

Received: 2005.08.29
Accepted: 2005.10.13
Published: 2005.10.24

Rola receptora TrkC i neurotrofina 3 w rozwoju i funkcji komórek neuralnych

The role of TrkC receptor and neurotrophin 3 in the development and function of neural cells

Dagmara Kłopotowska, Leon Strządała

Institut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L.Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Neurotrofina 3 (NT3) odgrywa główną rolę w rozwoju układu nerwowego oraz steruje przeżyciem neuronów. NT3 działa głównie za pośrednictwem receptora TrkC na powierzchni komórki, lecz może wiązać się także z receptorami TrkA, TrkB i p75^{NTR}, jakkolwiek z mniejszym powinowactwem. Alternatywne składanie genu *trkC*, prowadzi do powstania izoform w zewnątrzkomórkowej domenie wiążącej neurotrofiny, jak i wewnątrzkomórkowej wykazującej aktywność kinazy tyrozynowej (TrkCK), co pozwala np. izoformie bez aktywności kinazowej (TrkCNC2) na działanie niezależne lub wspólnie z katalitycznym odpowiednikiem. Taka modulacja odpowiedzi receptora katalitycznego (TrkCK) na NT3, a także zjawisko odcinania zewnątrzkomórkowej części receptora, tworzą wspólnie bardzo bogate możliwości regulacji różnych szlaków sygnałowych w różnicujących się komórkach neuralnych i zróżnicowania biologicznego działania NT3/TrkC.

Słowa kluczowe: receptor o aktywności kinazy tyrozynowej C • szlaki sygnałowe • neurotrofiny • neuralne komórki macierzyste

Summary

Neurotrophin 3 (NT-3) plays an important role in the development of the nervous system as well as in mediating the survival of neurons in the adult nervous system. NT-3 functions by preferential binding to the cell surface receptor TrkC as well as by binding TrkA, TrkB, and p75^{NTR}, with lower affinity. Various isoforms of TrkC are generated by alternative splicing. This constitutes, together with ectodomain shedding, an extensive means of regulating TrkC signaling pathways to modulate the effects of NT-3 on target cells during the differentiation of neural cells.

Key words: tyrosine kinase receptor C • signaling pathways • neurotrophin • neural stem cells

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/8354.pdf

Word count: 2305
Tables: 1
Figures: 1
References: 34

Adres autora: prof. dr hab. Leon Strządala, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: strzadal@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **BDNF** – czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (brain-derived neurotrophic factor); **Erk1/2** – kinaza zależna od sygnału zewnątrzkomórkowego 1/2 (extracellular signal-related kinase 1/2); **GEF** – czynnik wymiany nukleotydu guaniny (guanine-nucleotide exchange factor); **JNK** – kinaza domeny N-końcowej białka Jun (c-Jun N-terminal kinase); **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana mitogenem (mitogen-activated protein kinase); **MASH-1** – białko charakterystyczne dla rozwoju neuronów (mammalian achaete-scute homolog 1); **NFκB** – czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB); **NGF** – czynnik wzrostu nerwu (nerve growth factor); **NSC** – neuralne komórki macierzyste (neural stem cells); **NT3** – neurotrofina 3 (neurotrophin 3); **NT4/5** – neurotrofina 4/5 (neurotrophin 4/5); **Olig-1** – białko charakterystyczne dla rozwoju oligodendrocytów (oligodendrocyte lineage gene); **p75^{NTR}** – receptor neurotrofin p75 (p75 neurotrophin receptor); **PI3K** – kinaza 3-fosfatidyloinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinase); **PTB** – domena wiążąca fosfotyrozynę (phosphotyrosine binding domain); **SH2** – domena SH2 (Src homology-2); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **Trk** – receptor o aktywności kinazy tyrozynowej (tropomyosin-related kinase, tyrosine kinase receptor).

WPROWADZENIE

Pierwszy receptor Trk (tropomyosin-related kinase) został odkryty jako onkogen, w którym tropomiozyna jest przyłączona do domeny kinazy tyrozynowej TrkA. Analogiczny protoonkogen został scharakteryzowany jako białko transmembranowe, którego struktura wskazywała, że jest to receptor o aktywności kinazy tyrozynowej. Prawie 10 lat temu wykazano, że receptory te aktywowane są przez neurotrofiny [24].

Rodzina neurotrofin jest grupą zewnątrzkomórkowych czynników wzrostowych, odpowiedzialnych za sygnały regulujące proliferację, różnicowanie i przeżycie komórek neuralnych. Pojęcie komórek neuralnych obejmuje komórki macierzyste oraz powstające z nich prekursorzy i formy dojrzale astrocytów, oligodendrocytów i neuronów. Do rodziny neurotrofin należą NGF, BDNF, NT3 i NT4/5. Neurotrofiny aktywują dwa rodzaje niezwiązanych strukturalnie ze sobą receptorów na powierzchni komórki:

- receptor p75^{NTR} (białko z rodziny TNF),
- receptory rodziny Trk, które są receptorami z aktywnością kinazy tyrozynowej.

Wszystkie neurotrofiny (NGF, NT3, BDNF) wiążą się z receptorem p75^{NTR} ze stosunkowo niewielkim powinowactwem ($K_d=10^{-9}$ M), chociaż NT3 i prekursorowe białko NGF (pro-NGF) mogą się wiązać z dużym powinowactwem w pewnych typach komórek [4,11]. Natomiast do receptorów Trk neurotrofiny wiążą się bardziej selektywnie i stosunkowo z dużym powinowactwem ($K_d=10^{-11}$ M) [16]. Każda z czterech neurotrofin NGF, BDNF, NT3 i NT4/5 wiąże się i aktywuje jeden lub więcej receptorów Trk. I tak, NGF aktywuje TrkA, BDNF i NT4/5 aktywują TrkB, natomiast NT3 aktywuje TrkC. Ponadto, w niektórych komórkach NT3 może również aktywować receptory TrkA i TrkB. Poprzez te receptory neurotrofiny aktywują wiele wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, kontrolowanych m.in. przez geny Ras, rodzinę białek Cdc42/Rac/RhoG oraz kinazy MAPK, PI3K i fosfolipazę PLCγ [5,6,7,31,32,33]. W ten sposób oddziałują na rozwój i funkcje układu nerwowego. Zwykle ekspresja receptora Trk determinuje odpowiedź komórki wobec poszczególnych neurotrofin, chociaż różne składowanie genów kodujących receptory Trk powoduje powstanie izoform, które wykazują funkcjonalne zróżnicowanie w domenach

zewnątrzkomórkowych. Alternatywne składowanie generuje również izoformy bez wewnątrzkomórkowej domeny kinazy tyrozynowej (TrkB i TrkC) [23], a w przypadku TrkC izoformy z modyfikowaną domeną kinazy, która zmienia swoistość substratową.

W niektórych neuronach ośrodkowego układu nerwowego receptory Trk są oddzielone w wewnątrzkomórkowych pęcherzykach [22]. Wtórne przekaźniki sygnału cAMP i jony wapnia są niezbędne w tych neuronach do wydajnego wstąpienia receptora do powierzchni błony komórkowej.

BUDOWA I FUNKCJA BIOLOGICZNA TRKC

Ludzki gen *trkC*, nazywany również *NTRK3*, jest umiejscowiony na chromosomie 15q25 [17], jest zbudowany z 20 eksonów i 19 intronów (tabela 1). Produkt tego genu jest glikoproteiną o masie 145 kDa [9]. Wszystkie receptory Trk mają wspólną organizację strukturalną domen zewnątrzkomórkowych [8].

Receptory Trk (ryc. 1) zawierają interesującą kombinację motywów adhezyjnych w domenach zewnątrzkomórkowych [24]. Po sekwencji sygnałowej, która jest odcinana, następują trzy 24-aminokwasowe motywy bogate w leucynę oflankowane przez dwa motywy cysteinowe (cysteine clusters, C1,C2) na aminowym końcu białka. Do tych struktur przylegają dwie domeny immunoglobulinopodobne, następnie występuje domena transmembranowa i domena cytoplazmatyczna zawierająca domenę kinazy tyrozynowej. Główną domeną odpowiedzialną za wiązanie ligandu jest domena immunoglobulinopodobna umiejscowiona bliżej błony komórkowej [25].

Izoformy TrkC

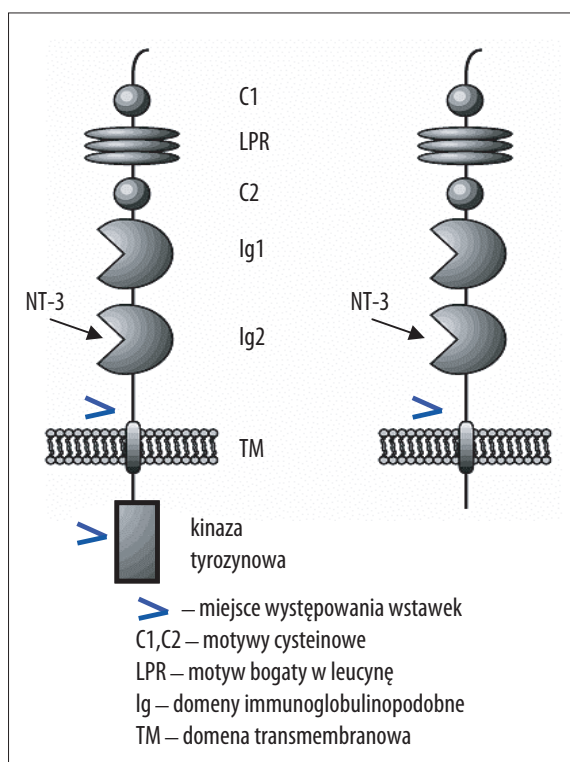
W wyniku alternatywnego składowania genu powstaje wiele izoform TrkC:

1. Izoformy niekatalityczne (m.in. TrkCNC2), które nie mają domeny kinazy tyrozynowej [20].
2. Izoformy katalityczne:
 - a) izoforma o pełnej długości,
 - b) izoformy mające wstawione fragmenty zbudowane z 14, 25 lub 39 reszt aminokwasowych w domenie katalitycznej [13].

Tabela 1. Zestawienie domen białka TrkC oraz kodujących je eksonów

Domeny białka TrkC	Eksony kodujące
Białko sygnałowe	1
Motyw cysteinowy 1	1
Motywy bogate w leucynę 1–3	1–4
Motyw cysteinowy 2	4–5
Domena immunoglobulinopodobna 1	6–7
Domena immunoglobulinopodobna 2	8
Domena zewnątrzkomórkowa w pobliżu błony komórkowej (juxtamembrane)	11–13
Domena transmembranowa	10–11
Domena kinazy tyrozynowej	13–18
Wstawki w domenie zewnątrzkomórkowej i katalitycznej	9, 16
C-końcowa domena niekatalitycznego TrkC	13b, 14b

Opisywane są również izoformy, zarówno katalityczne jak i niekatalityczne, mające wstawki w zewnątrzkomórkowej części receptora, położonej w pobliżu błony komórkowej [8]. Jak dotąd zidentyfikowano pięć niekatalitycznych izoform TrkC [16], jednak ich rola biologiczna jest nadal niejasna. Wykazywano wysoką ekspresję niekatalitycznego receptora, zarówno oddzielnie jak i wspólnie, z jego postacią katalityczną w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym [20]. Co więcej, ekspresja TrkCNC2 w neuralnych komórkach macierzystych (NSC), korelowała z zatrzymaniem proliferacji progenitorowych komórek neuralnych, sugerując udział izoformy niekatalitycznej w różnicowaniu w kierunku neuronów i komórek glejowych. Z kolei w zróżnicowanych neuronach TrkCNC2 występował swoiście w regionach wydłużających się neurytów, sugerując jej udział w podtrzymywaniu przeżycia neuronów i plastyczności synaptycznej [21]. Niedawno, wyprowadziliśmy linię komórkową MB-G z mózgu 16-dniowych zarodków myszy transgenicznym tsA58-SV40 [17]. Stwierdziliśmy, że komórki MB-G oraz komórki referencyjnej linii H19-7 (wyprowadzonej z hipokampa zarodków szczura) mają ekspresję wczesnych (tubulina β III, MAP2), ale nie późnych (neurofilament-L) markerów różnicowania neuronów. Następnie wykazaliśmy, że w komórkach H19-7 występuje ekspresja mRNA receptora TrkCK (izoforma z domeną kinazy tyrozynowej) oraz jego niekatalitycznej izoformy TrkCNC2. Natomiast w komórkach MB-G, stwierdziliśmy ekspresję mRNA tylko dla TrkCNC2. Wyniki badań różnych autorów, wskazują na ekspresję wyłącznie katalitycznej izoformy TrkCK w neuralnych komórkach macierzystych (NCS), podczas gdy w różnicujących się już komórkach potomnych, stwierdzano ekspresję izoform TrkCK i TrkCNC2 [21]. Nasze wyniki wskazują na ekspresję TrkCNC2, bez towarzyszącej im ekspresji izoformy katalitycznej TrkCK, w linii komórkowej MB-G o fenotypie wczesnych prekursorów różnicujących się w kierunku neuronów [17]. Ponadto wykazano, że NT3 indukuje przejście mysich korowych komórek macierzystych z sy-



Ryc. 1. Schemat budowy białka TrkC; wg [8], zmodyfikowany

metrycznego do asymetrycznego podziału, co sugeruje, że NT3 może działać również jako wczesny sygnał do różnicowania neuralnych komórek macierzystych [15].

Podsumowując, przyjmuje się, że receptor TrkCNC2 może działać niezależnie lub wspólnie z katalitycznym odpowiednikiem modulując odpowiedź na NT3 receptora katalitycznego i w ten sposób wpływać na swoiste, lokalne działanie neurotrofiny NT3, np. w czasie neurytogenezy [21].

Modyfikacje potranslacyjne receptora TrkC

Modulacja sygnału przez receptor może być uzyskana nie tylko przez alternatywne składanie wewnątrzcytoplazmatycznej domeny katalitycznej, ale również przez potranslacyjne modyfikacje zewnątrzkomórkowej części receptora. Mateos i wsp. [16] wykazali, że część zewnątrzkomórkowa może być odcięta enzymatycznie, prawdopodobnie przez metaloproteiny, tworząc rozpuszczalną część receptora i związaną z komórką część błonową połączoną z wewnątrzcytoplazmatyczną, swoistą częścią niekatalityczną NC2. Warte podkreślenia są tu dwie obserwacje: pierwsza, że modyfikacje te nie występują w postaci katalitycznej, druga, że związanie neurotrofiny NT3 przez receptor TrkCNC2 wzmaga rozszczepienie receptora. Tak więc, nie tylko alternatywne składanie, ale również odcinanie zewnątrzkomórkowej części receptora reguluje przesyłanie sygnału, a tym samym biologiczne działanie NT3.

Ekspresja *trkC* w wielu mysich tkankach embrionalnych wskazuje, że NT3 pełni różnorodne funkcje w czasie rozwoju [28]. Należy dodać, że TrkC odgrywa istotną rolę nie tylko w regulacji przeżycia i różnicowania komórek układu nerwowego ssaków, ale również w regulacji rozwoju ser-

ca. Stwierdzono poważne wady serca u myszy z nokautem *trkC*, podobne jak u myszy z nokautem NT3, co sugeruje, że receptor TrkC jest głównym receptorem NT3 w szlaku sygnałowym, zapewniającym prawidłowy rozwój serca u ssaków [28]. Wykazano również udział TrkC w procesach różnicowania hematopoetycznych komórek progenitorowych (promielocyty, mielocyty, megakariocyty) [9].

SZLAKI SYGNAŁOWE URUCHAMIANE W WYNIKU ZWIĄZANIA NEUROTROFINY 3 PRZEZ TRKC

W wyniku związania NT3 przez TrkC na powierzchni komórki następuje dimeryzacja receptora i fosforylacja tyrozyn obecnych w domenie cytoplazmatycznej, co powoduje utworzenie miejsc przyłączenia (docking sites) dla cytoplazmatycznych białek adaptorowych wyposażonych w domeny SH2 lub PTB. Białka te z kolei uruchamiają wewnątrzkomórkowe kaskady kinaz obejmującej kinazy szlaku Ras/Raf/Erk, PI3K/AKT oraz kaskadę PLC- γ 1/Ca²⁺, NF κ B i kaskadę atypowej kinazy C. Szczegółowe omówienie szlaków sygnałowych zależnych od neurotrofin znajduje się w pracach przeglądowych innych autorów [8,24].

Rola szlaku Erk1/2 indukowanego przez NT3/TrkC w procesie różnicowania macierzystych komórek neuralnych

W czasie rozwoju embrionalnego z komórek NSC powstają neurony, astrocyty oraz oligodendrocyty. Przy czym NSC różnicują w kierunku neuronów w środkowym okresie ciąży, a w kierunku komórek glejowych podczas późnej ciąży i we wczesnym okresie po narodzeniu (post-natal) [26].

NT3 jest zaangażowana w rozwój oligodendrocytów poprzez stymulację proliferacji prekursorów oligodendrocytów, a także przez wzmacnianie przeżycia oligodendrocytów pomiotycznych [1,12]. Myszy niemające NT3 albo jej receptora TrkC mają wadliwe komórki glejowe ośrodkowego układu nerwowego, co wskazuje, że NT3/TrkC może brać udział w rozwoju oligodendrocytów (oligogenezie) *in vivo* [10].

Szlak Erk1/2 odgrywa podstawową rolę w różnicowaniu embrionalnych komórek macierzystych (embryonic stem cells – ES) [2]. Wykazano, że aktywacja szlaku Erk1/2 wzmacnia neurogenezę, a hamuje gliogenezę embrionalnych NSC [19]. Przeciwnie, w komórkach neuralnych po narodzeniu, w procesie różnicowania NSC w prekursorów oligodendrocytów indukowanego przez NT3 aktywowany jest selektywnie szlak Erk1/2 [7]. Traktowanie NSC, wyizolowanych ze szczurzych noworodków, neurotrofiną 3 indukuje ich różnicowanie w kierunku prekursorów oligodendrocytów a hamuje różnicowanie NSC w kierunku neuronów. W procesie różnicowania NSC do prekursorów oligodendrocytów indukowanym przez NT3 istotna jest aktywacja szlaku Erk1/2, chociaż traktowanie NT3 aktywuje, oprócz szlaku Erk1/2, również szlak kinazy PI3K. Nie wiadomo jednak w jaki sposób traktowanie NT3 hamuje różnicowanie noworodkowych NSC w kierunku komórek neuronów, poprzez szlak Erk1/2. Niedawno wykazano, że podczas oligogenezy wzrasta ekspresja genu Olig-1 (czynnika transkrypcyjnego charakterystycznego dla rozwoju oligodendrocytów) [14], natomiast w czasie różnicowania neuronów ekspresja genu Mash-1 (czynnika transkrypcyjnego charakterystycznego dla rozwoju neuronów) [3]. Hu i wsp. badali ekspresję obu

tych genów po traktowaniu noworodkowych NSC neurotrofiną 3. Stwierdzili, że zmienia się ich ekspresja w sposób zależny selektywnie od aktywności Erk1/2 w ten sposób, że ekspresja Olig-1 wzrasta natomiast Mash-1 spada [7]. W oparciu o uzyskane wyniki zaproponowali model różnicowania się komórek neuralnych po narodzeniu, w którym traktowanie komórek NSC neurotrofiną 3 powoduje trzy różne efekty przez aktywację szlaku Erk1/2:

1. Wzrost ekspresji Olig-1 i wzmocnienie różnicowania komórek w stronę oligodendrocytów.
2. Różnicowanie w kierunku astrocytów, w komórkach, w których NT3 nie ma wpływu na aktywność Erk1/2 i w następstwie na ekspresję Olig-1/Mash-1.
3. Wywołuje hamowanie różnicowania neuronów w komórkach, w których NT3 aktywując szlak Erk1/2 obniża ekspresję Mash-1.

Szlak sygnałowy aktywowany przez NT3/TrkC w komórkach Schwanna

Podczas rozwoju obwodowego układu nerwowego, a także w wyniku uszkodzenia nerwu, do ustanowienia prawidłowej funkcji nerwu niezbędne są złożone, wzajemne oddziaływania pomiędzy komórkami glejowymi, a neuronami. Komórki Schwanna zanim utworzą mielinę migrują wzdłuż aksonów. Migracja komórek inicjowana jest w odpowiedzi na zewnątrzkomórkowe sygnały, którymi mogą być czynniki rozpuszczalne i sygnały obecne na sąsiednich komórkach. NT3/TrkC może odgrywać również rolę, podczas rozwoju obwodowego układu nerwowego po narodzeniu albo po uszkodzeniu nerwu, rekrutując komórki Schwanna wzdłuż aksonów, albo do miejsca uszkodzenia, przed rozpoczęciem procesu mielinizacji.

Regulacja migracji komórek Schwanna i mechanizm ich działania nie są w pełni poznane. Yamauchi i wsp. wykazali niedawno, że neurotrofiny aktywują różne szlaki sygnałowe, które prowadzą do pobudzenia migracji komórek Schwanna, bądź ją hamują [34]. Według nich endogenny BDNF działa poprzez receptor p75^{NTR}, hamując migrację komórek Schwanna. Odbywa się to w sposób zależny od kinazy Src, aktywacji czynnika wymiany nukleotydu guaniny Vav2 i GTP-azy RhoA. GTP-azy z rodziny Rho regulują organizację aktynowego szkieletu komórkowego i są zaangażowane w proces migracji komórek przez formowanie włókien aktynowych. BDNF/p75^{NTR} hamując migrację komórek Schwanna przyczynia się w konsekwencji do inicjacji i wzmocnienia procesu mielinizacji.

Migracja komórek Schwanna, izolowanych z nerwów kulszowych jest natomiast znacząco wzmacniana (prawie 4-krotnie) przez neurotrofinę 3, ale nie przez inne neurotrofiny, takie jak NGF czy BDNF [33]. Komórki Schwanna ekspresjonują, oprócz TrkC, receptor p75^{NTR}, na wysokim poziomie, więc aby sprawdzić, czy p75^{NTR}, jest zaangażowany w migrację komórek Schwanna indukowaną przez NT3 użyto komórek Schwanna pochodzących od myszy z nokautem p75^{NTR}. Migracja komórek indukowana NT3 była również obserwowana w komórkach Schwanna izolowanych z nerwów kulszowych myszy z nokautem p75^{NTR}, wskazując, że NT3 zwiększa migrację wyłącznie poprzez TrkC.

NT3 zwiększa migrację komórek Schwanna poprzez TrkC, gdyż efekt ten hamowało zastosowanie K252a – inhibito-

ra receptorów Trk blokującej fosforylację TrkC [34]. NT3 zwiększa migrację komórek przez aktywację kinazy JNK. Wykazano to za pośrednictwem jej swoistego inhibitora (SP600125), który hamował migrację komórek, a także blokując toksyną B endogenne GTP-azy: RhoA, Rac1 i Cdc42, kontrolujące JNK. Wyniki te potwierdzono również na modelu komórek Cos-7 ekspresjonujących TrkC. Badania: RhoA, Rac1 i Cdc42 wykazały, że aktywność Rac1 i Cdc42 osiągnęła najwyższy poziom 30 minut po stymulacji NT3. Działanie to było hamowane, gdy wcześniej komórki traktowano K252a. Natomiast aktywność RhoA spadała i po 60 minutach po stymulacji NT3 osiągnęła najniższy poziom. Sugeruje to, że aktywacja TrkC przez NT3 stymuluje aktywność JNK i migrację komórek przez aktywację Rac1 i Cdc42. Czas aktywacji Rac1 i Cdc42 był podobny do czasu aktywacji JNK, co wskazuje, że Rac1 i Cdc42 mogą działać jako aktywatory kaskady JNK w szlaku sygnałowym NT3/TrkC [34].

Do niedawna nie był znany w tym szlaku łącznik między TrkC a GTP-azami. W kolejnej pracy zespołu Shootera przedstawiono dowody, że łącznikiem tym jest czynnik wymiany nukleotydu guaniny (GEF) białko Dbs (Dbf's big sister) [32]. GTP-azy Rho działają jako molekularne przełączniki między stanem aktywnym (związany GTP) a stanem nieaktywnym (związany GDP). Ich aktywność wzmacniana jest przez GEFy – czynniki wymiany nukleotydu guaniny, które katalizują zastąpienie GDP przez GTP, a hamowana przez białka aktywujące GTP-azy, które wzmacniają endogenną aktywność GTP-azową. Aby sprawdzić czy Dbs jest zaangażowany w migrację komórek Schwanna indukowaną NT3 badacze zastosowali technikę siRNA, aby wyłączyć endogenne Dbs. Stwierdzili, że wyłączenie ekspresji Dbs znosi migrację komórek Schwanna indukowaną NT3 o połowę. Jednak transfekcja wektorem kodującym konstytutywnie aktywną

postać Dbs (CA-Dbs) zwiększała migrację 1,5-krotnie wskazując, że Dbs jest łącznikiem w szlaku sygnałowym NT3/TrkC prowadzącym do migracji komórek. Dbs bezpośrednio wiąże się z TrkC. TrkC fosforyluje Dbs, skutkiem czego jest indukcja aktywności Cdc42-GEF. Dbs jest zaangażowany w aktywację Cdc42 i JNK, gdyż wyłączenie ekspresji Dbs za pomocą siRNA blokuje aktywację Cdc42 oraz o połowę hamuje fosforylację JNK w komórkach Schwanna indukowanych NT3. Ponadto, Ca-Dbs ma zdolność do aktywacji JNK i zwiększa jej fosforylację 2,5-krotnie. Te wyniki pokazują, że Dbs odgrywa główną rolę w aktywacji Cdc42 i w kaskadzie JNK w szlaku sygnałowym TrkC.

Podsumowując, BDNF hamuje migrację i wzmacnia proces mielinizacji przez komórki Schwanna za pośrednictwem receptora p75^{NTR}, aktywującego szlak Vav2/RhoA w sposób zależny od kinazy Src. Przeciwnie, NT3 hamuje te procesy wyłącznie poprzez receptor TrkC aktywujący szlak Dbs/Rac1/Cdc42/JNK.

Na podstawie aktualnego stanu wiedzy możemy stwierdzić, że alternatywne składanie genu *trkC*, prowadzące do powstania izoform mających wstawki w zewnątrzkomórkowej domenie wiążącej neurotrofina, jak i w domenie wewnątrzkomórkowej z aktywnością kinazy tyrozynowej pozwala izoformie TrkCNC2 na działanie niezależne lub wspólnie z katalitycznym odpowiednikiem. Ten sposób modulacji odpowiedzi receptora katalitycznego na NT3, a także odcinanie zewnątrzkomórkowej części receptora, tworzą wspólnie bardzo bogate możliwości regulacji przesyłania sygnału. Tym samym wpływa na zróżnicowane biologiczne działanie NT3/TrkC w różniących się komórkach neuralnych, zarówno w rozwoju embrionalnym, jak i po narodzeniu w rozwoju obwodowego układu nerwowego.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Barres B.A., Schmid R., Sendtner M., Raff M.C.: Multiple extracellular signals are required for long-term oligodendrocyte survival. *Development*, 1993; 118: 283–295
- [2] Bost F., Caron L., Marchetti I., Dani C., Le Marchand-Brustel Y., Binetruy B.: Retinoic acid activation of the ERK pathway is required for embryonic stem cell commitment into the adipocyte lineage. *Biochem. J.*, 2002; 361: 621–627
- [3] Cau E., Casarosa S., Guillemot F.: Mash1 and Ngn1 control distinct steps of determination and differentiation in the olfactory sensory neuron lineage. *Development*, 2002; 129: 1871–1880
- [4] Chao M.V., Bothwell M.: Neurotrophins: to cleave or not to cleave. *Neuron*, 2002; 33: 9–12
- [5] Grewal S.S., York R.D., Stork P.J.: Extracellular-signal-regulated kinase signaling in neurons. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 1999; 9: 544–553
- [6] Guiton M., Gunn-Moore F.J., Glass D.J., Geis D.R., Yancopoulos G.D., Tavaré J.M.: Naturally occurring tyrosine kinase inserts block high affinity binding of phospholipase C gamma and Shc to TrkC and neurotrophin-3 signaling. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 20384–20390
- [7] Hu X., Jin L., Feng L.: Erk1/2 but not PI3K pathway is required for neurotrophin 3-induced oligodendrocyte differentiation of post-natal neural stem cells. *J. Neurochem.*, 2004; 90: 1339–1347
- [8] Huang E.J., Reichardt L.F.: Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.*, 2003; 72: 609–642
- [9] Ichaso N., Rodriguez R.E., Martin-Zanca D., Gonzalez-Sarmiento R.: Genomic characterization of the human *trkC* gene. *Oncogene*, 1998; 17: 1871–1875
- [10] Kahn M.A., Kumar S., Liebl D., Chang R., Parada L.F., De Vellis J.: Mice lacking NT-3, and its receptor TrkC, exhibit profound deficiencies in CNS glial cells. *Glia*, 1999; 26: 153–165
- [11] Kaplan D.R., Miller F.D.: Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2000; 10: 381–391
- [12] Kumar S., Kahn M.A., Dinh L., De Vellis J.: NT-3-mediated TrkC receptor activation promotes proliferation and cell survival of rodent progenitor oligodendrocyte cells *in vitro* and *in vivo*. *J. Neurosci. Res.*, 1998; 54: 754–765
- [13] Lamballe F., Tapley P., Barbacid M.: TrkC encodes multiple neurotrophin-3 receptors with distinct biological properties and substrate specificities. *EMBO J.*, 1993; 12: 3083–3094
- [14] Lu Q.R., Park J.K., Noll E., Chan J.A., Alberta J., Yuk D., Alzamora M.G., Louis D.N., Stiles C.D., Rowitch D.H., Black P.M.: Oligodendrocyte lineage genes (OLIG) as molecular markers for human glial brain tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 10851–10856
- [15] Łukasiewicz A., Savatier P., Cortay V., Kennedy H., Dehay C.: Contrasting effects of basic fibroblast growth factor and neurotrophin 3 on cell cycle kinetics of mouse cortical stem cells. *J. Neurosci.*, 2002; 22: 6610–6622
- [16] Mateos S., Calothy G., Lamballe F.: The noncatalytic TrkCNC2 receptor is cleaved by metalloproteases upon neurotrophin-3 stimulation. *Oncogene*, 2003; 22: 740–745
- [17] Matuszyk J., Ziolo E., Plawiak D., Strzadala L.: Early neuronal progenitor cell line expressing solely non-catalytic isoform of TrkC. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 309: 91–95
- [18] McGregor L.M., Baylin S.B., Griffin C.A., Hawkins A.L., Nelkin B.D.: Molecular cloning of the cDNA for human TrkC (NTRK3), chromosomal assignment, and evidence for a splice variant. *Genomics*, 1994; 22: 267–272
- [19] Menard C., Hein P., Paquin A., Savelson A., Yang X.M., Laderfein D., Barnabe-Heider F., Mir A.A., Sterneck E., Peterson A.C., Johnson P.F., Vinson C., Miller F.D.: An essential role for a MEK-C/EBP pathway during growth factor-regulated cortical neurogenesis. *Neuron*, 2002; 36: 597–610

- [20] Menn B., Timsit S., Calothy G., Lamballe F.: Differential expression of TrkC catalytic and noncatalytic isoforms suggests that they act independently or in association. *J. Comp. Neurol.*, 1998; 401: 47–64
- [21] Menn B., Timsit S., Represa A., Mateos S., Calothy G., Lamballe F.: Spatiotemporal expression of noncatalytic TrkC NC2 isoform during early and late CNS neurogenesis: a comparative study with TrkC catalytic and p75NTR receptors. *Eur. J. Neurosci.*, 2000; 12: 3211–3223
- [22] Meyer-Franke A., Wilkinson G.A., Kruttgen A., Hu M., Munro E., Hanson M.G.Jr, Reichardt L.F., Barres B.A.: Depolarization and cAMP elevation rapidly recruit TrkB to the plasma membrane of CNS neurons. *Neuron*, 1998; 21: 681–693
- [23] Palko M.E., Coppola V., Tessarollo L.: Evidence for a role of truncated trkC receptor isoforms in mouse development. *J. Neurosci.*, 1999; 19: 775–782
- [24] Patapoutian A., Reichardt L.F.: Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2001; 11: 272–280
- [25] Perez P., Coll P.M., Hempstead B.L., Martin-Zanca D., Chao M.V.: NGF binding to the trk tyrosine kinase receptor requires the extracellular immunoglobulin-like domains. *Mol. Cell. Neurosci.*, 1995; 6: 97–105
- [26] Qian H., Shen Q., Goderie S.K., He W., Capela A., Davis A.A., Temple S.: Timing of CNS cell generation: a programmed sequence of neuron and glial cell production from isolated murine cortical stem cells. *Neuron*, 2000; 28: 69–80
- [27] Schwyzer L., Mateos J.M., Abegg M., Rietschin L., Heeb L., Thompson S. M., Luthi A., Gahwiler B.H., McKinney R.A.: Physiological and morphological plasticity induced by chronic treatment with NT-3 or NT-4/5 in hippocampal slice cultures. *Eur. J. Neurosci.*, 2002; 16: 1939–1948
- [28] Tessarollo L., Tsoulfas P., Donovan M.J., Palko M.E., Blair-Flynn J., Hempstead B.L., Parada L.F.: Targeted deletion of all isoforms of the trkC gene suggests the use of alternate receptors by its ligand neurotrophin-3 in neuronal development and implicates trkC in normal cardiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 14776–14781
- [29] Tsoulfas P., Stephens R.M., Kaplan D.R., Parada L.F.: TrkC isoforms with inserts in the kinase domain show impaired signaling responses. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 5691–5697
- [30] Urfer R., Tsoulfas P., O'Connell L., Hongo J.A., Zhao W., Presta L. G.: High resolution mapping of the binding site of TrkA for nerve growth factor and TrkC for neurotrophin-3 on the second immunoglobulin-like domain of the Trk receptors. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 5829–5840
- [31] Vaillant A.R., Mazzoni I., Tudan C., Boudreau M., Kaplan D.R., Miller F.D.: Depolarization and neurotrophins converge on the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway to synergistically regulate neuronal survival. *J. Cell Biol.*, 1999; 146: 955–966
- [32] Yamauchi J., Chan J.R., Miyamoto Y., Tsujimoto G., Shooter E.M.: The neurotrophin-3 receptor TrkC directly phosphorylates and activates the nucleotide exchange factor Dbs to enhance Schwann cell migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 5198–5203
- [33] Yamauchi J., Chan J.R., Shooter E.M.: Neurotrophin 3 activation of TrkC induces Schwann cell migration through the c-Jun N-terminal kinase pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 14421–14426
- [34] Yamauchi J., Chan J.R., Shooter E.M.: Neurotrophins regulate Schwann cell migration by activating divergent signaling pathways dependent on Rho GTPases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 8774–8779