

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА PAX-5 В ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Нёма М.А., Иванов В.А.,
Липкин Г.И.

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Резюме. Рассмотрены характеристики транскрипционного фактора PAX-5 (paired box 5) (BSAP), его строение, функции, регуляция его активности, вклад в дифференцировку и активацию В-лимфоцитов, процессы переключения на синтез иммуноглобулина Е, участие фактора в опухолевых процессах и предполагаемая роль в развитии бронхиальной астмы (БА).

Исследование особенностей транскрипционного фактора PAX-5 при БА может представлять одно из перспективных направлений в изучении механизмов развития этого заболевания.

Ключевые слова: PAX-5, транскрипционные факторы, В-лимфоциты, бронхиальная астма, IgE.

Mineev V.N., Sorokina L.N., Nyoma M.A., Ivanov V.A., Lipkin G.I.

ROLE OF PAX-5 TRANSCRIPTION FACTOR IN IMMUNOLOGICAL PROCESSES

Abstract. The review article concerns various features of PAX-5 (paired box 5) transcription factor, its structure, functions, regulation of activity, involvement into differentiation and activation of B lymphocytes, switching to IgE synthesis, its role in oncogenesis, and a putative role of this factor for development of bronchial asthma.

Further insight into specific properties of PAX-5 factor in bronchial asthma may provide a promising approach to studying mechanisms of this disorder. (*Med. Immunol.*, 2011, vol. 13, N 6, pp 569-580)

Keywords: PAX-5, transcription factors, B lymphocytes, bronchial asthma, IgE.

В процессах иммунитета и патогенезе различных заболеваний ключевые роли, как правило, принадлежат белковым молекулам, в образовании которых важная роль принадлежит транскрипции генов.

Транскрипционный уровень регуляции активности генов является одним из главных этапов определения фенотипа, он связан с деятельностью факторов транскрипции (транскрипционных факторов). Так называют белки или белковые комплексы, непосредственно не участвующие

в каталитическом акте образования РНК, но необходимые для прохождения основных этапов транскрипции и ее регуляции [2].

В настоящее время считается, что около 2600 белков способны связываться с ДНК, и большинство из них могут являться транскрипционными факторами [5].

Семейство транскрипционных факторов PAX (paired box) регулирует экспрессию целых каскадов других генов, отвечающих за развитие клеток и тканей. Наименование «PAX» связано с тем фактом, что ДНК-связывающий участок этих белков представлен так называемым «парным доменом», который кодируется в генах PAX «парным боксом» (paired box) – последовательно, названной так благодаря ее обнаружению в «парных генах». Эти гены определяют раннюю

Адрес для переписки:

Минеев Валерий Николаевич
198516, Санкт-Петербург, Петродворец,
Санкт-Петербургский пр., 56, кв.15.
Тел.: (812) 450-71-63.
E-mail: vnmineev@mail.ru

парную сегментацию зародышей дрозофилы [23, 7, 8, 9]. Гены PAX — древнее и довольно консервативное семейство генов, они были идентифицированы у многих видов многоклеточных животных [55].

Семейство факторов PAX у млекопитающих представлено 9 белками. В таблице 1 представлены структуры организма, развивающиеся под контролем этих молекул, и заболевания, ассоциированные с мутациями этих факторов.

Строение белков PAX

Белки PAX обладают 128-аминокислотным «парным доменом», кроме того, у ряда PAX-белков присутствуют октапептидный участок и гомео-домен.

Внутри семейства по строению и сходству парных доменов факторы PAX разделены на 4 группы. К первой группе относят белки PAX-3 и PAX-7, которые, помимо парного домена, содержат полноценный гомео-домен и октапептид. Вторая группа представлена PAX-4 и PAX-6, у которых отсутствует октапептид. Третья группа включает PAX-2, PAX-5 и PAX-8, которые имеют в своем составе октапептид, но гомео-домен в этих белках представлен лишь частично. К четвертой группе относят PAX-1 и PAX-9, которые вообще не содержат гомео-домена [56].

Считается, что ДНК-связывающей активностью могут обладать и парный домен, и гомео-домен. Кроме того, эти домены могут взаимодействовать своими областями «спираль-поворот-спираль» как внутри одной молекулы, так и с другой молекулой, что обуславливает потенциальную возможность этих факторов связываться с разными последовательностями ДНК [22].

Транскрипционный фактор PAX-5

В последние годы все больше внимания привлекает белок PAX-5, что, видимо, связано с его ролью в иммунологических процессах.

Первоначально этот фактор был выделен как человеческий аналог белка TSAP (tissue specific activator protein), открытого у морских ежей, и был назван «BSAP. (B-cell lineage specific activator protein), так как был обнаружен в пре-B-лимфоцитах, про-B-лимфоцитах и в зрелых В-клетках, полученных из лимфатических узлов, селезенки, но не обнаруживался в клетках поздней стадии дифференцировки В-клеток — плазматических [6].

Позднее было выявлено, что этот белок кодируется геном PAX-5 и принадлежит к семейству

транскрипционных факторов, обладающих парным доменом. Было обнаружено, что ген PAX-5 экспрессируется также и в тканях ЦНС эмбрионов человека, печени плода (где начинается В-лимфопоэз), слюнных желез, легких и в тестикулярных железах взрослых мышей [4]. В настоящее время принято и сам белок, и его ген именовать «PAX-5».

Роль PAX-5 в развитии В-лимфоцитов

Одна из основных функций транскрипционного фактора PAX-5 — регуляция развития В-лимфоцитов. PAX-5 определяет приверженность предшественников В-клеток своей линии дифференцировки, угнетая возможность их превращения в Т-лимфоидные и миелоидные клетки [11].

Как известно, единая стволовая плюрипотентная клетка дает начало всем росткам кроветворения, включая лимфоцитарный росток. Под контролем разных цитокинов предшественники лимфоцитов дифференцируются в Т- и В-лимфоциты (рис. 1). PAX-5 экспрессирован в линии развивающихся В-клеток от про-В-клеток до стадии зрелых В-лимфоцитов и необходим также для поддержания их функций: в экспериментах с инактивацией PAX-5 в зрелых мышечных В-лимфоцитах менялся состав поверхностных молекул клеток, угнеталась экспрессия специфических В-клеточных генов и, наоборот, активировались нелимфоидные гены [21].

PAX-5 преимущественно транскрибируется только с одного аллеля в ранних предшественниках и зрелых В-лимфоцитах, а в незрелых В-клетках переходит на режим транскрипции с обоих аллелей [38, 36].

В экспериментах с костным мозгом PAX-5^{-/-} мышей дифференцировка В-клеток останавливалась на стадии ранних про-В-клеток [53]. В зависимости от окружения (ростовых факторов, стромальных клеток костного мозга) PAX-5^{-/-} клетки *in vitro* могут сохранять возможность дифференцировки в разные клетки миелоидного и лимфоидного ростков, а при восстановлении экспрессии PAX-5 — вновь ограничиваются в возможности развития только в направлении В-лимфоцитов [37].

Таким образом, в иммуногенезе PAX-5 выполняет двойную роль: подавляет экспрессию несвойственных В-лимфоидному росту генов и в то же время активирует специфические для В-клеток гены. В частности, PAX-5 угнетает экспрессию генов рецептора к макрофагальному колониестимулирующему фактору (M-CSFR), рецептора, требующегося для развития

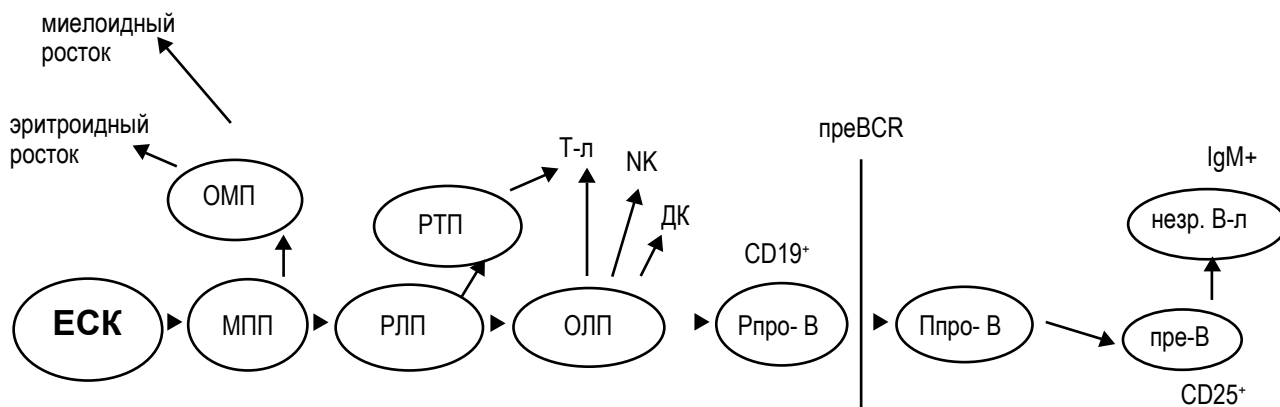


Рисунок 1. Схема В-лимфопоэза

Примечание. ЕСК – единая стволовая клетка-предшественник; МПП – мультипотентный предшественник; РЛП – ранний лимфоидный предшественник; ОМП – общий миелоидный предшественник; ОЛП – общий лимфоидный предшественник; РТП – ранний предшественник Т-клеток; Т-л – Т-лимфоциты; NK – клетки-естественные киллеры; ДК-дендритные клетки; Рпро-В – ранние про-В-лимфоциты; Ппро-В – поздние про-В-лимфоциты; пре-В – пре-В-лимфоциты; незр. В-л – незрелые В-лимфоциты; преBCR – пре-В-клеточный рецептор [36].

Обозначены поверхностные молекулы, появляющиеся на соответствующих стадиях развития.

Т-лимфоцитов Notch1 [11] и активирует синтез молекул, необходимых для функционирования В-клеточного рецептора: сигнальной цепи $I\gamma\alpha$ (ген mb-1), поверхностной молекулы CD19 и сигнал-проводящего белка BLNK(B-cell linker protein).

Одним из главных событий в созревании В-лимфоцитов является V-DJ реаранжировка генов, необходимая для формирования В-клеточного рецептора [3]. PAX-5 усиливает экспрессию μ -цепей иммуноглобулинов (путем влияния на V-DJ-реаранжировку генов), требующихся для формирования IgM, в созревающих В-клетках (рис. 2) [11].

По некоторым данным, PAX-5 может связываться с промотером гена p53, ответственного за подавление опухолей и снижать его активность [50].

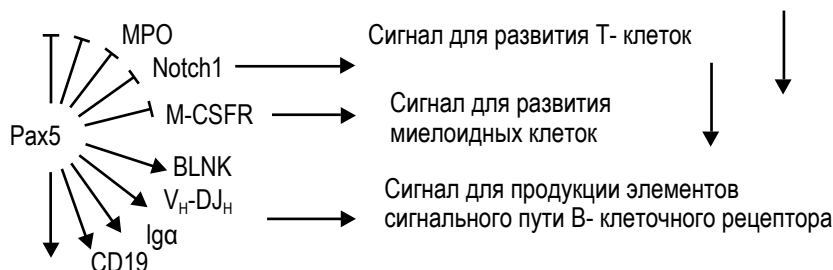
Регуляция PAX-5

На транскрипционную активность PAX-5 могут влиять другие транскрипционные факторы. В промотере гена PAX-5 имеются участки для связывания других транскрипционных факторов: PU.1, NfкаппаВ, EBF, IRF4, IRF8 [13].

Еще одной группой факторов, влияющих на активность PAX-5, являются Ets-белки (Net и Elk-1), каждый из которых может связываться с парным доменом PAX-5 и формировать третичный белковый комплекс, что ведет к увеличению сродства Ets-факторов к ДНК [16, 17].

Возможность PAX-5 выполнять функцию как активатора так и репрессора транскрипции связывают с его взаимодействием с белками семейства Groucho, в частности с корепрессором Grg4 (TLE4).

Гены, несвойственные В- клеткам



Гены, специфичные для В- клеток

Рисунок 2. Двойная роль PAX-5 в развитии В-клеток

Примечание. MPO-миелопероксидаза; Notch1 – сигнальная молекула Т-клеточного роста; M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор; BLNK – В-лимфоцитарный линкерный белок; V_H-DJ_H - V-DJ реаранжировка генов тяжелых цепей иммуноглобулинов [11].

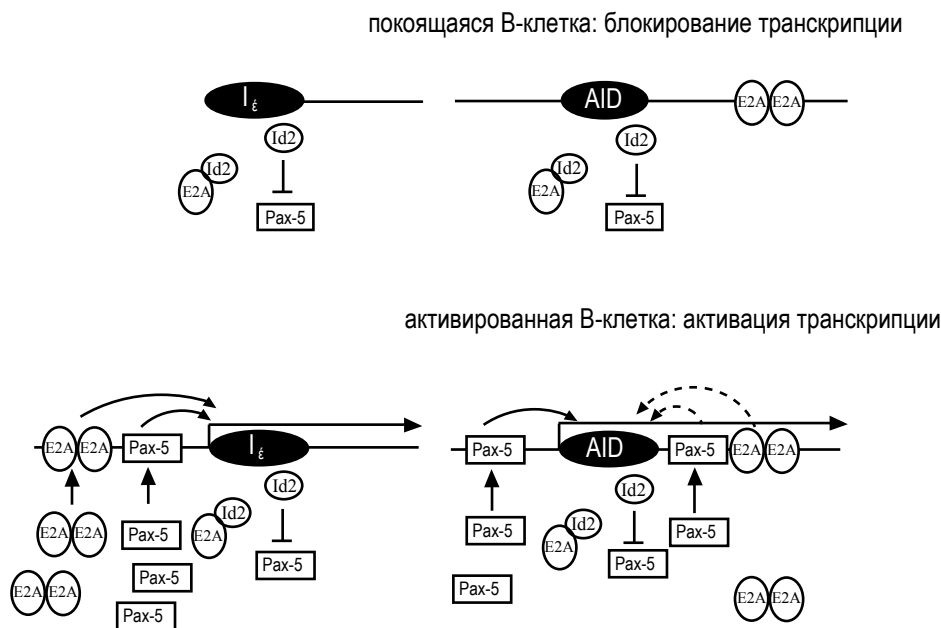


Рисунок 3. Регуляция экспрессии генов AID и IgE транскрипционными факторами E2A, PAX-5 и кофактором Id2

Примечание. В покоящейся В-клетке Id2 угнетают активность PAX-5, транскрипция цепей IgE и AID не происходит. В активированном В-лимфоците количество E2A и PAX-5 превышает количество Id2, инициируется транскрипция цепей IgE и AID [18].

В В-клетках экспрессия генов тяжелых цепей иммуноглобулинов (IgH) частично регулируется энхансерными 3'-участками. С одним из них — HS 1,2 в процессе развития В-лимфоцитов связываются белки PAX-5, PU.1 и NfκарраВ, причем PU.1 и NfκарраВ могут активировать транскрипцию с участка, регулируемого этим энхансером, а PAX-5 — подавлять ее [27]. Было показано, что PAX-5 и PU.1 совместно привлекают Grg4 в комплекс, связывающийся с энхансером HS 1,2, что ведет к угнетению транскрипции. Подобное же взаимодействие было продемонстрировано в отношении промотора J-цепи, и также являющегося мишенью для репрессорной активности PAX-5. PAX-5 также, предположительно, угнетает экспрессию с 3'-энхансера легких κ-цепей. Два этих регуляторных участка (промотор J-цепи и 3'-энхансер легких κ-цепей) сближены благодаря спирализации ДНК и, теоретически, связываясь с PAX-5 и PU.1, могут формировать сайт для связывания Groucho факторов. Все 3 регуляторных элемента (HS 1,2, промотор J-цепи и 3'-энхансер легких κ-цепей) вовлечены в процесс регуляции секреции иммуноглобулинов. Этот факт особенно интересен, если учесть, что концентрация Groucho факторов снижается в процессе активации В-клеток (а количество транскриптов Grg4 сильно снижено в плазматических клетках), при этом, транскрипция с HS 1,2 и промотора J-цепи активируется [26].

PAX-5 также активирует экспрессию фермента RAG2 в процессе созревания В-лимфоцитов, действуя при этом совместно с другим транскрипционным фактором — сMyb [24].

Зрелые В-лимфоциты, завершившие V-DJ-реаранжировку генов легких и тяжелых цепей, мигрируют во вторичные лимфоидные органы (селезенку и лимфатические узлы), где происходит встреча с антигенами. В-лимфоциты, активированные антигенами, пролиферируют и формируют т. н. «зародышевые центры». В этих центрах в В-клетках при контакте с Т-лимфоцитами происходят модификации ДНК 2-х типов: переключение на синтез другого класса Ig и соматические гипермутации. Центральной молекулой в инициации этих иммунологических процессов считают AID (activation-induced cytidine deaminase — индуцируемая активацией цитидин-деаминаза) [40]. В регуляторных участках гена этого фермента присутствуют участки для связывания PAX-5 и E2A. Количество E2A и транскриптов PAX-5 увеличивается при активации В-клеток, а активность этих транскрипционных факторов ведет к усилению экспрессии AID [18]. Однако действие E2A и PAX-5 ограничивается еще одним кофактором — белком Id2. Кофакторы семейства Id (inhibitors of DNA binding), не имеют ДНК-связывающих доменов, однако, могут связываться с транскрипционными факторами, угнетая их возможность связываться с ДНК. Id-белки могут угнетать транскрипционную ак-

тивность PAX-5, связываясь с его парным доменом, а также могут препятствовать образованию комплексов PAX-5 с Ets-белками и вызывать диссоциацию связи PAX-5 с ДНК [43]. Количественное соотношение Id2, E2A и PAX-5 является элементом регуляции экспрессии AID [18] (рис. 3).

Активность PAX-5 может также регулироваться за счет окислительно-восстановительных реакций, затрагивающих цистеиновые остатки в субдомене PAI, которые будучи восстановленными задействуются в связывании с ДНК [52]. Полагают, что фермент APE/Ref-1 (также называемый APX) способен получать сигнал от поверхностной молекулы CD40 при стимуляции В-лимфоцитов и, транслоцируясь в ядро, восстанавливать PAX-5, индуцируя его транскрипционную активность [33]. Следует отметить, что в передаче сигнала от CD40 участвует и белок NFκарраВ, таким образом, в В-клетках формируется целая сигнальная сеть с вовлечением ферментов, транскрипционных факторов и рецепторных молекул.

В В-клетках, стимулированных IL-4, обнаружены участки связи с E2A и PAX-5 в промоторе «ε-зародышевого участка», локусе ε-тяжелых цепей, необходимых для продукции IgE (этот вопрос более детально изложен в главе «PAX-5 и IgE»). IL-4 стимулирует транскрипцию ε-цепей и индуцирует переключение на синтез IgE. В Id^{-/-} В-клетках это переключение усилено за счет стимуляции факторами E2A и PAX-5, освобожденными от негативного влияния Id2 [18] (рис. 3).

Еще одним фактором, влияющим на деятельность PAX-5, является белок Blimp-1 (B-lymphocyte-induced maturation protein 1), чья активность связана с дифференцировкой В-лимфоцитов в плазматические клетки.

Blimp-1 связывается с промотором гена PAX-5 и угнетает его экспрессию (для этого он также сам может привлекать факторы Groucho) [10].

PAX-5 является не только ключевым элементом приверженности В-клеток своей линии развития, но и удерживает их от потери своей идентичности и дифференцировки в плазматические IgM-секретирующие клетки, теряющие свои поверхностные маркеры (в том числе, CD19). Это связано с его репрессорным влиянием на ген белка XBP-1 (X-box binding protein 1), необходимого для дифференцировки в плазматические клетки, а также на некоторые гены тяжелых цепей иммуноглобулинов (в частности, α-цепей) [25, 42].

PAX-5 индуцирует экспрессию транскрипционного фактора BCL6 (bcl6), который репресси-

рует ген *prdm1* (ген фактора Blimp-1). До конца неясно, может ли самостоятельно PAX-5 угнетать активность Blimp-1 или он это делает посредством *bcl6*. При устранении негативного влияния PAX-5 и *bcl6* на Blimp-1 начинается экспрессия генов, характерных для плазматических клеток [31, 34, 35].

Связываться с PAX-5 могут также кофакторы Daхх (который, как предполагается, потенциально может быть коактиватором и корепрессором, благодаря вовлечению третьих белков [15]), HIRA и белок Rb, однако отчетливых данных об их способности в реальности оказывать эффект на активность PAX-5 не получено [14].

Изоформы PAX-5

Помимо полного транскрипта, который называют PAX-5a (PAX-5A), в ходе альтернативного сплайсинга могут образовываться несколько транскриптов сокращенных последовательностей. У человека ген *Pax-5* находится в участке p13 9-й хромосомы и регулируется с двух промоторных участков: первый содержит ТАТА-последовательность (ТАТА-бокс) и находится перед экзоном 1A, второй участок, не обладающий ТАТА-боксом, находится дальше от 5'-конца и предшествует экзону 1B [45]. Две мРНК, образующиеся в результате транскрипции различаются только по 5'-нетранслируемой последовательности и наличию 1-го экзона. Считается, что большинство клеток, обладающих *Pax-5* экспрессируют обе изоформы в равном количестве (в пре-В клетках примерно 1:1).

Pax-5A является активатором экспрессии молекулы CD19. В экспериментах по угнетению активности *Pax-5B* наблюдалось увеличение экспрессии CD19, что связывают с подавлением экспрессии этой молекулы в В-лимфоцитах изоформой *Pax-5B*. По некоторым данным, супрессия *Pax-5B* усиливает апоптоз В-лимфоцитов, что может свидетельствовать о роли этой изоформы в онкогенезе [45].

В В-клетках клетках, полученных от больных хроническим лимфолейкозом и миеломной болезнью была описана изоформа *Pax-5/ΔEx-8*, в которой отсутствовал экзон 8, что приводило к сокращению трансактивационного домена. Полагают, что эта изоформа, обладающая полным сродством к ДНК, может подавлять экспрессию AID [40].

G.A. Robichaud et al. [44] идентифицировали другие изоформы PAX-5 в В-клетках человека, характеризующиеся как отсутствием отдельных, так и целых групп экзонов на 3'-конце мРНК. В трех случаях (*Pax-5Δ7*, *Pax-5Δ7/8*, и *Pax-*

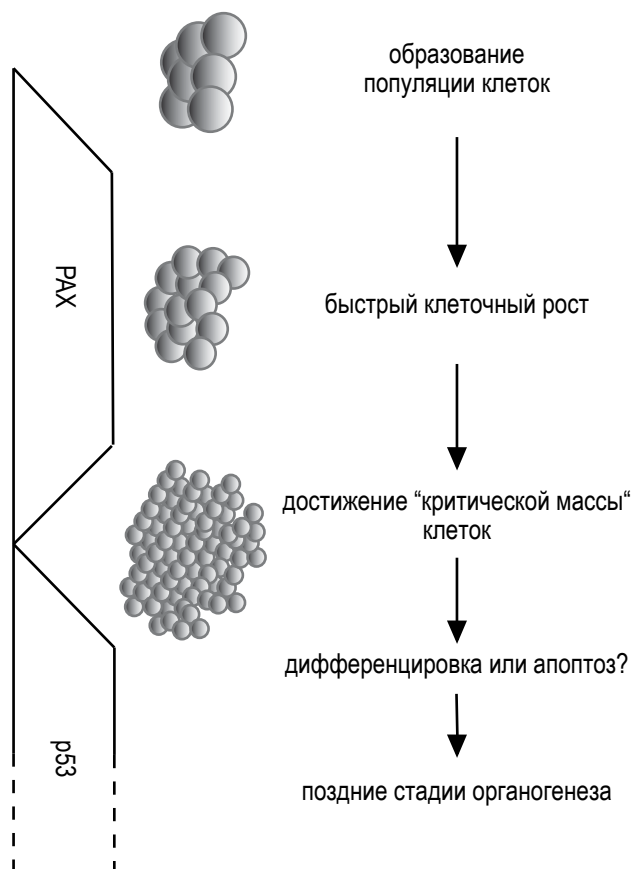


Рисунок 4. Предполагаемое взаимоотношение PAX-5 и p53 во время эмбриогенеза [12]

5Δ7/8/9) альтернативный сплайсинг приводит к сдвигу рамки считывания, что ведет к образованию новой аминокислотной последовательности с повышенным содержанием остатков пролина, серина и треонина (PST), такие участки характерны для трансактивационных доменов и других белков Pax. Это ведет к изменению активности под его контролем, за счет изменения способности PAX-5 взаимодействовать с кофакторами (Ets, TLE4).

Таким образом, активность транскрипционного фактора в иммунологических процессах PAX-5 может регулироваться и за счет альтернативного сплайсинга.

PAX-5 и онкогенез

Возникновение и прогрессирование опухолей часто рассматривают как следствия дисбаланса иммунного контроля над клеточными популяциями. В целом ряде исследований было показано, что нарушение экспрессии Pax-5 связано с возникновением разного типа опухолей, в других же указывалось на чрезмерную экспрессию это-

го фактора при многих вариантах В-клеточных лимфом, лимфолейкозов и при миеломах.

Опухолевые клетки характеризуются иным составом поверхностных маркеров, чем нормальные клетки. В частности, считается, что миеломные клетки не экспрессируют CD19, в то время как эта молекула присутствует на нормальных плазматических клетках [20]. Это связывают с недостатком PAX-5, который необходим для транскрипции CD19, однако этот дефицит транскрипционного фактора вызван не изменением экспрессии Id2 и E2A, а, по всей видимости, активностью других факторов [30].

Опухоли системы кроветворения часто связаны со специфическими хромосомными транслокациями, которые ведут к изменениям в реализации функций генов, контролирующей дифференцировку, пролиферацию или апоптоз.

При В-клеточных опухолях в такие транслокации часто вовлекается участок 14-й хромосомы q32, где расположены гены тяжелых цепей иммуноглобулинов (IgH). В клетках лимфоплазматитоидной лимфомы и крупноклеточной лимфомы была обнаружена транслокация t(9;14)(p13;q32) в результате которой ряд элементов, в том числе, энхансерный участок гена μ -цепей (E μ) оказываются рядом с промотерным участком гена PAX-5, встраиваясь между иницирующим участком и последовательностями, ответственными за связь с регулирующими транскрипцию факторами [12]. После того, как экспрессия PAX-5 оказывается под контролем E μ , транскрипция этого фактора возрастает. Это может привести к усилению активности PAX-5 во время процесса дифференцировки В-лимфоцитов в плазматические клетки (в противоположность процессам в нормальных В-клетках) и препятствовать завершению клеточного цикла. Вероятно, это происходит за счет угнетения апоптоза. Abdallah Souabni et al. в экспериментах по искусственной транслокации с переносом гена PAX-5 в локус генов IgH у мышей показали, что искусственная экспрессия PAX-5 в Т-лимфоцитах способна вызвать Т-клеточные опухоли [49].

Также чрезмерная экспрессия PAX-5 наблюдалась при некоторых опухолях нервной системы: глиобластомах, астроцитомах [51].

G.A. Robichaud et al. [44] показали, что в В-клеточной лимфоме преимущественно встречаются полноразмерная изоформа мРНК PAX-5 и Pax-5/ΔEx-8, в то время как в здоровых клетках присутствует множество разных изоформ. При изучении экспрессии PAX-5 и связанных с ним молекул в В-клетках хронического лимфолейкоза

в одних случаях была выявлена связь присутствия AID с высокими концентрациями PAX-5 (полно-размерной формы) и пониженными концентрациями BLIMP-1 (prdm-1) и ID2. В других случаях было показано, что отсутствие AID и переключения на другой класс иммуноглобулинов связано с пониженным содержанием PAX-5A и появлением изоформы Pax-5/ΔEx-8. Стимуляция клеток IL-4 и CD40L индуцировала появление AID, нарастание PAX-5A и снижение экспрессии Pax-5/ΔEx-8, ID2, BLIMP-1 (prdm-1) [40].

При ходжкинских лимфомах в клетках Рид–Штернберга PAX-5 присутствует, но по непонятным причинам не выполняет своей роли активатора [47].

Наличие PAX-5 в клетках печени обуславливает интерес к его экспрессии при гепато-целлюлярных карциномах. Weili Liu et al. показали, что экспрессия этого фактора угнетается в клеточных линиях печеночно-клеточного рака за счет метилирования элементов его промотера, также было показано, что PAX-5 способен активировать сигнальный путь фактора p53, являясь, таким образом, опухолевым супрессором [28]. Однако эти данные противоречат более ранним взглядам на PAX-5 как ингибитора p53 [12].

Тем не менее, анализ В-клеток лимфомы человека в условиях усиления активности PAX-5 не выявил снижения экспрессии p53 [29]. Возможно, это связано с разными периодами взаимодействия PAX-5 и p53: в период эмбриональ-

ного развития тканей до определенного момента PAX-5 подавляет апоптоз, угнетая p53, но затем, в ходе накопления «критической массы клеток», экспрессия PAX-5 снижается, и на финальных стадиях дифференцировки активируются механизмы p53-опосредованного апоптоза [12] (рис. 4).

Таким образом, вклад PAX-5 в патогенез различных опухолей противоречив и неоднозначен.

PAX-5 и IgE

Изотип антител, который предстоит секретировать В-лимфоциту, определяется в ходе переключения синтеза иммуноглобулинов после антигенной стимуляции. При этом должны образоваться новые молекулы константных доменов тяжелых цепей (C_H). Одну из главных ролей в этом процессе играют цитокины: в частности, у человека IL-4 индуцирует переключение на IgG4 и IgE. 9 генов тяжелых цепей (C_μ, C_δ, C_{γ3}, C_{γ1}, C_{α1}, C_{γ2}, C_{γ4}, C_ε и C_{α2}), определяющие 9 изотипов иммуноглобулинов, расположены последовательно на 14-й хромосоме (рис. 5). Перед каждым геном находятся промежуточный (интронный) (I) и переключающий (S) участки. Переключение на другой класс иммуноглобулинов требует рекомбинации ДНК между S-участками: S-области перед C_μ (S_μ) как донорского региона с S-участком каждого последующего гена в качестве акцепторного

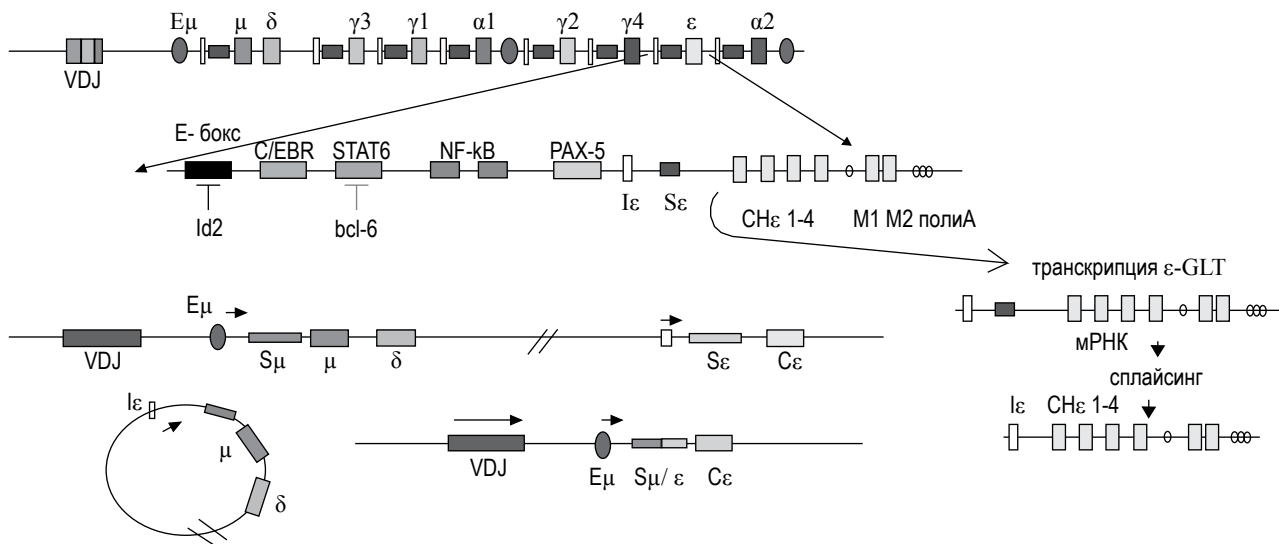


Рисунок 5. Организация генов тяжелых цепей иммуноглобулинов и процесс переключения синтеза иммуноглобулинов

Примечание. Гены тяжелых цепей последовательно расположены на 14-й хромосоме. Изображены сайты связывания транскрипционных факторов в промотере ε-тяжелых цепей. Белок bcl-6 конкурирует за сайт связывания с фактором STAT6, Id2 препятствует связыванию E2A с E-боксом. Показано формирование кольца из участка ДНК, подвергшегося делеции. E_μ-энхансер C_μ-гена; E-бокс – сайт связывания для белков E2A; M1 и M2 – экзоны, кодирующие трансмембранный и цитоплазматический домены; полиА – полиадениловая последовательность; C_ε (C_{Hε}) – гены константных частей тяжелых цепей иммуноглобулина E [41].

региона. Получающийся в результате гибридный участок S содержит 5'-последовательность от области-донора и 3'-последовательность от акцепторного участка. При каждом таком эпизоде рекомбинации происходит делеция фрагмента ДНК, лежащего между S-участками, который формирует замкнутое кольцо. В результате, перед геном ε-тяжелых цепей оказываются промотер переменных (V) частей тяжелых цепей и энхансер Cμ-гена [19]. Образовавшийся транскрипт подвергается полиаденилированию и сплайсингу и содержит в итоге участки для кодирования переменных (VDJ) и константных (Cε) частей тяжелых цепей IgE (рис. 5). В терминальном 4-м экзоне итоговой ε-мРНК (Cε4) содержится сайт, определяющий в ходе сплайсинга образование мембранной формы IgE за счет включения в окончательный транскрипт m-последовательности (membrane). Ее отсутствие определяет продукцию несколько более короткой мРНК для тяжелых цепей секреторируемой формы IgE. В плазматических клетках этот сайт инактивирован и до 50% всех синтезируемых в них белков – секреторируемая форма иммуноглобулина [19].

Процессу переключения на синтез тяжелых цепей IgE предшествует т.н. «зародышевая транскрипция» его C_H-гена [46], в ходе которой образуются зародышевые транскрипты (germline

transcript – GLT). Эти транскрипты содержат множество стоп-кодонов, и не могут кодировать белки. В итоге ε-GLT содержит участки Iε, Sε и Cε (от 5'- к 3'- концу). Затем ε-GLT подвергается полиаденилированию и сплайсингу от 3'-конца Iε до 5'-конца Cε, окончательный ε-GLT, таким образом содержит только Iε и Cε (C_Hε) [19] (рис. 5). Участок Iε содержит стоп-кодоны во всех трех рамках считывания, и, таким образом, ε-GLT-транскрипт не может стать матрицей для синтеза полипептидной Cε цепи. Роль ε-GLT до конца не ясна, считается, что он участвует во взаимодействии с AID (ферментом, вызывающим хромосомную транслокацию, обуславливающую переключение синтеза иммуноглобулинов (см. ранее)), и, таким образом, выполняет регуляторную роль.

Транскрипция ε-GLT в человеческих клетках индуцируется IL-4 и IL-13. Второй сигнал для активации этого процесса поступает через молекулу CD40 в результате ее взаимодействия с CD40L, находящейся на мембране Т-лимфоцита. Полноценная активация промотера ε-GLT в ответ на IL-4 и вовлечение CD40 требует целой группы транскрипционных факторов. Промотор ε-GLT содержит участки для связывания с факторами STAT6 и C/EBP (CCAAT/enhancer binding protein). С этими участками перекрываются сайты связывания белков myb. STAT6

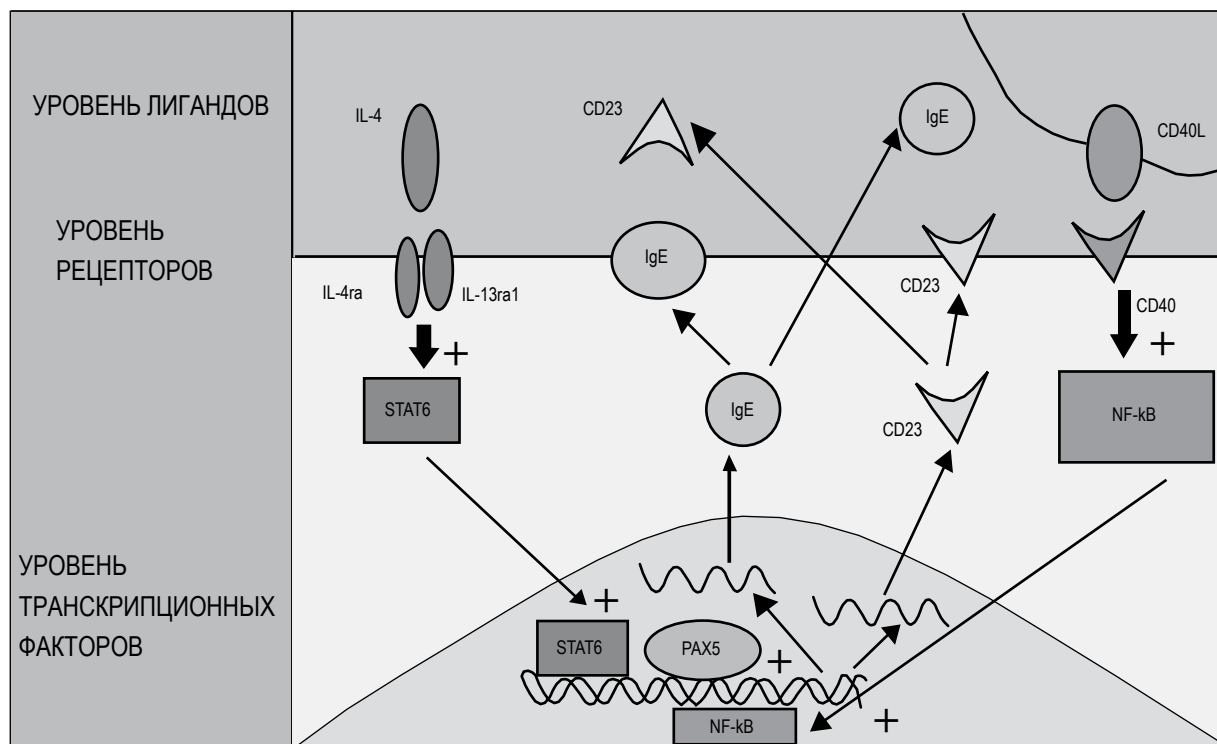


Рисунок 6. Схема уровней регуляции синтеза IgE и его рецептора (CD23) в В-лимфоцитах

и *myb* взаимодействуют с другими белками: p300 и СВР, которые обладают ацетилтрансферазной активностью и могут участвовать в ремоделировании хроматина и создании комплексов инициации транскрипции. NFκB имеет два сайта связывания в промотера ε-GLT и действует в синергизме со STAT6, активируя транскрипцию (рис. 5). Непосредственно перед главным сайтом инициации транскрипции находится участок связывания для PAX-5 [19].

Таким образом, PAX-5 способен стимулировать экспрессию IgE в В-клетках за счет индукции экспрессии ε-GLT и усиления экспрессии AID — элементов, необходимых для переключения синтеза иммуноглобулинов В-клетками на IgE. В экспериментах на мышах было показано, что чрезмерная экспрессия PAX-5 стимулирует экспрессию IgE и угнетает экспрессию IgA в В-клетках мышей [39].

Третьим механизмом регуляции продукции IgE с помощью фактора PAX-5 является его действие на транскрипцию низкоаффинного рецептора для IgE на В-лимфоцитах — молекулы CD23 (FcεRII). Этот рецептор под действием протеаз может расщепляться и образовывать растворимые формы, которые способны как ингибировать, так и стимулировать синтез IgE в человеческих В-лимфоцитах [32].

В промотере CD23а, основной изоформы этого рецептора, находятся участки для связывания с 4-мя транскрипционными факторами: С/ЕВР, STAT6, NFκB и PAX-5. Visan I.A. в работе, посвященной изучению функций и регуляции синтеза изоформ CD23, показывает, что PAX-5 усиливает транскрипцию CD23а и, действуя вместе со STAT6, эти два фактора вызывают рост экспрессии мРНК CD23а в большей степени, чем по отдельности [54]. С учетом того, что STAT6 и NFκB способны взаимодействовать друг с другом, приобретая при этом большее сродство к ДНК [48], то, возможно, что эти факторы также связываются и с PAX-5, что активирует транскрипцию с промотера CD23а.

PAX-5 и бронхиальная астма

Кроме болезней опухолевого характера, имеются основания полагать, что PAX-5 играет роль в развитии других патологических процессов. Этот транскрипционный фактор может играть роль в патогенезе бронхиальной астмы (БА), что, в частности, связано с его влиянием на IgE. Применение антител к IgE в настоящее время уже вошло в стандарты лечения БА (GINA 2010).

PAX-5 контролирует развитие и дифференцировку В-лимфоцитов, в том числе, их превращение в IgE-секретирующие плазматические клетки. Кроме того, этот белок участвует в переключении синтеза иммуноглобулинов на синтез IgE, а также управляет экспрессией CD23, молекулы, способной контролировать продукцию IgE. Таким образом, PAX-5 может осуществлять контроль за активностью IgE не только на транскрипционном уровне напрямую, но и косвенно на рецепторном и лигандном уровнях за счет регуляции экспрессии рецептора к IgE — молекулы CD23 (рис. 6). Гипотеза о значении PAX-5 в развитии БА может также быть подкреплена фактами синергизма PAX-5 с фактором STAT6 [54], вклад которого в патогенез бронхиальной астмы освещался нами ранее [1]. В дальнейшем нами планируется изучение особенностей экспрессии таких транскрипционных факторов, как PAX-5, STAT6 и NF-κB, при различных вариантах бронхиальной астмы.

Список литературы

1. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Нёма М.А. Влияние IL-4 на активность транскрипционного фактора STAT6 в лимфоцитах периферической крови больных бронхиальной астмой // Медицинская иммунология. — 2009. — Т. 11, № 2-3. — С. 177-184.
2. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. — М.: Наука, 2000. — 831 с.
3. Фрейдлин И.С., Тотолян Арег А. Клетки иммунной системы. — СПб.: Наука, 2001. — С. 13.
4. Adams B., Dörfler P., Aguzzi A., Kozmik Z., Urbanek P., Maurer-Fogy I., Busslinger M. Pax-5 encodes the transcription factor BSAP and is expressed in B lymphocytes, the developing CNS, and adult testis // Genes Dev. 1992. — Vol. 6, N 9. — P. 1589-1607.
5. Babu M.M., Luscombe N.M., Aravind L., Gerstein M., Teichmann S.A. Structure and evolution of transcriptional regulatory networks // Curr. Opin. Struct. Biol. 2004. - Vol. 14, N 3. — P. 283-291.
6. Barberis A., Widenhorn K., Vitelli L., Busslinger M. A novel B-cell lineage-specific transcription factor present at early but not late stages of differentiation // Genes Dev. 1990. — Vol. 4, N 5. — P. 849-859.
7. Baumgartner S., Bopp D., Burri M., Noll M. Structure of two genes at the gooseberry locus related to the paired gene and their spatial expression during Drosophila embryogenesis // Genes Dev. 1987. — Vol. 1, N 10. — P. 1247-1267.

8. Bopp D., Burri M., Noll M., Baumgartner S., Frigerio G. Conservation of a large protein domain in the segmentation gene paired and in functionally related genes of *Drosophila* // *Cell*. 1986. — Vol. 47. — P. 1033-1040.
9. Bopp D., Jamet E., Baumgartner S., Burri M., Noll M. Isolation of two tissue-specific *Drosophila* paired box genes, *pox meso* and *pox neuro* // *EMBO J.* — 1989. — Vol. 8. — P. 3447-3457.
10. Buckingham M., Relaix F. The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions // *Annu Rev. Cell Dev. Biol.* — 2007. — Vol. 23. — P. 645-673.
11. Busslinger M. Transcriptional control of early B cell development // *Annu. Rev. Immunol.* — 2004. — Vol. 22. — P. 55-79.
12. Busslinger M., Klix N., Pfeffer P., Graninger P.G., Kozmik Z. Deregulation of PAX-5 by translocation of the Emu enhancer of the IgH locus adjacent to two alternative PAX-5 promoters in a diffuse large-cell lymphoma // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 1996. — Vol. 93. — P. 6129-6134
13. Decker T., Pasca di Magliano M., McManus S., Sun Q., Bonifer C., Tagoh H., Busslinger M. Stepwise activation of enhancer and promoter regions of the B cell commitment gene Pax5 in early lymphopoiesis // *Immunity*. — 2009. — Vol. 30, N 4. — P. 508-520.
14. Eberhard D., Jiménez G., Heavey B., Busslinger M. Transcriptional repression by Pax5 (BSAP) through interaction with corepressors of the Groucho family // *The EMBO Journal*. — 2000. — Vol. 19. — P. 2292-2303.
15. Emelyanov A.V., Kovac C.R., Sepulveda M.A., Birshstein B.K. The interaction of Pax5 (BSAP) with Daxx can result in transcriptional activation in B cells // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277, N 13. — P. 11156-11164.
16. Fitzsimmons D., Hodsdon W., Wheat W., Maira S.-M., Wasyluk B., Hagman J. Pax-5 (BSAP) recruits Ets proto-oncogene family proteins to form functional ternary complexes on a B-cell-specific promoter // *Genes Dev.* — 1996. — Vol. 10, N 17. — P. 2198-2211.
17. Garvie C.W., Hagman J., Wolberger C. Structural studies of Ets-1/Pax5 complex formation on DNA // *Mol. Cell*. — 2001. — Vol. 8, N 6. — P. 1267-1276.
18. Gonda H., Sugai M., Nambu Y., Katakai T., Agata Y., Mori K.J., Yokota Y., Shimizu A. The balance between Pax5 and Id2 activities is the key to AID gene expression // *J. Exp. Med.* — 2003. — Vol. 198, N 9. — P. 1427-1437.
19. Gould H.J., Beavil R.L., Vercelli D. IgE isotype determination: epsilon-germline gene transcription, DNA recombination and B-cell differentiation // *Br. Med. Bull.* — 2000. — Vol. 56, N 4. — P. 908-924.
20. Harada H., Kawano M.M., Huang N., Harada Y., Iwato K., Tanabe O., Tanaka H., Sakai A., Asaoku H., Kuramoto A. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells // *Blood*. — 1993. — Vol. 81, N 10. — P. 2658-2663.
21. Horcher M., Souabni A., Busslinger M. Pax5/BSAP maintains the identity of B cells in late B lymphopoiesis // *Immunity*. — 2001. — Vol. 14, N 6. — P. 779-790.
22. Jun S., Desplan C. Cooperative interactions between paired domain and homeodomain // *Development*. — 1996. — Vol. 122. — P. 2639-2650.
23. Kilchherr F., Baumgartner S., Bopp D., Frei E., Noll M. Isolation of the paired gene of *Drosophila* and its spatial expression during early embryogenesis // *Nature*. — 1986. — Vol. 321. — P. 493-499.
24. Kishi H., Jin Z.X., Wei X.C., Nagata T., Matsuda T., Saito S., Muraguchi A. Cooperative binding of c-Myb and Pax-5 activates the RAG-2 promoter in immature B cells // *Blood*. — 2002. — Vol. 99, N 2. — P. 576-583.
25. Lin K.-I., Angelin-Duclos C., Kuo T.C., Calame K. Blimp-1-dependent repression of Pax-5 is required for differentiation of B cells to immunoglobulin M-secreting plasma cells // *Molecular and cellular biology*. — 2002. — Vol. 22, N 13. — P. 4771-4780.
26. Linderson Y., Eberhard D., Malin S., Johansson A., Busslinger M., Pettersson S. Corecruitment of the Grg4 repressor by PU.1 is critical for Pax5-mediated repression of B-cell-specific genes // *EMBO Rep.* — 2004. — Vol. 3. — P. 291-296.
27. Linderson Y., French N.S., Neurath M.F., Pettersson S. Context-dependent Pax-5 repression of a PU.1/NF-kappaB regulated reporter gene in B lineage cells // *Microbiology and Gene.* — 2001. — Vol. 262, N 1-2. — P. 107-114.
28. Liu W., Li X., Chu E.S., Go M.Y., Xu L., Zhao G., Li L., Dai N., Si J., Tao Q., Sung J.J., Yu J. Paired box gene 5 is a novel tumor suppressor in hepatocellular carcinoma through interaction with p53 signaling pathway // *Hepatology*. — 2011. — Vol. 53, N 3. — P. 843-853.
29. Lowen M., Scott G., Zwollo P. Functional analyses of two alternative isoforms of the transcription factor Pax-5 // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276, N 45. — P. 42565-42574.
30. Mahmoud M.S., Huang N., Nobuyoshi M., Lisukov I.A., Tanaka H., Kawano M.M. Altered expression of Pax-5 gene in human myeloma cells // *Blood*. — 1996. — Vol. 87, N 10. — P. 4311-4315.

31. Martins G., Calame K. Regulation and functions of Blimp-1 in T and B lymphocytes // *Annu. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 26. – P. 133-169.
32. McCloskey N., Hunt J., Beavil R.L., Jutton M.R., Grundy G.J., Girardi E., Fabiane S.M., Fear D.J., Conrad D.H., Sutton B.J., Gould H.J. Soluble CD23 monomers inhibit and oligomers stimulate IGE synthesis in human B cells // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282, N 33. – P. 24083-24091.
33. Merluzzi S., Moretti M., Altamura S., Zwollo P., Sigvardsson M., Vitale G., Pucillo C. CD40 stimulation Induces Pax5/BSAP and EBF activation through a APE/Ref-1-dependent redox mechanism // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, N 3. – P. 1777-1786.
34. Morales-A.G.S., Copin S.G., Miguel A.R., Soro P. G., Morales-A.P., Martínez-M.J.A. Differential involvement of the transcription factor Blimp-1 in T cell-independent and -dependent B cell differentiation to plasma cells // *The Journal of Immunology.* – 1999. – Vol. 163. – P. 611-617.
35. Nera K.-P., Lassila O. Pax5 – a Critical Inhibitor of Plasma Cell Fate // *Scand. J. Immunol.* – 2006. – Vol. 64, N 3. – P. 190-199.
36. Nutt S.L., Busslinger M. Monoallelic expression of Pax5: a paradigm for the haploinsufficiency of mammalian Pax genes? // *Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 380, N 6. – P. 601-611.
37. Nutt S.L., Heavey B., Rolink A.G., Busslinger M. Commitment to the B lymphoid lineage depends on the transcription factor Pax5 // *Nature.* – 1999. – Vol. 401. – P. 556-562.
38. Nutt S.L., Vambrie S., Steinlein P., Kozmik Z., Rolink A., Weith A., Busslinger M. Independent regulation of the two Pax5 alleles during B-cell development // *Nat. Genet.* – 1999. – Vol. 21, N 4. – P. 390-395.
39. Oiu G., Stavnezer J. Overexpression of BSAP/ Pax-5 inhibits switching to IgA and enhances switching to IgE in the I.29 μ B cell line // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 161. – P. 2906-2918.
40. Oppezzo P., Dumas G., Lalanne A.I., Payelle-Brogard B., Magnac C., Pritsch O., Dighiero G., Vuillier F. Different isoforms of BSAP regulate expression of AID in normal and chronic lymphocytic leukemia B cells // *Blood.* – 2005. – Vol. 105, N 6. – P. 2495-2503.
41. Penichet M.L., Jensen-Jarolim E. Cancer and IgE: Introducing the concept of AllergoOncology. – New York.: Springer-Verlag, 2010. – 280 p.
42. Reimold A.M., Ponath P.D., Li Y.S., Hardy R.R., David C.S., Strominger J.L., Glimcher L.H. Transcription factor B cell lineage-specific activator protein regulates the gene for human X-box binding protein 1. // *J. Exp. Med.* – 1996. – Vol. 183. – P. 393-401.
43. Roberts E.C., Deed R.W., Inoue T., Norton J.D., Sharrocks A.D. Id helix-loop-helix proteins antagonize Pax transcription factor activity by inhibiting DNA binding // *Molecular and cellular biology.* – 2001. – Vol. 21, N 2. – P. 524-533.
44. Robichaud G.A., Nardini M., Laflamme M., Cuperlovic-Culf M., Ouellette R.J. Human Pax-5 C-terminal isoforms possess distinct transactivation properties and are differentially modulated in normal and malignant B cells // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, N 48. – P. 49956-49963.
45. Robichaud G.A., Perreault J.-P., Ouellette R.J. Development of an isoform-specific gene suppression system: the study of the human PAX-5B transcriptional element // *Nucleic Acids Research.* – 2008. – Vol. 36, N 14. – P. 4609-4620.
46. Samara M. Contribution a l'analyse des interactions de longue distance dans le locus des chaines lourdes d'immunoglobulines: Pour obtenir le grade de docteur de Sciences de la Vie et de la Santé / L'universite de Limoges. – 2005, Limoges. – 84 p. – <http://epublications.unilim.fr/theses/2005/samaramaha/samara-maha.pdf>.
47. Schmitz R., Stanelle J., Hansmann M.L., Küppers R. Pathogenesis of classical and lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma // *Annu. Rev. Pathol.* – 2009. – Vol. 4. – P. 151-174.
48. Shen C.H., Stavnezer J. Interaction of stat6 and NF-kappaB: direct association and synergistic activation of interleukin-4-induced transcription // *Mol. Cell Biol.* – 1998. – Vol. 18. – P. 3395-3404.
49. Souabni A., Jochum W., Busslinger M. Oncogenic role of Pax5 in the T-lymphoid lineage upon ectopic expression from the immunoglobulin heavy-chain locus // *Blood.* – 2007. – Vol. 109, N 1. – P. 281-289.
50. Stuart E. T., Haffner R., Oren M., Gruss P. Loss of p53 function through PAX-mediated transcriptional repression // *The EMBO Journal.* – 1995. – Vol. 14, N 22. – P. 5638-5645.
51. Stuart E.T., Kiousi C., Aguzzi A., Gruss P. PAX5 expression correlates with increasing malignancy in human astrocytomas // *Clin. Cancer Res.* – 1995. – Vol. 2. – P. 207-214.
52. Tell G., Scaloni A., Pellizzari L., Formisano S., Pucillo C., Damante G. Redox potential controls the structure and DNA binding activity of the paired domain // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273, N 39. – P. 25062-25072.
53. Urbanek P., Wang Z.-Q., Fetka I., Wagner E.F., Busslinger M. Complete block of early B cell differentiation and altered patterning of the posterior midbrain in mice lacking Pax5/BSAP // *Cell.* – 1994. – Vol. 79. – P. 901-912.
54. Visan I.A. The CD23 receptor-regulation of expression and signal transduction: Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades / Bayerische Julius-Maximilian Universität Würzburg vorgelegt von. – Würzburg, 2003. – 116 p. – www.opus-bayern.de/uni-wuerzburg/volltexte/2003/555/pdf/The_CD23_receptor-regulation_of_expression_and_signal_trans.pdf.

55. Vorobyov E., Horst J. Getting the proto-Pax by the tail // J. Mol. Evol. – 2006. – Vol. 63, N 2. – P. 153-164.

56. Walther C., Guenet J.L., Simon D., Deutsch U., Jostes B., Goulding M.D., Plachov D., Balling R., Gruss P. Pax: a murine multigene family of paired box containing genes // Genomics. – 1991. – Vol. 11, N 2. – P. 424-434.

поступила в редакцию 25.04.2011

принята к печати 31.05.2011