ОБЗОРИ
REVIEWS

РОЛЯТА НА НАРУШЕНИЯТА В JAK/STAT СИГНАЛНИЯ ПЪТ В РАЗВИТИЕТО НА ПЪРВИЧНИ ИМУННИ ДЕФИЦИТИ

Н. Гешева, С. Михайлова, С. Лесичкова, А. Михайлова и Е. Наумова
Клиника по клинична имунология с банка за стволови клетки, УМБАЛ "Александровска", МУ – София

ROLE OF THE JAK-STAT SIGNAL PATHWAY DISTURBANCES IN THE DEVELOPMENT OF PRIMARY IMMUNE DEFICIENCIES

N. Gesheva, S. Michaylova, S. Lesichkova, A. Michaylova and E. Naumova
Department of Clinical Immunology and Stem Cell Bank, University Hospital "Aleksandrovska", Medical University – Sofia

Резюме: В обзора са разгледани основните нарушения в JAK/STAT сигналния път, свързани с появата на първични имунни дефицити. Подчертава се значението на определянето на тези нарушения при пациенти с чести вирусни, бактериални и микотични инфекции. Тяхното познаване е важно с оглед ранна диагностика, лечение и превенция. Обръща се внимание на връзката между нарушенията в тези пътища и появата на автоимунни заболявания.

Ключови думи: JAK-STAT сигнални пътища, първични имунни дефицити

Адрес за кореспонденция: *Д-р Невена Гешева, Клиника по клинична имунология, УМБАЛ "Александровска", ул. „Св. Г. Софийски" № 1, 1431 София, e-mail: n_gesheva@hotmail.com*

Abstract: This review describes the main disturbances in JAK-STAT signal pathway associated with primary immune deficiencies. The authors underline the significance of the determination of these changes in patients with common viral, bacterial and fungal infections. The knowledge on JAK-STAT signal pathway dysregulation is important for the prevention, early diagnosis and treatment. The authors also highlight how the impairments of these signal pathways contribute to the development of autoimmune diseases.

Key words: JAK-STAT signal pathways, primary immune deficiencies

Address for correspondence: *Nevena Gesheva, MD, Department of Clinical Immunology, University Hospital "Aleksandrovska", 1, Sv. G. Sofiyski St., Bg – 1431 Sofia, e-mail: n_gesheva@hotmail.com*

Преди повече от две десетилетия благодарение на проучванията на антивирусния механизъм на действие на интерферона са открити Янус киназите (Janus kinase – JAK) – семейство цитоплазмени кинази. Те активират STAT протеините (Signal Transducer and Activator of Transcription) чрез фосфорилиране, като по този начин последните пренасят екстрацелуларните сигнали в ядрото и водят до цитокин регулирана генна транскрипция [1]. JAK/STAT сигналният път се състои от три основни компонента – повърхностния клетъчен рецептор, Янус киназата и STAT протеина. Свързването на различни лиганди, обикновено цитокини, към техните рецептори, повечето от които нямат киназна активност, води до активиране на JAKs.

Активираните JAKs фосфорилират тирозинови остатъци на съответния рецептор и по този начин позволяват свързването му със STAT протеините, които също биват фосфорилирани и съответно активирани от JAKs. Фосфорилираните STAT мономери обикновено димеризират и се транслоцират в клетъчното ядро, където се свързват към съответен ДНК участък и регули-

рат транскрипцията на определен ген [1]. При бозайниците са познати четири Янус кинази – JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2 (тирозин киназа 2). JAK3 и TYK2 имат основна роля в имунния отговор, докато JAK1 и JAK2 имат значително по-широк спектър на действие, включващ хемопоезата, растежа, развитието на нервната система и др.

STAT фамилията включва седем члена (STAT 1, 2, 3, 4, 5a, 5b и 6), които се експресират в различни видове клетки и се активират от растежни фактори, хормони и цитокини. Тази сигнална каскада води до разнообразни биологични ефекти. Специфичните STAT протеини, участващи в лиганд-активираните сигнални системи, е възможно да зависят от специфични тирозин-базирани мотиви в рецепторните компоненти и от структурни особености в Src 2 хомоложните домени (SH2) на STAT протеините. Все още не е изяснено кои фактори определят участието на едни или други STAT в сигналната трансдукция, но е добре известно, че специфичността на самия активационен процес е критична и е директно обвързана с процесите на фосфорилиране на тирозина. JAK-STAT сигнализацията и функциите се проучват интензивно през последните години, като са установени редица имунни дефицити, свързани с тяхното нарушение. Описаните мутации в два от четирите JAKs (JAK3 и TYK2) и четири от седемте STAT (STAT1, STAT3, STAT5B, STAT6) дават основание да се смята, че тяхната роля е критична в процесите на имунен отговор и хомеостаза [2].

JAK3 е цитозолна тирозин киназа, която се експресира от хемопоетични клетки (Т-лимфоцити и NK клетки), както и от интестинални епителни клетки. Тя е включена в предаването на сигнала от тип I цитокиновите рецептори, съдържащи общата гама-верига (IL-2R, IL-4R, IL-7R, IL-9R, IL-15R и IL-21R). Мутации, които водят до загуба на функцията на JAK3, са отговорни за развитието на унаследяван автозомно-рецесивно тежък комбиниран имунен дефицит с $T^-B^+NK^-$ фенотип. Въпреки наличието на В-лимфоцити, те са функционално неактивни поради нарушена активация и дефекти в превключването на класа [3].

Първият описан случай на пациент с TYK2 дефицит е през 2006 г. от Minegishi и сътр. [4]. При него са наблюдавани атопичен дерматит, кожни стафилококови инфекции, поствакцинален (BCG) лимфаденит, гастроентерит, причинен от Salmonella nontyphi, кожни инфекции с Molluscum contagiosum, рекурентни орални инфекции с Herpes simplex, както и причинена от Parainfluenza virus пневмония. От имунологичните изследвания е било установено значително повишено серумно ниво на IgE, както и нарушения в IL-12, IL-10, IL-6 и IFNα/β сигналното предаване. Впоследствие при описаните от Kreins и сътр. [5] седем случая на пациенти с генетично доказани мутации в гена за TYK, се установяват следните промени: нарушен клетъчен отговор към IL-12 и IFNα/β, отговорни съответно за развитието на микобактериални и вирусни инфекции; нарушен клетъчен отговор към IL-23, при нормално количество на циркулиращи IL-17+ Т-лимфоцити, което обяснява липсата на кожно-лигавична кандидоза; нарушен клетъчен отговор към IL-10, без това да води до явни клинични последствия. Приема се, че основният клиничен фенотип при TYK2 дефицита е микобактериална и/или вирусна инфекция вследствие на нарушен отговор към IL-12 и IFNα/β [5].

Мутации в STAT1 за първи път са идентифицирани при пациенти с Менделов тип унаследяване на възприемчивост към микобактериални болести, причинени от слабовирулентни представители като Bacille Calmette-Guerin ваксината и микобактерии на околната среда [6]. STAT1 е първия член от семейството на STAT, идентифициран като ключова молекула, необходима за клетъчния отговор към интерферо-ните α и β [7]. Описани са имунни дефицити, свързани със STAT1 мутации, с водеща клинична изява на вирусни и микобактериални инфекции. Идентифицирането на повече пациенти с вродени дефекти в тази каскада би подпомогнало дефинирането на молекулните и клетъчни основи на вирусни, микотични и някои вътреклетъчни инфекции при човека. Промените в STAT1 гените също така са отговорни за нарушения в развитието на Th17 клетките [8].

STAT3 е открит благодарение на структурното сходство със STAT1 и първоначално е дефиниран като проводник на сигналите, генерирани от IL-6 и епидермалния растежен фактор [9]. По-късно мутации в STAT3 гените са идентифицирани като причина за развитие на хипер-IgE синдром поради инхибиция на STAT3 функцията [10]. Известно е, че най-малко 6 класа рецептори активират STAT3 и това служи за сигнална трансдукция на действието на тип I и II интерферо-ните, цитокините от семейството на IL-10, IL-12 и IL-23, рецептор тирозин киназите и др. STAT3 също е отговорен за Th17 медиирания клетъчен отговор. Така например при пациенти с хипер IgE синдром е нарушено зреенето на IL-17 CD4+ Т клетки. Във връзка с това засегнатите индивиди също така са склонни към развитие на Varicella zoster и Epstein-Barr инфекции. Пациентите с автозомно-доминантна форма на хипер-IgE синдром имат понижен

брой антиген-специфични паметови В-клетки, въпреки липсата на нарушения в изотипното превключване. В-клетъчната незрялост е тясно свързана с преференциална продукция на IgE при миши модели и би могла да обясни повишените стойности на IgE при болните [11]. В контекста на В-клетъчната матурация е установено, че фоликулните хелперни Т-клетки (Tfh) са отговорни за формирането на герминативните центрове и диференциацията на Tfh. Те продуцират високи нива на IL-21. Последният, чрез STAT3 и IRF-4 (interferon regulatory factor 4), подпомага диференциацията на В-клетките в плазмени клетки [12] .

STAT5a и STAT5b протеините са също част от STAT фамилията. Кодиращите ги гени показват секвенционна идентичност в 93,6% от екзоните им, което поддържа теорията за генна дупликация [13]. Дълго време се е смятало, че STAT5b и STAT5a имат сходна функция, но идентифицирането на STAT5b мутациите при пациенти с тежко постнатално изоставане в растежа и имунен дефицит разкриват, че те имат различни функции, независимо от високата степен на структурно сходство между тях. Активацията на оста GH (растежен хормон)–IGF-I (инсулиноподобен растежен фактор I) се инициира от свързването на циркулиращия растежен хормон с неговия рецептор (GHR) – хомодимерен трансмембранен протеин, принадлежащ към тип I клас от цитокиновата рецепторна суперфамилия, включваща още пролактиновия рецептор, еритропоетиновия рецептор и някои интерлевкинови рецептори. Тези рецептори не притежават собствена киназна активност. GHR е асоциран с JAK2 киназата, която се автотрансфосфорилира вследствие на свързването на молекула GH с димерния GHR [14]. JAK2 впоследствие фосфорилира тирозинови остатъци от интрацелуларната част на GHR и активира различни сигнални пътища: STAT (STAT1, STAT3, STAT5a и STAT5b), MAPK (митоген-активирани протеин кинази) и PI3K (фосфоинозитид-3 киназа). От тези различни пътища STAT5b е директно включен в регулацията на IGF-I експресията и съответно в GH индуцираната IGF-I продукция, имаща отношение към нормалния растеж [15, 16]. JAK2 активира STAT5b чрез фосфорилиране на Y699. Фосфорилираните STAT5 хомодимеризират чрез SH2 областите си и навлизат в ядрото, където се свързват с ДНК участъци, контролиращи експресията на гени като IGF1, IGFBP3 (кодиращ IGF свързващ протеин 3) и IGFALS (кодиращ ALS-acid labile subunit протеин). Освен в регулиране на растежа STAT5b играе роля и в имунната регулация. STAT5b и STAT5a се активират от множество цитокини, а именно IL-2, IL-5, IL-7 и IFNγ [17]. Изключителната важност на STAT5b сигнализацията в IL-2-медиираната пролиферация и Т-клетъчната функция е била подчертана с установяването на понижение на $CD4+CD25^{high}$ (Tregs – Т-регулаторни клетки) в хомозиготни STAT5b:A630PT бласти [18]. Сигнификантно понижение на Tregs се описва също и при пациенти, носещи мутацията p.R152X [19]. При пациентите с мутации в STAT5b освен понижените Tregs се описват и редица други имунологични промени, които значително варират от пациент до пациент, включително и между сиблинги с еднаква STAT5b мутация [20]. Може да се наблюдава понижение на Т-лимфоцитите, най-вероятно следствие от повишена апоптоза, понижение на циркулиращите CD4 и CD8 клетки, ниско или нормално ниво на NK клетките, нормално или повишено ниво на В-лимфоцитите, хипергамаглобулинемия с повишаване на серумното ниво на IgG и IgA. Клиничните изяви на имунодефицита при STAT5b мутациите включват чести инфекции с белодробно засягане, белодробна фиброза, лимфоцитна интерстициална пневмония, автоимунитет, екзема.

Дефекти в STAT6 протеина също водят до развитие на имунологични нарушения. Също като другите STAT протеини, STAT6 се тирозин фосфорилира от JAK киназите – JAK1 и JAK3. STAT6 може да съществува в различни изоформи в зависимост от тъканите и клетките, в които се изследва. Двете изоформи STAT6b и STAT6c са следствие на алтернативен сплайсинг на mRNA. Въпреки че основните активатори на STAT6 са IL-4 и подобният му IL-13, се съобщава и за други стимули, които могат да активират STAT6. При В-лимфоцитите IgG и CD40 кръстосаното свързване може да индуцира STAT6 тирозин фосфорилиране. В случай на IgG кръстосано свързване е необходимо участие и на PKC (протеин киназа С) при предаването на сигнала. В STAT6 дефицитни мишки е установено, че лимфоцитите са неспособни да повишат експресията на MHC клас II молекули, CD23 и IL-4Rα в отговор на IL-4. STAT6 дефицитните В-лимфоцити са неспособни да превключат изотипа на тежката верига към IgG1 и IgE в отговор на IL-4. STAT6 дефицитните Т-хелперни клетки са неспособни да се диференцират в Th2. Установено е че IL-4 зависимото диференциране на Т-хелперите към Th2 изисква активация на STAT6, за което от значение са няколко регулиращи развитието транскрипционни фактора като GATA-3 и c-maf. Намерено е, че GATA-3 експресията в Th2 клетките е зависима

от IL-4 стимулираната STAT6 активация, макар че не е ясно дали активираните STAT6 директно водят до GATA3 транскрипция. Освен това при STAT6 дефицитни животни се наблюдава невъзможност да се развие имунен отговор към хелминтни паразити. Съответно IL-4-STAT6 активационният път е необходим за транскрипция на IL-4 индуцируемите гени, за имуноглобулинова транскрипция и превключване на класа към IgG1 и IgE, за IL-4 индуцирана клетъчна пролиферация и за Th2 диференциацията. STAT6 дефицитните клетки показват нарушена пролиферация с блокиране на прогресията на G1 към S фазата от клетъчния цикъл [21].

Заключение

През последните години бяха описани известен брой имунни дефицити, които се дължат на нарушения в JAK-STAT сигналните пътища. Дефицитите варират от тежък комбиниран имунен дефицит при случаите на мутации в JAK3, през умерено тежкия фенотип на хипер-IgE синдром, свързан със STAT3 мутации, до хетерогенната клинична картина при пациенти с възприемчивост към микобактериални инфекции вследствие на нарушена STAT1 активност. Тяхното познаване е важно с оглед ранна диагностика, лечение и превенция. Проучвания върху имунологичния и инфекциозен фенотип на пациентите с първични имунни дефицити (ПИД) често потвърждават познанията относно функцията на тези молекули. В повечето случаи обаче изследванията на пациенти с ПИД биха могли да разкрият неизвестни до този момент имунологични, клетъчни, ендокринни и други свойства на JAK-STAT системата, чиито нарушения се обвързват и с редица автоимунни и злокачествени заболявания.

Изказваме благодарност на СМН – Медицински университет – София, за подкрепата на проучването към договор № 56/2015 г., Проект с вх. № 339/15.01.2015

Библиография

1. O'Shea JJ., Holland SM, Staudt, LM. JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer. N Engl J Med 2013; 368:161-170.
2. Casanova JL, Holland SM, Notarangelo LD. Inborn Errors of Human JAKs and STATs. Immunity. 2012 Apr 20; 36(4): 515-528.
3. Notarangelo LD, Mella P, Jones A, et al. Mutations in severe combined immune deficiency (SCID) due to JAK3 deficiency. Hum Mutat. 2001; 18(4):255-263.
4. Minegishi Y., Saito M, Morio T, et al. Human tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity. Immunity. 2006; 25:745-755.
5. Kreins AY et al. Human TYK2 deficiency: Mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome. J Exp Med, 2015; 212 (10):1641-1662.
6. Casanova JL, Abel L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model. Ann Rev Immunol. 2002; 20:581–620.
7. Stark GR, Kerr IM, Williams BR et al. How cells respond to interferons. Ann Rev Biochem. 1998; 67:227-264.
8. Liu L, et al. Gain-of-function human STAT1 mutations impair IL-17 immunity and underlie chronic mucocutaneous candidiasis. J Exp Med. 2011; 208:1635-1648.
9. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr. Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. Science. 1994; 264:95-98.
10. Holland SM, et al. STAT3 Mutations in the Hyper-IgE Syndrome. N Engl J Med. 2007; 357:160816-19.
11. Wesemann DR, et al. Immature B cells preferentially switch to IgE with increased direct Sμ to Sε recombination. J Exp Med. 2011; 208:2733–2746.
12. Lucinda J, et al. IL-21 signalling via STAT3 primes human naïve B cells to respond to IL-2 to enhance their differentiation into plasmablasts. Blood 2013; 122:3940-3950.
13. Ambrosio R, Fimiani G, Monfregola J et al. The structure of human STAT5A and B genes reveals two regions of nearly identical sequence and an alternative tissue specific STAT5B promoter. Gene 2002; 285:311-318.
14. Brown RJ, Adams JJ, Pelekanos RA et al. Model for growth hormone receptor activation based on subunit rotation within a receptor dimer. Nat Struct Mol Biol. 2005; 12:814-821.
15. Rosenfeld RG, Belgorosky A, Camacho-Hubner C, et al. Defects in growth hormone receptor signaling. Trends Endocrinol Metab. 2007; 18:134-141.
16. Rosenfeld RG, Hwa V. The growth hormone cascade and its role in mammalian growth. Hormone Res 2009; 71: 36-40.
17. Hennighausen, Robinson GW. Interpretation of cytokine signaling through the transcription factors STAT5A and STAT5B. Genes Dev. 2008; 22:711-721.
18. Cohen AC, Nadeau KC, Tu W, et al. Cutting Edge: decreased accumulation and regulatory function of CD4+CD25high T cells in human STAT5b deficiency. J Immun 2006; 177:2770-2774.
19. Bernasconi A, Marino R, Ribas A, et al. Characterization of immunodeficiency in a patient with growth hormone insensitivity secondary to a novel STAT5b gene mutation. Pediatrics 2006; 118:e1584-e1592.
20. Pugliese-Pires PN, Tonelli CA, Dora JM et al. A novel STAT5B mutation causing GH insensitivity syndrome associated with hyperprolactinemia and immune dysfunction in two male siblings. Eur J Endocrinol 2010; 163:349-355.
21. Wurster AL, Tanaka T, Grusby MJ. The biology of Stat4 and Stat6. Oncogene 2000; 19:2577-2584.

Постъпил за печат на 15 декември 2016 г.