

УДК 612.119 (575.2) (04)

ТРОМБОПОЭТИН И С-MPL РЕЦЕПТОР

А.Р. Раимжанов – чл.-кор. НАН КР, докт. мед. наук, проф.,

А.В. Корнеева – аспирант,

И.А. Цопова – ст. научн. сотрудник

The paper demonstrates that thrombopoietin and c-mpl-receptor function as primary regulators of in vivo megakaryocytopoiesis and documents their role in early hematopoiesis. Moreover, discuss the structure of thrombopoietin and c-mpl-receptor.

Тромбопоэтин (ТРО) – последний из описанных гемопоэтических факторов роста, долгое время считавшийся специфическим регулятором тромбоцитопоэза. Впервые термин “тромбопоэтин” употребил E. Kelemen в 1958 г. для описания гуморального медиатора, ответственного за увеличение продукции тромбоцитов при тромбоцитопении [1]. Однако ТРО был клонирован пятью независимыми группами ученых только в 1994 г. [2]. Рецептор к ТРО у человека был клонирован в 1992 г. Он относится к суперсемейству цитокиновых рецепторов [3].

Структура ТРО представлена 3 доменами – сигнальным, эритропоэтиноподобным и богатым углеводами (рис. 1). Как выяснилось, ТРО – это гликопротеин, состоящий из 353 аминокислот с молекулярной массой 36 kD. Ген, кодирующий ТРО (с – mpl-лиганд), расположен на хромосоме 3q [4]. Этот ген был клонирован Foster с коллегами в 1994 г., независимо от него в том же году – Sohma с коллегами, Gurney с коллегами – в 1995 г. [5].

Первичным местом образования ТРО является печень [6]. Небольшие количества его обнаружены в почках, головном мозге, селезенке, сердце, гладкой и поперечно-полосатой мускулатуре, в фибробластах и эндотелиальных клетках, яичниках у женщин и яичках у мужчин [7]. По-видимому, в организме он не

депонируется, а сразу высвобождается и поступает в кровотоки после синтеза.

Хотя ТРО и является универсальным стимулятором мегакариоцитопоэза, однако на ранних этапах, на уровне стволовой клетки-предшественницы мегакариоцитопоэза, выраженным стимулирующим эффектом обладает IL-3 [8].

Недавние исследования in vitro ясно указывают на то, что функция ТРО сводится не только к пролиферации мегакариоцитарного ростка, но и к увеличению и поддержанию числа ранних предшественников гемопоэза [9–11] (рис. 2). Кроме того, полученные к настоящему времени результаты in vivo говорят о том, что длительная активность к возобновлению всех кроветворных линий человеческой популяции стволовых клеток CD34⁺CD38⁻ коррелирует с экспрессией ТРО и с-mpl [12].

Исследования в этой области в последнее время были дополнены изучением механизма действия тромбопоэтина. ТРО осуществляет свой эффект через активацию с-mpl-рецептора и различных путей сигнальной трансдукции по типу обратной связи. М-РНК с-mpl-рецептора была обнаружена в стволовых гемопоэтических клетках, клетках периферической крови и костного мозга, селезенки и клетках мегакариоцитарного ростка. Рецептор к ТРО не имеет внутренней тирозинкиназной активности. В последние годы идентифицировали 2 домена с-mpl-рецептора – внутриклеточный и цитоплазматический.

ческий, каждый из которых имеет составляющие домены (рис. 3). Внутриклеточный домен c-mpl-рецептора состоит из двух отличных друг от друга доменов, которые взаимодействуют с разными путями сигнальной трансдукции [13]. Идентификация c-mpl как рецептора для ТРО была подтверждена тем, что образование в культурах CFU-M, но не CFU-GM или

BFU-E из CD34⁺-клеток было снижено добавлением в культуру антител к c-mpl [10].

В то время как мембранная проксимальная часть цитоплазматического домена требуется для активации сигнальных молекул, что приводит к пролиферации, дистальная часть и активация митоген-активированного протеинкиназного пути участвуют в созревании мегакариоцитов *in vitro*.

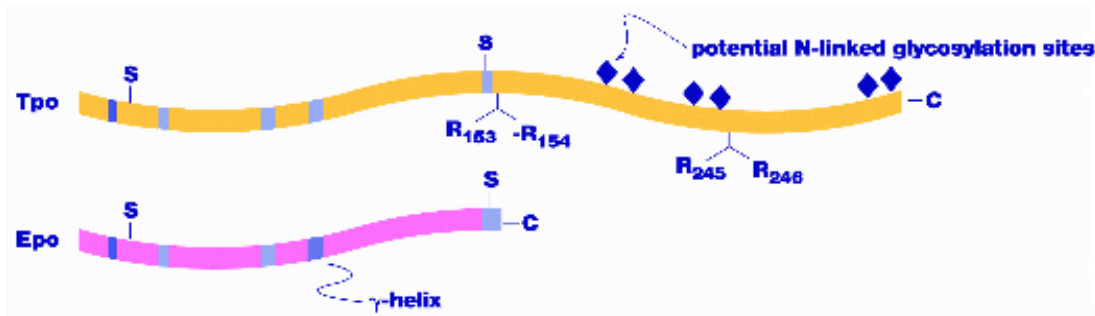


Рис. 1. Структура тромбопоэтина человека*.

Сигнальный пептид, эритропоэтиноподобный пептид, богатый углеводами домен: числа – позиция аминокислот; ромбы – места гликозилирования в позициях 176, 185, 213, 234, 319, 327; вертикальные полосы – консервативные цистеиновые основания в позициях 7, 29, 85, 151.

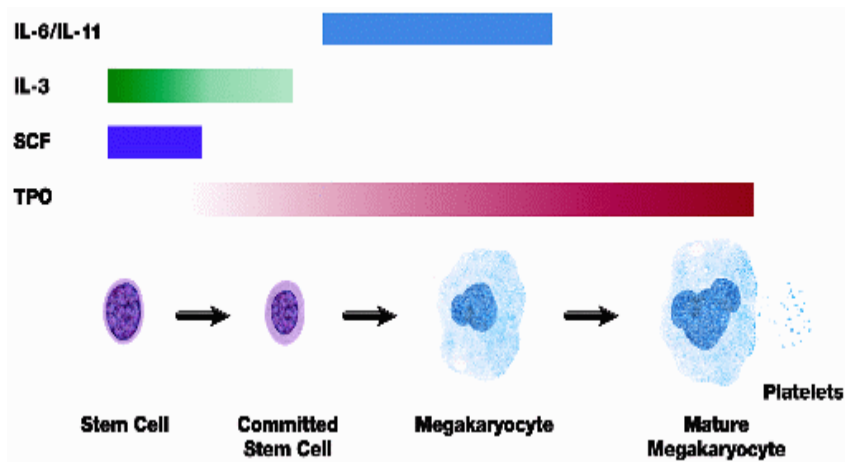


Рис. 2. Синергетическая роль цитокинов в мегакариопоэзе**.

* Kuter D. // The Oncologist. – 1996. – Vol. 1. – P. 98–106.

** Kaushansky K. // Blood. – 1995. – Vol. 86. – P. 419–431.

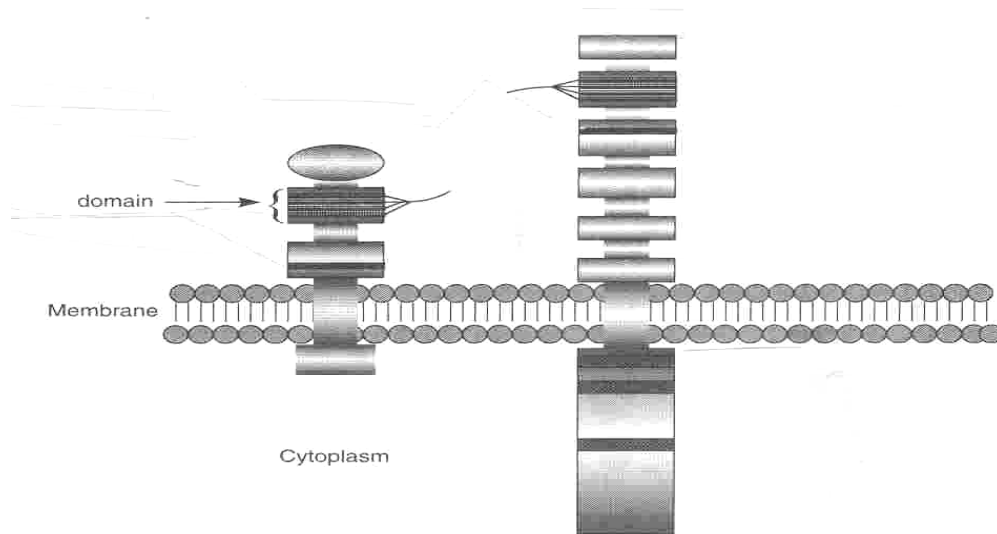


Рис. 3. Структура c-mpl-рецептора [3].

Доказательство этого положения проводили на мышах, дефицитных в отношении ТРО. Впрыскивание мышам рекомбинантного гТРО вызывало увеличение числа тромбоцитов от 4 до 6 раз и 20-кратное увеличение числа мегакариоцитов в костном мозге [14, 15]. Установлено, что гТРО стимулирует не только рост числа тромбоцитов, но и влияет на их функцию [6, 12, 16].

Эти результаты показали роль ТРО *in vivo* как физиологического регулятора продукции тромбоцитов, а также мегакариоцитов, и выявили низкие уровни клеток-предшественниц как в миелоидном, так и в эритроидном ростках у ТРО-дефицитных мышей [6].

Кроме того, эти исследования доказывают, что для продукции тромбоцитов, вызванной ТРО, не требуется сигнальной дифференциации, исходящей из дистальной половины цитоплазматического домена его рецептора. Мембранная проксимальная часть цитоплазматического домена c-mpl-рецептора достаточна для активации всех путей, необходимых для установления нормального постоянного числа тромбоцитов. Тем не менее, комбинация сигналов, исходящих из проксимальной и дистальной частей внутриклеточного домена, необходима для быстрого ответа на ТРО [17]. В последнее время достигнуты значительные успехи в познании биохимических механизмов

упомянутых путей, однако роль активации ТРО и других цитокинов в этих процессах остается не совсем ясной.

Клиническое применение рекомбинантного ТРО началось относительно недавно, однако дальнейшее изучение и внедрение ТРО в медицинскую практику является весьма перспективным.

Литература

1. Kelemen E., Cserhati I., Tanos B. Demonstration and some properties of human thrombopoietin in thrombocythaemic sera // *Acta Haematol.* – 1988. – Vol. 20. – P. 350–355.
2. Владимирская Е.Б., Румянцев А.Г. Тромбопоэтин: биологические свойства и перспективы клинического применения // *Гематология и трансфузиология.* – 1998. – Т. 43. – №2. – С. 42–46.
3. Vigon I., Mornon J. P., Cocault L. et al. Molecular cloning and characterization of MPL, the human homolog of the v-mpl oncogene: identification of a member of the hematopoietic growth factor receptor superfamily // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol. 89. – P. 5640–5644.
4. Shih-Ming Luoh, Eric Stefanich et al. Role of the Distal Half of the c-Mpl Intracellular Domain in Control of Platelet Production by Thrombopoietin *In Vivo* // *Mol Cell Biol.* – 2000. – Vol. 20(2). – P. 507–515.

5. Bradley H.L., Couldrey C. and Bunting K.D. Hematopoietic-repopulating defects from STAT5-deficient bone marrow are not fully accounted for by loss of thrombopoietin responsiveness // *Blood*. – 2004. – Vol. 103(8). – P. 2965–2972.
6. Linden H.M. and Kaushansky K. The glycan domain of thrombopoietin enhances its secretion // *Biochemistry*. – 2000. – Vol. 39(11). – P. 3044–3051.
7. Алексеев Н.А. Анемии. – СПб.: Гиппократ, 2004. – С. 19–37.
8. Ku H., Yonemura Y., Kaushansky K., Ogawa M. Thrombopoietin, the ligand for the mpl receptor, synergizes with steel factor and other early acting cytokines in supporting proliferation of primitive hematopoietic progenitors of mice // *Blood*. – 1996. – Vol. 87. – P. 4544–4550.
9. Borge O.J., Ramsfjell V. et al. Ability of early acting cytokines to directly promote survival and suppress apoptosis of human primitive CD 34⁺CD 38⁺ bone marrow cells with multilineage potential at the single cell level: Key role of thrombopoietin // *Blood*. – 1997. – Vol. 90. – P. 2282.
10. Piacibello W., Sanavio F. et al. Extensive amplification and self renewal of human primitive hematopoietic stem cells from cord blood // *Blood*. – 1997. – Vol. 89. – P. 2644–2648.
11. Young J.C., Bruno E., Luens K.M. et al. Thrombopoietin stimulates megakaryocytopoiesis, myelopoiesis, and expansion of CD 34⁺ progenitor cells from single CD 34⁺Thy-1⁺Lin⁻ primitive progenitor cells // *Blood*. – 1996. – Vol. 88. – P. 1619–1624.
12. Solar G., William G. et al. Role of c-mpl in early hematopoiesis // *Blood*. – 1998. – Vol. 92. – P. 4–10.
13. Sohma Y., Akahori H., Seki N. et al. Molecular cloning and chromosomal localisation of the human thrombopoietin gene // *FEBS Lett.* – 1994. – Vol. 353. – P. 57–61.
14. De Sauvage F., Carver-Moore K., Luoh S., Ryan A., Dowd M., Eaton D., Moore M. Physiological regulation of early and late stages of megakaryocytopoiesis by thrombopoietin // *J Exp Med.* – 1996. – Vol. 183. – P. 651–656.
15. Lok S., Kaushansky K., Holly R. et al. Cloning and sequencing of murine thrombopoietin and stimulation of platelet production in vivo // *Nature*. – 1994. – Vol. 369. – P. 565–568.
16. Oda A., Miyakawa Y., Druker B. et al. Thrombopoietin primes human platelet aggregation induced by shear stress and by multiple agonist // *Blood*. – 1996. – Vol. 87. – P. 4664–4670.
17. Muto T. et al. Functional analysis of the C-terminal region of recombinant human thrombopoietin. C-terminal region of thrombopoietin is a “shuttle” peptide to help secretion // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275(16). – P. 12090–12094.