

ОБЗОР

УДК 616.834+612.548:635.443.1

©Коллектив авторов

МИЕЛИН-ОЛИГОДЕНДРОГЛИОЦИТАРНЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН: СТРОЕНИЕ. ФУНКЦИИ. РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩИХ РАССТРОЙСТВ.

В. П. Чехонин, А.В. Семенова, О.И. Гурина, Т.Б. Дмитриева

Лаборатория иммунохимии Государственного Научного Центра
социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского.
119992 г. Москва, Кропоткинский пер., 23; тел.: 202-2813, факс: 201-5055

Миелин-олигодендроглиоцитарный гликопротеин (MOG) - специфический антиген миелина ЦНС, принадлежащий к суперсемейству иммуноглобулинов. Его содержание в мембране олигодендроглиокита не превышает 0,1 % всех белков. Высокая энцефалитогенная активность в экспериментальных исследованиях предполагает ведущую роль белка в качестве аутоантигена при демиелинизирующих заболеваниях. В обзоре рассмотрены основные положения, касающиеся строения, мембранной топографии молекулы, геномной структуры, предполагаемых функций, а также роли MOG при демиелинизирующих заболеваниях.

Ключевые слова: миелин-олигодендроглиоцитарный гликопротеин (MOG), миелин, геном, комплемент, иммунный ответ, демиелинизация.

Миелиновая оболочка представляет собой структуру, образованную за счет спирального обвития плазматических мембран глиальных клеток вокруг аксонов нейронов [1]. В пределах центральной нервной системы такими клетками являются олигодендроглиокиты. Являясь, по сути, мембраной, миелин коренным образом отличается от других биологических белково-липидных комплексов. Уникальность его структуры состоит в крайне высоком содержании липидов (преимущественно сфинголипидов) - от 70 до 85% и относительно незначительном количестве белков (от 15 до 30% от массы сухого вещества) [1]. Соотношение белковых и липидных компонентов в других биологических мембранах обратное. Насыщенность миелиновой оболочки водой невысока и составляет около 40%. Подобное строение миелина обуславливает его высокую изоляционную способность.

Качественный состав миелиновой оболочки характеризуется наличием целого ряда специфических белков. Среди них преобладают протеолипидный белок (PLP - proteolipid protein) и основной белок миелина (MBP - myelin basic protein). В меньших количествах представлены миелин-ассоциированный гликопротеин (MAG - myelin associated glycoprotein) и 2',3'-циклонуклеотид 3'- фосфодиэстераза (CNP). Миелин содержит также несколько минорных белковых компонентов. К их числу относят миелин-олигодендроглиоцитарный гликопротеин (MOG) [2].

При сравнении белкового представительства миелина ЦНС и ПНС выявляются некоторые различия. Так, высокоспецифичным для миелиновой мембраны в пределах ПНС является белок P₀. В составе изолирующих оболочек нервных проводников ЦНС такими белками являются PLP и MOG.

PLP - интегральный белок, не имеющий поверхностно расположенных фрагментов, способных при условии целостности миелиновых оболочек приводить к возникновению иммунных реакций. Значительно более сложной представляется топографическая организация молекулы MOG с экспозицией крупного ее участка снаружи компактной миелиновой структуры. Этот факт обуславливает отношение к MOG как потенциальному аутоантигену, способному принимать активное участие в патогенетических механизмах демиелинизирующих расстройств, в первую очередь, рассеянного склероза (РС). В настоящий момент MOG принято рассматривать наряду с MBP в качестве ведущего маркера, отражающего состояние миелиновых оболочек ЦНС [3-8].

MOG является антигеном со сравнительно короткой историей. В 1976 году Lebar и соавторы опубликовали результаты эксперимента по исследованию антисыворотки, полученной от морских свинок, иммунизированных препаратом гомологичного головного мозга [9]. Забор образцов сыворотки крови проводили от животных, имевших выраженную клиническую картину экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ). Дальнейшие исследования осуществляли в условиях *in vitro* в ко-культурах эмбрионального мозжечка, содержащих миелинизированные волокна. Перед внесением в клеточную культуру образцы антисыворотки истощали препаратами MBP и PLP. Исследователи наблюдали развитие демиелинизации в экспериментальных культурах клеток ЦНС. В то же время, в образцах клеточных культур ПНС подобных изменений не наблюдалось. В связи с этим было высказано предположение, что выявленная демиелинизация является следствием иммунного ответа по отношению к антигену, представленного исключительно в составе ЦНС и названному M2. Позднее этот антиген получил название миелин-олигодендроглиоцитарного гликопротеина.

В мембране олигодендроглиоцитов содержание MOG не превышает 0,1% всех белков. Молекула MOG состоит из 218 аминокислотных остатков (а.о.). В настоящий момент полностью установлены аминокислотные последовательности MOG человека, мыши, крысы и быка. Степень их гомологии крайне высока и составляет около 90%. Сигнальный пептид MOG состоит из 29 а.о. Их последовательность также выявлена и проявляет значительное сходство среди животных различных видов.

Изучение с помощью Northern blot анализа уровня мРНК у мышей выявило высокую степень специфичности MOG именно для головного мозга [10]. В миелине мышей линий *jimpy* и *quaking*, характеризующихся гипомиелинизацией, его концентрации в значительной степени снижены, что указывает на специфическую принадлежность белка мембранам олигодендроглиоцитов [11]. Необходимо отметить, что MOG выявляется в миелиновых мембранах только млекопитающих. Среди других видов животных его экспрессия не отмечается.

Относительно молекулярной массы MOG существуют разноречивые данные. Первоначально был идентифицирован MOG крысы с молекулярной массой 51 кДа, который состоял из 2 мономеров с массами 20-26 кДа [10]. В дальнейшем стало известно, что MOG морской свинки представляет собой молекулу массой 25 кДа, которая способна подвергаться дифференцированному гликозилированию с образованием 26/28 кДа форм, также обладающих способностью к димеризации с образованием молекул массой 54 кДа [12]. Необходимо отметить, что наличие таких димеров является высокоспецифичным для грызунов и среди других видов млекопитающих не встречается.

MOG человека при электрофоретическом анализе в ПААГ с SDS представлен двумя мажорными линиями, соответствующими молекулярным массам 28 и 55 кДа, и одной минорной в области 36 кДа [11,13]. Было установлено,

МИЕЛИН-ОЛИГОДЕНДРОГЛИОЦИТАРНЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН

что N- концы белков, составляющих мажорные линии являются идентичными, что свидетельствует об образовании димерных высокомолекулярных форм. При изучении MOG быка были получены сходные данные.

Установлено, что фрагмент молекулы MOG, полученный рекомбинантным способом и соответствующий экстрамембранному участку белка, также способен образовывать димеры. Этот факт свидетельствует в пользу того, что функционально активные группировки, ответственные за формирование гетеромеров, расположены в пределах данного региона.

В работе Slavin и соавторов [11] приводятся результаты исследования MOG обезьяны, крысы, быка и морской свинки. Авторами отмечается присутствие у всех видов изоформ с массами 28 и 55 кДа. При этом высокомолекулярная изоформа под воздействием 2-меркаптоэтанола подвергается деградации. Слабая иммунореактивность при выполнении данной серии экспериментов была выявлена также в зонах 36, 48 и 78 кДа. Присутствие последней из них объясняется формированием тримерной формы, а происхождение остальных не находит объяснения. Такое многообразие изоформ характерно для многих антигенов миеллина. Это является косвенным указанием на то, что механизмы регуляции экспрессии таких белков имеют сходную основу. Об этом же свидетельствуют результаты исследования, выполненного Slavin и соавторами [14], по сравнению экспрессии нескольких антигенов миеллина MOG, MBP и PLP у гипомиелинизированных линий мышей. Одинаковая степень и характер редукции исследуемых белков подтвердил предположение о едином механизме регуляции их синтеза [15-17].

Высказываются предположения [18,19], что существование множества изоформ белка обусловлено различными вариантами сплайсинга мРНК. Этими же исследователями не исключается возможность наличия иных, меньших изоформ MOG, детекция которых с помощью современных методов невозможна ввиду их незначительных размеров. Димеризация таких гипотетических молекул может приводить к формированию более крупных образований, которые возможно визуализировать иммунохимически.

В качестве еще одной гипотезы выдвигается мнение о возможности дифференцированного гликозилирования в процессе синтеза молекулы MOG, которое служит причиной разнообразия его изоформ.

Геномная структура MOG

Геномная организация MOG у человека и мыши имеет большое сходство [20]. Недавно проведенные исследования [21] выявили в составе гена MOG человека два новых альтернативных экзона, которым ранее приписывалась роль интронов. В настоящий момент известно, что как у человека, так и у мыши полипептид кодируется 8 экзонами, а выявленное экзонно-интронное взаимодействие обладает значительным консерватизмом [22]. Размеры генов сходны и составляют 11,1 т.п.о. у человека и 12,5 т.п.о. у мыши, что указывает на высокую степень сходства относительно количества интронов. Иммуноглобулиноподобный участок MOG кодируется 2 экзонами и проявляет значительную степень гомологии с аналогичным участком бутирофилина (до 46%), который экспрессируется на апикальной поверхности секретирующих клеток молочных желез в период лактации и является основным гликопротеином жировых глобул молока [10,23]. Биологическая роль бутирофилина связана с лактацией и не имеет отношения к образованию миелиновых оболочек. Возможным объяснением такого сходства является своеобразная перестановка экзонов, в процессе которой общий предшественник иммуноглобулиноподобного домена приобретает принадлежность к функционально различным белкам. Второй экзон гена MOG имеет гомологию с экзоном, кодирующим иммуноглобулиноподобный участок молекулы B-G-антигенов у кур [22,24].

Различные варианты сплайсинга РНК MOG могут приводить к синтезу молекул белка, содержащих иммуноглобулиноподобный домен, однако имеющих в

своем составе только один трансмембранный участок [20]. У человека было выявлено 7 возможных вариантов сплайсинга РНК MOG [25]. Несмотря на значительное сходство в кодирующих последовательностях, у мышей такие особенности не выявлены [26]. Интересно отметить, что все варианты сплайсинга имеют отношение к кодирующей последовательности С-конца молекулы MOG, который является наиболее консервативным при сравнении среди различных видов млекопитающих. Более детальный анализ продемонстрировал, что эти варианты сплайсинга ограничены экзон-интронными перестановками [11]. Этими же исследователями было обнаружено два экзона, которые ранее считались интронами.

В настоящий момент полностью расшифрована геномная структура MOG человека. Все варианты сплайсинга мРНК включают в себя первый экзон, являющийся сигнальным участком, второй экзон - обуславливающий кодирование последовательности иммуноглобулиноподобного домена, четвертый экзон - ответственный за кодирование первого трансмембранного участка молекулы, 5 и 6 экзоны - незначительные по размеру и кодирующие цитоплазматические фрагменты полипептида. Включение в процесс транскрипции экзона 3, которое встречается в двух вариантах сплайсинга, способствует незавершенному синтезу молекул MOG, идентичных друг другу по аминокислотной последовательности. Участие в процессе транскрипции экзонов 7, 8, 9 и 10a может варьировать в зависимости от варианта сплайсинга. Экзон 10b представлен во всех случаях и является терминальным. Второй мембраноассоциированный фрагмент молекулы MOG кодируется 8 экзоном. Таким образом, 7 вариантов сплайсинга мРНК MOG обуславливают наличие соответствующего количества изоформ белка, одна из которых растворима, четыре содержат сходный трансмембранный участок, однако отличаются по цитоплазматическому региону. Две изоформы содержат дополнительно мембраноассоциированный участок, однако отличаются по цитоплазматическому фрагменту. Ни одна из этих изоформ не детектируется иммунохимически, что объясняется, с одной стороны, отсутствием трансляции кодирующих мРНК, с другой - крайне низким уровнем синтеза таких изоформ [26].

Промоторный участок MOG, по всей видимости, контролирует высокую клеточную специфичность синтеза молекул [27].

В настоящий момент установлено, что ген MOG человека локализуется на коротком плече 6 хромосомы, а именно участке 6p21.3-p22 [21,24], находясь в непосредственной близости от генов главного комплекса гистосовместимости. Данный факт позволяет высказывать предположения относительно одной из возможных функций MOG как непосредственного участника иммунологических процессов в пределах ЦНС [28].

Молекула MOG экспрессируется, главным образом, на наружной поверхности миелиновой оболочки. Незначительное количество белка обнаружено на границе миелин/аксон, а также в толще компактной структуры миелина [10]. Аминокислотная последовательность молекулы MOG среди различных видов млекопитающих характеризуется высокой гомологией.

Молекулярная организация MOG

MOG принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, обладая локализуемым внеклеточно иммуноглобулиноподобным фрагментом, однако степень сходства его третичной конформационной структуры с другими членами суперсемейства довольно низка и не превышает 25% [29]. Молекула MOG включает в свой состав два гидрофобных участка, связанных в большей или меньшей степени с клеточной мембраной и представленных цепями с α -структурой [30]. Первый из них является продолжением внеклеточного N-терминального фрагмента молекулы. Будучи истинно трансмембранным, он пронизывает липидный бислой насквозь. В отношении второго участка однозначного мнения не существует. Так, по мнению Кгоерфл и соавторов [31,32], этот фрагмент находится в тесной ассоциации с цитоплазматической

МИЕЛИН-ОЛИГОДЕНДРОГЛИОЦИТАРНЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН

поверхностью мембраны олигодендроглиоцита. Согласно другим данным, представленным Della Gaspera и соавторами [29], второй гидрофобный участок MOG погружен в липидный бислой плазматической мембраны таким образом, что становится недоступным для воздействия специфических протеаз. В отношении С-конца полипептидной цепи исследователи придерживаются традиционного мнения о его внутриклеточной локализации. Изучение аминокислотных последовательностей трансмембранного участка MOG различных видов животных продемонстрировало их вариабельность, что указывает на невысокую функциональную значимость данного фрагмента молекулы. В то же время, крайнюю консервативность в филогенезе демонстрируют второй мембраноассоциированный участок молекулы и внутриклеточный С-конец MOG.

Имуноглобулиноподобный домен молекулы включает в себя 70 - 110 а.о. [33], расположенных в виде двух тесно связанных β -пластов, каждый из которых представлен антипараллельными β -цепями, количество которых варьирует от четырех до шести [10]. Эти цепи названы в соответствии с их последовательным расположением В, С, Е и F, что является сходным с другими членами суперсемейства иммуноглобулинов. Гидрофобные участки полипептида носят название С' и G. Цепи связаны между собой посредством петель, обладающих значительным консерватизмом. Петли играют важную роль в осуществлении целого ряда функционально значимых событий, в частности, процесса гликозилирования, являющегося основой многообразия изоформ белка. Структура иммуноглобулиноподобного участка такова, что наиболее важные, подверженные наименьшим перестановкам аминокислотные последовательности, расположены внутри образованного комплексом β -цепей гидрофобного "ядра". Установлено, что внутри такого "ядра" иммуноглобулиноподобного фрагмента MOG расположены два цистеиновых остатка в положениях 24 и 98, а также остаток триптофана в 39 положении. Между ними образуются дисульфидные мостики, обеспечивающие стабильность структуры. Около 30 а.о. образуют цепи, расположенные более поверхностно.

В 31 положении аминокислотной последовательности MOG предполагается наличие остатка аспарагиновой кислоты, который подвергается гликозилированию. Локализованные далее остатки аланина и треонина также способны участвовать в дифференцированном гликозилировании [33]. Все три остатка являются удобными мишенями для такого воздействия, т.к. расположены поверхностно в составе петли, осуществляющей соединение двух β -цепей [34].

В качестве одной из возможных функций MOG выдвигается участие в фиксации C1q-компонента комплемента, что предполагает наличие соответствующей структуры в составе молекулы, аналогичной молекулам иммуноглобулинов. Такой участок был идентифицирован в составе одной из петель, соединяющих параллельные β -цепи и представленный аминокислотными последовательностями, заключенными между 64 глутамином и двумя остатками аргинина в 66 и 68 положениях соответственно [35]. Было также установлено, что данный фрагмент расположен поверхностно в структуре иммуноглобулиноподобного участка как мономерных, так и димерных форм белка.

Димеры MOG обладают высокой стабильностью. Они не подвержены деградации под влиянием высоких концентраций ЭДТА, а также ионов кальция [11,19]. В составе внеклеточного фрагмента молекулы не было выявлено свободных цистеиновых остатков, способных образовывать дисульфидные связи, приводя к традиционному формированию множественных форм белка. Такие остатки идентифицированы лишь вблизи С-конца молекулы, в положениях 177 и 198. Однако было установлено, что структура взаимного расположения β -цепей внеклеточного участка молекулы MOG обладает значительным сходством с аналогичными участками других членов суперсемейства иммуноглобулинов, которые характеризуются способностью образования димеров. Это дало возможность предположить существование отличного от традиционного механизма

формирования димеров посредством взаимодействия поверхностно расположенных и конформационно обусловленных комплементарных фрагментов молекул.

Согласно данным Hjelmstrom и соавторов [33], димерная форма MOG формируется за счет двух гомологичных мономеров таким образом, что приводит к образованию нового "ядра", включающего в себя остатки ароматических и гидрофобных аминокислот (триптофана, валина, фенилаланина и тирозина в положениях 40, 47, 99 и 105 соответственно). Это характерно для членов суперсемейства иммуноглобулинов. Кроме того, в состав "ядра" димера MOG входят остатки кислых (три остатка глутамина и остаток аспарагиновой кислоты в положениях 36, 107, 108 и 102 соответственно) и основных аминокислот (три остатка аргинина и остаток гистидина в положениях 46, 52, 101 и 49 соответственно).

При формировании димера функцию связывания комплемента принимает участок молекулы между 64 и 68 а.о. Участки петель, соединяющих цепи В-С, F-G, а также D-E, имеют морфологическое сходство с аналогичными структурами гипервариабельных участков Т-клеточных рецепторов.

Рассматривая молекулярную структуру MOG, нельзя не упомянуть о наличии энцефалитогенных детерминант, представленных в составе фрагмента 35-55 а.о. [18,36]. Установлено, что фрагмент молекул MOG грызунов, представленный 35-55 а.о., является крайне энцефалитогенным, способным вызывать выраженный клеточный и гуморальный иммунный ответ, проявляющийся обширной демиелинизацией у экспериментальных животных. В 1996 году группа исследователей под руководством Ichikawa [37] продемонстрировала, что иммунизация пептидом 35-55 приводит к выработке антител (АТ), специфичных не только по отношению к нему, но и целой молекуле белка. Это указывает на поверхностную локализацию энцефалитогенного эпитопа молекулы в составе третичной структуры белка. Было установлено, что антитела обладают специфичностью к эпитопу, образованному в результате формирования третичной структуры белка, т.е. энцефалитогенный эпитоп MOG является конформационным по структуре [38,39]. Исследования, проведенные Albouze-Abo и соавторами в 1997 году [36], продемонстрировали, что изолированный пептид, 35-55 образует две β -цепи, соединенные короткими петлями, придающими ему сходство с третичной формой нативной молекулы MOG.

В настоящий момент известно, что пептид 35-55 человека обладает меньшими энцефалитогенными свойствами по сравнению с аналогичным фрагментом молекулы MOG грызунов [40]. В качестве объяснения этого выдвигается факт замены в 42 положении остатка серина на пролин [10], которая обуславливает конформационные изменения С-цепи, представляющей энцефалитогенный эпитоп.

В то же время имеются указания на то, что пептид 35-55 человека обладает более выраженными свойствами Т-клеточного эпитопа по сравнению с аналогичными фрагментами MOG других видов млекопитающих [18,41].

Впервые моноклональные антитела к MOG были получены в 1984 году группой исследователей под руководством Linington [42] на основе препарата, выделенного из мозжечка крыс. Антитела проявляли одинаковую иммунореактивность в отношении образцов MOG, выделенных из ткани ЦНС мышей, крыс, морских свинок, быка, обезьяны и человека, что продемонстрировало их видонеспецифическую принадлежность. Точной локализации соответствующего эпитопа до настоящего времени не установлено, однако известно, что он представлен в составе иммуноглобулиноподобного домена [18]. При сравнении с моноклональными антителами, полученными позднее, было установлено, что 8-18C5 практически не реактивен в отношении димерных форм белка, что расценивается исследователями как свидетельство маскировки эпитопа при конформационных преобразованиях. В пользу данного факта свидетельствует и то, что моноклональные антитела 8-18C5 демонстрируют абсолютное отсутствие

МИЕЛИН-ОЛИГОДЕНДРОГЛИОЦИТАРНЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН

реактивности по отношению к фрагментам полипептидной цепи MOG, полученных рекомбинантным образом [43,44].

Подобно другим антигенам миеллина, MOG характеризуется наличием каудодорсального градиента экспрессии в процессе онтогенеза [45,46]. Эта зависимость была выявлена как для мРНК, так и зрелой молекулы белка. В спинном мозге крысы иммунохимически MOG детектируется на 10, а в головном мозге - на 17 сутки жизни [47]. Сравнение экспрессии MOG, MBP и PLP среди гипомиелинизированных линий мутантных мышей продемонстрировало одинаковую степень их нарушения [11], что указывает на единые механизмы регуляции синтеза исследуемых антигенов.

MOG принято рассматривать в качестве маркера степени зрелости олигодендроглиоцитов. Экспрессия его по сравнению с другими белками миелиновой мембраны отсрочена на 24-48 часов [48,49].

Принадлежность MOG к гликопротеинам определяется комплексно связанным с N-концом молекулы олигосахаридом. Установлено, что в его структуру входит L2/HNK-1 углеводный эпитоп, характерный для таких антигенов миеллина как P₀, MAG и олигодендроглиоцитарный гликопротеин миелина (OMG - oligodendrocyte myelin glycoprotein) [50]. Характерной особенностью MOG является наличие L2/HNK-1 эпитопа во всех фракциях гликопротеина, полученных путем аффинной хроматографии на лектиновых носителях. В то же время другие антигены миеллина экспонируют указанный эпитоп исключительно в фукозилированных образцах. Обнаружение L2/HNK-1 эпитопа в структуре молекулы MOG указывает на его возможную функцию в качестве молекулы клеточной адгезии.

Выделение MOG представляется сложной задачей, учитывая то, что его содержание в ЦНС не превышает 0,1% и велика вероятность загрязнения препарата примесями, представленными другими антигенами миеллина, прежде всего PLP и MBP. Проблема получения чистого препарата белка нашла свое решение в создании рекомбинантного MOG, а также его отдельных фрагментов, прежде всего энцефалитогенных детерминант [10].

В основе рутинной методики выделения MOG из ЦНС млекопитающих [10] лежит процесс делипидизации, который осуществляется с помощью *Brij 35* и последующего препаративного гель-электрофореза. Препарат MOG обладает подвижностью, соответствующей фракции белков Вольфграма. Учитывая ограниченные возможности подобной очистки белка, актуальной становится стратегия применения аффинных сорбентов с иммобилизованными препаратами специфических антител для получения высокоочищенных образцов MOG.

Возможные функции MOG

Переходя к характеристике функций MOG, необходимо отметить, что до настоящего времени ни одна из них не является достоверно доказанной. В пользу того или иного утверждения выдвигаются ряды доводов, однако окончательного ответа на вопрос о функциональной значимости данного белка не дано.

Среди возможных функций MOG предполагают следующие:

- роль молекулы клеточной адгезии и/или клеточного рецептора;
- роль регулятора степени компактности миелиновой оболочки;
- роль активатора комплемента по классическому пути.

MOG как молекула клеточной адгезии. В пользу данного предположения свидетельствует наличие в молекуле MOG L2/HNK-1 карбогидратного эпитопа, который выявлен также в составе MAG и P₀, адгезивная функция которых доказана. Кроме этого, поверхностное расположение молекулы с экспозицией иммуноглобулиноподобного домена, также указывает на возможную заинтересованность MOG в структурных взаимодействиях клеток и/или более крупных образований. Предполагается [22,48,50,52], что белок может играть роль своеобразного "склеивающего" агента между соседними миелинизированными волокнами. Гармоничным дополнением такой версии является отношение к MOG

как маркеру зрелости олигодендроглиоцитов. Поздняя его экспрессия в процессе онтогенеза может быть связана именно с функцией стабилизатора компактности миелиновых волокон в ЦНС. При этом необходимо отметить высокоселективную специфичность MOG для миелинообразующих клеток ЦНС. В пределах ПНС, где нет тесного прилегания соседних нервных стволов друг к другу, белок не экспрессируется.

MOG как регулятор степени компактности миелиновой оболочки. Данную функцию MOG подробно исследовали Dyer и Matthieu [53]. Учеными было продемонстрировано, что добавление моноклональных 8-18C5 анти-MOG-АТ к культуре олигодендроглиоцитов приводит к образованию комплексов АГ/АТ, способных частично вызывать деполимеризацию микротрубочек и нарушать компактную структуру миелина. Более поздние исследования [10,54] выявили, что результатом действия 8-18C5 антител в культуре миелинообразующих клеток является деградация MBP, биологическая роль которого состоит в стабилизации миелиновой мембраны. Роль MOG, таким образом, может сводиться к сдерживанию чрезмерной стабильности микротрубочек, которая способна нарастать при повышении уровня MBP в процессе миелинизации.

Необходимо отметить существование данных [52], свидетельствующих о том, что моноклональные CE1 антитела к миелин-олигодендроглиоспецифическому белку (MOSP - myelin-oligodendrocyte specific protein) в культуре олигодендроглиоцитов оказывают противоположный анти-MOG-АТ эффект и приводят к стабилизации компактной структуры миелина, повышая стабильность микротрубочек.

Суммируя вышеизложенное, возможно предположить, что комплексные взаимодействия между MOG, MBP и MOSP играют ключевую роль в регуляции стабильности компактной структуры миелиновой оболочки посредством воздействий на микротубулярный аппарат олигодендроглиоцитов.

Интересные данные приведены в работе Dyer [53], посвященной исследованию влияния на культуру олигодендроглиоцитов антител к галактоцереброзиду (Gal-C- galactocerebroside). Автор выявил наличие эффекта, сходного с воздействием моноклональных анти-MOG-АТ, которое заключалось в деполимеризационном эффекте на клеточный аппарат микротрубочек. Далее было продемонстрировано, что при инкубации с очищенным миелином антитела к Gal-C способны в условиях *in vitro* оказывать влияние на фосфорилирование MBP и приводить к его деградации, подобно анти-MOG-АТ. Исходя из этого, было высказано предположение о сочетанном влиянии MOG и Gal-C на стабилизацию миелиновой оболочки посредством локального воздействия на MBP. Механизмы такого влияния в настоящее время остаются невыясненными.

Одно из объяснений тандемного взаимодействия MOG и Gal-C базируется на топографических особенностях молекулы MOG. Известно, что второй гидрофобный участок полипептидной цепи расположен внутри плазматической мембраны олигодендроглиоцита. В его состав входят два остатка цистеина, расположенные в 177 и 198 положениях и являющиеся вероятными мишенями для обратимого пальмитилирования [31]. Предполагается, что Gal-C образует связь с цистеиновыми фрагментами молекулы MOG и, таким образом, обуславливает ее взаимодействие с плазматической мембраной, формируя своеобразный каркас для полипептидной цепи.

MOG как активатор комплемента. Предположения о том, что MOG является участником иммунных реакций в пределах ЦНС, основаны на нескольких фактах. Локализация гена в составе главного комплекса гистосовместимости [45], структурное сходство с В-Г антигенами кур (представителями молекул главного комплекса гистосовместимости) [22], способность вызывать сильный иммунный ответ [43] свидетельствуют в пользу такого утверждения.

Избирательная экспрессия MOG в процессе филогенеза, ограниченная млекопитающими видами, может служить косвенным указанием на то, что роль

МИЕЛИН-ОЛИГОДЕНДРОГЛИОЦИТАРНЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН

белка в процессе миелинизации не является столь критической, как это принято считать [10]. Возможно, основной функцией данной молекулы является осуществление взаимодействий между системами организма, в частности, иммунной и нервной.

Одной из важнейших функций, характерных для миелина ЦНС, является способность активации системы комплемента по классическому пути [35,55]. Для миелиновых оболочек ПНС такой особенности не выявлено. Исходя из этого, в составе ЦНС должен находиться белок, способный связывать C1-компонент комплемента; запуская каскад реакций, MOG является вероятным кандидатом на эту роль, учитывая поверхностную локализацию его молекулы, высокую специфичность для олигодендроцитов, а также полное отсутствие экспрессии в пределах ПНС [56,57].

Серия экспериментов, проведенная Johns и соавторами [58], продемонстрировала способность высокоочищенного нативного препарата MOG, а также его рекомбинантного иммуноглобулиноподобного фрагмента, связывать C1q компонент комплемента. Установлено, что предполагаемый участок молекулы MOG, ответственный за такое связывание, экспонируется в составе иммуноглобулиноподобного домена и представлен остатками глутамина в 64 и аргинина в 66 и 68 положениях. Выявленная аминокислотная последовательность имеет значительное сходство с комплемент-связывающим доменом молекул иммуноглобулинов G. Способность связывания комплемента, согласно представленным данным, носила дозозависимый характер. Позднее Solly было продемонстрировано подавление нативным препаратом MOG антителозависимого лизиса эритроцитов в присутствии комплемента [48]. Полученные данные позволили сделать вывод о том, что MOG является белком, ответственным за активацию комплемента.

Взаимодействие миелинспецифического белка с компонентами системы комплемента является ключевым в патогенетических механизма развития воспалительного процесса в ЦНС. Возможно, что MOG является именно таким антигеном ЦНС, участие которого в иммунных реакциях является ключевым моментом в развитии демиелинизирующих заболеваний и, в первую очередь, рассеянного склероза (РС) [59].

Необходимо отметить также существование противоположного мнения, согласно которому функция MOG в качестве посредника взаимодействий иммунной и нервной систем заключается не в активации, а в ингибировании комплемента путем связывания его C1q компонента [35].

Возможное участие MOG в патогенезе рассеянного склероза

Актуальность проблемы РС, нарастающая с каждым днем, служит мощным иницирующим фактором для поиска антигенов-мишеней в иммунном ответе при данном заболевании. Традиционно занимавший лидирующие позиции в таких исследованиях MBP все чаще уступает место MOG в качестве ведущего антигена миелина, заинтересованного в развитии и поддержании демиелинизирующего процесса при РС [2,7,59-71]. К числу факторов, способствующих нарушению иммунологической реактивности по отношению к MOG у таких больных, относят полиморфизм или мутации гена, приводящие к перестановкам в аминокислотной последовательности молекулы, нарушение экспрессии белка.

Интересная концепция нарушения иммунологической реактивности по отношению к MOG высказана Korb и Ahearn [31], проводящими аналогию между развитием РС и системной красной волчанки (аутоиммунного заболевания, которое характеризуется фотодерматозом, проявляющимся появлением красных пятен на коже в ответ на воздействие солнечных лучей). Патогенетическая основа заболевания представляет собой выраженный аутоиммунный ответ по отношению к собственным кератиноцитам. Авторы утверждают, что запуск аутоиммунных механизмов в обоих случаях инициируется превышением определенного порога соответствующего антигена в организме. Подобно миелину, кератиноциты

обладают способностью связывать C1q-компонент комплемента в отсутствии антител. Недостаток C1q может приводить к нарушению нормального процесса удаления отмерших кератиноцитов. Образовавшиеся в виде поверхностных бляшек скопления мертвых клеток приводят к нарушению устойчивости по отношению к собственным антигенам кератиноцитов и запуску аутоиммунных механизмов.

Подобно этому, активация C1q компонента может являться ключевым звеном в эффективном удалении дегриса миелина. Отсутствие его своевременной утилизации может приводить к постепенному накоплению избытка миелинспецифических антигенов, который в свою очередь будет способствовать нарушению иммунологической реактивности по отношению к ним [10,73]. Мутации в гене MOG, приводящие к нарушению его способности связывать C1q компонент, могут являться ведущим механизмом в запуске вышеуказанных изменений.

Существуют данные, что нарушения, затрагивающие C1q компонент комплемента, не всегда выявляются у пациентов с РС [20]. Объяснение такого факта, возможно, состоит в комплексном влиянии на патогенез заболевания целого ряда других факторов, среди которых необходимо выделить заинтересованность главного комплекса гистосовместимости, а также мимикрию вирусов и бактериальных агентов [74,75].

Характерным примером молекулярной мимикрии является сходство фрагмента *Semliki Forest Virus*, представленного пептидом E2₁₁₅₋₁₂₉ и участком полипептидной цепи MOG₁₈₋₃₂. Оба фрагмента способны индуцировать развитие ЭАЭ у мышей линии C57B16/J, имеющего сходные клинические и морфологические проявления и характеризующиеся поздним началом, хроническим течением, развитием очагов демиелинизации в ЦНС, представленных вакуолеобразной деградацией миелиновых оболочек [10].

Проблеме полиморфизма гена MOG посвящены исследования Roth и соавторов [76], идентифицировавших 3 варибельных участка в составе его динуклеотидной цепи. Связанные с этим изменения структуры экспрессируемого полипептида могут драматически влиять на инициацию иммунного ответа, а также его характер, обусловленный вовлечением Т или В-лимфоцитов. Возможность реализации иммунного ответа находится в непосредственной связи с генетически обусловленными особенностями главного комплекса гистосовместимости. Исследования изменения генной структуры среди пациентов с РС и здоровых лиц, однако, не выявили достоверных отличий в группах [77]. Напротив, результаты работы Barcellos и соавторов [18] демонстрируют зависимость, связанную с выраженным уменьшением числа одного из варибельных аллелей в составе гена MOG у пациентов с РС по сравнению с контрольной группой.

Исследованию полиморфизма второго гидрофобного участка молекулы MOG были посвящены исследования Rodriguez и соавторов [78], которые предположили наличие характерной для больных РС перестановки а.о. полипептидной цепи. По мнению исследователей, изменения касались замены изолейцина на валин в 145 положении. Дальнейшие исследования в этом направлении, однако, не подтвердили правильность такого утверждения [75].

В заключении необходимо отметить, что проблема изучения MOG является актуальной в связи с возрастающим вниманием к нему в качестве антигена-мишени при демиелинизирующих заболеваниях. До конца не изученными остаются вопросы, связанные с биологической функцией белка, которые представляются ключевыми в понимании его заинтересованности в патогенетических механизмах нарушений миелинизации. Крайне противоречивыми вплоть до настоящего момента являются сведения относительно спектра специфических антител в биологических жидкостях больных с демиелинизирующими заболеваниями, в частности РС. В обзор умышленно не были включены данные относительно исследований в этом направлении, изложение которых достойно отдельной публикации.

1. Deber C., Reynolds S. (1991) Clin Biochem., **24** (2), 113-134.
2. Kirschner D., Blaurock A. (1991) in: Myelin. Biology and chemistry (R.E. Martenson eds.) CRC Press: Boca Raton, Florida, pp. 413-448.
3. Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н. (1997) Рассеянный склероз, Нефть и газ, М.
4. Ballenthin P., Gardinier M. (1996) J. Neurosci. Res. **46**, 271-281.
5. Cuzner M., Norton W. (1996) Brain Pathol. **6** (3), 231-242.
6. Iglesias A., Bauer J., Litzemberger T., Schubart A., Linington C. (2001) Glia. **36**, 220-234.
7. Kerlero de Rosbo N., Honegger P., Lassmann H., Matthieu J. (1990) J. Neurochem. **55**, 583-587.
8. Weissert R., Wallstrom E., Storch M., Steffler A., Lorentzen J., Lassmann H., Linington C., Olsson T. (1998) J. Clin. Invest. **102**, 1265-1273.
9. Lebar R., Boutry J., Vincent C. et al. (1976) J. Immunol. **116**, 1439-1446.
10. Johns T., Bernard C. (1999) J. Neurochem. **72**, 1-9.
11. Slavin A., Johns T., Orian J., Bernard C. (1997) Dev. Neurosci. **19**, 69-78.
12. Amiguet P., Gardinier M., Zanetta J., Matthieu J. (1992) J. Neurochem. **58**, 1676-1682.
13. Abo S., Bernard C., Webb M., Johns T., Alafaci A., Ward L., Simpson R., Kerlero de Rosbo N. (1993) Biochem. Mol. Biol. Int. **30**, 945-958.
14. Slavin A., Ewing C., Liu J., Ichikawa M., Slavin J., Bernard C. (1998) Autoimmunity **28**, 109-120.
15. Kirschner D., Ganser A. (1980) Nature **283**, 207-210.
16. Matthieu J., Amiguet P. (1990) Dev. Neurosci. **1**, 293-302.
17. Sorg B., Agrawal D., Agrawal H. et al (1986) J. Neurochem. **46**, 379-387.
18. Barcellos L. et al. (1997) JAMA **278**, 1256-1261.
19. Birling M., Roussel G., Nussbaum F., Nussbaum J. (1993) Neurochem. Res. **18** (8), 937-945.
20. Hilton A., Slavin A., Hilton D., Bernard C. (1995) J. Neurochem. **65**, 309-318.
21. Pham-Dinh D., Mattei M., Nussbaum J., Roussel G., Pontarotti P., Roedel N., Mather I., Artzt K., Lindahl K., Dautigny A. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **90**, 7990-7994.
22. Gardinier M., Amiguet P., Linington C., Matthieu J. (1992) J. Neurosci. Res. **33**, 177-187.
23. Steffler A., Schubart A., Storch M., Amini A., Mather I., Lassmann H., Linington C. (2000) J. Immunol. **165**, 2859-2865.
24. Pham-Dinh D., Jones E., Pitiot G., Della Gaspera B., Daubas P., Mallet J., Le Paslier D., Fischer Lindahl K., Dautigny A. (1995) Immunogenetics. **42**, 386-391.
25. Pham-Dinh D., Della Gaspera B., Kerlero de Rosbo N., Dautigny A. (1995) Genomics. **29** (2), 345-352.
26. Gardinier M., Matthieu J. (1993) Schweiz. Arch. Neurol. Psychiatr. **144**, 201-207.
27. Bettadapura J., Menon K., Moritz S., Liu J., Bernard C. (1998) J. Neurochem. **70**, 1593-1599.
28. Dahlman I., Wallstrom E., Weissert R., Storch M., Kornek B., Jacobsson L., Linington C., Luthman H., Lassmann H., Olsson T. (1999) Hum. Mol. Genet. **8**, 2183-2190.
29. della Gaspera B., Pham-Dinh D., Roussel G., Nussbaum J., Dautigny A. (1998) Eur. J. Biochem. **258**, 478-484.
30. Kroepfl J., Viise L., Charron A., Linington C., Gardinier M. (1996) J. Neurochem. **67**, 2219-2222.
31. Korb L., Ahearn J. (1997) J. Immunol., **158**, 4525-4528.

32. Kroepfl J., Gardinier M. (2001) *J. Neurochem.* **77**, 1301-1309.
33. Hjelmstrom P., Penzotti J., Henne R., Lybrand T. (1998) *J. Neurochem.* **71**, 1742-1749.
34. Brehm U., Piddlesden S., Gardinier M., Linington C. (1999) *J. Neuroimmunol.* **97**, 9-15.
35. Johns T., Bernard C. (1997) *Mol. Immunol.* **34**, 33-38.
36. Albouz-Abo S., Wilson J., Bernard C., von Itzstein M. (1997) *Eur. J. Biochem.* **246**, 59-70.
37. Ichikawa M., Johns T., Liu J., Bernard C. (1996) *J. Immunol.* **157**, 919-926.
38. Carotenuto A., D'Ursi A., Nardi E., Papini A., Rovero P. (2001) *J. Med. Chem.* **44**, 2378-2381.
39. Kerlero de Rosbo N., Hoffman M., Mendel I., Yust I., Kaye J., Bakimer R., Flechter S., Abramsky O., Milo R., Karni A., Ben-Nun A. (1997) *Eur. J. Immunol.* **27**, 3059-3069.
40. Spahn T., Issazadah S., Salvin A., Weiner H. (1999) *Eur. J. Immunol.* **29**, 4060-4071.
41. Linington C., Lassmann H. (1987) *J. Neuroimmunol.* **17**, 61-69.
42. Linington C., Webb M., Woodhams P. (1984) *J. Neuroimmunol.* **6**, 387-396.
43. Bernard C., Johns T., Slavin A., Ichikawa M., Ewing C., Liu J., Bettadapura J. (1997) *J. Mol. Med.* **75**, 77-88.
44. Lyons J., Ramsbottom M., Cross A. (2002) *Eur. J. Immunol.* **32**, 1905-1913.
45. Pham-Dinh D., Allinquant B., Ruberg M., Della Gaspera B., Nussbaum J., Dautigny A. (1994) *J. Neurochem.* **63**, 2353-2356.
46. Solly S., Thomas J., Monge M., Demerens C., Lubetzki C., Gardinier M., Matthieu J., Zalc B. (1996) *Glia* **18**, 39-48.
47. Coffey J., McDermott K. (1997) *J. Neurocytol.* **26**, 149-161.
48. Scolding N., Frith S., Linington C., Morgan B., Campbell A., Compston D. (1989) *J. Neuroimmunol.* **22**, 169-76.
49. Solly S., Daubas P., Monge M., Dautigny A., Zalc B. (1997) *J. Neurochem.* **68**, 1705-1711.
50. Burger D., Steck A., Bernard C., Kerlero de Rosbo N. (1993) *J. Neurochem.* **61**, 1822-1827.
51. Bettadapura J., Menon K., Moritz S., Liu J., Bernard C. (1998) *J. Neurochem.* **70**, 1593-1599.
52. Honegger P., Matthieu J., Lassmann H. (1989) *Schweiz Arch Neurol Psychiatr.* **140**, 10-13.
53. Dyer C., Matthieu J. (1994) *J. Neurochem.* **62**, 777-787.
54. Menon K., Piddlesden S., Bernard C. (1997) *J. Neurochem.* **69**, 214-222.
55. Linington C., Morgan B., Scolding N., Wilkins P., Piddlesden S., Compston D. (1989) *Brain* **112**, 895-911.
56. Piddlesden S., Lassmann H., Laffafian I., Morgan B., Linington C. (1991) *Clin. Exp. Immunol.* **83**, 245-250.
57. Quarles R. (1997) *J. Mol. Neurosci.* **8**, 1-12.
58. Johns T., Kerlero de Rosbo N., Menon K., Abo S., Gonzales M., Bernard C. (1995) *J. Immunol.* **154**, 5536-5541.
59. Stefferl A., Brehm U., Storch M., Lambracht-Washington D., Bourquin C., Wonigeit K., Lassmann H., Linington C. (1999) *J Immunol.* **163**, 40-49.
60. Berger T., Reindl M. (2000) *J. Neural. Transm. Suppl.* **60**, 351-360.
61. von Budingen H., Tanuma N., Villoslada P., Ouallet J., Hauser S., Genain C. (2001) *J. Clin. Immunol.* **21**, 155-170.
62. Egg R., Reindl M., Deisenhammer F., Linington C., Berger T. (2001) *Mult. Scler.* **7**, 285-289.
63. Haase C., Guggenmos J., Brehm U., Andersson M., Olsson T., Reindl M., Schneidewind J., Zettl U., Heidenreich F., Berger T., Wekerle H., Hohlfeld R., Linington C. (2001) *J. Neuroimmunol.* **114**, 220-225.

МИЕЛИН-ОЛИГОДЕНДРОГЛИОЦИТАРНЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН

64. Ichikawa M., Koh C., Inoue A., Tsuyusaki J., Yamazaki M., Inaba Y., Sekiguchi Y., Itoh M., Yagita H., Komiyama A. (2000) *J. Neuroimmunol.* **102**, 56-66.
65. Mendel I., Gur H., Kerlero de Rosbo N., Ben-Nun A. (1999) *J. Neuroimmunol.* **96**, 9-20.
66. Schluesener H., Sobel R., Linington C., Weiner H. (1987) *J. Immunol.* **139**, 4016-4021.
67. Steffler A., Brehm U., Linington C. (2000) *J. Neural. Transm. Suppl.* **58**, 123-133.
68. Storch M., Weissert R., Steffler A., Birnbacher R., Wallstrom E., Dahlman I., Ostensson C., Linington C., Olsson T., Lassmann H. (2002) *Brain Pathol.* **12**, 287-299.
69. Svensson L., Abdul-Majid K., Bauer J., Lassmann H., Harris R., Holmdahl R. (2002) *Eur. J. Immunol.* **32**, 1939-1946.
70. Weissert R., de Graaf K., Storch M., Barth S., Linington C., Lassmann H., Olsson T. (2001) *J. Immunol.* **166**, 7588-7599.
71. Weissert R., Kuhle J., de Graaf K., Wienhold W., Herrmann M., Muller C., Forsthuber T., Wiesmuller K., Melms A. (2002) *J. Immunol.* **169**, 548-556.
72. Xiao B., Linington C., Link H. (1991) *J. Neuroimmunol.* **31**, 91-96.
73. Van der Goes A., Kortekaas M., Hoekstra K., Dijkstra C., Amor S. (1999) *J. Neuroimmunol.* **101**, 61-67.
74. Mokhtarian F., Zhang Z., Shi Y., Gonzales E., Sobel R. (1999) *J. Neuroimmunol.* **95**, 43-54.
75. Ohlenbusch A., Pohl D., Hanefeld F. (2002) *Pediatr. Res.* **52**, 175-179.
76. Roth M., Malfroy L., Offer C., Sevin J., Enault G., Borot N., Pontarotti P., Coppin H. (1995) *Genomics.* **28**, 241-250.
77. Gomez-Lira M., Moretto G., Bonamini D., Benedetti M., Pignatti P., Rizzuto N., Salviati A. (2002) *J. Neuroimmunol.* **133**, 241-243.
78. Rodriguez D., Della Gaspera B., Zalc B., Hauw J., Fontaine B., Edan G., Clanet M., Dautigny A., Pham-Dinh D. (1997) *Mult. Scler.* **3**, 377-381.

Поступила 01.07.2003

MYELIN OLIGODENDROGLIOCYTE GLYCOPROTEIN: THE STRUCTURE, FUNCTIONS, ROLE IN PATHOGENESIS OF DEMYELINATING DISEASES.

V.P. Chekhonin, A.V. Semenova, O.I. Gurina, T.B. Dmitrieva

Serbsky National Research Centre For Social and Forensic Psychiatry
23 Kropotkinsky Per., Moscow, 119992 Russia

Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) is a myelin-specific protein of the central nervous system (CNS). It is a member of the immunoglobulin superfamily. The contents of this protein in oligodendrocyte membrane is very low (approximately 0.1% total proteins). Functions of MOG are still unknown. It is considered that MOG is an autoantigen capable to produce a demyelinating multiple sclerosis-like disease in experimental animals. The structure, membrane topology, putative functions and role in demyelinating diseases are considered in this review.

Key words: myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG), myelin, genom, complement, immune response, demyelination