

## ОБЗОРЫ

УДК 577.151.45; 577.151.6

©Коллектив авторов

### ФУРИН КАК ПРОПРОТЕИНКОНВЕРТАЗА И ЕГО РОЛЬ В НОРМАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

*Н.И. Соловьева\*, Т.А. Гуреева, О.С. Тимошенко, Т.А. Москвитина, Е.В. Кугаевская*

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,  
Москва 119121, ул. Погодинская, 10; тел.: (499) 246-50-72; эл. почта: Nina.Solovyeva@ibmc.msk.ru

Фурин относится к внутриклеточным сериновым  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимым эндопептидазам семейства субтилизина, так называемым пропротеинконвертазам (ПК). В тканях человека фурин синтезируется как зимоген с молекулярной массой 104 кДа, который затем активируется автокаталитически в две стадии. Этот процесс происходит при миграции зимогена из эндоплазматического ретикула в аппарат Гольджи, где и накапливается большая часть фурина. Молекулярная масса активного фурина составляет 98 кДа. Фурин относится к ферментам с выраженной субстратной специфичностью. Он гидролизует пептидные связи в месте спаренных основных аминокислот и проявляет активность в широком диапазоне pH 5-8. Основная биологическая функция фурина, как ПК, заключается в активации функционально значимых белков-предшественников, что сопровождается запуском каскадных реакций и приводит к возникновению биологически активных молекул, действие которых направлено на осуществление определённых биологических функций как в норме, так и при ряде патологических процессов. Субстратами фурина являются такие биологически важные белки, как ферменты, гормоны, факторы роста и дифференцировки, рецепторы, адгезивные белки, белки плазмы крови. Фурин играет важную роль в развитии таких процессов как пролиферация, инвазия, миграция клеток, выживаемость, поддержание гомеостаза, эмбриогенез, а также при развитии целого ряда патологий, включая сердечно-сосудистые, онкологические и нейродегенеративные заболевания. Фурин и фуриноподобные ПК являются ключевыми факторами в регуляторной функции протеолитических ферментов, значение которой в настоящее время оценивается как наиболее важное в сравнении с известной функцией протеиназ в деградации белков.

**Ключевые слова:** фурин, доменная структура, специфичность, МТ1-ММР, факторы роста, натрийуретические пептиды

**DOI** 10.18097/PBMC20166206609

## ВВЕДЕНИЕ

Протеолитические ферменты наряду с деградативными выполняют и регуляторные функции, поскольку они отвечают за активацию, инактивацию и модификацию свойств целого ряда биологически активных молекул. Фурин (КФ 3.4.21.75) относится к типу сериновых внутриклеточных  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых эндопептидаз семейства субтилизина, так называемым пропротеинконвертазам (ПК) [1, 2]. Известно девять ПК, которые имеют гомологию с субтилизин-подобными бактериальными эндопептидазами и дрожжевыми кексинами (протеиназами из почкующихся дрожжей). Они включают: сам фурин или PACE (Paired basic Amino acid Cleaving Enzyme) или SPC1 (Subtilisin-like Proprotein Convertase 1; ПК2 или PC2 (Proprotein Convertase 2 или SPC2 – Subtilisin-like Proprotein Convertase 2, КФ 3.4.21.94); ПК1/3 или PC1/3 (SPC2, КФ 3.4.21.93); PACE4 (КФ 3.4.21.B25); ПК4 или PC4 (SPC5, КФ 3.4.21.B24); ПК5/6 или PC5/6 (SPC6-A, КФ 3.4.21.B26); LPC (Lymphoma Proprotein Convertase, PC7 или PC8 – SPC7, КФ 3.4.21.B27); SKI-1 (Subtilisin/Kexin-Isozyme-1 или SIP-1 – Site-1 Proteinase, КФ 3.4.21.112); PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin-like/Kexin type, КФ 3.4.21.). ПК, к которым относится и фурин, обладают сходной специфичностью по отношению к субстратам и ингибиторам, их активные центры эволюционно консервативны и высоко гомологичны.

ПК характеризуются сродством к основным аминокислотам, их специфичность связана с неполярными аминокислотными остатками [3, 4]. ПК выполняют важные регуляторные функции при развитии целого ряда биологических процессов в норме и при патологиях. Наиболее исследованной ПК является фурин.

## 1. СТРУКТУРА ФУРИНА И РОЛЬ ЕГО ДОМЕНОВ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ФЕРМЕНТА

Фурин обнаружен во всех тканях и линиях клеток, о чём свидетельствует присутствие в них гена *fur*, который экспрессирует фурин (от него и произошло название фермента). У человека фурин синтезируется в виде предшественника с молекулярной массой 104 кДа, состоящего из 794 аминокислотных остатков (а.о.). Молекулярная масса активного фурина, состоящего из нескольких доменов, равна 98 кДа. Фурин относится к трансмембранным белкам. Структура фурина схематически представлена на рисунке 1 [1, 3, 5]. Она включает сигнальный пептид (24 а.о), пропептид (83 а.о), субтилизиноподобный каталитический домен (337 а.о.), Р-домен, необходимый для каталитической активности (133 а.о.), богатый цистеином домен, состоящий из 12 остатков Cys, а на С-конце белка находится трансмембранная спираль (21 а.о) и С-концевой цитоплазматический домен из 58 а.о.

\* - адресат для переписки

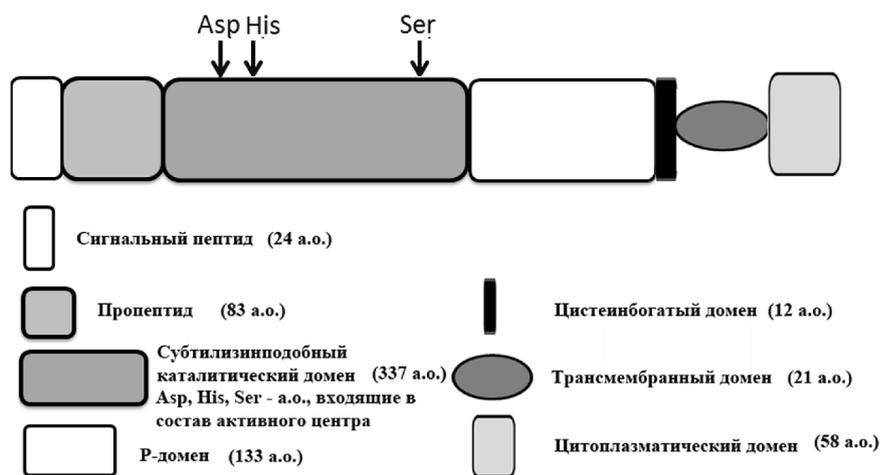


Рисунок 1. Доменная структура фурина человека.

Каждый участок полипептидной цепи зимогена фурина выполняет определенную функцию, направленную на “созревание” молекулы фермента и проявление его активности. Сигнальный пептид определяет локализацию фурина в эндоплазматическом ретикулуме. После его удаления происходит гликозилирование фермента и образование двух дисульфидных связей, то есть формирование определенного структурного состояния молекулы, что обеспечивает первое автокаталитическое расщепление по Arg<sup>107</sup>. Пропептид важен для активации, а также для регуляции активности и транспорта фурина. Он выполняет функцию шаперона и важен для фолдинга молекулы фермента, который является многоступенчатым процессом и зависит от того, как, по какой связи, и где, в каком компартменте клетки происходит отщепление пропептида. Этот процесс происходит в две стадии – быструю и медленную, которые осуществляются в разных компартментах клетки [6, 7]. В эндоплазматическом ретикулуме происходит автокаталитический гидролиз пропептида по Arg<sup>104</sup>-Thr<sup>105</sup>-Lys<sup>106</sup>-Arg<sup>107</sup> в нейтральной среде (рис. 1); при этом пропептид остается ассоциированным с молекулой фермента и образует комплекс пропептид-фурин, в котором он действует как ингибитор. Это быстрая стадия: её полупериод составляет около 10 мин. Эта стадия необходима для осуществления фолдинга фермента и транслокации фурина. После того как фермент мигрирует в аппарат Гольджи, где в слабокислой среде происходит гидролиз пропептида по второй связи Arg<sup>75</sup>-Ser<sup>76</sup> в последовательности Arg<sup>71</sup>-Gly-Val-Thr-Arg<sup>75</sup>-Ser<sup>76</sup>. Это медленная стадия, полупериод которой составляет около 2 ч. Каталитический домен фурина содержит характерные для сериновых протеиназ аминокислотные остатки – Ser<sup>368</sup>, His<sup>194</sup>, Asp<sup>153</sup> (рис. 1). Остаток Ser выполняет функцию нуклеофила, His отвечает за депротонирование -ОН группы серина, а остаток Asp стабилизирует остаток His. Р-домен важен для стабилизации каталитического домена, а также для проявления активности фурина в зависимости от pH и присутствия

ионов Ca<sup>2+</sup>. У субтилизина, к семейству которого относится фурин, такой домен отсутствует. Цитоплазматический домен отвечает за локализацию фермента не только в аппарате Гольджи, но и в других компартментах клетки, где он может активировать различные пробелки. Внутриклеточное движение фурина контролируется процессами фосфорилирования и дефосфорилирования остатков Ser, локализованных в этом домене. Двухступенчатое удаление пропептидов является общей способностью для активации ПК. Гидролиз первой связи обеспечивает внутримолекулярный фолдинг и транслокацию ПК, а гидролиз второй связи происходит тогда, когда фермент попадает в свой клеточный компартмент. Присутствие фурина, в различных компартментах эндосомальной системы, может объяснить способность фурина активировать большое количество разнообразных субстратов [1, 3, 5].

Фурин относится к внутриклеточным протеиназам, поэтому он отсутствует в биологических жидкостях в норме. Однако при удалении трансмембранного и цитоплазматического доменов с С-конца молекулы в модельных системах укороченная рекомбинантная форма становится растворимой. Эта форма обладает полной протеолитической активностью и широко используется для исследования энзиматических, кинетических и других свойств фермента [8]. В 2003 году растворимая форма фурина мыши была закристаллизована в комплексе с необратимым ингибитором. Рентгеноструктурный анализ комплекса показал, что фурин состоит из двух доменов: каталитического и Р-домена, которые связаны междоменным линкером и могут эффективно взаимодействовать между собой [5]. В 2014 году проведен рентгеноструктурный анализ растворимой формы фурина человека (последовательность Asp<sup>23</sup>-Ala<sup>574</sup>) в комплексе с конкурентным ингибитором, который позволил определить координаты его активного центра и сайты, связывающие три иона Ca<sup>2+</sup> и ион Na<sup>+</sup>, требующиеся для активности фермента. Эти исследования являются необходимым условием для создания эффективных, высокоспецифичных ингибиторов фурина нового поколения [9].

## 2. СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФУРИНА

Большая часть фурина накапливается в аппарате Гольджи, где он осуществляет свою основную функцию – активацию белков-предшественников. Фурин относится к ферментам с выраженной узкой субстратной специфичностью [10-12]. Его достаточно распространенное название PACE означает, что этот фермент расщепляет белок в месте спаренных основных аминокислот. Он гидролизует белковые субстраты после последовательности аминокислот – Arg-X-Lys/Arg-Arg (RXX/RR) [11], причём в положениях P<sub>1</sub> и P<sub>4</sub> [13] должен находиться Arg (таблица). Фурин может гидролизовать и последовательность – Arg-X-X-Arg- [11], хотя и менее эффективно. Следует отметить, что фурин проявляет активность в широком диапазоне pH 5-8 (в зависимости от структуры субстрата). Фурин относится к кальций-зависимым ферментам. Для проявления его максимальной активности требуется присутствие ионов Ca<sup>2+</sup> в концентрации 1 мМ, а на стадии деацилирования участвуют ионы калия (20 мМ) [14].

## 3. ИНГИБИТОРЫ ФУРИНА

Учитывая важные биологические функции фурина и его роль в развитии многих патологических состояний, исследованию и разработке ингибиторов этого фермента уделяется большое внимание. Основные данные по ингибиторам фурина и ПК представлены в обзорах [15-17]. Ингибиторы фурина по химической природе можно разделить на белковые, пептидные, пептидоподобные или псевдопептидные и синтетические (ингибиторы непептидной природы) [18-21]. Для фурина известно три ингибитора белковой природы: 1) эндогенный ингибитор сериновых протеиназ (PI8) – серпин овальбуминового типа (K<sub>i</sub> = 53,8 пМ); 2) интер-альфа-ингибиторный белок (IαIр) плазмы крови (показано действие против сибирской язвы); 3) серпин Spn4A плодовой мушки *Drosophila melanogasta* (K<sub>i</sub> = 13 пМ). Для других ПК известно три белковых ингибитора с достаточно узкой специфичностью действия: для ПК – PC2 – белок про7B2 секреторных нейроэндокринных гранул (K<sub>i</sub> = 6,7 нМ); специфический ингибитор PC2-родственный цистатину белок яиц – CRES (K<sub>i</sub> = 25 нМ), а также селективный ингибитор для PC1 – нейроэндокринный белок проSAAS (IC<sub>50</sub> = 590 нМ). Для ПК и фурина главным образом, на основе природных ингибиторов сериновых протеиназ – серпинов методом направленного мутагенеза создано несколько биоинженерных белковых ингибиторов. На основе ингибитора α1-антитрипсина создано несколько мутантов, в том числе мутант, названный α1-антитрипсин Portland-α1-PDX (K<sub>i</sub> = 1,4 нМ), который обладает антибактериальным и противовирусным действием, особенно выраженным против HIV [21]. На основе эглина созданы ингибиторы для фурина различной эффективности (K<sub>i</sub> от 1,6 нМ до 330 пМ). Ряд ингибиторов ПК пептидной природы созданы на основе белков и пептидов: С-концевой фрагмент белкового ингибитора ПК про7B2 (K<sub>i</sub> от мкМ до нМ);

С-концевой фрагмент белкового ингибитора ПК – проSAAS (K<sub>i</sub> от мкМ до нМ); полипептиды, производные пропептидов ПК (K<sub>i</sub> в пределах нМ); циклические пептиды и псевдопептиды (K<sub>i</sub> в пределах от мкМ до нМ); пептидные хлорметилкетоны (K<sub>i</sub> = 3,4 нМ); полиаргинин содержащие пептиды (от 4 до 10 остатков Arg, K<sub>i</sub> = 40-74 мкМ), которые обладают антибактериальным, противовирусным и антиканцерогенным действием [22-24], и др.

Ингибиторами фурина и ПК является целый ряд соединений, которые не относятся к белкам и пептидам. Активность фурина снижается под действием ЭГТА, хелатирующего ионы кальция; катионы Zn<sup>2+</sup> и Hg<sup>2+</sup> тормозят активность фурина полностью. Фурин ингибируется цинк- и медьсодержащими комплексами производных пиридина (IC<sub>50</sub> = 5-10 мкМ), а также производными 2,5-дидезоксистерптамина (K<sub>i</sub> = 6-812 нМ), производными дикумарола (K<sub>i</sub> = 1-185 мкМ), флавоноидами (K<sub>i</sub> = 5-230 мкМ) и др. [16].

Проведённые *in vitro* и *in vivo* многочисленные исследования ингибиторов ПК свидетельствуют о потенциальной возможности их использования в качестве терапевтических средств, о чём свидетельствуют 17 патентов, полученных с 1994 по 2013 годы [17]. Однако внедрённых в клиническую практику препаратов не существует. Наиболее продвинутыми в контексте клинического применения являются исследования по использованию ингибиторов фурина и других ПК против бактериальных и вирусных инфекций, а также при онкологических заболеваниях [15, 22, 23]. Основные трудности по внедрению ингибиторов ПК в клинику связаны с их проницаемостью в клетки, так как многие исследования проведены на растворимой форме фурина, а также с недостаточными данными по профилю токсичности ингибиторов, возможными последствиями их действия для здоровья, влиянием на иммунную толерантность и выявленной летальностью эмбрионов у мышей [16, 23, 25]. Поиск новых ингибиторов и исследование их действия на разных уровнях продолжается [17, 26].

## 4. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ФУРИНА

Биологические функции фурина связаны с активацией клеточных белков-предшественников, которые под действием фурина и фуриноподобных ПК превращаются в функционально активные формы. К числу таких белков относятся: ферменты (матриксные металлопротеиназы (ММП) – МТ1,2,3,5-ММП, стромелизин-3, АДАМ), гормоны (паратироидный гормон, эндотелин, натрийуретические пептиды), факторы роста и дифференцировки (TGFβ, IGF-1, VEGF-C, PDGF-A,B), рецепторы (инсулина, IGF1, HGF), адгезивные белки (цепи интегринов-α3,4,5,6 и αV), белки плазмы крови (альбумин, факторы коагуляции VII, IX, X) (таблица). Фурин и фуриноподобные ПК играют важную роль в поддержании гомеостаза, в эмбриогенезе и других биологических процессах, а также в развитии целого ряда патологий. Фурин участвует в процессинге ряда токсинов вирусов и

## ФУРИН И ЕГО РОЛЬ В НОРМАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Таблица. Аминокислотные последовательности в сайтах расщепляемой фурином связи при активации биологически активных пробелков

| Субстрат  | Сайт расщепления |                |                |                |                |                |                |   |                  |                  | ссылка   |
|---|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---|------------------|------------------|----------|
|   | P <sub>7</sub>   | P <sub>6</sub> | P <sub>5</sub> | P <sub>4</sub> | P <sub>3</sub> | P <sub>2</sub> | P <sub>1</sub> |   | P <sub>1</sub> / | P <sub>2</sub> / |          |
| Факторы роста и гормоны                                 |                  |                |                |                |                |                |                |   |                  |                  |          |
| Трансформирующий ростовой фактор бета (TGF-β1) человека | Gln              | Ser            | Ser            | Arg            | His            | Arg            | Arg            | - | Ala              | Leu              | 135, 136 |
| Инсулиноподобный фактор роста 1 человека (IGF)          | Lys              | Pro            | Ala            | Lys            | Ser            | Ala            | Arg            | - | Ser              | Val              | 65       |
| Эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF-C) человека   | Val              | His            | Ser            | Ile            | Ile            | Arg            | Arg            | - | Ser              | Leu              | 76       |
| Тромбоцитарный фактор роста (PDGF-A) человека           | Leu              | Pro            | Ile            | Arg            | Arg            | Lys            | Arg            | - | Ser              | Ile              | 76       |
| Паратиреоидный гормон человека                          | Gly              | Lys            | Ser            | Val            | Lys            | Lys            | Arg            | - | Ser              | Val              | 137      |
| Натрийуретический пептид предсердий человека (ANP)      | Ala              | Leu            | Leu            | Thr            | Ala            | Pro            | Arg            | - | Ser              | Leu              | 108, 115 |
| Натрийуретический пептид мозга человека (BNP)           | Tyr              | Thr            | Leu            | Arg            | Ala            | Pro            | Arg            | - | Ser              | Pro              | 108, 115 |
| Натрийуретический пептид С-типа человека (CNP)          | Tyr              | Lys            | Gly            | Ala            | Asn            | Lys            | Lys            | - | Gly              | Leu              | 108      |
| Рецепторы поверхности клеток                            |                  |                |                |                |                |                |                |   |                  |                  |          |
| Рецептор инсулина человека                              | Arg              | Pro            | Ser            | Arg            | Lys            | Arg            | Arg            | - | Ser              | Leu              | 138      |
| Рецептор фактора роста гепатоцитов (HGF)                | Thr              | Glu            | Lys            | Arg            | Lys            | Lys            | Arg            | - | Ser              | Thr              | 139      |
| Интегрин альфа 3 человека                               | Ser              | Pro            | Gln            | Arg            | Arg            | Arg            | Arg            | - | Gln              | Leu              | 140      |
| Интегрин альфа 6 человека                               | His              | Asn            | Ser            | Arg            | Lys            | Lys            | Arg            | - | Glu              | Ile              | 140      |
| Рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 человека     | Arg              | Pro            | Glu            | Arg            | Lys            | Arg            | Arg            | - | Asp              | Val              | 66, 67   |
| Матриксные металлопротеиназы                            |                  |                |                |                |                |                |                |   |                  |                  |          |
| Стромелизин 3 человека                                  | Ala              | Arg            | Asn            | Arg            | Gln            | Lys            | Arg            | - | Phe              | Val              | 141      |
| MT1-ММП человека  | Ala              | Asn            | Val            | Arg            | Arg            | Lys            | Arg            | - | Tyr              | Ala              | 37-39    |
| MT2-ММП человека  | Leu              | Arg            | Arg            | Arg            | Arg            | Lys            | Arg            | - | Tyr              | Ala              | 37       |
| MT3-ММП человека  | Phe              | His            | Ile            | Arg            | Arg            | Lys            | Arg            | - | Tyr              | Ala              | 37       |
| MT5-ММП человека  | Arg              | Arg            | Arg            | Arg            | Asn            | Lys            | Arg            | - | Tyr              | Ala              | 37       |
| Гликопротеины вирусной оболочки                         |                  |                |                |                |                |                |                |   |                  |                  |          |
| Вирус иммунодефицита человека (HIV-1gp160)              | Val              | Val            | Gln            | Arg            | Glu            | Lys            | Arg            | - | Ala              | Val              | 142, 143 |
| Гемагглютинин вируса птичьего гриппа                    | Ser              | Lys            | Lys            | Arg            | Glu            | Lys            | Arg            | - | Gly              | Leu              | 144      |
| Вирус кори Fo   | Ser              | Ser            | Arg            | Arg            | His            | Lys            | Arg            | - | Phe              | Ala              | 145      |
| Вирус карельской лихорадки                              | Ser              | Ser            | Gly            | Arg            | Ser            | Lys            | Arg            | - | Ser              | Val              | 146      |
| Бактериальные экзотоксины                               |                  |                |                |                |                |                |                |   |                  |                  |          |
| Защитный антиген токсина сибирской язвы                 | Ser              | Asn            | Ser            | Arg            | Lys            | Lys            | Arg            | - | Ser              | Thr              | 147      |
| Дифтерийный токсин                                      | Ala              | Gly            | Asn            | Arg            | Val            | Arg            | Arg            | - | Ser              | Val              | 148      |
| Экзотоксин A <i>Pseudomonas</i>                         | Thr              | Arg            | His            | Arg            | Gln            | Pro            | Arg            | - | Gly              | Trp              | 146      |

микроорганизмов (таблица). Для созревания белковой оболочки вирусов, таких как ВИЧ, вирус птичьего гриппа, вирус F<sub>0</sub> кори, вирус геморрагической лихорадки Эбола, необходимо расщепление фурином или фуриноподобными протеиназами белков оболочек этих вирусов (таблица) [10]. Фурин необходим для активации таких экзотоксинов, как токсин сибирской язвы, дифтерийный токсин, экзотоксин *Pseudomonas*. Только после их расщепления при попадании в клетку токсины становятся активными (таблица) [10]. Фурин и другие ПК играют важную роль в развитии таких заболеваний, как рак [25], атеросклероз [27], нейродегенеративные заболевания, а также в нарушении процессов метаболизма, в частности, при гиперхолестеролемии, которая является причиной сердечно-сосудистых заболеваний. В связи с важной ролью фурина в развитии целого ряда патологических процессов большое внимание уделяется разработке терапевтических средств на основе его ингибиторов [17]. Остановимся на участии фурина в развитии таких патологий как онкологические и сердечно-сосудистые заболевания.

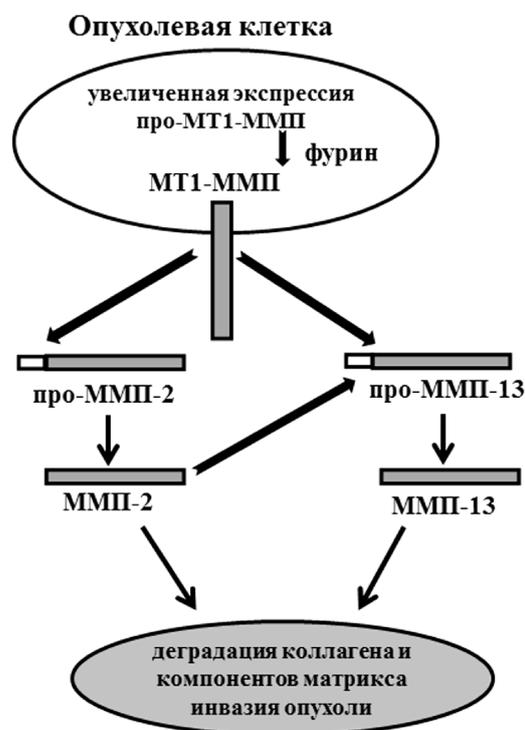
## 5. УЧАСТИЕ ФУРИНА В РАЗВИТИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Роль фурина в развитии онкологических процессов связана в основном с активацией предшественников мембраносвязанных матриксных металлопротеиназ (про-МТ-ММП) и ряда факторов роста (ФР), которые запускают целый каскад реакций, индуцирующих и усиливающих развитие злокачественных опухолей [25, 28, 29]. Фурин в основном находится в аппарате Гольджи, он обнаружен во всех тканях и большинстве клеточных линий. Экспрессия фурина в нормальных тканях и клетках значительно ниже по сравнению с большинством опухолевых тканей и клеточных линий. Высокая экспрессия фурина и фуриноподобных конвертаз приводит к активации ряда функционально значимых для трансформации клеток молекул и способствует прогрессии опухоли [25, 28, 30]. Так высокая экспрессия фурина показана как в опухолевых тканях, так и в клеточных линиях рака молочной железы [31]. При раке яичника высокая экспрессия этого фермента была связана со снижением продолжительности жизни [32]. Экспрессия фурина отсутствовала в неметастизирующих карциномах головы и шеи, в то время как в случае метастазирования его экспрессия была на высоком уровне [33]. Экспрессия этого фермента коррелировала со степенью развития плоскоклеточной карциномы языка. Самая высокая экспрессия была обнаружена в наиболее агрессивных линиях клеток карциномы, в то время как в менее агрессивных линиях экспрессия фурина была существенно ниже [30, 33]. Итак, увеличение экспрессии фурина сопровождается увеличением степени агрессивности опухоли и способствует образованию метастазов, что снижает продолжительность жизни онкологических больных. На развитие онкологического процесса существенное

влияние оказывает активация фурином функционально значимых для этого процесса факторов роста: тромбоцитарного, инсулиноподобного, трансформирующего и фактора некроза опухолей, которые способствуют росту, развитию и инвазивности опухолей [33-35]. Активация фурином таких ферментов как мембраносвязанные матриксные металлопротеиназы (МТ-ММП) приводит к увеличению подвижности клеток, а также к увеличению деструктивного потенциала опухоли и развитию инвазивного и метастатического потенциалов [37-39].

### 5.1. Фурин, как фактор, запускающий каскад реакций, связанных с активацией мембраносвязанных матриксных металлопротеиназ (МТ-ММП) – ключевых ферментов развития процессов инвазии и метастазирования опухолей

Фурин отвечает за активацию МТ-ММП – МТ1-ММП, МТ2-ММП и МТ3-ММП, которые локализованы на клеточной поверхности в активной форме, а их активация фурином и другими ПК происходит внутри клетки в аппарате Гольджи (таблица, рис. 2). Участок полипептидной цепи, содержащий последовательность специфичную для действия фурина, находится между про- и каталитическим доменом проМТ-ММП – Arg-Arg-Lys-Arg – Tyr-Ala- (таблица, рис. 2) [37-39]. Активные МТ-ММП, обладающие выраженной субстратной специфичностью, участвуют не только в деградации соединительнотканного матрикса (СТМ) в месте своей локализации на клеточной поверхности, но и могут путем активации других ММП запускать каскад протеолитических реакций, инициируя и усиливая распад СТМ [37].



**Рисунок 2.** Запуск фурином каскада активации: про-МТ1-ММП → МТ1-ММП → про-ММП-2 и про-ММП-13 → ММП-2 и ММП-13 → деградация ткани.

## ФУРИН И ЕГО РОЛЬ В НОРМАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Активируя МТ-ММП, фурин запускает сложный каскадный процесс, который выполняет ключевую функцию в развитии процессов инвазии и метастазирования. К чему приводит активация МТ-ММП? МТ-ММП находится в перичеллюлярном пространстве. Они запускают гидролиз фибриллярных коллагенов, которые составляют основу соединительнотканного барьера при развитии деструктивных инвазивных процессов, а также участвуют в гидролизе коллагена базальных мембран (через ММП-2), способствуя метастазированию [40-42]. В настоящее время у человека известно шесть МТ-ММП [37, 43]. Наиболее изученной является МТ1-ММП (рис. 3). Этот фермент специфически гидролизует фибриллярные коллагены I, II и III типов, а также целый ряд адгезивных молекул матрикса, таких как фибронектин, ламинин, витронектин и другие биологически активные молекулы, что приводит к нарушению клеточных адгезивных свойств, деструкции матрикса и развитию инвазивного процесса [37]. Однако этот фермент непосредственно не гидролизует коллаген IV типа, основу базальных мембран, но он активирует проММП-2, которая гидролизует коллаген IV типа и обеспечивает развитие метастатического процесса [44-46]. МТ1-ММП отвечает за активацию и проММП-13 (коллагеназы 3), которая обладает широкой субстратной специфичностью, гидролизует фибриллярные коллагены, коллаген IV типа и целый ряд компонентов СТМ, принимает участие в развитии онкологических процессов [43, 46, 47]. Механизм активации этого фермента неизвестен [24]. МТ2-ММП также гидролизует фибриллярный коллаген I типа, но в 100 раз менее эффективно, чем МТ1-ММП [48]. МТ3-ММП гидролизует коллаген III типа, но не коллаген I типа [37].

Итак, увеличение активных форм МТ-ММП и, в частности МТ1-ММП, сопровождается развитием целого ряда биологически важных процессов как в норме, так и при патологиях. МТ1-ММП отвечает за деструкцию фибриллярных коллагенов в перичеллюлярном пространстве и тем самым обеспечивает локальную деструкцию ткани и развитие

процессов инвазии и метастазирования [37]. Этот фермент способствует росту опухоли [37], он участвует в процессах эпителиального морфогенеза [49], ангиогенеза [50], воспаления [51], является ключевым фактором в развитии глиобластомы и медуллобластомы мозга и совместно с ММП-2 и ММП-9 функционирует на инвазивном фронте опухоли [52-54]. Установлена важная роль МТ1-ММП в развитии целого ряда опухолей, таких как рак яичника [55, 56], рак матки [57], карцинома шейки матки [58-60], рак простаты [61], аденома гипофиза [62], рак носоглотки [63].

Таким образом, фурин запускает каскадные реакции, которые сопровождаются активацией ряда ММП и других биологически активных молекул, что приводит к развитию целого ряда физиологических процессов в нормальных и патологических тканях.

### 5.2. Участие фурина в активации факторов роста и регуляции развития онкологических процессов

В регуляции развития злокачественных опухолей принимает участие целый ряд факторов роста. В таблице и на рисунке 4 представлены данные об участии фурина и других ПК в активации предшественников факторов роста и их рецепторов, ассоциированных с онкогенезом.

#### 5.2.1. Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1)

IGF1 принадлежит к семейству инсулиноподобных факторов роста, включающих также IGF2, проинсулин и релаксин [64]. IGF1 структурно и функционально близок инсулину. В организме он синтезируется в виде двух предшественников – проIGF1A и проIGF1B, которые активируются фурином (таблица) [65]. Цепи предшественников содержат четыре идентичных домена, которые впоследствии образуют зрелую форму IGF1, а также C-концевые участки, отличающиеся длиной полипептидной цепи и содержащие уникальный мотив KXXKXXR<sup>71</sup>-XXRXXR, по которому происходит гидролиз фурином. Зрелая форма IGF1 содержит 70 а.о., связанных тремя внутримолекулярными дисульфидными мостиками [65]. IGF1 образуется преимущественно в печени и мышцах

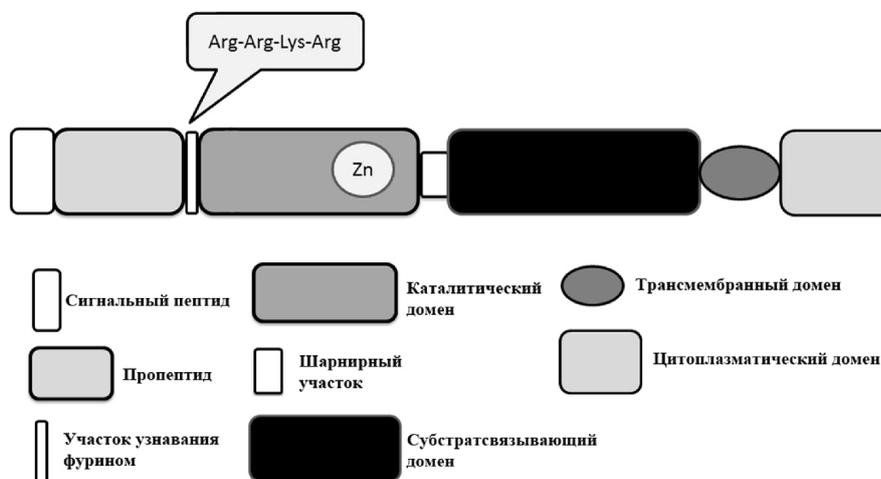
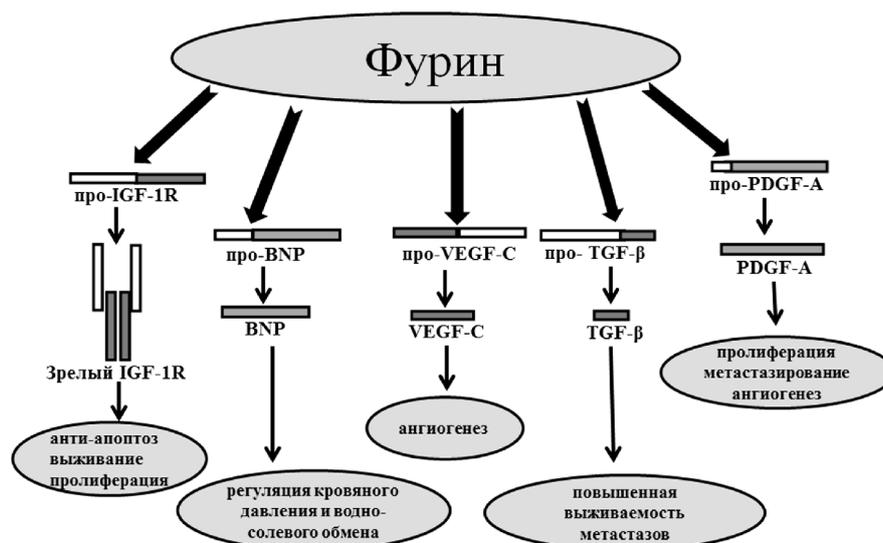


Рисунок 3. Доменная структура МТ1-ММП человека.



**Рисунок 4.** Активация фурином предшественников ростовых факторов: про-VEGF, про-TGF, про-PDGF; рецептора: про-IGF-1R и натрийуретического гормона про-BMP.

и участвует в эндокринной, аутокринной и паракринной регуляции процессов роста, развития и дифференцировки клеток и тканей организма. Действие IGF1 осуществляется через рецептор IGF1R, обладающий тирозинкиназной активностью, который синтезируется как предшественник, состоящий из 1367 а.о. Он активируется фурином по сайту, содержащему последовательность RKRR, характерную для специфического действия фурина и находящуюся в полипептидной цепи в районе 740 а.о. (таблица) [66, 67]. Связывание IGF1R с IGF1 приводит к стимуляции пролиферации и способствует выживанию клеток. Имеются данные о патогенной роли IGF1-опосредованного сигналинга в развитии рака. Показано, что увеличенная экспрессия IGF1 и IGF1R в раковых клетках приводит к ускорению их роста [65, 70] и усилению инвазии, возможно путём индукции ММП. И наоборот, угнетение их экспрессии снижает инвазивность [71-74]. Ингибирование активности фурина приводит к снижению уровня рецептора, что вызывает снижение IGF1-опосредованной пролиферации [30, 68, 69]. Клинические исследования свидетельствуют, что блокирование IGF1-сигналинга может усиливать действие различных химиотерапевтических препаратов и предотвратить адаптивную устойчивость к антагонистам IGF1R [73].

### 5.2.2. Эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF-C)

VEGF-C относится к семейству VEGF. Его основная функция связана с ангиогенезом в лимфатических сосудах [75]. Он синтезируется в виде предшественника – проVEGF-C, состоящего из 399 а.о. Активация проVEGF-C происходит под действием фурина, который расщепляет пептидную связь, расположенную между а.о. Arg<sup>227</sup> и Ser<sup>228</sup> в сайте специфичном для его действия, содержащем мотив RXXR (таблица) [76]. Активная форма VEGF-C обладает молекулярной массой 23 кДа. VEGF-C – один из главных ангиогенных ростовых факторов, играющих важную роль в развитии злокачественных

опухолей. В экспериментах *in vivo* установлена связь между экспрессией фурина, процессингом VEGF-C и ангиогенезом в лимфатических сосудах [30, 77]. Своё действие VEGF-C, как и другие представители семейства VEGF, реализует через взаимодействие с рецепторами, которые являются тирозинкиназами и имеют специфическую внеклеточную рецепторную часть [78, 79]. VEGF-C и его рецепторы – VEGF-R2 и VEGF-R3, присутствуют на клетках эндотелия лимфатических капилляров. Экспрессия “лимфогенного” VEGF-C и его рецепторов способствует выживаемости и пролиферации опухолевых клеток, регулирует многие ключевые этапы развития опухоли и, прежде всего, формирование сосудов, включая пролиферацию клеток эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов. Стимуляция или ингибирование связанных с этими молекулами сигнальных систем влияют на изменение интенсивности ангиогенеза в ткани [80]. На этом основании VEGF-C и его рецепторы могут служить маркерами по оценке состояния сосудистой системы и активности ангиогенеза в ткани. Эти показатели важны для прогноза развития опухоли и для поиска подходов к изменению интенсивности ангиогенеза в ткани за счёт стимуляции или ингибирования связанных с этими молекулами сигнальных систем [80].

### 5.2.3. Тромбоцитарный фактор роста PDGF

PDGF синтезируется и процессируется в клетках костного мозга – мегакариocyтах, которые являются предшественниками тромбоцитов, в гранулах которых он накапливается. Синтезируется PDGF в виде предшественника про-PDGF и представлен в основном гетеродимером, состоящим из двух полипептидных цепей А и В. Существует пять различных изоформ PDGF: А (PDGFA), В (PDGFB), С (PDGFC), D (PDGFD) и гетеродимер АВ, которые отличаются по функциональным свойствам [76, 81-84]. PDGF вызывают клеточный ответ через два разных рецептора α- и β-типов. Рецепторы PDGF (PDGFR) относятся к рецепторам с тирозинкиназой

активностью, с которыми могут связываться только димерные формы PDGF [81-84]. Предшественники PDGF активируются фурином. Про-PDGF человека состоит из 211 а.о., его молекулярная масса составляет 22 кДа; сайт узнавания фурином, расположен между а.о. Arg<sup>86</sup> и Ser<sup>87</sup>. Активная форма PDGF имеет молекулярную массу 14,3 кДа. PDGF играет важную роль в ангиогенезе, пролиферации, эмбриональном развитии и канцерогенезе. Экспрессия PDGF и соответствующих рецепторов увеличивается при различных типах онкологических заболеваний человека [81, 85-89]. Мутации в сайте узнавания ПК и пропептиды ПК ингибируют процессинг PDGF и клеточную пролиферацию [30, 83, 90, 91].

#### **5.2.4. Трансформирующий фактор роста бета (TGF-β)**

TGF-β синтезируется многими типами клеток. Известны три изоформы этого белка – TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3, которые синтезируются в виде предшественников (проTGF-β), имеют схожую структуру, однако различаются длиной полипептидной цепи: проTGF-β1 содержит 390 а.о., а проTGF-β2 и проTGF-β2 содержат по 412 а.о. [92]. ПроTGF-β могут активироваться различными путями, в том числе активными формами кислорода, pH, интегринами. Некоторые из них являются специфичными для определённого типа клеток или тканей, но большинство предшественников проTGF-β в тканях активируется фурином [92]. Активация проTGF-β под действием фурина сопровождается гидролизом специфических для фурина мотивов RXXR и RXX/RR в полипептидных последовательностях предшественников. В проTGF-β1, включающем RHRR-мотив, фурин расщепляет связь, локализованную между а.о. Arg<sup>278</sup> и Ala<sup>279</sup> (таблица) [92]. Основная функция TGF-β в большинстве клеток и тканей связана с контролем пролиферации и дифференцировки [92-95]. В нормальных эпителиальных клетках, а также на ранних стадиях опухолевой прогрессии (в премалигнизированных или хорошо дифференцированных раковых клетках) TGF-β действует как антипролиферативный фактор, угнетая канцерогенез, инвазивные и метастатические процессы [95, 96]. Однако на поздних стадиях рака он поддерживает рост опухолей и метастазирование [92-94, 97-101]. Также доказано нейропротективное действие TGF-β при различных поражениях головного мозга, в том числе после ишемии мозга [102].

## **6. УЧАСТИЕ ФУРИНА В РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

Эндокринная функция сердца связана с действием натрийуретических пептидов. Их открытие считается одним из важнейших достижений в фундаментальной и практической кардиологии второй половины XX века. Интерес к их роли в кардиологии остаётся неизменным. Далее будут рассмотрены механизмы активации этих пептидов, выполняющих гормональные функции в регуляции сердечно-сосудистой системы [103-105].

### *6.1. Влияние фурина на сердечно-сосудистую систему*

Фурин участвует в активации предшественников натрийуретических пептидов (НУП), функции которых связаны с регуляцией водно-солевого обмена, кровяного давления, а также пролиферации и роста клеток [106-108]. НУП представляют одно семейство, состоящее из трёх основных представителей: натрийуретический пептид предсердий (ANP – atrial natriuretic peptide), мозга (BNP – brain natriuretic peptide) и натрийуретический пептид С-типа (CNP – natriuretic peptide C type) [106, 107, 109]. Они экспрессируются в основном в предсердиях, желудочках сердца и эндотелиальных клетках сосудов мозга соответственно. Получены данные о синтезе этих пептидов и в целом ряде других органов и тканей [107, 109-111]. Своё действие НУП реализуют через рецепторы, находящиеся на плазматической мембране клеток. У млекопитающих обнаружено три типа рецепторов НУП: NPR-A, NPR-B и NPR-C, через взаимодействие с которыми реализуется действие этих пептидов [107, 109-111]. Каждый пептид кодируется своим геном. У человека НУП транслируются в виде так называемых препропептидов, состоящих из 151, 134 и 126 а.о. для ANP, BNP и CNP соответственно. После отщепления сигнального пептида (пре-) при передвижении НУП в аппарат Гольджи аминокислотные последовательности уже насчитывают 126, 108 и 103 а.о. соответственно (рис. 5). Активация проНУП происходит в аппарате Гольджи под действием фурина или фуриноподобных пропротеинконвертаз. После отщепления про-пептидов образуются активные формы пептидов (рис. 5), выполняющие различные функции и обладающие общей структурной организацией, в основе которой находится 17-ти членное кольцо, стабилизированное одной дисульфидной связью. Одиннадцать а.о. из этой структуры у всех представителей семейства НУП идентичны, тогда как концевые фрагменты переменны [112-114].

### *6.2. Активация натрийуретического пептида предсердий (НУП-ANP)*

Предшественник НУП предсердий – проANP синтезируется в основном в кардиомиоцитах правого предсердия и представляет пептид, состоящий из 126 а.о. При активации про-ANP фурином и фуриноподобными конвертазами образуются С-концевой активный пептид ANP (собственно НУП предсердий – 99-126 а.о.) и N-концевой неактивный ANP (N-ANP или N-проANP, 1-98 а.о.) (рис. 5) [108, 115]. Оба пептида образуются одновременно в эквимолярных количествах в ответ на гиперволемию или повышенную частоту сердечных сокращений. ANP имеет свой рецептор на поверхности клеток [108, 115-116]. ANP быстро выводится из крови, время его полужизни составляет 3-4 мин, а время полужизни проANP – 60-120 мин, поэтому его концентрация в крови значительно выше (в 50 раз), чем у ANP, и проANP может точнее отражать уровень секреции ANP [117, 118]. ANP найден в различных областях мозга,

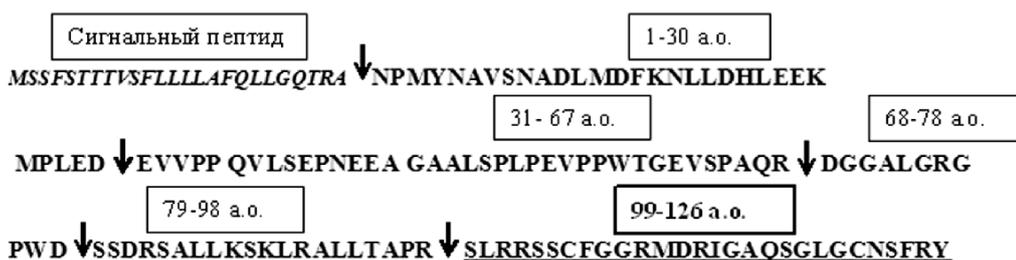
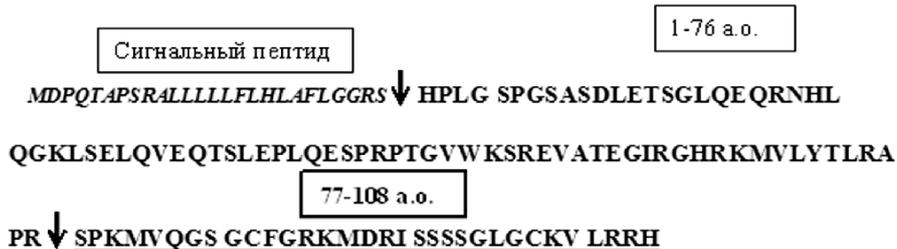
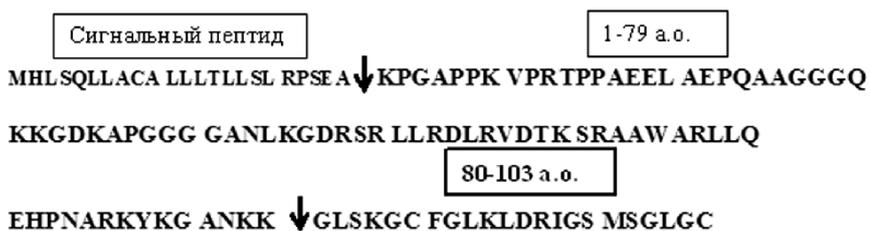
**Натрийуретический пептид предсердий (ANP)****Натрийуретический пептид мозга (BNP)****Натрийуретический пептид С-типа (CNP)**

Рисунок 5. Действие фурина на предшественники натрийуретических пептидов.

почках, лёгких, но, в основном, он содержится в предсердиях [110]. ANP увеличивает выведение ионов  $\text{Na}^+$  и воды, ингибирует секрецию ренина и альдостерона, снижает тонус сосудов, то есть проявляет сосудорасширяющее действие, которое противоположно сосудосуживающему действию ангиотензина II. ПроANP (1-98 а.о.) под действием эндопротеиназ гидролизуется на три пептида, циркулирующие в крови и выполняющие свои функции. Многочисленные данные свидетельствуют об участии всех четырёх пептидов (включая ANP), образующихся из проANP, в процессе канцерогенеза в качестве агентов снижающих или подавляющих развитие онкологического процесса [119-121]. Есть данные, указывающие на то, что N-концевой фрагмент – препроANP может быть использован как биомаркер при инфаркте миокарда [122].

### 6.3. Активация натрийуретического пептида мозга (НУП)

Предшественник НУП мозга – проBNP секретируется в основном кардиомиоцитами левого желудочка сердца и представляет пептид из 108 а.о. Он активируется фурином (рис. 5) [116], при этом в эквимольярных количествах образуются два фрагмента: неактивный пептид – проBNP (1-76 а.о.) и активный НУП – BNP (77-108 а.о.),

состоящий из 32 а.о. (рис. 5). В плазме циркулируют оба пептида, однако проBNP имеет более длительный период полураспада, чем BNP, поэтому его определение считается более информативным, по сравнению с определением BNP. Оба пептида являются признанными биомаркерами сердечной недостаточности. Они используются для диагностики дисфункции миокарда и непосредственно отражают нагрузку на миокард, являются маркерами острой коронарной недостаточности и дисфункции левого желудочка, а также служат для оценки риска развития сердечно-сосудистых осложнений [110, 123, 124]. Повышение содержания BNP в плазме выявляется раньше при дисфункции левого желудочка и застойной сердечной недостаточности, по сравнению с признаками этих патологий, выявляемыми при инструментальных исследованиях, включая эхокардиограмму [110, 123, 124]. Это делает практически незаменимым определение содержания BNP в крови для ранней диагностики этих патологий [106, 107]. Этот маркер становится стандартом в ранней диагностике сердечной недостаточности во всем мире и рекомендован для этой цели Европейским обществом кардиологов по диагностике и лечению сердечной недостаточности уже в 2001 году [125]. На Конгрессе Европейского общества анестезиологов (Мюнхен, 2007) BNP включили

в перечень показателей предоперационного лабораторного мониторинга, целесообразного в практике анестезиологов и реаниматологов [126]. Ключевая роль фурина в процессе образования биологически активных натрийуретических пептидов подчеркивается одновременным увеличением экспрессии генов фурина и BNP, что наблюдается, например, при инфаркте миокарда [127].

#### *6.4. Активация натрийуретического пептида C-типа*

Предшественник НУП C-типа – проCNP синтезируется в мозге и эндотелии сосудов, а также в эпителиальных клетках почечных канальцев, костной ткани и не секретируется кардиомиоцитами. Он представляет пептид из 103 а.о. Пептид не накапливается в гранулах клеток, поэтому для его функционального действия необходим синтез CNP *de novo*. Активация проCNP происходит под действием фурина и фуриноподобных ПК (рис. 5) [108]. При этом с C-конца проCNP отщепляется активный пептид НУП C-типа (80-103 а.о.), который состоит из 22 а.о. Существует и вторая активная форма этого пептида, состоящая из 53 а.о. Однако процесс её образования изучен недостаточно. CNP очень быстро выводится из организма, концентрация его в плазме чрезвычайно низкая (0,65 пмоль/л) [128]. Он выполняет роль местного регулирующего фактора в тех тканях, где обнаружена его секреция, и дополняет функции ANP и BNP, превосходя их значение в регуляции сосудистого тонуса.

Основное действие НУП направлено на сердечно-сосудистую и выделительную системы, а также связано с гормональными функциями организма и центральной нервной системой. НУП – предсердий (ANP) и мозга (BNP) являются регуляторами водно-солевого обмена в организме и важны для регуляции кровяного давления. В этих процессах принимает участие и CNP. Они являются антагонистами альдостерона/ренин-ангиотензиновой системы, тормозят секрецию ренина, альдостерона, образование ангиотензина II, который способствует повышению артериального давления и задержке ионов Na<sup>+</sup> в кровотоке [130]. НУП стимулируют выведение натрия, калия и воды почками, и тем самым способствуют снижению давления [116]. Их гипотензивное действие обусловлено способностью расширять сосуды, уменьшать сердечный выброс, тормозить действие гормонов, повышающих давление, в частности альдостерона [129]. НУП, циркулирующие в крови, не способны проникать через гемато-энцефалический барьер, но все они могут (в большей или меньшей степени) синтезироваться в мозге (особенно CNP) и влиять на поведенческие реакции [131]. Доказано, что НУП участвуют в процессах торможения роста и пролиферации кардиомиоцитов, что снижает компенсаторную гипертрофию миокарда [130]. Продукты активации проНУП, особенно проBNP, используются в диагностике [132]. Уровень проBNP возрастает в крови больных с острым коронарным синдромом, являясь важным свидетельством развития

сердечной недостаточности, а степень увеличения его концентрации в крови этих пациентов определяет прогноз заболевания в отдаленные сроки [132, 133].

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Фурин относится к внутриклеточным сериновым Ca<sup>2+</sup>-зависимым эндопептидазам семейства субтилизина, так называемым ПК. Он обладает выраженной специфичностью, гидролизует пептидные связи в месте спаренных основных аминокислот и проявляет активность в широком диапазоне pH 5-8. Этот фермент запускает каскадные процессы за счет гидролиза специфических сайтов в полипептидных цепях функционально значимых молекул, что сопровождается активацией неактивных предшественников и возникновением биологически активных молекул, действие которых с помощью ограниченного протеолиза и рецептор-медиированного сигналинга направлено на осуществление определённых биологических функций.

*Работа выполнена в рамках программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013 – 2020.*

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Thomas G. (2002) Nat. Rev. Mol. Cell. Biol., **3**, 753-766.
2. Arstenstein A., Opal S. (2011) N. Engl. J. Med., **365**, 2507-2518.
3. Henrich S., Lindberg I., Bode W., Than M. (2005) J. Mol. Biol., **345**, 211-227.
4. Seidah N.G., Prat A. (2012) Nat. Rev. Drug Discov., **11**, 367-383.
5. Henrich S., Cameron A., Bourenkov G., Kiefersauer R., Huber R., Lindberg I., Bode W., Than M.E. (2003) Nat. Struct. Biol., **10**, 520-526.
6. Anderson E., VanSlyke J., Thulin C.D., Jean F., Thomas G. (1997) EMBO J., **16**, 108-118.
7. Molloy S.S., Thomas L., VanSlyke J.K., Stenberg P.E., Thomas G. (1994) EMBO J., **13**, 18-33.
8. Paleyanda R.K., Drews R., Lee T.K., Luboc H. (1997) J. Biol. Chem., **272**, 15270-15274.
9. Dahms S.O., Harges K., Becker G.L., Steinmetzer T., Brandstetter H., Than M.E. (2014) ACS Chem. Biol., **9**, 1113-1118.
10. Nakayama K. (1997) Biochem. J., **327**, 625-635.
11. Molloy S.S., Bresnahan P.A., Leppla S.H., Klimpel K.R., Thomas G. (1992) J. Biol. Chem., **267**, 16396-16402.
12. Stieneke-Gröber A., Vey M., Angliker H., Shaw E., Thomas G., Roberts C., Klenk H.D., Garten W. (1992) EMBO J., **11**, 2407-2414.
13. Schechter I., Berger A. (2012) Biochem. Biophys. Res. Commun., **425**, 497-502.
14. Rockwell N.C., Fuller R.S. (2002) J. Biol. Chem., **277**, 1731-1737.
15. Couture F., D'Anjou F., Day R. (2011) Biomol. Concepts., **2**, 421-438.
16. Кубишев В.К., Осадчук Т.В. (2012) Укр. біохім. журн., **84**, 5-29.
17. Couture F., Kwiatkowska A., Dory Y.L., Day R. (2015) Expert Opin Ther Pat., **25**, 379-396.
18. Fugère M., Day R. (2005) TRENDS Pharm. Sci., **26**, 294-301.
19. Basak A. (2005) J. Mol. Med., **83**, 844-855.

20. Zhong M., Munzer J.S., Basak A., Benjannet S., Mowla S.J., Decroly E., Chrétien M., Seidah N.G. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 33913-33920.
21. Anderson E.D., Thomas L., Hayflick J.S., Thomas G. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 24887-24891.
22. Hards K., Becker G.L., Lu Y., Dahms S.O., Köhler S., Beyer W., Sandvig K., Yamamoto H., Lindberg I., Walz L., von Messling V., Than M.E., Garten W., Steinmetzer T. (2015) *Chem. Med. Chem.*, **10**, 1218-1231.
23. Harris N.C., Achen M.G. (2014) *Curr. Med. Chem.*, **21**, 1821-1842.
24. Hallenberger S., Bosch V., Angliker H., Shaw E., Klenk H.D., Garten W. (1992) *Nature*, **360**, 358-361.
25. Bassi D.E., Fu J., Lopez de Cicco R., Klein-Szanto A.J. (2005) *Mol. Carcinog.*, **44**, 151-161.
26. Craik D.J., Fairlie D.P., Liras S., Price D. (2013) *Chem. Biol. Drug Des.*, **81**, 136-147.
27. Stawowy P., Fleck E. (2005) *J. Mol. Med.*, **83**, 865-875.
28. de Cicco R.L., Bassi D.E., Benavides F., Conti C.J., Klein-Szanto A.J. (2007) *Mol. Carcinog.*, **46**, 654-659.
29. Coppola J.M., Bhojani M.S., Ross B.D., Rehemtulla A.A. (2008) *Neoplasia*, **10**, 363-370.
30. Siegfried G., Basak A., Cromlish J.A., Benjannet S., Marcinkiewicz J., Chrétien M., Seidah N.G., Khatib A.M. (2003) *J. Clin. Invest.*, **111**, 1723-1732.
31. Dragulescu-Andrasi A.I., Liang G., Rao J. (2009) *Bioconj. Chem.*, **20**, 1660-1666.
32. Longuespée R., Couture F., Levesque C., Kwiatkowska A., Desjardins R., Gagnon S., Vergara D., Maffia M., Fournier I., Salzet M., Day R. (2014) *Transl. Oncol.*, **7**, 410-419.
33. Bassi D.E., Lopez De Cicco R., Mahloogi H., Zucker S., Thomas G., Klein-Szanto A.J. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **98**, 10326-10331.
34. Hellawell G.O., Brewster S.F. (2002) *BJU Int.*, **89**, 230-240.
35. Жаврид Э.А., Антощенко Н.Н., Прохорова В.И., Ланно С.В. (2010) *Медицинские новости*, **5**, 12-17.
36. Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А., Мунтян А.Б. (2011) *Сибирский онкологический журнал*, **45**, 74-81.
37. Itoh Y. (2015) *Matrix Biol.*, **44-46**, 207-223.
38. Sato H., Kinoshita T., Takino T., Nakayama K., Seiki M. (1996) *FEBS Lett.*, **393**, 101-104.
39. Remacle A.G., Rozanov D.V., Fugere M., Day R., Strongin A.Y. (2006) *Oncogene*, **25**, 5648-5655.
40. Ala-Aho R., Kahari V.M. (2005) *Biochimie*, **87**, 273-286.
41. Pitliak M., Vargova V., Mechirova V. (2012) *Oncologie*, **35**, 49-53.
42. Libra M., Scalisi A., Vella N., Clement S., Sorio R. (2009) *Int. J. Oncol.*, **34**, 897-903.
43. Hadler-Olsen E., Fadnes B., Sylte I., Uhlin-Hansen L., Winberg J.O. (2011) *FEBS J.*, **278**, 28-45.
44. Sato H., Takino T., Okada Y., Cao J., Shinagawa A., Yamamoto E., Seiki M. (1994) *Nature*, **370**, 61-65.
45. Holmbeck K., Bianco P., Yamada S., Birkedal-Hansen H. (2004) *J. Cell. Physiol.*, **200**, 11-19.
46. Bauvois B. (2012) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1825**, 29-36.
47. Knäuper V., Will H., López-Otin C., Smith B., Atkinson S.J., Stanton H., Hembry R.M., Murphy G. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 17124-17131.
48. Morrison C.J., Overall C.M. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 26528-26539.
49. Kadono Y., Shibahara K., Namiki M., Watanabe Y., Seiki M., Sato H. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **251**, 681-687.
50. Hiraoka N., Allen E., Apel I.J., Gyetko M.R., Weiss S.J. (1998) *Cell*, **95**, 365-377.
51. Sakamoto T., Seiki M. (2009) *Genes Cells*, **14**, 617-626.
52. Belien A.T., Paganetti P.A., Schwab M.E. (1999) *J. Cell Biol.*, **144**, 373-384.
53. Poincloux R., Lizárraga F., Chavrier P. (2009) *J. Cell. Sci.*, **122**, 3015-3024.
54. Deryugina E.I., Soroceanu L., Strongin A.Y. (2002) *Cancer Res.*, **62**, 580-588.
55. Sodek K.L., Ringuette M.J., Brown T.J. (2007) *Br. J. Cancer.*, **97**, 358-367.
56. Vos M.C., van der Wurff A.A., Bulten J., Kruitwagen R., Feijen H., van Kuppevelt T.H., Hendriks T., Massuger L.F. (2016) *Diagn. Pathol.*, **11**, 34.
57. Linder S. (2015) *J. Cell. Biol.*, **211**, 215-217.
58. Соловьева Н.И., Тимошенко О.С., Гуреева Т.А., Кузавская Е.В. (2015) *Биомед. химия*, **61**, 694-704. DOI :10.18097/PBMC20156106694.
59. Тимошенко О.С., Гуреева Т.А., Кузавская Е.В., Соловьева Н.И. (2014) *Биомед. химия*, **60**, 683-688. DOI:10.18097/PBMC20146006683.
60. Рыжакова О.С., Гуреева Т.А., Журбицкая В.А., Соловьева Н.И. (2007) *Биомед. химия*, **53**, 322-331.
61. Cao J., Chiarelli C., Kozarekar P., Adler H.L. (2005) *Thromb. Haemost.*, **93**, 770-778.
62. Wang J., Voellger B., Benz J., Schlomann U., Nimsky C., Bartsch J.W., Carl B. (2016) *Int. J. Cancer*, **139**, 1327-1339.
63. Zhao J., Kong Z., Xu F., Shen W. (2015) *Tumour Biol.*, **36**, 8609-8615.
64. Shuldiner A.R., Barbetti F., Raben N., Scavo L., Serrano J. (1998) in: *Insulin-like Growth Factors: Molecular and Cellular Aspects* (LeRoith D., ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 181-219.
65. Duguay S.J., Lai-Zhang J., Steiner D.F. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 17566-17574.
66. Khatib A.M., Siegfried G., Prat A., Luis J., Chrétien M., Metrakos P., Seidah N.G. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 30686-30693.
67. Ullrich A., Gray A., Tam A.W., Yang-Feng T., Tsubokawa M., Collins C., Henzel W., Le Bon T., Kathuria S., Chen E., Jacobs S., Francke U., Ramachandran J., Fujita-Yamaguchi Y. (1986) *EMBO J.*, **5**, 2503-2512.
68. Zhang D., Bar-Eli M., Meloche S., Brodt P. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 19683-19690.
69. Bruchim I., Attias Z., Werner H. (2009) *Exper. Opin. Ther. Targets*, **13**, 1179-1192.
70. Arnaldez F.I., Helman L.J. (2012) *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, **26**, 527-542.
71. Adams T.E., Epa V.C., Garrett T.P., Ward C.W. (2000) *Cell Mol. Life Sci.*, **57**, 1050-1093.
72. Sehat B., Andersson S., Vasilcanu R., Girnita L., Larsson O. (2007) *PLoS One.*, **2**, 340.
73. Singh P., Alex J.M., Bast F. (2014) *Med. Oncol.*, **31**, 805.
74. Abdel-Wahab R., Shehata S., Hassan M.M., Habra M.A., Eskandari G., Tinkey P.T., Mitchell J., Lee J.S., Amin H.M., Kaseb A.O. (2015) *Hepatocell. Carcinoma*, **2**, 131-142.
75. Potente M., Gerhardt H., Carmeliet P. (2011) *Cell*, **146**, 873-887.
76. Basak A., Khatib A.M., Mohottalage D., Basak S., Kolajova M., Bag S.S., Basak A. (2009) *PLoS One.*, **4**, e7700.
77. Shibuya M., Claesson-Welsh L. (2006) *Exper. Cell Res.*, **312**, 549-560.
78. Joukov V., Sorsa T., Kumar V., Jeltsch M., Claesson-Welsh L., Cao Y., Saksela O., Kalkkinen N., Alitalo K. (1997) *EMBO J.*, **16**, 3898-3911.
79. Karamysheva A.F. (2008) *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 751-762.

80. Holmes K., Roberts O.L., Thomas A.M., Cross M.J. (2007) Cell Signal., **19**, 2003-2012.
81. Johnsson A., Heldin C.H., Westermark B., Wasteson A. (1982) Biochem. Biophys. Res. Commun., **104**, 66-74.
82. Heldin C.H., Ostman A., Rönstrand L. (1998) Biochim. Biophys. Acta, **1378**, 79-113.
83. Ostman A., Heldin C.H. (2007) Adv. Cancer Res., **97**, 247-274.
84. Siegfried G., Khatib A.M., Benjannet S., Chre M., Seidah N.G. (2003) Cancer Res., **63**, 1458-1463.
85. George D. (2001) Semin. Oncol., **28**, 27-33.
86. Abe H., Hino R., Fukayama M. (2013) Virchows Arch., **462**, 523-531.
87. Li X., Pontén A., Aase K., Karlsson L., Abramsson A., Uutela M., Bäckström G., Hellström M., Boström H., Li H., Soriano P., Betsholtz C., Heldin C.H., Alitalo K., Ostman A., Eriksson U. (2000) Nat. Cell Biol., **2**, 302-309.
88. Zhang J.B., Sun H.C., Jia W.D. (2012) BMC Cancer, **12**, 439.
89. Fredriksson L., Li H., Eriksson U. (2004) Cytokine Growth Factor Rev., **15**, 197-204.
90. Piccaluga P.P., Rossi M., Agostinelli C. (2014) Leukemia, **28**, 1687-1697.
91. Jain R.K., Lahdenranta J., Fukumura D. (2008) PLoS Med., **29**, 24.
92. Massagué J. (1990) Ann. Rev. Cell. Biol., **6**, 597-641.
93. Padua D., Massagué J. (2009) Cell Res., **19**, 89-102.
94. Massagué J. (2008) J. Cell., **134**, 215-230.
95. Lebrun J.J. (2012) ISRN Mol. Biol., **2012**, 381-428.
96. Caja F., Vannucci L. (2015) J. Immunotoxicol., **12**, 300-307.
97. Tian F., DaCosta B.S., Parks W.T., Yoo S., Felici A., Tang B., Piek E., Wakefield L.M., Roberts A.B. (2003) Cancer Res., **63**, 8284-8292.
98. Weeks B.H., He W., Olson K.L., Wang X.J. (2001) Cancer Res., **61**, 7435-7443.
99. Muraoka-Cook R.S., Dumont N., Arteaga C.L. (2005) Clin. Cancer Res., **11**, 937-943.
100. Kawata M., Koimuta D., Ogami T., Umezawa K., Iwata C., Watabe T., Miyazono K. (2012) J. Biochem., **151**, 205-216.
101. Katsuno Y., Lamouille S., Derynck R. (2013) Curr. Opin. Oncol., **25**, 76-84.
102. Dobolyi A., Vineze C., Pal G., Lovas G. (2012) Int. Mol. Sci., **13**, 8219-8258.
103. Henry J.P., Gauer O.H., Reeves J.L. (1956) Circulat. Res., **4**, 85-90.
104. Maack T. (2006) Arq. Bras. Endocrinol. Metab., **50**, 198-207.
105. Козлов И.А., Тюрин И.Н., Авдейкин С.Н., Уфимцева И.Ю., Саликов А.В., Карпун Н.А. (2016) Общая реаниматология, **12**, 24-33.
106. Ogawa Y., Itoh H., Nakao K. (1995) Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., **22**, 49-53.
107. Potter L.R. (2011) FEBS J., **278**, 1808-1817.
108. Potter L.R., Yoder A.R., Flora D.R., Antos L.K., Dickey D.M. (2009) Handb. Exp. Pharmacol., **191**, 341-366.
109. Медведев А.Е. (2007) Биомед. химия, **53**, 471-487.
110. Nishikimi T., Kuwahara K., Nakao K. (2011) J. Cardiol., **57**, 131-140.
111. Sellitti D.F., Koles N., Mendonça M.C. (2011) Peptides, **32**, 1964-1971.
112. Yandle T.G. (1994) J. Intern. Med., **235**, 561-576.
113. Medvedev A., Igosheva N., Crumeyrolle-Arias M., Glover V. (2005) Stress., **8**, 175-183.
114. Silberbach M., Roberts C.T. Jr. (2001) Cell Signal., **13**, 221-231.
115. Semenov A.G., Seferian K.R. (2011) Clin. Chim. Acta, **412**, 850-860.
116. Potter L.R., Yoder A.R., Flora D.R., Antos L.K., Dickey D.M. (2009) Exp. Pharmacol., **191**, 341-366.
117. Thibault G., Murthy K.K., Gutkowska J., Seidah N.G., Lazure C., Chrétien M., Cantin M. (1998) Peptides, **9**, 47-53.
118. McDowell G., Patterson C., Maguire S., Shaw C., Nicholls D.P., Hall C. (2002) Eur. J. Clin. Invest., **32**, 545-548.
119. Vesely D.L. (2005) J. Investig. Med., **53**, 360-365.
120. Vesely D.L., Vesely B.A., Eichelbaum E.J., Sun Y., Alli A.A., Gower W.R. (2007) In Vivo, **21**, 973-978.
121. Saba S.R., Vesely D.L. (2006) Histol. Histopathol., **21**, 775-783.
122. Pemberton C.J., Siriwardena M., Kleffmann T., Ruygrok P., Palmer S.C., Yandle T.G., Richards A.M. (2012) Clin. Chem., **58**, 757-767.
123. Jessup M., Abraham W.T., Casey D.E., Feldman A.M., Francis G.S., Ganiats T.G., Konstam M.A., Mancini D.M., Rahko P.S., Silver M.A., Stevenson L.W., Yancy C.W. (2009) Circulation, **119**, 1977-2016.
124. Dickstein K., Cohen-Solal A., Filippatos G., McMurray J.J., Ponikowski P., Poole-Wilson P.A., Strömberg A., van Veldhuisen D.J., Atar D., Hoes A.W. et al. (2008) Eur. Heart. J., **19**, 2388-2442.
125. Remme W.J., Swedberg K. (2001) Eur. Heart. J., **22**, 1527-1560.
126. Козлов И.А., Харламова И.Е. (2009) Общая реаниматология., **5**, 89-97.
127. Sawada Y., Inoue M., Kanda T., Sakamaki T., Tanaka S., Minamino N., Nagai R., Takeuchi T. (1997) FEBS Lett., **400**, 177-182.
128. Palmer S.C., Prickett T.C., Espiner E.A., Yandle T.G., Richards A.M. (2009) Hypertension, **54**, 612-618.
129. Gordon H., Williams M.D. (2005) Heart Failure Reviews, **10**, 7-13.
130. Volpe M. (2014) Int. J. Cardiol., **176**, 630-639.
131. Hodes A., Lichtstein D. (2014) Front. Endocrinol., **5**, 201.
132. Nishikimi T., Minamino N., Masashi I., Takeda Y., Tadokoro K., Shibasaki I., Fukuda H., Horiuchi Y., Oikawa S., Ieiri T., Matsubara M., Ishimitsu T. (2010) Heart, **96**, 432-439.
133. de Lemos J.A., Peacock W.F., McCullough P.A. (2010) Rev. Cardiovasc. Med., **11**, 24-34.
134. Pandey K.N. (2008) J. Am. Soc. Hypertens., **2**, 210-226.
135. Kusakabe M., Cheong P.L., Nikfar R., McLennan I.S., Koishi K. (2008) J. Cell Biochem., **103**, 311-320.
136. Dubois C.M., Laprise M.H., Blanchette F.B., Gentry L.E., Leduc R. (1995) J. Biol. Chem., **270**, 10618-10624.
137. Lazure C., Gauthier D., Jean F., Boudreault A., Seidah N.G., Bennett H.P., Hendy G.N. (1998) J. Biol. Chem., **273**, 8572-8580.
138. Bravo D.A., Gleason J.B., Sanchez R.I., Roth R.A., Fuller R.S. (1994) J. Biol. Chem., **269**, 25830-25837.
139. Komada M., Hatsuzawa K., Shibamoto S., Ito F., Nakayama K., Kitamura N. (1993) FEBS Lett., **328**, 25-29.
140. Lehmann M., Rigot V., Seidah N.G., Marvaldi J., Lissitzky J.C. (1996) Biochem. J., **317** (Pt 3), 803-809.
141. Pei D., Weiss S.J. (1995) Nature, **375**, 244-247.
142. Decroly E., Vandenbranden M., Ruysschaert J.M., Cogniaux J., Jacob G.S., Howard S.C., Marshall G., Kompelli A., Basak A., Jean F. et al. (1994) J. Biol. Chem., **269**, 2240-2247.
143. Morikawa Y., Barsov E., Jones I. (1993) J. Virol., **67**, 3601-3604.
144. Walker J.A., Molloy S.S., Thomas G., Sakaguchi T., Yoshida T., Chambers T.M., Kawaoka Y. (1994) J. Virol., **68**, 1213-1218.

145. Watanabe M., Hirano A., Stenglein S., Nelson J., Thomas G., Wong T.C. (1995) *J. Virol.*, **69**, 3206-3210.
146. Moehring J.M., Inocencio N.M., Robertson B.J., Moehring T.J. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 2590-2594.
147. Klimpel K.R., Molloy S.S., Thomas G., Leppla S.H. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **89**, 10277-10281.
148. Tsuneoka M., Nakayama K., Hatsuzawa K., Komada M., Kitamura N., Mekada E. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 26461-26465.

Поступила: 29. 09. 2016.  
Принята к печати: 31. 10. 2016.

## FURIN AS PROPROTEIN CONVERTASE AND ITS ROLE IN NORMAL AND PATHOLOGICAL BIOLOGICAL PROCESSES

*N.I. Solovyeva, T.A. Gureeva, O.S. Timoshenko, T.A. Moskvitina, E.V. Kugaevskaya*

Institute of Biomedical Chemistry,  
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119992 Russia; tel.: (499) 246-50-72; e-mail: Nina.Solovyeva@ibmc.msk.ru

Furin belongs to serine intracellular Ca<sup>2+</sup>-dependent endopeptidases of the subtilisin family, also known as proprotein convertase (PC). Human furin is synthesized as zymogen with a molecular weight of 104 kDa, which is then activated by autocatalytic in two stages. This process can occur when zymogen migrates from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus, where a large part of furin is accumulated. The molecular weight of the active furin is 98 kDa. Furin relates to enzymes with a narrow substrate specificity: it hydrolyzes peptide bonds at the site of paired basic amino acids and furin activity exhibits in a wide pH range 5-8. Its main biological function is activation of the functionally important protein precursors. It is accompanied by the launch of a cascade of reactions, which lead to appearance of biologically active molecules involved in realization of specific biological functions both in normal and in some pathological processes. Furin substrates are biologically important proteins such as enzymes, hormones, growth factors and differentiation, receptors, adhesion proteins, proteins of blood plasma. Furin plays an important role in the development of processes such as proliferation, invasion, cell migration, survival, maintenance of homeostasis, embryogenesis, as well as the development of a number of pathologies, including cardiovascular, oncologic and neurodegenerative diseases. Furin and furin-like proprotein convertases participate as key factors in the realization of the regulatory functions of proteolytic enzymes, the value of which is currently being evaluated as most important in comparison with the degradative function of proteases.

**Key words:** furin, domain structure, specificity, MT1-MMP, growth factors, natriuretic hormones