

ЦИТОКИНЫ: БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-5 ЧЕЛОВЕКА

В.А. Мордвинов¹, Д.П. Фурман^{1,2}

¹ Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: mordvin@bionet.nsc.ru;

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Интерлейкин-5 (ИЛ-5) принадлежит к обширному семейству цитокинов – информационных молекул, секретируемых клетками иммунной системы. Основным источником ИЛ-5 являются зрелые Т-лимфоциты. ИЛ-5 играет центральную роль в развитии и регуляции патологических состояний, связанных с эозинофилией, в том числе при аллергическом воспалении и паразитарных инфекциях. В обзоре приводятся общие данные о цитокинах, систематизированы результаты исследований биологической роли ИЛ-5, освещены вопросы структурно-функциональной организации и регуляции экспрессии гена ИЛ-5, а также механизмы влияния глюкокортикоидов на эозинофилию и экспрессию гена ИЛ-5.

Ключевые слова: Т-лимфоциты, цитокины, интерлейкин-5, экспрессия гена.

Введение

Иммунной системе принадлежит ведущая роль в обеспечении и поддержании гомеостаза организма, а также формировании согласованных реакций его отдельных систем в ответ на внешние воздействия. Множество фактов, полученных при проведении исследований в области молекулярной биологии, иммунологии и физиологии, указывают на существование коммуникационной сети, обеспечивающей межклеточное взаимодействие на тканевом, органном и системном уровнях как основу для функционирования иммунной системы. Межклеточные связи реализуются посредством медиаторов, секретируемых специализированными клетками лимфоидного и миелоидного ряда.

Роль медиаторов выполняют цитокины – большая группа регуляторных белков, осуществляющих передачу сигналов через контакт со специфическими рецепторами на поверхностях клеток. В совокупности цитокины формируют разветвленную и многоуровневую цитокиновую сеть. Для ее правильного функционирования необходимо строгое соблюдение баланса как самих цитокинов, так и их рецепторов, содержание которых подвергается существенным

изменениям в зависимости от состояния участвующих во взаимодействиях клеток.

Нормальная работа цитокиновой сети во многом базируется на механизмах, лежащих в основе регуляции экспрессии генов цитокинов. Однако эти механизмы изучены далеко не достаточно, что существенно затрудняет понимание закономерностей взаимодействия клеток различных типов, отдельных систем организма и формирования его реакций. Иными словами, многие общие и частные проблемы физиологии, иммунологии и других биологических дисциплин требуют исследования механизмов регуляции экспрессии генов цитокинов. Следует добавить, что изучение контроля экспрессии как отдельных генов цитокинов, так и генных кластеров, объединяющих гены цитокинов определенного типа, способствует решению одной из важнейших проблем молекулярной биологии – исследования механизмов регуляции экспрессии генов эукариот.

Семейство цитокинов: общие сведения

Интерлейкин-5 (ИЛ-5) принадлежит к обширному семейству цитокинов – информационных молекул, секретируемых клетками иммун-

ной системы (Stark *et al.*, 2007), биологические эффекты которых распространяются, однако, далеко за ее пределы. Цитокины выступают посредниками межклеточных и межсистемных взаимодействий, регулируя выживаемость клеток, стимуляцию или подавление их роста, дифференциацию, функциональную активность и апоптоз и обеспечивая согласованность действия иммунной, эндокринной и нервной систем как в нормальных условиях, так и в ответ на разнообразие патологические воздействия.

Продуцентами цитокинов являются макрофаги, лимфоциты, нейтрофилы, тромбоциты, фибробласты, эндотелиоциты, кератиноциты, стромальные клетки, а также ряд других типов клеток. Один и тот же цитокин может синтезироваться различными по гистогенетическому происхождению типами клеток в разных органах и тканях организма (Fainboim *et al.*, 2007). В то же время продукция многих цитокинов является тканеспецифичной, и некоторые из них производятся практически только одним типом клеток. В частности, основным источником ИЛ-5 являются зрелые Т-лимфоциты, и вклад других клеток в общую продукцию этого фактора крайне незначителен (Santana, Rosenstein, 2003).

История изучения цитокинов началась во второй половине XX в. (Vilcek, Feldmann, 2004). Термин «цитокины», предложенный С. Коухеном (Cohen *et al.*, 1974), отражает основное назначение этих молекул, состоящее в передаче сигналов от клетки к клетке, и не специфицирует клетки-источники информации.

Долгое время цитокины получали названия по вызываемым биологическим эффектам. Феноменологический подход к обозначению цитокинов, практиковавшийся фактически до 1990-х гг., нашел отражение в их номенклатуре. В частности, ИЛ-5 имеет 15 альтернативных названий (<http://www.copewithcytokines.de/corpcgi?key=Cytokines>).

Термин «интерлейкины», т. е. медиаторы, осуществляющие связь между лейкоцитами, был предложен в 1978 г. на II Международном рабочем совещании, посвященном лимфокинам, для обозначения и систематизации регуляторных факторов, секретируемых клетками иммунной системы. Однако очень скоро выяснилось, что биологические эффекты этих

факторов распространяются далеко за ее пределы, и собирательным названием всей группы стал термин «цитокины». К цитокинам относят несколько подгрупп медиаторов:

- интерлейкины (ИЛ) с исторически сложившимися порядковыми номерами;
- интерфероны (ИФН) – факторы, обладающие противовирусными свойствами;
- колониестимулирующие факторы (КСФ), активирующие продукцию и дифференцировку клеток-предшественников различных ростков гемопоэза на разных этапах их созревания;
- трансформирующие ростовые факторы;
- факторы некроза опухолей (ФНО);
- хемокины, или хемотактические цитокины, обеспечивающие активацию процессов миграции различных типов лейкоцитов и некоторых других клеток.

Существующее разделение во многом условно и скорее отражает историю изучения цитокинов. На сегодняшний день достоверно установлено, что один и тот же цитокин способен выполнять различные функции (Gutcher, Becher, 2007). Плейотропизм действия, вероятно, объясняется множественностью и специализацией клеток-мишеней соответствующих регуляторных белков.

В то же время разные цитокины могут приводить к одному и тому же биологическому результату, сохраняя, однако, уникальность в отношении точек или времени приложения своего действия. Например ИЛ-2, ИЛ-7 и ИЛ-15 могут быть охарактеризованы как ростовые факторы Т-лимфоцитов. Каждый из этих медиаторов обладает наибольшим эффектом на определенной фазе клеточного развития, и его эквивалентная замена другим фактором возможна лишь вне этой фазы (Porter, Malek, 2000; Schimpl *et al.*, 2002).

Феномен взаимозаменяемости биологического действия цитокинов можно объяснить тем, что в большинстве случаев их действие реализуется по сетевому принципу с участием нескольких комбинирующихся медиаторов. При этом цитокины действуют в отношениях как синергизма, так и антагонизма. Они способны каскадно индуцировать взаимную выработку, а также инициировать трансмодуляцию поверхностных рецепторов Т-лимфоцитов к другим медиаторам (Sporn, Roberts, 1988; Galve-de

Rochemonteix *et al.*, 1993; Gounni *et al.*, 2000; Kastelein *et al.*, 2007).

Среди клеток иммунной системы – продуцентов цитокинов – значительное место занимают Т-лимфоциты (тимус-зависимые), являющиеся важнейшим компонентом системы клеточного иммунитета. Субпопуляция Т-лимфоцитов, названная Т-хелперами (от англ. helper – помощник), выполняет ведущую роль в запуске и регуляции иммунного ответа. Т-хелперы получили свое название за функцию, которую они выполняют, – индуцировать размножение и (или) дифференцировку других клеток иммунной системы. В зависимости от вырабатываемых цитокинов Т-хелперы разделяют на несколько типов (Mossman *et al.*, 1986). «Наивные», или «нулевые», Т-хелперы, выходящие из тимуса (Тх0), синтезируют практически весь спектр Т-клеточных цитокинов и представляют собой клетки-предшественники двух типов зрелых хелперных клеток – Т-хелперов 1-го или 2-го типов (Тх1 и Тх2).

Т-хелперы типа 1 (Тх1) в основном секретируют интерферон-гамма (ИФН- γ) и интерлейкин-2 (ИЛ-2), стимулируя клеточный иммунитет и активность макрофагов. Тх1 участвуют в иммунных реакциях гиперчувствительности замедленного типа и в защите от вирусных инфекций и от инфекций, вызываемых внутриклеточными микроорганизмами.

Т-хелперы типа 2 (Тх2) обеспечивают регуляцию гуморального иммунитета и реакции антипаразитарной защиты с участием эозинофилов. Их основными цитокинами являются ИЛ-4 и ИЛ-5, важные в патогенезе аллергических заболеваний: ИЛ-4 необходим для синтеза IgE, а ИЛ-5 запускает пролиферацию и дифференцировку эозинофилов (Gelfand, Finkel, 1996; Clement, 1996).

В соответствии с типом продуцируемых их клеток на две полярные группы (Тх1 и Тх2) разделяются и цитокины (Kutlu *et al.*, 2007). Динамическое равновесие цитокинов Тх1 и Тх2 обеспечивает гибкость и пластичность и гуморального, и клеточного иммунного ответа.

Разнообразие индивидуальных свойств цитокинов не мешает, однако, выделить ряд общих характеристик этих молекул. Как уже отмечалось, цитокины представляют собой группу регуляторных факторов, чаще всего представленных

небольшими гликозилированными белками с молекулярной массой до 50 кДа. Они могут как медиаторы секретироваться в межклеточное пространство или ассоциироваться с мембранами синтезирующих их клеток. В обеих формах цитокины обладают биологической активностью.

Важно отметить, что экспрессия генов цитокинов является индуцибельным процессом, т. е. большинство цитокинов не синтезируется клетками вне воспалительной реакции и иммунного ответа. При физиологическом состоянии, принятом за норму, спектр детектируемых мРНК цитокинов узок и уровень экспрессии соответствующих генов невысок. При повреждении тканей, воспалении, опухолеобразовании и во многих других физиологических и патологических ситуациях спектр экспрессирующихся генов цитокинов, обладающих как местной, так и дистантной активностью, значительно расширяется, а уровень экспрессии генов, обладающих базальной активностью, многократно возрастает (Rose-John, Schooltink, 2007).

Цитокины синтезируются в ответ на стимуляцию продуцирующих их клеток через короткий промежуток времени. Синтез прекращается в результате действия отрицательных обратных связей, опосредуемых простагландинами, кортикостероидными гормонами и другими факторами, а также за счет механизмов саморегуляции. В основе «выключения» синтеза лежат, как правило, события, ведущие к блокаде транскрипции или/и сокращению времени жизни мРНК.

Действие цитокинов инициируется в результате их взаимодействия со специфическими клеточными рецепторными комплексами на поверхностях клеток-мишеней. Количество рецепторов для разных медиаторов значительно варьирует (от 100 до 100 000) (Fischereder, 2007). Рецепторные комплексы связывают свои лиганды-цитокины с очень высокой аффинностью, причем отдельные цитокины способны использовать общие субъединицы рецепторов (Allen *et al.*, 2007; Alves *et al.*, 2007).

Сигнал, генерируемый комплексом «цитокин–рецептор», может регулировать как экспрессию данного цитокина и его рецептора, так и синтез целого спектра медиаторов и поверхностных рецепторов. Цитокины индуцируют либо подавляют синтез самих себя, других цитокинов и их рецепторов, участвуя в фор-

мировании цитокиновой сети. Они действуют как аутокринные регуляторы, воздействуя на клетку, синтезирующую и секретирующую данный цитокин; паракринные, активируя клетки, расположенные вблизи клетки-продуцента, например, в очаге воспаления или в лимфоидном органе; эндокринные, воздействуя дистантно на клетки любых органов и тканей после попадания цитокина в кровеносную систему. В последнем случае действие этих медиаторов напоминает действие гормонов.

В рамках иммунной системы цитокины осуществляют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом, действуя в обоих направлениях. Они не имеют антигенной специфичности биологического действия и влияют на функциональную активность клеток, принимающих участие в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета. Тем не менее, воздействуя на Т- и В-лимфоциты, цитокины способны стимулировать антиген-зависимые процессы (Corgu, Kheradmand, 1999).

Двумя важными характеристиками экспрессии генов цитокинов являются ее тканеспецифичность и зависимость от активации клеточных сигнальных путей.

Значительная часть цитокинов производится практически только одним типом клеток. Так, у человека и животных основным источником ИЛ-2 являются зрелые Т-лимфоциты, тогда как вклад эозинофилов в общую продукцию этого белка крайне незначителен (Santana, Rosenstein, 2003). Хотя есть цитокины, гены которых эффективно экспрессируются в клетках нескольких типов, список таких клеток весьма ограничен (Yarilin, Belyakov, 2004).

Известно, что тканеспецифический характер экспрессии генов формируется в процессе клеточной дифференцировки (Li *et al.*, 2007) и часто определяется присутствием в соответствующих клетках специфического набора транскрипционных факторов (Rudensky *et al.*, 2006). Кроме того, вклад в тканеспецифичность экспрессии того или иного гена вносит и его «доступность» для транскрипции в контексте организации хроматина (Felsenfeld *et al.*, 1996; Wu, 1997; Narlikar *et al.*, 2002). «Доступность» генов цитокинов, в частности ИЛ-2, для транскрипции достигается в результате дифферен-

цировки клеток иммунной системы. Показано, что в ходе дифференцировки Т-клеток в тимусе хроматин в районе расположения гена ИЛ-2 подвергается изменениям, обуславливающим экспрессию ИЛ-2 только в зрелых Т-лимфоцитах (Bunting *et al.*, 2006).

Вторая важная характеристика экспрессии генов цитокинов – ее регуляция с участием сигнальных путей. Каскад внутриклеточных сигнальных реакций, следующий за взаимодействием определенных лигандов с их рецепторами на поверхности лимфоцита, завершается формированием комплексов регуляторных районов генов цитокинов с конститутивными и/или индуцибельными транскрипционными факторами, что в свою очередь приводит к инициации или ингибированию экспрессии генов (Holloway *et al.*, 2002).

Таким образом, цитокины представляют собой группу белковых медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма. К общим главным свойствам цитокинов относятся плеiotропизм и взаимозаменяемость биологического действия, индуцибельный характер синтеза, отсутствие антигенной специфичности действия, саморегуляция продукции. Цитокиновая сеть обеспечивает кооперацию иммунокомпетентных клеток и может рассматриваться как самостоятельная система регуляции основных функций организма, существующая наряду с нервной и эндокринной системами регуляции и связанная, в первую очередь, с поддержанием гомеостаза при внедрении патогенных агентов и нарушении целостности тканей.

Биологические свойства ИЛ-5

Около 30 лет назад несколько независимых исследовательских групп начали изучение свойств цитокина, обладающего *in vitro* свойством активатора дифференцировки В-лимфоцитов мыши. Этот белок был известен как фактор, заменяющий Т-клетки (T cell-replacing factor, или TRF) (Takatsu *et al.*, 1988), фактор роста В-лимфоцитов II (B cell growth factor II, или BCGFII) (Swain *et al.*, 1988) и фактор дифференцировки В-лимфоцитов μ (B cell differentiation factor- μ , или BCDF μ) (Vitetta *et al.*, 1984). В 1985 г. группой Takatsu было показано, что

названные факторы идентичны (Harada *et al.*, 1985). Приблизительно в это же время был обнаружен фактор дифференцировки эозинофилов мыши (eosinophil differentiation factor, или EDF) (Sanderson *et al.*, 1985; Warren, Sanderson, 1985). В 1986 г. в результате анализа аминокислотной последовательности EDF было установлено, что этот белок идентичен BCGFII (Sanderson *et al.*, 1986). В настоящее время цитокин, носивший ранее все вышеперечисленные названия, известен как ИЛ-5 (Mordvinov, Sanderson, 2001).

ИЛ-5 контролирует количество и активность зрелых эозинофилов в организмах животных и человека. Эозинофилы – это гранулярные лейкоциты, которые продуцируются в костном мозге и после недолгого пребывания в периферической крови мигрируют в ткани. Принято считать, что эти клетки представляют в системе иммунитета основное звено противопаразитарной защиты (Sanderson, 1992). В норме содержание эозинофилов в организме человека не превышает 6 % от всех лейкоцитов, однако при определенных патологиях их количество может увеличиваться в несколько раз. Так, наблюдаемый при паразитарных заболеваниях рост числа эозинофилов, как правило, способствует элиминации паразитов и является признаком адекватной реакции организма (Voehringer, 2007). В противоположность этому, при патологиях аллергической природы, в частности астме, рост числа эозинофилов ассоциируется с обострением заболевания (Kiley *et al.*, 2007). Наличие этих клеток в легких астматиков связано с повреждением ткани, а их количество коррелирует со степенью поздней астматической реакции (Bousquet *et al.*, 1990; Jacobsen *et al.*, 2007). Выявлена также негативная роль эозинофилов при развитии ряда аутоиммунных и злокачественных заболеваний (Di Stefano, Amoroso, 2005). Таким образом, знание механизмов, регулирующих продукцию ИЛ-5, а следовательно, и продукцию зрелых эозинофилов в организме человека является ключом к пониманию патогенеза ряда серьезных заболеваний и основой для создания фармакологических препаратов для их лечения.

Основными продуцентами ИЛ-5 являются активированные Тх2 клетки, которые синтезируют также и другие Тх2 цитокины, прежде всего ИЛ-4. В большинстве случаев активиро-

ванные Тх2 одновременно секретируют ИЛ-5 и ИЛ-4 (Zhu *et al.*, 2006), однако коэкспрессия генов ИЛ-5 и ИЛ-4 не является абсолютно обязательной, и существуют механизмы индивидуального запуска экспрессии отдельных генов Тх2 цитокинов (Warren, Sanderson, 1985; Bohjanen *et al.*, 1990; Naora *et al.*, 1994).

Помимо Т-хелперов, ИЛ-5 при определенных условиях могут продуцировать и другие Т-лимфоциты – Т-киллеры (Erard *et al.*, 1993; Coyle *et al.*, 1995; Erb, Le Gros, 1996). Этот факт указывает на то, что в обострении астматического состояния, связанного с эозинофилией, заметную роль, наряду с Т-хелперами, могут играть и Т-киллеры (Akdisa, 2006; Umetsua, DeKruyffa, 2006).

Т-клетки являются основным, но не единственным источником ИЛ-5. Так, было показано, что у мышей SCID с дефицитом Т-лимфоцитов наработка мРНК ИЛ-5 происходит в клетках селезенки (Castro *et al.*, 1995). Дополнительным источником ИЛ-5 могут служить также К-лимфоциты (естественные клетки-киллеры) (Warren *et al.*, 1995), тучные клетки (Okayama *et al.*, 1995; Ryan *et al.*, 2007), В-клетки (Paul *et al.*, 1990; Kis *et al.*, 2006) и сами эозинофилы (Bao *et al.*, 1996; Trivedi, Lloyd, 2007).

Активация экспрессии гена ИЛ-5

ИЛ-5 принадлежит к семейству индукторов кроветворения и иммунного ответа, членами которого являются также ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-9, ИЛ-13 и ГМ-КСФ (Lampinen *et al.*, 2004). Гены, кодирующие эти белки, расположены кластером на участке q31 хромосомы 5 (McKenzie *et al.*, 1993; Willman *et al.*, 1993). В субпопуляциях Т-лимфоцитов Тх0 и Тх2 эти гены могут экспрессироваться одновременно, и в литературе часто встречается выражение «активация экспрессии локуса Тх2 цитокинов» (Mosmann, Coffman, 1989; Abbas *et al.*, 1996; Stranick *et al.*, 1997; Lavender *et al.*, 2000; Ansel *et al.*, 2006; Dean, 2006). Однако есть факты, указывающие на то, что, помимо системы инициации экспрессии всех названных генов, существуют регуляторные механизмы, позволяющие адресно индуцировать экспрессию отдельных генов. Так, показано, что в отличие от механизма активации экспрессии большинства генов

локуса, да и генов цитокинов в целом, запуск механизма инициации транскрипции гена ИЛ-5 зависит от синтеза белка *de novo*. Ингибиторы синтеза белка циклогексимид и анизомицин полностью блокируют появление мРНК ИЛ-5 в активированных первичных Т-лимфоцитах, не препятствуя, однако, активному синтезу мРНК ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-10 и ГМ-КСФ (Van Straaten *et al.*, 1994; Naora, Young, 1995; Stranick *et al.*, 1997). Таким образом, в активированных Т-лимфоцитах нарабатывается по крайней мере один белок, необходимый для инициации транскрипции гена ИЛ-5, но несущественный для индукции экспрессии других генов цитокинов (Schwenger *et al.*, 2002).

Активация Т-лимфоцитов *in vivo* происходит в результате их взаимодействия с антиген-представляющими клетками (Davis, 2002; Voes, Ploegh, 2004). Для полной активации Т-клетка должна получить два сигнала, иницирующих работу различных сигнальных путей (Rincon, Flavell, 1994; Lavender *et al.*, 2000; Wetzel, Parker, 2006).

Основной сигнальный путь реализуется с участием рецептора Т-лимфоцита (TCR – англ. T-cell Receptor). Индукция TCR-зависимого сигнального пути происходит в результате взаимодействия TCR с антигеном, связанным с молекулами главного комплекса гистосовместимости антиген-представляющих клеток. Возбуждение второго, дополнительного стимулирующего сигнала происходит при взаимодействии CD28 – поверхностного рецептора Т-лимфоцитов – с его лигандом, поверхностным белком антиген-представляющих клеток (Jenkins, Johnson, 1993; Ward, Kaufman, 2007).

Т-лимфоциты, стимулированные антиген-представляющими клетками, продуцируют широкий диапазон регуляторных факторов, и ИЛ-5 часто, но не всегда, экспрессируется одновременно с цитокинами ИЛ-4 и ИЛ-13 (Sanderson *et al.*, 1999). Неясно, почему одни антигены стимулируют продукцию ИЛ-5, а другие нет. Однако этот факт еще раз указывает на то, что экспрессия гена ИЛ-5 контролируется индивидуальной системой регуляции, и запуск механизмов этой системы зависит от антиген-специфической активации Т-клеток.

В экспериментах *in vitro* показано, что в регуляции экспрессии гена ИЛ-5 участвует еще

один дополнительный сигнальный путь, связанный с сАМР, причем он, по-видимому, является специфичным для ИЛ-5 (Hallet *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 1993; McCaffrey *et al.*, 1993; Abbas *et al.*, 1996; Karlen *et al.*, 1996; Kaminuma *et al.*, 1999; Kiefer *et al.*, 2002; Klein-Hessling *et al.*, 2003; Quintana *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2005).

Состав транскрипционных факторов, принимающих участие в регуляции экспрессии гена ИЛ-5, зависит от условий клеточной активации или, иными словами, от участия того или иного дополнительного сигнального пути в индукции транскрипции гена (Mordvinov *et al.*, 1999a). В частности, установлено, что в клетках лимфоцитарной культуры клеток человека PER-117 (Kees *et al.*, 1987) циклоспорин А, ингибитор экспрессии многих генов цитокинов, существенно понижает РМА/ α CD28- и РМА/СаI-индуцированную продукцию ИЛ-5 и не влияет на РМА/сАМР-активированный синтез этого белка. В основе механизма подавления экспрессии генов цитокинов циклоспорином А лежит его способность блокировать активность Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой фосфатазы кальцинериум (Cho *et al.*, 2003), необходимой для перевода цитоплазматической формы фактора транскрипции NF-AT в активное состояние и последующей ядерной транслокации этого белка (McCaffrey *et al.*, 1993; Kelly, 2006). NF-AT является ключевым фактором для запуска транскрипции значительного числа генов цитокинов. Устойчивость или чувствительность экспрессии ИЛ-5 к действию циклоспорина А указывает на то, что в зависимости от условий клеточной стимуляции доминирующую роль в активации экспрессии гена ИЛ-5 могут играть различные регуляторные факторы. Так, при стимуляции культур с помощью РМА в комбинации с α CD28 или СаI вклад NF-AT в активацию экспрессии гена ИЛ-5 весьма заметен. Однако при использовании РМА в комбинации с сАМР NF-AT не играет существенной роли в экспрессии гена (Mordvinov, Sanderson, 2001).

Структура гена ИЛ-5 и регуляция его экспрессии

Ген ИЛ-5 человека обладает стандартной структурой генов эукариот. Кодировочная область гена представлена 4 экзонами, размеры и

первичная последовательность которых консервативны. Размер зрелой мРНК ИЛ-5 составляет 900 п.о. (Sanderson, 1990).

Регуляция экспрессии гена ИЛ-5, как и ряда других генов цитокинов, осуществляется на уровне транскрипции, инициация и активность которой контролируются кластером *cis*-регуляторных элементов, локализованных в пределах проксимального промотора (Karlen *et al.*, 1998; Schwenger, Sanderson, 1998; Sanderson, Urwin, 2000; Mordvinov, Sanderson, 2001; Ngoc *et al.*, 2005).

Важнейшей составляющей этого кластера является CLE0 (консервативный лимфокиновый элемент 0). Он расположен непосредственно за ТАТА-боксом и представляет собой композиционный элемент, активируемый комплексом регуляторных белков (Thomas *et al.*, 1999; Salerno *et al.*, 2001). Показано, что этот элемент играет главную роль в реализации механизмов, контролирующих экспрессию гена ИЛ-5, поскольку независимо от условий клеточной активации, любые нарушения последовательности CLE0 полностью блокируют инициацию транскрипции (Sanderson *et al.*, 1999; Thomas *et al.*, 1999).

CLE0 – консервативный регуляторный элемент, присутствующий в проксимальных отделах промоторов большинства генов лимфоцитарных цитокинов (The Cytokine ..., 2003). Его вклад в регуляцию транскрипции различных генов значительно варьирует, но только в контексте промотора ИЛ-5 CLE0 является критическим для активации экспрессии (Mordvinov, Sanderson, 2001). Этот факт ещё раз указывает на существование индивидуального механизма регуляции экспрессии гена ИЛ-5.

Последовательность CLE0 гена ИЛ-5 (CLE0 ИЛ-5) обладает значительным сходством с CLE0 ИЛ-3, ИЛ-4 и ГМ-КСФ. Так, гомология CLE0 ИЛ-5 и ГМ-КСФ составляет 94 %, однако эти элементы взаимодействуют с различными регуляторными комплексами. Установлено, что в отличие от CLE0 ГМ-КСФ, связывающего факторы транскрипции AP-1, NF-AT и Ets (Masuda *et al.*, 1993; Jenkins *et al.*, 1995), CLE0 ИЛ-5 образует комплекс с белками AP-1 и Octamer (Takatsu *et al.*, 1999; Thomas *et al.*, 1999; Salerno *et al.*, 2001).

Фактор транскрипции AP-1 принимает участие в активации транскрипции многих генов

цитокинов и довольно часто входит в состав регуляторного комплекса CLE0 (Jenkins, Johnson, 1993; Karlen *et al.*, 1996, 1998). Этот фактор представляет собой гетеро- или гомодимер, субъединицами которого являются ядерные белки, принадлежащие к семействам Jun и Fos. Оказалось, что субъединицами AP-1, входящего в состав регуляторного комплекса CLE0 ИЛ-5 человека, являются JunD и Fra-2 (Thomas *et al.*, 1999), синтез которых может быть индуцирован в результате активации как протеинкиназы C, так и протеинкиназы A (Mechta *et al.*, 1989; den Hertog *et al.*, 1992; Gruda *et al.*, 1994; Miller *et al.*, 1998). Иными словами, стимуляция и TCR-зависимого сигнального пути, общего для активации экспрессии генов Т-клеточных цитокинов, и cAMP-зависимого сигнального каскада, селективно активирующего экспрессию гена ИЛ-5, приводит к формированию CLE0 ИЛ-5-связывающего AP-1. Эти данные указывают на чрезвычайную важность AP-1 как компонента регуляторного комплекса, обеспечивающего активацию экспрессии гена ИЛ-5. Исследование механизма формирования комплекса CLE0/AP-1, а также роли субъединиц фактора AP-1 в активации и регуляции активности транскрипции показало, что активация экспрессии гена ИЛ-5 зависит от синтеза *de novo* белка Fra-2 (Schwenger *et al.*, 2002).

Как уже упоминалось, в состав регуляторного комплекса CLE0 ИЛ-5 входят также белки, принадлежащие к семейству факторов транскрипции Octamer. Экспериментально установлено, что в первичной последовательности CLE0 мотивы связывания факторов транскрипции Octamer и AP-1 частично перекрываются (Thomas *et al.*, 1999). Подобные примеры взаимодействия трех факторов транскрипции с одним регуляторным элементом были ранее описаны при исследовании структурно-функциональной организации промоторов генов ИЛ-2 и ИЛ-4 (Pfeuffer *et al.*, 1994). Вполне вероятно, что тесная ассоциация ядерных белков в пределах одного регуляторного элемента является обязательным условием их взаимодействия с транскрипционным комплексом элемента ТАТА и фактически лимитирует инициацию транскрипции. В этом случае не только сайты связывания с регуляторными белками, входящие в CLE0 ИЛ-5, но и вся последовательность этого

элемента должны определять эффективность кооперативного взаимодействия регуляторных элементов. Действительно, изменения в последовательности CLE0 как разрушающие белок-связывающие мотивы, так и не затрагивающие их, фактически блокируют работу промотора. Эти данные еще раз указывают на то, что CLE0 является одним из ключевых регуляторных элементов промотора гена ИЛ-5 человека, участвующих в инициации транскрипции.

Интересно, что Oct-1 в комбинации с фактором YY1 входит в состав ДНК-белковых комплексов репрессорного элемента, находящегося на расстоянии 20 нуклеотидов от CLE0 (Mordvinov *et al.*, 1999b). Таким образом, Oct-1 принимает участие в активации двух регуляторных элементов, выполняющих противоположные функции в регуляции транскрипции ИЛ-5.

Кроме Octamer-связывающего фрагмента, в 5'-фланкирующей области CLE0 в районе позиции -70 промотора гена ИЛ-5 расположен мотив связывания факторов транскрипции семейства GATA (Sanderson *et al.*, 1999). Известно, что GATA-3 играет главную роль в активации локуса T_H2 цитокинов и теоретически выполняет функции регулятора координированной экспрессии генов ИЛ-4 и ИЛ-5 (Zheng *et al.*, 1997; Ouyang *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1999; Nakamura, Hoshino, 2005; Romagnani, 2006; Zhu *et al.*, 2006). При исследовании функциональной значимости и белок-связывающей активности сайта GATA, расположенного в районе позиции -70 промотора гена ИЛ-5, было показано, что этот мотив взаимодействует с фактором транскрипции GATA-3 и, очевидно, совместно с CLE0 контролирует активацию экспрессии гена (Schwenger *et al.*, 2001).

При функциональном картировании промотора гена ИЛ-5 был обнаружен еще один район, взаимодействующий с белками GATA. Установлено, что этот район, охватывающий участок между позициями -110 и -170, участвует в активации транскрипции гена (Prieschl *et al.*, 1995). Присутствие в составе промотора второго сайта связывания белков GATA может указывать на высокую значимость этих факторов транскрипции в регуляции экспрессии гена ИЛ-5. Действительно, в результате развития работ по выявлению и функциональному тестированию элементов GATA, входящих в состав

промоторов генов ИЛ-5 и ИЛ-4, были получены данные, подтверждающие это предположение (Schwenger *et al.*, 2001; Швенгер и др., 2005).

Предметом активного обсуждения являлась роль фактора NF-AT в регуляции транскрипции гена ИЛ-5 (De Boer *et al.*, 1999). Дискуссия подогревалась обилием противоречивых результатов экспериментальных исследований структурно-функциональной организации промотора гена ИЛ-5, обусловленных разнообразием культур клеток и условий клеточной активации. Как упоминалось выше, при определенных условиях клеточной активации экспрессия гена ИЛ-5 может инициироваться без участия фактора транскрипции NF-AT (Mordvinov *et al.*, 1999a). Этот феномен долгое время считался артефактом, что, естественно, не способствовало формированию общепринятого взгляда на роль NF-AT. Кроме того, разные исследовательские группы использовали в качестве клеточной модели либо перевиваемые клетки мыши, либо культуры клеток человека, не продуцирующие ИЛ-5 (Sanderson *et al.*, 1999; Mordvinov, Sanderson, 2001). Полученные с помощью таких моделей данные характеризовали, очевидно, индивидуальные особенности клеточных линий, а не общие механизмы регуляции экспрессии гена ИЛ-5 в первичных Т-клетках человека.

В одной из последних работ, выполненной с использованием культуры клеток HSB-2 человека, результаты которой были верифицированы на первичных Т-лимфоцитах человека, показано, что, помимо факторов GATA-3 и AP-1, в активации транскрипции гена ИЛ-5 участвует фактор Ets1, причем действие этих факторов синергично (Wang, Young, 2007).

Таким образом, на сегодняшний день установлено, что в состав транскрипционного комплекса ИЛ-5, как правило, входят транскрипционные факторы AP-1, GATA-3, Oct1/2, YY1 и Ets1, а при определенных условиях клеточной активации еще и NF-AT.

Влияние глюкокортикоидов на эозинофилию и экспрессию гена ИЛ-5

Как упоминалось выше, у человека и животных следствием повышенной продукции ИЛ-5 является эозинофилия. Накопление эозинофилов в периферической крови и тканях может

приводить к развитию целого ряда патологий. К ним относятся, прежде всего, астма и аллергический ринит – воспалительные заболевания дыхательных путей, от которых страдает значительная часть населения индустриально развитых стран (Foley, Hamid, 2007; Taylor *et al.*, 2007; Trivedi, Lloyd, 2007). На сегодняшний день одним из наиболее эффективных средств лечения заболеваний, сопровождающихся эозинофилией, являются препараты на основе глюкокортикоидных гормонов (Hall, 2006; Abdullah, Khan, 2007; Spahn, Szefer, 2007).

В результате применения этих препаратов сокращается общее число эозинофилов и секретируемых ими продуктов, снижается содержание наиболее активной фракции этих клеток, обладающих фенотипом *hypodense* (Giembycz, Lindsay, 1999). Кроме того, установлено, что глюкокортикоиды подавляют миграцию эозинофилов к очагам воспаления, вызванного аллергеном (Elwood *et al.*, 1992; Underwood *et al.*, 1997; Birrell *et al.*, 2003).

Практическое применение в качестве лекарственных средств, помимо кортизона и гидрокортизона, нашел целый ряд их синтетических заменителей: преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, триамцинолон, флуметазон, бетаметазон и др. Эти соединения, как правило, более активны, чем природные глюкокортикоиды, и действуют в меньших дозах (Rogatsky, Ivashkiv, 2006). При проведении исследовательских работ по изучению механизмов действия глюкокортикоидов на различные клеточные процессы и экспрессию генов часто используется дексаметазон (Smith, Herschman, 2004). Следует отметить, что этот синтетический глюкокортикоид является также одним из самых распространенных препаратов для лечения заболеваний, сопровождающихся эозинофилией (Mygind, Andersson, 2006; Jacobsen *et al.*, 2007).

Характерной особенностью глюкокортикоидов является иммунодепрессивная активность, не связанная, однако, с митостатическим действием. В ранних работах по исследованию действия глюкокортикоидов на созревание различных клеток гемопоэтического ряда было обнаружено, что в культуре костного мозга эти вещества ингибируют формирование колоний, обогащённых эозинофилами (Butterfield *et al.*,

1986). Оказалось, что этот эффект возникает в результате подавления секреции ИЛ-5 клетками культуры и не обусловлен прямым действием глюкокортикоидов на клетки-предшественники эозинофилов (Buckingham, 2006). Точно так же подавление накопления эозинофилов в очаге воспаления происходит не в результате прямого действия глюкокортикоидов на адгезивные свойства этих клеток, а опять-таки вследствие подавления секреции ИЛ-5 Т-клетками (Giembycz, Lindsay, 1999). Таким образом, основной терапевтический эффект глюкокортикоидов в контексте патологий, сопровождающихся эозинофилией, обусловлен их ингибирующим действием на продукцию ИЛ-5.

Установлено, что глюкокортикоиды ингибируют экспрессию гена ИЛ-5 на транскрипционном уровне (Sanderson *et al.*, 1999; Mordvinov, Sanderson, 2001). Действительно, эти соединения часто выступают в роли модуляторов транскрипции генов цитокинов (Adcock, Caramori, 2001; Arthaningtyas *et al.*, 2005; Мордвинов и др., 2005). Подавление транскрипции глюкокортикоидами может осуществляться как с использованием механизма прямого воздействия на промоторную активность гена-мишени, так и опосредованно, через активацию экспрессии белка, обладающего свойствами транскрипционного репрессора гена-мишени. Происходит это следующим образом: после проникновения в клетку глюкокортикоиды образуют комплекс с цитоплазматическим глюкокортикоидным рецептором (ГР). Затем комплекс, который чаще называют «активированный ГР», перемещается в ядро, где действует уже как фактор транскрипции. Промоторы ряда генов содержат регуляторные элементы, при взаимодействии с которыми активированный ГР способен инициировать, усиливать или подавлять их транскрипцию (Hayashi *et al.*, 2004; Barnes, 2006).

Активированный ГР может регулировать транскрипцию и без прямого контакта с ДНК. В этом случае он влияет на активность факторов транскрипции посредством белок-белковых взаимодействий, что, как правило, приводит к существенному снижению эффективности транскрипции соответствующих генов-мишеней. Такой механизм репрессии реализуется чаще всего для ди- и мультимерных транскрипционных факторов, состоящих из отдельных

субъединиц, и экспериментально показан для NF-κB и AP-1 (Jonat *et al.*, 1990; Yang-Yen *et al.*, 1990; Konig *et al.*, 1992; Ponta *et al.*, 1992; Ray, Prefontaine, 1994).

Изучение механизмов действия глюкокортикоидов на экспрессию генов цитокинов и в частности на экспрессию гена ИЛ-5, остается «горячей» темой молекулярной биологии и иммунологии (Walter, Holtzman, 2005; Gibson, 2006; Roufousse *et al.*, 2006). Недавно было показано, что дексаметазон подавляет экспрессию гена ИЛ-5 в клетках PER-117 на транскрипционном уровне, и его мишенью в контексте регуляторных элементов гена ИЛ-5 является CLE0 (Мордвинов и др., 2005; Arthaningtyas *et al.*, 2005). Однако многие вопросы, связанные с реконструкцией механизма подавления транскрипции гена ИЛ-5 этими соединениями, не выяснены до сих пор. В частности, не идентифицированы факторы, обеспечивающие в определенных ситуациях нечувствительность экспрессии гена ИЛ-5 к их действию (Inagaki *et al.*, 2006; Kosak *et al.*, 2006). Результаты, полученные при исследовании этих вопросов, могут быть полезны как для решения задач академического характера, так и при выполнении прикладных работ по созданию новых фармакологических препаратов для лечения заболеваний, сопровождающихся эозинофилией.

Литература

- Мордвинов В.А., Кок Ч.Ч., Артанингтас Э. и др. Дексаметазон подавляет активность промотора гена интерлейкина-5 человека // Бюл. эксперим. биол. медицины. 2005. Т. 140. С. 91–95.
- Швенгер Г.Т.Ф., Мордвинов В.А., Сандерсон К.Дж. Фактор транскрипции GATA-3 участвует в подавлении активности промотора гена интерлейкина-4 человека // Биохимия. 2005. Т. 70. С. 1289–1294.
- Abbas A.K., Murphy K.M., Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes // Nature. 1996. V. 383. P. 787–793.
- Adcock I.M., Caramori G. Cross-talk between pro-inflammatory transcription factors and glucocorticoids // Immunol. Cell. Biol. 2001. V. 79. P. 376–384.
- Abdullah A.K., Khan S. Evidence-based selection of inhaled corticosteroid for treatment of chronic asthma // J. Asthma. 2007. V. 44. P. 1–12.
- Akdisa A. Allergy and hypersensitivity: Mechanisms of allergic disease // Curr. Opin. Immunol. 2006. V. 18. P. 718–726.
- Allen S.J., Crown S.E., Handel T.M. Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism // Ann. Rev. Immunol. 2007. V. 25. P. 787–820.
- Alves N.L., Arosa F.A., van Lier R.A. Common gamma chain cytokines: dissidence in the details // Immunol. Lett. 2007. V. 108. P. 113–120.
- Ansel K.M., Djuretic I., Tanasa B., Rao A. Regulation of Th2 differentiation and I4 locus accessibility // Annu. Rev. Immunol. 2006. V. 24. P. 607–656.
- Arthaningtyas E., Kok C.C., Mordvinov V.A., Sander-son C.J. The conserved lymphokine element 0 is a powerful activator and target for corticosteroid inhibition in human interleukin-5 transcription // Growth Factors. 2005. V. 23. P. 211–221.
- Bao S., McClure S.J., Emery D.L., Husband A.J. Interleukin-5 mRNA expressed by eosinophils and gamma/delta T cells in parasite-immune sheep // Eur. J. Immunol. 1996. V. 26. P. 552–556.
- Barnes P.J. Corticosteroid effects on cell signaling // Eur. Respir. J. 2006. V. 27. P. 413–426.
- Birrell M.A., Battram C.H., Woodman P. *et al.* Dissociation by steroids of eosinophilic inflammation from airway hyperresponsiveness in murine airways // Respir. Res. 2003. V. 4. P. 3–20.
- Boes M., Ploegh H.L. Translating cell biology *in vitro* to immunity *in vivo* // Nature. 2004. V. 430. P. 264–271.
- Bohjanen P.R., Okajima M., Hodes R.J. Differential regulation of interleukin 4 and interleukin 5 gene expression: a comparison of T-cell gene induction by anti-CD3 antibody or by exogenous lymphokines // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. P. 5283–5287.
- Bousquet J., Chanaz P., Lacoste J.Y. *et al.* Eosinophilic inflammation in asthma // N. Engl. J. Med. 1990. V. 323. P. 1033–1039.
- Buckingham J.C. Glucocorticoids: examples of multi-tasking // Br. J. Pharmacol. 2006. V. 147. P. S258–S268.
- Bunting K., Wang J., Shannon M.F. Control of interleukin-2 gene transcription: a paradigm for inducible, tissue-specific gene expression // Vitam. Horm. 2006. V. 74. P. 105–145.
- Butterfield J.H., Ackerman S.J., Weiler D. *et al.* Effects of glucocorticoids on eosinophil colony growth // J. Allergy Clin. Immunol. 1986. V. 78. P. 450–457.
- Castro A.G., Silva R.A., Minoprio P., Appelberg R. *In vivo* evidence for a non-T cell origin of interleukin-5 // Scand. J. Immunol. 1995. V. 41. P. 288–292.
- Cho C.S., Elkahwaji J., Chang Z. *et al.* Modulation of the electrophoretic mobility of the linker for activation of T cells (LAT) by the calcineurin inhibitors CsA and FK506: LAT is a potential substrate for PKC and calcineurin signaling pathways // Cell Signal. 2003. V. 15. P. 85–93.
- Clement L.T. Cellular interactions in the human immune

- response // *Immunologic Disorders of Infants and Children* / Ed. E.R. Stiehm. 4th ed. PA: W.B. Saunders. Philadelphia, 1996. P. 75–93.
- Cohen S., Fisher B., Yoshida T., Bettigole R.E. Serum migration-inhibitory activity in patients with lymphoproliferative diseases // *N. Engl. J. Med.* 1974. V. 290. P. 882–886.
- Corry D.B., Kheradmand F. Induction and regulation of the IgE response // *Nature.* 1999. V. 402. P. 18–23.
- Coyle A.J., Erard F., Bertrand C. *et al.* Virus-specific CD8+ cells can switch to interleukin 5 production and induce airway eosinophilia // *J. Exptl. Med.* 1995. V. 181. P. 1229–1233.
- Davis M.M. A new trigger for T cells // *Cell.* 2002. V. 110. P. 285–287.
- Dean A. On a chromosome far, far away: LCRs and gene expression // *Trends Genet.* 2006. V. 22. P. 38–45.
- De Boer M.L., Mordvinov V.A., Thomas M.A., Sanderson C.J. Role of nuclear factor of activated T cells (NFAT) in the expression of interleukin-5 and other cytokines involved in the regulation of hemopoietic cells // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1999. V. 31. P. 1221–1236.
- den Hertog J., de Groot R.P., de Laat S.W., Kruijer W. EGF induced jun B expression in transfected P19 embryonal carcinoma cells expressing EGF receptors is dependent on Jun D // *Nucl. Acids Res.* 1992. V. 20. P. 125–130.
- Di Stefano F., Amoroso A. Clinical approach to the patient with blood eosinophilia // *Allerg. Immunol. (Paris).* 2005. V. 37. P. 380–386.
- Elwood W., Lotvall J.O., Barnes P.J., Chung K.F. Effect of dexamethasone and cyclosporin A on allergen-induced airway hyperresponsiveness and inflammatory cell responses in sensitized Brown-Norway rats // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992. V. 145. P. 1289–1294.
- Erard F., Wild M.T., Garcia-Sanz J.A., Le Gros G. Switch of CD8 T cells to noncytolytic CD8-CD4- cells that make TH2 cytokines and help B cells // *Science.* 1993. V. 260. P. 1802–1805.
- Erb K.J., Le Gros G. The role of Th2 type CD4+ T cells and Th2 type CD8+ T cells in asthma // *Immunol. Cell. Biol.* 1996. V. 74. P. 206–208.
- Fainboim L., Chernavsky A., Paladino N. *et al.* Cytokines and chronic liver disease // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007. V. 18. P. 143–157.
- Felsenfeld G., Boyes J., Chung J. *et al.* Chromatin structure and gene expression // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 9384–9388.
- Fischereder M. Chemokines and chemokine receptors in renal transplantation – from bench to bedside // *Acta Physiol. Hung.* 2007. V. 94. P. 67–81.
- Foley S., Hamid Q. Role of inflammatory T cells and eosinophils in chronic rhinosinusitis // *Clin. Allergy Immunol.* 2007. V. 20. P. 79–91.
- Galve-de Rochemonteix B., Wiktorowicz K., Kushner I., Dayer J.M. C-reactive protein increases production of IL-1 alpha, IL-1 beta, and TNF-alpha, and expression of mRNA by human alveolar macrophages // *J. Leukoc. Biol.* 1993. V. 53. P. 439–445.
- Gelfand E.W., Finkel T.H. The T-lymphocyte system // *Immunologic Disorders of Infants and Children* / Ed. E.R. Stiehm. 4th ed. PA: W.B. Saunders. Philadelphia, 1996. P. 14–34.
- Gibson P.G. Allergic bronchopulmonary aspergillosis // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2006. V. 27. P. 185–191.
- Giembycz M.A., Lindsay M.A. Pharmacology of the eosinophil // *Pharmacol. Rev.* 1999. V. 51. P. 213–340.
- Gounni A.S., Gregory B., Nutku E. *et al.* Interleukin-9 enhances interleukin-5 receptor expression, differentiation, and survival of human eosinophils // *Blood.* 2000. V. 96. P. 2163–2171.
- Gruda M.C., Kovary K., Metz R., Bravo R. Regulation of Fra 1 and Fra 2 phosphorylation differs during the cell cycle of fibroblasts and phosphorylation *in vitro* by MAP kinase affects DNA binding activity // *Oncogene.* 1994. V. 9. P. 2537–2547.
- Gutcher I., Becher B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation // *J. Clin. Invest.* 2007. V. 117. P. 1119–1127.
- Hall I.P. Pharmacogenetics of asthma // *Chest.* 2006. V. 130. P. 1873–1878.
- Hallet M.M., Peyrat M.A., Soullillou J.P., Moreau J.F. Simultaneous transcription of eleven cytokines in human alloreactive T lymphocyte clones after stimulation by phorbol ester and A23187 // *Eur. Cytokine Netw.* 1992. V. 3. P. 477–483.
- Harada N., Kikuchi Y., Tominaga A. *et al.* BCGFII activity on activated B cells of a purified murine T cell-replacing factor (TRF) from a T cell hybridoma (B151K12) // *J. Immunol.* 1985. V. 134. P. 3944–3951.
- Holloway A.F., Rao S., Shannon M.F. Regulation of cytokine gene transcription in the immune system // *Mol. Immunol.* 2002. V. 38. P. 567–580.
- Hayashi R., Wada H., Ito K., Adcock I.M. Effects of glucocorticoids on gene transcription // *Eur. J. Pharmacol.* 2004. V. 500. P. 51–62.
- Inagaki N., Shiraishi N., Igeta K. *et al.* Inhibition of scratching behavior associated with allergic dermatitis in mice by tacrolimus, but not by dexamethasone // *Eur. J. Pharmacol.* 2006. V. 546. P. 189–196.
- Jacobsen E.A., Ochkur S.I., Lee N.A., Lee J.J. Eosinophils and asthma // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2007. V. 7. P. 18–26.
- Jenkins F., Cockerill P.N., Bohmann D., Shannon M.F. Multiple signals are required for function of the

- human granulocyte macrophage colony stimulating factor gene promoter in T cells // *J. Immunol.* 1995. V. 155. P. 1240–1251.
- Jenkins M.K., Johnson J.G. Molecules involved in T cell costimulation // *Current Opin. Immunol.* 1993. V. 5. P. 361–367.
- Jonat C., Rahmsdorf H.J., Park K.K. *et al.* Antitumor promotion and antiinflammation: down-modulation of AP-1 (Fos/Jun) activity by glucocorticoid hormone // *Cell.* 1990. V. 62. P. 1189–1204.
- Kaminuma O., Mori A., Ogawa K. *et al.* Cyclic AMP suppresses interleukin-5 synthesis by human helper T cells via the downregulation of the calcium mobilization pathway // *Brit. J. Pharmacol.* 1999. V. 127. P. 521–529.
- Karlen S., De Boer M.L., Lipscombe R.J. *et al.* Biological and molecular characteristics of interleukin 5 and its receptor // *Int. Rev. Immunol.* 1998. V. 16. P. 227–247.
- Karlen S., Mordvinov V.A., Sanderson C.J. How is expression of the interleukin-5 gene regulated? // *Immunol. Cell. Biol.* 1996. V. 74. P. 218–223.
- Kastelein R.A., Hunter C.A., Cua D.J. Discovery and biology of IL-23 and IL-27: related but functionally distinct regulators of inflammation // *Annu. Rev. Immunol.* 2007. V. 25. P. 221–242.
- Kees U.R., Ford J., Price P.J. *et al.* PER 117: a new human ALL cell line with an immature thymic phenotype // *Leukemia Res.* 1987. V. 11. P. 489–498.
- Kelly D.A. Current issues in pediatric transplantation // *Pediatr. Transplant.* 2006. V. 10. P. 712–720.
- Kiefer F., Vogel W.F., Arnold R. Signal transduction and co-stimulatory pathways // *Transpl. Immunol.* 2002. V. 9. P. 69–82.
- Kiley J., Smith R., Noel P. Asthma phenotypes // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2007. V. 13. P. 19–23.
- Kis L.L., Takahara M., Nagy N. *et al.* IL-10 can induce the expression of EBV-encoded latent membrane protein-1 (LMP-1) in the absence of EBNA-2 in B lymphocytes and in Burkitt lymphoma- and NK lymphoma-derived cell lines // *Blood.* 2006. V. 107. P. 2928–2935.
- Klein-Hessling S., Jha M.K., Santner-Nanan B. *et al.* Protein kinase A regulates GATA-3-dependent activation of IL-5 gene expression in Th2 cells // *J. Immunol.* 2003. V. 170. P. 2956–2961.
- Kocak A.K., Bor O., Yildiz B. *et al.* T-lymphocyte activation and the levels of eosinophilic cationic protein and interleukin-5 in asthmatic children with acute exacerbation and effect of glucocorticoid treatment // *Allergy Asthma Proc.* 2006. V. 27. P. 371–377.
- Konig H., Ponta H., Rahmsdorf H.J., Herrlich P. Interference between pathway-specific transcription factors: glucocorticoids antagonize phorbol ester-induced AP-1 activity without altering AP-1 site occupation *in vivo* // *Embo J.* 1992. V. 11. P. 2241–2246.
- Kutlu A., Bozkurt B., Ciftci F., Bozkanat E. Th1-Th2 interaction: is more complex than a see-saw? // *Scand. J. Immunol.* 2007. V. 65. P. 393–395.
- Lampinen M., Carlson M., Hakansson L.D., Venge P. Cytokine-regulated accumulation of eosinophils in inflammatory disease // *Allergy.* 2004. V. 59. P. 793–805.
- Lavender P., Cousins D., Lee T. Regulation of Th2 cytokine gene transcription // *Chem. Immunol.* 2000. V. 78. P. 16–29.
- Lee H.J., Koyano-Nakagawa N., Naito Y. *et al.* cAMP activates the IL5 promoter synergistically with phorbol ester through the signaling pathway involving protein kinase A in mouse thymoma line EL4 // *J. Immunol.* 1993. V. 151. P. 6135–6142.
- Li B., Carey M., Workman J.L. The role of chromatin during transcription // *Cell.* 2007. V. 128. P. 707–719.
- Masuda E.S., Tokumitsu H., Tsuboi A. *et al.* The granulocyte macrophage colony stimulating factor promoter cis acting element CLE0 mediates induction signals in T cells and is recognised by factors related to AP1 and NF-AT // *Mol. Cell. Biol.* 1993. V. 13. P. 7399–7407.
- McCaffrey P.G., Luo C., Kerppola T.K. *et al.* Isolation of the cyclosporin sensitive T cell transcription factor NFATp // *Science.* 1993. V. 262. P. 750–754.
- McKenzie A.N., Li X., Largaespada D.A. *et al.* Structural comparison and chromosomal localization of the human and mouse IL 13 genes // *J. Immunol.* 1993. V. 150. P. 5436–5444.
- Mechta F., Piette J., Hirai S.I. *et al.* Stimulation of protein kinase C or protein kinase A mediated signal transduction pathways shows three modes of response among serum inducible genes // *New Biol.* 1989. V. 1. P. 297–304.
- Miller C., Zhang M., He Y. *et al.* Transcriptional induction of cyclooxygenase 2 gene by okadaic acid inhibition of phosphatase activity in human chondrocytes: co stimulation of AP 1 and CRE nuclear binding proteins // *J. Cell. Biochem.* 1998. V. 69. P. 392–413.
- Mordvinov V.A., Peroni S.E., De Boer M.L. *et al.* A human T cell line with inducible production of interleukins 5 and 4. A model for studies of gene expression // *J. Immunol. Methods.* 1999a. V. 228. P. 163–168.
- Mordvinov V.A., Schwenger G.T., Fournier R. *et al.* Binding of YY1 and Oct1 to a novel element that downregulates expression of IL-5 in human T cells // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999b. V. 103. P. 1125–1135.
- Mordvinov V.A., Sanderson C.J. Regulation of IL-5 expression // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).*

2001. V. 49. P. 345–351.
- Mosmann T.R., Cherwinski H.M., Bond M.W. *et al.* Two types of murine helper T cell clones. I. Definition according to profiles of lymphokine activity and secreted proteins // *J. Immunol.* 1986. V. 136. P. 2348–2357.
- Mosmann T.R., Coffman R.L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties // *Annu. Rev. Immunol.* 1989. V. 7. P. 145–173.
- Mygind N., Andersson M. Topical glucocorticosteroids in rhinitis: clinical aspects // *Acta Otolaryngol.* 2006. V. 126. P. 1022–1029.
- Nakamura Y., Hoshino M. TH2 cytokines and associated transcription factors as therapeutic targets in asthma // *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy.* 2005. V. 4. P. 267–270.
- Naora H., Altin J.G., Young I.G. TCR-dependent and -independent signaling mechanisms differentially regulate lymphokine gene expression in the murine T helper clone D10.G4.1 // *J. Immunol.* 1994. V. 152. P. 5691–5702.
- Naora H., Young I.G. Comparison of the mechanisms regulating IL-5, IL-4, and three other lymphokine genes in the Th2 clone D10.G4.1 // *Exp. Hematol.* 1995. V. 23. P. 597–602.
- Narlikar G.J., Fan H.Y., Kingston R.E. Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription // *Cell.* 2002. V. 108. P. 475–487.
- Ngoc P.L., Gold D.R., Tzianabos A.O. *et al.* Cytokines, allergy, and asthma // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005. V. 5. P. 161–166.
- Okayama Y., Petit-Frère C., Kassel O. *et al.* IgE-dependent expression of mRNA for IL-4 and IL-5 in human lung mast cells // *J. Immunol.* 1995. V. 155. P. 1796–1808.
- Ouyang W., Ranganath S.H., Weindel K. *et al.* Inhibition of Th1 development mediated by GATA-3 through an IL-4 independent mechanism // *Immunity.* 1998. V. 9. P. 745–755.
- Paul C.C., Keller J.R., Armpriester J.M., Baumann M.A. Epstein-Barr virus transformed B lymphocytes produce interleukin-5 // *Blood.* 1990. V. 75. P. 1400–1403.
- Pfeuffer I., Klein-Hessling S., Heinfling A. *et al.* Octamer factors exert a dual effect on the IL-2 and IL-4 promoters // *J. Immunol.* 1994. V. 153. P. 5572–5585.
- Ponta H., Cato A.C., Herrlich P. Interference of pathway specific transcription factors // *Biochim. Biophys. Acta.* 1992. V. 1129. P. 255–261.
- Porter B.O., Malek T.R. Thymic and intestinal intraepithelial T-lymphocyte development are each regulated by the gammac-dependent cytokines IL-2, IL-7, and IL-15 // *Semin. Immunol.* 2000. V. 12. P. 465–574.
- Prieschl E.E., Gouilleux-Gruart V., Walker C. *et al.* A nuclear factor of activated T cell-like transcription factor in mast cells is involved in IL-5 gene regulation after IgE plus antigen stimulation // *J. Immunol.* 1995. V. 154. P. 6112–6119.
- Quintana A., Griesemer D., Schwarz E.C., Hoth M. Calcium-dependent activation of T-lymphocytes // *Pflugers Arch.* 2005. V. 450. P. 1–12.
- Ray A., Prefontaine K.E. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. P. 752–756.
- Rincon M., Flavell R.A. AP 1 transcriptional activity requires both T cell receptor mediated and co stimulatory signals in primary T lymphocytes // *EMBO J.* 1994. V. 13. P. 4370–4381.
- Rogatsky I., Ivashkiv L.B. Glucocorticoid modulation of cytokine signaling // *Tissue Antigens.* 2006. V. 68. P. 1–12.
- Romagnani S. Regulation of the T cell response // *Clin. Exp. Allergy.* 2006. V. 36. P. 1357–1366.
- Rose-John S., Schooltink H. Cytokines are a therapeutic target for the prevention of inflammation-induced cancers // *Recent Results Cancer Res.* 2007. V. 174. P. 57–66.
- Roufosse F., Goldman M., Cogan E. Hypereosinophilic syndrome: lymphoproliferative and myeloproliferative variants // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2006. V. 27. P. 158–170.
- Rudensky A.Y., Gavin M., Zheng Y. FOXP3 and NFAT: partners in tolerance // *Cell.* 2006. V. 126. P. 253–256.
- Ryan J.J., Kashyap M., Bailey D. *et al.* Mast cell homeostasis: a fundamental aspect of allergic disease // *Crit. Rev. Immunol.* 2007. V. 27. P. 15–32.
- Salerno M.S., Schwenger G.T., Sanderson C.J., Mordvinov V.A. Binding of octamer factors to the murine IL-5 CLE0 in primary T-cells and a T-cell line // *Cytokine.* 2001. V. 15. P. 4–9.
- Sanderson C.J. Eosinophil differentiation factor (interleukin-5) // *Immunol. Ser.* 1990. V. 49. P. 231–256.
- Sanderson C.J. IL-5, eosinophils and disease // *Blood.* 1992. V. 79. P. 3101–3109.
- Sanderson C.J., De Boer M., Senna Salerno M. *et al.* Regulation of interleukin 5 gene expression // *Interleukin-5: From Molecule to Drug Target for Asthma* / Ed. C.J. Sanderson. N.Y.: Marcel Dekker, Inc., 1999. V. 125. P. 267–287.
- Sanderson C.J., O'Garra A., Warren D.J., Klaus G.G. Eosinophil differentiation factor also has B-cell growth factor activity: proposed name interleukin 4 // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1986. V. 83. P. 437–440.
- Sanderson C.J., Urwin D. Interleukin-5: a drug target

- for allergic diseases // *Curr. Opin. Investig. Drugs*. 2000. V. 1. P. 435–441.
- Sanderson C.J., Warren D.J., Strath M. Identification of a lymphokine that stimulates eosinophil differentiation *in vitro*. Its relationship to interleukin 3, and functional properties of eosinophils produced in cultures // *J. Exptl. Med.* 1985. V. 162. P. 60–74.
- Santana M.A., Rosenstein Y. What it takes to become an effector T cell: the process, the cells involved, and the mechanisms // *J. Cell Physiol.* 2003. V. 195. P. 392–401.
- Schimpl A., Berberich I., Kneitz B. *et al.* IL-2 and autoimmune disease // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002. V. 13. P. 369–378.
- Schwenger G.T., Fournier R., Kok C.C. *et al.* GATA-3 has dual regulatory functions in human interleukin-5 transcription // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 48502–48509.
- Schwenger G.T., Kok C.C., Arthaningtyas E. *et al.* Specific activation of human interleukin-5 depends on *de novo* synthesis of an AP-1 complex // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 47022–47027.
- Schwenger G.T., Sanderson C.J. New directions in understanding interleukin-5 gene expression // *Leuk. Lymphoma*. 1998. V. 28. P. 443–450.
- Smith J.B., Herschman H.R. Targeted identification of glucocorticoid-attenuated response genes: *in vitro* and *in vivo* models // *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2004. V. 1. P. 275–281.
- Spahn J.D., Szefer S.J. Steroid therapy for asthma in children // *Curr Opin Pediatr.* 2007. V. 19. P. 300–305.
- Sporn M.B., Roberts A.B. Peptide growth factors are multifunctional // *Nature*. 1988. V. 332. P. 217–219.
- Stark J., Chan C., George A.J. Oscillations in the immune system // *Immunol. Rev.* 2007. V. 216. P. 213–231.
- Stranick K.S., Zambas D.N., Uss A.S. *et al.* Identification of Transcription Factor Binding Sites Important in the Regulation of the Human Interleukin-5 Gene // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 16453–16465.
- Swain S.L., McKenzie D.T., Dutton R.W. *et al.* The role of IL4 and IL5: characterization of a distinct helper T cell subset that makes IL4 and IL5 (Th2) and requires priming before induction of lymphokine secretion // *Immunol. Rev.* 1988. V. 102. P. 77–105.
- Takatsu K., Tominaga A., Harada N. *et al.* T cell-replacing factor (TRF)/interleukin 5 (IL-5): molecular and functional properties // *Immunol. Rev.* 1988. V. 102. P. 107–135.
- Takatsu K., Tominaga A., Harada N. *et al.* The activity of the human interleukin-5 conserved lymphokine element 0 is regulated by octamer factors in human cells // *Eur. J. Biochem.* 1999. V. 265. P. 300–307.
- Taylor P.E., Jacobson K.W., House J.M., Glovsky M.M. Links between pollen, atopy and the asthma epidemic // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007. V. 144. P. 162–170.
- The Cytokine Handbook / Eds A.W. Thomson, M.T. Lotze. 4th ed. London. UK: Academic Press, 2003.
- Thomas M.A., Mordvinov V.A., Sanderson C.J. The activity of the human interleukin-5 conserved lymphokine element 0 is regulated by octamer factors in human cells // *Eur. J. Biochem.* 1999. V. 265. P. 300–307.
- Trivedi S.G., Lloyd C.M. Eosinophils in the pathogenesis of allergic airways disease // *Cell. Mol. Life Sci.* 2007. V. 64. P. 1269–1289.
- Umetsu D.T., DeKruyff R.H. Immune dysregulation in asthma // *Curr. Opin. Immunol.* 2006. V. 18. P. 727–732.
- Underwood S.L., Raeburn D., Lawrence C. *et al.* RPR 106541, a novel, airways-selective glucocorticoid: effects against antigen-induced CD4+ T lymphocyte accumulation and cytokine gene expression in the Brown Norway rat lung // *Br. J. Pharmacol.* 1997. V. 122. P. 439–446.
- Van Straaten J.F., Dokter W.H., Stulp B.K., Vellenga E. The regulation of interleukin 5 and interleukin 3 gene expression in human T cells // *Cytokine*. 1994. V. 6. P. 229–234.
- Vilcek J., Feldmann M. Historical review: Cytokines as therapeutics and targets of therapeutics // *Trends Pharmacol. Sci.* 2004. V. 25. P. 201–209.
- Vitetta E.S., Brooks K., Chen Y.W. *et al.* T-cell-derived lymphokines that induce IgM and IgG secretion in activated murine B cells // *Immunol. Rev.* 1984. V. 78. P. 137–157.
- Voehringer D. Allergies and parasites // *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2007. V. 132. P. 991–994.
- Walter M. J., Holtzman M.J. A centennial history of research on asthma pathogenesis // *Amer. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2005. V. 32. P. 483–489.
- Wang J., Young I.G. Eosinophilic inflammation: mechanisms regulating IL-5 transcription in human T lymphocytes // *Allergy*. 2007. V. 62. P. 1131–1138.
- Ward R.C., Kaufman H.L. Targeting costimulatory pathways for tumor immunotherapy // *Int. Rev. Immunol.* 2007. V. 26. P. 161–196.
- Warren H.S., Kinnear B.F., Phillips J.H., Lanier L.L. Production of IL-5 by human NK cells and regulation of IL-5 secretion by IL-4, IL-10, and IL-12 // *J. Immunol.* 1995. V. 154. P. 5144–5152.
- Warren D.J., Sanderson C.J. Production of a T-cell hybrid producing a lymphokine stimulating eosinophil differentiation // *Immunology*. 1985. V. 54. P. 615–623.
- Wetzel S.A., Parker D.C. MHC transfer from APC to T cells following antigen recognition // *Crit. Rev. Immunol.* 2006. V. 26. P. 1–21.
- Willman C.L., Sever C.E., Pallavicini M.G. *et al.* Deletion of IRF-1, mapping to chromosome 5q31.1,

- in human leukemia and preleukemic myelodysplasia // *Science*. 1993. V. 259. P. 968-971.
- Wu C. Chromatin remodeling and the control of gene expression // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 28171–28174.
- Wu C., Liu F., Zhou X. *et al.* Effect of protein kinase C on proliferation and apoptosis of T lymphocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura children // *Cell. Mol. Immunol.* 2005. V. 2. P. 197–203.
- Yamaguchi N. T cell-replacing factor (TRF)/interleukin 5 (IL-5): molecular and functional properties // *Immunol. Rev.* 1988. V. 102. P. 107–135.
- Yang-Yen H.F., Chambard J.C., Sun Y.L. *et al.* Transcriptional interference between c-Jun and the glucocorticoid receptor: mutual inhibition of DNA binding due to direct protein–protein interaction // *Cell*. 1990. V. 62. P. 1205–1215.
- Yarilin A.A., Belyakov I.M. Cytokines in the thymus: production and biological effects // *Curr. Med. Chem.* 2004. V. 11. P. 447–464.
- Zhang D.H., Yang L., Cohn L. *et al.* Inhibition of allergic inflammation in a murine model of asthma by expression of a dominant negative mutant of GATA 3 // *Immunity*. 1999. V. 11. P. 473–482.
- Zheng W., Flavell R.A. The transcription factor GATA 3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells // *Cell*. 1997. V. 89. P. 587–596.
- Zhu J., Yamane H., Cote-Sierra J. *et al.* GATA-3 promotes Th2 responses through three different mechanisms: induction of Th2 cytokine production, selective growth of Th2 cells and inhibition of Th1 cell-specific factors // *Cell Res.* 2006. V. 16. P. 3–10.

CYTOKINES: BIOLOGICAL PROPERTIES AND REGULATION OF HUMAN INTERLEUKIN-5 GENE EXPRESSION

V.A. Mordvinov, D.P. Furman

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: mordvin@bionet.nsc.ru

Summary

Interleukin-5 (IL-5) is a hormone in a large family of cytokines, signaling molecules produced by immune system cells, basically mature T-lymphocytes. IL-5 has the central role in the development and regulation of pathological conditions associated with eosinophilia, including allergic inflammation and parasitic infection. This effort provides an input on cytokines in general, a review of research data on the biological role of IL-5, an overview of various aspects of the structural and functional organization of the IL-5 gene and the regulation of its expression, and also a discussion of the mechanisms by which glucocorticoids reduce eosinophilia and IL-5 gene expression.