

АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИН И ФАКТОРЫ РОСТА. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ И АНАЛОГИИ

©2006 г. Н. Т. МОЛДОГАЗИЕВА, А. А. ТЕРЕНТЬЕВ

Российский государственный медицинский университет, Москва

I. Введение. II. Альфа-фетопротеин. III. Суперсемейство эпидермального фактора роста. IV. Суперсемейство трансформирующих факторов роста TGF- β . V. Возможный механизм действия альфа-фетопротеина. VI. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

В течение последнего десятилетия накоплены данные, свидетельствующие о наличии ряда важных общих свойств между онкофетальными белками, к которым принадлежит альфа-фетопротеин (АФП), и полипептидными факторами роста. Эти свойства включают особенности их строения и некоторые виды биологической активности, а также особенности экспрессии в процессе эмбрио- и канцерогенеза. Во-первых, факторы роста, так же как и онкофетальные белки, синтезируются во время эмбрионального развития и принимают участие в регуляции роста тканей, формирования и развития частей тела и систем организма, включая нервную, сердечно-сосудистую, репродуктивную и др. [1–5]. Во-вторых, при различных формах канцерогенеза наблюдается гиперэкспрессия ряда факторов роста, их рецепторов и/или белков, опосредующих внутриклеточную передачу сигнала, что обычно характерно для онкофетальных белков [6–9]. В-третьих, обе группы белков участвуют в регуляции пролиферации, дифференцировки и миграции клеток, причем онкофетальные белки

Принятые сокращения: АФП – альфа-фетопротеин, ЭФР – эпидермальный фактор роста, TGF- β – трансформирующий фактор роста β .

Адрес для корреспонденции: nmoldogazieva@mail.ru, aaterent@mtu-nt.ru

могут проявлять свою активность при невысоких концентрациях (10–20 нг/мл), сравнимых с физиологическими концентрациями белково-пептидных гормонов и факторов роста [10–14]. При этом для некоторых онкофетальных белков и полипептидных факторов роста характерен синергизм действия. Так, было показано, что АФП способен модулировать активность ряда факторов роста и этот эффект может осуществляться путем воздействия на различные этапы каскадного механизма передачи сигнала, инициированного связыванием фактора роста с мембранным рецептором [15]. Все перечисленное дает основание рассматривать онкофетальные белки в качестве факторов роста, а полипептидные факторы роста – в качестве онкофетальных белков.

Между этими двумя группами негомологичных белков существует также ряд общих структурных особенностей, например, богатство остатками цистеина, включая наличие сдвоенных цистеинов. Так, альфа-фетопротеин, основной онкофетальный белок млекопитающих, содержит 5,4%, а трансформирующие факторы роста TGF- β (transforming growth factor β) – до 8% остатков цистеина [16]. Примечательно, что при сравнительном анализе первичных структур альфа-фетопротеина и факторов роста в составе АФП обнаружен структурный мотив, сходный с функционально важными участками эпидермального фактора роста (ЭФР) и этот структурный мотив характерен также для ряда других белков, содержащих ЭФР-подобные модули [17, 18]. Так, последовательности LDSYQCT в составе АФП (аминокислотные остатки, а.о. 14–20) и LDKYACN в составе ЭФР человека (а.о. 26–32) обладают 57% идентичности (табл. 1). Интересно, что последовательность LDKYACN ЭФР человека является важным компонентом основной β -складчатой структуры в составе петли В и содержит а.о., принимающие участие в связывании с рецептором [19]. Исходя из этого, можно предполагать, что последовательность LDSYQCT в составе АФП также является частью его рецептор-связывающего участка. Однако, если для факторов роста, в основном, хорошо изучены как строение рецепторов, механизм их активации, так и основные этапы внутриклеточной передачи сигнала, включая внутриклеточные эффекторы, то строение рецептора для АФП и механизм его действия остаются не изученными. Между тем, анализ существующих экспериментальных данных, касающихся синергичного воздействия АФП и факторов роста на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, а также обнаружения в культуре пролиферирующих под воздействием АФП клеток ряда эффекторов внутриклеточной передачи сигнала и факторов транскрипции, позволяют предложить схему возможного механизма действия АФП.

Таблица 1.
Аминокислотные последовательности факторов роста суперсемейства ЭФР, сходные с пептидным фрагментом L D S Y Q C T альфа-фетопрогеина человека (по [17, 18], а также по собственным неопубликованным данным)

Название белка	Аминокислотная последовательность	Идентичность	Консервативные замены	Суммарное сходство, %	Код доступа в базу данных SwissProt/TrEMBL
АФП человека (а.о. 14-20)	L D S Y Q C T	7/7 (100%)	0/7 (0%)	100	P02771
ЭФР человека (а.о. 26-32)	L D K Y A C N	4/7 (57%)	2/7 (29%)	86	P01133
ЭФР мыши (а.о. 26-32)	L D S Y T C N	5/7 (71%)	2/7 (29%)	100	P01132
Фактор VII свертывания крови человека (а.о. 65-71)	L Q S Y I C F	4/7 (57%)	1/7 (15%)	72	P08709
Томорегулин человека (а.о. 68-74)	G E S Y Q N E	3/7 (43%)	3/7 (43%)	86	Q9UJK5
VEGF человека (а.о. 18-24)	M D V Y Q R S	3/7 (43%)	3/7 (43%)	86	P15692
ЭФР-домены полидома мыши:					
а) ЭФР х 3 (а.о. 3511-3517)	V A P Y Q C D	3/7 (43%)	2/7 (29%)	72	Q9ES77
б) ЭФР-Са (а.о. 1743-1749)	L D V D E C A	3/7 (43%)	2/7 (29%)	72	Q9ES77
в) ЭФР-Са х6 (а.о.1287-1293)	L A S Y R C T	5/7 (71%)	1/7 (15%)	86	Q9ES77
г) ЭФР-Са х6 (а.о.1401-1403)	L N S Y S C K	4/7 (57%)	3/7 (43%)	100	Q9ES77
д) особый домен (а.о. 884-890)	L D V V Q R T	4/7 (57%)	1/7 (15%)	72	Q9ES77

Сокращения: АФП - альфа-фетопrotein, ЭФР - эпидермальный фактор роста, VEGF (vascular endothelial cell growth factor) - фактор роста эндотелиальных клеток сосудов.
 ЭФР-Са - ЭФР-подобный домен, содержащий участок связывания ионов Ca²⁺ (х6 и х3 означает количество повторов ЭФР-модуля).

Примечание: нумерация а.о. дана для зрелых полипептидных цепей, за исключением полидома мыши, для которого длина зрелой последовательности неизвестна.

Настоящий обзор посвящен описанию, обобщению и анализу данных, полученных в различных экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*, демонстрирующих наличие структурно-функциональных аналогий между альфа-фетопротеином и факторами роста, принадлежащими суперсемействам ЭФР и TGF- β , в составе которых обнаруживаются сходные с АФП структурные мотивы. В обзоре также рассматриваются возможные механизмы действия АФП, включая способы его модулирующего влияния на активность факторов роста.

II. АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИН

АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИН В ЭМБРИО- И КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Альфа-фетопротеин (АФП) является основным эмбриоспецифическим и опухолеассоциированным белком не только всех млекопитающих, но и, как в настоящее время предполагается, всех позвоночных [1–3]. Во время эмбрионального развития АФП синтезируется, в основном, висцеральной энтодермой желточного мешка и печени плода. На отдельных стадиях внутриутробного развития он в некоторой степени может синтезироваться эмбриональной почкой, поджелудочной железой и энтодермой желудочно-кишечного тракта [20–22]. АФП секретируется в кровь и в сыворотке плода человека его концентрация достигает максимального значения, до 10 мг/мл ($\sim 10^{-4}$ М), на 12–16-й неделе внутриутробного развития. После этого уровень АФП начинает снижаться, составляя к моменту рождения до 0,1 мг/мл ($\sim 10^{-6}$ М); у взрослых особей в крови человека уровень АФП составляет 5–10 нг/мл ($\sim 10^{-10}$ М) [5, 11, 16].

Синтез АФП во время эмбрионального развития и его высокие концентрации в сыворотке развивающегося плода свидетельствуют о том, что этот белок играет важную роль в эмбриогенезе. Действительно, было показано, что АФП обладает способностью регулировать пролиферацию и дифференцировку эмбриональных клеток [23, 24]. Кроме того, альфа-фетопротеин, подобно сывороточному альбумину, связывает различные гидрофобные лиганды и ионы металлов и может выполнять функцию основного транспортного белка во время эмбрионального развития [12]. Способность АФП связывать эстрогены и, тем самым, регулировать уровень свободных, т.е. активных гормонов, позволяет предположить, что он защищает плод от влияния материнских эстрогенов. На основании данных об иммуносупрессивной активности АФП было сделано предположение о возможной его роли в защите плода от иммунной системы матери.

Кроме того, обнаружена заметная отрицательная корреляция между уровнем АФП и количеством эритроцитов, уровнем гемоглобина и эритропоэтина, а также значением гематокрита в крови плода человека, что позволяет сделать предположение об участии альфа-фетопротеина в процессе гемопоэза [25]. Об этом же свидетельствует значительная корреляция между концентрациями АФП и фактора роста стволовых клеток, который участвует в поддержании жизнеспособности гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников [26].

О важной роли АФП в эмбриогенезе свидетельствует также существование корреляции между изменением его уровня в материнской сыворотке и некоторыми нарушениями развития плода. Так, существенные повышения уровня АФП наблюдаются при дефектах развития нервной трубки у плода, а снижение его количества характерно для синдрома Дауна [27–29]. Кроме того, в экспериментальной модели *in vivo* было показано, что АФП снижает фетотоксичность эстрогенов и инсулина. В присутствии АФП дефекты развития плода уменьшаются на 50%, а гибель плода во время внутриутробного развития снижается на 63–73% [30].

Некоторые экспериментальные данные, а также сравнительный анализ аминокислотных последовательностей АФП и ряда физиологически активных белков свидетельствуют о возможной роли альфа-фетопротеина в формировании органов и систем организма плода. Так, путем сравнения аминокислотных последовательностей альфа-фетопротеина и ряда физиологически активных белков во всех трех доменах АФП человека были обнаружены сегменты, сходные с участками белков гомеодоменного бокса [5]. Известно, что гомеодоменные белки контролируют правильное развитие частей тела из эмбриональных зародышевых листков и регулируют формирование переднезаднего направления и вентрально-дорзальной оси, сегментацию туловища, формирование нервной трубки и пищеварительного канала. Обнаружение сходных участков в первичных структурах АФП и гомеодоменных белков говорит о существовании структурных предпосылок для участия АФП в правильном развитии частей тела во время эмбрионального развития.

Результаты, полученные относительно недавно группой бельгийских ученых с использованием мутантных мышей, лишенных гена *AFP*, показали, что эмбрионы как дикого типа (*afp^{+/+}*), так и гетерозиготные (*afp^{+/-}*) и гомозиготные (*afp^{-/-}*) по мутантному аллелю были жизнеспособны и нормально развивались, в то время как самки *afp^{-/-}* оказались стерильными [31]. Гормональные исследования показали наличие нормального уровня эстрогенов, но

отсутствие синтеза прогестерона, т.е. нарушение процесса овуляции. Увеличение соотношения ЛГ/ФСГ указывало на то, что нарушение овуляции вызвано нарушением функции гипоталамо-гипофизарной системы. Так как фенотип *afp*^{-/-} самок был сходен с ановуляторным синдромом, наблюдаемым у самок мышей после перинатальной обработки эстрогенами, авторами было сделано предположение о том, что отсутствие фертильности самок *afp*^{-/-} мышей связано со способностью АФП связывать и транспортировать эстрогены. Альфа-фетопротеин не синтезируется тканью мозга, однако обнаруживается в ней в значительных количествах, видимо, благодаря рецептор-опосредованному механизму захвата АФП нервными клетками [32]. Следовательно, АФП может проникать внутрь клеток гипоталамо-гипофизарной системы, транспортируя эстрогены, которые регулируют выработку гонадотропных гормонов по механизму отрицательной обратной связи. Нарушение синтеза АФП, наблюдаемое у *afp*^{-/-} мышей, приводит, по-видимому, к нарушению регуляции выработки ЛГ и ФСГ. Нарушение экспрессии ряда генов, кодирующих синтез гормонов гипофиза, наблюдаемое у самок *afp*^{-/-} мышей, подтверждает это предположение [33]. На основании полученных результатов авторами сделано заключение, что альфа-фетопротеин необходим для половой дифференцировки гипоталамо-гипофизарной системы во время внутриутробного развития. Блокирование синтеза эстрогенов с использованием ингибитора ароматазы, а именно 1,4,6-андростатриен-3,17-диона, восстанавливает экспрессию генов, кодирующих синтез тропных гормонов гипофиза и, как следствие, нормализует фертильность самок. Таким образом, было показано, что АФП защищает мозг плода от маскулинизирующего и дефеминизирующего действия эстрогенов во время эмбрионального развития.

В норме в сыворотке крови взрослого человека, как уже упоминалось ранее, АФП обнаруживается в концентрациях 5–10 нг/мл ($\sim 10^{-10}$ М), однако при некоторых опухолевых заболеваниях происходит существенное увеличение его уровня [34, 35]. АФП является признанным молекулярным маркером первичного рака печени и тератокарциномы [27]. При этом концентрация АФП в сыворотке больных гепатоцеллюлярной карциномой может достигать очень высоких значений и колеблется в пределах от 1 мкг/мл до 10 мг/мл (от 10^{-8} до 10^{-4} М), а при тератокарциноме достигает 1–2 мкг/мл [9, 11]. Повышение уровня АФП (до 100–300 нг/мл) выявлено также в отдельных случаях рака желудка и панкреатобластомы, опухоли желточного мешка, а также при остром и хроническом гепатите и

циррозе печени [36–41]. Участие АФП в регуляции роста опухолей будет рассмотрено ниже.

СТРОЕНИЕ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА

Ген альфа-фетопротейна локализован в области q11–q13 4-й хромосомы [42]. Как и все секретируемые белки, АФП синтезируется в виде предшественника, из которого путем отщепления сигнального пептида и гликозилирования в ходе процессинга образуется зрелая молекула, полипептидная цепь которой состоит у человека из 591 аминокислотного остатка (а.о.) [43–45]. АФП является гликопротеином с молекулярной массой около 69 кДа и содержанием углеводов до 3–5%. В настоящее время расшифрована первичная структура АФП десяти биологических видов, включая: человека, шимпанзе, гориллу, лошадь, собаку, свинью, сурка, мышь, крысу и курицу (базы данных Swiss-Prot/TrEMBL, GenBank). АФП относится к белкам, богатым остатками цистеина – 5,4% аминокислотных остатков в его структуре являются остатками цистеина, из них половина являются сдвоенными цистеинами. Остатки цистеина, в том числе сдвоенные цистеины, характеризуются высокой консервативностью – они обнаруживаются в последовательностях всех белков семейства альбумина, к которому принадлежит АФП, и у всех биологических видов. Из 32 остатков цистеина, содержащихся в полипептидной цепи АФП, два первых остатка не участвуют в образовании дисульфидных связей, а остальные образуют 15 равномерно расположенных внутримолекулярных дисульфидных мостиков, образующих цистиновый каркас молекулы.

Если АФП человека содержит один участок гликозилирования – N233, то АФП мыши содержит три таких участка: углеводные компоненты присоединены к N232, N310 и T483. Для АФП крысы также характерно три участка гликозилирования: N232, S96, и N310 [46]. В состав углеводной части АФП могут входить глюкоза, галактоза, манноза, N-ацетилглюкозамин и сиаловые кислоты. Так, разветвленная олигосахаридная цепь АФП человека содержит два остатка сиаловых кислот, d-галактозу и d-маннозу [47]. С использованием метода перекрестной иммуноаффинной электрохроматографии показано существование до десяти гликоизоформ АФП человека, различающихся значениями изоэлектрической точки и способностью связывать лектины [48–50]. Выявлена ткане- и опухолеспецифичность различных гликоизоформ АФП, обусловленная тканевым набором ферментов, осуществляющих реакции гликозилирования. Содержание различных гликоизоформ АФП в эмбриональных и

опухолевых тканях используется для дифференциальной диагностики опухолей и дефектов развития плода [37, 38, 48].

Вторичная структура АФП представлена, в основном, α -спиралью (до 65–67% α -спиральных участков) и не содержат β -складчатой структуры. Пространственная организация АФП представлена тремя гомологичными доменами (I–III), каждый из которых состоит из двух глобулярных субдоменов (IA, IB, PA, PB, SHA, SHB) [52, 53]. Трехдоменная организация молекулы АФП была продемонстрирована методами электронной микроскопии и кругового дихроизма, показавшими существование U-образной структуры с тремя областями плотности масс: одна на вершине и две по краям молекулы [51]. Домены I, II и III имеют сходную вторичную структуру и содержат 68, 55 и 71% α -спирали, соответственно, но отличаются параметрами третичной структуры [45]. Домены I и III имеют жесткую, компактно упакованную третичную структуру и связаны между собой протеолитически лабильным, гибким доменом II [52]. С-концевая часть домена II представляет собой гибкий шарнирный участок, который придает всем доменам подвижность и, тем самым, может способствовать взаимодействию АФП с лигандами или с другими белками [45, 51].

С использованием методов кругового дихроизма, флуоресцентной спектроскопии и сканирующей микрокалориметрии было показано, что, несмотря на стабильность в растворе, АФП обладает достаточной конформационной подвижностью и может образовывать форму расплавленной глобулы (MGF-molten globule form) [54–57]. Изменение pH среды, воздействие органического растворителя, повышение температуры или удаление лигандов приводит к потере уникальной третичной структуры белка. В форме MGF белки находятся в состоянии, промежуточном между уникальным, нативным, и денатурированным, полностью развернутым состояниями. В этой форме белковая молекула компактна и сохраняет все важные свойства нативной вторичной структуры, однако, теряет жесткую третичную структуру [58]. Форма расплавленной глобулы может образовываться также в физиологических условиях. Так, показано, что значения эффективной диэлектрической постоянной и pH среды вблизи клеточной мембраны достаточно низкие и соответствуют значениям, при которых может образоваться MGF форма [59]. Возможно, что в нативной, свернутой форме белки секретируются в кровь и обнаруживаются в биологических жидкостях, а внутри клеток они находятся именно в форме расплавленной глобулы. Такое состояние белка характеризуется большой внутренней подвижностью, включая вращательную

изомеризацию боковых аминокислотных радикалов [53]. Вероятно, в этой форме белки взаимодействуют с рецепторами на поверхности мембраны и проникают внутрь клеток. Однако в связи с трудностями, возникающими при кристаллизации, определение трехмерной структуры АФП с помощью методов рентгеноструктурного анализа и ЯМР спектроскопии представляет собой трудно разрешимую задачу. Остаются не изученными механизмы взаимодействия АФП с низкомолекулярными лигандами и другими белками в том числе, с рецепторами.

Интенсивные исследования, осуществляемые в течение последнего десятилетия с целью выявления функционально важных участков, показали, что альфа-фетопроtein является мультидоменным и полифункциональным белком. В составе АФП обнаружено более двадцати коротких аминокислотных последовательностей, сходных с функционально важными участками ряда физиологически активных белков, в том числе полипептидных факторов роста (для более подробного ознакомления см. обзор [16]). Часть из этих последовательностей получена путем химического синтеза в виде отдельных пептидных фрагментов и изучена в различных тестах биологической активности. Локализация таких пептидных сегментов с экспериментально подтвержденной или только предполагаемой функциональной активностью в полипептидной цепи АФП позволила создать его структурно-функциональную карту (рис. 1).

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ, ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И АПОПТОЗА КЛЕТОК

Целым рядом исследований показано, что АФП обладает способностью регулировать пролиферацию, дифференцировку и апоптоз различных типов клеток, как эмбриональных, так и опухолевых, включая лимфоидные и эпидермальные клетки, фибробласты, клетки печени, плаценты, яичника и матки [60–63]. При этом АФП может регулировать пролиферацию и дифференцировку клеток, проявляя как стимулирующий, так и ингибирующий эффект. Ингибирующий эффект альфа-фетопроteина проявляется, в основном, в отношении пролиферации эстроген-чувствительных клеток [64]. Так, было показано, что АФП дозозависимо ингибирует рост опухолевых клеток гипофиза C29RAP, и этот эффект не может быть обращен добавлением в культуральную среду эстрогенов. При этом АФП не влияет на рост опухолевых клеток линии F4C1, которая характеризуется присутствием эстрофилинов, из чего можно сделать заключение о специфичности действия АФП и о том, что эстрофилины не играют

АФП человека

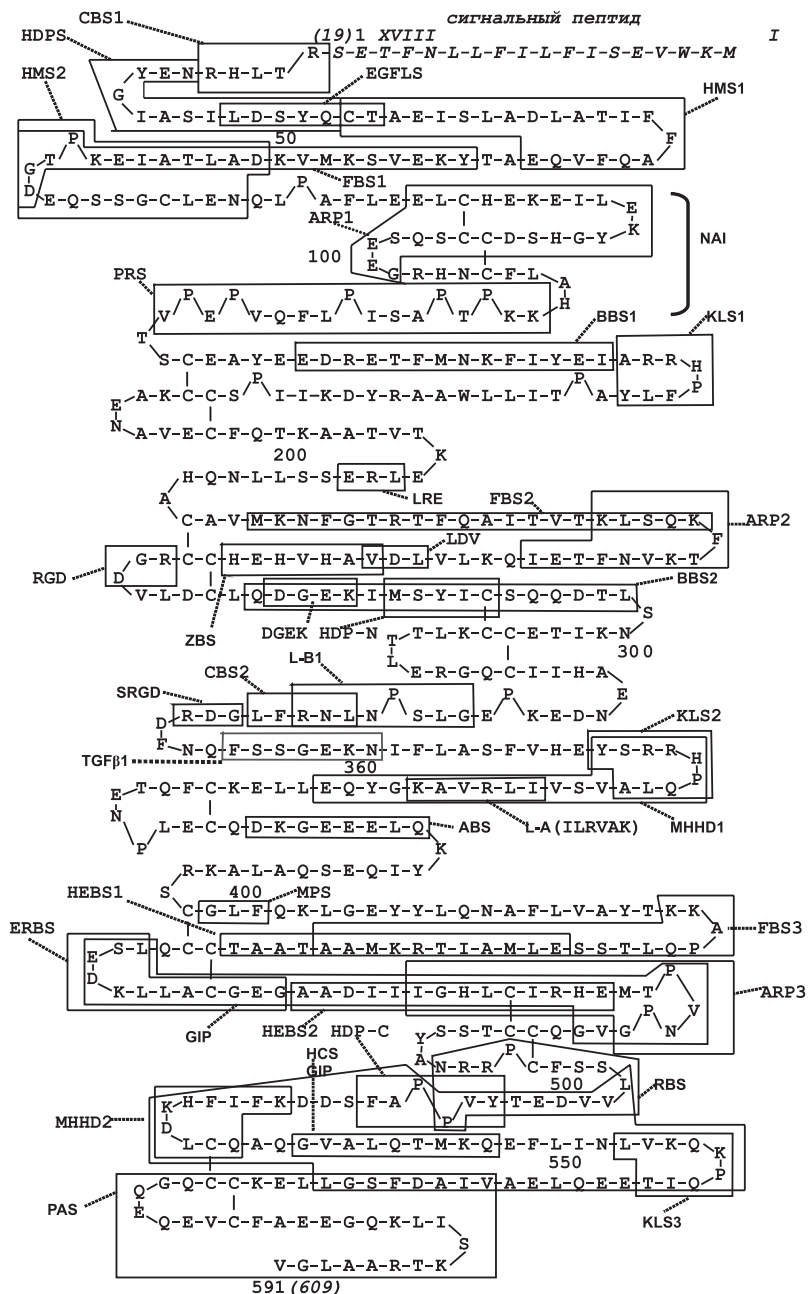


Рис. 1. Структурно-функциональная карта альфа-фетопротейна человека (по [16] с добавлениями, в скобках показаны номера аминокислотных остатков в зрелой молекуле АФП).

- I-XVIII – сигнальный пептид;
- EGFLS (epidermal growth factor like segment) – ЭФР-подобный сегмент (а.о. 14–20);
- TGF β 1 (segment of transforming growth factor β 1) – сегмент трансформирующего фактора роста β 1 (а.о.324–330);
- GIP (growth inhibitory peptide) – пептид, ингибирующий рост (а.о. 446–479);
- FBS (fatty acid-binding site) – участки связывания жирных кислот: FBS1 (а.о. 42–62), FBS2 (а.о. 209–228), FBS3 (419–438);
- HEBS1 (human estrogen-binding site) – основной эстрогенсвязывающий участок АФП человека (а.о. 428–449);
- HEBS2 (human estrogen-binding site) – дополнительный эстрогенсвязывающий участок АФП человека (а.о. 458–471);
- HDP (homeodomain protein) – гомеодоменового бокса белки: HDP-N – участок, гомологичный N-концевому сегменту гомеодоменовых белков; HDPS – участок, гомологичный сегменту гомеодоменовых белков; HDP-C – участок, гомологичный C-концевому сегменту гомеодоменовых белков, по [5];
- ERBS (estrogen-receptor-binding site) – участок связывания рецептора для эстрогенов (а.о. 446–457);
- CBS1 и CBS2 (cycline-binding segments 1 and 2) – циклинсвязывающие сегменты (а.о. 1–5 и 312–316);
- BBS1 и BBS2 (bilirubin-binding sites 1 and 2) – билирубинсвязывающие участки (а.о. 135–148 и 261–277);
- ABS (actin-binding site) – актинсвязывающий участок (а.о. 377–384);
- HMS1 и HMS2 (heavy metal-binding sites 1 and 2) – участки связывания тяжелых металлов (а.о. 19–39 и 51–71);
- NAI (non albumin identity site) – участок со слабой гомологией с альбумином (а.о. 30–120);
- PRS (proline rich segment) – сегмент богатый остатками пролина (а.о. 111–129);
- KLS1, KLS2 и KLS3 (kinetensin-like segments 1, 2 and 3) – кинетензинподобные сегменты (а.о. 148–156, 340–348 и 538–546);
- LRE, LDV, RGD, DGEK, ILRVAK (amino acid sequences) – мотивы белков экстрацеллюлярного матрикса (а.о. 195–197, 242–244, 253–255, 262–265 и 352–356);
- SRGD (segment reverse to RGD amino acid sequence) – сегмент, обратный мотивам клеточной адгезии (а.о. 318–320);
- MHND1 и MHND2 (motifs of hetero- and homodimerization) – мотивы гетеро- и гомодимеризации (а.о. 340–361 и 497–560);
- HCS (histocompatibility class II segment) – сегмент главного комплекса гистосовместимости II класса (а.о. 524–532);
- MPS (milk peptide segment) – сегмент пептида казеина молока (а.о. 399–401);
- PAS (plasminogen activator segment) – сегмент активатора плазминогена (а.о. 553–591);
- ZBS (zink-binding site) – участок связывания ионов цинка (II) (а.о. 244–250);
- RBS (receptor-binding site) – участок связывания рецептора для АФП (а.о. 489–504);
- L-B1 (laminin B1) – сегмент ламинина B1 (а.о. 307–314);
- L-A (laminin A) – сегмент ламинина A (а.о. 352–357);
- ARP1, ARP2, ARP3 (apoptosis related polypeptides 1, 2, 3) – апоптозрегулирующие пептиды 1, 2, 3 (а.о. 79–102, 224–237 и 463–478).

существенной роли в подавлении роста опухоли. В серии экспериментов *in vitro* и *in vivo* было также выявлено, что АФП ингибирует эстрогензависимую пролиферацию клеток матки неполовозрелых самок мышей и рост эстрогензависимых опухолей молочной железы MCF-7 и простаты у человека [65–66].

Однако в отношении эстрогеннезависимых клеток АФП проявляет стимулирующее действие на пролиферацию и дифференцировку клеток. Так, было показано, что альфа-фетопротеин дозозависимо стимулирует (на 50–90%) пролиферацию эмбриональных фибробластов человека из различных органов [13]. Также под воздействием АФП наблюдалось увеличение количества полигональных клеток плаценты мышей, сопровождаемое усилением синтеза ДНК, что указывало на образование клеток *de novo* и их пролиферацию. Кроме того, наблюдалось существенное увеличение поглощения ³H-лейцина, что свидетельствовало о способности АФП усиливать биосинтез белка и позволяло сделать предположение о стимуляции дифференцировки трофобластов [61].

Способность АФП стимулировать пролиферацию опухолевых клеток была продемонстрирована в ряде экспериментальных моделей *in vitro*. АФП существенно стимулирует пролиферацию клеток гепатомы Н-22 (на 122–156%) и асцитной карциномы Эрлиха (на 86–210%) у мышей и гепатоцеллюлярной карциномы BEL-7404 у человека [62, 69]. В культуре клеток карциномы толстой кишки у человека HT-29 показано, что АФП стимулирует пролиферацию этих клеток и оказывает свое действие по аутокринному пути через связывание со своим рецептором [102]. Стимулирующее действие АФП на пролиферацию клеток характеризуется опухолеспецифичностью, так как в одной и той же системе одинаковые концентрации АФП увеличивают пролиферацию клеток BEL-7404 и не влияют на пролиферацию клеток HL-60 [69]. Кроме того, антитела против АФП человека подавляют рост клеток BEL-7404 и не влияют на пролиферацию клеток HL-60.

В культуре опухолевых клеток гепатомы HepG2, лимфобластомы MT4, клеток Jurkat лимфомы человека и клеток L929 мышшиной фибробластомы было показано, что высокие концентрации АФП (более 100мкг/мл) оказывают ингибирующий эффект на пролиферацию, в то время как низкие концентрации АФП, наоборот, оказывают стимулирующее (хотя и умеренное) действие на те же линии клеток. Примечательно, что удаление секретируемых цитокинов и факторов роста из культуральной среды клеток миелобластомы человека U-937 и карциномы молочной железы MCF-7 сопровождается повышением чувствительности клеток к ингибирующему воздействию высоких

доз АФП [13]. Следовательно, цитокины и факторы роста снижают ингибирующий эффект высоких концентраций АФП.

Синергизм действия АФП и факторов роста был продемонстрирован в серии экспериментов по влиянию пуповинной крови и амниотической жидкости человека на пролиферацию клеток. Было показано, что в концентрации 2,5–20% пуповинная кровь человека (в отличие от амниотической жидкости) способна стимулировать пролиферацию медуллярной карциномы молочной железы человека и гранулезных клеток свиньи, и это обусловлено синергичным действием АФП и факторов роста. Об этом свидетельствовало то обстоятельство, что очищенный АФП не оказывает митогенного эффекта на гранулезные клетки свиньи (в концентрации 1,25–5,0 мкг/мл), однако почти вдвое усиливает способность эпидермального фактора роста (ЭФР) и инсулинподобного фактора роста (ИФР) стимулировать пролиферацию этих клеток [70, 71]. В этой же культуре клеток АФП подавляет синтез эстрадиола, стимулированный воздействием трансформирующего фактора роста TGF- α [71]. Следовательно, стимуляция пролиферации клеток под воздействием АФП сопровождается ингибированием стероидогенеза, важного проявления дифференцированной функции клеток. Способность пуповинной крови стимулировать пролиферацию клеток медуллярной карциномы молочной железы уменьшается на 75% при удалении АФП с помощью аффинной хроматографии и увеличивается в 1,5–2,0 раза при добавлении в среду тромбоцитарного фактора роста (ТФР) в концентрации 10 нг/мл [72]. При этом эффект ТФР уменьшается на 56% при удалении из среды АФП, т.е. очищенный препарат АФП увеличивает способность ТФР стимулировать пролиферацию клеток. Эти данные свидетельствуют о синергичном действии низких концентраций АФП и факторов роста на пролиферацию клеток, или, иначе говоря, альфа-фетопротейн может рассматриваться как модулятор активности факторов роста.

Пролиферация эпителиальных клеток желчного пузыря, стимулированная перевязкой желчного протока, сопровождается синтезом АФП, который, в свою очередь, сопровождается увеличением синтеза фактора роста стволовых клеток (ФРСК), фактора роста гепатоцитов и TGF- α [73]. При этом увеличение синтеза ФРСК происходит наряду с увеличением экспрессии его рецептора c-kit. Фактор роста стволовых клеток принимает участие в процессах гемопоэза, меланогенеза и гематогенеза и оказывает свои эффекты посредством связывания с мембранным рецептором, который относится к классу рецепторных тирозинкиназ. При регенерации гепатоцитов в овальных клетках,

синтезирующих АФП, наблюдается увеличение экспрессии ФРСК и его рецептора, *c-kit*, и эта система, видимо, вовлечена в процессы пролиферации овальных клеток и их дифференцировки в малые базофильные гепатоциты [74].

Было показано также, что АФП способен модулировать активность фактора роста эндотелиальных клеток сосудов (VEGF – vascular endothelial cell growth factor), который является основным митогеном, индуцирующим васкулогенез (образование сосудов *de novo*) и ангиогенез (образование сосудов из предсуществующих капилляров) в эндотелиальных клетках. Для эмбрионального развития характерна ранняя васкуляризация, что необходимо для обеспечения развивающегося плода кислородом и питательными веществами. При опухолевом росте и метастазировании наблюдается персистирующая, неконтролируемая васкуляризация. В концентрациях, близких к физиологическим (10–100 нг/мл), АФП оказался способным стимулировать пролиферацию эндотелиальных клеток микрососудов плаценты и матки человека и усиливать способность VEGF стимулировать пролиферацию сосудистых клеток. В концентрации 100 нг/мл АФП также индуцирует фосфорилирование митоген-активируемой протеинкиназы (МАПК) [15]. Последнее обстоятельство позволяет сделать предположение о том, что АФП может оказывать свое действие по механизму, опосредованному связыванием с мембранным рецептором, обладающим тирозинкиназной активностью, так как МАПК является одним из ключевых эффекторных белков этого способа передачи сигнала. В пользу этого предположения свидетельствуют также данные, полученные в культуре пролиферирующих клеток HeLa и BEL-7402 [75, 76]. Стимуляция пролиферации этих клеток под воздействием АФП (в концентрации 20мкг/мл) сопровождается увеличением экспрессии некоторых протоонкогенов, таких как *c-fos*, *c-jun*, *N-ras*. Также было показано, что под воздействием АФП увеличивается синтез p21(*ras*), а также мутантного белка p53 [75]. Более подробно возможный механизм действия АФП будет рассмотрен в разделе V.

Стимуляция пролиферации клеток под воздействием низких концентраций АФП может сопровождаться ингибированием программированной гибели клеток. Об этом свидетельствуют данные о способности АФП в одних и тех же условиях стимулировать пролиферацию клеток HL-60 и блокировать их апоптоз, о чем свидетельствовало изменение морфологии клеток, их сморщивание, фрагментация ДНК и др. [77]. Подверженность клеток HL-60 спонтанному старению во время нормального размножения *in vitro* коррелирует с

чувствительностью к апоптозу и потерей способности к экспрессии рецепторов для АФП, и это обстоятельство позволяет сделать предположение о том, что ингибирование апоптоза опосредовано связыванием АФП с рецептором на поверхности клеток.

В культуре клеток гепатокарциномы HepG2 было показано, что АФП ответственен за их резистентность к цитотоксическому действию фактора некроза опухолей TNF- α [78]. Также было показано, что в клетках гепатоцеллюлярной карциномы мыши АФП в концентрациях 10–100 мкг/мл подавляет TNF- α -индуцированную гибель клеток путем связывания с TNF- α и ингибирование передачи сигнала, опосредованного рецептором TNFR1 [79]. TNF- α -индуцированная гибель клеток может быть следствием ингибирования активности ядерного фактора NF- κ B [80]. Действие ядерного фактора NF- κ B направлено на индукцию генов, контролирующих синтез факторов выживания клеток, таких как Bcl- X_L и XIAP, результатом чего является подавление апоптоза клеток. Ген *AFP* также, видимо, является геном-мишенью для ядерного фактора NF- κ B, так как ингибирование NF- κ B сопровождается подавлением синтеза АФП.

В многочисленных работах было продемонстрировано, что АФП обладает иммуносупрессивным действием, и это свойство определяется структурой белковой части его молекулы [81–92]. Иммуносупрессивное действие АФП, наряду с его способностью ингибировать апоптоз, может лежать в основе механизма, позволяющего опухолевым клеткам избежать надзора со стороны иммунной системы. Об этом свидетельствуют данные, показывающие, что АФП в концентрации 20 мкг/мл стимулирует экспрессию Fas и TRAILR в клетках Jurkat T-лимфомы и их лигандов FasL и TRAIL в клетках гепатомы человека BEL-7402 [93]. Совместная инкубация клеток Jurkat с клетками BEL-7402 приводит к увеличению синтеза Fas и подавлению синтеза FasL, наряду с индукцией экспрессии каспазы-3. Добавление в культуральную среду альфа-фетопротейна сопровождается снижением синтеза Fas и увеличением синтеза FasL в клетках BEL-7402 и подавлением экспрессии каспазы-3 в обоих типах клеток. Следовательно, АФП блокирует апоптоз, который был индуцирован с участием каспазы-3, и способствует взаимодействию Fas на поверхности лимфоцитов с его лигандом на FasL на поверхности гепатомных клеток.

Способность АФП в высоких концентрациях ингибировать пролиферацию клеток может быть обусловлена, наоборот, индукцией апоптоза. На различных линиях опухолевых клеток человека было показано, что высокие концентрации АФП, превышающие

100–200 мкг/мл, индуцируют апоптоз [94, 95]. При этом индукция апоптоза осуществляется по механизму, не зависящему от ионов Ca^{2+} и протеинкиназной активности, и не требует синтеза РНК и белка. Добавление АФП в культуру опухолевых клеток приводит к высвобождению цитохрома *c* из митохондрий в цитоплазму, образованию апоптосомных комплексов и активации каспаз-3 и 9.

РЕЦЕПТОР АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА

В ряде исследований были получены данные, позволяющие предположить, что способность альфа-фетопротеина стимулировать пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, как эмбриональных, так и опухолевых, может быть опосредована рецепторами для альфа-фетопротеина (RECAF – receptor for alpha-fetoprotein), существующими на их поверхности. Впервые существование RECAF на поверхности опухолевых клеток было продемонстрировано для клеток рака молочной железы MCF-7 у человека [96]. Впоследствии выяснилось, что способностью узнавать и специфически связывать АФП обладают также клетки рака легких, желудка, яичников и простаты у человека, Т-лимфомы YAC-1 у мышей, гепатомы Морриса 777 и рабдосаркомы у крыс [97–103]. Так, при температуре 37 °С комплекс АФП с рецептором быстро проникает внутрь клеток Т-лимфомы YAC-1 у мышей и обнаруживается в цитоплазме, через небольшой отрезок времени АФП покидает клетку, не подвергаясь деградации. Равновесный анализ показал существование трех типов участков связывания АФП с рецептором с K_d равными $2,2 \times 10^{-9}$ М (около 700 участков на клетку), $8,6 \times 10^{-7}$ М (210 000 участков на клетку) и $5,7 \times 10^{-6}$ М (910 000 участков на клетку) [98]. С использованием метода равновесного диализа на поверхности опухолевых клеток NIH 3T3, пролиферация которых стимулировалась в присутствии АФП, было обнаружено существование двух типов связывающих участков для АФП, отличающиеся константой сродства: K_d равными $2,7 \times 10^{-9}$ и $8,9 \times 10^{-8}$ М (12810 и 119700 участков на клетку, соответственно) [63].

С использованием АФП, связанного с радиоизотопной меткой, были обнаружены RECAF на поверхности не только опухолевых клеток Ichikawa и TA3/Na, но и эмбриональных мышечных клеток [104]. Существование RECAF на поверхности эмбриональных клеток было показано с использованием флюоресцентной метки, выявившей специфическое связывание и поглощение альфа-фетопротеина тимоцитами плода и новорожденных мышей. Непролиферирующие Т-лимфоциты и тимоциты взрослых мышей не связывают АФП.

С использованием бифункциональной, радиоактивной и фотоактивируемой, метки ^{125}I -ASD на поверхности моноцитов периферической крови и моноцитов клеточных линий U937 и THP-1 у человека были идентифицированы RECAF, которые были реконструированы в протеолипосомной системе [100]. При комнатной температуре около 50% связавшегося АФП проникал внутрь клеток в течение 60 минут. Равновесный анализ взаимодействия показал наличие двух типов участков связывания с K_d равными $5,0 \times 10^{-11}$ М (49 участков на клетку) и $2,5 \times 10^{-7}$ М (7800 участков на клетку). Молекулярная масса рецептора, определенная с помощью SDS-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в восстанавливающих условиях, оказалась равна 62–65 kDa.

Активированные фитогемагглютинином (ФГА) Т-лимфоциты и моноциты периферической крови человека поглощают АФП, в то время как неактивированные Т-лимфоциты не обладают такой способностью [96]. Равновесный анализ выявил наличие на поверхности активированных Т-лимфоцитов лишь одного типа участков связывания с K_d равной $3,0 \times 10^{-7}$ М и около 88000 участков связывания на клетку.

Итак, в целом, на поверхности клеток выявлено до трех типов рецепторов для АФП: один с высокой специфичностью и малой связывающей емкостью, второй – с низкой аффинностью и большой связывающей емкостью и третий – со средними значениями аффинности и связывающей емкости. Разные типы рецепторов, видимо, имеют разное функциональное значение. Об этом свидетельствует то обстоятельство, что насыщение высокоаффинных рецепторов происходит при концентрации АФП, соответствующей физиологической для взрослых особей (10 нг/мл), а насыщение рецепторов с низкой аффинностью – при высокой концентрации АФП. Во взаимодействии с рецептором, кроме белковой части молекулы АФП, принимают участие также углеводные компоненты [104]. Электрофорез в ПААГ в восстанавливающих условиях позволил получить несколько фракций RECAF с молекулярной массой в пределах 62–65 kDa [100]. Также было показано, что два гликопротеина с молекулярными массами 31 и 18 kDa, выделенные из культуры клеток Раджи (клеточная линия В-лимфомы) и ФГА-активированных лимфоцитов периферической крови человека, могут выполнять функцию рецепторов для АФП [99].

Эти данные подтверждают предположение о рецептор-опосредованном механизме действия АФП. Однако первичная и пространственная структура рецептора для АФП, а также строение гена, кодирующего его синтез, остаются неизвестными. Не изучен также меха-

низм и этапы внутриклеточной передачи сигнала, инициированного связыванием АФП с рецептором. Однако существует ряд данных о возможных внутриклеточных эффекторах действия АФП [15, 63, 75]. Эти данные вместе с обнаружением структурного мотива, сходного с частью рецептор-связывающего участка эпидермального фактора роста позволяют сделать предположение о возможных механизмах действия АФП. Возможно, АФП, подобно белкам суперсемейства ЭФР, может оказывать свое действие посредством связывания с рецептором, обладающим тирозинкиназной активностью. В связи с этим более подробно остановимся на описании строения белков суперсемейства ЭФР, их взаимодействия с рецептором и этапах внутриклеточной передачи сигнала.

III. СУПЕРСЕМЕЙСТВО ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА

СТРОЕНИЕ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ЭФР

Эпидермальный фактор роста был впервые обнаружен в подчелюстной железе мышей [105]. Он синтезируется в виде большого предшественника, препро-ЭФР, состоящего из 1207 а.о., из которого образуется зрелая молекула, состоящая из 53 а.о. [106]. Примечательно, что в состав предшественника входит восемь ЭФР-подобных мотивов и гидрофобный участок, расположенный у С-конца, благодаря которому он может существовать в виде гликозилированного мембранного белка [107].

Семейство эпидермального фактора роста, кроме самого ЭФР, включает трансформирующий фактор роста α (TGF- α), амфирегулин, гепаринсвязывающий ЭФР-подобный фактор роста (ГС-ЭФР), бетацеллюлин, эпирегулин, томорегулин и различные изоформы неурегулинов (NRG-1, NRG-2, NRG-3 и NRG-4). Все члены этого суперсемейства обладают общностью строения, а именно состоят из 50–60 а.о. и содержат шесть остатков цистеина, образующих три внутримолекулярных дисульфидных мостика [108]. Интересно, что аналогичные мотивы содержатся в ряде мембранных белков и белков экстрацеллюлярного матрикса, которые участвуют в регуляции пролиферации, миграции и адгезии клеток, а также в белок-белковых взаимодействиях. Дисульфидные связи формируют три петли: А, В и С, которые образуются благодаря дисульфидным связям между С6–С20, С14–С31 и С33–С42, соответственно (рис 2). Между петлями В и С находится шарнирный участок, образуемый в ЭФР человека аминокислотным остатком N32. С помощью ЯМР

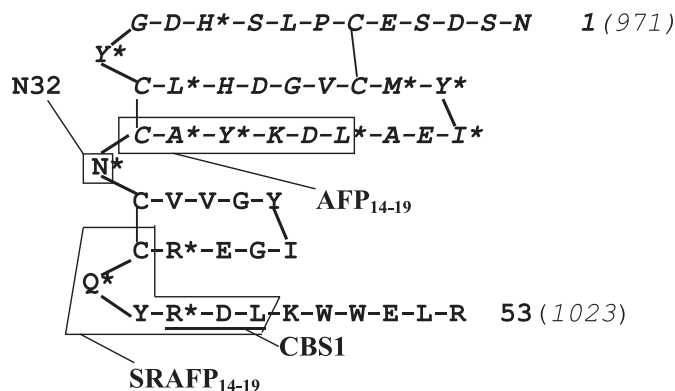


Рис. 2. Первичная структура EGF человека с картированием соответствующих сходных участков АФП: N32 – шарнирный участок; курсивом выделен N-концевой домен; обычным строчным шрифтом – С-концевой домен; SRAFP₁₄₋₁₉ – (segment reversion AFP₁₄₋₁₉) участок с последовательностью обратной фрагменту АФП₁₄₋₁₉; CBS1 – циклинсвязывающий сайт; * – отмечены аминокислотные остатки, для которых показано участие в связывании рецептора EGF.

спектроскопии показано, что все представители суперсемейства ЭФР имеют сходную пространственную структуру, представленную двумя частично перекрывающимися доменами: N-концевым (а.о. 1–35 в составе ЭФР), содержащим основную, трехцепочечную антипараллельную β -складчатую структуру, и С-концевым (а.о. 30–53), содержащим минорную β -складчатую структуру [109].

Как уже упоминалось во введении, в составе АФП обнаружен структурный мотив, сходный с участком петли В в составе ЭФР человека (табл. 1 и рис. 1). Это последовательности LDSYQCT в составе АФП (а.о. 14–20) и LDKYACN в составе ЭФР человека (а.о. 26–32), которые показывают 57% идентичности и 86% суммарного сходства (с учетом консервативных замен а.о.) [16, 17]. Примечательно, что аналогичный структурный мотив обнаружен также в составе томорегулина человека. Следовательно, в составе АФП, не относящегося к семейству ЭФР и не гомологичного факторам роста семейства ЭФР, обнаруживается ЭФР-подобный мотив, что указывает на существование структурных предпосылок для наличия общих функциональных свойств. Интересно также, что структурные мотивы, сходные с ЭФР-подобным мотивом АФП, но уже в инвертированном виде, обнаруживаются в составе ряда белков семейства ЭФР. Это последовательности RCENADL (а.о. 40–46) в составе TGF- α , RCERVDL (а.о. 40–46) в составе бетацеллюлина, PCRDKDL (а.о.

5–11) в составе NRG-3, а также RCQYRDL (а.о. 41–47) в составе самого ЭФР человека.

РЕЦЕПТОРЫ СЕМЕЙСТВА РЭФР (ErbB)

Рецептор ЭФР (РЭФР) представляет собой гликопротеин, состоящий из 1186 а.о. и имеющий молекулярную массу около 170 кДа, из которых около 40 кДа приходится на долю углеводов [110]. Четыре участка аутофосфорилирования расположены у С-конца внутриклеточного домена [111]. РЭФР принадлежит к семейству рецепторов ErbB, которое у млекопитающих включает в себя четыре рецептора: ErbB1 (или РЭФР, HER1), ErbB2 (HER2/Neu), ErbB3 (HER3) и ErbB4 (HER4) [115]. Лигандами для ErbB1, кроме самого ЭФР, являются TGF α , амфирегулин, гепаринсвязывающий ЭФР-подобный фактор роста, бетацеллюлин и эпирегулин [112]. Лиганды ErbB1 обладают различной аффинностью к рецептору и экспрессируются в разные периоды эмбрионального развития и во взрослом организме. Это обстоятельство свидетельствует о многообразии процессов, опосредуемых этим рецептором, и множестве функций, которые он может выполнять в процессе эмбрио- и канцерогенеза. Лигандами ErbB3 и ErbB4 являются различные изоформы неурегулинов, экспрессируемых преимущественно в паренхимальных органах, а также в центральной и периферической нервной системе во время эмбрионального развития [113]. Гепарин-связывающий ЭФР-подобный фактор роста, бетацеллюлин и эпирегулин могут также связываться с ErbB4.

Структура данного семейства рецепторов представлена: внеклеточным, лиганд-связывающим, доменом, единственным гидрофобным трансмембранным доменом и внутриклеточным доменом, обладающим тирозинкиназной активностью [114]. Внеклеточный и внутриклеточный домены данного семейства рецепторов отличаются высокой степенью консервативности первичной структуры. Хотя ErbB3 способен связывать лиганды, его внутриклеточный домен не обладает тирозинкиназной активностью. Собственных лигандов ErbB2 не выявлено, однако показано, что он характеризуется высокой тирозинкиназной активностью и является важным участником процесса гетеродимеризации рецепторов [115].

Внеклеточный домен РЭФР человека состоит из 619 а.о. и подразделяется на четыре субдомена, обозначаемые I, II, III и IV или L1, S1, L2 и S2, соответственно. Субдомены I и III проявляют 37% идентичности, в то время как субдомены II и IV являются цистеин-богатыми, гомологичными доменами и обозначаются также CR1 и CR2 [116].

Семейство рецепторов ErbB принадлежит к рецепторным тиро-

зинкиназам (РТК), наряду с рецепторами семейства инсулина, фактора роста тромбоцитов, фактора роста гепатоцитов, фактора роста эндотелиальных клеток сосудов и фактора роста фибробластов [117, 118]. РТК являются группой мембранных аллостерических ферментов, связывание лиганда с внеклеточным доменом которых индуцирует гомо- и гетероолигомеризацию рецепторов, что приводит к аутофосфорилированию остатков тирозина внутриклеточного домена и запуску каскадного механизма передачи сигнала [119, 120]. Лиганд в данном случае выступает в качестве аллостерического регулятора активности фермента, индуцирующего конформационные изменения в рецепторе. Показано, что наименьшей формой олигомеризации является гомо- или гетеродимеризация по формуле 2:2, т.е. две молекулы лиганда образуют комплекс с двумя молекулами рецептора [121]. При этом гетеродимеризация оказывается более эффективной, чем гомодимеризация, а в качестве предпочтительного партнера для гетеродимеризации выступает ErbB2 [115]. Это подтверждается тем обстоятельством, что комплекс рецептора ErbB3, не обладающего тирозинкиназной активностью, с ErbB2, проявляет наибольшую биологическую активность [122].

Было показано, что онкогенные мутанты рецепторов ErbB, лишённые части или даже всего внеклеточного домена сохраняют способность к спонтанной олигомеризации [123]. Интенсивность сигнала, инициированного связыванием фактора роста с рецептором, определяется типом лиганда и способом димеризации рецептора. Так, показано, что гомодимеры, образование которых инициируется связыванием ЭФР с ErbB1, подвергаются быстрой деградации, в то время как гомодимеры, образованные после связывания TGF- α с ErbB1, подвергаются рециклизации. Это, в свою очередь, приводит к усилению сигнала, инициируемого TGF- α [124]. В отличие от гомодимеров, гетеродимеры, образованные рецептором ErbB1 с любым из других типов рецепторов, способствуют его рециклизации и усилению сигнала.

Относительно недавно были получены кристаллические структуры комплексов РЭФР человека с ЭФР и TGF α , продемонстрировавшие рецептор-опосредованный механизм димеризации РЭФР. Согласно этому механизму, экспериментально подтвержденному данными по мутагенезу РЭФР, связывание лиганда с рецептором индуцирует конформационные изменения в молекуле рецептора, что приводит к открытию участков димеризации [19, 125]. Было продемонстрировано, что в димерном комплексе, образованном по формуле 2:2, каждая молекула лиганда связана с одной молекулой

рецептора, иначе говоря, имеет место димеризация комплекса, состоящего из одной молекулы лиганда и одной молекулы рецептора (1 : 1). При этом субдомены I, II и III рецептора принимают С-образную форму, димеризация осуществляется с участием субдоменов II (или CR1) каждой молекулы рецептора с образованием комплекса по типу «спина к спине». Каждая молекула лиганда локализована между субдоменами I и III, т.е. молекулы лиганда оказываются удаленными (на расстояние до 79 Е) и не взаимодействуют друг с другом. Описанный механизм димеризации опровергает существовавшее ранее мнение о «бивалентности» лиганда, т.е. способности одной молекулы лиганда одновременно взаимодействовать с двумя молекулами рецептора [126].

Выделены три участка взаимодействия молекулы ЭФР человека с рецептором: участок 1 локализован в субдомине I рецептора, а участки 2 и 3 – в субдомине III [19]. Петля В в составе ЭФР (а.о. 20–31) взаимодействуют с участком 1, петля А (а.о. 6–19) и R41 в составе ЭФР взаимодействуют с участком 2, а С-концевая часть и R45 молекулы ЭФР взаимодействуют с участком 3. При этом наиболее важными для взаимодействия оказываются следующие а.о. в составе ЭФР:

1) в составе петли В это M21, I23 и L26, которые участвуют в гидрофобных взаимодействиях с участком 1 рецептора. Важность этих а.о. была подтверждена в экспериментах по мутагенезу ЭФР, показавших, что точечные замены этих а.о. приводят к уменьшению или потере связывающей способности [127, 128]. Данные по мутагенезу показали также важность A30 в образовании гидрофобных взаимодействий между ЭФР и рецептором [130]. Замены A30R, A30H и A30F приводят к существенному снижению способности ЭФР человека связываться с рецептором. Аминокислотный остаток N32 в составе ЭФР участвует в образовании водородных связей, что подтверждается экспериментальными данными, показавшими, что замена N32D существенно снижает связывание с рецептором, в то время как замена N32H не влияет на связывающую способность [129]. Видимо, в последнем случае гистидин может заменять аспарагин в образовании водородной связи. Также в кристаллической структуре комплекса ЭФР с рецептором а.о. K28 фактора роста располагается близко к E90 рецептора, свидетельствуя о возможном электростатическом взаимодействии между ними.

2) А.о. Y13 и L15 в составе петли А ЭФР образуют гидрофобные связи с участком 2 рецептора. Здесь ароматическое кольцо Y13 участвует в π -стэкинг-взаимодействии с кольцом F357 рецептора. Это подтверждаются данными по мутагенезу ЭФР, показавшими, что точечная замена Y13F не изменяет связывающей способности, в

то время как замена Y13 на неароматические или гидрофильные а.о. существенно влияет на связывание с рецептором [130]. В экспериментах по мутагенезу было также показано, что в поддержании гидрофобных взаимодействий между ЭФР и рецептором, важную роль, наряду с Y13, играет H10, также входящая в состав петли A [131]. Замена H10 на полярные, заряженные или алифатические а.о. с другими показателями гидрофобности или размера боковой цепи приводят к снижению связывающей способности. Спектры кругового дихроизма показывают при этом изменение пространственной структуры фактора роста. H10, Y13, Y22 и Y29 образуют кластер гидрофобных ароматических аминокислотных остатков в молекуле ЭФР. Однако, если необходимость H10 и Y13 в связывании с рецептором, была показана, то ни гидрофобные, ни ароматические свойства Y22 и Y29, по-видимому, не влияют на средство этого фактора роста к рецептору [131].

3) Третью группу составляют а.о, входящие в состав С-концевого участка ЭФР: это L47, который участвует в образовании гидрофобной связи с а.о. участка 3 рецептора, и R41, Q43 и R45, которые, видимо, образуют водородные связи [19]. Важность этих а.о. также была подтверждена экспериментально. Так, необходимость R41 в связывании с рецептором была показана с помощью экспериментов по мутагенезу и химической модификации а.о. ЭФР [132]. Аффинность к рецептору восьми аналогов ЭФР, полученных с помощью замен R41K, R41I, R41Q, R41Y, R41G, R41A, R41D и R41E, существенно снижалась и составляла от 0.01 до 0.04% от аффинности нативной природной молекулы ЭФР. Интересно, что замена R41K, которая сохраняет положительный заряд боковой цепи а.о., также снижает средство ЭФР к рецептору, что позволяет предположить важность именно гуанидиновой группировки аргинина и её участие в образовании не ионной, а водородной связи.

МЕХАНИЗМ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА, ОПОСРЕДОВАННОГО РЕЦЕПТОРНЫМИ ТИРОЗИНКИНАЗАМИ

Каскадный механизм передачи сигнала, запускающийся связыванием лиганда с мембранным рецептором, обладающим внутренней тирозинкиназной активностью, приводит, как было уже сказано, к аутофосфорилированию остатков тирозина во внутренней субъединице рецептора [119, 120]. Часть остатков фосфотирозина являются участками для докинга нижележащих адаптерных белков, содержащих SH2 или SH3 домены (т.е. домены гомологичные Src – продукту онкогена вируса куриной саркомы). Первым таким

адаптерным белком в этом механизме у млекопитающих является Shc, содержащий, наряду с SH2, фосфотирозинсвязывающий домен (РТВ – phosphotyrosine binding). Следующим адаптерным белком является Grb2, содержащий как SH2, так и SH3 домен, с помощью которого он реагирует с sos (son of sevenless) белком. Белок sos ассоциируется с прото-онкобелком Ras и активирует его, что запускает каскадный механизм путем последовательной активации набора протеинкиназ (рис. 3). Комплекс белка Ras с ГТФ активирует различные изоформы белка Raf и их последовательное взаимодействие с клеточной мембраной [133]. Изоформы белка Raf являются одной из разновидностей (наряду с изоформами MEKK, MLK и др.) киназы киназы митоген-активируемой протеинкиназы (или киназы киназы МАПК, ККМАПК). Белки Raf, в свою очередь, активируют путем фосфорилирования MEK1/MEK2, которые представляют собой изоформы киназы митоген-активируемой протеинкиназы (киназы МАПК, КМАПК). Далее различные изоформы киназы МАПК (MEK1–MEK7) могут активировать три основные разновидности МАПК, такие как различные изоформы ERK (extracellular signal-regulated kinase) и JNK (Jun N-terminal kinase), а также p38.

Изоформы MEK содержат небольшой регуляторный домен и активируются путем фосфорилирования по остаткам серина и треонина в составе каталитического домена. Их активность может регулироваться большим разнообразием ККМАПК, но они проявляют высокую специфичность по отношению к той или иной изоформе МАПК. Активация МАПК осуществляется путем фосфорилирования по остаткам треонина и тирозина, а активация нижележащих эффекторных белков с помощью МАПК осуществляется фосфорилированием по остаткам серина и треонина.

Одним из дальнейших путей передачи сигнала, который в настоящее время достаточно хорошо изучен, является активация с помощью MEK1/MEK2 с участием белка KRS двух изоформ МАПК, а именно ERK1 и ERK2, которые способны проникать внутрь ядерной мембраны и активировать там ряд факторов транскрипции, таких, как AP-1, NF-κB, Мус. Мишенями для ERK1 и ERK2 могут являться также белки-регуляторы апоптоза, такие, как Bcl-2, cPLA2. Изоформы другой разновидности МАПК, а именно p38 (α, β, γ и δ), играют важную роль в развитии аутоиммунных и инфекционно-аллергических заболеваний, а также опосредуют действие интерлейкина-1 и фактора некроза опухолей, участвуют в клеточном ответе на воздействие теплового и осмотического шока [134, 135].

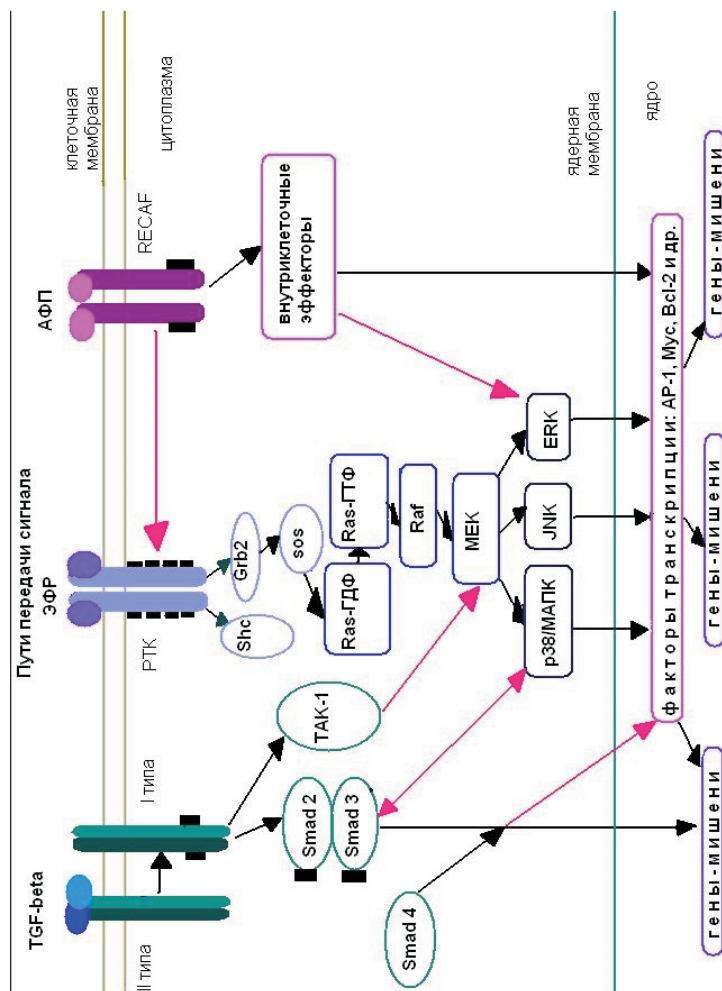


Рис. 3. Схема путей передачи сигналов, инициируемых эпидермальным фактором роста (ЭФР) и трансформирующими факторами роста β (TGF- β) с указанием перекрестных связей (красные стрелки). Показана также возможная схема механизма действия альфа-фетопротеина (АФП). Черные прямоугольники показывают участки фосфорилирования рецепторов или внутриклеточных эффекторов.

Изоформы JNK (JNK1, JNK2 и JNK3) принимают участие в развитии нервной системы, реакции на воспаление и разные формы стресса, регуляции апоптоза. Они являются единственным типом митоген-активируемой протеинкиназы, который фосфорилирует и активирует белок c-Jun, являющийся одним из компонентов фактора транскрипции AP-1. Фактор транскрипции AP-1 состоит из Fos и Jun белков, которые образуют с помощью лейцинового zipper гомо- или гетеродимеры, из которых гетеродимеры обладают большей активностью [136]. Активированный AP-1 узнает и связывается со специфическим участком TGAG/CTCA на генах мишенях, участвуя в их трансактивации.

Таким образом, несмотря на то, что все рецепторные тирозинкиназы опосредуют одинаковый механизм передачи сигнала, каждый рецепторный комплекс инициирует активацию различного набора эффекторных белков и это обуславливает специфичность их действия. Специфичность того или иного пути передачи сигнала регулируется на различных уровнях и обуславливается не только участием различных эффекторных белков, но и их взаимодействием друг с другом, совместной локализацией и ингибированием или активацией перекрестных связей с другими путями передачи сигнала. Регуляция тирозинкиназного механизма передачи сигнала осуществляется также с участием целого набора тирозинфосфатаз, которые катализируют реакции дефосфорилирования тех или иных протеинкиназ [137]. В подобном каскадном механизме передачи сигнала существенное значение имеют продолжительность и интенсивность стимуляции [138]. Короткая и интенсивная стимуляция приводит к усилению пролиферации, а менее интенсивная, но длительная во времени стимуляция способствует дифференцировке клеток.

РЕЦЕПТОРЫ EРВВ И ИХ ЭФФЕКТОРЫ В ПРОЦЕССЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Самые первые исследования биологической активности ЭФР продемонстрировали его способность стимулировать пролиферацию эпителиальных клеток и ингибировать секрецию желудочного сока [139, 140]. В последующем стимуляция пролиферации эпителиальных клеток ряда органов, а также фибробластов и кератиноцитов под воздействием ЭФР была продемонстрирована в различных экспериментальных моделях как *in vitro*, так и *in vivo* [141]. Примечательно, что предшественник ЭФР, содержащий и не содержащий ЭФР-подобные повторы, также может обладать биологической активностью [107, 142]. Эксперименты с трансгенными мышами, содержащими предшественник ЭФР человека, лишенный повторов,

показали, что такой белок вызывает задержку роста у мышей и нарушение сперматогенеза.

Если сам эпидермальный фактор роста не является опухолеассоциированным белком, то его рецептор может функционировать как онкогенный белок и играть важную роль в опухолевой трансформации клеток. Показано, что цитоплазматический домен рецептора ЭФР человека обладает высокой степенью гомологии с продуктом онкогена *v-ErbB* вируса эритробластопа птиц [143]. Гиперэкспрессия рецептора ErbB1 или мутация гена *C-erb*, кодирующего его синтез, была продемонстрирована для ряда опухолей [144, 145]. Так, повышение уровня ErbB1, наблюдаемое при мелкоклеточной карциноме легких, коррелирует с низким уровнем дифференцировки клеток и быстрым метастазированием опухоли [146]. Около 45% случаев рака молочной железы сопровождается повышением уровня ErbB1 [147]. Гиперэкспрессия рецептора ErbB2 оказалась характерной для большинства карцином, включая карциному молочной железы, аденокарциному легких, а также карциному желудка и матки [148]. Например, 27% и 34% случаев карциномы молочной железы сопровождается повышением экспрессии ErbB2 и мутантного белка p53, соответственно [149]. Белок p53 является опухолевым супрессором, который осуществляет свои эффекты благодаря регуляции клеточного деления и индукции апоптоза в клетках с поврежденным ДНК. Мутация гена, кодирующего синтез белка p53, приводит к неконтролируемому делению и пролиферации клеток. Повышение экспрессии рецептора ErbB3 наблюдается при ряде опухолей, включая аденокарциному толстой и прямой кишки, и это коррелирует с плохим прогнозом [150]. Иммунореактивный ErbB4 был обнаружен при опухолях молочной железы, яичника, поджелудочной железы и мочевого пузыря [151–153].

Для некоторых видов опухолей оказалось характерным повышение синтеза не только рецепторов ErbB, но и ключевых эффекторных белков механизма передачи сигнала, опосредуемого рецепторными тирозинкиназами. Так, при гепатоцеллюлярной карциноме наблюдается гиперэкспрессия протоонкобелка Ras, а также мутантного белка p53, которые предложены в качестве молекулярных маркеров этой патологии [156]. Нарушение экспрессии белков *c-Jun* и *c-Fos*, компонентов фактора транскрипции AP-1, активируемого МАПК, обнаружено при опухолевой трансформации фибробластов у крыс [157].

Также было показано, что протоонкоген *c-myc* участвует в опухолевой трансформации клеток молочной железы [154, 155]. Амплификация и гиперэкспрессия *c-myc* коррелирует со стадией болезни,

метастазированием и плохим прогнозом (риском рецидива и летальным исходом). Видимо, участие *c-myc* в опухолевой трансформации клеток обусловлено регуляцией клеточного цикла. Об этом свидетельствует то обстоятельство, что в эпителиальных клетках молочной железы человека и мыши, пролиферация которых стимулирована под воздействием ЭФР, гиперэкспрессия *c-myc* сопровождается укорочением G1 фазы клеточного цикла [154]. Наблюдаемое при этом увеличение фосфорилирования ретинобластомного белка pRb сопровождается активацией циклинзависимой киназы CDK2 (CDK–cycline dependent kinase), снижением экспрессии ингибитора циклинзависимой киназы p27 и ранней экспрессией циклина E.

ФАКТОРЫ РОСТА, СОДЕРЖАЩИЕ ЭФР-ПОДОБНЫЕ МОДУЛИ

В составе суперсемейства ЭФР выделяют семейства белков, содержащих ЭФР-подобные домены или модули. Белки, содержащие ЭФР-подобные домены, встречаются как у позвоночных, так и беспозвоночных и характеризуются разнообразием выполняемых функций [158, 159]. Они принимают участие в регуляции пролиферации, дифференцировки клеток, их миграции и адгезии, свертывании крови (факторы VII, IX, X, белок C, тромбомодулин) и фибринолизе, активации системы комплемента. Обычно, это мозаичные, мультимодульные и полифункциональные белки. Их ЭФР-подобные модули состоят из 30–40 а.о. и содержат, обычно, три внутримолекулярные дисульфидные связи. Однако относительно недавно было показано, что два представителя таких белков, а именно ламинин и интегрины, содержат четыре дисульфидные связи, из которых одна связывает между собой разные домены.

Одним из важных представителей белков, содержащих ЭФР-подобные модули, является семейство EGF-CFC белков. К этому семейству относятся: крипто-1 (CR-1) и криптин у человека, крипто-1 (cr-1) и криптин у мыши, крипто у курицы, а также FRL-1 лягушки и белок oer (one-eyed pinhead) полосатого данио [160, 161]. Белок крипто-1 человека известен также под названием фактор роста тератокарциномы-1 (TDGF-1, teratocarcinoma-derived growth factor 1). Белки данного семейства признаны онкофетальными и играют важную роль в эмбриональном развитии и в процессе канцерогенеза [162, 163]. Так, хорошо изучена их важная роль в формировании зародышевых листков, передне-задней и право-левой осей тела, а также в развитии отдельных органов. Увеличение синтеза EGF-CFC белков наблюдается при ряде карцином: желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, молочной железы, матки, яичника и др.

Белки данного семейства содержат 171–202 а.о. и состоят из N-концевого сигнального пептида, модифицированного ЭФР-подобного домена (EGF область), мотива, богатого остатками цистеина (CFC область) и короткого гидрофобного С-концевого GPI-участка (GPI – glycosylphosphatidylinositol). Участок GPI служит для закрепления этих белков на клеточной мембране, благодаря чему они могут существовать не только в растворимой, но и в мембранносвязанной форме [164]. Это гликопротеины, полипептидная часть которых проявляет до 22–32% гомологии. Наибольшей степенью гомологии при этом обладают ЭФР-подобные домены, содержащие шесть остатков цистеина, которые образуют обычно три внутримолекулярные дисульфидные связи. Белок CR-1 человека содержит единственный участок N-гликозилирования (N79) и два потенциальных участка O-гликозилирования (S40 и S161). Внутри ЭФР-подобного домена, между вторым и третьим остатками цистеина располагается модифицированный участок O-фукозилирования. Для белков данного семейства характерен консенсусный мотив, имеющий состав CXXGGS/TC, в пределах которого и располагается участок O-фукозилирования. Такой же консенсусный участок содержится в некоторых других белках, обладающих ЭФР-подобными модулями, как, например, фактор свертывания крови VII и Notch 1 белки у млекопитающих [165]. Участок O-фукозилирования, видимо, принимает участие либо в связывании с рецептором, либо в процессе внутриклеточной передачи сигнала. O-фукозилирование способствует модуляции сигнала, инициируемого также факторами роста суперсемейства TGF- β (а именно, Nodal), белками Notch и активатором плазминогена (uPA) [166]. Способность белков данного семейства усиливать сигналы опосредуемые рецепторами белков суперсемейства TGF- β [153] будет рассмотрена далее.

Степень сходства ЭФР-подобных доменов этих белков с различными изоформами неурегулинов больше, чем с ЭФР и другими лигандами рецептора ErbB1. Это позволило первоначально предположить, что белки данного семейства опосредуют свое действие через рецепторы ErbB3 и ErbB4. Хотя детальный механизм передачи сигнала, инициируемого белками семейства EGF–CFC, не известен, экспериментальные данные свидетельствуют о возможности взаимодействия с глипиканом-1, который является мембранным гепарансульфатпротеогликаном и функционирует в качестве корецептора для ряда факторов роста [162, 163]. Связывание с глипиканом-1 активирует тирозинкиназу c-Src и запускает каскадный механизм передачи сигнала опосредованно – через МАПК или фосфоинозитол-

3-киназу (ФИ–3К), который далее активирует протеинкиназу В (РКВ/АКТ).

Еще одним белком, интересным, на наш взгляд, и содержащим ЭФР-подобные модули, является мозаичный, полидоменный белок, полученный путем трансляции клонированной ДНК в клеточной линии костного мозга MS-5, ответственный за процесс гемопоэза [167]. Такая ДНК кодировала белок с молекулярной массой 387 кДа и содержащий восемь типов функционально различимых доменов, в том числе ЭФР-подобные модули. Этот белок был назван полидомом, он содержит десять ЭФР-подобных повторов, каждый из которых состоит примерно из 20 а.о. Шесть из десяти повторов имеют Ca^{2+} связывающие участки, которые участвуют в белок-белковых взаимодействиях. Интересно, что в составе некоторых повторов содержатся мотивы, сходные с ЭФР-подобным мотивом LDSYQCT АФП человека (а.о. 14–20). Эти данные приведены в табл. 1. Обнаружение в составе этого полидоменного белка домена, сходного с последовательностью РТХ (pentraxin)-домена, а также фактора Виллибранда А и белка, контролирующего систему комплемента, свидетельствует о возможной роли этих белков в клеточной адгезии и функционировании иммунной системы.

IV. СУПЕРСЕМЕЙСТВО ТРАНСФОРМИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ РОСТА TGF-В

СТРОЕНИЕ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА TGF-В

В состав суперсемейства трансформирующих факторов роста типа β у позвоночных входят, наряду с семейством собственно TGF- β , также семейства белков морфогенеза костей (BMP-bone morphogenesis proteins), GDF (growth differentiation factors), MIS (Mullerian inhibiting substance), активинов, ингибинов, а также Nodal и lefty [4, 6]. Белки семейства собственно TGF- β синтезируются в виде пропрепептида, из которого в результате процессинга отщепляется сигнальный пептид и продомен с образованием зрелого белка. Препептид, или LAP (latency associated peptide), остается связанным со зрелой молекулой нековалентными взаимодействиями. Благодаря этому зрелая молекула белка представляет собой биологически неактивную, латентную форму, в виде которой TGF- β хранится в экстрацеллюлярном матриксе. Активация TGF- β происходит путем отщепления пропрепептида LAP с участием ряда факторов [168]. Зрелые белки TGF- β состоят из 112 а.о. и содержат от шести до девяти остатков цистеина, которые образуют как внутри- так и межмолекулярные дисульфидные связи (рис. 4).

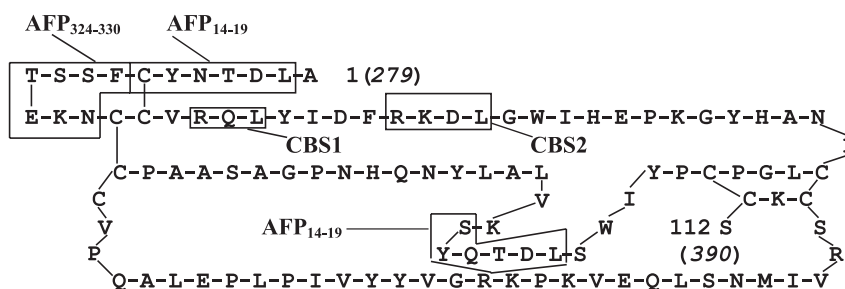


Рис. 4. Первичная структура TGF β1 с картированными на ней соответствующими сходными участками АФП и циклинсвязывающими участками (CBS1 и CBS2).

Как уже упоминалось ранее, между TGF-β и АФП существует ряд структурно-функциональных сходств. Одним из проявлений структурного сходства между этими двумя группами негомологичных белков является богатство остатками цистеина, включая богатство сдвоенными цистеинами [16]. Кроме того, в составе TGF-β1 и TGF-β3 обнаружены аминокислотные последовательности, сходные с гептапептидом LDSYQCT (табл. 2), который является ЭФР-подобным мотивом АФП человека и его биологически активным участком. Это обстоятельство может свидетельствовать о существовании

Таблица 2.

Аминокислотные последовательности факторов роста семейства TGF-β, сходные с пептидным фрагментом L D S Y Q C T альфа-фетопротейна человека (по данным [17, 18])

Название белка	Аминокислотная последовательность	Идентичность	Консервативные замены	Суммарное сходство, %	Код доступа в базу данных SwissProt/TrEMBL
АФП (а.о. 14-20)	L D S Y Q C T	7/7 (100%)	0/7 (0%)	100	P02771
TGF-β1 (а.о. 2-8)	L D T N Y C F	3/7 (43%)	3/7 (43%)	86	P01137
TGF-β1 (а.о. 54-60)	L D T Q Y S K	2/7 (29%)	5/7 (71%)	100	P61812
TGF-β3 (а.о. 2-8)	L D T N Y C F	3/7 (43%)	3/7 (43%)	86	P10600

Сокращения: АФП - альфа-фетопротейн, ЭФР - эпидермальный фактор роста, TGFβ1 - трансформирующий фактор роста β1, TGFβ3 - трансформирующий фактор роста β3.

Примечание: нумерация а.о. дана для зрелых полипептидных цепей.

структурных предпосылок для наличия общих функциональных свойств, возможно, реализуемых посредством связывания с общим мембранным рецептором.

Выделяют два основных типа рецепторов TGF- β – рецепторы I и II типа, имеющие молекулярную массу 55 и 79 кДа, соответственно. Эти рецепторы относятся к классу серин/треонинкиназных рецепторов, опосредующих свое действие через систему Smad белков. Механизм передачи сигнала и роль различных Smad белков хорошо изучены и представлены обширно в литературе, в том числе в обзорах [4, 8, 169]. Связывание гетеро- или гомодимеров лиганда с внеклеточным доменом рецептора II типа приводит к взаимодействию его с рецептором I типа и фосфорилированию SG-субдомена (содержащего SGS GSG последовательность) его внутриклеточного домена [4]. Рецептор I типа обладает серин/треонинкиназной активностью и фосфорилирует ряд Smad белков. В настоящее время у позвоночных обнаружено несколько различных Smad белков, которые подразделяются на три типа: активируемые рецептором R-Smad (Smad1, Smad2, Smad3, Smad5 и Smad8), которые образуют комплексы с так называемым общим Smad белком (Smad4) и проникают внутрь ядра, а также ингибиторные I-Smad (Smad6 и Smad7). Канонический путь передачи сигнала включает фосфорилирование рецептором I типа и активирование Smad2 и Smad3, их гетеромеризацию с участком Smad4 и проникновение гетеромерного комплекса внутрь ядра, где они выполняют функцию факторов транскрипции (рис. 3) [170, 171]. В эпителиальных клетках передача сигнала может осуществляться путем активации Smad1 и Smad5 под воздействием BMP и их гетеромеризацию с Smad4. Все R-Smad содержат на N-конце MH1 домен, способный связываться с ДНК, а на C-конце MH2 домен, участвующий в белок-белковых взаимодействиях. Smad белки участвуют в процессе транскрипции двумя способами: либо непосредственно связываясь с SBE элементами (Smad binding element) промотерных участков генов-мишеней с участием своего MH1 домена, либо взаимодействуя с другими факторами транскрипции через свой MH2 домен [170, 172].

Интенсивные исследования последних лет показали, что TGF- β могут оказывать свое действие с участием не только Smad белков, но и с участием эффекторов других путей передачи сигнала. Благодаря этому осуществляется перекрестное взаимодействие между различными путями [173, 174]. Выделяют три основных способа взаимодействия Smad белков с эффекторами и рецепторами других путей передачи сигнала:

1) фосфорилирование и активирование Smad белков рецепторами или эффекторами не TGF- β -опосредованного пути передачи сигнала;

2) модулирование активности других путей передачи сигнала с участием Smad белков;

3) непосредственное взаимодействие рецепторов TGF- β и активирование ими эффекторов других путей передачи сигнала.

Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о возможности интеграции двух путей передачи сигнала, опосредованных рецепторами TGF- β и рецепторными тирозинкиназами. Так, возможна активация с участием TGF- β митоген-активируемых протеинкиназ – основных эффекторов пути передачи сигнала, опосредуемого рецепторными тирозинкиназами [175]. При этом активация МАПК может опосредоваться Smad белками и характеризоваться медленной кинетикой или может протекать без участия Smad белков путем прямой активации киназы киназы МАПК (ККМАПК) и характеризоваться быстрой (5–15 мин.) кинетикой. Впервые возможность прямой активации ККМАПК с помощью TGF- β была показана на примере белка TAK1 (TGF- β activated kinase 1), который далее может активировать p38/МАПК [176]. Впоследствии было показано, что активация МАПК с помощью TGF- β без участия Smad белков происходит в нормальных эпителиальных клетках, опухолевых клетках NIH 3T3, клетках гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 и фибросаркомы HT1080 и др. [177–179]. В эпителиальных клетках молочной железы рецептор TGF- β типа I фосфорилирует и активирует p38/МАПК и JNK и опосредует индукцию апоптоза независимо от Smad белков [178]. В гепатоцитах рецептор TGF- β типа II взаимодействует с адаптерным белком Daхх, следствием чего является активация JNK и индукция апоптоза [179]. Индукция апоптоза факторами роста TGF- β может осуществляться также с участием ингибиторных Smad белков. Так, в клетках карциномы простаты TAK1 активирует p38/МАПК с участием Smad7, вызывая индукцию апоптоза этих клеток [180, 181].

Взаимодействие двух упомянутых путей передачи сигнала может осуществляться также путем модуляции активности Smad белков с участием МАПК. Митоген-активируемые протеинкиназы могут фосфорилировать Smad белки, влияя, тем самым, на их способность проникать внутрь ядра [174].

Перекрестные связи с другими путями передачи сигнала могут существовать также на уровне регуляции транскрипции. Показано, что Smad белки могут регулировать транскрипцию, как уже указывалось, не только непосредственно связываясь с ДНК, но и взаимодействуя

с другими факторами транскрипции [182]. Так, Smad3 и Smad4 могут взаимодействовать с фактором транскрипции AP-1, представляющим собой гомо- или гетеромерный комплекс белков Jun и Fos, выступая его коактиватором. В условиях *in vitro* Smad3 и Smad4 могут связываться со всеми представителями Jun белков: с-Jun, JunB и JunD [183]. В культуре гепатоцитов крысы ЭФР может усиливать действие TGF- β , и этот эффект обусловлен взаимодействием Smad3 с AP-1 с вовлечением во взаимодействие белков с-Jun и JunB [184]. При этом, активация Smad3 коррелирует с фосфорилированием белка с-Jun, опосредованным p38/МАПК и ФИ-3К. Также было показано TGF- β вызывает репрессию транскрипции гена *c-myc* в кератиноцитах и этот эффект опосредуется Smad3 путем его связывания с TIE элементом (TGF- β inhibitory element) промотера гена *c-myc* [185].

Один из способов модуляции сигнала, опосредуемого рецепторами TGF- β , осуществляется с участием EGF-CFC белков. Показано, что EGF-CFC белки могут функционировать в качестве корецепторов для белка Nodal, способствуя образованию его комплекса с димером рецептора активина I типа (ALK4) и II типа (AktRII). Далее происходит активация Smad2 и Smad3 с образованием комплекса с белком Smad4 и проникновением их в ядро [162, 163]. Кроме того, показано, что белок крипто-1 ингибирует связывание активина с его рецептором и блокирует, тем самым, передачу сигнала, иницированного активинном. Видимо, ингибирование белком крипто-1 способности активина подавлять рост опухолей может играть немаловажную роль в стимуляции роста опухолей на ранних стадиях.

TGF- β В ПРОЦЕССЕ ЭМБРИО- И КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Факторы роста семейства TGF- β принимают активное участие в процессе эмбрио- и канцерогенеза, проявляя, как и альфа-фетопротеин, свойство онкофетальных белков. Однако в литературе отсутствуют данные о возможном синергизме действия между этими группами белков или о модуляции альфа-фетопротеином действия других факторов роста, активность которых опосредуется связыванием с серин/треонинкиназными рецепторами. Также отсутствуют экспериментальные данные о возможном участии внутриклеточных эффекторов передачи сигнала, опосредуемого этими рецепторами, в активности альфа-фетопротеина. Тем не менее, нельзя исключать возможности взаимодействия или существования перекрестных связей между путями передачи сигнала, опосредуемых АФП и факторами роста TGF- β , тем более, что появились экспериментальные данные о индукции синтеза TGF- β 1 в клеточных моделях синтетическим

пептидом YQC [А.А. Терентьев, Х.А. Алиханов, неопубликованные данные], фрагментом активного участка АФП (LDSYQCT), ранее описанного нами. Кроме того, обнаружение структурно сходных мотивов в составах АФП и факторов роста TGF- β 1 и TGF- β 3 (табл. 2) свидетельствует о существовании структурных предпосылок для наличия общих функциональных свойств [17, 18].

Роль белков семейства TGF- β в эмбриональном развитии достаточно хорошо изучена и показано, что эти белки принимают участие в развитии плода и формировании плаценты и хориона. Они необходимы для формирования органов плода (сердца, верхнего неба, зубов, глаз), передне-задней оси, а также развития костной, нервной и репродуктивной систем организма [4]. Также показано, что белки семейства TGF- β принимают участие в ангио- и васкулогенезе. В основе способности факторов роста TGF- β участвовать в формировании органов плода лежит стимуляция морфогенетических изменений, которые осуществляются за счет миграции клеток и эпителиально(эндотелиально)-мезенхимального перехода, или трансдифференциации (EMT – epithelial/endothelial-mesenchymal transition) [186, 187]. Во время EMT наблюдаются характерные изменения в актиновом цитоскелете эпителиальных клеток, в результате чего увеличивается их подвижность, усиливаются инвазивные свойства. Адгезивная способность клеток теряется, и внеклеточный матрикс разрушается [188].

Трансдифференциация под воздействием факторов роста TGF- β происходит не только во время эмбрионального развития, но и в процессе канцерогенеза, и этот эффект опосредуется не только Smad белками, но и митоген-активируемыми протеинкиназами, а также фосфатидилинозитол-3-киназой [189–191]. Хотя на поздних стадиях канцерогенеза TGF- β ингибируют рост опухоли, на ранних стадиях они стимулируют опухолевый рост. Эпителиально-мезенхимальная трансдифференциация во многом способствует стимуляции роста опухолей, содействуя приобретению инвазивных качеств и усилению метастазирования [188]. Увеличение агрессивности опухоли происходит также за счет стимуляции ангиогенеза под воздействием TGF- β 1 [192–195]. Так, гиперэкспрессия TGF- β 1 при карциноме простаты сопровождается усилением ангиогенеза, и нейтрализующие антитела против TGF- β 1 тормозят рост опухоли за счет снижения ангиогенеза [203]. В эпителиальных клетках и фибробластах наблюдается усиление синтеза фактора роста эндотелиальных клеток сосудов в ответ на воздействие TGF- β , и этот эффект может лежать в основе стимуляции ангиогенеза [195].

Факторы роста TGF- β , так же как и АФП, обладают иммуносупрессивным действием [197–199]. Они подавляют пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов, NK клеток. Гиперэкспрессия TGF- β 1 опухолевыми клетками сопровождается подавлением функций иммунокомпетентных клеток [196, 197]. Было показано, что подкожная инъекция клеток карциномы толстой кишки сопровождается их отторжением под воздействием активированных FasL лигандом нейтрофилов [199]. Однако TGF- β 1 ингибирует активацию нейтрофилов и, тем самым, создает иммунологическую толерантность и предотвращает отторжение опухоли [196, 197]. Таким образом, TGF- β 1, так же как и АФП, может помочь опухолевым клеткам избежать надзора со стороны иммунной системы.

На поздних этапах канцерогенеза факторы роста TGF- β , наоборот, подавляют рост опухоли, и в основе этого эффекта могут лежать различные механизмы. В первую очередь, это способность TGF- β регулировать клеточный цикл путем индукции синтеза ингибиторов циклинзависимых киназ (СКИ – cycline dependent kinase inhibitor), таких как p15 и p21 [200–203]. Ингибитор p21 взаимодействует с CDK2 и циклинами А или Е, в то время как p15 образует комплексы CDK4 и CDK6, и циклином D [204]. Ингибитор p15 может также вытеснять p21 из комплексов с CDK4 и CDK6, тем самым, способствуя связыванию его с CDK2, а также с циклинами А и Е [200]. Индукция синтеза СКИ под воздействием TGF- β осуществляется с участием Smad белков и их кооперативным действием с фактором транскрипции Sp1 [201]. В конечном итоге, индукция синтеза СКИ приводит к аресту клеточного цикла в G1 фазе. Торможение клеточного цикла под воздействием TGF- β может осуществляться также путем ингибирования экспрессии протоонкогена *c-myc*, что оказалось необходимо для индукции синтеза СКИ [202, 203].

Ранее уже упоминалось о способности TGF- β индуцировать апоптоз клеток независимо от R-Smad или с участием ингибиторных Smad белков [178–181]. Индукция апоптоза под воздействием TGF- β в опухолевых клетках опосредуется подавлением синтеза фактора выживания клеток Bcl-X_L, а также активацией каспаз-3 и 8 [205, 206]. В клетках карциномы желудка TGF- β индуцирует апоптоз путем Smad3-опосредованной индукции Fas рецептора и активации каспазы-8 [207].

Способность факторов роста TGF- β подавлять рост опухолей на поздних стадиях канцерогенеза подтверждается мутациями в генах, кодирующих рецепторы TGF- β или Smad белки при различных видах опухолей. Так, мутации гена, кодирующего рецептор II типа, обна-

руживаются при гепатоцеллюлярной карциноме, при раке желудка и толстой кишки, а мутации гена, кодирующего рецептор I типа, часты при карциноме яичника и поджелудочной железы, T-клеточной лимфоме [208–212].

V. ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА

Как уже упоминалось АФП проявляет синергизм действия с рядом факторов роста, опосредующих свое действие посредством связывания с рецепторными тирозинкиназами. Это свидетельствует в пользу предположения о том, что АФП может оказывать свои эффекты, проявляя сходный механизм действия.

В культуре клеток гепатоцеллюлярной карциномы BEL-7402 было показано, что стимуляция пролиферации этих клеток под воздействием АФП (в концентрации 20 мкг/мл) сопровождается увеличением экспрессии некоторых протоонкогенов, таких как *c-fos*, *c-jun*, *N-ras*. Белки – продукты генов *c-fos* и *c-jun* являются компонентами фактора транскрипции AP-1, который активируется с помощью МАПК и индуцирует транскрипцию ряда генов, контролирующих синтез белков, ассоциированных с пролиферацией и дифференцировкой клеток. Ген *N-ras* контролирует синтез белка p21(ras), который является одним из эффекторных белков механизма передачи сигнала, опосредуемого рецепторными тирозинкиназами. Было показано, что под воздействием АФП увеличивается синтез p21(ras), а также мутантного белка p53 [75, 76]. Стимуляция пролиферации и увеличение синтеза белка p21(ras), а также мутантного белка p53 на 96 и 81%, соответственно, под воздействием АФП наблюдались также в культуре клеток HeLa [76]. В концентрациях, близких к физиологическим (от 10 до 100 нг/мл), АФП оказался способным стимулировать пролиферацию эндотелиальных клеток микрососудов плаценты и матки человека и усиливать активность фактора роста эндотелиальных клеток сосудов (VEGF). При этом пролиферация клеток сопровождалась увеличением фосфорилирования митоген-активируемой протеинкиназы (МАПК) [15].

Эти данные свидетельствуют в пользу предположения о том, что АФП может оказывать свое действие, связываясь с рецептором, обладающим тирозинкиназной активностью. Ещё одно обстоятельство может служить дополнительным свидетельством в пользу этого предположения. Молекулярная масса рецептора АФП (RECAF), определенная с помощью электрофореза в ПААГ в восстанавливающих

условиях, равна 62–65 кДа, однако в отсутствие меркаптоэтанола рецептор АФП мигрирует в виде одной полосы, соответствующей молекулярной массе 140 кДа [100]. Это значение находится в пределах значений молекулярных масс рецепторных тирозинкиназ. Взаимодействию АФП с рецептором может способствовать его конформационная подвижность и способность образовывать форму расплавленной глобулы (более подробно см. [214]). Значения диэлектрической проницаемости и рН среды вблизи мембраны соответствуют условиям, при которых образуется MGF форма.

АФП может оказывать модулирующее действие на факторы роста, либо непосредственно связываясь с их рецептором, либо действуя автономно, связываясь со своим рецептором, который может также обладать тирозинкиназной активностью (рис. 3). Рецептор АФП может выполнять функцию корецептора, облегчая связывание факторов роста с их рецептором и усиливая тем самым их эффекты. Рецептор для АФП может активировать рецептор фактора роста путем гетеродимеризации с ним. Так, в отличие от гомодимеров, гетеродимеры ErbB1 с любым из других типов рецепторов способствуют его рециклизации, что, в свою очередь, приводит к усилению сигнала [124].

Кроме того, возможно, что АФП связываясь со своим рецептором автономно, запускает каскадный механизм передачи сигнала, внутриклеточные эффекторы которого могут взаимодействовать с эффекторами других путей. Существование таких перекрестных связей между различными путями передачи сигнала, в том числе работающими совершенно по разным механизмам, считается в настоящее время общепризнанным явлением [173, 174, 213]. В передаче сигнала, опосредуемого связыванием с рецептором, большое значение имеют не только перекрестные связи, существующие между различными механизмами, но и интенсивность, и продолжительность сигнала. Характер клеточного ответа, инициируемого тем или иным сигналом, зависит от соотношения этих факторов. Ряд экспериментальных данных показывает, что низкие концентрации АФП, аналогично коротким и интенсивным сигналам, стимулируют пролиферацию и ингибируют апоптоз клеток, в то время как высокие концентрации, наоборот, аналогично длительным и слабым сигналам, индуцируют апоптоз и вызывают дифференцировку клеток [78, 94, 95].

Ранее мы упоминали о том, что в составе АФП человека обнаружена последовательность LDSYQCT (а.о. 14–20), сходная с последовательностью LDKYACN в составе ЭФР человека (а.о. 26–32). Последовательность LDSYQCT была получена в виде отдельного

пептидного фрагмента методом химического синтеза на твердой фазе и изучена в различных тестах биологической активности [16]. Было показано, что этот гептапептид является биологически активным участком АФП человека. Мы предполагаем также, что он является частью рецепторсвязывающего участка АФП. В пользу этого предположения свидетельствует то обстоятельство, что последовательность LDKYACN в составе ЭФР человека представляет собой основную часть петли В, которая содержит а.о., участвующие в связывании с РЭФР. Это а.о. L26 и A30, принимающие участие в гидрофобных взаимодействиях ЭФР с его рецептором, а также N32, образующий водородные связи с а.о. рецептора [19]. Аминокислотным остаткам L26 и A30 соответствуют L14 и Q18 в составе АФП человека, которые также способны участвовать в гидрофобных взаимодействиях, а остатку N32 соответствует T20, гидроксильная группа которого также может участвовать в образовании водородных связей. Кроме того, Y17 в составе АФП соответствует Y29 в составе ЭФР, который входит в состав кластера ароматических аминокислот. Анализ кристаллической структуры комплекса ЭФР человека с его рецептором показывает, что Y29 располагается рядом с Y13, который участвует в π -стэкинг-взаимодействии с ароматическим кольцом F357 рецептора. В отсутствие Y13 ЭФР ароматическое кольцо Y17 в составе АФП человека могло бы, как бы заменяя его, образовывать π -стэкинг-взаимодействие с кольцом ароматической аминокислоты рецептора. Все вышеизложенное позволяет сделать предположение о том, что АФП или его пептидный фрагмент LDSYQCT могут либо непосредственно взаимодействовать с РЭФР или с другими рецепторами семейства ErbB, внеклеточные домены которых обладают высокой степенью гомологии [115], либо, учитывая доводы вышеизложенного сравнительного анализа, можно полагать, что а.о. пептида LDSYQCT аналогичным образом участвуют во взаимодействии непосредственно с рецептором для АФП (RECAF), который обнаружен на поверхности ряда эмбриональных и опухолевых клеток.

Примечательно, что структурный мотив, сходный с вышеуказанным ЭФР-подобным мотивом АФП, но уже в инвертированном виде, был обнаружен нами в составе С-концевого участка ЭФР человека. Это последовательность RCQYRDL (а.о. 41–47). Четыре из семи а.о. этого гептапептида, а именно R41, Q43, R45, L47 участвуют во взаимодействии с рецептором [19]. Если сравнивать эти две последовательности ЭФР человека (LDKYACN и RCQYRDL), то L47 соответствует L26, Q43 соответствует A30, а R41 – N32, и боковые цепи

этих а.о. участвуют в образовании гидрофобных или водородных взаимодействий. Видимо, взаимодействие ЭФР с его рецептором осуществляется, в основном, без участия СО- и NH-групп остова полипептидной цепи, т.е. направление полипептидной цепи не имеет значения. В этом случае можно предполагать, что инвертированные последовательности, обнаруженные в составе других факторов роста семейства ЭФР, а именно RCENADL (а.о. 40–46) в составе TGF- α , RCERVDL (а.о. 40–46) в составе бетацеллюлина, PCRDKDL (а.о. 5–11) в составе NRG3, также могут принимать участие в связывании с рецептором.

Обнаружение в составе факторов роста TGF- β 1 и TGF- β 3 структурных мотивов, сходных с ЭФР-подобным мотивом АФП (табл. 2), позволяет предположить, что эти мотивы также могут участвовать в связывании с рецептором. Действительно, было показано, что TGF- β могут непосредственно, без участия Smad белков активировать МАПК, которые являются основными эффекторами пути передачи сигнала, опосредуемого факторами роста семейства ЭФР [173, 174]. Возможно, что этот эффект TGF- β осуществляется путем связывания не только со своим рецептором, но и с рецептором для ЭФР, и в этом взаимодействии могут участвовать ЭФР-подобные мотивы TGF- β .

Одним из внутриклеточных эффекторов механизма, опосредуемого рецепторными тирозинкиназами, является протеинкиназа В (РКВ/АКТ), активируемая фосфотидилинозитол-3-киназой (ФИ-3К) [215]. Показано, что РКВ/АКТ вызывает фосфорилирование и проникновение фактора транскрипции Mdm2 внутрь ядра, тем самым подавляя синтез опухолевого супрессора p53 и ингибитора циклинзависимых киназ p27 (Kip1) [215, 216]. Эти два последних белка тормозят деление клеток, вызывая арест клеточного цикла в G1 фазе. Следовательно, одним из способов достижения стимулирующего эффекта на пролиферацию клеток, опосредуемого рецепторными тирозинкиназами, является ингибирование p53 и p27 и способствование нормальному протеканию клеточного цикла.

В составе АФП человека были обнаружены короткие аминокислотные последовательности, сходные со структурным мотивом RxL, характерным для ингибиторов циклинзависимых киназ, относящихся к семейству Kip/Cip белков [218, 219]. Мотив RxL является циклинсвязывающим участком SKI и представлен, например, в составе белков p27 человека и мыши как последовательность RNL (в обоих белках это а.о. 30–32). Обнаружение в составе АФП циклинсвязывающих мотивов (табл. 3) свидетельствует о существовании в его молекуле структурных предпосылок для участия в регуляции

Таблица 3.
Короткие аминокислотные последовательности альфа-фетопротейна, эпидермального фактора роста и трансформирующих факторов роста β человека, сходные с циклинсвязывающим мотивом RxL, характерным для представителей семейства Kip/Cip белков (по данным [218, 220]).

Название белка	Аминокислотная последовательность	Номера а.о.	Код доступа в базу данных Swiss-Prot/TrEMBL
p27 человека	A C R N L F G	30-32	P46527
p27 мыши	A C R N L F G	30-32	P46414
АФП	- - R T L H R L N R F L G D	1-5 312-316	P02771
Убиквитин	D G R T L S D	54-56	P62988
ЭФР	Q Y R D L K W	45-47	P01133
TGF- β 1	C V R Q L Y I F R K D L G W	18-20 25-28	P01137
TGF- β 2	C L R P L Y I F K R D L G W	18-20 25-28	P61812
TGF- β 3	F R Q D L G W C F R N L E E C V R P L Y I	25-28 9-11 18-20	P10600
E2F-1	V K R R L D L	90-92	Q01094
E2F-2	A K R K L D L	87-89	Q14209
E2F-3	A K R R L E L	134-136	O00716

Сокращения: АФП - альфа-фетопротейн; ЭФР- эпидермальный фактор роста; TGF- β 1, TGF- β 2 и TGF- β 3 - трансформирующие факторы роста β 1, β 2 и β 3; p27 – ингибитор циклинзависимых киназ млекопитающих; E2F-1, E2F-1 и E2F-1 – факторы транскрипции семейства E2F.

Примечание: Для сравнения приведены также RxL мотивы, обнаруженные в некоторых факторах транскрипции. Курсивом выделены последовательности, представляющие собой инвертированный мотив RxL (т.е. LxR). Нумерация а.о. дана для зрелых полипептидных цепей, за исключением факторов транскрипции, убиквитина и белка p27.

клеточного цикла и пролиферации клеток [16]. Возможно, что АФП может конкурировать с СК1 за связывание с циклинами и циклинзависимыми киназами, тем самым подавляя их активность и способствуя протеканию клеточного цикла. Интересно, что АФП человека содержит мотив RxL в составе RTLHR (а.о. 1–5) и LNRFL (а.о. 312–316) как в прямом (RTL и RFL), так и в инвертированном (LHR и LNR) виде [220]. Примечательно, что мотив RxL обнаружен в составе ЭФР и всех трех разновидностей TGF- β , что также указывает на воз-

возможность участвовать в регуляции клеточного цикла посредством связывания с циклинами. Циклинсвязывающий мотив обнаружен также в составе убиквитина, участвующего в протеолитической деградации СК1. В составе убиквитина этот мотив представлен в виде RTL (а. о. 54–56) [16].

Увеличение концентрации α -АМФ и протеинкиназы А, а также уровня внутриклеточного Ca^{2+} , наблюдаемое в культуре клеток NIH 3Т3 [64], может свидетельствовать о α -АМФ опосредуемом механизме действия АФП. Возможно, для АФП может быть характерно существование различных механизмов действия, и это зависит от его концентрации, а также присутствия и концентрации эндогенных или экзогенных факторов роста, цитокинов и гормонов. Кроме того, экспериментальные данные свидетельствуют о существовании перекрестных связей между путями передачи сигнала, опосредуемыми α -АМФ и рецепторными тирозинкиназам [213]. МАПК может фосфорилировать изоформу фосфодиэстеразы PDE4, что приводит к их инактивации и как следствие увеличению базального уровня α -АМФ и активации протеинкиназы А.

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, альфа-фетопроtein и факторы роста суперсемейств ЭФР и TGF- β демонстрируют ряд сходных структурно-функциональных свойств, среди которых, в первую очередь, хотелось бы выделить наличие сходных пептидных мотивов, в том числе и в инвертированном виде, на что впервые обращено внимание в этом обзоре. Наличие сходных пептидных мотивов создает структурные предпосылки для существования общих функциональных свойств между этими двумя группами негомологичных белков. Важной особенностью этих структурных мотивов может являться их роль во взаимодействии с рецептором. Роль прямых и инвертированных мотивов может быть одинаковой в случае отсутствия взаимодействия рецептора с остовом полипептидной цепи лиганда. В случае же участия во взаимодействии пептидного остова, организующего эти мотивы, инвертированные мотивы могут играть роль конкурентных регуляторов взаимодействия рецептора с лигандом.

Появление в последние годы экспериментальных подтверждений существования перекрестных связей между различными путями передачи сигнала, свидетельствует о сложности механизмов, лежащих в основе действия факторов роста. При этом рецепторы, опосредующие передачу сигнала по одному пути, могут взаимодействовать и активи-

ровать эффекторы других путей. Перекрестные связи существуют как на уровне промежуточных эффекторов, так и на уровне регуляции транскрипции. Характер клеточного ответа на тот или иной сигнал зависит не только от типа лиганда, взаимодействующего с рецептором, но и от перекрестных связей, существующих между различными путями передачи сигнала, а также от способа олигомеризации рецепторов, интенсивности и продолжительности сигнала и типа клеток, в которых этот сигнал реализуется.

Биологические эффекты АФП и различных факторов роста в условиях *in vivo*, видимо, взаимозависимы, и в процессе эмбрио- и канцерогенеза они оказывают совместное действие, усиливая (компенсируя) или ослабляя эффекты друг друга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Татаринов Ю.С. (1965) Вопр. химии, **11**, 20–24.
2. Abelev, G.I. (1971) Adv. Cancer Res., **14**, 295–358.
3. Mizejewski, G.J. (1995) Crit. Rev. Eucaryot. Gene Expr., **5**, 281–316.
4. Chang, H., Brown, C.W., Matzuk, M. (2002) Endocr. Rev., **23**(6), 787–823.
5. Mizejewski, G.J. (2004) Exp. Biol. Med., **229**(6), 439–463.
6. Favoni, R.E., De Cupis, A. (2000) Pharmacol. Rev., **52**(2), 179–206.
7. Derynck, R., Akhrhurt, R.J., Balmain, A. (2001) Nature Gen., **29**, 117–129.
8. Normanno, N., Bianco, C., De Luca, A., Maiello, M.R., Salomon, D.S. (2003) Endocr. Rel. Cancer, **10**, 1–21.
9. Mizejewski, G.J. (2002) Expert Rev. Anticancer Ther., **2** (6), 709–735.
10. Abelev, G.I. (1983) Oncodev. Biol. Med., **4**, 371–381.
11. Tatarinov, Yu.S. (1994) Human alpha-fetoprotein. 30 years from basic research to clinical application. Moscow. 90 p.
12. Deutsch, H.F. (1991) Adv. Cancer. Res., **56**, 253–312.
13. Dudich, E.A., Semenikova, L.V., Gorbatova, E.A., Dudich, A.V., Khromikh, L.M., Grechko, G.K., Sukhikh, G.T. (1998) Tumor Biol., **19**, 30–40.
14. Mizejewski, G.J. (2001) Exp. Biol. Med., **226**, 377–408.
15. Liang, O.D., Korff, T., Eckhard, J., Rifaat, J., Baal, N., Herr, F., Preissner, K.T., Zygmunt, M. (2004) J. Clin. Endocrin. Metabol., **80**(3), 1415–1422.
16. Терентьев А.А., Молдогазиева Н.Т. (2006) Биохимия, **71**(2), 157–172.
17. Терентьев А.А. (1997) Вестник РГМУ, **1**(3), 76–79.
18. Terentiev, A.A., Tatarinov, Yu.S. (1999) Tumor Biol., **20**, Suppl. 2, 44.
19. Ogiso, H., Ishitani, R., Nureki, O., Fukai, S., Yamanaka, M., Kim, J.-H., Saito, K., Sakamoto, A., Inoue, M., Shirouzu, M., Yokoyama, S. (2002) Cell, **110**, 775–787.
20. Gitlin, D., Boesman, M. (1967) J. Clin. Invest., **46** (6), 1010–1016.
21. Ruoslahti, E., Seppala, M. (1972) Nature, **235**, 161–162.
22. Bellini, C., Bonacci, W., Paridu, E., Sera, G. (1998) Clin. Chem., **44**, 2548–2550.
23. Leffert, H.L., Sell, S. (1974) J. Cell Biol., **61**, 823–829.

24. Toder, V., Bland, M., Gold-Gefte, L., Nebel, J. (1983) *Placenta*, **4**, 79–86.
25. Bartha, J.L., Comino-Delgado, R., Arce, F., Alba, P., Broullon, J.R., Barahona, M. (1999) *J. Reprod. Med.*, **44**, 689–697.
26. Bartha, J.L., Romero-Carmona, R., Comino-Delgado, R., Arce, F., Arrabal, J. (2000) *Obst. Gynecol.*, **96**, 588–592.
27. Ruoslahti, E., Seppala, M. (1979) *Adv. Cancer Res.*, **29**, 275–346.
28. Seppala, M. (1975) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **259**, 59–73.
29. Brock, D.J., Scrimgeour, J.B., Nelson, M.M. (1975) *Genetics*, **7**, 163–169.
30. Butterstein, G., Morrison, J., Mizejewski, G.J. (2003) *Fetal Diagn. Ther.*, **18** (5), 360–369.
31. Gabant, P., Forrester, L., Nicols, J., Van Reeth, T., De Mees, C., Bajack, B., Watt, A., Smitz, J., Alexandre, H., Szpirer, C., Szpirer, J. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 12865–12870.
32. Dohler, K.D. (1991) *Int. Rev. Cytol.*, **131**, 1–57.
33. De Mees, C., Laes, J.F., Bakker, J., Smitz, J., Hennuy, B., Vav Vooren, P., Gabant, P., Szpizer, J., Szpizer, C. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**(5), 2012–2018.
34. Ruoslahti, E., Seppala, M. (1971) *Intern. J. Cancer*, **8**, 374–383.
35. Jones, E.A., Clement-Jones, M., James, O.F., Wilson, D.I. (2001) *J. Anat.*, **198**, 555–559.
36. Yoshiki, T., Itoh, T., Shirai, T., Noro, T., Tomino, Y., Hamajama, T.I. (1976) *Cancer*, **37**, 2343–2348.
37. Aoyagi, Y., Saitoh, A., Suzuki, Y., Igarashi, K., Oguro, M., Yokota, T., Mori, S., Suda, T., Isemura, M., Asakura, H. (1993) *Hepatology*, **17**, 50–52.
38. Seta, N., Gayno, S., Jezequel-Guer, M., Toueg, M.L., Erlinger, S., Durand, G. (1997) *J. Hepatol.*, **26** (2), 265–271.
39. Koide, N., Nishio, A., Igarashi, J., Kajikawa, S., Adachi, N., Amano, J. (1999) *Am. J. Gastroenterol.*, **94**, 1658–1663.
40. Goldstein, N.S., Blue, D.E., Hankin, R., Hunter, S., Bayati, N., Silverman, A.L., Gordon, S.C. (1999) *Am. J. Clin. Pathol.*, **111** (6), 811–816.
41. Chan, M.H., Shing, M.M., Poon, T.C., Johnson, P.J., Lam, C.W. (2000) *Ann. Clin. Biochem.*, **37**, 681–685.
42. Song, Y.-H., Naumova, A. K., Liebhaber, S. A., Cooke, N. E. (1999) *Genome Res.*, **9**(6), 581–587.
43. Pucci, P., Siliciano, R., Malorni, A., Marino, G., Tecce, M.F., Ceccarini, C., Terrana, B. (1991) *Biochemistry*, **30**, 5061–5066.
44. Morinaga, T., Sakai, M., Wegmann, T.G., Namaoki, T. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 4604–4608.
45. Dudich, I., Tokhtamysheva, N., Semenikova, L., Dudich, E., Hellman, Y., Korpela, T. (1999) *Biochemistry*, **38**, 10406–10414.
46. Mizejewski, G.J. (1997) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **215**, 333–362.
47. Taketa, K. (1998) *Electrophoresis*, **19**, 1774–1779.
48. Breborowich, J. (1988) *Tumor Biol.*, **9**, 3–14.
49. Кривоносов С.К., Зорин Н.А., Ионова Н.К., Терентьев А.А., Татаринцев Ю.С. (1985) *Бюлл. эксп. биол. мед.*, **5**, 568–571.
50. Зорин Н.А., Кривоносов С.К., Зорина Р.М., Терентьев А.А., Ионова Н.К. (1986) *Вопр. мед. химии*, **32**(6), 96–98.
51. Luft, A.J., Loscheider, F.L. (1983) *Biochemistry*, **22**, 5971–5978.
52. Zizkovsky, V., Strop, P., Korcakova, J., Havranova, M., Mikes, F. (1983) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **417**, 49–56.
53. Ptitsyn, O.B. (1995) *Adv. Protein Chem.*, **47**, 83–229.
54. Uversky, V.N., Kirkitadze, M.D., Narizhneva, N.V., Potekhin, S.A., Toma-

- shevsky, A.Yu. (1995) FEBS Letts. **364**, 165–167.
55. Uversky, V.N., Narizhneva, N.V., Ivanova, T.V., Tomashevski, A.Yu. (1997) Biochemistry, **36**, 13638–13645.
56. Uversky, V.N., Narizhneva, N.V., Ivanova, T.V., Kirkitadze, M.D., Tomashevsky, A.Yu. (1997) FEBS Letts. **410**, 280–284.
57. Наризжнева Н.Г., Иванова Т.В., Томашевский А.Ю., Уверский В.Н. (1997) Мол. биол., **31** (6), 1043–1048.
58. Fink, A.L. (1995) Methods Mol. Biol. **40**, 343–360.
59. Bychkova, V.E., Pain, R.H., Ptitsyn, O.B. (1988) FEBS Letts. **238**, 231–234.
60. Leffert, H.L., Sell, S. (1974) J. Cell Biol., **61**, 823–829.
61. Toder, V., Bland, M., Gold-Gefte, L., Nebel, J. (1983) Placenta, **4**, 79–86.
62. Hamel, S., Hoskin, D.W., Hooper, D.C., Murgita, R.A. (1987) in *Biological activities of alpha-fetoprotein* (Mizejewski G.J. and Jacobson H.I., eds.). CRC Press, Florida, 167–177.
63. Li, M.S., Li, P.F., Yang, F.Y., He, S.P., Du, G.G., and Li, G. (2002) Cell Res., **12**, 151–156.
64. Soto, A.M., Sonnenschein, C. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**(4), 2084–2087.
65. Mizejewski, G.J., Vonnegut, M., Jacobson, H.I. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **80**, 2733–2737.
66. Allen, S.H.G., Bennett, J.A., Mizejewski, G.J., Andersen, T.T., Ferraris, S., Jacobson, H.I. (1993) Biochim. Biophys. Acta, **1202**, 135–142.
67. Jacobson, H.I., Bennett, J.A., Mizejewski, G.J. (1990) Cancer Res, **50**, 415–420.
68. Wang, X.W., Xu, B. (1998). Int. J. Cancer, **75**(4), 596–599.
69. Wang, X.W., Xie, H. (1999). Life Sci., **64**(1), 17–23.
70. Keel, B.A., Eddy, K.B., Cho S., May, J.V. (1991). Mol. Reprod. Dev., **30**(2), 112–118.
71. Keel, B.A., Eddy, K.B., Cho S., Gangrade, B.K., May, J.V. (1992) Endocrinology, **130**(6), 3715–3717.
72. Leal, J.A., Gangrade, B.K., Kiser J.L., May, J.V., Keel, B.A. (1991) Steroids, **56**(5), 247–251.
73. Omori, M., Evarts, R.P., Omori, N., Hu, Z., Marsden, E.R., Thorgeirsson, S.S. (1997) Hepatology, **25**, 1115–1122.
74. Fujio, K., Evarts, R.P., Hu, Z., Marsden, E.R., Thorgeirsson, S.S. (1994) Lab. Invest., **70**, 511–516.
75. Li, M.S., Li, P.F., Chen, Q., Du, G.G., Li, G. (2004) World J. Gastroenterol., **10**(6), 819–824.
76. Li, M.S., Li, P.F., Du, G.G., Li, G. (2002) Clin. J. Biochem. Mol. Biol., **18**, 750–754.
77. Laderoute, M. P., Pilarski, L. M. (1994) Anticancer Res., **14**(6), 2429–2438.
78. Semenkova, L.N., Dudich, E.I., Dudich, I.V., Shingarova, L.N., Korobko, V.G. (1997) Tumor Biol., **18**, 30–40.
79. Cavin, L.G., Venkatraman, M., Factor, V.M., Kaur, S., Schroeder I., Mercurio, F., Beg, A.A., Thorgeirsson, S.S., Arsuru, M. (2004), Cancer Res., **64**, 7030–7038.
80. Sah, J.F., Balasubramanian, S., Eckert, R.L., Rorke, E.A. (2004) J. Biol. Chem., **279**, 12755–12762.
81. Lu, C.Y., Changelian, P.S. Unanue, E.R. (1984) J. Immunol., **132**, 1722–1727.
82. Atemezem, A., Mbemba, E., Marfaing, R., Vaysse, J., Pontet, M., Saffar, L., Charnaux N., Gattegno L. (2002) Biochem. Biophys. Res. Commun., **296**(3), 507.
83. Yachnin, S. (1976) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **73**, 2857–2860.
84. Yachnin, S. (1983) Ann. N.Y. Acad. Sci., **417**, 105–107.

85. Cohen, B.L., Orn, A., Gronvik, K.-O., Gidlund, M., Wigzel, H., Murgita, R.A. (1986) *Scand. J. Immunol.*, **23**, 211–223.
86. Matsuura, E., Kang, Y., Katikawa, H., Ogata, P., Kotani, T., Ohtaki, S., Nishi, S. (1999) *Tumor Biol.*, **20** (3), 162–171.
87. Alpert, E., Dienstag, J. L., Sepersky, S., Littman, B., Rocklin, R. (1978) *Immunol. Commun.*, **7**, 163–185.
88. Peck, A.B., Murgita, R.A., Wigzell, H. (1982) *J. Immunol.*, **128**, 1134–1140.
89. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Макаров А.И., Терентьев А.А., Татаринов Ю.С. (1996) *Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол., проктол.*, **2**, 62–66.
90. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Семенова Л.Ю. Наджиорум Нгам-Асра, Беспалова Ж.Д., Кудрявцева Е.В., Порядин Г.В., Терентьев А.А. (2003) *Вестник РГМУ*, **3** (29), 48–56.
91. Терентьев А.А., Симонова А.В., Аршинова С.С., Кулаков В.В., Бахус Г.О., Павличенков А.В., Кудрявцева Е.В., Беспалова Ж.Д., Овчинников М.В., Молдогазиева Н.Т., Тагирова А.К. (2004) *Иммунология*, **5**, 279–281.
92. Bei, R., Budillon, A., Reale, M.G., Capriano, G., Pomponi, D., Budillon, G., Frati, L., Muraro, R. (1999) *Cancer Res.*, **59** (21), 5471–5479.
93. Li, M.-S., Ma Q-L., Chen, Q., Liu, X.-H., Li, P-F., Du, G.-G., Li, G. (2005) *World J. Gastroenterol.*, **11**(17), 2564–2569.
94. Dudich, E., Semenkova, L., Dudich, I., Gorbatoва, E., Tokhtamisheva, N., Tatulov, E., Nikolaeva, M., Sukhikh, G. (1999) *Eur. J. Biochem.*, **266**, 750–761.
95. Semenkova, L., Dudich, E., Dudich, I., Tokhtamisheva, N., Tatulov, E., Okruzhnov, Yu., Garcia-Foncillas, J., Palop-Cubillo, J.A., Korpela, T. (2003) *Eur. J. Biochem.*, **270** (21), 4388–4399.
96. Villacampa, M.J., Moro, R., Naval, J., Faily-Crepin, C., Lampreave, F., Uriel, J. (1984) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **122**(3), 1322–1327.
97. Torres, J.M., Laborda, J., Naval, J., Darracq, N., Calvo, M., Mishal, Z., Uriel, J. (1989) *Mol. Immunol.*, **26**, 851–857.
98. Naval, J., Villacampa, M.J., Goguel, A.F., Uriel, J. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 3301–3304.
99. Torres, J.M., Darracq, N., Uriel, J. (1992) *Biochim. Biophys. Acta*, **1159**, 60–66.
100. Suzuki, Y., Zeng, C.Q.Y., Alpert, E. (1992) *J. Clin. Invest.*, **90**, 1530–1536.
101. Uriel, J., Naval, J., Laborda, J. (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**, 3579–3585.
102. Esteban, C., Geuskens, M., Uriel, J. (1991) *Int. J. Cancer*, **49**(3), 425–430.
103. Alava, M.A., Sturralde, M., Lampreave, F., Pineiro, A. (1999) *Tumor Biol.*, **20**, 52–64.
104. Moro, R., Tamaoki, T., Wegmann, T.J., Longnecker, B.M., Laderoute, M.P. (1993) *Tumor Biol.*, **14**, 116–130.
105. Cohen, S. (1962) *J. Biol. Chem.*, **237**, 1555–1562.
106. Bell, G.I., Fong, N.M., Stempien, M. M., Wormsted M. A., Caput, D., Ku L.L., Urdea, M. S., Rall, L.B., Sanchez-Pescador, R. (1986) *Nucleic Acids Res.* **14**, 8427–8446.
107. Mroczkowski, B., Reich, M., Chen, K., Bell, G.I., Cohen, S. (1989) *Mol. Cell. Biol.*, **9**, 2771–2778.
108. Savage, C.R., Jr, Hash, J. H., Cohen, S. (1973) *J. Biol. Chem.*, **247**, 7612–7672.
109. Groenen, L.C., Nice, E.C., Burgess A.W. (1994) *Growth Factors*, **11**(4), 235–257.
110. Ullrich, A., Coussens, L., Hayflick, J.S., Dull, T.J., Gray, A., Tam, A.W., Lee, J., Yarden, Y., Liberman, T.A., Schlessinger, J., Downward, J., Mayes, E.L.V., Whittle,

- N., Waterfield, M.D., Seeburg, P.H. (1984) *Nature*, **309**, 418–424.
111. Margolis, B.L., Lax, I., Dombalagian, M., Honegger, A.M., Howk, R., Givol, D., Ulrich, A., Schlessinger, J. (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 10667–10671.
112. Toyoda, H., Komurasaki, T., Uchida, T., Takayama, Y., Isobe, T., Okuyama, S., Hanada, K. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 7495–7500.
113. Carraway, K.L.L., Burden, S.J. (1995) *Curr. Opin. Neurol.*, **5**, 606–612.
114. Brown, P.M., Debanne, M.T., Grothe, S., Bergsma, D., Caron, M., Kay, S., O'Connor-McCourt, M.D. (1994) *Eur. J. Biochem.*, **225**, 223–233.
115. Olayioye, M.A., Neve, R.M., Lane H.A., Hynes, N.E. (2000) *EMBO J.*, **19**, 3159–3167.
116. Ward, C.W., Hoyne, P.I., Flegg, R.H. (1995) *Proteins*, **22**, 141–153.
117. Schlessinger, J., Ulrich, A. (1992) *Neuron*, **9**, 383–391.
118. Seedorf, K. (1995) *Metabolism*, **44**, 24–32.
119. Carraway, K.L.L., Cantley, L.C. (1994) *Cell*, **78**, 5–8.
120. Van der Geer, P., Hunter, T., Lindberg, R.A. (1994) *Ann. Rev. Cell Biol.*, **10**, 251–337.
121. Domagala, T., Konstantopoulos, N., Smyth, F., Jorissen, R.N., Fabri, L., Geleick, D., Lax, I., Schlessinger, J., Sawyer, W., Howlett, G.J., et al. (2000) *Growth Factors*, **18**, 11–29.
122. Pinkas-Kramarski, R., Soussan, L., Waterman, H., Levkowitz, G., Alroy, I., Klapper, L., Lavi, S., Seger, R., Ratzkin, B.J., Sela, M., Yarden, Y. (1996) *EMBO J.*, **15**(10), 2452–2467.
123. Huang, H.S., Nagane, M., Klingbeil, C.K., Lin, H., Nishikawa, R., Ji, X.D., Huang, C.M., Gill, G.N., Wiley, H.S., Cavenee W.K. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 2927–2935.
124. Lenferink, A.E.G., Pinkas-Kramarski, R., Van den Poll, M.L., van Vugt, M.J.H., Klapper, L.N., Tzahar, E., Waterman, H., Sela, M., Van Zoelen, E.J., Yarden, Y. (1998) *EMBO J.*, **17**, 3385–3397.
125. Garrett, T.P.J., McKern, N.M., Lou, M., Elleman, T.C., Adams, T.E., Lovrecz, G.O., Zhu, H.-J., Walker, F., Frenkel, M.J., Hoyhe P.A., Jorissen, R.N., Nice, E.C., Burgess, A.W., Ward, C.W. (2002) *Cell*, **110**, 763–773.
126. Lemmon, M.A., Ladbury, J.E., Zhou, M., Pinchasi, D., Lax, I., Engelman, D.M., Schlessinger, J. (1997) *EMBO J.*, **16**, 281–294.
127. Campion, S.R., Matsunami, R.K., Engler, D.A., Niyogi, S.K. (1990) *Biochemistry*, **29**, 9988–9993.
128. Koide, H., Muto, Y., Kasai, H., Kohri, K., Hoshi, K., Takahashi, S., H., Tsukumo, K., Sasaki, T., Oka, T., Miyake, T., et al. (1992) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1120**, 257–261.
129. Koide, H., Muto, Y., Kasai, H., Hoshi, K., Takusari, H., Kohri, K., Takahashi, S., Sasaki, T., Tsukumo, K., Miyake, T., et al. (1992) *FEBS Lett.*, **302**, 39–42.
130. Tadaki, D.K., Niyogi, S.K. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 10114–10119.
131. Murray, M.B., Tadaki, D.K., Campion, S.R., Lamerdin, J.A., Srepersu, E.H., Bradrick, T.D., Niyogi, S.K. (1998) *Protein engineering*, **11**(11), 1041–1050.
132. Engler, D.A., Campion, R.S., Hauser, M.R., Cook, J.S., Niyogi S.K. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 2271–2281.
133. Wellbrock, C., Karasarides, M., Moraus, M. (2004) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **5**, 875–885.
134. Johnson, G.L., Lapadat, R. (2002) *Science*, **298**, 1911–1912.
135. Roux, P.P., Blenis, J. (2004) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **68**, 320–344.
136. Angel, P., Karin, M. (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, **1072**, 129–157.
137. Hunter, T. (1995) *Cell*, **80**, 225–236.

138. *Marshall, C.J.*, (1995) *Cell*, **80**, 179–185.
139. *Cohen, S., Elliot, G.* (1963) *J. Invest. Dermatol.*, **40**, 1–5.
140. *Gregory, H.* (1975) *Nature*, **257**, 325–327.
141. *Carpenter, G., Cohen, S.* (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**, 7709–7712.
142. *Chan, S.-Y., Wong, R. W.-C.* (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**(49), 38693–38698.
143. *Yamamoto, T., Nishida, T., Miyajima, N., Kawai, S., Ooi, T., Toyoshima, K.* (1983) *Cell*, **35**, 71–78.
144. *Daughaday, W.H., Deuel, T.F.* (1991) *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, **20**(3), 539–563.
145. *Hayman, M.J., Enrietto, P.J.* (1991) *Cancer cells*, **3**(8), 302–307.
146. *Pavelic, K., Benjac, Z., Pavelic, J., Spaventi, S.* (1993) *Anticancer Res.*, **13**, 1133–1138.
147. *Klijjn, J.G.M., Berns, P.M.J.J., Schmitz, P.I.M., Foekens, J.A.* (1992) *Endocr. Rev.*, **13**, 3–17.
148. *Stancovski, I., Sela, M., Yarden, Y.* (1994) *Cancer Treat. Res.*, **71**, 161–191.
149. *Sirotcovic-Skerlev, M., Krizanac, S., Kapitanovic, S., Husnjak, K., Usunic, J., Pavelic, K.* (2005) *Exp. Mol. Pathol.*, **79**(1), 42–50.
150. *Kapitanovic, S., Radosevic, S., Slade, N., Kapitanovic, M., Andelinovic, S., Ferencic, Z., Tavassoli, M., Spaventi, S., Pavelic, K., Spaventi, R.* (2000) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **126**(4), 205–211.
151. *Suo, Z., Risberg, B., Kalsson, M.G., Willman, K., Tierens, A., Skovlund, E., Nesland J.M.* (2002) *J. Pathol.* **196**, 17–25.
152. *Chow, N.H., Chan, S.H., Tzai, T.S., Ho, C.L., Liu, H.L.* (2001) *Clin. Cancer Res.*, **7**, 1957–1962.
153. *Wechselberger, C., Bianco, C., Strizzi, L., Ebert, A.D., Kenney, N., Sun, Y., Salomon, D.S.* (2005) *Exp. Cell Res.*, **310**(2), 249–255.
154. *Nass, S.J., Dickson, R.B.* (1998) *Clin. Cancer Res.*, **4**, 1613–1822.
155. *Deming, S. L., Nass, S.J., Dickson, R.B., Trock, B.J.* (2000) *Br. J. Cancer*, **83**(12), 1688–1695.
156. *Qin, L.X., Tang Z.Y.* (2002) *World J. Gastroenterol.*, **8**, 385–392.
157. *Shuermann, M.M., Nueberg, J.B., Hunter, T., Jenuwein, R.P., Rysek, R., Bravo, R., Muller, R.* (1989) *Cell*, **56**, 507–516.
158. *Woutres, M.A., Rigoutsos, I., Chu, C.K., Feng, L.L., Sparrow, D.B., Dunwoodie, S.L.* (2005) *Protein Sci.*, **14**, 1091–1103.
159. *Bianco, C., Strizzi, L., Normanno, N., Khan, N., Salomon, D.S.* (2005) *Curr. Top. Dev. Biol.*, **67**, 85–133.
160. *Salomon, D.S., Bianco, C., Ebert, A.D., Khan, N.I., Santis, M.D., Normanno, N., Wechselberger, C., Seno, M., Williams, K., Sanicola, M., Foley, S., Gullick, W.J., Persico, G.* (2000) *Endocr.-Rel. Cancer*, **7**, 199–226.
161. *Adamson, E.D., Minchiotti, G.P., Salomon, D.S.* (2002) *J. Cell. Physiol.*, **190**, 267–278.
162. *Shen, M.M.* (2003) *J. Clin. Invest.*, **112**, 500–502.
163. *Strizzi, L., Bianco, C., Normanno, N., Salomon, D.* (2005) *Oncogene*, **24**, 5731–5741.
164. *Minchiotti, G., Parisi, S., Liguori, G., Signore, M., Lania, G., Adamson, E.D., Lago, S.T., Persico, M.G.* (2000) *Mechanisms of Develop.*, **90**, 133–142.
165. *Moloney, D.J., Shair, L.H., Lu, F.M., Xia, J., Locke, R., Matta, K.L., Haltiwanger, R.S.* (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 9604–9611.
166. *Haltiwanger, R.S.* (2002) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **12**, 593–598.
167. *Gilges, D., Vinit, M.-A., Callebut, I., Cuolombel, L., Cacheaux, V.,*

- Romeo, P.-H., Vigon, I. (2000) *Biochem. J.*, **352**, 49–59.
168. Gleizes, P.-E., Munger, J.S., Nunez, I., Harpel, J.G., Mazzieri R., Noguera, I., Rifkin, D.B. (1997) *Stem Cells*, **15**, 190–197.
169. Whitman, M., Raftery, L. (2005) *Development*, **132**, 4205–4210.
170. Shi, Y., Massague, J. (2003) *Cell*, **113**, 685–700.
171. Massague, J., Seoane, J., Wotton, D. (2005) *Genes Dev.*, **19**(23), 2783–2810.
172. ten Dijke, P., Hill, C.S. (2004) *Trends Biochem. Sci.*, **29**, 265–273.
173. Moustakas, A., Heldin, C.-H. (2005) *J. Cell Sci.*, **118**, 3573–3584.
174. Derynck, R., Zhang, Y.E. (2003) *Nature*, **425**, 577–584.
175. Javelaud, D., Mauviel, A. (2005) *Oncogene*, **24**, 5742–5750.
176. Yamaguchi, K., Shirakabe, K., Shibuya, H., Irie, K., Oishi, I., Ueno, N., Taniguchi, T., Nishida, E., Matsumoto, K. (1995) *Science*, **270**, 2008–2011.
177. Hocevar, B.A., Brown, T.L., Howe, P.H. (1999) *EMBO J.*, **18**(5), 1345–1356.
178. Itoh, S., Thorikay, M., Kowanetz, M., Moustakas, A., Itoh, E., Heldin, C.-H., ten Dijke, P. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 3751–3761.
179. Perlman, R., Schiemann, W.P., Brooks, M.W., Lodish, H.F., Weinberg, R.A. (2001) *Nature Cell Biol.*, **3**, 708–714.
180. Edlund, S., Bu, S., Schuster, N., Aspenstrom, P., Heuchel, R., Heldin, N.E., ten Dijke, P., Heldin, C.-H., Landstrom, M. (2003) *Mol. Biol. Cell*, **14**, 529–544.
181. Landstrom, M., Heldin, N.E., Bu, S., Hermansson, A., Itoh, S., ten Dijke P., Heldin C.H. (2000) *Curr. Biol.*, **10**, 535–538.
182. Qing, J., Zhang, Y., Derynck, R. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**(2), 38802–38812.
183. Liberati, N.T., Datto M.B., Frederick J.R., Shen X., Wong C., Rouger-Chapman E.M. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 4844–4849.
184. Peron, P., Rahmani, M., Zagar, Y., Durand-Schneider, A.-M., Lardeux, B., Bernuan, D. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**(13), 10524–10531.
185. Frederick, J.P., Liberati, N.T., Waddell D.S., Shi Y., Wang X.-F. (2004) *Mol. Cell. Biol.* **24**(6), 2546–2559.
186. Potts, J.D., Runyan, R.B. (1989) *Dev. Biol.*, **134**, 392–401.
187. Kaartinen, V., Voncken, J.W., Shuler, C., Warburton, D., Bu, D., Heisterkamp, N., Groffen, J. (1995) *Nature Genet.*, **11**, 415–421.
188. Thiery, J.P. (2003) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **15**, 740–746
189. Oft, M., Heider, K.H., Beug, H. (1998) *Curr. Biol.*, **8**, 1243–1252.
190. Miettinen, P.J., Ebner, R., Lopez, A.R., Derynck, R. (1994) *J. Cell Biol.*, **127**, 2021–2036.
191. Kitagawa, K., Murata, A., Matsuura, N., Tohya, K., Takaichi, S., Monden, M., Inoue, M. (1996) *Int. J. Cancer*, **66**, 91–97.
192. Gajdusek, C.M., Luo, Z., Mayberg, M.R. (1993) *J. Cell. Physiol.*, **157**, 133–144.
193. Ueki, N., Nakazato, M., Ohkawa, T., Ikeda, T., Amuro, Y., Hada, T., Higashino, K. (1992) *Biochim. Biophys. Acta*, **1137**, 189–196.
194. Schwarte-Waldhoff, I., Volpert, O.V., Bouck, N.P., Sipos, B., Hahn, S.A., Klein-Scory, S., Luttes, J., Kloppel, G., Graeven, U., Eilert-Micus, C., Hintelmann, A., Schmigel, W. et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 9624–9629.
195. Pertovaara, L., Kaipainen, A., Mustonen, T., Orpana, A., Ferrara, N.,

- Saksela, O., Alitalo, K.* (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 6271–6274.
196. *Letterio, J.J., Roberts, A.B.* (1998) *Annu. Rev. Immunol.*, **16**, 137–161.
197. *Ma, D., Niederkorn, J.Y.* (1995) *Immunology*, **86**, 263–269.
198. *Botti, C., Seregini, E., Ferrari, L., Martinetti, A., Bombardieri, E.* (1998) *Int. J. Biol. Markers*, **13**, 51–69.
199. *Chen, J.J., Sun, Y., Nabel, G.J.* (1998) *Science*, **282**, 1714–1717.
200. *Reynisdottir, I., Polyak, K., Iavarone, A., Massague, J.* (1995) *Genes Dev.*, **9**, 1831–1845.
201. *Feng, X.H., Lin, X., Derynck, R.* (2000) *EMBO J.*, **19**, 5178–5193.
202. *Warner, B.J., Blain, S.W., Seoane, J., Massague, J.* (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 5913–5922.
203. *Seoane, J., Pouponnot, C., Staller, P., Schader, M., Eilers, M., Massague, J.* (2001) *Nature Cell Biol.*, **3**, 400–408.
204. *Massague, J.* (2004) *Nature*, **432**, 298–306.
205. *Saltzman, A., Munro, R., Searfoss, G., Franks, C., Jaye, M., Ivashchenko, Y.* (1998) *Exp. Cell. Res.*, **242**, 244–254.
206. *Chen, R.H., Chang, T.Y.* (1997) *Cell Growth Differ.*, **8**, 821–827.
207. *Kim S.G., Jong H.S., Kim T.Y., Lee J.W., Kim N.K., Hong S.H., Bang Y.J.* (2004). *Mol. Biol. Cell*, **15**, 420–434.
208. *Myeroff, L.L., Parsons, R., Kim, S.J., Hedrick, L., Cho, K.R., Orth, K., Mathis, M., Kinzler, K.W., Lutterbaugh, J., Park, K., et al.* (1995) *Cancer Res.*, **55**, 5545–5547.
209. *Kawate, S., Takenoshita, S., Ohwada, S., Mogi, A., Fukusato, T., Makita, F., Kuwano, H., Morishita, Y.* (1999) *Int. J. Oncol.*, **14**, 127–131.
210. *Reiss, M.* (1999). *Microbes Infect.*, **1**, 1327–1347.
211. *Chen, T., Triplett, J., Dehner, B., Hurst, B., Colligan, B., Pemberton, J., Graff, J.R., Carter, J.H.* (2001) *Cancer Res.*, **61**, 4679–4682.
212. *Goggins, M., Shekher, M., Turnacioglu, K., Yeo, C.J., Hruban, R.H., Kern, S.E.* (1998) *Cancer Res.*, **58**, 5329–5332.
213. *Dumaz, N., Marais, R.* (2005) *FEBS J.*, **272**, 3494–3504.
214. *Молдогазиева Н.Т., Терентьев А.А., Шайтан К.В.* (2005) *Биомед. химия*, **51**(2), 127–151.
215. *Danielsen, A.J., Maihle, N.J.* (2002) *Growth Factors*, **20**(1), 1–15.
216. *Mayo, L.D., Donner, D.B.* (2002) *Trends Biochem. Sci.*, **27**(9), 462–467.
217. *Shin, I., Yakes, F.M., Rojo, F., Shin, N.Y., Bakin, A.V., Beselga, J., Arteaga, C.L.* (2002) *Nature Med.*, **8**(10), 1145–1152.
218. *Vlach, J., Hennecke, S., Amati, B.* (1997) *EMBO J.*, **16**(27), 5334–344.
219. *Nguyen, H., Gitig, D.M., Koff, A.* (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**(2), 1190–1201
220. *Терентьев А.А.* (2004) *Мед. иммунол.*, **6**(3–5), 256.