

АЛЬФА-2-МАКРОГЛОБУЛИН КАК ГЛАВНЫЙ ЦИТОКИН-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК ПЛАЗМЫ КРОВИ

Дорофейков В.В., Фрейдлин Т.С., Щербак И.Г.

Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

Резюме. Альфа-2-макроглобулин (МГ) – высокомолекулярный белок крови, обнаруживаемый в сыворотке и других внесосудистых жидкостях в концентрации 2-4 мг/мл в зависимости от пола и возраста. Ключевая физиологическая роль МГ подтверждается тем, что не было описано ни одного случая отсутствия гена этого протеина. МГ является уникальным эндогенным ингибитором протеиназ, который, взаимодействуя с энзимами, лишает их протеиназной активности, но сохраняет их способность гидролизовать пептиды. Взаимодействие между МГ и протеиназами приводит к конформационным изменениям молекулы ингибитора, которые проявляются в увеличении его электрофоретической подвижности и экспозиции особого гидрофобного рецептор-связывающего участка. Это приводит к быстрому удалению МГ из сосудистого русла за счет поглощения гепатоцитами, макрофагами и фибробластами. Недавно было показано, что различные формы МГ связывают такие цитокины как IL-1, 2, 6, 8, TNF- α , PDGF, FGF, NGF, TGF и др. Важнейшие механизмы и функциональное значение трех типов взаимодействия МГ с цитокинами обобщены.

Ключевые слова: α -2-макроглобулин, цитокины, факторы роста

Doropheikov V.V., Freidlin T.S., Shcherbak I.G.

HUMAN ALPHA-2-MACROGLOBULIN AS A MAIN CYTOKINE-BINDING PLASMA PROTEIN.

Abstract. Alpha-2-macroglobulin (MG) is a highly conserved major blood protein found at a concentration of 2-4 mg/ml in serum and extravascular fluid depending on age and sex. No recorded cases of MG gene deletion have been demonstrated to date, suggesting a key physiological importance. MG is a unique endogenous proteinase inhibitor that thoroughly abolishes proteinase activity while saving its peptidase one. Proteinase-MG interaction results in important changes in MG molecule. Conformational changes causes a corresponding shift in electrophoretic mobility and the subsequent exposure of a hydrophobic receptor site on the MG molecule which readily binds to receptors on the surface of hepatocytes, macrophages and fibroblasts resulting in its rapid removal from the circulation. Recently it has become apparent that different forms of MG bind a number of immunologically important cytokines including IL-1,2,6,8, TNF- α , PDGF, FGF, NGF, TGF and other. Main mechanisms and functional role of three types of MG- cytokines interactions are summarized. (*Med. Immunol.*, 1999, vol.1, N5, pp.5-12)

Альфа-2-макроглобулин (МГ), главный протеин α -2-глобулиновой фракции плазмы крови, был открыт в начале 60-х годов как ингибитор плазмина и трипсина и со временем занял центральное место среди всех эндогенных ингибиторов протеолитических ферментов [5,15,37,61]. Уникальность этого белка заключается в способности связывать протеиназы всех четырех известных классов, а также в особом механизме взаимодействия с этими ферментами. Являясь наиболее высокомолекулярным эндогенным ингибитором и одним

из самых крупных белков в организме (молекулярная масса 720 кДа), МГ состоит из четырех полипептидных цепей, образующих две идентичные субъединицы. Каждая из них содержит участок, подходящий для атаки большинством известных протеиназ. Согласно теории А. Барретта [13], в результате гидролиза одной из пептидных связей в этом "приманочном" участке (bait region) в молекуле МГ открывается особая "ловушка", куда "проваливается" протеиназа. Оказавшись "в плену", фермент не теряет полностью свою способность гидролизовать пептидные связи. Однако, субстратная специфичность протеиназы сужается. Фермент сохраняет способность гидролизовать относительно небольшие молекулы, а большинство крупных белковых субстратов становятся для него недоступными. Биологическая роль этого феномена остается не вполне ясной.

Адрес для переписки:

197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого 6/8,
Кафедра биохимии Санкт-Петербургского
Государственного медицинского университета
имени академика И.П. Павлова,
тел. 238-70-10, факс. 234-01-25,
E-mail: biochem@spmu.rssi.ru

Одним из существенных моментов в функционировании МГ является наличие в каждой из субъединиц так называемой тиолэфирной петли, образованной радикалами цистеина и глутамата. Такой участок встречается крайне редко в молекулах белков и обнаружен также в С3- и С4-компонентах комплемента, которые поэтому были отнесены к семейству макроглобулинов. При гидролизе тиолэфирной связи, например, под действием первичных аминов, упомянутая выше "ловушка" закрывается и МГ теряет способность связывать протеиназы [1,42]. Если МГ взаимодействует с протеиназой, то тиолэфирные связи гидролизуются и ингибитор утрачивает способность связывать дополнительное количество фермента. Электрофоретическая подвижность МГ с гидролизованной тиолэфирными связями несколько выше, чем у нативного, поэтому они получили название соответственно F (fast)- и S (slow)-форм [14]. В отечественной и иностранной литературе F-форму МГ часто называют также активированным макроглобулином, что, по нашему мнению, является не вполне удачным. Дело в том, что МГ в F-форме уже выполнил свою функцию как ингибитор протеиназ, время его существования в кровеносном русле измеряется секундами, в то время как S-форма является функционально активной [27,38]. В последние годы было показано, что F-формы МГ связываются с LRP-рецепторами на поверхности гепатоцитов и всех клеток моноцитарно-макрофагального ряда, а затем поглощаются внутрь клеток [9,10,31,41,45,62].

В работах начала 90-х годов показана возможность взаимодействия различных форм МГ с биологически активными белково-пептидными молекулами, в том числе с инсулином, соматотропным гормоном гипофиза и рядом цитокинов [20,23,46,47]. Данные приведены в таблице 1

Т. Matsuda и соавт. (1989) идентифицировали МГ "как связывающий белок для IL-6" [53]. Цитокин молекулярной массой 26 кДа, обработанный J125, инкубировали в течение трех часов с сывороткой и подвергали электрофорезу в ПААГ. Авторадиография показала образование дополнительной полосы, соответствовавшей по подвижности МГ. Затем аналогичные эксперименты провели с очищенными препаратами МГ. Чем выше была концентрация МГ, тем больше с ним связывалось IL-6. Было показано, что МГ в концентрации 2.5 мг/мл (близкой к физиологической) не препятствовал взаимодействию IL-6 с его рецепторами. При добавлении к очищенному геле-фильтрацией комплексу МГ-IL-6 таких малоспецифичных протеиназ как трипсин или катепсин G IL-6 гораздо лучше сохранялся, чем в отсутствие МГ. На основании этих экспериментальных данных был сделан вывод о роли МГ как главного белка плазмы, способного комплексоваться с IL-6, транспортировать его и защищать от разрушения.

Таблица 1. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ α -2-МАКРОГЛОБУЛИНА С ЦИТОКИНАМИ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ПЕПТИДАМИ.

Цитокин	Форма МГ, связывающая цитокины	Характер связи	Биологическая активность цитокинов в составе комплексов с МГ	Ссылки
TGF- β 1	S, F	Ковалентная	Модулируется	29, 30, 44, 50, 55, 68
TGF- β 2	S, F	Нековалентная	Модулируется	29, 30, 49, 51, 54, 67
FGF basic	F	Ковалентная	Не сохраняется	32
PDGF	S	Ковалентная	Не сохраняется	18, 19, 43, 58
NGF	S, F	Нековалентная	Сохраняется	47, 62
EGF	S \rightarrow F	Нековалентная	Не сохраняется	24
IL-1 β	F	Нековалентная	Снижается	20, 21
IL-2	F	Нековалентная	Нет данных	22
IL-6	S	Нековалентная	Сохраняется	53
TNF- α	F	Нековалентная	Модулируется	2, 7, 34, 69
Эозинофильный катионный белок	F	Нековалентная	Нет данных	57
Дефензин	F	Ковалентная	Нет данных	56

В 1989 г. были опубликованы результаты экспериментов W. Borth и T. Luger о возможности взаимодействия IL-1 β с макроглобулином человека [20,21]. Авторы использовали препарат МГ, выделенный из плазмы крови с помощью полиэтиленгликоляпреципитации (ПЭГ 4000), цинк-хелатной хроматографии и препаративного изоэлектрофокусирования, а также препарат рекомбинантного IL-1, меченный J125. С помощью электрофореза в ПААГ (5% Т) выявлено отсутствие связывания между цитокином и плазменными белками. После обработки плазмы метиламином часть IL-1 сорбировалась на высокомолекулярном протеине, который и оказался быстрой формой МГ. В эксперимен-