

Received: 14.02.2006

Accepted: 06.03.2006

Published: 31.03.2006

Charakterystyka białek jądrowych i ich związek z laminopatiami

Characteristics of nuclear proteins and their association with the laminopathies

Adres do korespondencji: Zespół Badawczo-Leczniczy Chorób Nerwowo-Mięśniowych Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa, tel./fax: 022 658 45 01, e-mail: neurmyol@cmdik.pan.pl
Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Badania genetyczne wskazują na obecność mutacji w laminach A/C w heterogennej grupie chorób, w których dochodzi do uszkodzenia mięśni szkieletowych, mięśnia sercowego, układu nerwowego, tkanki tłuszczowej, skóry oraz układu kostnego. Patomechanizm powstawania zmian chorobowych w tych tkankach oraz przyczyna znacznej zmienności fenotypowej w ramach danej jednostki chorobowej nie są wyjaśnione. W celu zrozumienia mechanizmów prowadzących do powstawania laminopatii przedstawione zostały: lokalizacja i struktura lamin oraz związanych z nimi innych białek jądrowych, ich synteza, rozkład, molekularne właściwości, wzajemne interakcje, jak również przypuszczalne funkcje. Lamininy, sklasyfikowane jako lamininy typu A (kodowane przez gen *LMNA*) oraz lamininy typu B (kodowane przez geny *LMN1* i *LMN2*), są najlepiej scharakteryzowanymi białkami jądra komórkowego. Zarówno budowa białek wiążących się z laminami, jak i ich zależność od lamin nie zostały dokładnie określone. Przedstawiono ponadto sugestie dotyczące mechanizmu pojawiania się kardiomiopatii rozstrzeniowej w przebiegu niektórych laminopatii. Przypuszczalnie jednym z mechanizmów powstawania kardiomiopatii jest nadmierna wrażliwość kardiomiocytów na stres mechaniczny wskutek obecności mutacji w obrębie lamin. Ich mutacje mogą prowadzić do powstawania kardiomiopatii na skutek destabilizacji jąder komórkowych, jak i prowokowania powstawania reakcji autoimmunologicznej, działającej cytotoksycznie na komórki mięśnia sercowego.

SŁOWA KLUCZOWE: lamininy, inne białka jądrowe, struktura białek jądrowych, interakcje między laminami a innymi białkami, funkcja białek jądrowych

Summary

Genetic studies have now shown that mutations in lamins A/C are present in a heterogenous group of diseases in which they are leading to defects in skeletal muscles, heart, nervous system, fat, skin and bones. The mechanisms leading to the development of laminopathies and the marked differences in phenotypes in the particular laminopathies are not solved, yet. For better understanding the mechanism(s) of laminopathies the localization and structure of lamins, and also the connected with them other nuclear proteins, their synthesis and degradation, their molecular properties, their interactions and probable functions are presented. The lamins, classified already as lamins type A (coded by *LMNA* gene) and lamins type B (coded by *LMN1* and *LMN2* genes), are the best characterized nuclear proteins. The structure of other nuclear proteins and their dependence on lamins are still not well defined. The possible mechanism of dilated cardiomyopathy in some laminopathies is also discussed. It is possible that one of the factors responsible for it is an increased susceptibility of cardiomyocytes to mechanical stress because of lamins mutations. Cardiomyopathy may also appear as the consequence of lost nuclei stability in the presence of mutated lamins. The other mechanism may be also the fact that mutated lamins provoke autoimmunologic reactions, cytotoxic against cardiomyocytes.

KEY WORDS: lamins, other nuclear proteins, structure of nuclear proteins, interactions between lamins and other nuclear proteins, nuclear proteins function

Wgenetycznie przekazywanych 11 laminopatiach obserwujemy uszkodzenia różnych tkanek, takich jak mięśnie szkieletowe, mięsień sercowy, układ nerwowy, tkanka tłuszczowa, skóra i układ kostny⁽¹⁾. Do zmian chorobowych w tych tkankach dochodzi wskutek mutacji niektórych białek jąder komórkowych, m.in. lamin kodowanych przez gen *LMNA*. Patomechanizm zmian chorobowych wynikających z mutacji tych białek w bardzo różnych jednostkach chorobowych, jak również przyczyny znacznej nieraz zmienności fenotypowej w ramach danej choroby są trudne do określenia. Aby zrozumieć patogenezę laminopatii, musimy poznać strukturę i funkcje nie tylko samych lamin, ale także białek z nimi związanych, ich molekularne właściwości, wzajemne interakcje oraz ich funkcje. Określono względnie dokładnie strukturę lamin i niektórych łączących się z nimi białek, niemniej cała wiedza o ich funkcji to na razie jedynie hipotezy.

Najbardziej rozpowszechnionymi i najlepiej scharakteryzowanymi strukturalnie białkami jądra komórkowego są laminy⁽²⁾. Sklasyfikowano je jako laminy typu A (A, A10, C, C2), kodowane przez gen *LMNA*, oraz laminy typu B (B1, B2, B3), kodowane przez geny *LMN1* i *LMN2*^(3,4). Prekursorem laminy A są prelaminy A. Lamina typu A wykazuje zależność od lamin typu B⁽⁵⁾. Lamina C różni się od laminy A w niewielkim stopniu – obecnością 6 aminokwasów, przypuszczalnie również swoją funkcją. Wbudowywanie jej do blaszki jądrowej uzależnione jest od obecności laminy A⁽⁶⁾. Określone zostały miejsca, w których laminy wiążą się z białkami umiejscowionymi głównie w wewnętrznej błonie jądrowej. Do białek tych należą: polipeptydy LAP1 i LAP2 (α , β , γ), emeryna, receptor laminy B (LBR), MAN1 (polipeptyd 82,3 kDa), otefina, YA, Rb⁽⁷⁾ i nurim. Laminy łączą się również z białkami wiążącymi się z chromatyną (BAF)⁽⁸⁾, białkiem HA95⁽⁹⁾, jak również z LAP2 α ^(8,10). Z laminami łączy się przypuszczalnie także nespryna, białko znajdujące się w zewnętrznej błonie jądrowej. Wszystkie te białka wiążą się z laminą A/C i/lub laminą B, a nespryna dodatkowo z aktyną^(3,5) i emeryną^(11,12). Z chromatyną łączy się bezpośrednio lamina A⁽¹³⁾. Opisano również połączenia między laminami a histonami i DNA⁽¹⁴⁾. Niektóre białka wiążące się z laminami wykazują różne do nich powinowactwo. I tak emeryna wykazuje większą predylekcję do laminy A/C, mniejszą do laminy B oraz BAF. Z kolei nurim przypuszczalnie nie wiąże się bezpośrednio z laminami. LBR wiąże się z laminą B i białkiem Hp1 w nukleoplazmie. Do białek niezdefiniowanych bliżej, a występujących w błonach jąder mięśni szkieletowych i mięśni gładkich należy białko o nazwie myne-1, wiążące się z laminą A/C, które odgrywać ma pewną rolę w pojawianiu się kardiomiopatii i dystrofii⁽¹⁵⁾. Poza wymienionymi znany jest szereg innych białek jądra komórkowego. Zalicza się do nich 125 kDa białko o nazwie matrins⁽¹⁶⁾, 240 kDa NuMA⁽¹⁷⁾, 170 kDa DNA topoizomerazę 11 α ⁽¹⁸⁾, aktynę⁽¹⁹⁾, specyficzne białko S/MARs wiążące się z DNA⁽²⁰⁾

oraz izoformę 4.1R wiążącą się z aktyną i NuMA⁽²¹⁾. Ewentualna zależność tych białek od lamin jest dotychczas nieokreślona. Pamiętać przy tym należy, że w jądrze komórkowym, jego błonach, blaszce i macierzy rezyduje z górą 80 białek, a te już poznane to zaledwie mała część stanu posiadania jądra komórkowego.

O ile lokalizacja, struktura oraz wzajemne powiązania lamin i pozostałych określonych do tej pory białek wydają się względnie dobrze poznane, o tyle znacznie mniej wiemy o ich funkcji.

Uważa się, iż laminy warunkują architekturę i kształt jądra, chronią przed mechanicznym uszkodzeniem jądra, utrzymują funkcje związane z replikacją DNA i transkrypcją genów określających czynniki transkrypcyjne niezbędne do różnicowania komórek⁽⁴⁾. Lamina A reguluje transkrypcję poprzez wiązanie regulatorów transkrypcji (białko MOK2)⁽²²⁾, SREBP1 (*sterol response element-binding protein*)⁽²³⁾ i represor białka Retinoblastoma RB⁽²⁴⁾. Lamina B z kolei ma być związana z podstawowymi procesami replikacji DNA⁽²⁵⁾, a także transkrypcji⁽²⁶⁾. Podkreślana jest również rola lamin w utrzymywaniu integralności błony jądrowej⁽²⁷⁾.

Poza tymi wszystkimi funkcjami laminy warunkują też właściwą lokalizację w błonie jądrowej białek towarzyszących, głównie emeryny⁽⁶⁾, z kolei właściwa lokalizacja białek w błonie jądrowej warunkuje utrzymywanie prawidłowego cyklu komórkowego⁽²⁸⁾. Ponieważ laminy wiążą DNA, przypuszcza się, że zmiany w ich wzajemnych relacjach mogą odgrywać rolę w patofizjologii niektórych laminopatii⁽²⁹⁾.

Białka wiążące się z laminami, a zlokalizowane w wewnętrznej błonie jądrowej syntetyzowane są w szorstkiej formie siateczki endoplazmatycznej, po czym drogą dyfuzji przechodzą do wewnętrznej błony jądrowej⁽³⁰⁾. Rozkład lamin i innych białek jądrowych (z wyjątkiem emeryny) zachodzi drogą apoptozy⁽³¹⁾. Zmutowane laminy mogą przy tym wykazywać większą wrażliwość na sam proces apoptozy⁽²⁾.

Mutacje genu *LMNA* leżą zapewne u podstaw deficytu lamin w szeregu tkankach. Zmiany w ich ilości mogą być również wtórne do deficytu emeryny⁽³²⁾ lub innych elementów strukturalnych jąder komórkowych. Deficyt w laminach A/C może także prowadzić do zmian w dystrybucji innych białek w jądrze komórkowym, m.in. emeryny⁽³³⁾, i nadmiernej ekspresji laminy B2⁽³²⁾. Tak więc brak/niedobór lamin odbija się na innych białkach jąder komórkowych, co zapewne ma swoje niekorzystne konsekwencje.

Dzięki wzajemnym połączeniom, jak na razie tylko częściowo poznanym, między elementami strukturalnymi jądra zmieniają się w sposób dynamiczny w czasie cyklu komórkowego i różnicowania komórki. Być może mutacje w obrębie lamin są powodem zmian w organizacji i strukturze jąder, co może być czynnikiem wywołującym wiele chorób, chociaż nie musi być ich bezpośrednią przyczyną.

Mechanizm pojawiania się różnych chorób w wyniku mutacji genu *LMNA* wciąż czeka na wyjaśnienie. Fakt, że nie potrafimy wytłumaczyć obecności różnych zmian w różnych tkankach, a w obrębie tej samej jednostki chorobowej ewidentnej zmienności genotypowej, świadczy o naszej głębokiej niewiedzy w tym zakresie. Również obecność zmutowanych lamin w bardzo różnych chorobach, takich jak np. dystrofia mięśniowa Emery'ego-Dreifussa, lipodystrofia czy dysplazja zuchwowo-obończykowa, nie została wyjaśniona – nie wiemy, jaką rolę odgrywa mutacja genu *LMNA* w określonej jednostce chorobowej. Sugeruje się, że mutacje genu odpowiadają za nadmierną wrażliwość komórek na stres mechaniczny i stąd miałyby się wywodzić objawy chorobowe w mięśniach szkieletowych czy mięśniu sercowym^(3,34). Hipotezy tej nie można jednak uniwersalizować i tłumaczyć w taki sposób zjawisk w innych jednostkach chorobowych. Ponieważ białka otoczki jądrowej mają bezpośredni i pośredni wpływ na ekspresję genów, niektórzy uważają, że mutacje lamin A/C czy emeryny określają w sposób selektywny różnicowanie, utrzymywanie, odnowę i regulację cyklu komórkowego poprzez ich oddziaływanie na ekspresję genów⁽³⁵⁾. Utrata lamin może powodować niekorzystne zmiany w dystrybucji m.in. emeryny i zmianę ich lokalizacji w otoczce jądrowej⁽³⁶⁾. Sugeruje się również, że obecność zmutowanych białek jądrowych zwiększa ich podatność na apoptozę^(37,38). Nie możemy ponadto wykluczyć współdziałania w powstawaniu zmian chorobowych reakcji autoimmunologicznej na zmutowane białka błony jądrowej. Białka te bowiem mogą stać się antygenami dla reakcji autoimmunologicznej. Na możliwość taką wskazywano już wcześniej.

Pewne zamieszanie w określaniu patomechanizmu laminopatii wywołuje fakt, że mutacje genu *LMNA* mogą nie powodować znaczących zmian w laminie A/C czy emerynie⁽³⁹⁾, oraz że u niektórych chorych z podejrzeniem laminopatii nie stwierdza się mutacji w genie *LMNA* czy *STA*. Kwestią otwartą jest patogeneza kardiomiopatii rozstrzeniowej wskutek mutacji genów *LMNA* i *STA*. Utrata lamin, emeryny i zapewne innych białek jądrowych może być powodem destabilizacji jąder komórkowych w mięśniu sercowym z wszystkimi negatywnymi tego następstwami. Niewykluczone jest jednak również dołączenie się w tym wypadku mechanizmów autoimmunologicznych. Stwierdzono bowiem, że w szeregu przypadkach laminopatii i emerynopatii występują autooprzeciwciała skierowane przeciwko własnym białkom mięśnia sercowego (głównie troponinie I, aktynie oraz białku o ciężarze molekularnym 85 kDa)⁽⁴⁰⁾. Ponieważ autooprzeciwciała wywierają działanie cytotoksyczne na miocyty⁽⁴¹⁾, ich współdziałanie w kardiomiopatii nie jest wykluczone.

Bez wątpienia w ostatnich kilku latach nasza znajomość zależności między strukturą i funkcją białek jąder komórkowych a powstawaniem szeregu chorób, głównie nerwowo-mięśniowych, znacznie wzrosła. Z drugiej jednak strony dokonane odkrycia uświadamiają nam naszą głę-

boką niewiedzę dotyczącą przyczyn znacznych zmienności fenotypowych w ramach danej jednostki chorobowej, u której podłoża leżą zmutowane laminy, jak również ogromną różnorodność jednostek chorobowych wywoływanych przez mutacje genu *LMNA*.

PIŚMIENNICTWO:

1. Mounkes L., Kozlov S., Burke B., Stewart C.L.: The laminopathies: nuclear structure meets disease. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2003; 13: 223-230.
2. Gruenbaum Y., Wilson K.L., Harel A. i wsp.: Review: nuclear lamins – structural proteins with fundamental functions. *J. Struct. Biol.* 2000; 129: 313-323.
3. Hutchison C.J., Alvarez-Reyes M., Vaughan O.A.: Lamins in disease: why do ubiquitously expressed nuclear envelope proteins give rise to tissue-specific disease phenotypes? *J. Cell Sci.* 2001; 114 (cz. 1): 9-19.
4. Hutchison C.J., Worman H.J.: A-type lamins: guardians of the soma? *Nat. Cell Biol.* 2004; 6: 1062-1067.
5. Dyer J.A., Lane B.E., Hutchison C.J.: Investigations of the pathway of incorporation and function of lamin A in the nuclear lamina. *Microsc. Res. Tech.* 1999; 45: 1-12.
6. Vaughan A., Alvarez-Reyes M., Bridger J.M. i wsp.: Both emerin and lamin C depend on lamin A for localization at the nuclear envelope. *J. Cell Sci.* 2001; 114 (cz. 14): 2577-2590.
7. Mancini M.A., Shan B., Nickerson J.A. i wsp.: The retinoblastoma gene product is a cell cycle-dependent, nuclear matrix-associated protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1994; 91: 418-422.
8. Furukawa K.: LAP2 binding protein 1 (L2BP1/BAF) is a candidate mediator of LAP2-chromatin interaction. *J. Cell Sci.* 1999; 112 (cz. 15): 2485-2492.
9. Martins S.B., Eide T., Steen R.L. i wsp.: HA95 is a protein of the chromatin and nuclear matrix regulating nuclear envelope dynamics. *J. Cell Sci.* 2000; 113 (cz. 21): 3703-3713.
10. Dechat T., Korbei B., Vaughan O.A. i wsp.: Lamina-associated polypeptide 2 α binds intranuclear A-type lamins. *J. Cell Sci.* 2000; 113 (cz. 19): 3473-3484.
11. Gruenbaum Y., Margalit A., Goldman R.D. i wsp.: The nuclear lamina comes of age. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2005; 6: 21-31.
12. Zhang Q., Ragnauth C., Greener M.J. i wsp.: The nesprins are giant actin-binding proteins, orthologous to *Drosophila melanogaster* muscle protein MSP-300. *Genomics* 2002; 80: 473-481.
13. Glass C.A., Glass J.R., Taniura H. i wsp.: The alpha-helical rod domain of human lamins A and C contains a chromatin binding site. *EMBO J.* 1993; 12: 4413-4424.
14. Goldberg M., Harel A., Brandeis M. i wsp.: The tail domain of lamin Dm₀ binds histones H2A and H2B. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999; 96: 2852-2857.
15. Mislav J.M., Kim M.S., Davis D.B., McNally E.M.: Myne-1, a spectrin repeat transmembrane protein of the myocyte inner nuclear membrane, interacts with lamin A/C. *J. Cell Sci.* 2002; 115 (cz. 1): 61-70.
16. Belgrader P., Dey R., Berezney R.: Molecular cloning of matrin 3. A 125-kilodalton protein of the nuclear matrix contains an extensive acidic domain. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 9893-9899.
17. He D., Zeng C., Brinkley B.R.: Nuclear matrix proteins as structural and functional components of the mitotic apparatus. *Int. Rev. Cytol.* 1995; 162B: 1-74.

18. Berezney R., Mortillaro M.J., Ma H. i wsp.: The nuclear matrix: a structural milieu for genomic function. *Int. Rev. Cytol.* 1995; 162A: 1-65.
19. Rando O.J., Zhao K., Crabtree G.R.: Searching for a function for nuclear actin. *Trends Cell Biol.* 2000; 10: 92-97.
20. Boulikas T.: Chromatin domains and prediction of MAR sequences. *Int. Rev. Cytol.* 1995; 162A: 279-388.
21. Mattagajasingh S.N., Huang S.C., Hartenstein J.S.D. i wsp.: A nonerythroid isoform protein 4.1R interacts with nuclear mitotic apparatus (NuMA) protein. *J. Cell Biol.* 1999; 145: 29-43.
22. Dreuillet C., Tillit J., Kress M., Ernoult-Lange M.: *In vivo* and *in vitro* interaction between human transcription factor MOK2 and nuclear lamin A/C. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30: 4634-4642.
23. Lloyd D.J., Trembath R.C., Shackleton S.: A novel interaction between lamin A and SREBP1: implications for partial lipodystrophy and other laminopathies. *Hum. Mol. Genet.* 2002; 11: 769-777.
24. Ozaki T., Saijo M., Murakami K. i wsp.: Complex formation between lamin A and the retinoblastoma gene product: identification of the domain on lamin A required for its interaction. *Oncogene* 1994; 9: 2649-2653.
25. Jenkins H., Holman T., Lyon C. i wsp.: Nuclei that lack a lamina accumulate karyophilic proteins and assemble a nuclear matrix. *J. Cell Sci.* 1993; 106 (cz. 1): 275-285.
26. Spann T.P., Goldman A.E., Wang C. i wsp.: Alteration of nuclear lamin organization inhibits RNA polymerase II-dependent transcription. *J. Cell Biol.* 2002; 156: 603-608.
27. Sakaki M., Koike H., Takahashi N. i wsp.: Interaction between emerin and nuclear lamins. *J. Biochem. (Tokyo)* 2001; 129: 321-327.
28. Fairley E.A., Riddell A., Ellis J.A., Kendrick-Jones J.: The cell cycle dependent mislocalisation of emerin may contribute to the Emery-Dreifuss muscular dystrophy phenotype. *J. Cell Sci.* 2002; 115 (cz. 2): 341-354.
29. Stierle V., Couprie J., Ostlund C. i wsp.: The carboxyl-terminal region common to lamins A and C contains a DNA binding domain. *Biochemistry* 2003; 42: 4819-4828.
30. Holmer L., Worman H.J.: Inner nuclear membrane proteins: functions and targeting. *Cell. Mol. Life Sci.* 2001; 58: 1741-1747.
31. Buendia B., Santa-Maria A., Courvalin J.C.: Caspase-dependent proteolysis of integral and peripheral proteins of nuclear membranes and nuclear pore complex proteins during apoptosis. *J. Cell Sci.* 1999; 112 (cz. 11): 1743-1753.
32. Niebroj-Dobosz I., Fidzianska A., Hausmanowa-Petru-sewicz I.: Expression of emerin and lamins in muscle of patients with different forms of Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Acta Myol.* 2003; 22: 52-57.
33. Sullivan T., Escalante-Alcalde D., Bhatt H. i wsp.: Loss of A-type lamin expression compromises nuclear envelope integrity leading to muscular dystrophy. *J. Cell Biol.* 1999; 147: 913-920.
34. Manilal S., Sewry C.A., Pereboev A. i wsp.: Distribution of emerin and lamins in the heart and implications for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8: 353-359.
35. Wilson K.L.: The nuclear envelope, muscular dystrophy and gene expression. *Trends Cell Biol.* 2000; 10: 125-129.
36. Ostlund C., Bonne G., Schwartz K., Worman H.J.: Properties of lamin A mutants found in Emery-Dreifuss muscular dystrophy, cardiomyopathy and Dunnigan-type partial lipodystrophy. *J. Cell Sci.* 2001; 114 (cz. 24): 4435-4445.
37. Morris G.E.: Nuclear proteins and cell death in inherited neuromuscular disease. *Neuromuscul. Disord.* 2000; 10: 217-227.
38. Casciola-Rosen L., Andrade F., Ulanet D. i wsp.: Cleavage by granzyme B is strongly predictive of autoantigen status: implications for initiation of autoimmunity. *J. Exp. Med.* 1999; 190: 815-826.
39. Sewry C.A., Brown S.C., Mercuri E. i wsp.: Skeletal muscle pathology in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy with lamin A/C mutations. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2001; 27: 281-290.
40. Niebroj-Dobosz I., Dorobek M., Marchel M. i wsp.: Evidence of autoimmunity to heart-specific antigens in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Acta Myol.* w druku.
41. Lowry P.J., Thompson R.A., Littler W.A.: Humoral immunity in cardiomyopathy. *Br. Heart J.* 1983; 50: 390-394.