

W pracy przedstawiono ogólną charakterystykę, podział i schemat budowy receptorowych kinaz tyrozynowych rodziny ErbB (HER). Kodowane są one przez znane protoonkogeny *erbB-1* (HER, *egfr*) i *erbB-2* (HER, *neu*) oraz geny o prawdopodobnej funkcji onkogennej, *erbB-3* (HER3) i *erbB-4* (HER4). Opisano ligandy, schemat dimeryzacji i przekazywania sygnału oraz funkcję receptorów ErbB. Wymieniono również mechanizmy wiodące do nadmiernej aktywacji tych kinaz receptorowych, prawdopodobnie odpowiedzialnej za ich funkcję onkogeną.

Słowa kluczowe: onkogeny, kinazy tyrozynowe, receptory ErbB (HER)

The paper describes general characteristics, classification and structure of the tyrosine kinase receptor family ErbB (HER). They are encoded by two well-known proto-oncogenes *erbB-1* (HER1, *egfr*) and *erbB-2* (HER2, *neu*), as well as two genes of probably oncogenic function, namely *erbB-3* (HER3) and *erbB-4* (HER4). Receptors' ligands, scheme of dimerisation, signal transduction and function were reviewed. Mechanisms leading to excessive activity of the receptor kinases (probably related to their oncogenic potential) were also denoted.

Key words: oncogenes, tyrosine kinases, ErbB (HER) receptors

Budowa i funkcje receptorów ErbB (HER)

Structure and functions of ErbB (HER) receptors

Krzysztof P. Bielawski¹, Ulf Vogt², Bogdan Falkiewicz^{1,3}

WSTĘP

Istotną rolę w normalnych zmianach rozwojowych komórek organizmu człowieka, jak i w ich transformacji nowotworowej, odgrywają mechanizmy sygnalizacji komórkowej. Centralnym elementem tych szlaków sygnałowych są kinazy tyrozynowe białek [1, 2]. Wśród nich wyróżnia się dwa główne typy: kinazy typu receptorów i kinazy tyrozynowe niereceptorowe, cytoplazmatyczne [1]. Obie grupy działają jako katalizatory reakcji przeniesienia reszty fosforanowej z ATP na grupę hydroksylową reszt tyrozyny w sekwencji docelowych białek komórkowych. W przypadku wielu kinaz tyrozynowych pierwszymi fosforylowanymi po ich aktywacji resztami aminokwasowymi są reszty tyrozyny występujące w ich własnej sekwencji, dochodzi więc do autofosforylacji kinazy [1].

Wiele czynników wzrostowych, hormonów i czynników różnicowania działa na komórki poprzez receptory z aktywnością kinaz tyrozynowych [1]. Różne znane receptorowe kinazy tyrozynowe zostały – na podstawie podobieństwa sekwencji, charakterystyki strukturalnej, specyficznych elementów domeny zewnątrzkomórkowej – podzielone na kilkanaście klas [1]. Receptorowe kinazy klasy I, zwane też receptorami epidermalnych czynników wzrostowych, rodziną receptorów ErbB lub czasami rodziną receptorów RTK I (ang. *Receptor Tyrosine Kinase growth factor type I*), wydają się być szczególnie ważne w rozwoju prawidłowych tkanek gruczołu mlekowego i ich nowotworzeniu [3-7], a także w rozwoju innych procesów nowotworowych w tkankach pochodzenia epidermalnego [1, 8-11]. Niektóre zaburzenia jakościowe i ilościowe w funkcjonowaniu kinaz tej rodziny zostały definitywnie określone jako ściśle związane z powstawaniem, rozprzestrzenianiem i odpowiedzią nowotworów na leczenie, co do wielu innych istnieje takie przypuszczenie i prowadzone są badania mające wyjaśnić ich prawdziwe znaczenie w rozwoju procesów nowotworowych [1, 12, 13].

Opisano cztery rodzaje receptorów należących do tej grupy:

▀ EGFR (ang. *epidermal growth factor receptor*) – receptor naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor* – EGF),

znany także jako ErbB-1 ze względu na homologię z onkogenem *v-erbB*, kodowanym przez ptasi wirus erytroblastozy [14],

▀ ErbB-2 (jego odpowiednik u gryzoni nosi nazwę *neu*),

▀ ErbB-3,

▀ ErbB-4.

Ludzkie receptory tego typu często nazywane są *HER1*, *HER2* (lub inaczej *HER2/neu*), *HER3* i *HER4*, z powodu homologii do najwcześniej opisanego receptora naskórkowego czynnika wzrostu EGFR, czyli *HER1* (ang. *human EGF receptor-1*) [14]. Spośród nich, ErbB-1 (*HER1*, EGF-R) i ErbB-2 (*HER2*, *Neu*) są uznanymi onkoproteinami, natomiast ErbB-3 (*HER3*) i ErbB-4 (*HER4*) są białkami o prawdopodobnej funkcji onkogennej [7, 15-17]. Geny rodziny ludzkich receptorów ErbB zlokalizowane są w różnych chromosomach człowieka (tab. 1.).

Podobnie jak inne receptory o aktywności kinaz tyrozynowych, receptory ErbB posiadają w swojej budowie kilkanaście różnych domen strukturalnych [1, 14]. Na przykładzie receptora ErbB1 można wyróżnić (ryc. 1.):

▀ część zewnątrzkomórkową, zawierającą dwie bogate w cysteinę domeny zewnątrzkomórkowe, wiążące ligand i odpowiadające za specyficzność odpowiedzi receptora na wiązanie liganda. Są to typowe domeny glikozylowane oraz dwie inne domeny zewnątrzkomórkowe, połączone z poprzednimi, o nieznannej funkcji,

▀ helikalną domenę przezbłonową (transmembranalną) (część zewnątrzkomórkowa wraz z domeną przezbłonową mają długość 622 reszt aminokwasowych),

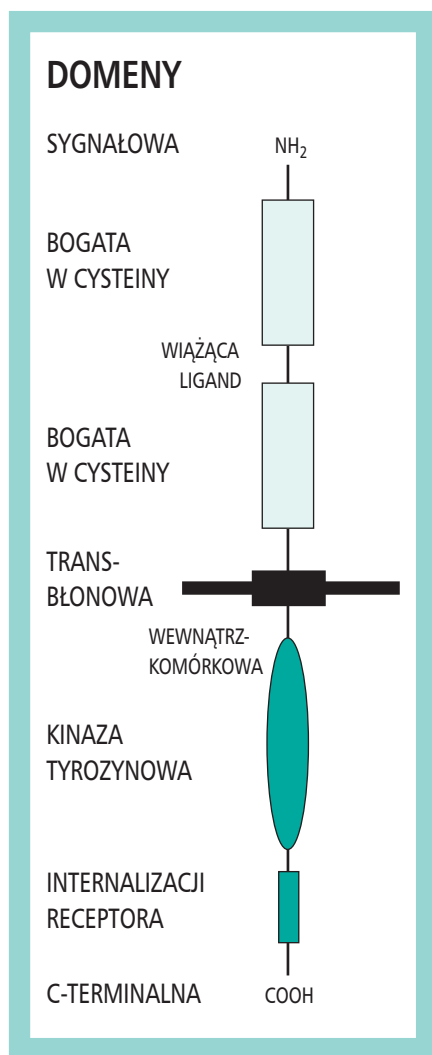
▀ część cytoplazmatyczną, którą podzielić można na 3 domeny:

– domena sąsiadująca z błoną komórkową (długości ok. 50 reszt aminokwasowych), będąca miejscem oddziaływania receptora z hamującymi zwrótnie jego aktywność kinazami: PKC (kinaza białkowa C, ang. *protein kinase C*) i erk MAP (kinazy regulowane sygnałami zewnątrzkomórkowymi z grupy kinaz aktywowanych mitogenami, ang. *extracellular signal-regulated kinase, mitogen activated protein kinase*); istnieją dowody, że je-

¹ Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku

² European Laboratory Association, Section Ibbenbüren, Ibbenbüren, Germany

³ Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego



Ryc. 1. Schemat domenowej struktury receptora ErbB-1

den z motywów sekwencyjnych tego rejonu wiąże się z heterotrimerycznymi białkami G,

- domena SH1 (ang. *src homology 1*) o aktywności kinazy tyrozynowej (długości ok. 250 reszt aminokwasowych),
- długą domenę C-terminalną (długości ok. 229 reszt aminokwasowych), zawierającą pięć miejsc autofosforylacji (w EGFR tyrozyny 992, 1068, 1086, 1148, 1173), przynajmniej trzy motywy internalizacyjne, miejsca transfosforylacji i miejsca aktywacji degradacji proteolitycznej białka receptorowego; domena ta ma także funkcję autoinhibitora aktywności receptora, bez jej autofosforylacji lub usunięcia, nawet aktywowane ligandem białko receptorowe nie jest w stanie prowadzić fosforylacji innych substratów.

Kinazy ErbB podlegają ekspresji na powierzchni bardzo licznych typów komórek, przede wszystkim linii nabłonkowej i mezenchymalnej [18], a ich ekspresja regulowana jest na różnych poziomach [19]. Każdy z wyżej wymienionych receptorów rodziny ErbB ma własny wzorzec ligandów, które go aktywują (tab. 2.) [2, 4, 20-22]. Szczególnie ciekawe wydają się rodziny

plejotropowych neuregulin: 1 (NRG-1, zwanej również hereguliną (HRG), czynnikiem różnicowania Neu (NDF), glijowym czynnikiem wzrostu (GGF), aktywatorem receptora acetylocholinowego (ARIA), czynnikiem pochodzącym z neuronów sensorycznych i motorycznych (SMDF), czynnikiem wzrostowym pochodzącym z komórki Schwanna (SDGF), 2 (NRG-2) i 3 (NRG-3) [2], które zostaną omówione dokładniej w oddzielnym opracowaniu [Falkiewicz i Bielawski, w przygotowaniu]. Funkcja fizjologiczna receptorów ErbB w większości w pełni pokrywa się z fizjologicznymi rolami aktywujących je ligandów. Nawet pobieżny rzut oka na tab. 2. pokazuje, że jest ona ogromnie różnorodna i w zasadzie niemożliwa do streszczenia w kilku zdaniach, w największym skrócie receptory te biorą udział w regulacji m.in. procesów wzrostu, proliferacji, apoptozy, różnicowania i odróżnicowywania się komórek, sekrecji białek i przemieszczania się komórek. Są one także zaangażowane w morfogenezę organów, procesy odżywcze i naprawcze tkanek [2]. Nadmierna aktywność przewodzących przez nie dróg sygnałowych związana jest ze wzrostem i rozwojem oraz inwazyjnością licznych procesów nowotworowych. Dzięki temu, receptory rodziny ErbB i wiodące przez nie szlaki sygnałowe są obiektami badań jako cele interwencji terapeutycznych w leczeniu nowotworów [18].

W prawidłowych warunkach stopień fosforylacji reszt tyrozynowych białek komórkowych jest ściśle regulowany dzięki równowadze pomiędzy aktywnością białkowych kinaz i fosfataz. Stopień ten ma w komórce istotne znaczenie regulacyjne, gdyż – jak wspomniano – fosforylacja określonych sekwencji białkowych jest etapem różnorodnych komórkowych szlaków sygnalizacyjnych. W wypadku uszkodzenia tej regulacji dochodzi do ustalenia się przewagi jednego z tych procesów. W rozwoju procesów nowotworowych na wielu drogach może dochodzić do dysregulacji aktywności kinaz receptorowych [Bielawski i wsp., w przygotowaniu], jednak w każdym ze znanych przypadków efektem tego procesu jest doprowadzenie do nadmiernej lub wręcz stałej aktywacji szlaku sygnalizacyjnego, który w warunkach prawidłowych jest ściśle regulowany [1].

W normalnych warunkach kinazy ErbB wykazują swoją aktywność jako dimery. Dimeryzacja lub oligomeryzacja, dzięki wzajemnemu oddziaływaniu zbliżonych w jej wyniku domen cytoplazmatycznych, podnosi efektywność kinazową cząsteczek receptorowych, które prawdopodobnie jako monomery są dużo słabiej aktywne jako kinazy białek wewnątrzkomórkowych. W wyniku dimeryzacji powstawać mogą zarówno wszystkie możliwe aktywne homodimery receptorów (*HER1-HER1*, *HER2-HER2*, *HER3-HER3*, *HER4-HER4*) [2, 20], jak również w różnym stopniu aktywne heterodimery (*HER1-HER2*, *HER1-HER3*, *HER1-HER4*,

HER2-HER3, *HER2-HER4*, *HER3-HER4*) [2, 20]. Jak dotychczas nie stwierdzono aktywności homodimerów ErbB-3 (ErbB-3-ErbB-3), być może ze względu na niską aktywność własną kinazy tyrozynowej ErbB-3. Sugeruje to, że receptor ten może funkcjonować bardziej jako swoisty adaptor w przewodzeniu sygnałów, niż jako kinaza [49]. Dimeryzacja nie jest procesem stochastycznym: „preferowanym” partnerem heterodimeryzacji jest ErbB-2, a powstające z jego udziałem heterodimery są najaktywniejsze. Istnieją dwie koncepcje wyjaśniające mechanizm powstawania dimerów ErbB. W myśl pierwszej, kinazy ErbB po związaniu liganda podlegają zmianom konformacyjnym, które powodują odsłonięcie miejsca dimeryzacji cząsteczki, wykazującego szczególne powinowactwo do ErbB-2. W myśl koncepcji drugiej, ligandy wiązane przez receptory ErbB (szczególnie EGF i neuregulinę) są biwalentne, oprócz domeny N-końcowej, specyficznie oddziałującej z miejscem wiążącym jednej cząsteczki receptora, fragmentem C-końcowym mniej specyficznie oddziałuje z drugą cząsteczką, pośrednicząc w dimeryzacji receptorów [2]. Jak dowiedziono, różne ligandy poszczególnych receptorów ErbB wspomagają dimeryzację w określonym kierunku, silniej stabilizując określony typ dimeru.

Istotną częścią kaskady sygnałowej biegnącej przez kinazy receptorowe klasy I jest autofosforylacja domeny kinazowej w części cytoplazmatycznej, prowadząca do utworzenia reszty fosfotyrozyny, co staje się sygnałem „gromadzącym” składniki cytoplazmatyczne danego szlaku sygnałowego w pobliżu wewnętrznej części błony komórkowej [9]. Być może autofosforylacja ma miejsce już po związaniu pojedynczej cząsteczki liganda przez monomeryczny receptor i jest jednym z czynników pośredniczących w dimeryzacji receptorów ErbB, fosforylacja cytoplazmatycznej domeny kinazowej może być jednak także efektem dimeryzacji, jako wzajemna transfosforylacja domen sąsiadujących ze sobą receptorów. Po autofosforylacji dochodzi do gromadzenia się białek zawierających domenę SH2 (ang. *src homology 2*) lub PTB (ang. *phospho-tyrosine binding*), które wiążą się do odpowiednich sekwencji zawierających reszty fosfotyrozyny. Trzecim procesem wynikającym z aktywacji kinazy jest fosforylacja substratów cytoplazmatycznych. Obok elementów funkcjonalnie wspólnych, są jednak istotne różnice, które powodują, że każdy z receptorów ErbB spełnia inną, ściśle określoną funkcję przekaźnikową. Dzięki różnicom w sekwencji receptora w okolicy miejsc autofosforylacji, różny zestaw substratów podlega wiązaniu i fosforylacji w wyniku aktywacji każdego z możliwych dimerów ErbB [2, 20]. Obok białek takich jak Shc lub Grb-2, na które działają prawdopodobnie wszystkie dimery, znane są białka aktywowane tylko przez ErbB-1, np. c-Cbl [50] czy fosfolipaza C γ [51].

Wszystkie te zjawiska prowadzą do powstawania wtórnych przekazników o funkcjach regulatorowych i do aktywacji innych białek [1, 14]. Nadmierna aktywacja szlaku sygnalizacyjnego wiodącego przez kinazy ErbB może być wynikiem różnorodnych zaburzeń [Bielawski i wsp., w przygotowaniu], w efekcie prowadzących do transformacji nowotworowej komórek [1].

PIŚMIENICTWO

- Kolibaba KS, Druker BJ. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1333:F217-F248.
- Burden S, Yarden Y. *Neuron* 1997; 18:847-855.
- Gullick WJ. *Biochem Soc Symp* 1998; 63:193-198.
- Carraway KL, Carothers Carraway CA, Carraway KL III, J Mammary Gland Biol Neoplasia 1997; 2:187-198.
- Grodecka-Gazdecka S. *Nowotwory* 1998; 48:231-267.
- Ravdin PM, Chamness GC. *Gene* 1995; 159:19-27.
- Vogt U, Bielawski K, Schlotter CM, et al. *Gene* 1998; 223:375-380.
- Tzahar E, Yarden Y. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1377:M25-M37.
- Carraway KL, Carothers Carraway CA. *BioEssays* 1995; 17:171-175.
- Hynes NE, Stern DF. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1198:165-184.
- Hynes NE. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1996; 1:199-206.
- Benz CC, Brandt BH, Zänker KS. *Gene* 1995; 159:3-7.
- Brandt B, Vogt U, Harms F, et al. *Gene* 1995; 159:29-34.
- Oldak M, Malejczyk J. *Post Hig Med Dośw* 1999; 53:315-329.
- Szacikowska E, Kozłowski W. *Współczesna Onkologia* 1999; III (3):97-103.
- Szacikowska E. *Współczesna Onkologia* 1998; II (5):85-87.
- Bielawski K. *Zastosowanie techniki PCR w badaniach onkogenów erbB i receptorów hormonów steroidowych jako potencjalnych czynników prognostycznych i predykcyjnych w raku sutka*. Praca doktorska. Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku, Gdańsk, 1998.
- Wells A. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31:637-643.
- Gebhardt F, Zänker KS, Brandt B. *J Biol Chem* 1999; 274:13176-13180.
- Riese DJ II, Stern DF. *BioEssays* 1998; 20:41-48.
- Raab G, Klagsbrun M. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1333:F179-F200.
- Alroy I, Yarden Y. *FEBS Lett* 1997; 410:83-86.
- Yarden Y, Schlessinger J. *Biochemistry* 1987; 26:1443-1451.
- Carpenter G, Cohen S. *J Biol Chem* 1979; 254:4884-4891.
- Marquardt H, Hunkapiller MW, Hood LE, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:4684-4688.
- Massague J. *J Biol Chem* 1983; 258:13614-13620.
- Shoyab M, McDonald VL, Bradley JF, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:6528-6532.
- Plowman GD, Green JM, McDonald VL, et al. *Mol Cell Biol* 1990; 10:1969-1981.
- Higashiyama S, Abraham JA, Miller J, et al. *Science* 1991; 251:936-939.
- Shing Y, Christofori G, Hanahan D, et al. *Science* 1993; 259:1604-1607.
- Riese DJ II, Bermingham Y, Van Raaij TM, et al. *Oncogene* 1996; 12:345-353.
- Toyoda H, Komurasaki T, Uchida D, et al. *J Biol Chem* 1995; 270:7495-7500.
- Stroobant P, Rice AP, Gullick W, et al. *Cell* 1985; 42:383-393.
- Pinkas-Kramarski R, Guarino BC, Shelly M, et al. *Mol Cell Biol* 1998; 18:6090-6101.

Tab. 1. Lokalizacja chromosomalna genów kodujących receptory rodziny ErbB

Gen	Lokalizacja chromosomalna (mapy genów dostępne w bazie danych OMIM: www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Omim/)
<i>erbB-1 (HER1, egfr)</i>	7p12.3-p12.1
<i>erbB-2 (HER2/neu)</i>	17q21.2
<i>erbB-3 (HER3)</i>	12q13
<i>erbB-4 (HER4)</i>	2q33.3-q34

Tab. 2. Ligandy aktywujące poszczególne receptory rodziny ErbB

Wiązany receptor	Ligand	Piśmiennictwo
ErbB-1 (EGFR)	naskórkowy czynnik wzrostu (EGF)	[23, 24]
	transformujący czynnik wzrostu- α (TGF- α)	[25, 26]
	amfiregulina (AR)	[27, 28]
	wiązący heparynę czynnik EGF-podobny (HB-EGF)	[29]
	betacellulina (BTC)	[30, 31]
	epiregulina (EPR)	[32]
ErbB-2 (HER2/neu)	czynniki wiążące się z homologami HER1, kodowane przez <i>Caenorhabditis elegans</i> (Lin-3), <i>Drosophila melanogaster</i> (Vein, Spitz, Gurken, Argos), różne wirusy (np. <i>vaccinia growth factor</i> , VGF; <i>shope fibroma growth factor</i> , SFGF; <i>myxoma virus growth factor</i> , MGF)	[8, 18, 33]
	izoforma alfa neureguliny 2 (NRG-2 α)	[34]
ErbB-3 (HER3)	błonowe białko ASGP2 szczura	[35]
	ludzka mucyna nabłonkowa MUC4 (prawdopodobnie, homolog ASGP2)	[36]
ErbB-4 (HER4)	izoformy neureguliny 1 (NRG-1)	[37-39]
	izoformy neureguliny 2 (NRG-2)	[40-43]
ErbB-4 (HER4)	izoformy neureguliny 1 (NRG-1)	[39, 44]
	izoformy neureguliny 2 (NRG-2)	[40-43]
	neuregulina 3 (NRG-3)	[45]
	neuregulina 4 (NRG-4)	[46]
	betacellulina (BTC)	[31]
	epiregulina (EPR)	[47]
	wiązący heparynę czynnik EGF-podobny (HB-EGF)	[48]

- Carraway KL III, Rossi EA, Komatsu M, et al. *J Biol Chem* 1999; 274:5263-5266.
- Moniaux N, Nollet S, Porchet N, et al. *Biochem J* 1999; 338:325-333.
- Carraway KL III, Sliwkowski MX, Akita RW, et al. *J Biol Chem* 1994; 269:14303-14306.
- Kita YA, Barff J, Luo Y, et al. *FEBS Lett* 1994; 349:139-143.
- Tzahar E, Levkowitz G, Karunakaran D, et al. *J Biol Chem* 1994; 269:25226-25233.
- Busfield SM, Michnick DA, Chickering TW, et al. *Mol Cell Biol* 1997; 17:4007-4014.
- Chang H, Riese DJ II, Gilbert W, et al. *Nature* 1997; 387:509-512.
- Carraway KL III, Weber JL, Unger MJ, et al. *Nature* 1997; 387:512-516.
- Higashiyama S, Horikawa M, Yamada K, et al. *J Biochem* 1997; 122:675-680.
- Plowman GD, Green JM, Culouscou J-M, et al. *Nature* 1993; 366:473-475.
- Zhang D, Sliwkowski MX, Mark M, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:9562-9567.
- Harari D, Tzahar E, Romano J, et al. *Oncogene* 1999; 18:2681-2689.
- Riese DJ II, Komurasaki T, Plowman GD, et al. *J Biol Chem* 1998; 273:11288-11294.
- Elenius K, Paul S, Allison G, et al. *EMBO J* 1997; 16:1268-1278.
- Guy PM, Platko JV, Cantley LC, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:8132-8136.
- Levkowitz G, Klapper LN, Tzahar E, et al. *Oncogene* 1996; 12:1117-1125.

- Cohen BD, Kiener PA, Green JM, et al. *J Biol Chem* 1996; 271:30897-30903.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr med. **Krzysztof Bielawski**
Pracownia Diagnostyki Molekularnej
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii
Uniwersytetu Gdańskiego
i Akademii Medycznej w Gdańsku
ul. Kładki 24
80-822 Gdańsk

Praca wykonana w ramach projektu BW UG nr B000-5-0134-9, finansowanego przez KBN. We apologize to many authors for omitting references to their work due to restrictions on the length of the minireview.