 6173. P. 568–570.
11. *Scallon B. J., Scigliano E., Freedman V. H., Miedel M. C., Pan Y.-C. E., Unkeless J. C., Kochan J. P.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1989. V. 86. № 13. P. 5079–5083.
12. *Stanworth D. R.* // Mol. Immunol. 1988. V. 25. № 11. P. 1213–1215.
13. *Walker M. R., Lund J., Thompson K. M., Jefferis R.* // Biochem. J. 1989. V. 259. № 2. P. 347–353.

Поступило в редакцию
28.XI.1991

N. P. ARBATSKY, A. O. ZHELTOVA, E. V. CHERNOKHVOSTOVA*, G. P. GERMAN*

THE STRUCTURE OF CARBOHYDRATE CHAINS OF HUMAN IgG4 PARAPROTEINS DIFFERING IN BINDING WITH CELL RECEPTORS

N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow;
**G. N. Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow*

Comparative oligosaccharide analysis by HPLC revealed structural differences in the carbohydrate chains of human IgG4 paraproteins, varying in ability to induce the rhesus monkey's passive skin anaphylaxis. A nontypical IgG4 paraprotein, which is inactive in this reaction and also does not bind the IgG4-subclass specific monoclonal antibody 1H2, has a much higher proportion of the carbohydrate chains lacking terminal galactose residues than two typical IgG4 paraproteins. This structural feature may be one of the reasons for the nontypical IgG4 not to bind by the mast cell $F_c\gamma$ receptor.