

## ИЗОФОРМЫ РЕЦЕПТОРА ПРОЛАКТИНА КАК ОСНОВА ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЕГО ЭФФЕКТОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

### Обзор

© 2019 П.А. Абрамичева\*, О.В. Смирнова

*Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,  
биологический факультет, 119991 Москва, Россия;  
электронная почта: abramicheva.polina@gmail.com*

Поступила в редакцию 06.04.2018

После доработки 25.10.2018

Принята к публикации 25.10.2018

В обзоре рассмотрены функциональные и структурные особенности различных изоформ пролактинового рецептора, механизмы активации сигнальных путей, а также ключевые молекулярные посредники в передаче и терминции сигнала от разных изоформ пролактинового рецептора. Проанализирована динамика изменения соотношения изоформ рецепторов пролактина, ключевых посредников сигнальных путей и терминции рецепции в различных органах и тканях. Обсуждается вопрос, какую роль это соотношение и молекулярные посредники играют в реализации нормальных физиологических функций и развитии патологий. Часть обзора посвящена путям терапевтической коррекции нарушений пролактинового сигналинга.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** пролактин, изоформы пролактинового рецептора, STAT-белки, SOCS и PIAS белки, пролактиновый сигналинг, нокаут пролактиновых рецепторов.

DOI: 10.1134/S0320972519040018

Необходимым условием для тканеспецифичной реализации эффекта гормона является наличие в ткани тех типов рецепторов, к которым данный гормон имеет сродство. Известно, что эффект, наблюдаемый после взаимодействия гормона с рецептором и протекания ряда соответствующих внутриклеточных реакций, во многом определяется тем, с какой из изоформ рецептора взаимодействовал гормон. Проследить на уровне целого организма, какой именно тип рецептора участвовал в проведении гормонального сигнала, сложно, так как в конечном итоге наблюдается суммарный ответ на взаимодействие «гормон–рецептор». Есть несколько способов, позволяющих оценить вклад разных изоформ рецептора одного и того же гормона в реализацию тех или иных эффектов: 1) создание тканеспецифичных нокаутов по определенным изоформам рецептора; 2) трансфекция культуры клеток интересующей изоформой рецептора. Вышеперечисленные подходы также позволяют изучить вклад разных изоформ рецептора гормона в поддержание гомеостаза и развитие па-

тологий. Например, есть данные о том, что тканеспецифичное соотношение типов рецептора пролактина играет важную роль в дифференцировке тканей [1], изменении гистологии тканей, служащем толчком к патогенезу [2, 3]. Данный обзор посвящен детальному рассмотрению особенностей активации изоформ пролактиновых рецепторов (ПРЛР), их сигнальных путей, а также способов терминции сигналинга. Проанализированы распределение изоформ пролактинового рецептора в различных тканях и органах и влияние сдвига соотношения изоформ на их работу в норме и патологии. Отдельное внимание в обзоре уделено возможному использованию данных о тканеспецифичном соотношении изоформ пролактинового рецептора в клинической практике с целью коррекции различных патологий.

### ПРОЛАКТИН И ЕГО ФУНКЦИИ

Пролактин относится к семейству гормонов роста и обладает разнообразными функциями. Помимо стимуляции лактации и протекания бе-

\* Адресат для корреспонденции.

ременности, он играет важную роль в осморегуляции, иммунном ответе, дифференцировке тканей, ангиогенезе, метаболизме и канцерогенезе [1, 4–6]. У разных видов млекопитающих пролактин экспрессируется не только в лактотрофах гипофиза, но и в других тканях (т.н. экстрапитуитарный пролактин), таких как: децидуома, молочная железа, яичники, простата, семенники, эндотелий, лимфоузлы, селезенка, волосные фолликулы и кожа, жировая ткань, улитка внутреннего уха. Регуляция экспрессии пролактина гипофизарного и экстрапитуитарного происхождения имеет отличия. Важно отметить, что, несмотря на эти различия, это продукт одного гена, и первичная, вторичная и третичная структуры обоих пептидов одинаковы и связываются они с теми же рецепторами [5].

Пролактин подвергается нескольким посттрансляционным модификациям, изменяющим его стабильность, связывание с рецепторами и биологическую активность. К таким модификациям относятся полимеризация, протеолитическое расщепление, гликозилирование и фосфорилирование. Выделяют следующие типы пролактина, различающиеся по мол. массе: пролактин массой 23 кДа (основная форма), макропролактин, содержащийся в сыворотке человека, с мол. массой >100 кДа (продукт полимеризации мономеров пролактина с иммуноглобулином G IgG, концентрация которого возрастает при гиперпролактинемии), большой пролактин (40–60 кДа) и пролактин массой 16 кДа, считающийся антиангиогенным фактором (т.н. вазоингибин) [7]. Перечисленные выше типы пролактина связываются с разными изоформами пролактинового рецептора.

## РЕЦЕПТОРЫ ПРОЛАКТИНА

Рецепторы пролактина (ПРЛР) принадлежат к семейству рецепторов цитокинов, сопряженных с тирозинкиназой Janus класса 2 (JAK2). Ген рецептора пролактина человека *hPRLR* локализован в хромосоме 5, он состоит из 11 экзонов. Экзон 1, 2 и часть экзона 3 составляют 5'-нетранслируемую область (5'-UTR), остальные являются кодирующими. У человека в 5'-UTR есть пять вариантов альтернативных первых экзонов, для которых характерна тканеспецифичная экспрессия, –  $hE1_{N1-5}$ . Независимо от того, какой из первых экзонов активен, происходит сплайсинг с некодирующим экзоном 2. Экспрессия *hPRLR* находится под контролем множества промоторов, каждый из которых контролирует свой специфичный первый экзон [8]. Обнаружено три промотора, с которых может

идти транскрипция альтернативных первых экзонов (PI, PII, PIII). Промотор PI экспрессируется в гонадах и зависит от активации транскрипционного фактора SF-1 (*steroidogenic factor 1*) [9]. PII специфичен для печени и активируется под действием HNF4 (*hepatocyte nuclear factor 4*) [10]. PIII экспрессируется во всех тканях, чувствительных к пролактину, и активируется C/EBP бета (CCAAT/*enhancer binding protein beta*) и Sp1/Sp3 (*specificity protein 1*) [11]. Экспрессия транскриптов *hPRLR*, содержащих экзоны 1  $hE13$  и  $hE1_{N1}$ , стимулируется эстрадиолом, что показано на культуре клеток рака молочной железы MCF7, T-47D [12]. Кроме того, показано, что рецептор эстрогенов ER $\alpha$  стимулирует экспрессию *hPRLR* за счет формирования комплекса с C/EBP $\beta$ /SP1 и активации промотора PIII [13]. В роли стимулятора экспрессии *hPRLR* может выступать эпидермальный фактор роста EGF, сигнальные каскады MEK/MAPK и PI3K/Akt, запускаемые EGF: они стимулируют фосфорилирование ER $\alpha$ , тем самым, активируя его [14].

Общая схема активации пролактиновых рецепторов имеет следующий вид. Внеклеточные домены двух рецепторов взаимодействуют с двумя асимметричными участками связывания лиганда, расположенными на противоположных сторонах рецепторного кора. Связывание пролактина с первой молекулой рецептора происходит по высокоаффинному сайту 1, а затем связывание второй молекулы рецептора по сайту 2, причем аффинность сайта 2 возрастает после связывания по сайту 1. Такой димерный комплекс рецепторов с одной молекулой пролактина способен обеспечивать передачу сигнала [7, 15]. В результате альтернативного сплайсинга образуется несколько изоформ ПРЛР, различающихся по длине внутриклеточного домена. Наиболее хорошо описаны изоформы, обнаруженные у крысы: длинная (80–85 кДа), короткая (45 кДа) и мутантная средняя форма (65 кДа), обнаруженная в пролактин-зависимой линии T-клеточной лимфомы Nb2 крысы [16], а также в опухоли молочной железы человека [17]. Все изоформы имеют одинаковые внеклеточные фибронектин-подобные домены, содержащие цистеиновые остатки, которые принимают участие в связывании гормона; консервативный домен WSXWS-бокс, одинаковые трансмембранные домены и различающиеся внутриклеточные, что определяет различие в путях передачи сигнала. Важную роль во взаимодействии JAK2 с рецептором играют бокс 1 и бокс 2 во внутриклеточном домене рецептора. Бокс 1 необходим для активации JAK2, в то время как важность бокса 2 для активации тирозинкиназы остается под

вопросом [18]; по другим данным, бокс 2 является сайтом фосфорилирования под действием JAK2 и докинга факторов транскрипции STAT [19].

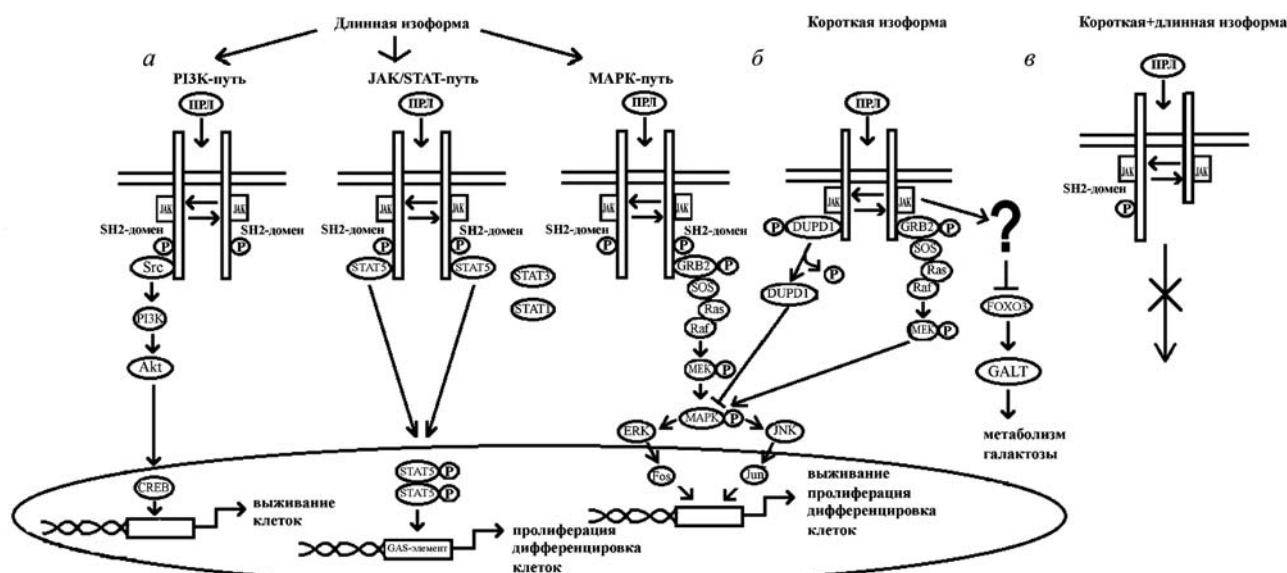
**Длинная изоформа ПРЛР** представляет собой пептид мол. массой 80–85 кДа и считается основной в проведении сигнала пролактина. Гормон, связываясь с длинной изоформой рецептора, активирует множество киназ, в число которых входят JAK2, MAPK, PI3K, Src киназа, а также серин-треонинкиназный путь Nek3-vav2-Rac1 [20]. Активация этих сигнальных путей приводит к усилению дифференцировки, пролиферации и выживанию клеток. Схема проведения сигнала через JAK2/STAT-путь выглядит следующим образом. Нерцепторные тирозиновые киназы JAK2 семейства Janus конститутивно связаны с примембранным участком внутриклеточного домена длинной изоформы ПРЛР, при димеризации рецептора киназы активируются и фосфорилируют остатки тирозина друг друга и тирозиловые остатки на протяжении внутриклеточных доменов димеризованного рецептора. Это позволяет SH2-доменам транскрипционных факторов семейства STAT связываться с ними, после чего киназы JAK2 активируют их фосфорилированием. Фосфорилированные STAT гомо- и гетеродимеризуются и транслоцируются в ядро, где активируют гены, имеющие в своем промоторе гамма-интерферон чувствительный (GAS) элемент (рис. 1, а). Из всего семейства STAT в передаче сигнала пролактина участвуют STAT5А и STAT5В, а также STAT1 и STAT3 [7, 21]. На ПРЛР человека и крысы было показано,

что скорость рекрутмента STAT и его фосфорилирования примерно в три раза выше, чем активация MAPK-каскада, так как последний сигнальный путь требует большего количества белок-белковых взаимодействий [22], т.е. эти пути сигнализации могут сменять друг друга.

Терминация сигнала происходит с помощью белков семейства SOCS, которые за счет наличия в них SH2-домена конкурируют за сайты связывания STAT с рецептором и инактивируют JAK [23] (рис. 2, а, б). Участие в терминации сигнала как длинной, так и короткой изоформы ПРЛР показано для белков SOCS1 и SOCS3 из этого семейства [24]. Белок PIAS прекращает сигналинг только через длинную изоформу, взаимодействуя с ДНК-связывающим доменом STAT5 [25, 26] (рис. 2, в).

Долгое время оставался нерешенным вопрос, является ли молекула пролактина инициатором для гомодимеризации длинных изоформ ПРЛР в связи с различием данных, полученных при анализе процесса сборки гомодимера с использованием метода FRET (*fluorescence resonance energy transfer*) и BRET (*bioluminescence resonance energy transfer*). В настоящее время считается, что димеризация рецепторов цитокинов происходит независимо от наличия лиганда. Его связывание инициирует конформационные изменения, приводящие к активации рецептора [20, 22].

Второй важный сигнальный каскад, запуск которого возможен при активации как длинной, так и короткой изоформы ПРЛР, – это MAPK-

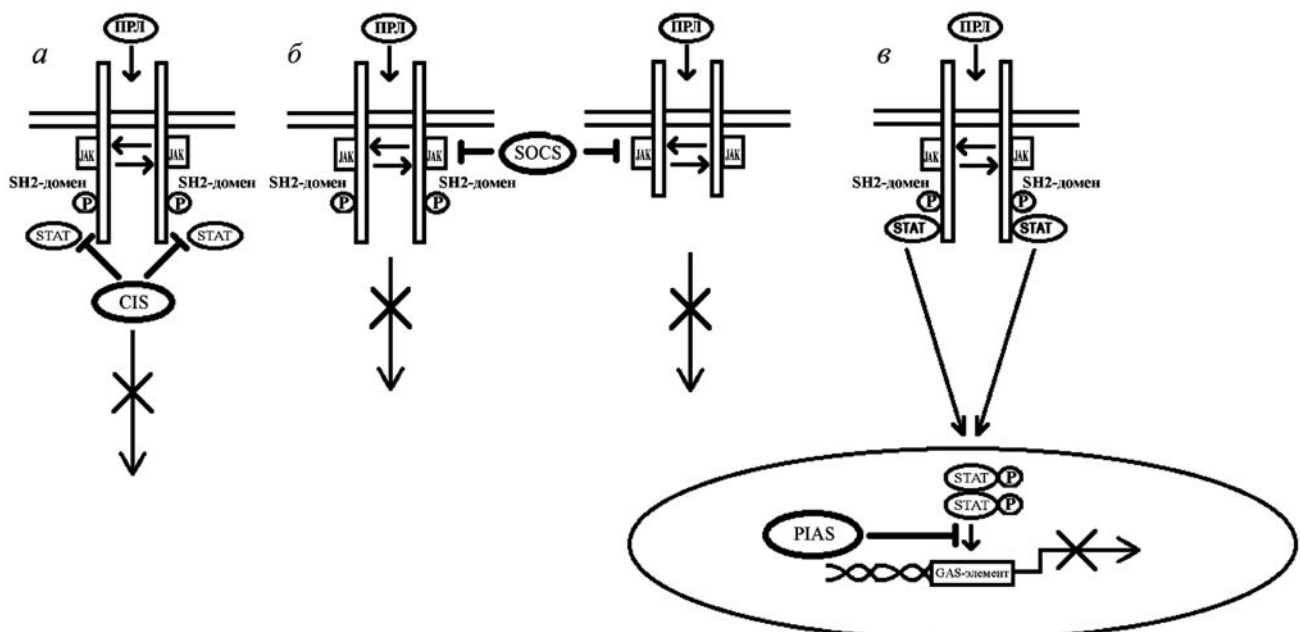


**Рис. 1.** Сигнальные пути короткой и длинной изоформ пролактинового рецептора. а – Пути проведения сигнала через длинную изоформу пролактинового рецептора; б – через короткую; в – блокада проведения сигнала при образовании гетеродимера из короткой и длинной изоформ пролактинового рецептора. Пояснения в тексте

путь. Он представляет собой трехуровневый каскад киназ, где MAPK (*mitogen activated protein kinase*) фосфорилируется MAPKK (*mitogen activated protein kinase kinase*), которая, в первую очередь, должна быть фосфорилирована MAPKKK (*mitogen activated protein kinase kinase kinase*). Сигнальный путь с участием ERK (*extracellular signal regulated kinase*) — один из наиболее изученных путей MAPK-каскада, так как нарушения ERK-сигналинга связаны с развитием многих типов опухолей. Ras/MAPK-сигнальный путь представляет собой следующую последовательность биохимических реакций: Grb2 (*growth factor receptor bound protein 2*) связывает фосфотирозиновые мотивы через SH2-домен, в то время как два фланкирующих SH3-домена связывают SOS (*son of sevenless*), GEF (*guanine nucleotide exchange factor*) для малой ГТФазы Ras, которая активирует Raf/MEK/ERK-каскад, состоящий из последовательно фосфорилирующихся друг друга киназ, которые, в свою очередь, активируют широкий спектр эффекторных белков — других киназ, фосфатаз и транскрипционных факторов (Fos, Jun и т.д.) (рис. 1, а) [8, 27]. При инкубации культур клеток опухоли молочной железы Т-47D и Т-47Dco, экспрессирующих длинную и короткую изоформы ПРЛР, с антагонистами пролактина происходит подавление MAPK-пути, а, следовательно, и пролиферации клеток [28]. Показано, что в культуре фибробластов NIH-3T3 за-

пускается MAPK-путь при активации короткой изоформы ПРЛР, что способствует усилению пролиферации клеток [29]. Кроме того, у мышей индукция MAPK, опосредованная короткой изоформой, играет важную роль в маммопозе, в то время как в яичнике активация данной изоформы способствует ингибированию каскада за счет подавления ERK [30–32].

Кроме того, пролактиновый сигналинг может быть опосредован PI3K/Akt-путем. Активация этого каскада выглядит следующим образом: после аутофосфорилирования тирозинкиназы Janus, киназа PI3K взаимодействует с димеризованным ПРЛР. Каталитическая субъединица PI3K аллостерически активируется, и в результате происходит превращение PIP2 (*phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate*) в PIP3 (*phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate*). PIP3 закоривает протеинкиназу Akt, которая может быть фосфорилирована различными киназами с целью ее активации: PDK1 (*phosphoinositide-dependent kinase 1*), mTORC2 (*mammalian target of rapamycin (mTOR) 2 complex*). Akt активирует и ингибирует различные мишени, что, в конечном итоге, влияет на клеточное выживание, рост и пролиферацию (рис. 1, а) [8]. Показано, что у *Akt1(-/-)*; *Akt2(+/-)* мышей отсутствовала способность экспрессировать аутокринный пролактин в конце беременности, необходимый для окончательной дифференцировки эпителия молочной же-



**Рис. 2.** Пути терминации пролактинового сигналинга. *а* — Терминация сигналинга длинной изоформы пролактинового рецептора с участием белка CIS; *б* — терминация сигналинга длинной и короткой изоформ пролактинового рецептора с участием белков SOCS; *в* — терминация сигналинга длинной изоформы пролактинового рецептора с участием белка PIAS. Пояснения в тексте

лезы, несмотря на нормальный уровень пролактина в крови и его продукции гипофизом [33]. Стоит отметить, что PI3K/Akt-сигнальный путь необходим и для активации MAPK-каскада в условиях стимуляции пролактином, что было показано на линии клеток опухоли молочной железы T-47D и MCF-7 [34].

В условиях патологии возможна ситуация, когда возрастает роль сигнальных каскадов MAPK и PI3K/Akt, например, в случае рака молочной железы. Группой Peck было показано, что во время развития рака молочной железы часто наблюдается потеря белка STAT5A, но не STAT5B [35]. Есть данные о том, что нарушение фосфорилирования STAT5A/B во время прогрессирования рака молочной железы может быть связано с повышением активности протеинтирозин фосфатазы 1B PTP1B [36]: в культуре клеток рака молочной железы MCF-7 при снижении экспрессии PTP1B наблюдается увеличение активации JAK2/STAT5-сигнального пути [37]. Кроме того, STAT5A при иницировании опухоли может влиять на пролиферативную и на антиапоптогические эффекты, например, посредством регуляции протеинкиназы Akt. STAT5A связывается с консенсус-последовательностями в локусе гена *Akt1*, чтобы иницировать транскрипцию уникальной мРНК Akt от отдельного промотора, который активен только в молочной железе. Рост активного Akt восстанавливает экспрессию циклина D1 и пролиферацию JAK2-дефицитных эпителиальных клеток молочной железы [38].

Аберрантная активация сигнального каскада MAPK распространена во многих типах рака человека. Пути, которые положительно регулируют активность ERK1/2 по отношению к своим многочисленным цитозольным и ядерным субстратам, представляют собой привлекательную мишень для развития противоопухолевых препаратов [39]. Для установления архитектуры сигнальной сети от ПРЛР к ERK1/2 были изучены варианты активации ERK1/2 в ответ на пролактин при нарушениях на разных уровнях сигналинга в клеточных линиях рака молочной железы человека, полученных от пациентов с инвазивной/инфильтративной протоковой карциномой. На культурах клеток MCF-7 и T-47D было показано, что киназы семейства Src необходимы для активации ERK1/2. При этом выяснилось, что основной субстрат Src FAK (*focal adhesion kinase*) только частично связан с активацией ERK1/2 [34].

Важную роль в передаче сигнала пролактина играют протоонкогенные тирозинкиназы семейства Src. В данное семейство входит семь киназ, причем, четыре из них (Src, Yes, Yrk и Fyn) экспрессируются повсеместно. Для всех белков

характерна модульная структура (SH1—4 домены), где SH2-домен необходим для связывания с белками, фосфорилированными по тирозин-остаткам. Киназы семейства Src вовлечены в регуляцию множества сигнальных путей, которые контролируют процессы адгезии, миграции клеток, ангиогенеза, выживания, дифференцировки и т.д. [8]. Что касается взаимодействия с пролактиновым сигналингом, то впервые было обнаружено конститутивное взаимодействие киназы Fyn со всеми тремя изоформами ПРЛР (длинной, короткой и средней) в культуре клеток лимфомы человека Nb2 [40]. На культуре клеток эмбриональных фибробластов цыпленка CEF было доказано с помощью использования разных вариантов мутантных форм другой киназы из этого семейства — c-Src с разными отсутствующими доменами, что c-Src киназа встроена в мембрану. Полученные данные подтверждают тот факт, что длинная изоформа ПРЛР взаимодействует и с c-Src, и с JAK2 [41]. Позднее на разных клеточных моделях было показано, что три основных типа ПРЛР могут взаимодействовать с киназами семейства Src [8].

Так как киназы семейства Src и JAK2 взаимодействуют с ПРЛР, возник вопрос о том, есть ли взаимодействие между этими киназами, регулирующее их активность. Оказалось, что SH2- и SH3-домены киназ семейства Src независимо от их собственной ферментативной активности контролируют пролактиновый сигналинг через JAK2/STAT5-путь [8]. Кроме того, в культуре клеток рака молочной железы MCF-7 при конститутивной супрессии c-Src значительно подавлялось проведение сигнала через JAK2/STAT5-путь при воздействии пролактина. Есть данные о том, что киназы Src участвуют в развитии молочной железы и образовании молока. Показано, что у *src*<sup>-/-</sup> мышей нормально развиваются молочные железы во время беременности, но молоко не выделяется из-за отсутствия секреторной активации, а также у них снижена экспрессия ПРЛР в послеродовой период в сочетании с уменьшением активации STAT5 на фоне нормального уровня пролактина [42]. В  $\beta$ -клетках поджелудочной железы ингибирование каталитической активности киназ Src с помощью их селективного ингибитора PP2 полностью отменяет рост внутриклеточного содержания кальция и секрецию инсулина, индуцируемую пролактином [43]. В гепатоцитах кормящих крыс пролактин активирует c-Src и индуцирует экспрессию транскрипционных факторов c-Fos и c-Jun [44]. Похожие результаты были получены на культуре клеток W53 (лимфоидные клетки мыши, экспрессирующие ПРЛР): под действием пролактина активировался c-Src/PI3K/Akt-сиг-

нальный путь и возрастала экспрессия мРНК транскрипционного фактора с-Мус [45].

**Средняя изоформа ПРЛР** (мол. масса 65 кДа) образуется в результате сдвига рамки считывания. Несмотря на укороченный внутриклеточный домен, данная изоформа может активировать JAK/STAT-путь, но не способна вызвать усиление клеточной пролиферации в ответ на ее взаимодействие с пролактином. В то же время, как и длинная изоформа ПРЛР, она опосредует клеточное выживание [7].

**Короткая изоформа ПРЛР** крысы имеет укороченный внутриклеточный домен с отсутствием бокса 2, в связи с этим она не может взаимодействовать с белками, содержащими SH-2 домен, такими как STAT. Роль короткой изоформы в сигналинге пролактина пока мало изучена. Изначально было установлено, что данная изоформа подавляет проведение сигнала через JAK2/STAT путь за счет образования гетеродимеров с длинной изоформой ПРЛР (рис. 1, в). Недавно стало известно о том, что у короткой изоформы ПРЛР есть самостоятельная роль в пролактиновом сигналинге. Было выявлено ингибирующее влияние передачи сигнала через короткую изоформу на MAPK за счет ее ассоциации с DUPD1 (*dual specific phosphatase*) – фосфатазой, дефосфорилирующей члены каскада, а также ингибирование транскрипционных факторов Sp-1 и FOXO3 [31, 46, 47] (рис. 1, б).

У мышей обнаружено четыре изоформы ПРЛР: одна длинная и три коротких – PR-1, PR-2 и PR-3 (гомологична короткой изоформе крысы) с уникальными C-концевыми последовательностями после общих проксимальных мембранных остатков во внутриклеточном домене. Среди них один клон (PR-1) идентифицировали на уровне белка и показали, что он функционально активен [30, 48].

У человека обнаружено пять изоформ ПРЛР (в отличие от крысы и мыши). Помимо длинной и средней, экспрессируются две короткие, а также растворимая изоформа ПРЛР.

В результате альтернативного сплайсинга и частичной делеции экзона 10 и 11 у человека образуются S1a и S1b короткие изоформы ПРЛР. Они имеют сходное сродство к пролактину в сравнении с длинной изоформой ПРЛР, но не опосредуют активацию транскрипции β-казеина. При коэкспрессии с длинной изоформой обе изоформы оказывают негативное влияние на проведение сигнала через длинную изоформу ПРЛР за счет образования гетеродимеров.

У **растворимой рецепторной изоформы**, найденной в сыворотке и молоке, обнаружен только внеклеточный домен. Она имеет мол. массу 33 кДа и участвует в следующих реакциях, имею-

щих отношении к гомеостазу пролактина: 1) пролонгирование времени циркуляции и биологической активности пролактина; 2) снижение эффективной концентрации пролактина благодаря конкурентному связыванию с мембранными рецепторами; 3) димеризация и инактивация некоторых изоформ рецептора пролактина; 4) влияние на доступность гормона роста, что связано со способностью связывать соматотропный гормон у некоторых видов [7].

Кроме того, у человека обнаружена изоформа ПРЛР *DeltaS2*, у которой отсутствует S2 субдомен внеклеточного домена. Данная изоформа играет важную роль в канцерогенезе простаты и молочной железы. Кроме того, она обнаружена и в нормальных клетках простаты, молочной железы и эндотелия [49–51]. Было показано, что наличие S2 субдомена в рецепторе играет роль в изменении конформации внутриклеточного домена в димере рецептора, чтобы активировать киназы Janus [51]. По данным BRET, у S1a и S1b с делецией этого участка было снижено связывание пролактина.

Ниже мы рассмотрим ключевые белки, участвующие в сигналинге разных изоформ ПРЛР.

## ТРАНСДУКТОРЫ СИГНАЛА И АКТИВАТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ STATs

STATs были изначально идентифицированы как белки, способные передавать сигнал от плазматической мембраны к целевым генам в ядре. Они играют существенную роль в пролиферации клеток, их выживании и иммунной защите [52]. Помимо индукции генной экспрессии, сейчас есть доказательства того, что STAT-белки могут выполнять и негеномные функции [53]. Тем не менее, наиболее существенную роль они играют в регуляции транскрипции [52]. STAT-белки формируют семейство цитоплазматических белков, вовлеченных в сигналинг рецепторов цитокинов. У человека обнаружено семь типов таких белков: STAT1 (α и β), STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B и STAT6 (или IL-4 STAT). Все STAT-белки имеют общую схему строения: ДНК-связывающий домен, SH3-подобный и SH2-домены (домен гомологии Src киназы 2) и C-концевой трансактиваторный домен, некоторые авторы также выделяют спираль-спиральный домен [52].

Несмотря на то, что доменная структура STAT-белков консервативна, они активируются в ответ на действие различных цитокинов и ростовых факторов. В настоящее время обнаружено, что три члена семейства STAT-белков участвуют в пролактиновом сигналинге: в первую оче-

редь, STAT5, а также STAT1 и STAT3 [7, 21, 54]. Механизм активации длинной изоформы ПРЛР и передачи от него сигнала следующий: после взаимодействия пролактина с димером из двух молекул рецептора JAK2, конститутивно связанные с рецептором через бокс-1, фосфорилируют друг друга. Активированные JAK-2 фосфорилируют боксы-2, а точнее, остатки тирозина на протяжении этих доменов рецептора, что позволяет SH2-доменам транскрипционных факторов семейства STAT связываться с ними, после чего киназы JAK2 активируют их фосфорилированием. Фосфорилированные STAT гомо- и гетеродимеризуются и транслоцируются в ядро, где активируют гены, имеющие в своем промоторе гамма-интерферон-чувствительный (GAS) элемент.

Выделяют две изоформы STAT5 – STAT5A и STAT5B, которые кодируются двумя различными генами [55]. У данных изоформ 96% идентичность аминокислотной последовательности, и обычно они коэкспрессируются в тканях: в молочной железе, печени, мышцах и слюнной железе [56]. Тем не менее клетки разных тканей могут активировать разные изоформы STAT5 в большей или меньшей степени в ответ на стимуляцию пролактином. STAT5A играет ключевую роль в пролактиновом и ИЛ-2 сигналинге, в то время как STAT5B необходим для поддержания полового диморфизма в скорости роста тела, экспрессии генов печени и других функций, связанных с поддержанием иммунитета [57–61]. Гипотеза о том, что две изоформы STAT5 оказывают свое действие независимо друг от друга, подтверждается различием фенотипов при выключении одного из генов, кодирующих STAT5-белки. У мышей с нокаутом по STAT5A наблюдалась задержка развития молочной железы, но не роста, в то время как у мышей с нокаутом по STAT5B, наоборот, задерживался рост тела у самцов, а молочные железы развивались нормально. Кроме того, самки с нокаутом по STAT5A и STAT5B были стерильны [62]. В более поздних работах также показано, что пролактин способствует дифференцировке эпителиальных клеток молочных желез с участием JAK2/STAT5A сигнального пути [63]. Группой Grattan было показано, что STAT5B отвечает за отрицательную обратную связь в тубероинфундибулярных нейронах гипоталамуса, опосредуемую пролактином [64]. В более поздней работе той же лаборатории отмечено, что у мышей с нокаутом по STAT5B не происходило фосфорилирования STAT5A в ответ на воздействие пролактина в гипоталамусе, в отличие от адипоцитов и эпителия молочной железы у тех же животных. Таким образом, был сделан вывод о том, что в гипоталамусе мыши только

STAT5B опосредует действие пролактина [65]. В литературе нет данных о том, какую роль играют STAT5-белки в пролактиновом сигналинге в почках.

### ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР СЕМЕЙСТВА FORKHEAD 3 FOXO3

У млекопитающих семейство FOXO включает транскрипционные факторы FOXO1, FOXO3 и FOXO4, играющие важную роль в аресте клеточного цикла, апоптозе и стрессорном ответе, что было показано *in vitro*. С целью изучения функций этих транскрипционных факторов *in vivo* были созданы мыши, нокаутные по каждому из генов семейства FOXO. Было показано, что FOXO3 играет ключевую роль в развитии фолликулов яичников [66]. Позднее в работах группы Halperin показано, что FOXO3 усиливает транскрипционную активность гена фермента GALT, и что данный транскрипционный фактор связан с пролактиновым сигналингом через короткую изоформу рецептора. У трансгенных мышей, экспрессирующих только короткие изоформы ПРЛР, под действием пролактина происходит подавление FOXO3, и, соответственно, ингибирование экспрессии GALT в яичниках, в результате чего происходит преждевременное созревание фолликулов яичников и их гибель. При селективной активации коротких изоформ возникал процесс нарушения работы яичников, который подавлялся при коэкспрессии длинной изоформы ПРЛР у таких мышей [46, 67].

### ГАЛАКТОЗА-1-ФОСФАТ-УРИДИЛТРАНСФЕРАЗА (GALT)

GALT широко экспрессируется в печени и яичниках. Данный фермент участвует в превращении галактозы в глюкозу. Дефицит GALT приводит к накоплению метаболитов галактозы, которые вызывают т.н. токсичность яичников. Для данной патологии характерен дефицит реакций гликозилирования, а также снижение продукции энергии клетками яичника [46]. Мутация гена GALT является причиной развития классической галактоземии. Патогенез этого заболевания связан с задержкой роста и развития, гемолизом, катарактой и др. проявлениями. Дисфункция яичников при галактоземии связана с такими клиническими проявлениями, как гипогонадотропный гипогонадизм в контексте аменореи, которая может начаться в любом возрасте и перейти в преждевременное старение яичников [68].

## СЕМЕЙСТВО СУПРЕССОРОВ ЦИТОКИНОВОГО СИГНАЛИНГА (SOCS)

Существует несколько системных номенклатур белков семейства SOCS, в соответствии с которыми CIS1 – это то же самое, что и CIS, а CIS3 – SOCS3. Во избежание путаницы в настоящее время наиболее широко используют номенклатуру, исходя из которой в семейство белков SOCS входят SOCS1-7 белки и белок CIS [69, 70]. У каждого белка этого семейства есть SH2-домен и C-концевой SOCS-бокс. SH2-домен необходим для взаимодействия с фосфорилированными тирозиновыми остатками на цитокиновых рецепторах. CIS ингибирует целый ряд цитокиновых сигнальных путей, в том числе, и сигналинг пролактина. Этот белок связывается с фосфотирозиновым остатком рядом с сайтом связывания STAT5 и препятствует взаимодействию STAT5 с длинной изоформой ПРЛР. SOCS-бокс участвует в формировании E3 убиквитинлигазного комплекса с элонгином V/C, куллином и белками RBX (*ringfinger proteins*) [70, 71]. SOCS-белки функционируют как часть E3 убиквитинлигазного комплекса. Взаимодействие CIS и других SOCS белков с E3 убиквитинлигазным комплексом происходит благодаря соседним V/C и Cul боксам, расположенным внутри SOCS-бокса [71–74].

Экспрессия белков семейства SOCS жестко регулируется на транскрипционном уровне. Как выяснилось, белки семейства STAT вносят значительный вклад в стимуляцию экспрессии генов CIS, SOCS1 и SOCS3. В промоторе гена CIS содержится четыре STAT5-связывающих сайта. Есть данные о том, что у мышей с нокаутом по STAT5A и STAT5B исчезает экспрессия CIS в яичнике [69].

В ранних работах выделяли CIS1-4 изоформы этого белка [75]. По данным группы Helman, только CIS3 участвует в терминации пролактинового рецепторного цикла, по крайней мере, в молочной железе [75]. Группой Endo сообщалось о том, что CIS1 подавляет пролактиновый сигналинг в дрожжевой системе [60].

Есть данные о том, что гиперпролактинемия, возникающая у кормящих крыс, приводит к увеличению уровня мРНК CIS в дофаминергических нейронах гипоталамуса, которые экспрессируют пролактиновые рецепторы, по сравнению с крысами в диэструсе. Интересно отметить, что уровень мРНК SOCS1 и SOCS3 снижен у кормящих крыс по сравнению с крысами в диэструсе, несмотря на то что SOCS1 и SOCS3 также играют важную роль в прекращении пролактинового сигналинга, как и CIS [76].

Тем не менее в исследовании той же научной группы был показан значительный рост уровней

мРНК как SOCS1-3, так и CIS в яичнике крысы на 10-й или 13-й день беременности крысы в соответствии с ростом секреции пролактина в этот период [77].

SOCS1, SOCS2 и SOCS3 (и CIS) участвуют в подавлении пролактинового сигналинга [69, 78, 79]. Помимо пролактина, они ингибируют рецепторный цикл широкого спектра цитокинов, гормонов и факторов роста: инсулиноподобного фактора роста-1, гормона роста, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6, эритропоэтина и др. [69]. У SOCS1 и SOCS3 есть на N-конце область ингибирования киназы KIR (*kinase inhibitory region*), этот фрагмент белка напоминает по своей структуре активационную петлю JAK2. SOCS1 напрямую связывается с JAK2 и ингибирует ее каталитическую активность [80]. Интересно взаимодействие нектина-4 и SOCS1: иммуноглобулинподобная молекула клеточной адгезии нектин-4 взаимодействует своим цитоплазматическим доменом с SH2-доменом SOCS1, подавляя ингибиторное действие последнего. Кроме того, нектин-4 взаимодействует с длинной изоформой ПРЛР, что приводит к усилению пролактинового сигналинга и способствует развитию альвеолярной структуры в молочной железе мыши [81].

SOCS-белки также взаимодействуют между собой. В работе группы Pezet показано, что SOCS2 подавляет ингибиторный эффект SOCS1, восстанавливая активность JAK2-киназы, но при этом не оказывает влияния на SOCS3. В этом же исследовании показано, что экспрессия SOCS1, 2, 3 и CIS разнесена во времени. Экспрессия SOCS1 и SOCS3 в культуре клеток опухоли молочной железы человека T-47D в ответ на пролактиновую стимуляцию начинается намного раньше, чем CIS и SOCS2 (рост экспрессии наблюдался спустя 24 ч после инкубации культуры клеток с пролактином). Таким образом, было сделано предположение о том, что SOCS2 может восстанавливать чувствительность клеток к пролактину за счет частичного подавления ингибиторного эффекта SOCS1 [78]. По данным группы Harris, SOCS2 является одним из ключевых белков, управляющих формированием молочной железы, так как гомозиготная ноль-мутация SOCS2 не приводила к потере лактации и редукции фосфорилирования STAT5, что характерно для трансгенных мышей, гетерозиготных по ПРЛР [82].

Механизм ингибирования пролактинового сигналинга с помощью SOCS3 отличен от SOCS1. У SOCS3 низкое сродство к JAK2 по сравнению с SOCS1. Тем не менее, он ингибирует активность JAK2, связываясь с ее проксимальным сайтом. Показано, что пролактиновый сигналинг ингибируется в случае сверхэкспрессии SOCS3



в культуре клеток со стабильной сверхэкспрессией JAK2 (клон LA) после инкубации с пролактином [79]. Механизм ингибирования пролактинового сигналинга с помощью SOCS2 пока остается неизвестным.

### БЕЛКОВЫЙ ИНГИБИТОР АКТИВИРОВАННОГО STAT–PIAS

В данное семейство включают PIAS1, PIAS2, PIAS3 и PIAS4 белки. У всех из этих белков, кроме PIAS1, есть две изоформы. Большинство PIAS белков имеют пять консервативных доменов или мотивов: SAP домен [*scaffold attachment factor A/B*, ACINUS (*apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus*) and PIAS], PINIT аминокислотный мотив, RLD (*RING finger like zinc binding domain*), AD (*highly acidic domain*), который содержит SUMO1-связывающий домен, и S/T область (серин- и треонин-обогащенная область) [83, 84]. PIAS находятся внутри ядра, где они регулируют активность многих транскрипционных факторов, включая STAT-белки, NFκB, SMADs (SMA- and MAD-related proteins), а также белок-супрессор опухолей p53. PIAS регулируют транскрипцию с помощью нескольких механизмов: блокада ДНК-связывающей активности транскрипционных факторов, рекрутмент транскрипционных корепрессоров или коактиваторов и участие в сумоилировании белков, так как PIAS обладают малой убиквитин-подобной SUMO (*small ubiquitin-like modifier*)-Е3 лигазной активностью [83].

В яичнике крысы, а также в культуре клеток Nb2 показано, что PIAS3 подавляет STAT5-сигнальный каскад, характерный для длинной изоформы ПРЛР, взаимодействуя с ДНК-связывающим доменом STAT5 [25, 26]. Пока неизвестно, подвергается ли STAT5 сумоилированию с помощью PIAS3 [85]. Некоторые статьи о PIAS3 посвящены изучению участия этого белка в механизмах развития опухолей молочной железы, яичников и простаты. Показано, что экспрессия PIAS3 значительно возрастает в опухоли молочной железы человека по сравнению со здоровой тканью [86]. Группа Dagvadorj изучала пролактиновый сигналинг с участием STAT5A/B и PIAS3 в культурах клеток опухоли молочной железы и простаты. Было показано, что N-концевой домен STAT5A/B необходим для связывания с PIAS3. Любопытно отметить, что PIAS3 подавлял транскрипционную активность STAT5A/B в культуре клеток опухоли молочной железы, проинкубированной в растворе пролактина, чего не происходило в культуре клеток опухоли простаты, так как в процессе развития последней опу-

холи происходило протеолитическое отщепление N-концевого домена STAT5A/B. Это препятствовало взаимодействию с PIAS3 [87].

Также есть данные о связи пролактина и с другим белком семейства PIAS – PIAS1. Показано, что сайленсинг гена *PIAS1* в культуре клеток HESCs (*human endometrial stromal cells*), проинкубированных с прогестероном, стимулирует экспрессию гена пролактина [88].

Ниже будет рассмотрено влияние изменения соотношения изоформ ПРЛР в контексте нормы и патологии в различных органах и тканях. Будет сделан акцент на изменение соотношения длинной изоформы ко всем коротким изоформам ПРЛР в целом.

### ТКАНЕСПЕЦИФИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА ПРОЛАКТИНА

Экспрессия различных изоформ ПРЛР варьирует в тканях в зависимости от этапа развития индивидуума, стадий эстрального цикла, беременности и лактации. В большинстве тканей крыс преобладает длинная изоформа ПРЛР. Она экспрессируется в большом количестве в надпочечнике, почке, молочной железе, тонком кишечнике, желчном протоке, хориоидном сплетении и поджелудочной железе, в то время как в других тканях, например, в печени и яичниках, много короткой изоформы [7, 89–92]. По разным данным, в коре и мозговом слое почки мРНК короткой изоформы рецептора больше или столько же, сколько длинной, причем их представленность зависит от пола [20, 48, 93–95].

Изменение соотношения изоформ ПРЛР в различных тканях может свидетельствовать о протекании следующих процессов: развитии и созревании органа/ткани, стадии цикла, беременности, реализации воспалительного ответа (патогенеза), образовании опухоли.

Ниже будут рассмотрены особенности вышеперечисленных процессов в разных тканях и органах.

**Яичник.** Наличие ПРЛР является ключевым компонентом в регуляции функции яичников, секреции прогестерона и поддержании работы желтого тела. На данный момент роль разных изоформ ПРЛР в функциях яичника у человека неокончательно ясна в связи с тем, что не описаны случаи мутаций по разным изоформам ПРЛР, связанных с репродуктивными патологиями [20]. Тем не менее существует семейная гиперпролактинемия, связанная с гетерозиготной мутацией ПРЛР, проявляющейся в замене гистидина на аргинин в кодоне 188. В клинической практике известен случай трех сестер с дан-

ным заболеванием, которое проявилось в виде общего фенотипа с олигоменореей, галактореей и бесплодием [96, 97].

У грызунов и длинная, и короткие изоформы ПРЛР коэкспрессируются в гранулезе, интерстициальных клетках и клетках желтого тела в течение всего эстрального цикла с преобладанием длинной изоформы на всех стадиях цикла. Уровень экспрессии изоформ ПРЛР сильно варьирует на разных стадиях цикла: например, максимальный уровень мРНК всех изоформ достигается в проэструсе, снижается в течение диэструса и восстанавливается до максимального уровня в позднем диэструсе и раннем проэструсе. Такое снижение, видимо, играет роль в ослаблении влияния пролактина на яичник в течение перiovуляторного периода. Достижение высокого уровня экспрессии изоформ ПРЛР в позднем диэструсе необходимо для поддержания с помощью пролактина секреции прогестерона при подготовке к беременности или псевдобеременности. Экспрессия длинной и коротких изоформ ПРЛР еще больше возрастает во время лютеинизации, особенно примечателен скачок экспрессии коротких изоформ. Любопытно, что рост коротких изоформ связан с усиленной активацией STAT5B в желтом теле [26, 30].

Более глубокое понимание того, какую роль играет пролактиновый сигналинг в яичниках, возникло после создания нокаутных мышей по ПРЛР. Группа Ormandy анализировала репродуктивную физиологию  $PRLR^{-/-}$  самок мышей: такие животные были стерильны, у них отсутствовала псевдобеременность, цикл был нерегулярный [57]. Стоит отметить, что яичники у таких мышей имели нормальное фолликулярное развитие, как и у мышей дикого типа [20]. Желтое тело образовывалось, но при отсутствии пролактинового сигналинга во время лютеинизации шел интенсивный апоптоз и ингибирование ангиогенеза [98]. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что пролактин и ПРЛР необходимы для функционирования желтого тела [20, 98].

С целью изучения предполагаемой роли короткой изоформы ПРЛР была создана нокаутная по гену ПРЛР модель мышей со вставкой трансгенной конструкции, содержащей короткую изоформу рецептора PR-1. У  $PRLR^{-/-}$  short-R мышей было значительно увеличено содержание вторичных, преантральных и антральных фолликулов в яичнике в молодом возрасте, что свидетельствует о раннем фолликулярном развитии. Фолликулы начали разрушаться на четвертой неделе жизни особей, а к пятому месяцу жизни в яичнике не осталось функциональных фолликулов, так как без длинной изоформы

происходило подавление выживания фолликулов под действием пролактина, что в конечном итоге привело к первичной яичниковой недостаточности (POI, *primary ovarian insufficiency*). Кроме того, у таких мышей под действием пролактина происходило подавление FOXO3, и, соответственно, ингибирование экспрессии GALT в яичниках [46].

У самок мышей с генотипом  $PRLR^{-/-}$  short-R и  $PRLR^{-/-}$  нормально происходит разрыв доминантного фолликула и овуляция яйцеклетки, а также трансдифференцировка его гранулезы в клетки желтого тела, но его регрессия наблюдается ранее обычного, поэтому беременность не поддерживается [57]. Имплантация пилюли с прогестероном  $PRLR^{-/-}$  short-R мышам позволяла поддержать развитие части эмбрионов [46]. В норме в желтом теле экспрессируется и длинная, и короткие изоформы ПРЛР [20, 26], но считалось, что в поддержании функционирования желтого тела ключевую роль играют короткие изоформы ПРЛР. Однако неспособность пролактина сохранить желтое тело у беременных мышей с генотипом  $PRLR^{-/-}$  short-R, опосредованная через короткие изоформы рецептора, свидетельствует в пользу того, что длинная изоформа ПРЛР также важна в поддержании секреции прогестерона желтым телом с помощью пролактина [20].

Изменение соотношения экспрессии изоформ ПРЛР может служить причиной развития опухоли яичников. Группа Tan показала *in vitro*, используя опухолевые линии клеток TOV-112D, OV-90 и TOV-21G, что в тех клетках, в которых соотношение изоформ сдвинуто в сторону длинной изоформы ПРЛР, повышена способность к росту, выживанию и миграции в ответ на воздействие пролактина [99].

Стоит еще раз отметить, что соотношение экспрессии изоформ ПРЛР на протяжении всего эстрального цикла сдвинуто в сторону длинной изоформы, но перед лютеинизацией важен скачок экспрессии короткой. Обе изоформы ПРЛР важны для выживания желтого тела. Кроме того, короткая изоформа служит своеобразным «тормозом» фолликулярного роста, подавляя развитие POI.

**Молочная железа.** Несмотря на важную роль пролактина в развитии и функционировании молочной железы, мало известно об изменении соотношения изоформ ПРЛР и их распределении в разных физиологических состояниях. У нокаутных мышей по всем ПРЛР не развиваются альвеолярные структуры, даже в случае трансплантации эпителия молочной железы беременным мышам дикого типа [57]. У мышей во всех нормальных физиологических состояниях большая часть длинной и короткой изоформы PR-3 ло-

кализована апикально в люминальных эпителиальных клетках, а во время лактации данные изоформы обнаружены на базолатеральной поверхности протоков молочной железы. Аналогичное расположение изоформ ПРЛР было обнаружено в ткани нормальной женской молочной железы [100].

Соотношение коротких и длинной изоформ ПРЛР может участвовать в регуляции экспрессии  $\beta$ -казеина — одного из белков, входящих в состав молока. Известно, что димеры длинной изоформы ПРЛР могут активировать промотор гена  $\beta$ -казеина. В опытах *in vitro* показано, что при совместной экспрессии коротких и длинной изоформ активация промотора гена  $\beta$ -казеина снижена, если соотношение сдвинуто в сторону коротких ПРЛР. Это объясняется тем, что сигнал длинной изоформы ПРЛР блокируется из-за образования нефункционального димера с короткой формой [101]. Короткая изоформа ПРЛР служит в данном случае «тормозом» сверхэкспрессии гена  $\beta$ -казеина и адаптирует его активность под конкретное физиологическое состояние.

Высокая концентрация пролактина в крови повышает риск развития опухоли молочной железы. В дополнение к пролактину, выделяемому лактотрофами в переднем гипофизе, пролактин, продуцируемый локально (аутокринный механизм), может способствовать развитию рака молочной железы [24]. Экспрессия ПРЛР в опухолях значительно возрастает по сравнению со здоровыми тканями, в том числе и в молочной железе [102–104]. В раковых тканях человека и мыши длинная изоформа ПРЛР способствует клеточной пролиферации и выживанию, а одна из коротких изоформ (S1b у человека) является доминантной негативной и выполняет антипролиферативную и проапоптотическую функцию. S1b подавляет функцию изоформ, провоцирующих канцерогенез (S1a у человека), за счет гетеродимеризации [105]. В случае гомодимеризации короткая форма ПРЛР стимулирует дифференцировку и апоптоз. Предполагается, что сохранение доминантной негативной формы ПРЛР может иметь важные терапевтические преимущества [3].

Стоит отметить, что в опухоли молочной железы отношение коротких изоформ ПРЛР к длинной играет важную роль в прогрессировании болезни. В исследовании Meng et al. показано, что у пациенток с раком молочной железы снижено отношение короткой изоформы ПРЛР к длинной по сравнению с нормальной тканью. Аналогичные данные были получены на 8-и из 10 клеточных линиях рака груди, в качестве контроля использовали клеточные линии здо-

ровой молочной железы Hs578Bst и MCF10A. Следовательно, относительно сниженная экспрессия коротких изоформ ПРЛР в раковой опухоли дает возможность проявиться онкогенным эффектам, опосредуемым длинной изоформой ПРЛР, и может вносить вклад в дальнейшее развитие канцерогенеза в молочной железе [106]. Однако возрастание содержания транскрипционного фактора STAT5 связано с негативным прогнозом в развитии рака груди. *In vitro* исследования показали, что активация STAT5 через длинную изоформу увеличивает содержание опухолевых клеток молочной железы эпителиального фенотипа по сравнению с мезенхимальным [35].

Одним из эффективных способов выявления роли различных изоформ ПРЛР в канцерогенезе является создание нокаутных моделей. Было показано, что нокаут ПРЛР значительно замедляет развитие опухолей груди, вызванных сверхэкспрессией вирусных онкогенов [107]. Есть работы с нокаутом только одной изоформы ПРЛР. Группа Yonezawa добилась нокаута *in vivo* длинной изоформы ПРЛР за счет влияния на сплайсинг пре-мРНК. Данная работа была сфокусирована на изучении того, как изменяется метастазирование в случае нокаута одной из изоформ ПРЛР. Нокаут длинной изоформы ПРЛР в культуре клеток мыши (линия T41) и клеток человека (линия BT-474) стимулировал апоптоз раковых стволовых клеток (было показано, что гибнет ~ 95% клеток) [3].

Группа Tan et al. описала природный вариант ПРЛР, в котором отсутствует S2 субдомен внеклеточного домена (DeltaS2) [51]. DeltaS2 димеризуются в отсутствие пролактина и проявляют конститутивную активность, что провоцирует рост клеток в опухоли молочной железы. Такой эффект проявляется за счет того, что дефектные рецепторы влияют на увеличение экспрессии EZH2 (*enhancer of zeste homolog 2*) — одного из ключевых гистон-модифицирующих ферментов, регулирующих экспрессию генов за счет эпигенетического влияния. Таким образом, в эпителиальных клетках молочной железы сверхэкспрессия DeltaS2 приводит к усилению рекрутмента хроматина с помощью EZH2-метилтрансферазы и снижению экспрессии p53 — транскрипционного фактора, являющегося основным супрессором злокачественных опухолей [49].

У сельскохозяйственных животных (например, в молочной железе коз) исследовали экспрессию суммарной мРНК ПРЛР без учета изоформ при различных физиологических состояниях. Оказалось, что во время запуска коз (прекращения доения козы перед окотом) содержание мРНК ПРЛР в молочной железе воз-

растает в 2 и 6 раз по сравнению с пренатальным периодом и периодом лактации, соответственно [108]. Обратим внимание читателей на то, что если в норме короткая изоформа ПРЛР «экономит» ресурсы организма за счет подавления экспрессии  $\beta$ -казеина в молочной железе, то в условиях патологии она, в целом, служит тормозом в развитии рака молочной железы, а длинная изоформа, наоборот, — провокатором. Похожую картину мы наблюдали при обзоре функций изоформ ПРЛР в яичнике.

**Простата.** Пролактин является одним из ключевых гормонов, поддерживающих нормальное функционирование простаты, а также сексуальную активность. Во время реализации полового поведения концентрация пролактина в крови значительно возрастает, что отражается в динамике изменений экспрессии разных изоформ ПРЛР в простате. У самцов крыс (для них характерны следующие друг за другом эякуляции во время полового акта) значительно увеличивается экспрессия длинной изоформы ПРЛР в вентральной простате после второй и третьей эякуляции, в то время как экспрессия короткой формы ПРЛР возрастает сразу после первой и остается на высоком уровне вплоть до третьей. К моменту четвертой эякуляции экспрессия обеих изоформ рецепторов снижается до уровня, характерного в прекопулятивный период [109].

Помимо STAT5-пути, пролактин в простате вызывает временную активацию STAT3-сигнального пути, которая длится в течение нескольких минут, что наблюдается во время полового поведения у самцов крыс. Аномальный рост концентрации пролактина в крови — гиперпролактинемия — приводит к изменению полового поведения: нарушению эрекции и снижению стремления достичь эякуляции [110, 111]. Кроме того, изменяется гистология предстательной железы. Гиперпролактинемия вызывает активацию STAT3-сигнального пути, что коррелирует с развитием патологических процессов в простате. Pascual-Mathey et al. полагают, что механизм гормонального контроля постоянной сексуальной активности нарушается, когда растет концентрация пролактина в крови выше нормальных значений. Эта исследовательская группа показала, что у самцов крыс линии Wistar гиперпролактинемия вызывает рост экспрессии длинной и короткой изоформ ПРЛР по сравнению с контролем, а также изменения в структуре предстательной железы, но при этом не влияет на половое поведение (было сделано предположение, что искусственно индуцированная гиперпролактинемия была не настолько длительной, чтобы вызвать изменения в половом поведении животных) [2].

Помимо влияния на физиологический статус предстательной железы, пролактин является гормоном, провоцирующим рак простаты. Аутокринный и паракринный пролактин, вырабатываемый простатой, также может вносить вклад в развитие рака предстательной железы. По данным эпидемиологических исследований, присутствие пролактина и pSTAT5 при раке простаты человека связано с более агрессивным протеканием болезни [112]. Как и при раке молочной железы, так и в опухолевых клетках простаты сверхэкспрессия дефектной изоформы ПРЛР DeltaS2 приводит к усилению рекрутмента хроматина с помощью EZH2-метилтрансферазы и снижению экспрессии p53 [50].

Таким образом, рост экспрессии длинной изоформы ПРЛР в простате связан с реализацией полового поведения. Соотношение изоформ изменяется в течение последовательных эякуляций. Возможно, это коррелирует с качественным составом эякулята и вероятностью последующих коитусов. В условиях патологии рост экспрессии pSTAT5 как основного посредника передачи сигнала длинной изоформы ПРЛР служит маркером развития рака простаты.

**Матка.** У многих видов млекопитающих, включая человека, обнаружена экспрессия ПРЛР в децидуоме матки во время беременности. Сам процесс децидуализации не является механизмом запуска экспрессии ПРЛР. Например, у грызунов длинная изоформа ПРЛР обнаруживается в матке спустя три дня после индукции децидуализации. мРНК обеих изоформ обнаружена в мезометриальной и немезометриальной децидуоме, и экспрессия длинной изоформы ПРЛР выше, чем короткой. У крыс уровень ПРЛР достигает пика в середине беременности и по мере прогресса эмбрионального развития постепенно снижается [30].

Из литературных данных известно об исследованиях *in vitro* и *in vivo*, в которых изучено, как изменяется соотношение изоформ ПРЛР при развитии рака шейки матки. Ascencio-Cedillo et al. было обнаружено, что и в опухолевых, и здоровых тканях матки экспрессируется белок двух коротких S1a и S1b и средней изоформы ПРЛР, а наличие длинной изоформы ПРЛР было детектировано только в образце рака шейки матки [113], что коррелирует с данными, полученными на культуре клеток рака шейки матки [114]. Видимо, рост экспрессии длинной изоформы ПРЛР может служить маркером опухоли матки.

Помимо изучения опухолей, некоторые исследования сфокусированы на динамике изменения соотношения изоформ ПРЛР в матке в условиях гиперпролактинемии. Есть интересные данные об изменении экспрессии разных изо-

форм ПРЛР у мышей с гиперпролактинемией, вызванной метоклопрамидом, — специфическим блокатором дофаминовых D2-рецепторов. Было показано, что у овариэктомированных мышей, которым вводили метоклопрамид, снижалась экспрессия короткой PR-1 изоформы ПРЛР в матке по сравнению со стерилизованными животными, которым вводили физраствор. Вероятно, это связано с реализацией механизма отрицательной обратной связи при избытке пролактина, выраженной в подавлении экспрессии. У мышей без хирургического вмешательства, которым вводили метоклопрамид, возрастала экспрессия PR-2 изоформы ПРЛР в матке по сравнению с интактными животными. Рост длинной и PR-3 изоформ ПРЛР наблюдался у овариэктомированных животных на фоне введения эстрогена и прогестерона [115].

Lupiska et al. показали, что уровень длинной изоформы ПРЛР возрастает в миометрии матки в случае аденомиоза коров по сравнению со здоровыми животными [116]. Аденомиоз матки — патология, характеризующая проникновением эндометрия внутрь миометрия матки. Данное заболевание встречается также у человека.

Считается, что у свиней специфические сочетания пролактина, эстрадиола и прогестерона дифференциально регулируют экспрессию длинной изоформы ПРЛР в эндометрии и молочной железе, и что действие пролактина на ткани зависит от экспрессии длинной изоформы ПРЛР больше, чем локальная экспрессия пролактина. У свиней экспрессия мРНК и белка длинной изоформы ПРЛР возрастает во время беременности в эндометрии и молочной железе. В отличие от ПРЛР, экспрессия пролактина остается низкой во всех тканях, кроме гипофиза в течение беременности. В печени и почке регуляция экспрессии мРНК длинной изоформы подчиняется другим закономерностям, т.е. не изменяется под воздействием вышеперечисленных гормонов [117].

**Печень.** Пролактин способствует пролиферации гепатоцитов (в том числе, в эмбриональном развитии), а также стимулирует ангиогенез [101, 118]. Также известно, что у грызунов пролактин способствует регенерации печени, ее росту и выживанию гепатоцитов [118]. Особенностью печени является преобладание экспрессии короткой изоформы ПРЛР. Она, видимо, является тканью, в которой функциональная роль короткой изоформы проявляется особенно ярко. С помощью метода ОТ-ПЦР произведена количественная оценка соотношения изоформ ПРЛР: было показано, что в печени крысы отношение короткой к длинной форме равно 10 : 1 [94]. Интригующей иллюстрацией важной роли ко-

роткой формы является смена доминирующей формы при развитии плода. Так, в раннем эмбриогенезе в печени крысы и быка доминирует длинная форма, а в позднем преобладает короткая [101].

В условиях патологии также возможна смена паттерна экспрессии изоформ ПРЛР. Нашей лабораторией было продемонстрировано снижение экспрессии доминирующей короткой формы и повышение длинной в печени самок крыс при индуцированном обструктивном холестазае [119].

Есть данные о влиянии пролактина на экспрессию изоформ ПРЛР не только в гепатоцитах, но и в клетках желчного протока. Была обнаружена экспрессия ПРЛР в пролиферирующих холангиоцитах в нормальных и патофизиологических условиях [120, 121]. В желчном протоке крысы наблюдается экспрессия длинной изоформы ПРЛР на невысоком уровне, как и в большинстве тканей, чувствительных к пролактину. В условиях обструктивного холестаза значительно возрастает содержание длинной формы, а также обнаруживается экспрессия короткой. Любопытно отметить, что основными позитивными регуляторами экспрессии ПРЛР являются в данном случае факторы, индуцирующие холестаза, а не половые гормоны и уровень пролактина [92].

Есть данные о том, снижение экспрессии короткой изоформы провоцирует развитие гепатоцеллюлярной карциномы [122]. Вероятно, в будущем этот признак может служить маркером в диагностике онкологических заболеваний печени.

**Почка.** Пролактин принимает участие в осморегуляции и, соответственно, вовлечен в контроль работы почек у разных видов. В процессе эволюции функции пролактина трансформировались. Если у низших позвоночных осморегуляторная функция пролактина является главной, то у млекопитающих, как показано в наших исследованиях [4, 90, 123], она проявляется только в патологических условиях, сопровождающихся гиперпролактинемией (в частности, в модели холестаза беременных). Установлено, что разные структуры почек в ответ на гиперпролактинемия на фоне обструктивного холестаза реагируют повышением экспрессии белкового продукта ПРЛР [90]. В условиях такой экспериментальной патологии, как сердечная недостаточность, группой Tsuchida было показано, что уровень всех изоформ ПРЛР и топография их экспрессии в почке мыши может регулироваться перевязкой брюшной аорты [124].

На данный момент регуляция пролактином соотношения изоформ своего рецептора в почке не изучена, хотя может служить отправной точ-

кой для выяснения преимущественного участия изоформ ПРЛР в реализации эффекта пролактина на натрийурез.

**Зубы.** Пролактин принимает участие в кальциевом обмене. Показано, что высокие концентрации пролактина могут непосредственно регулировать функции остеобластов, что ведет к ремоделингу кости. Физиологическая гиперпролактинемия способствует дифференцировке фибробластов периодонтальной связки в остеобластоподобные клетки [125]. Инкубация культуры фибробластов в растворе с высоким содержанием пролактина приводит к уменьшению количества клеток, а при инкубации с пролактином в нерепродуктивной концентрации и концентрации, характерной для беременности, наблюдается значительная стимуляция таких маркеров остеогенеза, как RUNX2, BMP2 и POSTN [1].

В культуре клеток фибробластов периодонтальной связки человека экспрессируются короткие и длинные изоформы ПРЛР. Группа Suratit et al. продемонстрировала в своем исследовании, что после остеогенной индукции экспрессия длинной изоформы ПРЛР оставалась неизменной в течение всего времени дифференцировки клеток, в отличие от коротких изоформ, экспрессия мРНК и белка которой изначально преобладала в фибробластах [1].

### ВОЗМОЖНАЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПРОЛАКТИНОВОГО СИГНАЛИНГА

В настоящее время существуют две основные терапевтические стратегии, направленные на борьбу с нарушениями пролактинового сигналинга или пролактиновой секреции: 1) назначение препаратов, подавляющих выработку пролактина; 2) блокада ПРЛР. При этом стоит отметить, что на данный момент нет препаратов, селективно подавляющих сигналинг одной из изоформ ПРЛР.

К ингибиторам выделения пролактина относятся *агонисты дофаминовых рецепторов* – лиганды D2 рецепторов, такие как бромокриптин, карберголин, перголид, квинаголид. Недостаток таких препаратов в том, что они не способны влиять на секрецию пролактина, выделяемого пара/аутокринно различными опухолями [126, 127].

Блокаду пролактинового сигналинга можно осуществить двумя способами: используя антагонисты и антитела к ПРЛР. Рассмотрим подробнее каждый из способов.

**Антагонисты ПРЛР.** В 1996 г. впервые был создан вариант пролактина G129R-hPRL с анта-

гонистическими свойствами (у его связывающего сайта 2 была низкая аффинность к гомодимеру ПРЛР). Такой пептид образовывал гормон-рецепторный комплекс, неспособный к дальнейшей передаче пролактинового сигнала *in vitro* [128]. Недавние исследования показали, что блокада пролактинового сигналинга при опухоли эпителия яичника с использованием G129R-hPRL приводит к программированной клеточной смерти, опосредованной аутофагией, что может иметь клиническое применение [129].

Далее были разработаны антагонисты на основе G129R-hPRL – его комбинация с другими функциональными пептидами, например, с эндостатином или интерлейкином-2 [127]. Недостаток таких бифункциональных соединений заключается в их более низкой аффинности к ПРЛР, чем G129R-hPRL, и высокой скорости почечного клиренса [126]. В настоящее время при лечении рака груди и простаты популярно использование комбинации антагонистов ПРЛР и препаратов, блокирующих выработку андрогенов и эстрогенов: герцептина (гуманизированные моноклональные антитела к HER-2 для лечения рака груди с сверхэкспрессией рецепторов эпидермального фактора роста) и тамоксифена (блокатор эстрогеновых рецепторов) [127]. Также успешные доклинические испытания прошла комбинация герцептина и G129R-hPRL на бестимусных мышах [130].

**Моноклональные антитела к ПРЛР.** Первыми и наиболее перспективными для использования в терапии рака молочной железы и простаты оказались нейтрализующие моноклональные антитела LFA102, эффективность которых была показана *in vitro* и *in vivo* в доклинических испытаниях на мышах [126]. Тем не менее, Agarwal et al. сообщили о негативных результатах в клинических испытаниях фазы I LFA102: не было отмечено противоопухолевой активности при применении данных антител при лечении рака молочной железы и простаты [131]. Вероятно, это связано с соотношением изоформ ПРЛР: в случае его сдвига в сторону длинной формы риск развития рака возрастает, как мы отмечали ранее.

Есть и другие возможные пути коррекции патологий, связанных с нарушением ПРЛР. Один из таких путей связан с карбоксипептидазой-D (CPD). Этот фермент отщепляет C-концевой аргинин (Arg) для обеспечения синтеза NO. Уровень этого фермента и NO поддерживается тестостероном и пролактином, что способствует выживанию раковых клеток простаты. При блокаде длинных изоформ ПРЛР и андрогенных рецепторов снижалась продукция NO раковыми клетками простаты. Предполагается, что ингибирование CPD-Arg-NO-пути за счет

блокады рецепторов андрогенов и пролактина может стать эффективной терапией опухолей простаты [132].

Мы проанализировали механизмы передачи сигнала через разные изоформы ПРЛР и особенности терминации пролактинового сигналинга. На данный момент наиболее изучена роль длинной изоформы ПРЛР, чего нельзя сказать о короткой. Авторы данного обзора полагают, что необходимо продолжать исследования сигналинга короткой изоформы в контексте нормы и патологии, а также изучать отдельно терминацию рецепции разных изоформ с участием белков семейств PIAS и SOCS.

В обзоре был проанализирован процесс распределения изоформ пролактинового рецептора в различных органах и тканях. Во-первых, хочется обратить внимание читателей на роль непропорционального изменения изоформ ПРЛР в поддержании нормального физиологического состояния и патологии. Проанализировав распределение рецепторов в разных тканях и органах, можно сделать следующие выводы: 1) в разных органах представленность и регуляция изоформ ПРЛР различаются (например, в молочной железе важную роль в маммопозе играет длинная изоформа и JAK2/STAT5-путь, а в яичниках и печени – короткая изоформа);

2) изменение соотношения изоформ влияет на развитие патологии, причем в разных тканях это может быть сдвиг в разные стороны (в молочной железе рост экспрессии длинной изоформы ПРЛР по отношению к короткой служит маркером опухоли, в то время как в печени снижение экспрессии короткой изоформы по отношению к длинной повышает риск развития гепатоцеллюлярной карциномы).

В настоящее время исследователи не всегда могут выявить четкие причинно-следственные связи между динамикой изменения соотношений форм в контексте нормы и патологии. Более глубокое понимание таких корреляций, возможно, позволит видоизменить тактику лечения патологий, связанных с нарушением пролактинового сигналинга.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Surarit, R., Krishnamra, N., and Seriwatanachai, D. (2016) Prolactin receptor and osteogenic induction of prolactin in human periodontal ligament fibroblasts, *Cell Biol. Int.*, **40**, 419–427, doi: 10.1002/cbin.10580.
2. Pascual-Mathey, L., Rojas-Duran, F., Aranda-Abreu, G., Manzo, J., Herrera-Covarrubias, D., Munoz-Zavaleta, D., Garcia, L., and Hernandez, M. (2016) Effect of hyperprolactinemia on PRL-receptor expression and activation of STAT and MAPK cell signaling in the prostate of long-term sexually-active rats, *Physiol. Behav.*, **157**, 170–177, doi: 10.1016/j.physbeh.2016.02.011.
3. Yonezawa, T., Chen, K., Ghosh, M., Rivera, L., Dill, R., Ma, L., Villa, P., Kawaminami, M., and Walker, A. (2015) Anti-metastatic outcome of isoform-specific prolactin receptor targeting in breast cancer, *Cancer Lett.*, **366**, 84–92, doi: 10.1016/j.canlet.2015.06.010.
4. Abramicheva, P., Balakina, T., Bulaeva, Guseva, A., Lopina, O., and Smirnova, O. (2017) Role of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in natriuretic effect of prolactin in a model of cholestasis of pregnancy, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 632–641, doi: 10.1134/S000629791705011X.
5. Marano, R., and Ben-Jonathan, N. (2014) Extrahypothalamic prolactin: an update on the distribution, regulation, and functions, *Mol. Endocrinol.*, **28**, 622–633, doi: 10.1210/me.2013-1349.
6. Corbacho, A., Martinez de la Escalera, G., and Clapp, C. (2002) Roles of prolactin and related members of the prolactin/growth hormone/placental lactogen family in angiogenesis, *J. Endocrinol.*, **173**, 219–238, doi: 10.1677/joe.0.1730219.
7. Ben-Jonathan, N., LaPensee, C.R., and LaPensee, E.W. (2008) What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocrinol. Rev.*, **29**, 1–41, doi: 10.1210/er.2007-0017.
8. Cohen, I.R., Lajtha, N.S.A., Paoletti, R., and Lambris, J.D. (2014) Recent advances in prolactin research, Springer.
9. Hu, Z., Zhuang, L., and Dufau, M.L. (1996) Multiple and tissue-specific promoter control of gonadal and non-gonadal prolactin receptor gene expression, *J. Biol. Chem.*, **271**, 10242–10246, doi: 10.1074/jbc.271.17.10242.
10. Hu, Z., Zhuang, L., Meng, J., Leondires, M., and Dufau, M. (1999) The human prolactin receptor gene structure and alternative promoter utilization: the generic promoter hP11 and a novel human promoter hP(N), *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **84**, 1153–1156.
11. Hu, Z., Zhuang, L., Meng, J., Tsai-Morris, C., and Dufau, M. (2002) Complex 5'-genomic structure of the human prolactin receptor: multiple alternative exons 1 and promoter utilization, *Endocrinology*, **143**, 2139–2142.
12. Leondires, M.P., Hu, Z., Dong, J., and Dufau, M.L. (2002) Estradiol stimulates expression of two human prolactin receptor isoforms with alternative exons-1 in T47D breast cancer cells, *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, **82**, 263–268.
13. Kavarthapu, R., and Dufau, M.L. (2017) Essential role of endogenous prolactin and CDK7 in estrogen-induced

- upregulation of the prolactin receptor in breast cancer cells, *Oncotarget*, **8**, 27353–27363.
14. Kavarthapu, R., and Dufau, M.L. (2016) Role of EGF/ERBB1 in the transcriptional regulation of the prolactin receptor independent of estrogen and prolactin in breast cancer cells, *Oncotarget*, **7**, 65602–65613.
  15. Gertler, A., Grosclaude, J., Strasburger, C.J., Nir, S., and Djiane, J. (1996) Real-time kinetic measurements of the interactions between lactogenic hormones and prolactin-receptor extracellular domains from several species support the model of hormone-induced transient receptor dimerization, *J. Biol. Chem.*, **271**, 24482–24491.
  16. Ali, S., Pellegrini, I., and Kelly, P.A. (1991) A prolactin-dependent immune cell line (Nb2) expresses a mutant form of prolactin receptor, *J. Biol. Chem. Am. Soc. Biochem. Mol. Biol.*, **266**, 20110–20117.
  17. Kline, J.B., Roehrs, H., and Clevenger, C.V. (1999) Functional characterization of the intermediate isoform of the human prolactin receptor, *J. Biol. Chem. Am. Soc. Biochem. Mol. Biol.*, **274**, 35461–35468, doi: 10.1074/JBC.274.50.35461.
  18. Tan, D., and Walker, A.M. (2010) Short form 1b human prolactin receptor down-regulates expression of the long form, *J. Mol. Endocrinol.*, **44**, 187–194, doi: 10.1677/JME-09-0101.
  19. Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A., and Nagy, G. (2000) Prolactin: structure, function, and regulation of secretion, *Physiol. Rev.*, **80**, 1523–1631, doi: 10.1152/physrev.2000.80.4.1523.
  20. Bouilly, J., Sonigo, C., Auffret, J., Gibori, G., and Binart, N. (2012) Prolactin signaling mechanisms in ovary, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **356**, 80–87, doi: 10.1016/j.mce.2011.05.004.
  21. Bole-Feysot, C., Goffin, V., Edery, M., Binart, N., and Kelly, P.A. (1998) Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice, *Endocrinol. Rev.*, **19**, 225–268.
  22. Zhang, C., Nygaard, M., Haxholm, G.W., Boutillon, F., Bernadet, M., Hoos, S., and Goffin, V. (2015) A residue quartet in the extracellular domain of the prolactin receptor selectively controls mitogen-activated protein kinase signaling, *J. Biol. Chem.*, **290**, 11890–11904, doi: 10.1074/jbc.M115.639096.
  23. Howard, J.K., and Flier, J.S. (2006) Attenuation of leptin and insulin signaling by SOCS proteins, *Trends Endocrinol. Metab.*, **17**, 365–371, doi: 10.1016/j.tem.2006.09.007.
  24. Clevenger, C.V., Furth, P.A., Hankinson, S.E., and Schuler, L.A. (2003) The role of prolactin in mammary carcinoma, *Endocr. Rev.*, **24**, 1–27, doi: 10.1210/er.2001-0036.
  25. Rycyzyn, M.A., and Clevenger, C.V. (2002) The intranuclear prolactin/cyclophilin B complex as a transcriptional inducer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 6790–6795, doi: 10.1073/pnas.092160699.
  26. Russell, D.L., and Richards, J.S. (1999) Differentiation-dependent prolactin responsiveness and stat (signal transducers and activators of transcription) signaling in rat ovarian cells, *Mol. Endocrinol.*, **13**, 2049–2064, doi: 10.1210/mend.13.12.0389.
  27. Downward, J. (1994) The GRB2/Sem-5 adaptor protein, *FEBS Lett.*, **338**, 113–117.
  28. Llovera, M., Pichard, C., Bernichtein, S., Kelly, P.A., and Goffin, V. (2000) Human prolactin (hPRL) antagonists inhibit hPRL-activated signaling pathways involved in breast cancer cell proliferation, *Oncogene*, **19**, 4695–4705.
  29. Huang, K., Ueda, E., Chen, Y., and Walker, A.M. (2008) Paradigm-shifters: phosphorylated prolactin and short prolactin receptors, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **13**, 69–79, doi: 10.1007/s10911-008-9072-x.
  30. Devi, S.Y., and Halperin, J. (2014) Reproductive actions of prolactin mediated through short and long receptor isoforms, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **382**, 400–410, doi: 10.1016/j.mce.2013.09.016.
  31. Devi, Y.S., Seibold, A.M., Shehu, A. M., Halperin, J., Le, J., Binart, N., Bao, L., and Gibori, G. (2011) Inhibition of MAPK by prolactin signaling through the short form of its receptor in the ovary and decidua: involvement of a novel phosphatase, *J. Biol. Chem.*, **286**, 7609–7618, doi: 10.1074/jbc.M110.166603.
  32. Binart, N., Imbert-bollere, P., Baran, N., Viglietta, C., and Kelly, P.A. (2003) A short form of the prolactin (PRL) receptor is able to rescue mammapoiesis in heterozygous prl receptor mice, *Mol. Endocrinol.*, **17**, 1066–1074, doi: 10.1210/me.2002-0181.
  33. Chen, C.C., Stairs, D.B., Boxer, R.B., Belka, G.K., Horseman, N.D., Alvarez, J.V., and Chodosh, L.A. (2012) Autocrine prolactin induced by the PTEN-Akt pathway is required for lactation initiation and provides a direct link between the Akt and STAT5 pathways, *Genes Dev.*, **26**, 2154–2168, doi: 10.1101/gad.197343.112.
  34. Aksamitienea, E., Achantaa, S., Kolch, W., Kholodenko, B., Hoeka, J., and Kiyatkin, A. (2011) Prolactin-stimulated activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinases is controlled by PI3-Kinase/Rac/PAK signaling pathway in breast cancer cells, *Cell Signal.*, **23**, 1794–1805, doi: 10.1016/j.cellsig.2011.06.014.
  35. Peck, A.R., Witkiewicz, A.K., Liu, C., Klimowicz, A.C., Stringer, G.A., Pequignot, E., and Rui, H. (2012) Low levels of STAT5a protein in breast cancer are associated with tumor progression and unfavorable clinical outcomes, *Breast Cancer Res.*, **14**, 30, doi: 10.1186/bcr3328.
  36. Liao, S., Li, J., Yu, L., and Sun, S. (2017) Protein tyrosine phosphatase 1B expression contributes to the development of breast cancer, *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, **18**, 334–342, doi: 10.1631/jzus.B1600184.
  37. Johnson, K.J., Peck, A.R., Schaber, J.D., and Witkiewicz, A.K. (2010) PTP1B suppresses prolactin activation of STAT5 in breast cancer cells, *Am. J. Pathol.*, **177**, 2971–2983, doi: 10.2353/ajpath.2010.090399.
  38. Creamer, B.A., Sakamoto, K., Schmidt, J.W., Triplett, A.A., Moriggl, R., and Wagner, K. (2010) STAT5 promotes survival of mammary epithelial cells through transcriptional activation of a distinct promoter in Akt1, *Mol. Cell. Biol.*, **30**, 2957–2970, doi: 10.1128/MCB.00851-09.
  39. Roberts, P.J., and Der, C.J. (2007) Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer, *Oncogene*, **26**, 3291–3310, doi: 10.1038/sj.onc.1210422.
  40. Clevenger, C.V., and Medaglia, M.V. (1994) The protein tyrosine kinase p5gfn is associated with prolactin (PRL) receptor and is activated by PRL stimulation of T-lymphocytes, *Mol. Endocrinol.*, **8**, 674–681.
  41. Juan, A., and Rez, J.M.N. (2000) Stimulation of c-Src by prolactin is independent of Jak2, *J. Biochem.*, **345**, 17–24.
  42. Watkin, H., Richert, M.M., Lewis, A., Terrell, K., Mcmanaman, J.P., and Anderson, S.M. (2008) Lactation failure in Src knockout mice is due to impaired secretory activation, *BMC Dev. Biol.*, **8**, 1–22, doi: 10.1186/1471-213X-8-6.
  43. Zhang, F., Zhang, Q., Tengholm, A., Zhang, Q., Tengholm, A., Zhang, Q., and Larsson, O. (2006) Involvement of JAK2 and Src kinase tyrosine phosphorylation in human growth hormone-stimulated increases in cytosolic free Ca<sup>2+</sup> and insulin secretion, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **291**, 466–475, doi: 10.1152/ajpcell.00418.2005.
  44. Berlanga, J.J., Angel, J., Varat, F., Martin-Pbrez, J., Garcia-ruiz, J. P., and Dupezier, A. (1995) Prolactin receptor is associated with C-WC kinase in rat liver, *Mol. Endocrinol.*, **9**, 1461–1467.



45. Doméninguez-Caceres, M.A., Garcia-Martinez, M., Calcabrini, A., Gonzalez, L., Gonzalez, P., Leon, J., and Martin-Perez, J. (2004) Prolactin induces c-Myc expression and cell survival through activation of Src/Akt pathway in lymphoid cells, *Oncogene*, **23**, 7378–7390, doi: 10.1038/sj.onc.1208002.
46. Halperin, J., Devi, S., Elizur, S., Stocco, C., Shehu, A., Rebouret, D., Unterman, T.G., Leslie, N.D., Binart, N., and Gibori, G. (2008) Prolactin signaling through the short form of its receptor represses forkhead transcription factor FOXO3 and its target gene *galt* causing a severe ovarian defect, *Mol. Endocrinol.*, **22**, 513–522, doi: 10.1210/me.2007-0399.
47. Devi, Y.S., Shehu, A., Stocco, C., Halperin, J., Le, J., Seibold, A.M., Lahav, M., Binart, N., and Gibori, G. (2009) Regulation of transcription factors and repression of Sp1 by prolactin signaling through the short isoform of its cognate receptor, *Endocrinology*, **150**, 3327–3335, doi: 10.1210/en.2008-1719.
48. Binart, N., Bachelot, A., and Bouilly, J. (2010) Impact of prolactin receptor isoforms on reproduction, *Trends Endocrinol. Metab.*, **21**, 362–368, doi: 10.1016/j.tem.2010.01.008.
49. Tan, D., Tang, P., Huang, J., Zhang, J., Zhou, W., and Walker, A.M. (2014) Expression of a constitutively active prolactin receptor causes histone trimethylation of the *p53* gene in breast cancer, *Chin. Med. J.*, **127**, 1077–1083.
50. Tan, D.-Y., Tan, S., Zhang, J., Tang, P., Huang, J., Zhou, W., and Wu, S. (2013) Histone trimethylation of the *p53* gene by expression of a constitutively active prolactin receptor in prostate cancer cells, *Chin. J. Physiol.*, **56**, 282–290, doi: 10.4077/CJP.2013.BAB139.
51. Tan, D., Huang, K. T., Ueda, E., and Walker, A.M. (2008) S2 deletion variants of human PRL receptors demonstrate that extracellular domain conformation can alter conformation of the intracellular signaling domain, *Biochemistry*, **47**, 479–489, doi: 10.1021/bi7013882.
52. Reich, N.C. (2013) STATs get their move on, *JAK-STAT*, **2**, e27080-1–e24860-9.
53. Sehgal, P.B. (2013) Non-genomic STAT5-dependent effects at the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus and STAT6-GFP in mitochondria, *JAK-STAT*, **2**, e24860-1–e24860-9.
54. Yang, X., and Friedl, A.A. (2015) Positive feedback loop between prolactin and STAT5 promotes angiogenesis, *Springer Int. Publ.*, 265–280, doi: 10.1007/978-3-319-12114-7.
55. Copeland, N.G., Gilbert, D.J., Schindler, C., Zhong, Z., Wen, Z., Darnell, J.E., and Ihle, J.N. (1995) Distribution of the mammalian STAT gene family in mouse chromosomes, *Genomics*, **29**, 225–228, doi: 10.1006/geno.1995.1235.
56. Hennighausen, L., and Robinson, G.W. (2008) Interpretation of cytokine signaling through the transcription factors, *Genes Dev.*, **22**, 711–721, doi: 10.1101/gad.1643908.GENES.
57. Ormandy, C.J., Camus, A., Barra, J., Damotte, D., Lucas, B., Buteau, H., and Kelly, P.A. (1997) Null mutation of the prolactin receptor gene produces multiple reproductive defects in the mouse, *Genes Dev.*, **11**, 167–78.
58. Liu, X., Robinson, G.W., Wagner, K.U., Garrett, L., Wynshaw-Boris, A., and Hennighausen, L. (1997) STAT5a is mandatory for adult mammary gland development and lactogenesis, *Genes Dev.*, **11**, 179–186, doi: 10.1101/gad.11.2.179.
59. Matsumoto, A., Seki, Y., Kubo, M., Ohtsuka, S., Suzuki, A., Hayashi, I., and Yoshimura, A. (1999) Suppression of STAT5 functions in liver, mammary glands, and T cells in cytokine-inducible SH<sub>2</sub>-containing protein 1 transgenic mice, *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 6396–6407, doi: 10.1128/MCB.19.9.6396.
60. Endo, T., Sasaki, A., Minoguchi, M., Joo, A., and Yoshimura, A. (2003) CIS1 interacts with the Y532 of the prolactin receptor and suppresses prolactin-dependent STAT5 activation, *J. Biochem.*, **133**, 109–113.
61. Smirnov, A.N. (2009) Hormonal mechanisms of sex differentiation of the liver: the modern concepts and problems, *Ontogenez*, **40**, 334–54.
62. Teglund, S., McKay, C., Schuetz, E., Van Deursen, J.M., Stravopodis, D., Wang, D., and Ihle, J.N. (1998) STAT5a and STAT5b proteins have essential and nonessential, or redundant, roles in cytokine responses, *Cell*, **93**, 841–850, doi: 10.1016/S0092-8674(00)81444-0.
63. Bridgewater, R.E., Streuli, C.H., and Caswell, P.T. (2017) Extracellular matrix promotes clathrin-dependent endocytosis of prolactin and STAT5 activation in differentiating mammary epithelial cells, *Sci. Rep.*, **7**, 1–10, doi: 10.1038/s41598-017-04783-6.
64. Grattan, D.R., Xu, J., McLachlan, M.J., Kokay, I.C., Bunn, S.J., Hovey, R.C., and Davey, H.W. (2001) Feedback regulation of PRL secretion is mediated by the transcription factor, signal transducer, and activator of transcription STAT5b, *Endocrinology*, **142**, 3935–3940, doi: 10.1210/en.142.9.3935.
65. Yip, S.H., Eguchi, R., Grattan, D.R., and Bunn, S.J. (2012) Prolactin signalling in the mouse hypothalamus is primarily mediated by signal transducer and activator of transcription factor 5b but not 5a, *J. Neuroendocrinol.*, **24**, 1484–1491, doi: 10.1111/j.1365-2826.2012.02357.x.
66. Hosaka, T., Biggs, W.H., Tieu, D., Boyer, A.D., Varki, N.M., Cavenee, W.K., and Arden, K.C. (2004) Disruption of forkhead transcription factor (FOXO) family members in mice reveals their functional diversification, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **101**, 2975–2980, doi: 10.1073/pnas.040093101.
67. Bachelot, A., Bouilly, J., Liu, Y., Rebouret, D., Leux, C., Kuttann, F., and Binart, N. (2010) Sequence variation analysis of the prolactin receptor C-terminal region in women with premature ovarian failure, *Fertil. Steril.*, **94**, 2772–2775, doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.06.040.
68. Forges, T., Monnier-Barbarino, P., Leheup, B., and Jouvet, P. (2006) Pathophysiology of impaired ovarian function in galactosaemia, *Hum. Reprod. Update*, **12**, 573–584, doi: 10.1093/humupd/dml031.
69. Krebs, D.L., and Hilton, D.J. (2001) SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling, *Stem Cells*, **19**, 378–387.
70. Yoshimura, A., Naka, T., and Kubo, M. (2007) SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation, *Nat. Rev. Immunol.*, **7**, 454–465, doi: 10.1038/nri2093.
71. Jensik, P.J., and Arbogast, L.A. (2015) Regulation of cytokine-inducible SH2-containing protein (CIS) by ubiquitination and elongin B/C interaction, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **5**, 130–141, doi: 10.1126/scisignal.274pe36.
72. Starr, R., Willson, T.A., Viney, E.M., Murray, L.J., Rayner, J.R., Jenkins, B.J., and Hilton, D.J. (1997) A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling, *Nature*, **387**, 917–921, doi: 10.1038/43206.
73. Dif, F., Saunier, E., Demeneix, B., Kelly, P.A., and Edery, M. (2001) Cytokine-inducible SH2-containing protein suppresses PRL signaling by binding the PRL receptor, *Endocrine Rev.*, **142**, 5286–5293.
74. Tonko-Geymayer, S., Goupille, O., Tonko, M., Soratroi, C., Yoshimura, A., Streuli, C., and Doppler, W. (2002) Regulation and function of the cytokine-inducible SH-2 domain proteins, CIS and SOCS3, in mammary epithelial cells, *Mol. Endocrinol.*, **16**, 1680–1695.

75. Helman, D., Sandowski, Y., Cohen, Y., Matsumoto, A., Yoshimura, A., Merchav, S., and Gertler, A. (1998) Cytokine-inducible SH2 protein (CIS3) and JAK2 binding protein (JAB) abolish prolactin receptor-mediated STAT5 signaling, *FEBS Lett.*, **441**, 287–291, doi: 10.1016/S0014-5793(98)01555-5.
76. Anderson, S.T., Barclay, J.L., Fanning, K.J., Kusters, D.H.L., Waters, M.J., and Curlewis, J.D. (2006) Mechanisms underlying the diminished sensitivity to prolactin negative feedback during lactation: reduced STAT5 signaling and up-regulation of cytokine-inducible SH2 domain-containing protein (CIS) expression in tuberoinfundibular dopaminergic neurons, *Endocrinology*, **147**, 1195–1202, doi: 10.1210/en.2005-0905.
77. Anderson, S.T., Isa, N.N.M., Barclay, J.L., Waters, M.J., and Curlewis, J.D. (2009) Maximal expression of suppressors of cytokine signaling in the rat ovary occurs in late pregnancy, *Reproduction*, **138**, 537–544, doi: 10.1530/REP-08-0425.
78. Pezet, A., Favre, H., Kelly, P.A., and Edery, M. (1999) Inhibition and restoration of prolactin signal transduction by suppressors of cytokine signaling, *J. Biol. Chem.*, **274**, 24497–24502, doi: 10.1074/jbc.274.35.24497.
79. Tomic, S., Chughtai, N., and Ali, S. (1999) SOCS-1, -2, -3: Selective targets and functions downstream of the prolactin receptor, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **158**, 45–54, doi: 10.1016/S0303-7207(99)00180-X.
80. Sutherland, K.D., Lindeman, G.J., and Visvader, J.E. (2007) Knocking off SOCS genes in the mammary gland, *Cell Cycle*, **6**, 799–803, doi: 10.4161/cc.6.7.4037.
81. Maruoka, M., Kedashiro, S., Ueda, Y., Mizutani, K., and Takai, Y. (2017) Nectin-4 co-stimulates the prolactin receptor by interacting with SOCS1 and inhibiting its activity on the JAK2-STAT5a signaling pathway, *J. Biol. Chem.*, **292**, 6895–6909, doi: 10.1074/jbc.M116.769091.
82. Harris, J., Stanford, P.M., Sutherland, K., Oakes, S.R., Naylor, M.J., Robertson, F.G., and Ormandy, C.J. (2006) Socs2 and elf5 mediate prolactin-induced mammary gland development, *Mol. Endocrinol.*, **20**, 1177–1187, doi: 10.1210/me.2005-0473.
83. Shuai, K., and Liu, B. (2005) Regulation of gene-activation pathways by PIAS proteins in the immune system, *Nat. Rev. Immunol.*, **5**, 593–605, doi: 10.1038/nri1667.
84. Shuai, K. (2006) Regulation of cytokine signaling pathways by PIAS proteins, *Cell Res.*, **16**, 196–202, doi: 10.1038/sj.cr.7310027.
85. Schmidt, D., and Muller, S. (2003) PIAS/SUMO: New partners in transcriptional regulation, *Cell. Mol. Life Sci.*, **60**, 2561–2574, doi: 10.1007/s00018-003-3129-1.
86. McHale, K., Tomaszewski, J. E., Puthiyaveetil, R., Livolsi, V.A., and Clevenger, C.V. (2008) Altered expression of prolactin receptor-associated signaling proteins in human breast carcinoma, *Modern Pathol.*, **21**, 565–571, doi: 10.1038/modpathol.2008.7.
87. Dagvadorj, A., Tan, S. H., Liao, Z., Xie, J., Nurmi, M., Alanen, K., and Nevalainen, M.T. (2010) N-terminal truncation of STAT5a/b circumvents PIAS3-mediated transcriptional inhibition of STAT5 in prostate cancer cells, *Intern. J. Biochem. Cell Biol.*, **42**, 2037–2046, doi: 10.1016/j.biocel.2010.09.008.
88. Jones, M.C., Fusi, L., Higham, J.H., Abdel-Hafiz, H., Horwitz, K.B., Lam, E.W.-F., and Brosens, J.J. (2006) Regulation of the SUMO pathway sensitizes differentiating human endometrial stromal cells to progesterone, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **103**, 16272–16277, doi: 10.1073/pnas.0603002103.
89. Aleksandrova, M.I., Sirotnina, N.S., and Smirnova, O.V. (2015) Possible recovery of manifestation of prolactin receptor and some of its target proteins in the liver and kidney cells of female rats after relief of cholestasis complicated and not complicated by hyperprolactinemia, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **159**, 361–364, doi: 10.1007/s10517-015-2963-0.
90. Aleksandrova, M.I., Kushnareva, N.S., and Smirnova, O.V. (2012) Prolactin receptor expression in kidney tissue of female rats with cholestasis: the effect of hyperprolactinemia, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **153**, 448–451.
91. Bogorad, R.L., Ostroukhova, T.Y., Orlova, A.N., Rubtsov, P.M., and Smirnova, O.V. (2006) Long isoform of prolactin receptor predominates in rat intrahepatic bile ducts and further increases under obstructive cholestasis, *J. Endocrinol.*, **188**, 345–354, doi: 10.1677/joe.1.06468.
92. Bogorad, R.L., Ostroukhova, T.Y., Orlova, A.N., Rubtsov, P.M., and Smirnova, O.V. (2006) Prolactin receptors in rat cholangiocytes: regulation of level and isoform ratio is sex independent, *Biochemistry (Moscow)*, **71**, 178–184, doi: 10.1134/S0006297906020106.
93. Ouhtit, A., Morel, G., and Kelly, P.A. (1993) Visualization of gene expression of short and long forms of prolactin receptor in the rat, *Endocrinology*, **133**, 135–144, doi: 10.1210/endo.133.1.8319561.
94. Nagano, M., and Kelly, P.A. (1994) Tissue distribution and regulation of rat prolactin receptor gene expression. Quantitative analysis by polymerase chain reaction, *J. Biol. Chem.*, **269**, 13337–13345.
95. Gerhold, D., Bagchi, A., Lu, M., Figueroa, D., Keenan, K., Holder, D., and Alonso-Galicia, M. (2007) Androgens drive divergent responses to salt stress in male versus female rat kidneys, *Genomics*, **89**, 731–744, doi: 10.1016/j.ygeno.2007.01.009.
96. Gorvin, C.M. (2015) The prolactin receptor: diverse and emerging roles in pathophysiology, *J. Clin. Transl. Endocrinol.*, **2**, 85–91, doi: 10.1016/J.JCTE.2015.05.001.
97. Newey, P.J., Gorvin, C.M., Cleland, S.J., Willberg, C.B., Bridge, M., Azharuddin, M., and Thakker, R.V. (2013) Mutant prolactin receptor and familial hyperprolactinemia, *New Engl. J. Med.*, 1–9, doi: 10.1056/NEJMoal-307557.
98. Grosdemouge, I., Bachelot, A., Lucas, A., Baran, N., Kelly, P.A., and Binart, N. (2003) Effects of deletion of the prolactin receptor on ovarian gene expression, *Reprod. Biol. Endocrinol.*, **1**, 1–16, doi: 10.1186/1477-7827-1-12.
99. Tan, D., Chen, K.H.E., Khoo, T., and Walker, A.M. (2011) Prolactin increases survival and migration of ovarian cancer cells: Importance of prolactin receptor type and therapeutic potential of S179D and G129R receptor antagonists, *Cancer Lett.*, **310**, 101–108, doi: 10.1016/j.canlet.2011.06.014.
100. Ueda, E.K., Huang, K., Nguyen, V., Ferreira, M., Andre, S., and Walker, A.M. (2011) Distribution of prolactin receptors suggests an intraductal role for prolactin in the mouse and human mammary gland, a finding supported by analysis of signaling in polarized monolayer cultures, *Cell Tissue Res.*, **346**, 175–189, doi: 10.1007/s00441-011-1253-z.
101. Smirnova, O.V., and Bogorad, R.L. (2004) Short forms of membrane receptors: generation and role in hormonal signal transduction, *Biochemistry (Moscow)*, **69**, 351–363.
102. Gill, S., Peston, D., Vonderhaar, B.K., and Shousha, S. (2001) Expression of prolactin receptors in normal, benign, and malignant breast tissue: an immunohistological study, *J. Clin. Pathol.*, **54**, 956–960.
103. Laud, K., Gourdou, I., Belair, L., Peyrat, J.P., and Djiane, J. (2000) Characterization and modulation of a prolactin receptor mRNA isoform in normal and tumoral human breast tissues, *Inter. J. Cancer*, **85**, 771–776.
104. Touraine, P., Martini, J.F., Zafrani, B., Durand, J.C., Labaille, F., Malet, C., and Kelly, P.A. (1998) Increased expression of prolactin receptor gene assessed by quantitative polymerase chain reaction in human breast tumors ver-

- sus normal breast tissues, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **83**, 667–674, doi: 10.1210/jcem.83.2.4564.
105. Tan, D., Johnson, D.A., Wu, W., Zeng, L., Chen, Y.H., Chen, W.Y., and Walker, A.M. (2005) Unmodified prolactin (PRL) and S179D PRL-initiated bioluminescence resonance energy transfer between homo- and hetero-pairs of long and short human PRL receptors in living human cells, *Mol. Endocrinol.*, **19**, 1291–303, doi: 10.1210/me.2004-0304.
  106. Meng, J., Chon-Hwa, T.-M., and Dufau, M.L. (2004) Human prolactin receptor variants in breast cancer: low ratio of short forms to the long-form human prolactin receptor associated with mammary carcinoma, *Cancer Res.*, **64**, 5677–5682.
  107. Oakes, S.R., Robertson, F.G., Kench, J.G., Gardiner-Garden, M., Wand, M.P., Green, J.E., and Ormandy, C.J. (2007) Loss of mammary epithelial prolactin receptor delays tumor formation by reducing cell proliferation in low-grade preinvasive lesions, *Oncogene*, **26**, 543–553, doi: 10.1038/sj.onc.1209838.
  108. Morammazi, S., Masoudi, A., Torshizi, R.V., and Pakdel, A. (2016) Changes in the expression of the prolactin receptor (*PRLR*) gene in different physiological stages in the mammary gland of the iranian adani goat, *Reprod. Dom. Anim.*, **51**, 585–590, doi: 10.1111/rda.12723.
  109. Rojas-Duran, F., Pascual-Mathey, L.I., Serrano, K., Aranda-Abreu, G.E., Manzo, J., Soto-Cid, A.H., and Hernandez, M.E. (2015) Correlation of prolactin levels and PRL-receptor expression with STAT and MAPK cell signaling in the prostate of long-term sexually active rats, *Physiol. Behav.*, **138**, 188–192, doi: 10.1016/j.physbeh.2014.10.036.
  110. Doherty, P.C., Wu, D.E., and Matt, K.S. (1990) Hyperprolactinemia preferentially inhibits erectile function in adrenalectomized male rats, *Life Sci.*, **47**, 141–148.
  111. Rehman, J., Christ, G., Alyskeywicz, M., Kerr, E., and Melman, A. (2000) Experimental hyperprolactinemia in a rat model: alteration in centrally mediated neuroerectile mechanisms, *Inter. J. Impot. Res.*, **12**, 23–32.
  112. Wagner, K.U., and Rui, H. (2008) JAK2/STAT5 signaling in mammogenesis, breast cancer initiation and progression, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **13**, 93–103, doi: 10.1007/s10911-008-9062-z.
  113. Ascencio-Cedillo, R., Lopez-Pulido, E.I., Munoz-Valle, J.F., Villegas-Sepulveda, N., Del Toro-Arreola, S., Estrada-Chavez, C., and Pereira-Suarez, A.L. (2015) Prolactin and prolactin receptor expression in cervical intraepithelial neoplasia and cancer, *Pathol. Oncol. Res.*, **21**, 241–246, doi: 10.1007/s12253-014-9814-6.
  114. Lopez-Pulido, E.I., Munoz-Valle, J.F., Del Toro-Arreola, S., Jave-Suarez, L.F., Bueno-Topete, M.R., Estrada-Chavez, C., and Pereira-Suarez, A.L. (2013) High expression of prolactin receptor is associated with cell survival in cervical cancer cells, *Cancer Cell. Intern.*, **13**, 103–112, doi: 10.1186/1475-2867-13-103.
  115. Amaral, V.C., Maciel, G.A.R., Carvalho, K.C., Marcondes, R.R., Soares, J.M., and Baracat, E.C. (2013) Metoclopramide-induced hyperprolactinemia effects on the pituitary and uterine prolactin receptor expression, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **189**, 105–110, doi: 10.1016/j.ygcen.2013.04.037.
  116. Lupicka, M., Socha, B.M., Szczepanska, A.A., and Korzekwa, A.J. (2017) Prolactin role in the bovine uterus during adenomyosis, *Dom. Anim. Endocrin.*, **58**, 1–13, doi: 10.1016/j.domaniend.2016.07.003.
  117. Trott, J.F., Horigan, K.C., Gloviczki, J.M., Costa, K.M., Freking, B.A., Farmer, C., and Hovey, R.C. (2009) Tissue-specific regulation of porcine prolactin receptor expression by estrogen, progesterone, and prolactin, *J. Endocrinol.*, **202**, 153–166, doi: 10.1677/JOE-08-0486.
  118. Moreno-Carranza, B., Goya-Arce, M., Vega, C., Adan, N., Triebel, J., Lopez-Barrera, F., and Clapp, C. (2013) Prolactin promotes normal liver growth, survival, and regeneration in rodents: effects on hepatic IL-6, suppressor of cytokine signaling-3, and angiogenesis, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **305**, 720–726, doi: 10.1152/ajpregu.00282.2013.
  119. Bogorad, R.L., Smyslova, V.S., Smirnov, A.N., Rubtsov, P.M., and Smirnova, O.V. (2002) The ratio of prolactin receptor isoforms in rat hepatocytes: the effect of obstructive cholestasis, *Mol. Biol.*, **36**, 91–93.
  120. Orlova, A.N., Smirnov, A.N., and Smirnova, O.V. (1999) The role of prolactin in the functional regulation of liver cells after the common bile duct ligation, *Biull. Eksperim. Biol. Med.*, **127**, 573–575.
  121. Smirnova, O.V., Petrashchuk, O.M., and Smirnov, A.N. (1998) Induction of expression of prolactin receptors in cholangiocytes of male and female rats after ligation of the common bile duct, *Biull. Eksper. Biol. Med.*, **125**, 66–70.
  122. Hartwell, H.J., Petrosky, K.Y., Fox, J.G., Horseman, N.D., and Rogers, A.B. (2014) Prolactin prevents hepatocellular carcinoma by restricting innate immune activation of c-Myc in mice, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **111**, 11455–11460, doi: 10.1073/pnas.1404267111.
  123. Fidchenko, Y.M., Kushnareva, N.S., and Smirnova, O.V. (2014) Effect of prolactin on the water-salt balance in rat females in the model of cholestasis of pregnancy, *Bull. Exper. Biol. Med.*, **156**, 803–806.
  124. Tsuchida, Y., Kaneko, Y., Otsuka, T., Goto, K., Saito, A., Yamamoto, K., and Narita, I. (2013) Upregulation of prolactin receptor in proximal tubular cells was induced in cardiac dysfunction model mice, *Clin. Exp. Nephrol.*, **18**, 65–74, doi: 10.1007/s10157-013-0820-x.
  125. Seriwatanachai, D., Thongchote, K., Charoenphandhu, N., Pandaranandaka, J., Tudpor, K., Teerapornpuntakit, J., and Krishnamra, N. (2008) Prolactin directly enhances bone turnover by raising osteoblast-expressed receptor activator of nuclear factor κB ligand/osteoprotegerin ratio, *Bone*, **42**, 535–546, doi: 10.1016/j.bone.2007.11.008.
  126. Goffin, V., and Touraine, P. (2015) The prolactin receptor as a therapeutic target in human diseases: browsing new potential indications, *Exp. Opinion Ther. Targ.*, **19**, 1229–1244, doi: 10.1517/14728222.2015.1053209.
  127. Goffin, V., Tallet, E., Jomain, J.-B., and Kelly, P. (2007) Development of prolactin receptor antagonists: same goal, different ways, *Recent Pat. Endocr. Metab. Imm. Drug Discov.*, **1**, 41–52, doi: 10.2174/187221407779814552.
  128. Goffin, V., Kinet, S., Ferrag, F., Binart, N., Martial, J.A., and Kelly, P.A. (1996) Antagonistic properties of human prolactin analogs that show paradoxical agonistic activity in the Nb2 bioassay, *J. Biol. Chem.*, **271**, 16573–16579.
  129. Wen, Y., Zand, B., Ozpolat, B., Szczepanski, M.J., Lu, C., Yuca, E., and Sood, A.K. (2014) Antagonism of tumoral prolactin receptor promotes autophagy-related cell death, *Cell Rep.*, **7**, 488–500, doi: 10.1016/j.celrep.2014.03.009.
  130. Scotti, M.L., Langenheim, J.F., Tomblin, S., Springs, A.E.B., and Chen, W.Y. (2008) Additive effects of a prolactin receptor antagonist, G129R, and hereceptin on inhibition of HER2-overexpressing breast cancer cells, *Breast Cancer Res. Treat.*, **111**, 241–250, doi: 10.1007/s10549-007-9789-z.
  131. Agarwal, N., Machiels, J.-P., Suarez, C., Lewis, N., Higgins, M., Wisinski, K., and Elmeliyeg, M. (2016) Phase I study of the prolactin receptor antagonist LFA102 in metastatic breast and castration-resistant prostate cancer, *Oncologist*, **21**, 535–536, doi: 10.1634/theoncologist.2015-0502.
  132. Thomas, L.N., Merrimen, J., Bell, D.G., Rendon, R., Goffin, V., and Too, C.K.L. (2014) Carboxypeptidase-D is elevated in prostate cancer and its anti-apoptotic activity is abolished by combined androgen and prolactin receptor targeting, *Prostate*, **74**, 732–742, doi: 10.1002/pros.22793.

**PROLACTIN RECEPTOR ISOFORMS AS THE BASIS  
OF THE TISSUE-SPECIFIC DIVERSITY OF ITS EFFECTS  
IN NORM AND PATHOLOGY**

**P. A. Abramicheva\* and O. V. Smirnova**

*Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty,  
119991 Moscow, Russia; E-mail: abramicheva.polina@gmail.com*

Received April 6, 2018

Revised October 25, 2018

Accepted October 25, 2018

The review considers the functional and structural features of various prolactin receptor isoforms, mechanisms of activation of signaling pathways, as well as key molecular messengers in signal transmission and termination from different prolactin receptor isoforms. The dynamics of changes in the ratio of prolactin receptor isoforms as well as key mediators of signaling pathways and reception termination in various organs and tissues are analyzed. The role of this ratio and of molecular mediators in realization of normal physiological functions and in pathology development is discussed. Part of the review is devoted to the ways of therapeutic correction of prolactin signaling disturbances.

*Keywords:* prolactin, prolactin receptor isoforms, STAT proteins, SOCS and PIAS proteins, prolactin signaling, knockout of prolactin receptor