

Received: 2004.05.17
Accepted: 2004.07.27
Published: 2004.08.20

Białka regulujące przekazywanie sygnału przez białka G (białka RGS) i ich znaczenie w regulacji odpowiedzi immunologicznej

RGS proteins (regulators of G protein signaling) and their roles in regulation of immune response

Anna M. Lewandowicz, Marek L. Kowalski, Rafał Pawliczak

Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Białka RGS (regulators of G protein signaling) to grupa protein regulująca działanie białek G. Wzmacniając GTP-azową aktywność podjednostki alfa przyspieszają one rekonstrukcję heterotrimerycznej struktury białka G i tym samym hamują przekazywanie przez nie sygnału. Białko Sst2 u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, FlbA u grzyba *Aspergillus nidulans* oraz Egl-10 u nicienia *Caenorhabditis elegans* to pierwsze opisane negatywne regulatory białek G o właściwościach aktywatorów GTP-azy, GAPs – GTPase-activating proteins. Dotychczas potwierdzono istnienie ponad 30 białek RGS u człowieka, sklasyfikowanych i zgrupowanych w sześć podrodzin. W komórkach immunologicznie kompetentnych białka RGS są wpłątane w złożoną sieć zależności między różnymi drogami przekazywania sygnału. Mają związek z wrażliwością limfocytów B i T na chemokiny, sprawną proliferacją limfocytów T oraz z regulacją dojrzewania limfocytów B. Spełniają istotne funkcje w zapaleniu. Duże nadzieje wiąże się z lekami, dla których punktem uchwytu byłyby białka RGS i które dawałyby możliwość modyfikacji właściwości farmakokinetycznych leków działających poprzez receptory związane z białkami G. W niniejszym opracowaniu omówiono białka RGS oraz zebrano doniesienia o ich znaczeniu w przebiegu odpowiedzi immunologicznej.

Słowa kluczowe:

białka RGS • białka G • receptory związane z białkami G • białkowe aktywatory GTP-azy • odpowiedź immunologiczna • limfocyty B • limfocyty T

Summary

RGS proteins (Regulators of G-protein Signaling) comprise a protein family responsible for regulating G proteins. By enhancing the GTPase activity of the α subunit, they speed up the reconstruction of the heterotrimeric structure of G protein, thus inhibiting its signal transduction. Sst2 protein in yeast *Saccharomyces cerevisiae*, FlbA in fungus *Aspergillus nidulans*, and Egl-10 in the nematode *Caenorhabditis elegans* are the first native G regulators with GTPase activity (GAPs: – GTPase-activating proteins). The existence of over 30 RGS human proteins has been confirmed thus far, and they have been grouped and classified into six subfamilies. In immunocompetent cells, RGS proteins are entangled in a complicate net of different interrelating signal pathways. They are connected with B- and T-cell chemokine susceptibility, efficient T cell proliferation, and the regulation of B cell maturation. They also take an essential part in inflammation. High hopes are held for drugs, which handle would be RGS proteins and which would further provide the possibility of modifying the pharmacokinetics of drugs acting through G protein-coupled receptors. The aim of this review is to discuss the new RGS protein family and explain the potential involvement of RGS proteins in the modulation of the immune response.

Key words: RGS protein • G protein • G-protein coupled receptor • GTPase-activating proteins • immune response • B cell • T cell

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/6251.pdf

Word count: 3827

Tables: 1

Figures: 2

References: 78

Author's address: Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź,
e-mail: anulka_pl@poczta.onet.pl

WSTĘP

Precyzyjna regulacja funkcji komórek uczestniczących w odpowiedzi immunologicznej decyduje o jej skutecznym przebiegu. Osiągana jest ona zazwyczaj poprzez oddziaływanie typu receptor-ligand. Stymulacja odpowiedniego receptora powoduje przekazanie sygnału do wnętrza komórki i uruchomienie serii zjawisk wewnątrz komórki, których uwieńczeniem jest modulacja jej funkcji. Komórki uczestniczące w odpowiedzi immunologicznej mają rozmaite receptory różniące się budową i specyfiką działania; przede wszystkim receptory przeciwciał, antygenów i cytokin [8,17,22,60].

Białka G i związane z nimi receptory, tzw. receptory GPCR (G protein coupled receptors) mają istotne znaczenie dla aktywacji, proliferacji i ukierunkowanej migracji komórek w przebiegu odpowiedzi immunologicznej i zapalenia [39]. Limfocyty T i B, monocyty, neutrofile, mastocyty i eozynofile są wyposażone w wiele receptorów należących do rodziny GPCR. Są to zarówno receptory chemokin jak i wielu mediatorów zapalenia, m.in. histaminy, czynnika aktywującego płytki (PAF) i leukotrienów.

Wobec licznych powiązań między różnymi drogami wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału, należy zwrócić uwagę na to, jak pobudzenie receptorów GPCR modyfikuje stymulację limfocytów przeciwciałem, antygenem czy niektórymi cytokinami. Nowo odkryta klasa białek regulujących przekazywanie sygnału przez białka G – białka RGS (regulators of G protein signaling) wydaje się zajmować w mechanizmie tego zjawiska istotne miejsce.

Praca ma na celu omówienie funkcji białek RGS w kontekście zagadnień immunologicznych. Trzeba jednak podkreślić, iż zostały one dostrzeżone i docenione także w wielu innych dyscyplinach medycznych, takich jak np. neurologia czy kardiologia [21,45]. Przesądziła o tym obecność receptorów związanych z białkami G na różnorodnych komórkach ludzkiego organizmu oraz mnogość procesów i zjawisk, jakie są realizowane z ich udziałem.

BUDOWA RECEPTORA GPCR I ZASADA DZIAŁANIA BIAŁKA G

W systemie przekazywania sygnału, który zostaje zapoczątkowany przez związanie agonisty z receptorem błonowym uczestniczą: pobudzony receptor na powierzchni komórki i efektor w postaci enzymu lub kanału jonowe-

go wewnątrz komórki. Tym, co łączy te elementy może być rodzina heterotrimerycznych białek mających zdolność wiązania i hydrolizowania guanozyny-5'-trifosforanu (GTP), określana jako białka G. Receptory GPCR wiążą wiele hormonów, neuroprzekazników, chemokiny oraz auto- i parakryne czynniki. Związane z nimi białka G modulują metabolizm komórki, kanały jonowe, a także regulują proces transkrypcji.

Receptory te są utworzone przez zewnątrzkomórkowy fragment aminowy, fragment środkowy przechodzący siedmiokrotnie przez błonę komórkową (trzy pętle na zewnątrz i trzy wewnątrz komórki) oraz fragment karboksylowy umiejscowiony w cytoplazmie. Pętle zewnątrzkomórkowe zwykle uczestniczą w wiązaniu ligandu [24,37]. Ligandem może być wiele związków chemicznych, m.in. kwas tłuszczowy np. prostoglandyny, leukotrieny; aminokwas np. adrenalina, dopamina; oligopeptyd np. glukagon; białko np. IL-8. Istnieją też receptory, których pobudzenie dokonuje się w wyniku proteolizy ich N-końcowego fragmentu, jak to się dzieje w przypadku receptora trombiny. Receptory GPCR charakteryzują się dodatkowo dużą swoistością wiązania agonisty [40]. Fragment karboksylowy razem z trzecią pętlą cytoplazmatyczną receptora GPCR współpracują z białkiem G. Tutaj także dokonuje się fosforylacja inaktywująca receptor.

Błonowe heterotrimeryczne białka G są zbudowane z trzech podjednostek: α , β oraz γ . Istnieją co najmniej 23 różne izoformy podjednostki α . W oparciu o homologie ich podstawowej sekwencji i wspólne wewnątrzkomórkowe efektor podzieleno białka G na cztery podrodziny: $G_{\alpha i}$, $G_{\alpha q}$, $G_{\alpha s}$ i $G_{\alpha 12/13}$. $G_{\alpha s}$ stymuluje cyklazę adenylanową, enzym katalizujący przekształcenie ATP do cAMP [56]. Przez to białko działa m.in. prostoglandyna E2. $G_{\alpha i}$ hamuje cyklazę adenylanową i tym samym obniża poziom cAMP w komórce, dodatkowo aktywuje kanały potasowe a hamuje wapniowe [57]. Białko to jest związane z receptorami chemokin, stąd przekazywanie przez nie sygnałów reguluje migrację leukocytów. Aktywacja $G_{\alpha q}$ pobudza fosfolipazę C typu β [67], a systemy efektorowe $G_{\alpha 12/13}$ są związane z białkami Rho [2]. Na drodze tych mechanizmów białka G zmieniają w komórce poziom przekazników drugiego rzędu, jak np. cAMP czy Ca^{2+} . Podjednostki β i γ funkcjonują jako część heterotrimerycznej cząsteczki białka G albo jako dimer. Odkryto 5 izoform podjednostki β i 12 izoform podjednostki γ . Istnienie wielu rodzajów białek G w komórce

wynika z różnorodnych kombinacji podjednostek α , β i γ składających się na nie.

Po związaniu agonisty, zaktywowany GPCR stymuluje podjednostkę α do uwolnienia guanozynodifosforanu (GDP) i związania guanozynotrifosforanu (GTP). Związana z GTP podjednostka α oddysocjowuje od podjednostek β i γ . W tej postaci podjednostka α oddziałuje z właściwym sobie efektem, to znaczy enzymem lub kanałem jonowym i tym samym dokonuje się przekazywanie sygnału w komórce [3,28]. Dzieje się tak do chwili uczynnienia aktywności GTP-azowej podjednostki α i hydrolizy GTP do GDP. Związana z GDP podjednostka α łączy się z podjednostkami β i γ odtwarzając heterotrimeryczną strukturę białka G. Sam dimer podjednostek β i γ również może oddziaływać na enzymy i kanały jonowe w komórce. Pojedynczy cykl wiązania GTP przez podjednostkę α i następczej hydrolizy jest realizowany w czasie kilku milisekund [14]. Zapewnia to odpowiednią precyzję w przekazywaniu sygnału w odpowiedzi na związanie agonisty przez receptor.

BIĄŁKA RGS A HAMOWANIE PRZEKAZYWANIA SYGNAŁU PRZEZ BIĄŁKA G

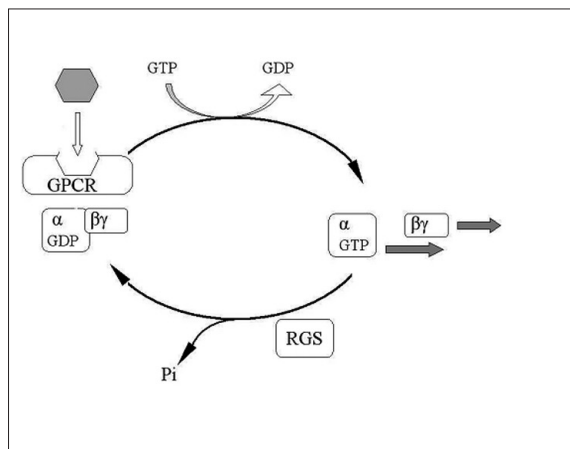
Poznano kilka mechanizmów regulujących czas i nasilenie przekazywania sygnału za pomocą białek G [7]. GPCR w postaci aktywnej może zostać ufosforylowany, czego następstwem będzie zahamowanie jego wrażliwości na ligand. Także poziom eksternalizacji receptorów po pobudzeniu ulega obniżeniu w mechanizmie down-regulation. Zmniejsza to zdolność komórki do odbierania i transdukcji sygnału, chroniąc ją tym samym przed nadmierną stymulacją. Przekazywanie sygnału za pomocą białek G może być również hamowane przez wzmocnienie GTP-azowej aktywności podjednostki α i przyspieszenie rekonstrukcji heterotrimerycznej struktury białka G. Dzieje się to z udziałem białek RGS – negatywnych regulatorów białek G (ryc. 1).

Przekazywanie sygnału przez białko G sprowadza się do jego istnienia w postaci zdysocjowanej a tym samym do czasu wiązania GTP przez G_{α} . Oczyszczone G_{α} *in vitro* wykazuje swoistą aktywność GTP-azową i hydrolizuje GTP w tempie 0,1–0,3 mola P_i /mol G_{α} /min [21]. Jednakże zahamowanie *in vivo* działania białka G następuje nawet do trzystu razy szybciej, niż wynikałoby to z tych oznaczeń. Powyższe obserwacje sugerowały istnienie niewzględnianych wcześniej czynników białkowych regulujących szybkość hydrolizy GTP przez G_{α} .

BIĄŁKA Sst2p, FlbA i Egl-10 – NEGATYWNE REGULATORY BIĄŁEK G

Pierwsze dowody na istnienie negatywnych regulatorów przekazywania sygnału przez białka G pochodzą z badań nad niższymi organizmami eukariotycznymi. W 1982 r. poznano gen *sst2p* drożdży *Saccharomyces cerevisiae* [9,72], w 1994 r. *flbA* u grzyba *Aspergillus nidulans* [29,46] a w 1996 *egl-10* u nicienia *Caenorhabditis elegans* [20,42]. Produkty tych genów wpływają na przebieg zjawisk realizujących się u tych organizmów poprzez receptory GPCR.

Haploidalne drożdże w prawidłowych warunkach rozmnażają się bezpłciowo przez pączkowanie. Pod wpły-



Ryc. 1. Białka RGS a GTP-azowy cykl białka G. Białka RGS przyspieszają rekonstrukcję heterotrimerycznej struktury białka G promując hydrolizę GTP. W postaci wiążącej GDP podjednostka α wykazuje powinowactwo do dimeru podjednostek β i γ i łączy się z nim. Tym samym wewnątrzkomórkowe przekazywanie sygnału zostaje zahamowane

wem odpowiednich feromonów dokonują somatogamii – rozmnażania płciowego. Receptory feromonów u drożdży są związane z białkami G. Opisanoszczy drożdży niewrażliwe na działanie feromonów, u których wykazano nadmierną ekspresję pewnego genu. Gen ten nazwano *sst2p* [19]. Gdy go zablokowano uzyskano szczep nadwrażliwy na feromony, w którym drożdże przechodzą proces płciowy już przy ich niewielkich stężeniach. Stało się jasne, że produkt genu *sst2p* jest negatywnym regulatorem białek G w komórkach drożdży.

Podobną rolę pełni białko FlbA u grzyba *Aspergillus nidulans*. Czynniki, które w typowych koloniach grzyba powodowały tworzenie zarodni i zarodników sporangialnych, nie wpływały na te kolonie, u których gen *flbA* nie ulegał ekspresji. Natomiast nadekspresja *flbA* wiązała się z formowaniem sporangioli w każdych warunkach [76]. W zjawisko to zaangażowane jest białko G, którego podjednostki β i γ za pośrednictwem niewyjaśnionego dotąd mechanizmu hamują powstawanie zarodni. Białko FlbA, gdy jest obecne, uniemożliwia dimerowi $\beta\gamma$ zatrzymanie sporangiogenezy nawet w niesprzyjających warunkach otoczenia. Wobec jednak deficytu FlbA dimer $\beta\gamma$ konstytutywnie hamuje formowanie sporangiofor, tworzenie sporangii i tym samym zarodników sporangialnych.

Negatywny regulator białka G został odkryty u *Caenorhabditis elegans* przy okazji badań nad mechanizmami regulacji składania jaj przez tego robaka. Ruchowe unerwienie jego macicy umożliwia dostosowanie częstości występowania jej skurczy i tym samym liczby składania jaj do warunków otoczenia. Okazało się, że gen *egl-10* wpływa na przekąźnictwo w neuronach macicy u tego nicienia. Mediatorem jest serotonina działająca przez receptory związane z białkiem G. Nicienie o różnej ekspresji *egl-10* różnią się częstością i liczbą składania jaj.

Pomiędzy tymi trzema niezależnie opisanymi białkami dostrzeżono się homologii w budowie. Zidentyfikowano szcze-

gólną sekwencję genów związaną z 120-aminokwasową domeną wspólną dla Egl-10, Sst2p i FlbA, która okazała się wysoce konserwatywną. Wykazano jej aktywność katalityczną wobec podjednostki α białka G. Podobne białka występujące u ssaków, w tym u człowieka, nazwano regulatorami przekazywania sygnału przez białka G (regulators of G protein signaling). Egl-10 okazało się homologiczne dla RGS7, a Sst2p dla RGS4 [17]. Od tamtego czasu liczba odkrytych białek RGS o rozmaitych funkcjach różnie z roku na rok i włączana jest w obręb tej zróżnicowanej rodziny.

BIĄŁKA RGS – MECHANIZM INTERAKCJI Z BIAŁKIEM G

Odkrycie białek RGS zainicjowało wiele badań nad biochemicznymi mechanizmami negatywnej regulacji przez nie aktywności białek G. Udowodniono, że przyspieszają one około 1000 razy hydrolizę GTP przez G_{α} , zachowując się jak aktywatory GTP-azy (GAPs) [44,73]. Wykazano ich wybiórcze powinowactwo do podrodzin $G_{\alpha i}$ oraz $G_{\alpha q}$. Nie dowiedziono bezpośredniej GTP-azowej aktywności białek RGS wobec $G_{\alpha s}$ i $G_{\alpha 12/13}$ [43].

Białka RGS wiążą się z podjednostką α -GTP obniżając energię aktywacji hydrolizy [69]. Niektóre z nich mogą dodatkowo hamować wewnątrzkomórkowe drogi przekazywania sygnału przez białka G na zasadzie inhibicji kompetycyjnej wobec efektorów właściwych G_{α} – na przykład RGS4 konkuruje z fosfolipazą β o miejsce wiązania na podjednostce α [18,31].

Jak dotąd potwierdzono istnienie ponad 30 białek RGS u człowieka. Różnią się one masą cząsteczkową (od około 20 do 150 kDa), powinowactwem do podrodzin G_{α} , ekspresją tkankową, wewnątrzkomórkowym umiejscowieniem i typami potranslacyjnej obróbki [36].

Wybiórcze wiązanie przez białka RGS konkretnych białek G wynika z pewnych różnic w samej domenie RGS, np. RGS4 jest efektywnym GAP, zarówno dla $G_{\alpha i}$, jak i $G_{\alpha q}$ [31], a RGS2 jest wysoce selektywne dla $G_{\alpha q}$ *in vitro* [32,33] i znacznie skuteczniej hamuje przekazywanie sygnału przez $G_{\alpha q}$, niż $G_{\alpha i}$ w komórkach. Trzy reszty aminokwasowe bezpośrednio zaangażowane w interakcje białka RGS4 z $G_{\alpha i}$ różnią je od domeny RGS w białku RGS2.

Występowanie różnych przedstawicieli rodziny RGS w określonych tkankach pozostaje w związku z ich właściwościami biochemicznymi. RGS16 jest obecne przede wszystkim w siatkówce, szyszynce i wątrobie [12,13,66], RGS18 – w tkankach hemopoetycznych i płucach [59,75], RGS13 – najobficiej w migdałkach, następnie w grasicy, węzłach chłonnych, płucach i śledzionie [23]. RGS2 i RGS3 nie wykazują swoistości tkankowej czy narządowej [65].

Niektóre białka RGS np. RGS4, RGS5, RGS16 są związane z błoną komórkową. Ich potranslacyjna obróbka obejmuje palmitylację i umożliwia im integrację z apolarną częścią błony [6,71]. Inne, jak np. RGS2 czy RGS3 mogą być umiejscowione w jądrze komórkowym [11].

Zidentyfikowano także białka inne niż podjednostki α białek G, wchodzące w interakcje z określonymi członkami rodziny RGS [5,30,70].

Tabela 1. Klasyfikacja białek RGS

| Podrodzina | Gen | Izoformy uzyskiwane przez alternatywny splicing |
|------------|-------------------|---|
| A/RZ | <i>Rgs17</i> | RGSZ2 |
| | <i>Rgs19</i> | GAIP |
| | <i>Rgs20</i> | RGSZ1 Ret-RGS |
| B/R4 | <i>Rgs1</i> | RGS1 |
| | <i>Rgs2</i> | RGS2 |
| | <i>Rgs3</i> | RGS3L RGST RGS3S PDZ-RGS3 |
| | <i>Rgs4</i> | RGS4 |
| | <i>Rgs5</i> | RGS5 |
| | <i>Rgs8</i> | RGS8 |
| | <i>Rgs13</i> | RGS13 |
| | <i>Rgs16</i> | RGS16 |
| | <i>Rgs18</i> | RGS18 |
| C/R7 | <i>Rgs6</i> | RGS6 |
| | <i>Rgs7</i> | RGS7 |
| | <i>Rgs9</i> | RGS9-1 RGS9-2 |
| | <i>Rgs11</i> | RGS11 |
| D/R12 | <i>Rgs10</i> | RGS10 RGS12TS |
| | <i>Rgs12</i> | RGS12B RGS12P RGSL |
| | <i>Rgs14</i> | RGS14 |
| E/RA | <i>Axin</i> | Axin |
| | <i>Conduction</i> | Conduction |
| F/RL | <i>AKAP2</i> | AKAP2 |
| | <i>p115RhoGEF</i> | p115RhoGEF |
| | <i>GRK2</i> | GRK2 |
| | <i>RGS-PX1</i> | RGS-PX1 |

Podjęto próby klasyfikacji białek RGS występujących w komórkach ludzkich. Zgrupowano je w sześć podrodzin, nazwanych literami od A do F, bądź w oparciu o pierwszego poznanego przedstawiciela. Stąd rozróżniamy podrodziny A/RZ (prototyp RGSZ), B/R4 (prototyp RGS4), C/R7 (prototyp RGS7), D/R12 (prototyp RGS12), E/RA (prototyp Axin) oraz F/RL [34,62,74,77] (tabela 1).

BIĄŁKA RGS A REGULACJA FUNKCJI LIMFOCYTÓW T W PRZEBIEGU ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

Białka RGS, jako nowo odkryte regulatory przekazywania sygnału przez białka G zostały docenione w badaniach nad zjawiskami immunologicznymi. Stało się tak między innymi w związku z odkryciem w limfocytach ssaków RGS1 i RGS2 [35]. Ekspresję RGS1 indukuje białko gronkowcowe A oraz IL-4, natomiast ekspresję RGS2 – konkanawalina A. Istnieje przekonanie, iż ta nowa klasa protein wkomponuje się w złożoną sieć zależności między różnymi drogami wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału w komórkach immunologicznie kompetentnych. W tym sensie białka RGS mogą być łącznikiem między drogami niezwiązanymi bezpośrednio z białkami G a tymi odbywającymi się za ich przyczyną. Postulat ten znalazł potwierdzenie w wielu pracach doświadczalnych.

Znaczenie białek RGS w układzie odpornościowym wiąże się z obecnością receptorów GPCR na komórkach biorących udział w odpowiedzi immunologicznej. Receptory te znajdują się na limfocytach, lecz nie uczestniczą bezpośrednio w ich aktywacji, która jest związana przede wszystkim z receptorami przeciwciał i pewnych cytokin. Jednakże wewnątrzkomórkowe procesy związane z TCR (T cell receptor) jak i IL-2R (receptor IL-2) splatają się z tymi, które przebiegają z udziałem białek G. Na przykład wytwarzanie cytokin i proliferacja limfocytów T jest hamowana przez PGE₁ i PGE₂ (prostoglandyna E₁ i E₂) [1]. Mediatorzy te są wytwarzane przez zaktywowane makrofagi, a oddziałują na komórki uczestniczące w odpowiedzi immunologicznej poprzez błonowe receptory GPCR. U myszy limfocyty bez genu dla G_{oi} wykazują wzmocnienie procesów realizujących się z udziałem receptorów TCR, tj. znaczny wzrost wytwarzania IL-2, TNF i IFN-γ i wzmószoną proliferację [63]. Dowodzi to, iż białka G mogą modulować przekazywanie sygnału przez TCR i IL-2. Mechanizm tych zjawisk wydaje się wymagać jakiegoś dodatkowego czynnika, którym mogą być białka RGS.

Pierwsze dowody na taką właśnie rolę białek RGS w limfocytach pojawiły się w badaniach nad RGS1 i RGS2. Wykazano, że ekspresja RGS1 w komórkach B jest indukowana przez białko gronkowcowe A, powierzchniowe immunoglobuliny, IL-4, cAMP, a także czynnik aktywujący płytki (PAF) [35,54]. Natomiast ekspresja RGS2 jest indukowana przez konkanawalinę A [65]. Konkanawalina A wiąże kompleks TCR/CD3 [41], a jej działanie mitogenne na komórki T zostaje zablokowane przez przeciwciała monoklonalne anty-CD3 [15]. Dlatego też jest możliwe, że indukcja ekspresji RGS2 dokonuje się częściowo poprzez kompleks TCR/CD-3. Sugeruje to, iż bodźce aktywujące limfocyty, takie jak przeciwciała, czynniki mitogenne i cytokiny mogą poprzez indukcję ekspresji genów RGS modulować wpływ na limfocyty B i T chemokin i innych mediatorów działających przez receptory GPCR. Kierując się tym założeniem, zbadano wpływ IL-2 na aktywność białek G w limfocytach T. IL-2 indukuje w limfocycie ekspresję RGS16 [4]. Białko RGS16 wiąże G_i oraz G_q obecne w komórce T, hamując przekazywanie przez nie sygnału. Dla porównania indukowane mitogenem RGS2 hamuje jedynie przekazywanie sygnału związane jedynie z G_q. Indukowana IL-2 ekspresja RGS16 w limfocycie T jest hamowana przez podwyższony poziom cAMP. Stymulacja

komórki IL-2 wiąże się z postępowaniem fazy G₁ i przejściem w fazę S cyklu komórkowego. Indukcja ekspresji RGS16 wyłącza przekazywanie sygnałów poprzez białka G_i i tym samym gwarantuje zniesienie procesów konkurencyjnych, które mogłyby zakłócać podziały komórkowe. IL-2 hamuje chemotaksję limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺, co dowiedziono na takich czynnikach chemotaktycznych jak IL-8 i RANTES [38,68]. Dokonuje się to z udziałem białka RGS16 wiążącego G_i, przez które to działają chemokiny. RGS16 może też regulować aktywację limfocytów T w odpowiedzi na zapalenie i ich migrację warunkowaną ligandami CXCR4, CCR3, CCR5 [49].

Wpływ PGE₁ i PGE₂ na ekspresję RGS16 poprzez cAMP jest interesujący z punktu widzenia powiązania białek RGS z białkami G_s. PGE₁ i PGE₂ pobudzają aktywację cykazy adenylanowej i podwyższają poziom wewnątrzkomórkowego cAMP przez receptory związane właśnie z białkiem G_s [50,53]. Następnym tego jest osłabienie ekspresji RGS16 w komórce. Pozostaje to w ścisłej zależności z jednoczesnym zahamowaniem proliferacji limfocytów T, mimo stymulacji IL-2.

Nie jest do końca poznana rola RGS2 w odpowiedzi immunologicznej. Jednak badania z wykorzystaniem myszy nieposiadającej genu *rgs2* dowiodły znaczenia tego białka dla skutecznej jej realizacji. Proliferacja komórek T *rgs2*^{-/-} była znacząco zmniejszona w odpowiedzi na aktywację poprzez receptor TCR i nie znosiła tego kostymulacja CD28. Dodatkowo odnotowano w tych komórkach obniżone wytwarzanie cytokin, przede wszystkim IL-2, w porównaniu z kontrolą z czynnym genem *rgs2*. Myszy te zainfekowano też wirusem LCMV (*Choriomeningitis lymphocytaria virus*). U zwierząt o sprawnym układzie immunologicznym wirus ten wywołuje obrzęk w miejscu iniekcji, będący przejawem mobilizacji mechanizmów odpornościowych ustroju. W przypadku myszy *rgs2*^{-/-} pojawienie się obrzęku było opóźnione w czasie. Tym samym dowiedziono, iż deficyt w proliferacji i wytwarzaniu IL-2 przez limfocyty T – spowodowany brakiem RGS2 obserwowany *in vitro* – przekłada się na zakłócenie odporności na zakażenia wirusowe *in vivo*. RGS2 może mieć istotne znaczenie w prawidłowej funkcji komórek T i ich aktywności przeciwwirusowej [58].

BIĄŁKA RGS A WRAŻLIWOŚĆ LIMFOCYTÓW B NA CHEMOKINY OBECNE W TKANCE LIMFATYCZNEJ

Recyrkulacja spoczynkowych limfocytów B oraz ich ukierunkowana migracja po zaktywowaniu przeciwciałem są podstawowe dla prawidłowego funkcjonowania tych komórek w przebiegu odpowiedzi immunologicznej. Oba te zjawiska warunkowane są wrażliwością na chemokiny receptorów ulegających eksternalizacji w błonie komórkowej limfocytów B. Przybywa dowodów na to, że białka RGS współuczestniczą w ich regulacji poprzez wpływ na przekazywanie sygnału przez receptory chemokin [5].

Aktywacja limfocytów B wiąże się ze zmianą profilu białek RGS, które ulegają w nich ekspresji. Dochodzi do wzmósznego wytwarzania RGS1 i RGS2 a poziom RGS3 i RGS14 w komórce ulega obniżeniu [61]. Dowiedziono, że RGS1 i RGS3 poprzez interakcję z G_{oi} zmieniają wrażliwość komórek B na SDF-1 (stromal cell-derived factor-1), BLC (B

lymphocyte chemoattractant) i ELC (EBV-induced molecule 1 ligand chemokine). Są to chemokiny konstytutywnie obecne w różnych obszarach tkanki limfatycznej, działają odpowiednio przez receptory: CXCR4, CXCR5, CCR7. Wszystkie te receptory wykorzystują do transdukcji sygnału białko G_i [27,47,55]. Wobec niezmiennego stężenia tych chemokin w tkance limfatycznej oraz stałej liczby ich receptorów, zmiana w poziomie białek RGS1 i RGS3 wiąże się ze zmianą realizacji chemotaksji przez aktywowane przeciwciałem limfocyty B. RGS1 hamuje chemotaksję na SDF-1, a RGS3 na BLC i ELC. Przekłada się to na zmniejszenie zasięgu migracji w odpowiedzi na SDF-1 i uzyskanie wrażliwości na BLC i ELC limfocytów zaktywowanych przeciwciałem. RGS2 mRNA wzrasta czterdziestokrotnie, a ilość transkryptu RGS3 zmniejsza się do połowy swojego wyjściowego poziomu. Zjawiska te mają wpływ na ukierunkowaną migrację i usytuowanie limfocytów B w takim miejscu w tkance limfatycznej, gdzie może dokonywać się ich ekspansja klonalna poprzez niezakłóconą proliferację.

Białko RGS1 wydaje się też współuczestniczyć w dojrzewaniu limfocytów B. Proliferyjące i dojrzewające w grudkach chłonnych limfocyty B wykazują dużą ekspresję RGS1 i pozostają niewrażliwe na chemokiny, mogące stymulować je do opuszczenia ośrodków rozmnażania grudek. Gdy dojrzeją, ekspresja RGS1 spada u nich gwałtownie. Towarzyszy temu uzyskanie przez nie wrażliwości na chemokiny działające z udziałem białka G hamowanego przez RGS1. Wysoki poziom RGS1 zapobiega wydostaniu się niedojrzałych komórek B z ośrodków rozmnażania grudek chłonnych. Dojrzałe limfocyty B poddają się działaniu chemokin, w tym przede wszystkim SDF-1 obecnej konstytutywnie w tkance limfatycznej i uciekają z ośrodków rozmnażania. Nie dochodzi do tego wcześniej, zanim nie spadnie poziom RGS1, mimo obecności na komórkach receptorów CXCR4 dla SDF-1 [52].

Innym białkiem RGS, które łączy się z dojrzewaniem limfocytów B jest RGS13. Białko to wiąże G_{α_i} i G_{α_q} , a także działa jako agonista efektorów G_{α_q} i jest zaangażowane w przekazywanie sygnału *via* receptory chemokin CXCR4 i CXCR5. Dodatkowo wykazano, że pobudzenie CD40 wzmacnia ekspresję RGS13 w komórkach B [23,40,64].

BIAŁKA RGS A ZAPALENIE I CHOROBY ATOPOWE

W przebiegu procesu zapalnego istotne miejsce zajmują mediatory działające przez receptory GPCR, takie jak histamina, czynnik aktywujący płytki (PAF) i chemokiny. Histamina wydzielana przez komórki tuczne i bazofile w zapaleniu, także na tle alergicznym, wpływa na różnicowanie komórek Th i profil syntetyzowanych przez nie cytokin. Stymulacja receptora H_1 na limfocycie Th związanego z białkiem G_q może przesądzić o przesunięciu równowagi w odpowiedzi immunologicznej na korzyść typu Th2 – humoralnego. Ma to szczególnie istotne znaczenie w przebiegu chorób alergicznych, gdy nadmierne wytworzenie IgE przyczynia się do rozwoju chorób atopowych, takich jak katar sienny czy astma. Na uwagę zasługuje to, iż G_{α_q} są celem wielu poznanych już białek RGS, choć nie udowodniono dotąd obecności w limfocytach T białek RGS wpływających na receptory H_1 . Identyfikacja takich białek oraz określenie czynników modulujących ich ekspresję pozwoliłyby wpływać na równowagę odpowiedzi immuno-

logicznej w warunkach patologii i mogłyby mieć znaczenie dla terapii chorób atopowych.

Napływ komórek do miejsca zapalenia jest związany z ich ukierunkowaną migracją indukowaną chemokinami. Receptory chemokin obecne na komórkach realizujących odczyn zapalny są związane z różnymi rodzajami białek G_{α_i} . Konstytutywna obecność w tych komórkach pewnych białek RGS i ich zmienna ekspresja moduluje, oprócz zmienności w ilości samych receptorów wbudowanych w błonę komórkową, odpowiedź tych komórek na związki chemotaktyczne. Dowiedziono istnienia białek RGS o bardzo wybiórczym powinowactwie dla konkretnych przedstawicieli podrodziny G_i . W związku z tym precyzyjna regulacja migracji komórek w zapaleniu wydaje się być realizowana z ich udziałem. Zjawisko to miałyby się opierać na tych samych zasadach, co wspomniana wcześniej ukierunkowana migracja limfocytów B aktywowanych przeciwciałem, w których następuje zmiana w profilu ekspresji różnych białek RGS.

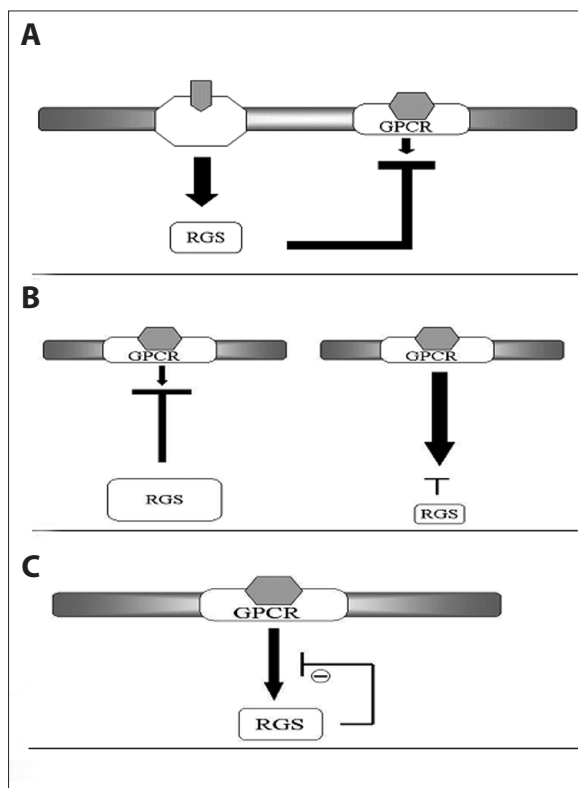
Czynnik aktywujący płytki wpływa na proces zapalny przez receptory GPCR na limfocytach B, eozynofilach i płytkach krwi. Indukuje chemotaksję eozynofili i degranulację mastocytów. Działanie to warunkuje białko G_i . Interesująca jest relacja między PAF a RGS1. PAF oraz TNF- α indukują ekspresję RGS1 w komórce. Jednocześnie jednak RGS1 hamuje przekazywanie sygnału przez białko G związane z receptorem PAF [52]. Dowodzi to istnienia pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego z udziałem białka RGS.

Pojawia się coraz więcej dowodów na neuroendokrynną regulację odpowiedzi immunologicznej i przebieg procesu zapalnego [26]. Na przykład substancja P aktywuje komórki T i monocyty, a także indukuje syntezę immunoglobulin w komórkach B. Możemy przepuszczać, że białka RGS modulują także przekazywanie sygnału przez receptory GPCR dla neuromediatorów i hormonów obecnych na komórkach immunologicznie kompetentnych.

BIAŁKA RGS CELEM INGERENCJI FARMAKOLOGICZNEJ

Ze względu na sieć zależności, w jakich działają białka RGS, istnieje potencjalna możliwość ingerencji w odpowiedź immunologiczną poprzez modyfikacje ich właściwości oraz aktywności w komórce. Nabiera to znaczenia, gdy dochodzi do zaburzeń jej przebiegu. Leki wiążące białka RGS wzmacniałyby przekazywanie sygnału przez receptory GPCR związane z konkretnymi białkami G, a tym samym działanie przekaźników właściwych tym receptorom. Dodatkową zaletą byłoby wydłużanie i wspomaganie działania innych leków stymulujących drogi przekazywania sygnału związane z białkami G [10,48]. Różne miejsca na białku RGS, zarówno wewnątrz, jak i poza domeną RGS, są potencjalnym celem ingerencji farmakologicznej.

Najbardziej oczywiste dla potencjalnej farmakologicznej interwencji wydają się reszty aminokwasowe powierzchni kontaktu RGS/ G_{α_i} . Leki blokujące te obszary zapobiegałyby wpływowi białek RGS na białka G i tym samym hamowałyby przekazywanie przez nie sygnału, a te imitujące tę interakcję – wzmacniałyby przekaźnictwo [5,16]. Allosteryczna modyfikacja domeny RGS prowadząca do jej unieczynnienia też wydaje się możliwa [78]. Najbardziej



Ryc. 2. Mechanizm regulacji receptorów GPCR przez białka RGS może polegać na integracji różnych dróg wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału. Tak się dzieje, gdy receptor niezwiązany z białkiem G wzmacnia ekspresję białka RGS (A). Natomiast obniżenie poziomu białka RGS w komórce uwrażliwia receptor GPCR na agonistę (B). Białko RGS może być też ogniwem wewnątrzkomórkowej pętli sprzężenia zwrotnego uczestnicząc w autoregulacji receptora GPCR (C)

użytecznie klinicznie byłyby leki działające wybiórczo z uwzględnieniem interakcji białek RGS z określonymi podrodzinaми białek G_o . Strategie blokowania białek RGS mogłyby też sprowadzać się do hamowania ich przyłączenia się do błony komórkowej. Niektóre z białek RGS za-

wierają na swoim aminowym końcu amfipatyczne pętle niezbędne do ich umocowania w błonie komórkowej, inne w tym celu są palmitylowane. Leki mogłyby wiązać fragmenty integrujące się z błoną czy też powstrzymać palmitylację. Farmakoterapia ukierunkowana na białka RGS zyska zapewne na znaczeniu po dokładniejszym poznaniu roli tej klasy protein w patogenezie chorób układu immunologicznego.

PODSUMOWANIE

Odkrycie białek RGS – negatywnych regulatorów białek G – przyczyniło się do lepszego zrozumienia zjawisk związanych z wewnątrzkomórkowym przekazywaniem sygnału, także w odniesieniu do komórek uczestniczących w odpowiedzi immunologicznej. Swoje funkcje białka te realizują na kilka sposobów (ryc. 2).

Najbardziej oczywista wydaje się integracja sygnałów z receptorów GPCR z tymi niezwiązanymi z białkami G. Takie zadanie spełnia RGS16 w limfocytach T po zadziałaniu na nie IL-2. Z jej pomocą zostają wyłączone sygnały przekazywane z udziałem białek G_i oraz G_q , które mogłyby zakłócać proliferację indukowaną tą cytokiną.

Białka RGS poprzez swoją zróżnicowaną ekspresję mogą modulować wrażliwość komórki na bodźce działające z udziałem receptorów GPCR. Dotyczy to dojrzewających, a także zaktywowanych limfocytów B, których wrażliwość na chemokiny jest wynikiem poziomu w komórce odpowiednich białek RGS. Wreszcie pewne białka RGS są elementem pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego w odniesieniu do receptorów związanych z białkami G. Taka zależność występuje pomiędzy receptorem PAF a RGS1.

Prowadzone obecnie badania nad białkami RGS powinny się przyczynić do wnikliwszego poznania układów, w jakie są one zaangażowane, określenia ich wybiórczego powinowactwa do konkretnych białek G oraz znalezienia sposobów regulowania ich aktywności w komórce. To z kolei umożliwi farmakologiczną interwencję w schorzenia o patogenezie związanej z białkami G. Białka RGS jako miejscę uchwytu dla leków mogą zyskać też znaczenie w terapii zaburzeń układu immunologicznego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Baker P.E., Fahey J.V., Munck A.: Prostaglandin inhibition of T-cell proliferation is mediated at two levels. *Cell. Immunol.*, 1981; 61: 52–61
- [2] Barańska J.: Współzależność między szlakami przekazywania sygnałów w komórce – rola białek G w tych procesach. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1999; 53: 133–146
- [3] Barańska J.: Białka G a cross-talk. Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału, red.: Nowak J.Z., Zawilska J.B. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2004; 25–36
- [4] Beadling C., Druey K.M., Richter G., Kehrl J.H., Smith K.A.: Regulators of G protein signaling exhibit distinct patterns of gene expression and target G protein specificity in human lymphocytes. *J. Immunol.*, 1999; 162: 2677–2682
- [5] Benzting T., Yaffe M.B., Arnould T., Sellin L., Schermer B., Schilling B., Schreiber R., Kunzelmann K., Leparac G.G., Kim E., Walz G.: 14-3-3 interacts with regulator of G protein signaling proteins and modulates their activity. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 28167–28172
- [6] Bernstein L.S., Grillo A.A., Loranger S.S., Linder M.E.: RGS4 binds to membranes through an amphipathic alpha-helix. *J. Biol. Chem.*, 2001; 275: 18520–18526
- [7] Bohm S.K., Grandy E.F., Bunnett N.W.: Regulatory mechanisms that modulate signaling by G-protein-coupled receptors. *Biochem. J.*, 1997; 322: 1–18
- [8] Centrall D.A.: T-cell antigen receptor signal transduction. *Immunology*, 2002; 105(4): 369–374
- [9] Chan R.K., Otte C.A.: Isolation and genetic analysis of *Saccharomyces cerevisiae* mutants supersensitive to G1 arrest by factor and α factor pheromones. *Moll. Cell. Biol.*, 1982; 2: 21–29
- [10] Chasse S.A., Dohlman H.G.: RGS proteins: G protein-coupled receptors meet their match. *Assay Drug Dev. Technol.*, 2003; 1(2): 357–364
- [11] Chatterjee T.K., Fisher R.A.: Cytoplasmic, nuclear and Golgi localization of RGS proteins. Evidence for N-terminal and RGS domain sequences as intracellular motifs. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275
- [12] Chen C., Zheng B., Han J., Lin S.C.: Characterization of a novel mammalian RGS proteins that binds to $G\alpha$ proteins and inhibits pheromone signaling in yeast. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 8679–8685
- [13] Chen C.K., Wieland T., Simon M.I.: RGS-r, a retinal specific RGS protein, binds an intermediate conformation of transducin and enhances recycling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 12885–12889

- [14] Chidiac P., Markin V.S., Ross E.M.: Kinetic control of guanine nucleotide binding to soluble G α q. *Biochem. Pharmacol.*, 1999; 58: 39–48
- [15] Chilson O.P., Chilson A.E.: Mitogenic lectins bind to the antigen receptor on human lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, 1989; 19: 389–396
- [16] Cunningham M.L., Waldo G.L., Hollinger S., Hepler J.R., Harden T.K.: Protein kinase C phosphorylates RGS2 and modulates its capacity for negative regulation of G α 11 signaling. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 5438–5444
- [17] Daeron M.: Fc receptor biology. *Annu. Rev. Immunol.*, 1997; 15: 203–234
- [18] De Vries L., Farquhar M.G.: RGS proteins: More than just GAPs for heterotrimeric G proteins. *Trends Cell. Biol.*, 1999; 9: 138–144
- [19] Dietzel C., Kurian J.: Phomonal regulation and sequence of the *Saccharomyces cerevisiae* SST2 gene: a model for desensitization to pheromone. *Mol. Cell. Biol.*, 1987; 7: 4169–4177
- [20] Dong M.Q., Chase D., Patikoglu G.A., Koelle M.R.: Multiple RGS proteins alter G protein signaling to allow C allergens to rapidly change behavior when fed. *Genes Dev.*, 2000; 14(16): 2003–2014
- [21] Dorn G.W. II, Hahn H.S.: Genetic factors in cardiac hypertrophy. *Ann NY Acad. Sci.*, 2004; 1015: 225–237
- [22] Geisberger R., Cramer R., Achatz G.: Models of signal transduction through the B-cell antigen receptor. *Immunology*, 2003; 110(4): 401–410
- [23] Geng-Xian S., Harrison K., Wilson G.L., Moratz C., Kehrl J.H.: RGS13 Regulates Germinal Center B Lymphocytes. Responsiveness to CXC Chemokine Ligand (CXCL) 12 and CXCL13. *J. Immunol.*, 2002; 169: 2507–2515
- [24] Gether U., Kobilaka B.K.: G protein-coupled receptors. Mechanism of agonist activation. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 615–649
- [25] Gilman A.G.: G proteins transducers of receptor generated signals. *Annu. Rev. Biochem.*, 1987; 56: 615–649
- [26] Goetz E.J.O., Xia M., Ingram D.A., Kishijima J.L., Kaltreider H.B., Byrd P.K., Ichikawa S., Sreedharan S.P.: Neuropeptide signaling of lymphocytes in immunological responses. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995; 107: 202–204
- [27] Gunn M.D., Ngo V.N., Ansel K.M., Ekland E.H., Cyster J.G., Williams L.T.: A B-cell-homing chemokine made in lymphoid follicles activates Burkitt's lymphoma receptor-1. *Nature*, 1998; 391: 799–803
- [28] Hamm H.E.: The many faces of G protein signaling. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 669–672
- [29] Han K.H., Soe J.A., Yu J.H.: Regulators of G-protein signalling in *Aspergillus nidulans*: RgsA downregulates stress response and stimulates asexual sporulation through attenuation of GanB (G α) signaling. *Mol. Microbiol.*, 2004; 53(2): 529–540
- [30] Hart M.J., Jiang X., Kozasa T., Singer W.D., Gilman A.G., Sternweis P.C., Bollag G.: Direct stimulation of the guanine nucleotide exchange activity of p115RhoGEF by G α 13. *Science*, 1998; 280: 2112–2114
- [31] Hepler J.R., Berman D.M., Gilman A.G., Kozasa T.: RGS4 and GAIP are GTPase-activating proteins for G α q and block activation of phospholipase C β by γ -thio-GTP-G α q. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 428–432
- [32] Heximer S.P., Cristillo A.D., Forsdyke D.R.: Comparison of mRNA expression of two regulators of G-protein signaling, RGS1/BL34/IR20 and RGS2/GOS8 in cultured human blood mononuclear cells. *DNA Cell. Biol.*, 1997; 16: 589–598
- [33] Heximer S.P., Watson N., Linder M.E., Blumer K.J., Hepler J.R.: RGS2/GOS8 is a selective inhibitor of Gq function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 14389–14393
- [34] Hollinger S., Hepler J.R.: Cellular regulation of RGS proteins: modulators and integrators of G protein signaling. *Pharmacol. Rev.*, 2002; 54(3): 527–559
- [35] Hong J.X., Wilson G.L., Fox C.H., Kehrl J.H.: Isolation and characterization of a novel B cell activation gene. *J. Immunol.*, 1993; 150: 3895–3904
- [36] Ishii M., Kurachi Y.: Physiological actions of regulators of G-proteins. *Life Sci.*, 2003; 74(2–3): 163–171
- [37] Jesionowski M., Grzonka Z., Łankiewicz L.: Receptory sprzężone z białkami G (GPCR), metody badań oddziaływań ligand-receptor. *Post. Biochem.*, 2000; 46: 60–72
- [38] Jinquan T., Frydenberg J., Mukaida N., Bonde J., Larsen C.G., Matsushima K., Thestrup-Pedersen K.: Recombinant human growth-regulated oncogene-alpha induces T lymphocyte chemotaxis. A process regulated via IL-8 receptors by IFN-gamma, TNF-alpha, IL-4, IL-10, and IL-13. *J. Immunol.*, 1995; 155(11): 5359–5368
- [39] Johnson E.N., Druey K.M.: Heterotrimeric G protein signaling: role in asthma and allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 109: 592–602
- [40] Johnson E.N., Druey K.M.: Functional characterization of the G protein regulator RGS13. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 16768–16774
- [41] Kanellopoulou J.M., De Petris S., Leca G., Crumpton M.J.: The mitogenic lectin from *Phaseolus vulgaris* does not recognize the T3 antigen of human T lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, 1985; 15: 479–486
- [42] Koelle M.R., Horvitz H.R.: EGL-10 regulates G protein signaling in the *C. elegans* nervous system and shares a conserved domain with many mammalian proteins. *Cell*, 1996; 84: 115–125
- [43] Kozasa T., Ye R.D.: Selective inhibition of G protein-mediated pathways using RGS domains. *Methods. Mol. Biol.*, 2004; 237: 153–167
- [44] Krumins A.M., Gilman A.G.: Assay of RGS protein activity *in vitro* using purified components. *Methods Enzymol.*, 2002; 344: 673–685
- [45] Larminie C., Murdock P., Walhin J.P., Duckworth M., Blumer K.J., Scheideler M.A., Garnier M.: Selective expression of regulators of G-protein signaling (RGS) in the human central nervous system. *Mol. Brain Res.*, 2004; 122(1): 24–34
- [46] Lee B.N., Adams T.H.: Overexpression of flbA, an early regulator of *Aspergillus* asexual sporulation, leads to activation of brlA and premature initiation of development. *Mol. Microbiol.*, 1994; 14: 323–334
- [47] Legler D.F., Loetscher M., Ross R.S., Clark-Lewis I., Baggiolini M., Moser B.: B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J. Exp. Med.*, 1998; 187: 655–660
- [48] Liebman C.: G protein-coupled receptors and their signaling pathways: classical therapeutic targets susceptible to novel therapeutic concepts. *Curr. Pharm. Des.*, 2004; 10(6): 1937–1958
- [49] Lippert E., Yowe D.L., Gonzalo J.A., Justice J.P., Webster J.M., Fedyk E.R., Hodge M., Miller C., Gutierrez-Ramos J.C., Borrego F., Keane-Myers A., Druey K.M.: Role of regulator of G protein signaling 16 in inflammation-induced T lymphocyte migration and activation. *J. Immunol.*, 2003; 171(3): 1542–1555
- [50] Loh C., Rotondo D., Dutta-Roy A.: Characterization of prostaglandin E2 receptors expressed on human monocytic leukemic cell line, U937. *Biochim. Biophys. Acta*, 1993; 1177: 43–48
- [51] Moratz C., Harrison K., Kehrl J.H.: Role of RGS proteins in regulating the migration of B lymphocytes. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2004; 52(1): 27–35
- [52] Moratz C., Kang V.H., Druey K.M., Shi Ch., Scheschonka A., Murphy P.M., Kozasa T., Kehrl J.H.: Regulator of G protein signaling 1 (RGS1) markedly impairs G α signaling responses of B lymphocytes. *J. Immunol.*, 2000; 164: 1829–1838
- [53] Mori K., Tanaka I., Kotani M., Miyaoka F., Sando T., Muro S., Sasaki Y., Nakagawa O., Ogawa Y., Usui T.: Gene expression of the human prostaglandin E receptor EP4 subtype: differential regulation in monocytoid and lymphoid lineage cells by phorbol ester. *J. Mol. Med.*, 1996; 74: 333–336
- [54] Murphy J.J., Norton J.D.: Multiple signaling pathways mediate anti-IL-4-induced early response gene expression in human tonsillar B cells. *Eur. J. Immunol.*, 1993; 23: 2876–2881
- [55] Nagasawa T., Nakajima T., Tachibana K., Iizasa H., Bleul C.C., Yoshie O., Matsushima K., Yoshida N., Springer T.A., Kishimoto T.: Molecular cloning and characterization of a murine pre-B-cell growth-stimulating factor/stromal cell-derived factor 1 receptor, a murine homolog of the human immunodeficiency virus 1 entry coreceptor fusin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 14726–14729
- [56] Nowak J.Z., Zawilska J.B.: Cyklaza adenylanowa – izoformy, regulacja aktywności i funkcja. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1999; 53: 147–172
- [57] Nowak J.Z.: Cykliczny AMP: synteza inaktywacyjna i mechanizmy działania w komórce. Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału, red.: Nowak J.Z., Zawilska J.B. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2000; 37–63
- [58] Oliviera-dos-Santos A.J., Matsumoto G., Snow B.E., Bai D., Houston F.P.: Regulation of T cell activation, anxiety, and male aggression. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000; 97: 12272–12277
- [59] Park I.K., Klug C.A., Li K., Jerabek L., Li L., Nanamori M., Neubig R.R., Hood L., Weissman I.L., Clark M.F.: Molecular cloning and characterization of a novel regulator of G-protein signaling from mouse hematopoietic stem cells. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 915–923
- [60] Petty HR: Detection of cytokine signal transduction “cross-talk” in leukocyte activation. *Methods Mol Biol.*, 2004; 249: 219–228
- [61] Reif K., Cyster J.G.: RGS molecule expression in murine B lymphocytes and ability to down-regulate chemotaxis to lymphoid chemokines. *J. Immunol.*, 2000; 164: 4720–4729
- [62] Ross E.M., Wilkie T.M.: GTPase-activating proteins for heterotrimeric G proteins: regulators of G protein signaling RGS-like proteins. *Annu. Rev. Biochem.*, 2000; 69: 795–827

- [63] Rudolph U., Finegold M.J., Rich S.S., Harriman G.R., Srinivasan Y., Brabet P., Boulay G., Bradley A., Birnbaumer L.: Ulcerative colitis and adenocarcinoma of the colon in $G\alpha_2$ -deficient mice. *Nat. Genet.*, 1995; 10: 143–150
- [64] Shi G.X., Harrison K., Wilson G.L., Moratz C., Kehrl J.H.: RGS13 regulates germinal center B lymphocytes responsiveness to CXC chemokine ligand (CXCL12 and CXCL13). *J. Immunol.*, 2002; 169(5): 2507–2515
- [65] Siderovski D.P., Heximer S.P., Forsdyke D.R.: A human gene encoding a putative basic helix-loop-helix phosphoprotein whose mRNA increase rapidly in cycloheximide-treated blood mononuclear cells. *DNA Cell Biol.*, 1994; 13: 125–147
- [66] Snow B.E., Antonio L., Suggs S., Siderovski D.P.: Cloning of a retinally abundant regulator of G-protein signaling (RGS-r/RGS16): genomic structure and chromosomal localization of the human gene. *Gene*, 1998; 206: 247–253
- [67] Strosznajder J.B., Ješko H., Strosznajder R.P.: Fosfolipidy inozytowe w procesie przekazywania sygnału. Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału, red.: Nowak J.Z., Zawilska J.B. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2004, 90–104
- [68] Tan J., Deleuran B., Gesser B., Maare H., Deleuran M., Larsen C.G., Thestrup-Pedersen K.: Regulation of human T lymphocyte chemotaxis *in vitro* by T cell-derived cytokines IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-10 and IL-13. *Immunol.*, 1995; 154: 3742–3752
- [69] Tesmer I.J., Berman D.M., Gilman A.G., Sprang S.R.: Structure of RGS4 bound to AIF4-activated G_{i1} : Stabilization of the transition state for GTP hydrolysis. *Cell*, 1997; 18: 770–777
- [70] Tu Y., Nayak S.K., Woodson J., Ross E.M.: Phosphorylation-regulated inhibition of the G_z GTPase-activating protein activity of RGS proteins by synapsin I. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278(52): 52273–52281
- [71] Tu Y., Woodson J., Ross E.M.: Binding of regulator of G protein signaling (RGS) proteins to phospholipid bilayers: contribution of location and/or orientation to GTPase-activating protein activity. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 20160–20166
- [72] Versele M., Lemaire K., Thevelein J.M.: Sex and sugar in yeast: two distinct GPCR systems. *EMBO Rep.*, 2001; 2(7): 574–579
- [73] Ward R.J., Milligan G.: Analysis of function of receptor-G-protein and receptor-RGS fusion proteins. *Methods Mol. Biol.*, 2004; 259: 225–247
- [74] Wieland T., Mittmann C.: Regulators of G-protein signaling: multifunctional proteins with impact on signalling in the cardiovascular system. *Pharmacol. Ther.*, 2003; 97: 95–115
- [75] Yowe D., Weich N., Prabhudas M., Poisson L., Errada P., Kappeler R., Yu K., Faraon L., Shen M., Cleary J., Wilkie T.M., Gutierrez-Ramos C., Hodge M.R.: RGS18 is a myeloid lineage-specific regulator of G-protein-signalling molecule highly expressed in megakaryocytes. *Biochem. J.*, 2001; 359: 109–118
- [76] Yu J.H., Wieser J., Adams T.H.: The Aspergillus FlbA RGS domain protein antagonizes G protein signaling to block proliferation and allow development. *EMBO J.*, 1996; 15: 5184–5190
- [77] Zheng B., De Vries L., Gist Farquhar M.: Divergence of RGS proteins: evidence for the existence of six mammalian RGS subfamilies. *Trends Biochem. Sci.*, 1999; 24: 411–414
- [78] Zhong H., Neubig R.R.: Regulator of G protein signaling proteins: novel multifunctional drug targets. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001; 297: 837–884