



УДК 577.175.14.052

**РЕЦЕПТОРЫ ЦИТОКИНОВ: ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АСИММЕТРИЯ
СУБЪЕДИНИЦ В РЕЦЕПТОРНОМ КОМПЛЕКСЕ**

Биологическое действие цитокинов иммунной системы и кроветворных ростовых факторов отличается тем, что, с одной стороны, каждый из цитокинов уникален по спектру биологических эффектов, а с другой – в них наблюдается перекрывание спектров биологической активности. Примером могут служить интерлейкин 1 и фактор некроза опухолей альфа, каждый из которых способен индуцировать биосинтез белков острой фазы, вызывать экспрессию молекул адгезии и пр. Этот факт тем более любопытен, что подавляющее большинство рецепторов цитокинов обладает высокой специфичностью, связывая единственный цитокин. Очевидно, что подобное сочетание общности и уникальности биологического действия обуславливается специфическими чертами внутриклеточного сигнального механизма, однако детали механизма передачи сигнала рецепторами цитокинов до настоящего времени остаются неясны. Серьезным шагом на пути решения данного вопроса стало открытие семейства Janus (JAK) протеинкиназ, ассоциирующихся с внутриклеточными участками рецепторов цитокинов и осуществляющих фосфорилирование. Последствием фосфорилирования является индукция STAT-факторов (signal transducers and activators of transcription) [1]. Тем не менее вопрос о молекулярном механизме общности/уникальности биологического действия цитокинов остается открытым. Ответ на него попытались дать американские ученые [2].

В большинстве случаев рецепторы цитокинов представляют собой субъединичные комплексы, в состав которых входят 2–3 не связанных ковалентно трансмембранных белка. Некоторые субъединицы входят в состав более чем одного рецептора. Примером может служить 150кДа-белок, общий для рецепторных комплексов интерлейкинов 3, 5 и гранулоцитмакрофагколонийстимулирующего фактора. Зачастую субъединицы рецептора ассоциируют лишь после связывания с одной из них цитокина, в результате чего происходит кластеризация субъединиц. Кластеризация рецепторных белков наблюдается и в тех случаях, когда рецептор формируется только одной субъединицей. Например, связывание эритропоэтина (ЕРО) с рецептором сопровождается димеризацией последнего. Таким образом, не вызывает сомнений, что кластеризация рецепторов или их субъединиц

служит необходимым элементом сигнального механизма.

Объектом исследования американских ученых стал рецептор интерлейкина 2 (IL 2), представляющий собой комплекс из трех ковалентно не связанных субъединиц α , β и γ_c [3]. Первые два белка способны по отдельности связывать IL 2, в то время как γ_c -субъединица такой способностью не обладает. С β - и γ_c -субъединицами, осуществляющими проведение сигнала внутрь клетки, ассоциированы соответственно протеинкиназы JAK1 и JAK3 [4, 5]. Следует отметить, что γ_c -субъединица входит также в состав рецепторных комплексов IL 4, IL 7, IL 9 и IL 15.

С целью изучения молекулярного механизма проведения сигналов подобными рецепторными комплексами американские ученые сконструировали гены химерных β - и γ_c -субъединиц рецептора IL 2, у которых внеклеточная часть субъединиц была заменена на таковую рецептора эритропоэтина (ЕРО-R). Гены (ЕРО β и ЕРО γ_c) были экспрессированы вместе или по отдельности в клетках IL 2-зависимой Т-клеточной линии HT-2. Стандартный тест, основанный на включении [³H]тимидина, был использован для оценки пролиферации трансфектантов под действием ЕРО.

Отсутствие пролиферации в присутствии ЕРО клеток, экспрессирующих любую из химерных субъединиц рецептора, показало, что ни β -, ни γ_c -субъединица рецептора IL 2 в отдельности не способны проводить полноценный сигнал, необходимый для поддержания клеточной пролиферации. При этом не наблюдалось ни фосфорилирования JAK1/JAK3-киназ, ни индукции STAT-факторов. Напротив, у клеток, экспрессирующих обе гибридные субъединицы, ЕРО вызывал не только активную пролиферацию, но и долгосрочный рост в культуре *in vitro*. Наблюдалось и фосфорилирование JAK1- и JAK3-киназ – процесс, имеющий место при сигнализации через природный рецептор IL 2. Следовательно, гетеродимеризация β - и γ_c -субъединиц – необходимое и достаточное условие IL 2-зависимой пролиферации.

Принимая во внимание тот факт, что γ_c -субъединица является общей для целого ряда рецепторов цитокинов (IL 2, IL 4, IL 7, IL 9, IL 15), авторы предположили, что она инициирует процесс клеточной активации, в то время как β -субъединица

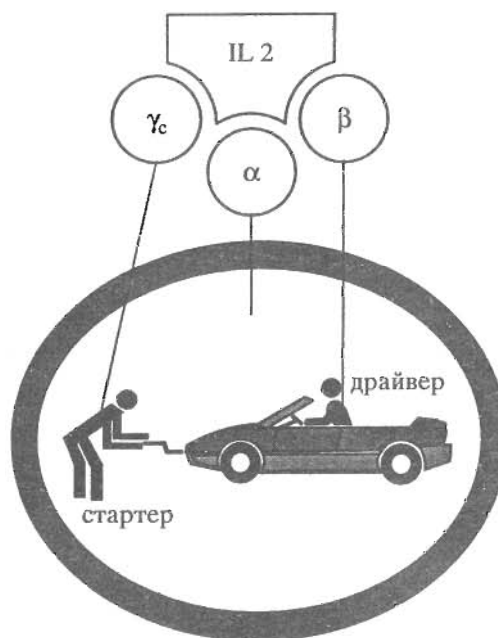
запускает специфическую программу событий, характерных для того или иного из перечисленных цитокинов.

Для проверки гипотезы были получены трансфектанты, у которых вместо ЕРО γ_c -субъединицы экспрессировался укороченный с С-конца ЕРО-R. Цитоплазматическая часть этого рецептора (ЕРО-R $_{1-321}$) состояла лишь из 73 примембранных аминокислотных остатков, ассоциированных с JAK2, и была лишена остального С-концевого фрагмента, на котором находятся все остатки тирозина – потенциальные сайты связывания STAT-факторов. НТ-2-клетки, трансфицированные лишь геном ЕРО-R $_{1-321}$, не были способны пролиферировать в ЕРО-содержащей среде, в то время как у двойных трансфектантов, экспрессирующих и ЕРО β -цепь (но не ЕРО γ_c), ЕРО вызывал долгосрочный рост в культуре *in vitro*. Таким образом, JAK2-связывающий фрагмент ЕРО-R был функционально идентичен в плане передачи пролиферативного сигнала JAK3-связывающему фрагменту γ_c -субъединицы. Дальнейшие эксперименты с мутантными формами рецептора показали, что JAK3-киназа в рецепторном комплексе ИЛ 2 может быть заменена на JAK2: при этом по-прежнему реализуется программа клеточной пролиферации.

Специфическая черта активации Т-лимфоцитов (в том числе и клеток НТ-2) – повышение экспрессии α -субъединицы рецептора ИЛ 2 (CD25). Проверка полученных трансфектантов показала, что в присутствии ЕРО НТ-2-клетки, несущие ЕРО $\beta\gamma_c$ -рецептор, и даже ЕРО β /ЕРО-R $_{1-321}$ усиливали экспрессию CD25. Напротив, у клеток, трансфицированных ЕРО-R, в подобных условиях изменений в экспрессии CD25 не наблюдалось, что позволило авторам подтвердить предположение о главенствующей роли β -субъединицы рецепторного комплекса ИЛ 2 в осуществлении специфической части сигнальной программы.

Проведенное исследование привело авторов к следующим выводам, приложимым как к рецепторному комплексу ИЛ 2, так и к другим димеризующимся при связывании цитокина рецепторам:

1) существуют определенные правила, определяющие совместимость и взаимозаменяемость JAK-киназ в рецепторных комплексах. Так, пары JAK1–JAK3 и JAK1–JAK2 в равной степени эффективно проводят биологический сигнал, т.е. они обладают перекрывающимися специфичностями. В то же время гомодимеризация JAK1 или JAK3 функционально неэффективна. Таким образом, наблюдается известная, но не абсолютная гибкость в образовании функциональных пар Janus-киназ. Кроме того, специфичность сигнала, очевидно, определяется факторами иными, нежели JAK-киназы;



2) что касается рецептора ИЛ 2, то его специфическая сигнальная программа зависит от С-концевой области β -субъединицы, включающей в себя тирозинсодержащие последовательности. Повидимому, этот вывод распространяется и на другие рецепторы, имеющие общую с рецептором ИЛ 2 γ_c -субъединицу.

Сопоставление собственных результатов с литературными данными привело авторов к заключению, что в гетеродимерных рецепторных комплексах одна из субъединиц (γ_c в случае рецепторов ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 7, ИЛ 9, ИЛ 15) играет роль стартера (trigger), запуская неспецифическую часть сигнальной программы. Другая же субъединица – “драйвер” (driver) вносит основной вклад в уникальный для данного цитокина набор внутриклеточных сигналов (рисунок). В пользу общего характера такой “мозаичной” системы внутриклеточной сигнализации говорят данные структурно-функционального исследования рецептора Илн- γ . Роль стартера могут выполнять и рецептор Илн- α , и низкоаффинный рецептор ИЛ 12. У рецепторов, состоящих из одной субъединицы, при образовании гомодимера каждая молекула рецептора может играть роль и стартера, и драйвера.

В эволюционном плане прослеживаются две подгруппы рецепторов. В одной – “конвергентной” – различные рецепторы имеют одну и ту же субъединицу-драйвер, но разные стартеры. Например, ИЛ 3, ИЛ 5 и гранулоцитмакрофагколониестимулирующий фактор используют одну и ту же сигналпроводящую субъединицу β_c , результатом чего является продукция одних и тех же STAT-факторов. Еще одним примером рецепторов этой подгруппы могут служить ИЛ 4 и ИЛ 13. В другой

группе – “дивергентной”, – наоборот, общая цель осуществляет программу запуска (например, γ_c -цепь рецепторов IL 2/IL 4/IL 7/IL 9/IL 15), в то время как уникальный драйвер активирует цитокин-специфичную сигнальную программу. Так, у IL 2, IL 4 и IL 7 индуцируется различный набор STAT-факторов. Обнаружены рецепторы, сочетающие в себе черты обеих подгрупп.

Предложенная гипотеза, хотя и выглядит весьма привлекательной и логичной, нуждается в дальнейшем подтверждении и развитии на примере рецепторов широкого круга цитокинов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Darnell J.E., Jr. et al. // Science. 1994. V. 264. P. 1415–1421.
2. Lai S.Y. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 231–235.
3. Minami Y. et al. // Ann. Rev. Immunol. 1993. V. 11. P. 245–268.
4. Johnston J.A. et al. // Nature. 1994. V. 370. P. 151–153.
5. Witthuhn B.A. et al. // Nature. 1994. V. 370. P. 153–157.

В.А. Несмеянов

Сдано в набор 01.10.96 г.

Подписано к печати 09.12.96 г.

Формат бумаги 60 × 88¹/₈

Офсетная печать

Усл. печ. л. 10.0

Усл. кр.-отт. 3.6 тыс.

Уч.-изд. л. 10.6

Бум. л. 5.0

Тираж 347 экз.

Зак. 903
