



УДК 577.152.34.02

## ПРОТЕИНАЗЫ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК И ИХ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

© 1998 г. Л. А. Локшина<sup>#</sup>*Институт биомедицинской химии РАН, 119832, Москва, Погодинская ул., 10*

Поступила в редакцию 05.11.97 г. Принята к печати 16.01.98 г.

Представлены данные о свойствах, распространении и биологических функциях ряда протеиназ плазматической мембраны лимфоидных клеток – дипептидилпептидазы IV, нейтральной эндопептидазы, аминопептидаз А и N и новой протеиназы из семейства адамализинов. Эти ферменты являются интегральными белками мембраны, основная часть молекулы которых расположена экстрацеллюлярно; они обозначаются как эктопептидазы. Их функции связаны с протеолизом на поверхности клетки: образованием и инактивацией регуляторных пептидов и ростовых факторов и модификацией белков клеточной поверхности. Обсуждается биологическое значение ограниченного протеолиза белков плазматической мембраны и образующихся из них растворимых форм. Анализ материала позволяет заключить, что эктопептидазы лимфоидных клеток являются элементами сенсорной системы клетки и участвуют в регуляции ее физиологического ответа на внешние факторы и в координации межклеточных взаимодействий.

*Ключевые слова:* протеиназы; эктопептидазы; регуляторные пептиды, рецепторы, цитокины, ростовые факторы, плазматическая мембрана, лимфоидные клетки.

Для понимания молекулярных механизмов операции клеток в процессах иммунного ответа организма важное значение имеют исследования протеиназ плазматической мембраны. Эти ферменты участвуют во взаимодействиях клетки с факторами внешней среды, межклеточных взаимодействиях и определяют физиологический ответ клетки на меняющиеся условия [1-3]. Интерес к протеиназам плазматической мембраны в клетках иммунной системы (в частности, в лимфоидных клетках) в последние годы сильно возрос, что связано с двумя группами данных. Во-первых, было установлено, что некоторые из этих протеиназ – дифференцировочные антигены, т.е. появляются только на определенных стадиях созревания или активации отдельных клеток гемопоэтического ряда [4-7]. Это нейтральная эндопептидаза (неприлизин, энкефалиназа, NEP, КФ 3.4.24.11), аминопептидазы А и N (AP-A, КФ 3.4.11.7, и AP-N, КФ 3.4.11.2) и дипептидилпептидаза IV (DPP-IV, КФ 3.4.14.5). Во-вторых, было обнаружено, что под действием некоторых протеиназ плазматической мембраны происходит модификация

разнообразных белков поверхности клетки: различных рецепторов, ростовых факторов, ферментов и др. [8,9]. Протеиназы, катализирующие подобные реакции, называемые иногда секретазами [9] или конвертазами [10,11], описаны лишь в последние годы. Из них только для одного фермента, полученного в 1997 г. в очищенном виде, установлена структура. Это TNF- $\alpha$ -конвертаза, которая образует растворимую форму фактора некроза опухолей (TNF- $\alpha$ ) из мембраносвязанного предшественника [10,11]. Этот фермент – металлопротеиназа из семейства адамализинов (КФ 3.4.24) [12] – обозначен в данной статье как AD-MP.

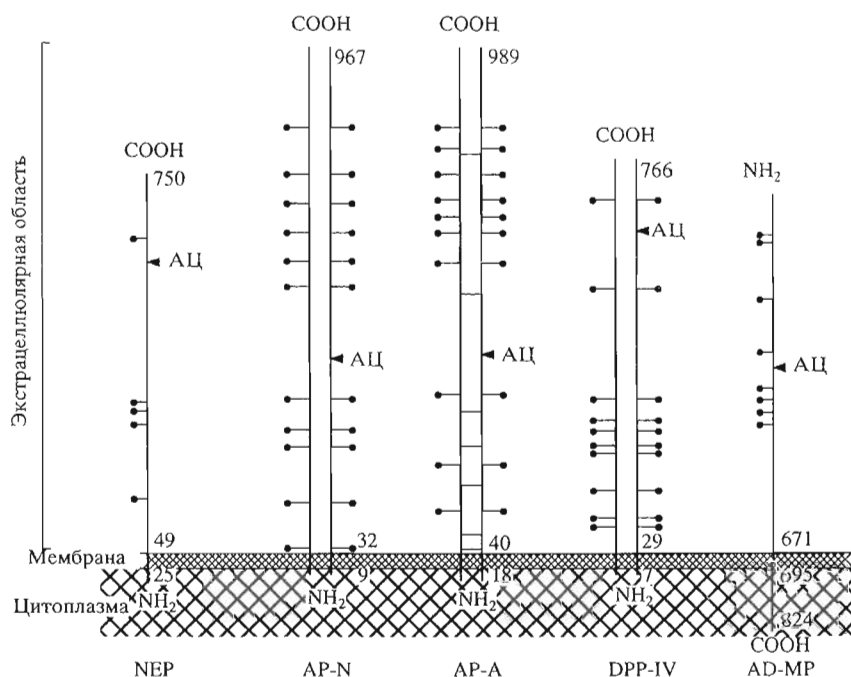
В настоящей статье приведены сведения о структуре, свойствах и распространении названных выше протеиназ; на отдельных примерах рассмотрены их возможные функции в лимфоидных клетках и высказаны некоторые соображения о роли ферментов в регуляции ряда биологических процессов.

### СТРУКТУРА, СВОЙСТВА И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЭКТОПЕПТИДАЗ В КЛЕТКАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

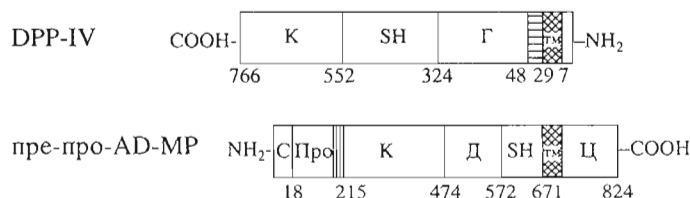
На рис. 1 схематически представлены структуры рассматриваемых протеиназ (NEP, DPP-IV, AP-A, AP-N и AD-MP), а в табл. 1 – данные о специфичности ферментов, их субстратах, распространении и возможных функциях в клетках иммунной системы.

Сокращения: NEP – нейтральная эндопептидаза, AP-A – аминопептидаза А, AP-N – аминопептидаза N, DPP-IV – дипептидилпептидаза IV, AD-MP – металлопротеиназа из семейства адамализинов, TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухолей, IL – интерлейкин, FasL – лиганд рецептора Fas, ВИЧ – вирус иммунодефицита человека.

<sup>#</sup> E-mail: solovyev@ibmh.msk.su, факс: (095) 245-08-57.



**Рис. 1.** Схематическая структура эктопептидаз [5]: нейтральной эндопептидазы (NEP), аминопептидазы N (AP-N), аминопептидазы A (AP-A), дипептидилпептидазы (DPP-IV) и металлопротеиназы из семейства адамализинов (AD-MP) (представлены данные для предшественника AD-MP [10,11]). ● — гликозильные остатки, — S-S-связи, AЦ — активный центр. Цифрами обозначены номера аминокислотных остатков



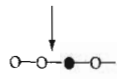
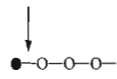
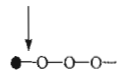
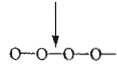
**Рис. 2.** Доменное строение молекул DPP-IV [6,13] и предшественника AD-MP [11]. К, SH, Г, ТМ, Д, Ц — каталитический, цистеинбогатый, гликозилированный, трансмембранный, дисинтегриновый, цитоплазматический домены; С — сигнальный пептид, Про — продомен; горизонтальной штриховкой выделен "стебелек", вертикальной — последовательность, распознаваемая фурином.

Все названные ферменты являются интегральными белками плазматической мембраны, основная часть молекулы которых расположена экстрацеллюлярно; они обозначаются как эктопептидазы [1, 5, 8, 9]. AD-MP — интегральный белок мембраны I типа, у которого вне клетки находится N-концевая область молекулы [8,10,11]. Все остальные ферменты — интегральные белки мембраны II типа, у которых экстрацеллюлярно расположена С-концевая область молекулы [5,8] (рис. 1). Все протеиназы — гликопротеины. В молекулах NEP, DPP-IV, AP-A и AP-N имеется короткий N-концевой цитоплазматический участок и трансмембранный сегмент из 20-25 аминокислотных остатков [1, 5, 6]. В экстрацеллюлярной области молекулы вблизи от мембраны имеется небольшой сегмент — так называемый "стебелек", где находится чувствительная к протеолизу связь; ее гидролиз может приводить к "слушиванию" ос-

новной части молекулы и образованию растворимой формы фермента [1, 8, 9]. Молекулы некоторых протеиназ представляют собой мономеры (NEP), другие — димеры (AP-A — димер, прошитый S-S-связями; AP-N и DPP-IV — димеры из двух нековалентно связанных субъединиц) (рис. 1) [5].

Все протеиназы, кроме DPP-IV, являются Zn-металлопротеиназами и содержат характерную последовательность для связывания Zn: -His-Glu-(Leu, Ile, Met)-Xaa-His- [5, 10, 11]; DPP-IV — сериновая протеиназа, каталитический центр которой включает в себя остатки Ser624, Asp702, His734 [6, 13]. В экстрацеллюлярной области молекулы DPP-IV наряду с каталитическим С-концевым доменом находятся цистеинбогатый и гликозилированный домены, а также небольшой "стебелек", содержащий  $\alpha$ -спираль из 13 аминокислотных остатков (рис. 2) [13]. Трансмембранный гидрофоб-

Таблица 1. Эктопептидазы в клетках иммунной системы\*

Фермент	Специфичность <sup>2*</sup>	Субстрат	Клетки иммунной системы	
			Распространение <sup>3*</sup>	Регуляторные функции <sup>4*</sup>
NEP	 Val Phe Leu Ala	Опиоиды Вещество P Брاديкинин Ангиотензин I и II Бомбезин fMet-Leu-Phe и др.	ПЛК Пре-В-клетки ПМК Лимфобласты ОЛЛ Гранулоциты	Созревание В-клеток Образование IL-2 некоторыми Т-клетками Воспалительный ответ гранулоцитов
AP-N	 Ala Phe Tyr Leu	Опиоиды Тафцин fMet-Leu-Phe	ПМК Моноциты Гранулоциты ОМЛ Т(акт)	Воспалительный ответ гранулоцитов Процессинг АГ в макрофагах
AP-A	 Glu Asp	IL-7 Ангиотензин I и II	Пре-В-клетки Лимфобласты	Пролиферация пре-В-клеток
DPP -IV	 Pro Ala	Вещество P Соматолиберин Казоморфин	Т(акт) Т-хелперы Тимоциты В(акт)	Активационный АГ Т-лимфоцитов (индукция пролиферации, образования IL-2) Созревание тимоцитов
AD-MP <sup>5*</sup>		TNF-α FasL Селектин L МНС-I (H-цепь)	Т-лимфобласты Т(акт) Макрофаги Моноциты и др.	Апоптоз Адгезия Представление АГ

\* Таблица составлена на основании данных обзора [5] и работ [10,11,24,27,28]. Сокращения: ПЛК - предшественники лимфоидных клеток; ПМК - предшественники миелоидных клеток; ОЛЛ и ОМЛ - клетки острого лимфобластного и миелобластного лейкоза; Т(В)(акт) - активированные Т(В)-клетки; fMet - формилметионин; МНС-I - белки главного комплекса гистосовместимости I типа; АГ - антиген.

<sup>2\*</sup> Темный кружок обозначает аминокислотный остаток, определяющий специфичность протеиназы.

<sup>3\*</sup> Эктопептидазы присутствуют на поверхности не только лимфоидных, но и других клеток, участвующих в иммунных реакциях.

<sup>4\*</sup> Указаны биологические процессы, в регуляции которых участвует протеиназа.

<sup>5\*</sup> AD-MP или сходная протеиназа [24,27,28].

ный сегмент состоит из 22, а цитоплазматический N-концевой участок – всего из 6 аминокислотных остатков [6,13]. Экстрацеллюлярная область молекулы предшественника AD-MP, приведенного на рис. 2, включает в себя наряду с сигнальным пептидом ряд доменов [10,11]. Продомен содержит остаток Cys184, который образует координационную связь с атомом Zn активного центра.

Продомен заканчивается последовательностью -RVKRR-, которая распознается сериновой протеиназой фурином, гидролизующим связь Arg214-Arg215. Это ведет к активации фермента. Процесс активации AD-MP, по-видимому, аналогичен активации матриксных металлопротеиназ [14]. Каталитический домен по топологии сходен с соответствующим доменом матриксных коллагеназ

[14]. Ион  $Zn^{2+}$  связан с тремя остатками гистидина: His405, His409, His415 [10, 11]. Дисинтегриновый домен, характерный для белков семейства адамализинов [12], содержит так называемую "петлю специфичности", которая взаимодействует с интегринами или другими рецепторами [10–12]. В дисинтегриновом и следующем за ним цистеинбогатом доменах у разных представителей семейства адамализинов наблюдаются значительные различия в первичной структуре. Полагают, что с этим связана специфичность взаимодействия ферментов с тем или иным белковым субстратом [10–12]. В цитоплазматическом С-концевом домене содержится участок потенциального фосфорилирования тирозина, что указывает на возможную роль этого домена в системе передачи сигнала в клетку [11].

Рассматриваемые протеиназы различаются по специфичности. NEP и AD-MP являются эндопептидазами, остальные ферменты – экзопептидазы: AP-N и AP-A отщепляют от полипептидной цепи определенные N-концевые аминокислоты, DPP-IV – N-концевые дипептиды, содержащие остатки Pro или Ala во 2-м с N-конца положении (табл.1) [1, 5, 6].

Изучение распространения эктопептидаз показало, что они присутствуют на поверхности целого ряда клеток (главным образом эпителиального происхождения) [1, 5]. На клетках гемопоэтического ряда они появляются только на отдельных стадиях дифференцировки или активации (табл. 1) [4–7]. Так, NEP и AP-A обнаружены на ранних стадиях созревания В-клеток [4, 5, 7], DPP-IV-активационный антиген (CD26) Т-лимфоцитов выявляется также на определенных стадиях созревания тимоцитов [5, 6, 13]. Факт избирательного появления эктопептидаз на отдельных стадиях созревания лимфоидных клеток определяет важность исследования этих ферментов при изучении молекулярных механизмов дифференцировки и трансформации клеток, а также некоторых других процессов, которые указаны в последней графе табл. 1. Повышенное содержание эктопептидаз наблюдается в клетках при ряде патологических состояний [4–11] (табл. 1). В связи с этим ферменты представляют интерес как маркеры для диагностики ряда заболеваний [4, 5].

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ЭКТОПЕПТИДАЗ

Основные биологические функции рассматриваемых протеиназ связаны с их участием во внеклеточном протеолизе и обусловлены действием ферментов на различные экзогенные факторы и компоненты поверхности клетки.

#### *Участие в образовании и инактивации регуляторных пептидов*

Как видно из табл. 1, основными известными субстратами ферментов (кроме AD-MP) являются регуляторные пептиды и некоторые цитокины. Общая функция ферментов – участие в регуляции локальной концентрации этих факторов и модуляции их действия [1, 4–7]. Какие конкретно пептиды являются физиологическими субстратами для той или иной протеиназы, находящейся на данной субпопуляции лимфоидных клеток, не всегда ясно.

Показано, что протеиназы часто локализованы на поверхности тех же клеток, где находятся рецепторы для атакуемых пептидов. В этих случаях ферменты конкурируют с рецептором за пептид-лиганд. Расщепляя пептид и уменьшая его концентрацию, протеиназы тем самым снижают интенсивность ответа клетки на этот фактор [1, 4–7]. Если на мембране клетки одновременно присутствуют две протеиназы, то может наблюдаться их последовательное действие (например, при гидролизе хемотактического пептида fMet-Leu-Phe под действием NEP и AP-N на поверхности гранулоцитов [5,7]). Протеиназы могут взаимодействовать не только с пептидом-лигандом, но и с находящимся рядом рецептором. В частности, предполагают, что, находясь на пре-В-лимфоците, AP-A может отщеплять N-концевой остаток (глутаминовой кислоты) как от интерлейкина 7 (IL-7), так и от его рецептора. В результате будет изменяться эффективность их связывания и ответ клетки на этот цитокин [7].

Физиологическими субстратами для DPP-IV на лимфоидных клетках, как полагают, могут быть некоторые цитокины: IL-2, IL-1 $\beta$ ,  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферон, лимфотоксин- $\beta$  и некоторые другие, N-концевая последовательность которых соответствует специфичности DPP-IV. Однако рекомбинантные формы этих белков не расщеплялись ферментом [15]. Возможно, что названные факторы могут гидролизироваться DPP-IV, будучи связанными с рецепторами.

#### *Модификация белков клеточной поверхности и биологическое значение этого процесса*

Субстратами AD-MP (и родственных ферментов) служат белки поверхности клетки (табл. 1). Многочисленными исследованиями показано, что в результате избирательного гидролиза пептидных связей в примембранной области разных белков плазматической мембраны происходит их "слущивание" (shedding) с поверхности клетки и образуются соответствующие растворимые формы [8, 9, 16–20]. Это происходит при определенных физиологических и патологических условиях и часто наблюдается после взаимодейст-

вия рецептора с лигандом. Удаление рецептора с поверхности клетки снижает ее чувствительность по отношению лиганду и тем самым регулирует интенсивность физиологического ответа клетки на этот лиганд [8, 9, 16–20].

Образование растворимых форм в результате ограниченного протеолиза описано для разнообразных по структуре и функциям интегральных белков мембраны I и II типов: различных рецепторов, ростовых факторов, эктоферментов, лейкоцитарных антигенов. Многие из них присутствуют на клетках иммунной системы и участвуют в межклеточных взаимодействиях [8,9,16-20].

В качестве примера рассмотрим образование растворимой формы TNF- $\alpha$  из мембраносвязанного предшественника, катализируемое AD-MP. В этом случае в примембранной области функционально активного мембраносвязанного TNF- $\alpha$  ( $M$  26 кДа) гидролизуется одна пептидная связь (Ala76-Val77) и освобождается растворимый цитокин ( $M$  17 кДа) [10, 11, 17]. Он может свободно перемещаться и взаимодействовать не только с соседними, но и с находящимися на расстоянии клетками-мишенями [17]. AD-MP является ключевым ферментом образования растворимого TNF- $\alpha$  в организме, так как установлено, что введение животным синтетических ингибиторов этого фермента предохраняет их от гибели, вызываемой усиленным освобождением этого цитокина [10, 11]. Под действием AD-MP или сходной протеиназы наблюдается образование растворимых форм рецепторов TNF- $\alpha$  [21, 22]. Растворимые рецепторы могут связывать TNF- $\alpha$  и тем самым ослаблять его действие на клетку [17, 18, 21, 22].

Еще одним субстратом для AD-MP в лимфоидных клетках может быть лиганд рецептора Fas (FasL), который включен в индукцию апоптоза – программированной гибели клеток [23, 24]. Растворимый FasL может вызывать апоптоз у находящихся на расстоянии клеток-мишеней и способствовать распространению этого процесса [9, 23, 24]. Примером действия AD-MP на рецептор с другой функциональной активностью может служить селектин L – адгезивный рецептор, обеспечивающий прикрепление лимфоцита к эндотелиальной клетке [9, 16, 25–27]. В результате гидролиза пептидной связи (Lys321-Ser322) в примембранной области селектина L ( $M$  74 кДа) и образования его растворимой формы ( $M$  68 кДа) нарушается контакт между лимфоцитом и эндотелиальной клеткой. Это дает возможность лимфоциту свободно перемещаться при миграции клеток из кровяного русла в лимфоидные органы [16, 25–27].

Приведенные выше, а также многие другие данные [9,16,28] свидетельствуют о том, что AD-MP или сходные протеиназы, действуя на белки поверхности клетки с различной функциональ-

ной активностью, могут модулировать разнообразные функции и поведение клеток иммунной системы.

Анализ связей, гидролизуемых AD-MP (или сходными протеиназами), а также исследования специфичности ферментов, проведенные с мутантными формами белков (селектина L, TNF- $\alpha$ , рецепторов TNF- $\alpha$ ) [9, 25, 26, 29], показали, что для действия ферментов существенное значение имеет определенная структура примембранного участка белка-субстрата и расстояние гидролизуемой связи от мембраны (не менее 12-15 а.о.); природа остатков, формирующих гидролизуемую связь, по-видимому, не является определяющим фактором. Как правило, расщепление связей происходит в зоне наиболее гибких междоменных “стебельковых” или “шарнирных” участков молекулы, положение которых может изменяться при связывании лигандов или в результате изменения состояния соседних компонентов мембраны [8, 9, 16–20].

Следует отметить, что протеолиз мембранных белков и освобождение их растворимых форм с поверхности клетки – строго регулируемый процесс, который контролируется как на уровне экспрессии определенной протеиназы, так и на уровне регуляции ее активности, а также путем изменения конформация субстрата – компонента мембраны – и доступности его для действия фермента [8, 9, 16, 17]. Часто образование растворимых форм мембранных белков происходит при активации и неопластической трансформации клеток и наблюдается при многих патологических состояниях (кахекии, сепсисе, аутоиммунных заболеваниях и др.) [9, 16–20]. Поэтому протеиназы, катализирующие подобные реакции, имеют важное значение и рассматриваются как потенциальные мишени при поиске новых лекарственных средств [9–11, 6, 18].

*Биологические функции эктопептидаз,  
не обусловленные протеолитической  
активностью*

Для понимания роли эктопептидаз в лимфоидных клетках важно знать, всегда ли их биологические функции связаны с энзиматической активностью. Рассмотрим этот вопрос на примере DPP-IV – полифункционального белка, данные о структуре и свойствах которого частично представлены на рис. 2 и в табл. 1 [6, 13, 30]. Как отмечалось выше, DPP-IV – активационный антиген T-лимфоцитов (CD26), экспрессия которого увеличивается при активации клеток [5, 6, 30]. При этом CD26 принимает участие в передаче на T-лимфоцит активационного сигнала (который в конечном итоге приводит к пролиферации определенного клона клеток и продукции ими соответствующих цитокинов) [5, 6, 30]. Для функционирования в качест-

ве активационного антигена энзиматическая активность DPP-IV необязательна. Это было установлено в опытах с трансфекцией в клетку мутантных форм DPP-IV (CD26): оказалось, что лишенная ферментативной активности молекула сохраняет способность передавать сигнал клетке [6, 31, 32]. Поскольку молекула DPP-IV (CD26) имеет только короткий 6-членный цитоплазматический участок (рис. 2), ясно, что для передачи сигнала при участии CD26 необходима ассоциация молекулы с другими компонентами мембраны и (или) цитоплазмы клетки. Таковыми, как полагают, могут быть протеинтирозинфосфатаза (CD45), аденозиндезаминаза и T-клеточный рецептор [33–35]. (Более подробно вопросы о роли DPP-IV в процессах активации разных субпопуляций T-лимфоцитов рассмотрены в обзорах [6, 30].)

Недавно установлено, что в клетке присутствует несколько молекулярных форм DPP-IV [36, 37]. Они различаются как степенью гликозилирования, так и длиной полипептидной цепи. В процессе митогенной активации T-лимфоцита разные формы DPP-IV появляются одновременно [36]. Более того, было показано, что не все, а только некоторые молекулярные формы DPP-IV являются активационными антигенами CD26 [37]. Каковы структурные особенности этих форм, пока неизвестно.

Еще одна биологическая функция DPP-IV связана с ее способностью связывать белки экстрацеллюлярного матрикса – фибронектин и коллаген, т.е. служить адгезивным рецептором [38–40]. Это показано для гепатоцитов и фибробластов. Выполняет ли эту роль DPP-IV в лимфоидных клетках, пока точно не установлено [41]. Для проявления адгезивных свойств энзиматическая активность DPP-IV, по-видимому, не имеет существенного значения [39].

DPP-IV является кофактором в процессе проникновения в клетку вируса СПИД [42, 43]. Мнения по поводу функций DPP-IV в этом процессе разноречивы [42–46]. Предполагают, что DPP-IV взаимодействует с белком вируса gp120 и, расщепляя связь в его V3-петле, способствует проникновению ВИЧ в клетку [42, 43]. Возможно, что в этом процессе DPP-IV действует совместно с другим находящимся на мембране T(CD4<sup>+</sup>)-лимфоцита ферментом – триптазой TL-2 [44].

В организме наряду с мембраносвязанной DPP-IV, находящейся на поверхности клетки, имеется свободная форма фермента. Источником DPP-IV плазмы крови, как полагают, могут быть активированные T-лимфоциты, с поверхности которых наблюдалось “слущивание” определенных молекулярных форм фермента [36]. Растворимая DPP-IV по ферментативным свойствам подобна мембраносвязанной форме; она способна

также связывать аденозиндезаминазу и реагировать с белком ВИЧ gp120 и, как считают, имеет важное иммунорегуляторное значение [45, 47]. Под действием каких факторов происходит образование растворимой формы фермента и какова ее роль в регуляции функций мембраносвязанной DPP-IV на поверхности клетки, пока точно не установлено.

На примере DPP-IV можно видеть, что функционирование этого белка в клетке не всегда обусловлено энзиматической активностью, а часто связано со способностью образовывать комплексы с другими белковыми компонентами. В связи с этим заслуживает внимания цистеинбогатый домен в молекуле DPP-IV (рис. 2), который подобно аналогичным доменам в других рецепторах может обеспечивать ассоциацию DPP-IV с другими компонентами мембраны и межклеточного матрикса.

Не только DPP-IV, но и другие рассмотренные выше эктопептидазы являются полифункциональными белками и помимо ферментативной могут выполнять рецепторную функцию. Например, AP-N является рецептором для некоторых коронавирусов [48, 49] и цитомегаловирусов [50].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные данные свидетельствуют о том, что эктопептидазы лимфоидных клеток являются мультидоменными полифункциональными белками, биологическая функция которых не всегда обусловлена их протеолитической активностью. Тем не менее основная физиологическая роль этих ферментов связана с внеклеточным протеолизом, протекающим на поверхности клетки. Можно предполагать, что указанные протеиназы являются элементами сенсорной системы клетки, которые, действуя сопряженно с соответствующими рецепторами, определяют физиологический ответ клетки на меняющиеся условия. Это реализуется путем взаимодействия протеиназ с различными факторами внешней среды и участия ферментов в регуляции межклеточных взаимодействий. В табл. 2, суммирующей изложенные выше данные, показано, каким образом указанные ферменты могут быть включены в регуляцию этих процессов.

Участвуя в образовании и инактивации ростовых факторов и регуляторных пептидов, протеиназы регулируют локальную концентрацию эффекторов на поверхности клетки. Катализируя образование растворимых форм рецепторов (и других мембранных белков), протеиназы контролируют число эффективных рецепторов (или других компонентов) на поверхности клетки и тем самым определяют порог чувствительности “акцепторной системы”. Удаляя лиганды или ли-

**Таблица 2.** Биологические функции протеиназ плазматической мембраны как элементов сенсорной системы клетки

Процесс	Функция
<b>I. Регуляция физиологического ответа клетки на внешний фактор</b>	
1) Регуляция локальной концентрации эффекторов	а) образование б) инактивация в) модификация
	} ростового фактора, цитокина, регуляторного пептида
2) Регуляция числа эффективных рецепторов на поверхности - порога чувствительности клетки	а) модификация рецепторов б) образование растворимых форм, рецепторов
3) Регуляция продолжительности действия эффектора (прерывание сигнала)	а) удаление лигандов б) удаление лиганд-рецепторных комплексов
4) Изменение топографии биологического процесса	Образование растворимых форм ростовых факторов, рецепторов
<b>II. Регуляция межклеточных взаимодействий</b>	
Изменение межклеточных контактов (нарушение или способствование кооперации клеток)	а) модификация рецепторов на поверхности клетки б) образование растворимых форм ростовых факторов, рецепторов

ганд-рецепторные комплексы с поверхности клетки, протеиназы регулируют продолжительность действия эффектора и осуществляют таким путем временной контроль биологического процесса. Важная роль принадлежит протеиназам плазматической мембраны в координации межклеточных взаимодействий. Образуются растворимые формы ростовых факторов и рецепторов, протеиназы могут существенно менять локализацию биологического процесса и способствовать его распространению. В результате вместо одной или нескольких соседних клеток (аутокринный или ютакринный механизм соответственно [17]) в реализацию биологического процесса могут быть вовлечены находящиеся на расстоянии клетки и другие клеточные системы (паракринный механизм регуляции). Из табл. 2 видно, что регуляция многих указанных процессов осуществляется путем единого механизма – ограниченного протеолиза белков плазматической мембраны. Образовавшиеся при этом растворимые формы белков в большинстве случаев сохраняют исходную функциональную активность [8, 16–20]. Конкурируя с мембраносвязанными белками за лиганд или субстрат, растворимые формы белков контролируют эффективность функционирования соответствующих компонентов на поверхности клетки.

Приведенный материал дает возможность только в самом общем виде представить себе биологическое значение протеиназ плазматической мембраны и оценить роль протеолиза, осуществляемого на поверхности клетки, в ее жизнедеятельности. Имеющиеся в настоящее время сведе-

ния недостаточны для того, чтобы понять, какова конкретная функция той или иной протеиназы плазматической мембраны в определенной лимфоидной клетке. Данные о том, что NEP, DPP-IV, AP-A и AP-N – дифференцировочные антигены, образование которых в процессах созревания клеток гемопоэтического ряда находится под строгим генетическим контролем, указывают на функциональную значимость рассматриваемых протеиназ на определенных этапах развития данной субпопуляции клеток. Можно предполагать, что, включаясь в обмен определенного иммунорегуляторного цитокина, протеиназа модифицирует ответ клетки на этот фактор и тем самым способствует процессу дифференцировки. Однако до тех пор, пока не будут выяснены физиологические субстраты для каждой из протеиназ, ее биологическая роль в той или иной субпопуляции клеток не может быть объяснена однозначно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kenny A.J., Turner A.J.// Mammalian Ectoenzymes/ Eds A.J. Kenny, A.J. Turner. Amsterdam: Elsevier, 1987. P. 1–12.*
2. *Локишина Л.А.// Молекулярн. биология. 1979. Т. 13. С. 1205–1229.*
3. *Локишина Л.А.// Биооргани.химия. 1994. Т. 20. С. 134–142.*
4. *LeBien T.W., McCormack R.T.// Blood. 1989. V. 73. P. 625–635.*

5. *Shipp M.A., Look A.T.*// Blood. 1993. V. 82. P. 1052–1070.
6. *Fleischer B.*// Immunol. Today. 1994. V. 15. P. 180–184.
7. *Wang J., Cooper M.D.*// Zinc Metalloproteases in Health and Disease/ Ed. N.M. Hooper. L.: Taylor & Francis, 1996. P. 131–151.
8. *Ehlers M., Riordan J.*// Biochemistry. 1991. V. 30. P. 10065–10074.
9. *Hooper N.M., Karran E.H., Turner A.J.*// Biochem. J. 1997. V. 321. P. 265–279.
10. *Black R., Rauch C.T., Kozlosky C.J., Peschon J.J., Slack J.L., Wolfson M.E., Castner B.J., Mohler K., Stocking K.L., Reddy P., Srinivasan S., Nelson N., Bolani N., Schooley K.A., Gerhart M., Davis R., Flitzner J.N., Johnson R.S., Paxton R.J., March C.J., Cerretti D.P.*// Nature. 1997. V. 385. P. 729–733.
11. *Moss M.L., Jin C., Milla M.E., Burkhart W., Carter H.L., Chen W.-J., Clay W. C., Didsbury J.R., Hassler D., Hoffman C.R., Kost T.A., Lambert M.H., Leesnitzer M.A., McCauley P., McGeehan G., Mitchell J., Moyer M., Pahel G., Rocque W., Overton L.K., Schoenon F., Seaton T., Su J.-L., Warner J., Willard D., Becherer J.D.*// Nature. 1997. V. 385. P. 733–736.
12. *Wolfsberg T.G., Primakoff P., Myles D.G., White J.*// J. Cell Biol. 1995. V. 131. P. 275–278.
13. *Marguet B., Bernard A.M., Vivier L., Darmoul D., Naquet H., Pierres M.*// J. Biol. Chem. 1992. V. 267. P. 2200–2208.
14. *Соловьева Н.И.*//Биоорган. химия. 1998. Т. 24. С. 245–255.
15. *Hoffmann T., Faust J., Neubert K., Ansorge S.*// FEBS Lett. 1993. V. 336. P. 61–64.
16. *Bazil V.*// Immunol. Today. 1995. V. 16. P. 135–140.
17. *Massague J., Ponninella A.*// Ann. Rev. Biochem. 1993. V. 62. P. 515–541.
18. *Rose-John S., Heinrich P.C.*// Biochem. J. 1994. V. 300. P. 281–290.
19. *Кульберг А.Я.* Рецепторы клеточных мембран. М.: Высш. шк., 1987.
20. *Кульберг А.Я.*//Регуляторные R-белки при инфекционных и других заболеваниях (Сборник научных трудов). М.: Изд-во АМН СССР, 1990. С. 3–9.
21. *Crowe P.D., Walter B.N., Mohler K.M., Otten-Evans C., Black R.A., Ware C.F.*// J. Exp. Med. 1994. V. 181. P. 1205–1210.
22. *Williams L.M., Gibbons D.L., Gearing P., Maiani R.N., Feldmann M., Brennan F.M.*// J. Clin. Invest. 1996. V. 97. P. 2833–2841.
23. *Nagata S., Golstein P.*// Science. 1995. V. 267. P. 1449–1456.
24. *Kayagaki N., Kawasaki A., Ebata T., Ohmoto H., Ikeda S., Inoue S., Yoshino K., Okamura K., Yagita H.*// J. Exp. Med. 1995. V. 182. P. 1177–1783.
25. *Chen A., Engel P., Tedder T.F.*// J. Exp. Med. 1995. V. 182. P. 519–530.
26. *Migaki G.I., Kahn J., Kishimoto T.K.*// J. Exp. Med. 1995. V. 182. P. 531–549.
27. *Preece G., Murphy G., Ager A.*// J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 11634–11640.
28. *Demaria S., Schwab R., Gottesman S., Bushkin Y.*// J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 6689–6694.
29. *Brakebusch C., Varfolomeev E.E., Batkin M., Wallach D.*// J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 32488–32496.
30. *Робинсон М.В., Труфакин В.А.*// Иммунология. 1997. № 2. С.13–16.
31. *Coburn M.C., Hixon D.C., Reichner J.S.*// Cell. Immunol. 1994. V. 158. P. 269–280.
32. *Steege C., Hartwig U., Fleischer B.*// Cell. Immunol. 1995. V. 164. P. 311–315.
33. *Torimoto Y., Dang N.H., Vivier E., Tanaka T., Schlossman S.F., Morimoto C.*// J. Immunol. 1991. V. 147. P. 2514–2517.
34. *Kameoka J., Tanaka T., Nojima Y., Schlossman S.F., Morimoto C.*//Science. 1993. V. 261. P. 466–469.
35. *Mittrucker H.W., Steege C., Malissen B., Fleischer B.*// Eur. J. Immunol. 1995. V. 25. P. 295–297.
36. *Duke-Cohan J. S., Morimoto C., Rocker J.A., Schlossman S.F.*// J. Immunol. 1996. V. 156. P. 1714–1721.
37. *Kahne T., Kroning H., Thiel U., Ulmer A.J., Flad H.D., Ansorge S.*// Cell. Immunol. 1996. V. 170. P. 63–70.
38. *Bauvois B.*// Biochem. J. 1988. V. 252. P. 723–731.
39. *Hanski C., Huhle T., Grossrau R., Reutter R.*// Exp. Cell Res. 1988. V. 178. P. 64–72.
40. *Piazza G.A., Gallanan H.A., Mowery J., Hixson D.C.*// Biochem. J. 1989. V. 262. P. 327–334.
41. *Reich C., Mattern T., Schonbeck U., Ansorge S., Demuth H.U., Loppnow H., Ulmer A.J., Flad H.D.*// Tissue Antigens. 5th Int. Conf. on Human Leukocyte Differentiation Antigens. Copenhagen: Munksgaard, 1993. P. 250.
42. *Callebaut C., Krust B., Jacotot E., Hovanessian A.G.*// Science. 1993. V. 262. P. 2045–2050.
43. *Gutheil W.G., Subramanyam M., Flentke G.R., Sanford D., Munoz E., Huber B.T., Bachovchin W.W.*// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 6594–6598.
44. *Niwa Y., Okubo J., Yano M., Kido H.*// Abstr. 10th Int. Conf. on Prot. Catabolism. Tokyo, 1994. P. 135.
45. *Valenzuela A., Blanco J., Callebaut C., Jacotot E., Lluís C., Hovanessian A.G., Franco R.*// J. Immunol. 1997. V. 158. P. 3721–3729.
46. *Morimoto C., Lord C.I., Zhang C., Duke-Cohan J.S., Letvin N.L., Schlossman S.F.*// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 9960–9964.
47. *Dong R.-P., Kameoka J., Hegen M., Tanaka T., Xu Y., Schlossman S.F., Morimoto C.*// J. Immunol. 1996. V. 156. P. 1349–1355.
48. *Delmas B., Gelfi J., L'Haridon R., Vogel L.K., Sjöström H., Noren O., Laude H.*// Nature. 1992. V. 357. P. 417–420.
49. *Yeager C.L., Ashum R.A., Williams R.K., Cardelli-chio C.B., Shapiro L.H., Look T.A., Holmes K.V.*// Nature. 1992. V. 357. P. 420–422.
50. *Guigni T.D., Sorenberg C., Ham D.J., Bautista R.M., Hedlund K.O., Moller E., Zaia J.A.*// J. Infect. Dis. 1996. V. 173. P. 1062–1071.



## Plasma Membrane Proteases of Lymphoid Cells and Their Biological Functions

L. A. Lokshina\*

*Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, Pogodinskaya ul. 10, Moscow, 119832 Russia*

The properties, distribution, and biological functions of several proteases from the plasma membrane of lymphoid cells are reviewed: dipeptidyl peptidase IV, neutral endopeptidase, aminopeptidases A and N, and a new protease of the family of adamalysins. These enzymes (designated as ectopeptidases) are integral membrane proteins whose molecules are mainly located extracellularly. Their functions involve proteolysis on the cell surface: the formation and inactivation of regulatory peptides and growth factors, as well as modification of cell surface proteins. The biological significance of a partial proteolysis of the plasma membrane proteins and the resulting soluble isoforms are discussed. An analysis of the data suggests that ectopeptidases from lymphoid cells are elements of the sensory system of the cell and are involved in the regulation of its physiological response to external factors and in the coordination of cell-cell interactions.

*Key words: proteases, ectopeptidases, regulatory peptides, receptors, cytokines, growth factors, plasma membrane, lymphoid cells*

\* Fax: +7 (095) 245-0857; e-mail: solovyev@ibmh.msk.su.