

Pleiotropowe działanie chemeryny – białkowego produktu genu TIG2

Pleiotropic effects of chemerin – the protein
product of TIG2 gene

Agnieszka Chyra

STRESZCZENIE

Odpowiedź immunologiczna organizmu oraz regulacja metabolizmu wykazują wiele wzajemnych zależności. Jednym z czynników pośredniczących w tych powiązaniach jest chemeryna – jedyny białkowy ligand receptora CMKLR1, występujący na powierzchni niektórych komórek układu odpornościowego. Chemeryna jest syntetyzowana w postaci nieaktywnej formy, która ulega aktywacji pod wpływem hydrolizy wiązania peptydowego dokonywanego przez peptydazy. Generowane w ten sposób formy S (pozbawiona 9-aminokwasów na C-końcu) i sspB (pozbawiona 6 aminokwasów na C-końcu) charakteryzują się aktywnością chemotaktyczną wobec plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych i makrofagów. Chemeryna wpływa na rozwój odpowiedzi immunologicznej, stanowiąc swoiste ogniwo między odpornością wrodzoną i nabytą. Najnowsze badania pozwalają sądzić, że spektrum działania tej cząsteczki jest znacznie szersze. Chemerynę zaklasyfikowano bowiem do wciąż rosnącej rodziny adipokin. Udowodniono, że wpływa ona także na różnicowanie komórek tłuszczowych oraz na modulację profilu ekspresji genów zaangażowanych w ich metabolizm.

SŁOWA KLUCZOWE

chemeryna, TIG2, CMKLR1, chemoatraktant, adipokina

ABSTRACT

Increasing experimental evidence indicates that several factors that play a role in the immune response also influence metabolism. The immune response and metabolic regulation are highly integrated and interdependent. Chemerin was recently shown to be one of them. Chemerin is the only known protein ligand for a CMKLR1 receptor (chemokine like receptor 1), which is selectively expressed on some cells of the immune system. Chemerin is secreted as an inactive form and undergoes activa-

Katedra i Zakład Biochemii
Wydziału Lekarskiego w Katowicach
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach

ADRES

DO KORESPONDENCJI:

Mgr Agnieszka Chyra
Katedra i Zakład Biochemii
Wydziału Lekarskiego w Katowicach
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
ul. Medyków 18
40-752 Katowice
tel. / fax 32 252 50 88; 32 208 84 58
e-mail : agnieszka.chyra@gmail.com

Ann. Acad. Med. Siles. 2012, 66, 2, 55–58
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach
ISSN 0208-5607

tion through C-terminal cleavage primarily by serine proteases of the inflammatory and coagulation cascades. There are at least two known active chemerin cleavage products: serum form (S form) without 9aa on the C-terminus and sspB form that lacks 6 C-terminal amino acids. Both truncated forms are potent chemoattractants for plasmacytoid dendritic cells and macrophages. Beside linking adaptive and innate immunity, chemerin has been recently added to the growing list of adipokines. The data indicate that this chemoattractant affects adipocyte differentiation and metabolism.

KEY WORDS

chemerin, TIG2, CMKLR1, chemoattractant, adipokine

CHEMERYNA I JEJ RECEPTOR

Chemeryna będąca naturalnym ligandem dla metabotropowego receptora CMKLR1 została po raz pierwszy opisana w 2003 r. Jest to białkowy produkt genu *TIG2* (*tazarotene-induced gene 2*), którego ekspresję wykazano w niezmiętej chorobowo skórze pacjentów chorych na łuszczycę, poddanych leczeniu tazarotenem.

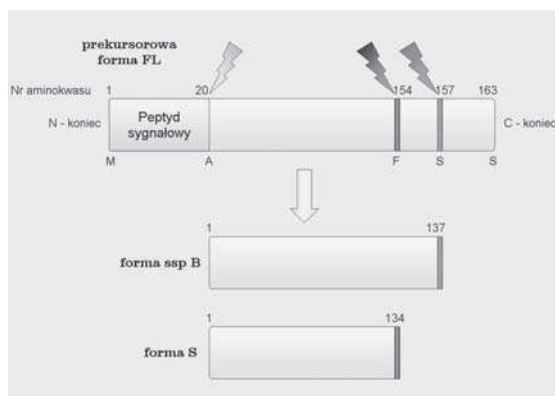
Receptor CMKLR1 (zwany inaczej ChemR23 – w przypadku receptora ludzkiego, lub DEZ – w przypadku receptora mysiego) [1] należy do rodziny transbłonowych receptorów oddziałujących z białkiem G (GPCR). Po przyłączeniu ligandu do domeny zewnątrzkomórkowej receptora, zmienia się konformacja części wewnątrzkomórkowej, do której przyłącza się podjednostka α białka G. Powoduje to aktywację białka G i przeniesienie sygnału do wnętrza komórki [2]. Receptor CMKLR1 wykazuje homologię w stosunku do receptorów wiążących chemoatraktanty, istnieje m.in. 36% podobieństwo sekwencji aminokwasowej w stosunku do receptora wiążącego składnik dopełniacza C5a oraz 38% homologia w stosunku do receptora wiążącego składnik dopełniacza C3a, a także 35% homologia w stosunku do receptora wiążącego formylowane peptydy (fMLP) [3, 4, 5]. Receptor CMKLR1 to białko o masie około 42 kDa; na jego N-końcu znajdują się dwa miejsca N-glikozylacji. W pierwszej i drugiej domenie zewnątrzkomórkowej obecne są dwie reszty cysteinowe tworzące mostki disiarczkowe, które zapewniają stabilizację receptora. Receptor CMKLR1 nie posiada dwóch dodatkowych reszt cysteiny odpowiedzialnych za łączenie N-końca z trzecią pętlą na zewnątrz komórki, charakterystycznych dla receptorów z rodziny GPCR [6]. W obrębie trzeciej wewnątrzkomórkowej domeny znajduje się charakterystyczna sekwencja aminokwasowa DRY, odpowiedzialna za interakcję z białkiem G [2].

STRUKTURA CHEMERYNY

Dokładna budowa strukturalna chemeryny nie została poznana, mimo to wyniki badań NMR oraz analiza składu aminokwasowego pozwalają zaliczyć ją do rodziny katelicydyn/cystatyn [7]. Do tej samej rodziny zaliczane są również katelicydyny, należące do peptydów antybakteryjnych, oraz inhibitory proteinaz cysteinowych. Cystatyny to białka o charakterystycznej trzeciorzędowej strukturze, mające zdolność do odwracalnego wiązania się z centrum aktywnym proteinaz cysteinowych. Charakterystyczną cechą jest obecność jednej bądź kilku domen cystatynowych zbudowanych z pięciu odcinków łańcucha polipeptydowego o strukturze antyrównoległej harmonijki β , okalającej pięcioskrętną α -helisę. W budowie chemeryny można wyróżnić 6 reszt cysteinowych tworzących trzy mostki disiarczkowe odpowiedzialne za stabilizację struktury białka. Ponadto w jej strukturze można wyróżnić dwa miejsca fosforylacji kinazą kazeinową typu II, dwa miejsca mirystylacji oraz potencjalne miejsce fosforylacji kinazą białkową C [1].

REGULACJA AKTYWNOŚCI CHEMERYNY

Chemeryna jest syntetyzowana w postaci prekursorowej zbudowanej ze 163 aminokwasów [1]. Po raz pierwszy aktywną biologicznie cząsteczkę wyizolowano i oczyszczono z płynów wysiękowych pobranych od pacjentów z rakiem wątroby oraz jajnika, a także z płynów stawowych pobranych od osób z zapaleniem stawów [6]. Wyizolowane dwie aktywne biologicznie izoformy różniły się liczbą odciętych reszt aminokwasowych na C-końcu: pierwsza miała długość 134 aminokwasów i masę 15 566 Da, natomiast druga długość 137 aminokwasów i masę 15 876 Da [1,6]. Poza brakiem liczącego 20 aminokwasów peptydu sygnałowego, obie formy pozbawione były



Ryc. 1. Schemat budowy chemeryny. Z formy prekursorowej FL zbudowanej ze 163 aminokwasów, po odcięciu peptydu sygnałowego z N-końca oraz 6 lub 9 aminokwasów z C-końca, powstają formy S (134 aa) i sspB (137 aa). M – metionina, A – alanina, F – fenyloalanina, S – seryna.

Fig. 1. Structure of chemerin. The inactive pro-form FL (163 aa) undergoes truncation: N-terminal and protease-mediated C-terminal. Two active forms of chemerin are generated: S (134aa) and sspB (137aa). M – methionine, A – alanine, F – phenyl-alanine, S – serine.

odpowiednio 9 i 6 reszt aminokwasowych na C-końcu (ryc. 1).

W wyniku hydrolizy wiązania peptydowego przez enzymy kaskady krzepnięcia i fibrynolizy krwi oraz przez enzymy wydzielane przez komórki tłuszczne, powstają różne izoformy aktywnej chemeryny. Największą aktywnością chemotaktyczną charakteryzuje się jednak cząsteczka z usuniętymi 6 aminokwasami na C-końcu [9]. Proteazy serynowe kaskady krzepnięcia krwi (czynniki XIIa, VIIa), plazmina związana z procesem fibrynolizy oraz również elastaza i katepsyna G uwalniane przez neutrofile czy tryptaza komórek tłuszcznych są silnymi aktywatorami chemeryny [9,10]. Również karboksypeptydazy N i B wzmacniają aktywność prochemeryny traktowanej plazminą przez usunięcie C-terminalnej lizyny [11]. Na aktywację chemeryny mogą ponadto wpływać enzymy bakteryjne – izolowana z *Staphylococcus aureus* proteinaza cysteinowa stafopaina B może hydrolizować nieaktywną formę pełnej długości, prowadząc do powstania chemeryny krótszej o 6 aminokwasów od C-końca, która odpowiada formie tego białka izolowanej z płynów wysiękowych [8].

Oprócz wymienionych enzymów nasilających właściwości chemotaktyczne chemeryny, występują także białka zdolne do zahamowania jej aktywności. Należy do nich proteinaza neutrofilowa 3, która na drodze proteolizy

przekształca prochemerynę w chemerynę-155, charakteryzującą się małą aktywnością biologiczną. Natomiast pochodząca z mastocytów chymaza powoduje odcięcie 3 aminokwasów z C-końca 157-aminokwasowej aktywnej chemeryny, indukując powstanie chemeryny-

Tabela I. Formy chemeryny powstałe w wyniku proteolitycznej modyfikacji prochemeryny przez enzymy [11]. CPB – karboksypeptydaza B, CPN – karboksypeptydaza N

Table I. Chemerin forms generated from inactive precursor (prochemerin), that undergoes protease-mediated C-terminal truncation by enzymes [11]. CPB – carboxypeptidases B, CPN – carboxypeptidases N

Forma chemeryny	Sekwencja C-końca	Enzym
Prochemeryna (1-163)	...YFPGQFAFSKALPRS	–
Chemeryna-158 (21-158)	...YFPGQFAFSK	plazmina tryptaza
Chemeryna-157 (21-157)	...YFPGQFAFS	plazmina/CPB plazmina/CPN elastaza neutrofilowa stafopaina B
Chemeryna-156 (21-156)	...YFPGQFAF	katepsyna G
Chemeryna-155 (21-155)	...YFPGQFA	proteinaza neutrofilowa 3 tryptaza
Chemeryna-154 (21-154)	...YFPGQF	chymaza
Chemeryna-152 (21-152)	...YFPG	elastaza neutrofilowa

-154 o małej aktywności chemotaktycznej [12] (Tab. 1).

CHEMERYNA JAKO CHEMOATRAKANT

Chemeryna odgrywa najważniejszą rolę w rozwoju odpowiedzi immunologicznej, stanowiąc szczególne ogniwo, łączące odporność wrodzoną i nabytą [13]. Komórki produkujące enzymy niezbędne do aktywacji prochemeryny napływają do miejsca rozpoczynającego się stanu zapalnego jako pierwsze. Tak więc aktywacja tego białka następuje już we wczesnych etapach rozwoju stanu zapalnego.

Wysoki poziom mRNA dla chemeryny wykazano w wielu tkankach i narządach ludzkiego organizmu, m.in. w wątrobie, skórze, jajnikach, trzustce oraz węzłach chłonnych. Głównym producentem chemeryny wydaje się jednak wątroba, co może tłumaczyć występowanie wysokiego stężenia chemeryny w osoczu krwi [14].

Pierwsze publikacje opisujące chemotaktyczny wpływ chemeryny na komórki ukazywały

wysoką specyfikę działania tej cząsteczki na niedojrzałe ludzkie plazmocytoidalne komórki dendrytyczne (pDC), posiadające na swojej powierzchni receptor CMKLR1 [6,14]. Wiadomo również, że ekspresja receptora CMKLR1 na powierzchni mysich makrofagów jest regulowana przez cytokiny pro- i przeciwzapalne. Cytokiny wydzielane podczas zapalenia, np. TNF α czy IFN γ , obniżają ekspresję receptora CMKLR1, natomiast pod wpływem cytokin przeciwzapalnych, takich jak TGF β , ekspresja receptora wzrasta [15]. Opublikowano również informacje dotyczące ekspresji mRNA dla chemeryny w skórze osób cierpiących na łuszczycę: w skórze niezmienionej chorobowo ekspresja ta jest wysoka, natomiast w skórze objętej zmianami chorobowymi (u tych samych pacjentów) ulega obniżeniu. W przypadku lokalnej aplikacji tazarotenu (analog kwasu retinowego szeroko stosowany w leczeniu chorób skóry, takich jak łuszczycza i trądzik pospolity [16]), dochodzi do ponownego wzrostu ilości transkryptu w miejscach zmienionych chorobowo [1]. Wyniki te mogą świadczyć o zaangażowaniu chemeryny w utrzymanie prawidłowej fizjologii skóry.

CHEMERYNA JAKO ADIPOKINA

Przeprowadzone ostatnio badania wskazują także na możliwość oddziaływania chemeryny na funkcjonowanie komórek tłuszczowych na drodze autokrynnej. Przypisuje się jej udział w procesie adipogenezy, niemniej zaobserwowany wpływ na regulację ekspresji genów, zaangażowanych w metabolizm glukozy i lipidów w dojrzałych adipocytach, sugeruje znacznie szersze spektrum jej działania [17].

Wykazano, że adipocyty ludzkie oraz mysie charakteryzują się wysokim poziomem ekspresji chemeryny i jej receptora. Obecność CMKLR1 na powierzchni komórek tłuszczowych sprawia, że adipokina ta może autokrynnie wpływać na ich różnicowanie i metabolizm [18]. Równocześnie sekrecja chemeryny stymuluje chemotaksję komórek układu immunologicznego, posiadających na swojej powierzchni swoisty receptor [19,20]. Z uwagi na charakterystyczną dla stanu otyłości kolo-kalizację adipocytów i makrofagów w obrębie tkanki tłuszczowej, postuluje się rolę osi chemeryna – CMKLR1 w rozwoju lokalnej reakcji zapalnej.

PIŚMIENNICTWO

1. Meder W., Wendland M., Busmann A. i wsp. Characterization of human circulating TIG2 as a ligand for the orphan receptor ChemR23. *FEBS Lett.* 2003; 555: 495–499.
2. Howard A.D., McAllister G., Feighner S.D. i wsp. Orphan G-protein-coupled receptors and natural ligand discovery. *Trends Pharmacol. Sci.* 2001; 22: 132–140.
3. Samson M., Edinger A.L., Stordeur P. i wsp. ChemR23, a putative chemoattractant receptor, is expressed in monocyte-derived dendritic cells and macrophages and is a coreceptor for SIV and some primary HIV-1 strains. *Eur. J. Immunol.* 1998; 28: 1689–700.
4. Joost P., Methner A. Phylogenetic analysis of 277 human G-protein-coupled receptors as a tool for the prediction of orphan receptor ligands. *Genome Biol.* 2002; 17: 3(11).
5. Methner A., Hermey G., Schinke B., Hermans-Borgmeyer I. i wsp. A novel G protein-coupled receptor with homology to neuropeptide and chemoattractant receptors expresses during bone development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 233: 336–342.
6. Wittamer V., Franssen J.D., Vulcano M. i wsp. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *J. Exp. Med.* 2003; 198: 977–985.
7. Zabel B.A., Zuniga L., Ohyama T. i wsp. Chemoattractants, extracellular proteases, and the integrated host defense response. *Exp. Hematol* 2006; 34: 1021–1032.
8. Kulig P., Zabel B.A., Dubin G. i wsp. *Staphylococcus aureus*-Derived Staphopain B, a Potent Cysteine Protease Activator of Plasma Chemerin. *J. Immunol.* 2007; 178: 3713–3720.
9. Zabel B.A., Allen S.J., Kulig P. i wsp. Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic, and inflammatory cascades. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 34661–34666.
10. Wittamer V., Grégoire F., Robberecht P., Vassart G., Communi D., Parmentier M. The C – terminal nonapeptide of mature chemerin activates the chemerin receptor with low nanomolar potency. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 9956–9962.
11. Du, X.Y., Zabel B.A., Myles T. i wsp. Regulation of chemerin bioactivity by plasma carboxypeptidase N, carboxypeptidase B (activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), and platelets. *J. Biol. Chem.* 2009; 284, 751–758.
12. Guillabert A., Wittamer V., Bondue B. i wsp. Role of neutrophil proteinase 3 and mast cell chymase in chemerin proteolytic regulation. *J. Leukoc. Biol.* 2008; Dec 84: 1530–1538.
13. Wittamer V., Bondue B., Guillabert A., Vassart G., Parmentier M., Communi D. Neutrophil-Mediated Maturation of Chemerin: A Link between Innate and Adaptive Immunity. *J. Immunol.* 2005; 175: 487–493.
14. Zabel B.A., Silverio A.M., Butcher E.C. Chemokine-like receptor 1 expression and chemerin – directed chemotaxis distinguish plasmacytoid from myeloid dendritic cells in human blood. *J. Immunol.* 2005; 174: 244–251.
15. Zabel B.A., Ohyama T., Zuniga L. i wsp. Chemokine-like receptor 1 expression by macrophages in vivo: regulation by TGF-beta and TLR ligands. *Exp. Hematol.* 2006; 34: 1106–1114.
16. Nagpal S., Patel S., Jacobs H. i wsp. Tazarotene-induced Gene 2 (TIG2), a Novel Retinoid-Responsive Gene in Skin. *J. Invest. Dermatol.* 1997; 109: 91–95.
17. MacDougald O.A., Burant C.F. The Rapidly Expanding Family of Adipokines. *Cell Metab.* 2007; 6: 159–161.
18. Takahashi M., Takahashi Y., Takahashi K. i wsp. Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett.* 2008; 582: 573–578.
19. Roh S., Song S.H., Choi K.C. i wsp. Chemerin – A new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 362: 1013–1018.
20. Goralski K.B., McCarthy T.C., Hanniman E.A. i wsp. Chemerin, a Novel Adipokine That Regulates Adipogenesis and Adipocyte Metabolism. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 28175–28188.