

Received: 2007.02.12  
Accepted: 2007.04.05  
Published: 2007.04.25

## Interceptory – „ciche” receptory chemokin\*

### Interceptors: – „silent” chemokine receptors

Magdalena Grodecka<sup>1</sup>, Kazimiera Waśniowska<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

<sup>2</sup> Politechnika Opolska, Wydział Wychowania Fizycznego i Fizjoterapii

#### Streszczenie

Efekt fizjologiczny wywołany przez chemokiny jest regulowany przez oddziaływanie z rodopsynopodobnymi receptorami przekazującymi sygnał przez białka G (GPCR – G protein-coupled receptors). Receptory te wykazują wspólne cechy strukturalne: ich łańcuch polipeptydowy ma postać  $\alpha$ -helisy siedmiokrotnie przebijającej błonę komórkową (motyw 7 TMD), a fragment niezbędny do interakcji z białkiem G (sekwencja DRYLAIV) znajduje się na drugiej pętli wewnętrzkomórkowej. Znanych jest 19 receptorów chemokin, trzy z nich – glikoproteina Duffy, białko D6 i CCX-CKR, pomimo strukturalnego podobieństwa do innych GPCR, nie mają zdolności transdukcji sygnału za pomocą białek G. Zamiast tego niezwykle sprawnie i wydajnie internalizują swoje ligandy, wpływając tym samym na poziom kontrolowanych przez siebie chemokin prozapalnych lub homeostatycznych w danej przestrzeni organizmu. Obecnie te trzy białka uznawane są za odrębną rodzinę receptorów chemokin i określane jako interceptory lub „ciche” receptory chemokin.

#### Słowa kluczowe:

chemokiny • receptory chemokin • interceptory • DARC • D6 • CCX-CKR

#### Summary

The physiological effect caused by chemokines is regulated by interactions with a group of rodopsin-like G protein-coupled receptors (GPCRs). These receptors share a number of common features: the polypeptide chain is a 7-transmembrane  $\alpha$ -helix (7 TMD motif) and the region involved in G-protein interaction (the DRYLAIV sequence) is located in the second transmembrane loop. So far, 19 chemokine receptors have been identified. Three of them (Duffy glycoprotein, D6, and CCX-CKR proteins), although structurally related to other GPCRs, lack the ability of G-protein signal transduction. Instead, they efficiently internalize their cognate ligands, regulating chemokine levels in various body compartments. These three proteins are suggested to form a distinct chemokine receptor family, designated „interceptors” or „silent” chemokine receptors.

#### Key words:

chemokines • chemokine receptors • interceptors • DARC • D6 • CCX-CKR

\* Praca została przygotowana w ramach projektu grantowego nr 2 P05A 018 30 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10404.pdf">http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10404.pdf</a>
<b>Word count:</b>	3589
<b>Tables:</b>	1
<b>Figures:</b>	1
<b>References:</b>	45

**Adres autorki:** Kazimiera Waśniowska, Zakład Immunochemii Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: wasniows@immuno.iitd.pan.wroc.pl

## WPROWADZENIE

Pojęcie **chemokiny** pojawiło się po raz pierwszy w 1992 r. [1] i obecnie odnosi się do rodziny około 50 białek [1,4]. Przez niemal 15 lat, jakie upłynęły od tamtego czasu, wiedza na temat budowy, pochodzenia, funkcjonowania i wzajemnych relacji tych cząsteczek znacznie się pogłębiła, chociaż każdemu kolejnemu odkryciu z tej dziedziny towarzyszą pytania i wątpliwości. Jednym z takich wciąż niezgłębionych i inspirujących tematów badawczych związanych z biologią chemokin są ich receptory, a zwłaszcza grupa nietypowych receptorów chemokin określanych jako „**interceptor**”. Do grupy tej zaliczane są na razie trzy białka: antygen Duffy, białko D6 i CCX-CKR, ale prawdopodobnie liczba ta będzie się stopniowo zwiększać, w miarę identyfikowania kolejnych interceptorów spośród receptorów sierocych. Praca ma na celu przybliżenie „sylwetek” obecnie znanych interceptorów i przedstawienie ich na tle aktualnego stanu wiedzy z zakresu chemokin i ich receptorów.

## CHEMOKINY – CHEMOTAKTYCZNE CYTOKINY

Chemokiny to białka o niewielkiej masie cząsteczkowej rzędu 8–10 kDa, wykazujące znaczny stopień strukturalnej homologii w obrębie swojej rodziny. Zbudowane są z 70–130 reszt aminokwasowych [1,42], wśród których znajdują się cztery konserwatywne reszty cysteinowe tworzące dwa mostki disiarczkowe. W zależności od tego, ile aminokwasów rozdziela dwie pierwsze cysteiny, wyróżniono cztery podrodziny chemokin. W chemokinach typu CXC dwie pierwsze reszty cysteinowe rozdzielone są jednym aminokwasem, w chemokinach typu CX<sub>3</sub>C – trzema. W chemokinach podrodziny CC cysteiny przylegają do siebie, a w chemokinach typu C pierwsza i trzecia reszta cysteinowa w ogóle nie występuje [4,34].

Nazwy systematyczne chemokin wprowadza się w oparciu o regułę przyjętą dla receptorów [24]. Zgodnie z tą zasadą, receptory określane są skrótem zależnym od typu budowy: CXC, CC, C i CX<sub>3</sub>C, a po nim literą R oznaczającą „receptor” i kolejnym numerem. W nomenklaturze chemokin po skrócie określającym typ budowy następuje litera „L” oznaczająca „ligand” i numer genu [24]. Geny kodujące chemokiny są numerowane w kolejności chronologicznej. Dotąd stosuje się oba rodzaje nazewnictwa chemokin, dlatego w niniejszym opracowaniu podawane są obie nazwy, najpierw nazwa systematyczna, a po niej nazwa zwyczajowa w nawiasie.

Podobnie jak cytokiny, chemokiny funkcjonują w organizmie jako mediatory reakcji zapalnych i procesów odpornościowych. Wytwarzane są przez leukocyty i komórki innych

tkanek, a fizjologicznie działać mogą w sposób autokryny lub parakryny [1]. Nazwa „chemokiny” zwraca uwagę na pierwszorzędową funkcję pełnioną przez te cząsteczki czyli chemotaksję, bowiem ich podstawowym zadaniem jest kierowanie leukocytów do ognisk zapalnych [4,40]. Oprócz tego uczestniczą w wielu innych różnorodnych procesach, m.in. w angiogenezie, kancerogenezie, wytwarzaniu kolagenu, proliferacji i hematopoezie [23,34,40]. Prawdopodobny jest też ich udział w chorobach autoimmunizacyjnych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane i miażdżyca, a także w alergiach dróg oddechowych i astmie [4,23]. Chemokiny i ich analogi są ważnymi elementami terapii hamującej rozwój wirusa HIV-1 [42].

Ze względu na właściwości fizjologiczne, chemokiny dzieli się na dwie grupy: prozapalne i homeostatyczne (konstytutywne). Chemokiny prozapalne, których ekspresja indukowana jest w warunkach stanu zapalnego, odpowiadają za stymulowanie ruchu leukocytów do ognisk zapalnych. Z kolei chemokiny konstytutywne są stale wytwarzane przez różne tkanki organizmu, biorą udział w procesach odpowiedzi immunologicznej i rozwoju układu odpornościowego [24,34].

## RECEPTORY CHEMOKIN

Chemokiny wywołują efekt fizjologiczny poprzez wiązanie z receptorami przekazującymi sygnał przez białka G, określanymi skrótem GPCR (**G** protein-coupled receptor). Są to rodopsynopodobne białka zbudowane z jednego łańcucha polipeptydowego tworzącego siedem  $\alpha$ -helikalnych domen transbłonowych, mające określone konserwatywne motywy sekwencji aminokwasowej [4,23,34].

W obrębie cząsteczki GPCR można wyróżnić trzy główne fragmenty. Położony na zewnątrz komórki region N-końcowy ma charakter kwasowy i jest zaangażowany w wiązanie różnorodnych ligandów, np. chemokin, przeciwciał, pasożytów. W jego skład mogą wchodzić siarczanowane reszty tyrozynowe. Siarczanowanie tych reszt jest niezbędne do prawidłowej aktywności większości lub wszystkich receptorów chemokin [6]. Za przykład mogą posłużyć CCR5 i CXCR4, receptory wykorzystywane przez wirus HIV do inwazji limfocytów CD4<sup>+</sup>. Siarczanowane reszty tyrozyny na końcach aminowych tych receptorów odpowiadają za wiązanie z wirusową glikoproteiną otoczkową gp120 [9]. Na część środkową cząsteczki GPCR składa się siedem transbłonowych  $\alpha$ -helis (motyw 7TMD [24,42]) oraz trzy zewnątrz- i trzy wewnątrzkomórkowe pętle łańcucha. Zlokalizowany po stronie cytoplazmatycznej koniec karboksylowy jest bogaty w reszty serynowe i treoninowe stanowiące potencjalne miejsca fosforylacji. Podobnie jak w przypadku siarczanowania reszt tyrozyny w dome-



Tabela 1. Porównanie najważniejszych cech interceptorów chemokin

Receptor	DARC (Duffy antigen/receptor for chemokines)	D6	CCX-CKR (chemokiny receptor)
Inne nazwy	antygen/białko Duffy, CIPR-1	CCR10, CIPR-2	CCRL1, CCR10, CCR11, CIPR-3
Miejsca występowania	śródbłonek naczyń krwionośnych różnych organów, neurony, erytrocyty	śródbłonek limfatyczny różnych organów, prawdopodobnie też inne komórki, niektóre nowotwory	komórki dendrytyczne, limfocyty T, komórki śledziony, węzły limfatyczne, tkanki nielimfoidalne w sercu, nerkach, łożysku, tchawicy i mózgu
Funkcja	rezerwuar i internalizacja chemokin prozapalnych, transport chemokin przez EC, receptor zarodźca malarii, antygen grupowy krwi, związek z nowotworami	pochłaniacz chemokin prozapalnych, internalizacja i degradacja chemokin prozapalnych	receptor chemokin homeostatycznych, regulacja migracji leukocytów w drugorzędowej tkance limfoidalnej
Zmiana motywu DRYLAIV	LGH	DKYLEIV	DRYVAVT
Fosforylacja receptora	zależna od obecności liganda	niezależna od obecności liganda	nieznane
Internalizacja liganda	nieciągła, zdolność odnawialna	ciągła, niewyczerpana	nieznane
Sposób internalizacji	poprzez kaweole	$\beta$ -arestyna i wgłębienia pokryte klatryną	poprzez kaweole
Degradacja chemokin	nie degraduje, funkcja rezerwuaru	degraduje chemokiny szybko i wydajnie	nieznane
Typ wiązanych chemokin	CXC, CC, receptor wieloswoisty	CC	CC i CXC, receptor wieloswoisty
Liczba ligandów	16 (8 CXC, 8 CC)	11	4 (3 CC, 1 CXC)
Rodzaj wiązanych chemokin	prozapalne	prozapalne	homeostatyczne

nie N-końcowej, ten rodzaj modyfikacji postranslacyjnych jest ważny dla działania receptora i stanowi element procesu przekazywania sygnału poprzez białka G [21].

Istotnymi fragmentami sekwencji aminokwasowej GPCR są konserwatywne motywy: DRYLAIV umiejscowiony na drugiej pętli wewnątrzkomórkowej oraz TXP położony w drugiej domenie przezbłonowej. Prawdopodobnie oba te fragmenty biorą udział w transdukcji sygnałów i są konieczne do oddziaływania z białkami G [21,27].

Obecnie znanych jest ponad 600 przedstawicieli rodziny GPCR, wśród których znajdują się receptory chemokin, hormonów, neuroprzebiegów, mediatorów stanów zapalnych, proteinaz, substancji smakowych i zapachowych, fotonów (rodopsyna) i jonów wapnia. Spośród tych pierwszych, szczególne znaczenie mają receptory CCR5 i CXCR4 będące wrotami zakażenia odpowiednio dla M-tropowych i T-tropowych szczepów wirusa HIV-1 [9,24]. Do dziś zidentyfikowano 10 receptorów chemokin typu CC, 7 chemokin typu CXC i po jednym chemokin CX<sub>3</sub>C i C [4,16].

#### „CICHE” RECEPTORY CHEMOKIN...

Spośród receptorów chemokin wyróżniono trzy szczególnie receptory: antygen Duffy, białko D6 i CCX-CKR [15,17,27]. Są to białka siedmiokrotnie przebijające błonę komórkową, strukturalnie spokrewnione z GPCR. Wykazują jed-

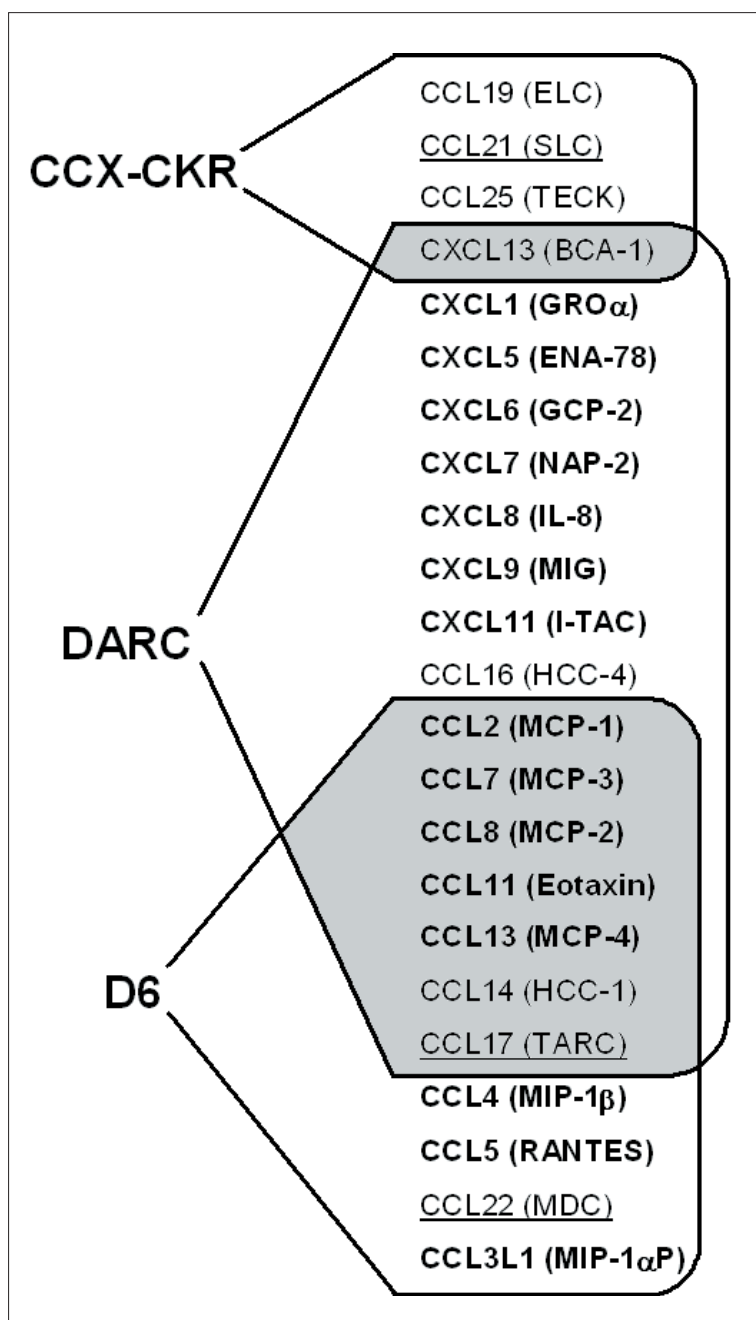
nak pewne zmiany w obrębie sekwencji DRYLAIV i najwyraźniej przez to nie mogą być sprzężone z białkami G. W konsekwencji, nie stwierdzono dotąd w tych receptorach zdolności do transdukcji sygnału przejawiającej się m.in. zmianami wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia. Z tego względu określane są one jako „ciche” receptory chemokin. Porównanie cech charakterystycznych tych trzech receptorów przedstawiono w tabeli 1.

#### ...CZY „INTERCEPTORY”...

Mimo iż „ciche” receptory chemokin nie biorą udziału w przekazywaniu sygnału przez białka G, wydają się pre-dysponowane do niezwykle sprawnej internalizacji swoich ligandów. Z tego względu zaproponowano, aby określać tę grupę jako „interceptory” – **internalizujące receptory** (internalizing receptors) [27,33,34]. Dotychczasowe badania wskazują na to, że ich biologiczną funkcją jest wyłapywanie chemokin krążących w danej przestrzeni organizmu, obniżenie ich stężenia i hamowanie efektów fizjologicznych jakie wywołują, np. ograniczenie rozwoju stanu zapalnego. Interceptory i rozpoznawane przez nie chemokiny przedstawiono na rycinie 1.

#### ...A MOŻE CIPR?

Ponieważ trzy odkryte dotąd „ciche” receptory tworzą już w zasadzie odrębną rodzinę, a podejrzewa się istnienie ko-



Ryc. 1. Na schemacie umieszczono intercepty i ich ligandy, podano nazwy systematyczne chemokin, a w nawiasie nazwy zwyczajowe. Ramkami ograniczono chemokiny rozpoznawane przez dany receptor, w zaciemnionych częściach zawarto ligandy wspólne dla dwóch interceptorów. Pogrubionym drukiem oznaczono chemokiny prozapalne, niepogrubionym – chemokiny homeostaticzne, z podkreśleniem – chemokiny należące do obu tych grup.

lejných, Nibbs i wsp. [27] zaproponowali dla nich specjalne nazewnictwo. Według ich reguł receptory określane są skrótem CIPR (od chemokine internalizing (pseudo)receptors) i kolejnym numerem przyznawanym w kolejności chronologicznej. Tym sposobem antygenowi Duffy odpowiada nazwa CIPR-1, białku D6 CIPR-2, a receptorowi CCX-CKR CIPR-3 [27,34].

Poszukiwania kolejnych interceptorów prowadzi się wśród sierocych receptorów chemokin, tzn. takich, którym nie przyporządkowano jeszcze żadnych ligandów. Jednym z takich „kandydatów” jest HCR (human chemokine receptor) wykazujący strukturalne podobieństwo do typowych GPCR, ale pozbawiony motywu DRY, a więc niemający możliwości transdukcji sygnału [27].

#### PRZENOSZENIE SYGNAŁU

Receptory chemokin, jako typowi przedstawiciele rodziny GPCR, łączą się z białkami G poprzez C-końcowy fragment łańcucha polipeptydowego. O tej interakcji decydują także dwie konserwatywne sekwencje aminokwasowe położone w środkowej części łańcucha polipeptydowego: DRYLAIV na drugiej pętli wewnętrzkomórkowej i TXP w drugiej domenie przezbłonowej [21,27].

Białko G jest heterotrimerem złożonym z podjednostek:  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ ; pierwsza z nich połączona jest z cząsteczką GDP. W wyniku związania liganda, w tym przypadku chemokiny, następuje zmiana konformacyjna cząsteczki receptora, która pozwala na jego połączenie z białkiem G. To z kolei



powoduje zamianę nieaktywnej postaci GDP w podjednostkę  $G_{\alpha}$  na postać GTP oraz dysocjację cząsteczki białka G na podjednostki  $G_{\alpha}$  i  $G_{\beta\gamma}$  zdolne do pobudzenia białka efektorowego czyli przeniesienia sygnału [36].

Wyłączenie aktywności pobudzonego receptora polega na jego dezaktywacji czyli odczuleniu. Po pierwsze, GTP związany z podjednostką  $G_{\alpha}$  ulega hydrolizie do nieaktywnego GDP. Po drugie, reszty seryny i treoniny położone w C-końcowej domenie GPCR są fosforylowane przez działanie swoistej kinazy, co z kolei umożliwia przyłączenie do tego regionu  $\beta$ -arestyny blokującej dalsze wiązanie białka G i przekazywanie sygnału. Do tak związanej  $\beta$ -arestyny przyłącza się białko klatryna inicjujące powstanie w błonie komórkowej wgłębienia endosomalnego, w którym receptor ulega defosforylacji i internalizacji. W ten sposób następuje jego ostateczna desensytyzacja [11, 36].

Pewna część receptorów chemokin przeprowadza internalizację swoich ligandów w sposób niezależny od  $\beta$ -arestyny i klatryny wykorzystując zamiast tego kaweole. Są to bulwiaste wgłębienia powstałe w błonie komórkowej zaangażowane w procesach endocytozy, transcytozy i przenoszenia sygnałów w różnych typach komórek [37]. Ich podstawowym budulcem jest cholesterol, sfingolipidy oraz kaweolina 1, proteina nadająca kaweoli kształt i stabilność [25]. Receptory internalizujące za pośrednictwem tego białka są przeważnie umiejscowione w bogatych w cholesterol obszarach błony komórkowej w sąsiedztwie kaweoli [25,37]. Na skutek związania liganda przez receptor następuje uruchomienie kaskady sygnałów, aktywacja kinazy tyrozynowej i dynaminy, w wyniku czego kaweolina 1 jest fosforylowana, a sama kaweola ulega endocytozie [7,25].

### DARC – ANTYGEN I RECEPTOR CHEMOKIN

Pierwszym receptorem chemokin, jaki sklasyfikowano jako „cichy”, był antygen Duffy, określane również jako DARC (**D**uffy **a**ntigen/**r**eceptor for chemokines). Jest to błonowa glikoproteina zachowująca motyw 7TMD typowy dla GPCR. Występuje w dwóch allelicznych postaciach  $Fy^a$  i  $Fy^b$ , różniących się aminokwasem w pozycji 42 ( $Fy^a$  – Gly,  $Fy^b$  – Asp) [15,31]. Przez swoją lokalizację na erytrocytach, pełni funkcję antygeny grupowego krwi i receptora zarodźców malarii z gatunków *Plasmodium vivax* (zarodziec ludzki) i *Plasmodium knowlesi* (zarodziec małpi) [5,38]. Większość Afroamerykanów i niemal wszyscy mieszkańcy Afryki zachodniej nie mają tego antygeny na erytrocytach, co czyni ich opornymi na zakażenie malarcią przez zarodźca *P. vivax* [15]. DARC występuje też na neuronach i na komórkach śródbłonna żyłek pozawłośniczkowych w różnych partiach organizmu u osób o erytrocytach Duffy-negatywnych i Duffy-pozytywnych [14,15,30], co sugeruje, że fizjologiczna rola tego antygeny nie ogranicza się do procesów związanych z krwią.

Przyczyną „odmienności” DARC, wykluczającej go z grona receptorów przekazujących sygnał przez białka G, jest brak sekwencji aminokwasowej DRYLAIV na drugiej pętli wewnątrzkomórkowej [27]. Fragment ten zastąpiony jest przez sekwencję LGH, co najwyraźniej odbiera Duffy zdolność transdukcji sygnałów [21].

O wiązaniu chemokin przez Duffy decydują typowe konserwatywne elementy budowy receptorów chemokin: dwa mostki disiarczkowe (Cys52-Cys276, Cys129-Cys195) i dwie siarczanowane reszty tyrozyny (Tyr30 i Tyr41) położone na aminowym końcu cząsteczki. Wykazano, że po zniszczeniu mostków siarczkowych glikoproteiny za pomocą dwutiotreitolu, zniesiona zostaje zdolność wiązania chemokin [39]. Z kolei podstawienie Tyr31 fenyloalaniną uniemożliwia oddziaływanie z CXCL8 (IL8), a podstawienie Tyr41 fenyloalaniną – z CCL2 (MCP-1), CCL5 (RANTES), CXCL1 (MGSA). Ta druga substytucja blokuje również wiązanie pasożytów malarii z gatunków *Plasmodium vivax* i *Plasmodium knowlesi* [6].

### DARC – RECEPTOR WIELOSWOISTY

Niemal wszystkie receptory chemokin rozpoznają i wiążą ligandy pochodzące wyłącznie z jednej podrodziny. Niektóre z nich wręcz ograniczają swoje oddziaływanie do jednej konkretnej chemokiny. Antygen Duffy jest fenomenem w tym gronie ponieważ wykazuje wieloswoisty profil wiązania chemokin – może oddziaływać z ligandami pochodzącymi zarówno z podrodziny CXC, jak i CC (ryc. 1). Niedawno wykazano, że wiąże on 11 z 30 wybranych chemokin prozapalnych, niezależnie od tego, do której z tych dwóch podrodzin przynależą [12]. Spośród chemokin konstytutywnych tylko jedna wykazała silne wiązanie do DARC, co wskazuje, na wyraźną preferencję tego receptora w stosunku do chemokin związanych z indukcją stanu zapalnego [12,33]. Udowodniono ponadto, że właściwość ta charakteryzuje nie tylko białko występujące na erytrocytach, ale jest zachowana na komórkach śródbłonna w warunkach stanu fizjologicznego i podczas stanu zapalnego [27,33].

### DWA OBLICZA DARC

cDNA kodujące łańcuch polipeptydowy DARC sklonowano w 1993 r. [5,15] i na tej podstawie ustalono strukturalne podobieństwo Duffy do przedstawicieli GPCR. Początkowo zakładano, że podobnie jak pokrewne receptory chemokin, glikoproteina ta jest zdolna do przenoszenia sygnału za pośrednictwem białka G, czego skutkiem powinno być m.in. podniesienie wewnątrzkomórkowego poziomu jonów wapniowych. Badania przeprowadzone na linii komórek nerkowych 293 poddanych transfekcji cDNA Duffy i zawierających DARC na swojej powierzchni wykazały, że mimo iż wiążą one z dużym powinowactwem wybrane chemokiny, w komórce nie następuje zwiększenie stężenia wapnia, czyli nie zachodzi transdukcja sygnału. Zaproponowano więc, że podstawową funkcją DARC jest internalizacja chemokin krążących w krwiobiegu [8, 26].

Z biegiem czasu wykazano, że występowanie DARC nie ogranicza się jedynie do erytrocytów. Badania metodą barwienia immunocytochemicznego z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko antygenowi Duffy [43,44] wykazały jego obecność na komórkach śródbłonna żyłek pozawłośniczkowych różnych narządów, m.in. w kłębuszku nerkowym, przewodach moczowych, pęcherzykach płucnych, śledzionie oraz na komórkach Purkiniego w mózdzku [15]. Również komórki śródbłonna nowotworów płuc, prostaty i piersi mają ten antygen na swojej powierzchni [2, 41]. Te odkrycia rzuciły nowe

światło na fizjologiczną funkcję Duffy i zasugerowały, że może ona wykraczać poza internalizację chemokin oraz że prawdopodobnie zależy od miejsca ekspresji antygeny. Badania ostatnich lat potwierdziły tę tezę i rozgraniczyły rolę erytrocytarnego i śródbłonkowego DARC.

Antygen Duffy występujący na krwinkach czerwonych pełni wieloraką funkcję. Zbiera nadmiar chemokin prozapalnych pełniąc rolę ich rezerwuaru [8,26,33]. Wiąże je i dzięki temu podtrzymuje pewien zapas w stanie gotowości, a w razie potrzeby transportuje wraz z krwią do miejsca, w którym są uwalniane. Działanie takie jest możliwe dzięki temu, że chemokiny związane przez ten receptor nie są degradowane i po ponownym uwolnieniu zachowują swoje fizjologiczne właściwości [33]. Ponadto, przez usunięcie nadmiaru chemokin z krwi, DARC przeciwdziała dezaktywacji leukocytów i ich odczuleniu [27,32,33]. Ostatnie doniesienia wskazują także, że erytrocytarny Duffy może wywierać hamujący wpływ na rozwój raka prostaty. Zjawisko to tłumaczy się zdolnością DARC do wyłapywania angiogennych chemokin z podrodziny CXC wytwarzanych przez komórki rakowe, co powoduje zahamowanie unaczynienia tkanki nowotworowej i ograniczenie jej wzrostu. Potwierdzeniem tych przypuszczeń jest o 60% większa zachorowalność na raka prostaty i 2-krotnie większa śmiertelność u Duffy-negatywnych Afroamerykanów niż u mężczyzn rasy białej [35].

Duffy obecne na komórkach śródbłonka internalizuje, a następnie transportuje chemokiny od miejsca wytwarzania do ogniska zapalnego w celu prezentacji ich krążącym leukocytom. Początkowo Lee i wsp. [19] wykazali, że monowarstwa komórek śródbłonka transfekowanych DARC ma zdolność transportowania CXCL1 (MGSA), jednakże nie lepiej niż warstwa komórek kontrolnych, nietransfekowanych. Badania Rota i wsp. [32] dostarczyły bardziej przekonujących dowodów na udział DARC w transporcie międzykomórkowym. Użyte do doświadczenia, transfekowane antygenem Duffy komórki MDCK (Madin-Darby canine kidney), hodowane w monowarstwie wykazały zwiększoną transcytozę chemokin. Zaobserwowano także, że chemokiny wstrzyknięte do skóry ulegają internalizacji przez komórki śródbłonka i następnie są umieszczane w kawolach, których funkcja jest powiązana z międzykomórkowym transportem [27]. Podobnie jak postać erytrocytarna, śródbłonkowy DARC również wydaje się związany z rozwojem nowotworów, głównie w kontekście powstawania przerzutów. Niedawno ustalono, że Duffy na komórkach śródbłonka naczyń jest receptorem występującego na powierzchni leukocytów białka KAI1, którego niski poziom ekspresji skutkuje zwiększonym przerzutowaniem, z kolei nadekspresja hamuje powstawanie przerzutów nowotworów różnych typów. Śródbłonkowy DARC wyłapuje krążące w naczyniach krwionośnych komórki nowotworowe mające KAI1 na swojej powierzchni, ograniczając w ten sposób powstawanie przerzutów. Wykazano, że w wiązaniu KAI1 przez białko Duffy uczestniczy N-końcowy fragment antygeny [2].

## D6 – RECEPTOR CHEMOKIN PROZAPALNYCH

Drugim receptorem chemokin zaliczanym do grona interreceptorów jest białko D6. Jego obecność stwierdzono najpierw u myszy, a następnie w oparciu o sekwencję mysiego

go DNA zidentyfikowano i sklonowano ludzki homolog wykazujący analogiczną strukturę i funkcję [29].

D6, podobnie jak Duffy, ma zachowaną budowę typową dla GPCR (motyw 7TMD). Istotna różnica i prawdopodobna przyczyna braku zdolności receptora do przeniesienia sygnałów znajduje się, tak jak w wypadku DARC, na drugiej pętli wewnątrzkomórkowej. W miejscu, gdzie prawidłowo funkcjonujące receptory zawierają sekwencję DRYLAIV, w łańcuchu polipeptydowym D6 obecna jest sekwencja DKYLEIV. Zmieniona postać tej sekwencji występuje nie tylko u ludzi, ale u wszystkich gatunków, u których stwierdzono ekspresję D6, co może wskazywać na ewolucyjną presję do podtrzymania tej właśnie postaci w populacji [3,27]. Nieobecny w łańcuchu D6 jest również motyw TXP [3,21].

Podobnie jak Duffy, receptor D6 jest obecny przede wszystkim na komórkach śródbłonka, jednak nie naczyńniowego, a limfatycznego wyściełającego wstępujące naczynia limfatyczne jelita cienkiego i grubego oraz wyrostka robaczkowego, łożyska, płuc i skóry, a więc narządów mających bliski kontakt z czynnikami pochodzącymi z zewnątrz organizmu [28]. Domniemywa się, że takie ułożenie nie jest przypadkowe. Barwienie immunocytochemiczne z użyciem przeciwciał anti-D6 nie wykazało obecności tego białka na komórkach serca, nerki, wątroby, trzustki, mózgu, ale zaobserwowano pewną immunoreaktywność wątroby, płuc i łożyska pochodzącą od komórek innych niż śródbłonek limfatyczny. Tożsamość tych komórek nie została na razie ustalona. Ekspresję D6 wykazano również na 11 spośród 15 wybranych linii komórek nowotworów skóry i serca, co może wskazywać na odległy stopień pokrewieństwa tych nowotworów ze śródbłonkiem limfatycznym [28]. W bardzo niewielkiej ilości D6 jest też obecny na leukocytach [3,28,29].

## „SCAVENGER” CZYLI POCHŁANIACZ

Białko D6 wykazuje znaczne podobieństwo strukturalne względem receptorów chemokin podrodziny CC, dlatego nie było zaskoczeniem odkrycie, że wiąże ono i internalizuje chemokiny pochodzące z tej właśnie grupy, m.in. CCL2 (MCP-1), CCL4 (MIP-1 $\alpha$ ), CCL5 (RANTES), CCL7 (MCP-3) [10,16,28]. Zaznaczyć należy, że wszystkie chemokiny będące ligandami D6 pochodzą z grupy prozapalnych, podobnie jak w przypadku DARC. D6 wykazuje jednak większą selektywność w doborze liganda, rozpoznaje wyłącznie biologicznie aktywne postaci chemokin, np. preferuje izoformę chemokiny CCL3 (MIP-1 $\alpha$ ) określaną jako CCL3L1 (MIP-1 $\alpha$ P), która ma prolinę zamiast seryny w miejscu drugiej reszty aminokwasowej [3,21].

D6 określane jest często jako „scavenger”, co można tłumaczyć jako pochłaniacz chemokin. Jego cechą charakterystyczną jest bowiem zdolność do nieprzerwanej, niezwykle wydajnej internalizacji liganda. W przypadku typowego GPCR, w czasie internalizacji liganda receptor ulega fosforylacji, następnie jest „wciągany” do środka komórki, gdzie następuje jego defosforylacja, a potem powrót na powierzchnię błony komórkowej. Proces ten nie zachodzi błyskawicznie, wymaga czasu i aktywności  $\beta$ -arestyny [21]. Okazuje się, że D6 omija to ograniczenie przez nieustanną wymianę internalizujących cząsteczek recep-



tora przemieszczających się do wnętrza komórki innymi – odczulonymi i niezaangażowanymi w danym momencie w wiązanie agonisty [16,45]. Dzięki temu na powierzchni błony komórkowej obecna jest zawsze stała liczba cząsteczek receptora zdolnych do rozpoznania i przyjęcia liganda. Badania Weber i wsp. [45] wskazują na ciągły, niezależny od obecności liganda charakter tego procesu. Pojawiające się na powierzchni komórki chemokiny są wyłapywane, transportowane do wnętrza komórki i degradowane. Na C-końcu łańcucha polipeptydowego D6 znajduje się odcinek złożony z kwasowych reszt aminokwasowych, który umożliwia konstytutywne połączenie receptora z  $\beta$ -arestyną i jego ciągłą fosforylację, czyli odczulenie [11,21]. Ostatnie doniesienia wskazują ponadto, że głównie reszty seryny odpowiadają za to połączenie [16].

Fizjologiczna funkcja D6 nie jest do końca poznana, jednak wszystkie eksperymentalnie uzyskane dowody wskazują na przeciwzapalne działanie tego receptora jako pochłaniacza chemokin prozapalnych. Biorąc pod uwagę miejsca występowania, D6 może być ważnym regulatorem procesów zapalnych w skórze, również tych prowadzących do nowotworów [16]. Brak D6 w miejscu objętym stanem zapalnym powoduje utrzymanie się wysokiego poziomu chemokin prozapalnych i rozwój reakcji zapalnej, zamiast jej ograniczenia. Badania przeprowadzone na myszach z wyłączoną ekspresją D6 w skórze dostarczyły pewnych informacji na ten temat. Okazuje się, że po aplikacji na skórę estru forbolu TPA (13-octan-12-O-tetradekanoilforbolu), u myszy z wyłączonym genem D6, stan zapalny skóry rozwinął się w postać bardziej zaawansowaną i trwał prawie 2 razy dłużej niż u myszy kontrolnych [18,22]. Ponadto postać zapalenia rozwinięta u tych zwierząt była zbliżona do ludzkiej łuszczycy. Jednocześnie myszy z wyłączoną ekspresją D6 są bardziej odporne na wywołanie zapalenia komórek mózgu i rdzenia kręgowego [20]. Najwyraźniej więc, w niektórych tkankach D6 hamuje rozwój stanu zapalnego, a w innych działa indukująco.

## CCX-CKR

Najsłabiej poznanym spośród „interceptorów” jest CCX-CKR, który jeszcze niedawno zaliczano do sierocych receptorów chemokin. W literaturze określano go także jako CCRL1, CCR10, CCR11 i chemocentryx chemokine receptor [7,13,17]. Przełomem były badania zespołu Gosling i wsp. [13], których wyniki opublikowano w 2000 r. Ta grupa badaczy analizowała rodzinę receptorów sierocych w poszukiwaniu nowych receptorów chemokin oddziałujących na komórki dendrytyczne i limfocyty T. W ten sposób natrafiono na białko będące ludzkim homologiem wołowego receptora substancji smakowych PPR1, które zaczęto potem określać zgodnie z właściwą nomenklaturą receptorów chemokin jako CCR10.

Miejsca ekspresji CCX-CKR różnią się od miejsc występowania dwóch pozostałych „cichych” receptorów chemokin; nie jest to ani śródbłonek, ani erytrocyty. Prawdopodobnie więc jego funkcja biologiczna też jest odmienna. mRNA kodujące ten receptor zidentyfikowano w niedojrzałych komórkach dendrytycznych i limfocytach T, komórkach śledziony, w węzłach limfatycznych oraz w komórkach tkanek nielimfoidalnych w sercu, nerkach, łożysku, tchawicy i mózgu [13].

Do określenia profilu chemokin wiązanych przez nowo odkryty receptor użyto stalkokin, czyli chemokin immobilizowanych na syntetycznych „łodygach” („stalk” – łodyga) oraz komórki HEK293 CCX-CKR-pozytywne [13]. Do immobilizacji wybrano chemokiny CCL19 (ELC) i CCL25 (TECK) znakowane jodem I<sup>25</sup>. Dodatkowo jako inhibitory kompetytywne dla tego wiązania użyto 80 różnych chemokin i ich pochodnych zawieszonych w roztworze. Te oraz następne badania wykazały, że CCX-CKR wiąże z dużym powinowactwem chemokiny z podrodziny CC: CCL19 (ELC), CCL21 (SLC) i CCL 25 (TECK) oraz z mniejszym powinowactwem CXCL13 (BLC), mysią chemokinę mMIP-1 $\gamma$  oraz wirusową chemokinę vMIP-II [7,16,17]. Pierwsze trzy z wymienionych ligandów pełnią w organizmie podobną rolę, tj. kontrolują udział tymocytów w rozwoju limfocytów T. CCL19 i CCL21 kierują ruchem komórek dendrytycznych i limfocytów T do drugorzędowych organów limfatycznych [7, 16]. Ich funkcje są realizowane poprzez oddziaływanie z receptorami CCR7 (chemokiny CCL19, CCL21) i CCR9 (chemokina CCL25).

Badania z wykorzystaniem komórek HEK293 mających na swojej powierzchni receptor CCX-CKR i chemokiny CCL19 znakowanej jodem I125 przyniosły więcej informacji na temat fizjologicznej funkcji tego białka. Wykazano, że jest ono zdolne do wydajnej, ciągłej internalizacji chemokiny CCL19 [7]. Co więcej, proces ten zachodzi nawet szybciej niż w przypadku internalizacji tej samej chemokiny przez CCR7 i w miarę przyrostu związanego liganda nie następuje desensytyzacja receptora. Po związaniu ligand jest transportowany do wnętrza komórki poprzez receptor i ulega degradacji zachodzącej również bardziej wydajnie niż u CCR7. Przeciwnie niż w przypadku innych receptorów chemokin, proces ten nie jest zależny od  $\beta$ -arestyny i klatrynowych zagłębień, zachodzi natomiast z wykorzystaniem kaweoli. Świadczy o tym to, że nadekspresja kaweoliny 1 blokuje internalizację CCL19 przez ten receptor [7].

Dotychczasowe wyniki badań wskazują zatem, że CCX-CKR, podobnie jak białko Duffy, wykazuje wieloswoisty profil wiązania chemokin, ale tylko tych homeostatycznych. Jego funkcja biologiczna najwyraźniej dotyczy regulacji procesów migrowania leukocytów w czasie rozwoju drugorzędowej tkanki limfoidalnej [7,16].

## PODSUMOWANIE

Od 1992 r., kiedy pojęcie chemokin pojawiło się po raz pierwszy, wiedza na temat tych cząsteczek niezmiernie się pogłębiła. Przez ten czas zidentyfikowano 19 receptorów chemokin, a trzem z nich – Duffy, D6 i CCX-CKR – nadano miano interceptorów i zaczęto klasyfikować jako odrębną rodzinę. Z pewnością nie są to ostatni przedstawiciele tej grupy i można się spodziewać doniesień o kolejnych „cichych” receptorach chemokin. Budzą one duże zainteresowanie badaczy ze względu na swój związek z procesami odpowiedzi immunologicznej, indukcją stanów zapalnych czy chorobami (np. AIDS, malaria, nowotwory) oraz dzięki nietypowym cechom, takim jak wieloswoistość i brak możliwości transdukcji sygnału. Należy się więc spodziewać, że rozwój badań nad interceptorami, jako osobną rodziną receptorów chemokin, przyniesie wiele ciekawych odkryć, które być może zrewolucjonizują metody terapii niektórych obecnie trudnych do wyleczenia schorzeń.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Baggiolini M.: Chemokines in pathology and medicine. *J. Intern. Med.*, 2001; 250: 91–104
- [2] Bandyopadhyay S., Zhan R., Chaudhuri A., Watabe M., Pai S.K., Hirota S., Hosobe S., Tsukada T., Miura K., Takano Y., Saito K., Pauza M.E., Hayashi S., Wang Y., Mohinta S., Mashimo T., Iizumi M., Furuta E., Watabe K.: Interaction of KAI1 on tumor cells with DARC on vascular endothelium leads to metastasis suppression. *Nat. Med.*, 2006; 12: 933–938
- [3] Borroni E.M., Buracchi C., de la Torre Y.M., Galliera E., Vecchi A., Bonecchi R., Mantovani A., Locati M.: The chemoattractant decoy receptor D6 as a negative regulator of inflammatory responses. *Biochem. Soc. Trans.*, 2006; 34: 1014–1017
- [4] Charo I.F., Ransohoff R.M.: The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N. Eng. J. Med.*, 2006; 354: 610–621
- [5] Chaudhuri A., Polyakova J., Zabrzezna V., Williams K., Gulatti S., Pogo A.O.: Cloning of glycoprotein D cDNA, which encodes the major subunit of the Duffy blood group system and the receptor for the *Plasmodium vivax* malaria parasite. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 10793–10797
- [6] Choe H., Moore M.J., Owens C.M., Wright P.L., Vasilieva N., Li W., Singh A.P., Shakri R., Chitnis C.E., Farzan M.: Sulphated tyrosines mediate association of chemokines and *Plasmodium vivax* Duffy binding protein with the Duffy antigen/receptor for chemokines (DARC). *Mol. Microbiol.*, 2005; 55: 1413–1422
- [7] Comerford I., Milasta S., Morrow V., Milligan G., Nibbs R.: The chemokine receptor CCX-CKR mediates effective scavenging of CCL19 *in vitro*. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 1904–1916
- [8] Darbonne W.C., Rice G.C., Mohler M.A., Apple T., Hebert C.A., Valente A.J., Baker J.B.: Red blood cells are a sink for interleukin 8, a leukocyte chemotaxin. *J. Clin. Invest.*, 1991; 88: 1362–1369
- [9] Farzan M., Vasilieva N., Schmitzler C.E., Chung S., Robinson J., Gerard N.P., Gerard C., Choe H., Sodroski J.: A tyrosine-sulfated peptide based on the N terminus of CCR5 interacts with a CD4-enhanced epitope of the HIV-1 gp120 envelope glycoprotein and inhibits HIV-1 entry. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 33516–33521
- [10] Fra A.M., Locati M., Otero K., Sironi M., Signorelli P., Massardi M.L., Gobbi M., Vecchi A., Sozzani S., Mantovani A.: Cutting edge: scavenging of inflammatory CC chemokines by the promiscuous putatively silent chemokine receptor D6. *J. Immunol.*, 2003; 170: 2279–2282
- [11] Galliera E., Jala V.R., Trent J.O., Bonecchi R., Signorelli P., Lefkowitz R.J., Mantovani A., Locati M., Haribabu B.:  $\beta$ -Arrestin-dependent constitutive internalization of the human chemokine decoy receptor D6. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 25590–25597
- [12] Gardner L., Patterson A.M., Ashton B.A., Stone M.A., Middleton J.: The human Duffy antigen binds selected inflammatory but not homeostatic chemokines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 321: 306–312
- [13] Gosling J., Dairaghi D.J., Wang Y., Hanley M., Talbot D., Miao Z., Schall T.J.: Cutting edge: identification of a novel chemokine receptor that binds dendritic cell- and T cell-active chemokines including ELC, SLC, and TECK. *J. Immunol.*, 2000; 164: 2851–2856
- [14] Hadley T.J., Lu Z.H., Wasniewska K., Martin A.W., Peiper S.C., Hesselgesser J., Horuk R.: Postcapillary venule endothelial cells in kidney express a multispecific chemokine receptor that is structurally and functionally identical to the erythroid isoform which is the Duffy blood group antigen. *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 985–991
- [15] Hadley T.J., Peiper S.C.: From malaria to chemokine receptor: the emerging physiologic role of the Duffy blood group antigen. *Blood*, 1997; 89: 3077–3091
- [16] Hansell C.A., Simpson C.V., Nibbs R.J.: Chemokine sequestration by atypical chemokine receptors. *Biochem. Soc. Trans.*, 2006; 34: 1009–1013
- [17] Haraldsen G., Rot A.: Coy decoy with a new ploy: Interceptor controls the levels of homeostatic chemokines. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 1659–1661
- [18] Jamieson T., Cook D.N., Nibbs R.J., Rot A., Nixon C., McLean P., Alcami A., Lira S.A., Wiekowski M., Graham G.J.: The chemokine receptor D6 limits the inflammatory response *in vivo*. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 403–411
- [19] Lee J.S., Frevert C.W., Wurfel M.M., Peiper S.C., Wong V.A., Ballman K.K.: Duffy antigen facilitates movement of chemokine across the endothelium *in vitro* and promotes neutrophil transmigration *in vitro* and *in vivo*. *J. Immunol.*, 2003; 170: 5244–5251
- [20] Liu L., Graham G.J., Damodaran A., Hu T., Lira S.A., Sasse M., Canasto-Chibuque C., Cook D.N., Ransohoff R.M.: Cutting edge: the silent chemokine receptor D6 is required for generating T cell responses that mediate experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2006; 177: 17–21
- [21] Locati M., de la Torre Y.M., Galliera E., Bonecchi R., Bodduluri H., Vago G., Vecchi A., Mantovani A.: Silent chemoattractant receptors: D6 as a decoy and scavenger receptor for inflammatory CC chemokines. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005; 16: 679–686
- [22] Martinez de la Torre Y., Locati M., Buracchi C., Dupor J., Cook D.N., Bonecchi R., Nebuloni M., Rukavina D., Vago L., Vecchi A., Lira S.A., Mantovani A.: Increased inflammation in mice deficient for the chemokine decoy receptor D6. *Eur. J. Immunol.*, 2005; 35: 1342–1346
- [23] Murdoch C., Finn A.: Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood*, 2000; 95: 3032–3043
- [24] Murphy P.M., Baggiolini M., Charo I.F., Hebert C.A., Horuk R., Matsushima K., Miller L.H., Oppenheim J.J., Power C.A.: International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol. Rev.*, 2000; 52: 145–176
- [25] Nabi I.R., Le P.U.: Caveolae/raft-dependent endocytosis. *J. Cell Biol.*, 2003; 161: 673–677
- [26] Neote K., Mak J.Y., Kolakowski L.F., Schall T.J.: Functional and biochemical analysis of the cloned Duffy antigen: Identity with the red blood cell chemokine receptor. *Blood*, 1994; 84: 44–52
- [27] Nibbs R., Graham G., Rot A.: Chemokines on the move: control by the chemokine „interceptors” Duffy blood group antigen and D6. *Semin. Immunol.*, 2003; 15: 287–294
- [28] Nibbs R.J., Kriehuber E., Ponath P.D., Parent D., Qin S., Campbell J.D., Henderson A., Kerjaschki D., Maurer D., Graham G.J., Rot A.: The beta-chemokine receptor D6 is expressed by lymphatic endothelium and a subset of vascular tumors. *Am. J. Pathol.*, 2001; 158: 867–877
- [29] Nibbs R.J., Wylie S.M., Yang J., Landau N.R., Graham G.J.: Cloning and characterization of a novel promiscuous human beta-chemokine receptor D6. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 32078–32083
- [30] Peiper S.C., Wang Z.X., Neote K., Martin A.W., Showell H.J., Conklyn M.J., Ogborne K., Hadley T.J., Lu Z.H., Hesselgesser J., Horuk R.: The Duffy Antigen/Receptor for Chemokines (DARC) is expressed in endothelial cells of Duffy negative individuals who lack the erythrocyte receptor. *J. Exp. Med.*, 1995; 181: 1311–1317
- [31] Pogo A.O., Chaudhuri A.: The Duffy protein: a malarial and chemokine receptor. *Semin. Hematol.*, 2000; 37: 122–129
- [32] Pruenster M., Rot A.: Throwing light on DARC. *Biochem. Soc. Trans.*, 2006; 34: 1005–1008
- [33] Rot A.: Contribution of Duffy antigen to chemokine function. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005; 16: 687–694
- [34] Rot A., von Andrian U.H.: Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokines grammar for immune cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2004; 22: 891–928
- [35] Shen H., Schuster R., Stringer K.F., Waltz S.E., Lentsch A.B.: The Duffy antigen/receptor for chemokines (DARC) regulates prostate tumor growth. *FASEB J.*, 2006; 20: 59–64
- [36] Szymiczek M., Kurowska E., Gorczyca W.A.: Rola arestyn w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 324–333
- [37] Tagawa A., Mezzacasa A., Hayer A., Longatti A., Pelkmans L., Helenius A.: Assembly and trafficking of caveolar domains in the cell: caveolae as stable, cargo-triggered, vesicular transporters. *J. Cell Biol.*, 2005; 170: 769–779
- [38] Tournamille C., Filipe A., Wasniewska K., Gane P., Lisowska E., Cartron J.P., Colin Y., Le Van Kim C.: Structure-function analysis of the extracellular domains of the Duffy antigen/receptor for chemokines: characterization of antibody and chemokine binding sites. *Br. J. Haematol.*, 2003; 122: 1014–1023
- [39] Tournamille C., Le Van Kim C., Gane P., Blanchard D., Proudfoot A.E., Cartron J.P., Colin Y.: Close association of the first and fourth extracellular domains of the Duffy antigen/receptor for chemokines by a disulfide bond is required for ligand binding. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 16274–16280
- [40] Van Damme J., Mantovani A.: Editorial. From cytokines to chemokines. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005; 16: 549–551





- [41] Wang J., Ou Z.L., Hou Y.F., Luo J.M., Shen Z.Z., Ding J., Shao Z.M.: Enhanced expression of Duffy antigen receptor for chemokines by breast cancer cells attenuates growth and metastasis potential. *Oncogene*, 2006; 25: 7201–7211
- [42] Waśniowska K.: Chemokiny – perspektywy zastosowania związków blokujących ich działanie w terapii. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 37–46
- [43] Waśniowska K., Lisowska E., Halverson G.R., Chaudhuri A., Reid M.E.: The Fya, Fy6 and Fy3 epitopes of the Duffy blood group system recognized by new monoclonal antibodies: identification of a linear Fy3 epitope. *Br. J. Haematol.*, 2004; 124: 118–122
- [44] Waśniowska K., Petit-LeRoux Y., Tournamille C., Le van Kim C., Cartron J.P., Colin Y., Lisowska E., Blanchard D.: Structural characterization of the epitope recognized by the new anti-Fy6 monoclonal antibody NaM 185-2C3. *Transfus. Med.*, 2002; 12: 205–211
- [45] Weber M., Blair E., Simpson C.V., O'Hara M., Blackburn P.E., Rot A., Graham G.J., Nibbs R.J.: The chemokine receptor D6 constitutively traffics to and from the cell surface to internalize and degrade chemokines. *Mol. Biol. Cell.*, 2004; 15: 2492–2508