

Tyrosyl-tRNA-Synthetase: ein Housekeeping-Protein und attraktiver Sendbote des Zelltodes

Hermann Schluesener*

Apoptose (auch als programmierten Zelltod bezeichnet) ist ein physiologischer Prozeß, der während der Reorganisation von Geweben auftritt, z.B. in der Embryonalentwicklung oder bei vielen pathologischen Zuständen. Während des Ablaufs dieses zellulären Selbstmordprogramms fragmentieren Nucleasen chromosomale DNA, und aktivierte Proteasen demontieren die Zelle durch Abbau vieler verschiedener Substrate, wie Proteine des Zellskeletts oder Enzyme, die für die normale Funktion und die Reparatur der Zelle lebenswichtig sind.

Apoptotische Zellen werden umgehend von Makrophagen gefressen; diese Beseitigung der noch intakten apoptotischen Zelle durch Phagocyten ist ein sicherer Entsorgungsweg, da lokale Entzündungsreaktionen, verursacht durch massives Anfallen von Zelltrümmern, vermieden werden. Weiterhin können diese apoptotische Zellen fressenden Phagocyten lokale Entzündungsprozesse und Immunreaktionen drosseln.^[1]

Überraschenderweise wurden von Wakasugi und Schimmel kürzlich zwei neue Signalmoleküle der apoptotischen Signalkaskade beschrieben.^[2] Diese Cytokine sind Fragmente der Tyrosyl-tRNA-Synthetase, eines „unauffälligen“ Enzyms, das für die Proteinbiosynthese essentiell ist (somit gehört es zu den Housekeeping-Proteinen). Die Proteinbiosynthese der Säugerzelle beruht auf einer supramolekularen Organisation des Translationssystems.^[3] Diese Proteine synthetisierende Maschinerie ist ein komplexer, hochorganisierter Apparat, dessen makromolekulare Komponenten nicht frei in der Zelle diffundieren. So werden Aminoacyl-tRNAs innerhalb der Zelle gezielt transportiert, d.h., sie werden direkt von den Aminoacyl-tRNA-Synthetasen zu den Elongationsfaktoren und anschließend zu den Ribosomen transferiert, ohne sich im Cytoplasma zu verteilen.^[4]

Funktionell gesehen besteht die menschliche Tyrosyl-tRNA-Synthetase aus einer aminoterminalen katalytischen Domäne und einem carboxyterminalen Bereich. Die carboxyterminale Sequenz ist zu etwa 50% identisch mit einer carboxyterminalen Region des Proteins p43, eines RNA-bindenden Hilfsfaktors des Multi-Synthetase-Komplexes der Säugerzelle.^[5]

Während der Apoptose wird der Translationsapparat systematisch zerstört. Interessanterweise wird von apoptotischen Zellen Tyrosyl-tRNA-Synthetase sezerniert. Nach der Spaltung durch Elastase oder verwandte Proteasen entstehen zwei Fragmente (Abbildung 1) mit überraschend neuartigen Bioaktivitäten. Beide Fragmente scheinen als lokale Signalmoleküle (Cytokine) zu agieren, welche die lokale

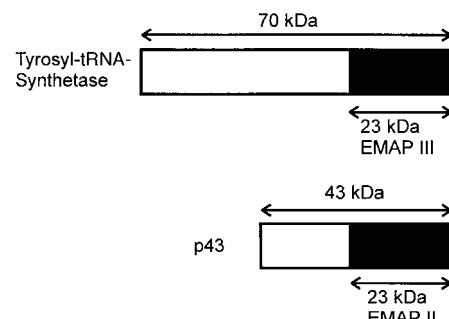


Abbildung 1. Tyrosyl-tRNA-Synthetase und das auxiliare Protein p43 werden durch Elastase oder verwandte Proteasen (wie Caspase oder die Multikatalytische Protease) gespalten. Die carboxyterminalen Fragmente EMAP II und III sind homologe Modulatoren der Aktivierung und Migration von Leukocyten.

Gewebereaktion so modulieren, daß letztlich eine effektive und sichere Entsorgung der apoptotischen Zellen möglich ist.

Tyrosyl-tRNA-Synthetase: überraschende Bioaktivitäten von Spaltungsprodukten

Die ungespaltene Tyrosyl-tRNA-Synthetase hat keine Wirkung auf Leukocyten; beide Fragmente sind jedoch potente Leukocytenaktivatoren mit verschiedenartigen Bioaktivitätsspektren.^[2] Die aminotermale, katalytische Domäne enthält ein Glu-Arg-Leu(ERL)-Sequenzmotiv, das für bestimmte Chemokine, eine Familie von chemoattraktiven Cytokinen, charakteristisch ist. Es wurde gezeigt, daß dieses aminotermale Peptid der Tyrosyl-tRNA-Synthetase an den Interleukin(IL)-8-Rezeptor vom Typ A (auch als CXCR1 bezeichnet) bindet. Konsequenterweise konnte auch nachgewiesen werden, daß dieses Peptid IL-8-Aktivität aufweist und vorwiegend die Migration und Aktivierung neutrophiler Granulocyten induziert.^[2]

Die carboxyterminale Sequenz ist homolog zum carboxyterminalen Bereich des Proteins p43, einer weiteren Komponente des Translationsapparates. p43 wird ebenfalls während der Apoptose freigesetzt. Das nach Proteolyse entstehende carboxyterminale p43-Fragment ist ein Cytokin, das als Endothelial-monocyte-activating Polypeptide II (EMAP II) bezeichnet wurde.^[6] EMAP II und das carboxyterminale Fragment der Tyrosyl-tRNA-Synthetase, konsequenterweise als EMAP III bezeichnet, weisen ähnliche Wirkungen auf Leukocyten auf. Die Rezeptoren für die EMAPs sind jedoch noch unbekannt, und eine direkte, vergleichende Analyse dieser beiden Cytokine ist bisher noch nicht durchgeführt worden.^[7]

EMAP II und III sind Leukocytenchemoattraktoren, die ruhende Monocyten durch Erhöhung der Konzentration an freiem Ca^{2+} im Cytosol aktivieren und eine Chemotaxis stimulieren.^[6] Im Unterschied zu den aminoterminalen Frag-

[*] Prof. Dr. H. Schluesener

Institut für Hirnforschung der Universität
Calwer Straße 3, D-72076 Tübingen
Fax: (+49) 7071-29-5456
E-mail: hirnforschung@uni-tuebingen.de

menten stimulieren EMAPs jedoch den Tumor-Nekrose-Faktor(TNF)- α und die Produktion von Gewebefaktor (Thromboplastin) durch Makrophagen sowie die Freisetzung von Myeloperoxidase aus neutrophilen Granulocyten. Weiterhin aktiviert EMAP II auch Endothelzellen durch Erhöhung der cytosolischen Ca^{2+} -Konzentration, was zu einer Freisetzung des von-Willebrand-Faktors, zur Induktion des Gewebefaktors und zur Expression der Adhäsionsproteine E-Selektin und P-Selektin führt. Letztlich kann EMAP II sogar die Apoptose pathologisch veränderter Endothelzellen bewirken, was eine Thrombohämorrhagie der Blutgefäße bestimmter experimenteller Tumore wie Fibrosarkome, Melanome oder Adenokarzinome bewirkt, wodurch eine Regression des Tumors induziert wird. Bislang ist nicht bekannt, ob das carboxyterminale Fragment EMAP III eine ähnliche Wirkung auf Endothelzellen hat.

Tyrosyl-tRNA-Synthetase: ein neuartiger Regulator der Gewebshomöostase?

Die Expression von EMAP II wurde bei Tumoren, Neuautoimmunerkrankungen, Entzündungen und während der Gewebereorganisation bei embryonalen Prozessen untersucht.^[8] In all diesen Fällen geht mit der gestörten Gewebshomöostase eine Apoptose einher. Es wird angenommen, daß bei diesen Prozessen ein globaler Mechanismus abläuft, der das Zusammenbrechen der zellulären Translationsmaschinerie mit der Homöostase des gesamten umliegenden Gewebes verbindet. Dieser Prozeß ist in Abbildung 2 zusammenfassend skizziert: Tyrosyl-tRNA-Synthetase wird von apoptotischen Zellen sezerniert, wobei die Sekretion dieses wesentlichen Bestandteils des Translationsapparates das zelluläre Selbstmordprogramm beschleunigt. Außerhalb der Zelle wird die Synthetase in zwei verschiedene Signalmoleküle gespalten.

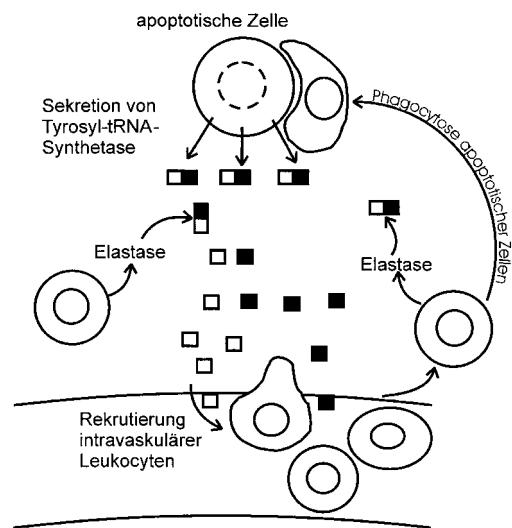


Abbildung 2. Tyrosyl-tRNA-Synthetase wird von apoptotischen Zellen sezerniert und durch Elastase in zwei chemoattraktive Fragmente gespalten, die Leukocyten aus dem Gefäßlumen in das Gewebe rekrutieren. Die eintretenden aktivierte Leukocyten setzen weitere Elastase frei und verstärken so durch zusätzliche Spaltung von Tyrosyl-tRNA-Synthetase die Bildung von Chemoattraktoren. Schließlich wird diese selbstverstärkende Gewebereaktion beendet, indem die apoptotischen Zellen durch eingewanderte Makrophagen beseitigt werden.

Diese Cytokine sind Chemoattractoren, die neutrophile Granulocyten und Makrophagen zum Ort der Läsion rekrutieren. Die aktivierte Leukocyten sezernieren Proteasen, die eine weitere Bildung von Cytokinen aus der Tyrosyl-tRNA-Synthetase bewirken und eine weitere Gewebeinvasion von Leukocyten zur Folge haben. Dieser rekursive Zyklus wird schließlich durch die Beseitigung der apoptotischen Zellen beendet.

Ausblick

Die Charakterisierung des außergewöhnlichen modularen Aufbaus der menschlichen Tyrosyl-tRNA-Synthetase eröffnet eine Vielzahl von neuen Forschungsmöglichkeiten. Neben vielen Aspekten der Grundlagenforschung, z.B. der weiteren Untersuchung der phylogenetischen Entwicklung und der Funktion dieser Module der Aminoacyl-tRNA-Synthetasen in anderen Organismen, drängt sich unmittelbar die Frage nach einer möglichen pharmakologischen Anwendung auf. Am naheliegendsten wäre ein Einsatz der beiden Cytokine mit ihrer profunden Wirkung auf Neutrophile und Monocyten als Immunmodulatoren. Im Vergleich zu EMAP II könnte das carboxyterminale Fragment der Tyrosyl-tRNA-Synthetase eine Wirkung auf Endothelzellen ausüben. Die Expression von EMAP II wurde wiederholt mit Tumoren in Verbindung gebracht: EMAP II der Maus wurde aus Fibrosarkom- und menschliches EMAP II aus Histiocytomzellen kloniert. EMAP II scheint mit bereits früher beschriebenen Mediatoren von Tumorzellen, wie dem Cytokin J82 aus Blasenkarzinomzellen (bladder carcinoma-derived cytokine, BCDC), oder FO-1 und HS-1 aus Melanomzellen identisch zu sein.^[9] Daher sind die carboxyterminalen Fragmente der Tyrosyl-tRNA-Synthetase und EMAP II potentielle Neo-Angiogenesehemmer in der Tumortherapie, wobei die Störung der Tumorendothelfunktion eine lokale Thrombohämorrhagie der Tumorblutgefäße mit anschließender Tumorregression induziert. Als Regulator der Tumorangiogenese wären diese Peptide höchst interessante Kandidaten für die Entwicklung von Anti-Angiogenese-Medikamenten und könnten derzeitige Strategien zur Hemmung des Tumorwachstums und der Metastasenbildung durch ihre Wirkung auf die pathologische Endothelzellfunktion vervollständigen.^[10]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3635–3637

Stichwörter: Apoptose • Cytokine • Enzyme • Tumortherapie • Wirkstoff-Forschung

- [1] a) Y. Ren, J. Savill, *Cell Death Differ.* **1998**, *5*, 563–568; b) V. J. Kidd, *Annu. Rev. Physiol.* **1998**, *60*, 533–573.
- [2] a) K. Wakasugi, P. Schimmel, *Science* **1999**, *284*, 147–150; b) K. Wakasugi, P. Schimmel, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 23155–23159.
- [3] a) B. S. Negrutskii, R. Stapulionis, M. P. Deutscher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 964–968; b) R. Stapulionis, M. P. Deutscher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 7158–7161; c) M. T. Norcum, *FEBS Lett.* **1999**, *447*, 217–222.
- [4] a) C. Francklyn, K. Musier-Forsyth, S. A. Martinis, *RNA* **1997**, *3*, 954–960; b) E. V. Koonin, L. Aravind, *Curr. Biol.* **1998**, *8*, R266–R269; c) S. Cusack, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, *7*, 881–889; d) J. I. Sagara, S.

- Shimizu, T. Kawabata, S. Nakamura, M. Ikeguchi, K. Shimizu, *Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 1974–1979.
- [5] a) S. Quevillon, F. Agou, J. C. Robinson, M. Mirande, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 32573–32579, b) T. A. Kleeman, D. Wie, K. L. Simpson, E. A. First, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14420–14425.
- [6] a) J. Kao, K. Houck, Y. Fan, I. Haehnel, S. K. Libutti, M. L. Kayton, T. Grikscheit, J. Chabot, R. Nowygrod, S. Greenberg, W. J. Kuang, D. W. Leung, J. R. Hayward, W. Kisel, W. M. Heath, J. Brett, D. M. Stern, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 25106–25119; b) J. Kao, Y. G. Fan, I. Haehnel, J. Brett, S. Greenberg, M. Clauss, M. Kayton, K. Houck, W. Kiesel, R. Seljelid, J. Burnier, D. M. Stern, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 9774–9782.
- [7] T. A. Coleman, WO-A 96/40719.
- [8] a) H. Schluesener, K. Seid, R. Meyermann, *Glia* **1997**, *20*, 365–372; b) H. Schluesener, K. Seid, R. Meyermann, *Acta Neuropathol.* **1999**, *97*, 119–126; c) H. Wege, H. Schluesener, R. Meyermann, V. Barac-Latas, G. Suchanek, H. Lassmann, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, *440*, 437–444; U. E. Knies, H. A. Behrensdorf, C. A. Mitchell, U. Deutsch, W. Risau, H. C. Drexeler, M. Clauss, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 12322–12327.
- [9] a) M. P. Tas, J. C. Murray, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **1996**, *28*, 837–841; b) M. R. Marvin, S. K. Libutti, M. Kayton, J. Kao, J. Hayward, T. Grikscheit, Y. Fan, J. Brett, A. Weinberg, R. Nowygrod, P. LoGerfo, C. Feind, K. S. Hansen, M. Schwartz, D. Stern, J. Chabot, *J. Surg. Res.* **1996**, *63*, 248–255; c) M. Schwartz, J. Brett, J. Li, J. Hayward, R. Schwarz, J. Kao, O. Chappey, J. L. Wautier, J. Chabot, P. LoGerfo, D. Stern, *Circulation* **1995**, *92* (Suppl.), 1–7.
- [10] a) T. Boehm, J. Folkman, T. Browder, M. S. O'Reilly, *Nature* **1997**, *390*, 404–407; b) D. J. Falcone, K. M. Faisal Khan, T. Layne, L. Fernandes, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 31480–31485; c) L. Holmgren, M. S. O'Reilly, J. Folkman, *Nat. Med.* **1995**, *1*, 149–153; d) R. S. Kerbel, *Nature* **1997**, *390*, 335–336; e) M. S. O'Reilly, T. Boehm, Y. Shing, N. Fikai, G. Vasiotis, W. S. Lane, E. Flynn, J. R. Birkhead, B. R. Olsen, J. Folkman, *Cell* **1997**, *88*, 277–285.