

УДК 62.018.2:017.12

## РЕЦЕПТОРНЫЕ ФУНКЦИИ СЕМАФОРИНА 4D

### Мини-обзор

© 2019 Е.М. Куклина

*«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения  
Российской академии наук» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
614081 Пермь, Россия; электронная почта: ibis\_07@mail.ru*

Поступила в редакцию 04.04.2019

После доработки 15.05.2019

Принята к публикации 01.06.2019

Семафорин 4D (Sema4D) – многофункциональная молекула, которая широко представлена в организме и играет важную роль в контроле многих физиологических и патологических процессов, включая иммунорегуляцию, нейрогенез, ангиогенез, опухолевую прогрессию. Он был впервые описан почти 30 лет назад, и с тех пор активно изучается. Однако исследования регуляторной активности Sema4D, за редким исключением, исходят из того, что семафорин – это лиганд, реализующий свои эффекты через специфические рецепторы, плексины и CD72, а основные мишени действия Sema4D в различных тканях – клетки, несущие эти рецепторы на мембране. В настоящем обзоре приведен анализ данных, указывающих на наличие альтернативного способа участия Sema4D в регуляции: этот способ предполагает функционирование мембранного семафорина в качестве рецептора, проводящего сигнал в клетку, на которой экспрессирован. Обсуждаются механизмы сигнализации через мембранный Sema4D и их вклад в Sema4D-зависимую регуляцию клеточных функций.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** мембранный Sema4D, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, НК-клетки, нейтрофилы, опухолевые клетки.

**DOI:** 10.1134/S0320972519090045

Молекула Sema4D принадлежит семейству семафоринов – сигнальных белков, контролирующих процессы аксонального наведения [1]. Будучи, преимущественно, репульсивными факторами, эти белки по системе сигнализации подобны семафору, что и определило название семейства. В отличие от других семафоринов, Sema4D был впервые описан в иммунной системе как трансмембранная молекула, экспрессируемая Т-лимфоцитами [2], и только позже отнесен к IV классу семафоринов [1, 2]. Именно с лимфоцитарным «происхождением» связано его исходное обозначение – CD100, в соответствии с номенклатурой мембранных молекул лейкоцитов. Первые исследования Sema4D были сосредоточены преимущественно на его роли в нейрогенезе [3, 4] и иммунорегуляции [5–7], однако последующие работы показали, что функции данного семафорина гораздо шире: он экспрессируется различными тканями организма и регулирует многие физиологические и патологические процессы, такие как ангиогенез [8], остеогенез [9] или неопластическая трансформация [10].

Трансмембранный Sema4D представляет собой гликопротеин массой 150 kDa. За счет протеолитического отщепления он может переходить в растворимую форму (soluble Sema4D, sSema4D) массой 120 kDa, сохраняя при этом функции мембранного аналога [5]. В реализации эффектов Sema4D участвуют несколько типов рецепторов: классические рецепторы семейства плексинов – высокоаффинный плексин V1 ( $K_d = \sim 1 \times 10^{-9}$  M) [11], плексины V2 и C1 [12, 13], а также не относящийся к плексиновому семейству низкоаффинный рецептор CD72 ( $K_d = 3 \times 10^{-7}$  M) [6, 11]. Согласно традиционным представлениям, эффекты Sema4D в иммунных тканях (в нейронах, эндотелиоцитах, опухолевых клетках) опосредуются плексинами, а в иммунной системе – CD72. При этом плексин-зависимая реализация действия Sema4D связана, как правило, с реорганизацией цитоскелета и регуляцией направленного роста аксона/дендрита [3, 4] или клеточной миграции [14], а эффекты семафорина в иммунной системе, опосредуемые CD72, задействованы в ключевых событиях адаптивного иммунного ответа: в антигенной активации В-лимфоцитов [6], в созревании дендритных клеток и в процессах примирования Т-лимфоцитов [7]. Следует отметить,

Принятые сокращения: НК-клетки – Natural killer cells, BCR – В-клеточный рецептор.

что в настоящее время присутствие плексиновых рецепторов показано и в иммунной системе [12, 15], тогда как экспрессия CD72, напротив, выявлена за ее пределами, в частности, на мембране нейронов [4], что существенно расширяет интерпретацию данных по участию Sema4D в нейро- и иммунорегуляции.

Однако функции Sema4D не ограничиваются реализацией эффектов через специфические рецепторы: в литературе имеется целый ряд данных, указывающих на наличие альтернативного способа действия семафорина – в качестве рецептора, проводящего сигнал в клетку, на которой он экспрессирован. Настоящий обзор посвящен анализу этих данных, обсуждению потенциальных механизмов сигнализации от мембранного Sema4D и их вклада в Sema4D-зависимую регуляцию клеток-мишеней.

#### **ФАКТЫ, УКАЗЫВАЮЩИЕ НА СПОСОБНОСТЬ Sema4D ФУНКЦИОНИРОВАТЬ В КАЧЕСТВЕ РЕЦЕПТОРА**

Способность мембранного Sema4D регулировать активность клетки, на которой он экспрессирован, была продемонстрирована еще в первых работах, посвященных данному семафорину – на основе исследования эффектов моноклональных антител к разным эпитопам Sema4D. Было показано, что связывание Sema4D на мембране Т-лимфоцитов с антителами вызывает интенсивную пролиферацию этих клеток на фоне субмитогенных концентраций поликлональных активаторов – 4-форбол-12-миристан-13-ацетата, антител к CD3 (компоненту Т-клеточного рецепторного комплекса) или к CD2 (адгезионной молекуле, участвующей в альтернативной активации Т-лимфоцитов) [2, 16]. Т.е. связывание семафорина на клеточной мембране обеспечивает клетке достижение порогового уровня активации, необходимо для пролиферативного ответа.

Несмотря на то что приведенные данные указывают на участие сигнала от мембранного Sema4D в активации Т-лимфоцитов, эти идеи не нашли отражения в последующих исследованиях семафорина, сосредоточенных почти исключительно на эффектах Sema4D, реализуемых через специфические рецепторы. Первой работой, обратившей внимание исследователей на способность самого семафорина функционировать в качестве рецептора, была работа Witherden et al., показавшая, что взаимодействие мембранного Sema4D, экспрессируемого резидентными  $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами кожи, с плекси-

ном В2 на мембране кератиноцитов участвует в активации самих  $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в ответ на тканевое повреждение, в частности, инициирует морфологические изменения, такие как втягивание дендритов и округление клеток, необходимые для пролиферации лимфоцитов и их миграции в сайт повреждения [13]. Более того, в работе расшифровываются и механизмы этих эффектов: показано, что связывание Sema4D на мембране эпидермальных  $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов сопровождается фосфорилированием экстраклеточно-регулируемой киназы (extracellular signal-regulated kinase, ERK), ключевого элемента каскада митоген-активируемых протеинкиназ, дефосфорилированием актин-связывающего белка кофилина и активацией  $\alpha$ 6- и  $\beta$ 4-интегринов [13], причем на фоне блокады ERK Sema4D-зависимые морфологические изменения в клетке не выявлялись [13].

Сходные эффекты были продемонстрированы и ранее для В-лимфоцитов и НК-клеток (Natural killer cells), но авторы этих работ не акцентировали внимания на альтернативном способе реализации эффектов Sema4D. Так, в экспериментах *in vitro* связывание Sema4D, экспрессируемого на мембране CD5<sup>+</sup>В-клеток, с плексином В1, представленным на линии клеток мышинового эпителия, повышало пролиферативную активность и подавляло апоптоз В-лимфоцитов [17], а блокада плексин В1/Sema4D-зависимого взаимодействия за счет введения растворимого семафорина отменяла костимуляцию [17]. Что касается НК-клеток, в их функциональную активацию также вносит вклад трансмембранный Sema4D: продукция IFN $\gamma$  и цитолитическая активность киллеров были повышены в отношении клеток-мишеней, трансфицированных CD72 и стабильно экспрессирующих его, причем эффект сопровождался фосфорилированием по сериновым остаткам белков, ассоциированных (копреципитируемых) с Sema4D [18], и отменялся предобработкой клеток-мишеней растворимым рекомбинантным семафорин [18]. А в недавней работе He et al. [19] костимуляция НК-клеток (дегрануляции/продукции IFN $\gamma$ ) показана также в ответ на связывание мембранного Sema4D киллерных клеток с плексином В1/В2 на клетках-мишенях. Эффект, как и в предыдущей работе, отменялся на фоне блокады плексиновых рецепторов растворимым семафорин [19].

Единственный тип клеток, для которого мембранный Sema4D выступает как негативный регулятор функциональной активации, – нейтрофилы: взаимодействие Sema4D нейтрофилов с плексином В2 ингибировало продукцию клетками активных форм кислорода и формирова-

ние экстраклеточных ловушек. Этот эффект выявлялся как при контакте нейтрофилов с эндотелиальными клетками, несущими плексин В2, так и в ответ на иммобилизованный рекомбинантный плексин В2 на фоне активации клеток липополисахаридом, причем в последнем случае эффект сопровождался подавлением экспрессии в нейтрофилах малой ГТФазы Rac1 (напрямую связанной с продукцией активных форм кислорода), а FMLP (formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine)-индуцированное «слушивание» семафорина с мембраны нейтрофилов частично отменяло этот эффект [20].

Сигнализация через мембранный Sema4D убедительно показана также для опухолевых клеток: связывание Sema4D, экспрессируемого клетками плоскоклеточной карциномы полости рта, с рекомбинантным растворимым плексином В1 усиливало пролиферацию опухолевых клеток и их миграцию *in vitro* и, как следствие, инвазивный рост и метастазирование опухоли *in vivo* [21]. При этом все выявленные функциональные изменения предполагали ассоциацию мембранного Sema4D с фактором Tiam1 (T lymphoma invasion and metastasis 1) и активацию малой ГТФазы Rac в опухолевых клетках [21].

Следует отметить, что имеется еще целый ряд работ по Sema4D-зависимой регуляции иммунных клеток, в которых заявляется о реализации сигнала через мембранный семафорин, однако критический анализ данных, представленных в этих работах, показывает, что этот механизм неочевиден. Так в работе Li et al. [22] вывод о реализации эффектов через мембранный Sema4D делается исключительно на основании корреляции между экспрессией Sema4D на мембране CD8<sup>+</sup>T-лимфоцитов и уровнем ключевых продуктов этих клеток, гранулярных белков (перфорина/гранзима В) и цитокинов (IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$ ), а также цитотоксической активности при кокультивировании Т-лимфоцитов с вирус-инфицированными клетками [22]. Между тем эффекты семафорина в данной системе вполне могут опосредоваться и рецепторами для Sema4D, CD72 и плексином В1, также присутствующими на мембране Т-лимфоцитов [15, 23, 24], причем активация этих рецепторов может инициироваться как мембранным Sema4D в ходе контактного взаимодействия, так и его растворимым аналогом, который протеолитически отщепляется от мембраны при активации Т-лимфоцитов. Те же соображения можно отнести еще к ряду работ, авторы которых строят выводы о костимулирующей функции мембранного Sema4D исключительно на основе корреляций между экспрессией семафорина на мембране CD8<sup>+</sup>T- [25, 26] или В-лимфоцитов [27] и

функциональным ответом этих клеток. В работе иного плана, также обсуждающей возможность реализации эффектов через мембранный семафорин, показано подавление пролиферативного ответа CD3<sup>+</sup>T-лимфоцитов на поликлональную активацию (анти-CD3/CD28) рядом коммерческих антител к Sema4D [23]. Поскольку эффекты данных антител не исследовали ни в отношении интактных клеток, ни на фоне субмитогенных концентраций активаторов, их невозможно сопоставить с эффектами, представленными в ранних работах по семафорину [2, 16], равно как и определить, в каком качестве выступают эти антитела – агонистов или антагонистов. Аналогичный эффект вызывала блокада семафоринового рецептора CD72 и, учитывая показанное в той же работе присутствие CD72 на мембране Т-лимфоцитов и усиление его экспрессии в ответ на активацию клеток [23], эндогенный Sema4D может действовать в данной системе не только как рецептор, но и как лиганд, реализующий свои эффекты через CD72.

Строго говоря, в свете новых данных об экспрессии лимфоцитами не только самого Sema4D, но и семафориновых рецепторов, многие из приведенных выше Sema4D-зависимых эффектов в лимфоцитах можно объяснить их реализацией не через мембранный семафорин, а через специфические рецепторы для семафорина – CD72 и плексины. Фактически на сегодняшний день имеется только шесть работ, продемонстрировавших непосредственную сигнализацию через мембранный Sema4D, – в эпидермальных  $\gamma\delta$ T-лимфоцитах [13], CD5<sup>+</sup>В-лимфоцитах [17], NK-клетках [18, 19], нейтрофилах [20], а также в опухолевых клетках [21]. В основном эти эффекты выявлены в клетках иммунной системы, причем для всех клеток, за исключением нейтрофилов, сигналы от мембранного семафорина являются стимулирующими или костимулирующими (таблица). Следует отметить, что лимфоцитарные субпопуляции, для которых показаны рецепторные функции Sema4D ( $\gamma\delta$ T- и CD5<sup>+</sup>В-клетки), – это минорные субпопуляции с ограниченным антигенраспознающим репертуаром и характерными особенностями локализации, активации и функционирования. Кроме того, морфологические изменения, опосредуемые мембранным семафоринном в эпидермальных  $\gamma\delta$ T-лимфоцитах, а именно втягивание дендритных отростков, характерных для резидентных Т-клеток, и приобретение округлой формы [13] нетипичны для циркулирующих  $\alpha\beta$ T-лимфоцитов. Поэтому для основных Т- и В-клеточных популяций вопрос о наличии аналогичных эффектов остается открытым.

Рецепторные функции Sema4D в иммунной системе

Тип клеток, несущих мембранный Sema4D	Лиганд	Эффект, инициируемый связыванием мембранного Sema4D с лигандом	Ссылки
$\gamma\delta$ T-лимфоциты	плексин В2	индукция морфологических изменений – втягивания дендритов, округления клеток	[13]
CD5 <sup>+</sup> В-лимфоциты	плексин В1	повышение пролиферативной активности, подавление апоптоза	[17]
NK-клетки	CD72	усиление цитолитической активности/продукции IFN $\gamma$	[18]
	плексины В1/В2	повышение дегрануляции/продукции IFN $\gamma$	[19]
Нейтрофилы	плексин В2	ингибирование продукции активных форм кислорода и формирования нейтрофильных экстраклеточных ловушек	[20]

### ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СИГНАЛИЗАЦИИ ЧЕРЕЗ МЕМБРАННЫЙ Sema4D

Теоретически, способность семафорина выступать в качестве рецептора может обеспечиваться как минимум двумя механизмами, и оба механизма были показаны еще «первоисследователями» данной молекулы. Во-первых, в цитоплазматическом регионе Sema4D присутствуют сайты серинового/треонинового фосфорилирования, что позволяет семафору связывать соответствующие протеинкиназы и вовлекать их во внутриклеточную сигнализацию: киназная активность преципитатов Sema4D выявлена как в отношении экзогенного субстрата серинового фосфорилирования, основного белка миелина, так и в отношении самого семафорина. Показано фосфорилирование цитоплазматического домена Sema4D по сериновым остаткам и, в существенно меньшей степени, по треонину (но не по тирозину) в Т-лимфоцитах в ответ на поликлональную активацию [28]. Существование этого механизма подтверждается и данными по NK-клеткам, в которых связывание мембранного семафорина с лигандом, CD72, вызывало фосфорилирование по сериновым остаткам белков, ассоциированных с Sema4D [18].

Во-вторых, существенный вклад в реализацию сигнала от мембранного семафорина вносит, по-видимому, тирозиновая фосфатаза CD45 [29, 30]. Показано, что Sema4D на мембране Т-лимфоцитов ассоциирован с CD45, причем эта ассоциация усиливается в ходе активации клеток и имеет функциональные последствия. Она продемонстрирована с помощью коиммунопреципитации и регистрации фосфатазной активности CD45 в ответ на связывание мембранного Sema4D соответствующими моноклональными антителами [29]. Аналогичное взаимодействие Sema4D с CD45 показано и для В-лимфоцитов,

также на основе их коиммунопреципитации и анализа фосфатазной активности преципитатов, причем истощение Sema4D-преципитатов по CD45 приводило к почти полной потере их фосфатазной активности [30]. Ассоциация Sema4D с CD45 выявлена в В-лимфоцитах периферической крови, в тонзиллярных В-клетках, а также в В-клеточных линиях, фенотипически соответствующих разным стадиям дифференцировки: от пре-В-клеток до пре-плазматических клеток, но не в терминально дифференцированных В-лимфоцитах [30]. Не исключено, что вклад в Sema4D-зависимую активацию тирозинфосфатазы CD45 вносят упомянутые выше сериновые протеинкиназы, ассоциированные с цитоплазматическим доменом семафорина: известно, что фосфорилирование CD45 по сериновым остаткам усиливает ее фосфатазную активность [31]. В связи с этим интересно отметить, что эффекты специфических моноклональных антител к Sema4D и CD45 в отношении CD2-индуцированной пролиферации мононуклеарных клеток периферической крови были аналогичными [28].

Тирозиновая фосфатаза CD45 играет ключевую роль в антиген-зависимой активации лимфоцитов [32]. Ее основными субстратами в этих клетках служат киназы Src-семейства – Lck (в меньшей степени – Fyn) в Т-клетках и Lyn в В-лимфоцитах. Последовательно дефосфорилируя по тирозину негативные и позитивные регуляторные сайты этих киназ, CD45 обеспечивает их адекватную активацию [33]. Активированные Lck/Lyn, в свою очередь, фосфорилируют ключевые элементы антигензависимого сигнала лимфоцитов: цепи рецепторного комплекса Т-/В-лимфоцитов, киназу ZAP-70 и целый ряд других субстратов – Cbl, Cbp/PAG, цепи Ig $\alpha$ / $\beta$ , FcR $\gamma$ , CD19, CD22 (уровень фосфорилирования всех этих молекул зависит, хотя и не напрямую, от фосфатазной активности CD45) [34, 35]. На-

ряду с Src-киназами субстратом CD45 являются молекулы, принадлежащие семейству Янус-киназ (Janus kinases, JAK): JAK1, JAK2 и JAK3 [36].

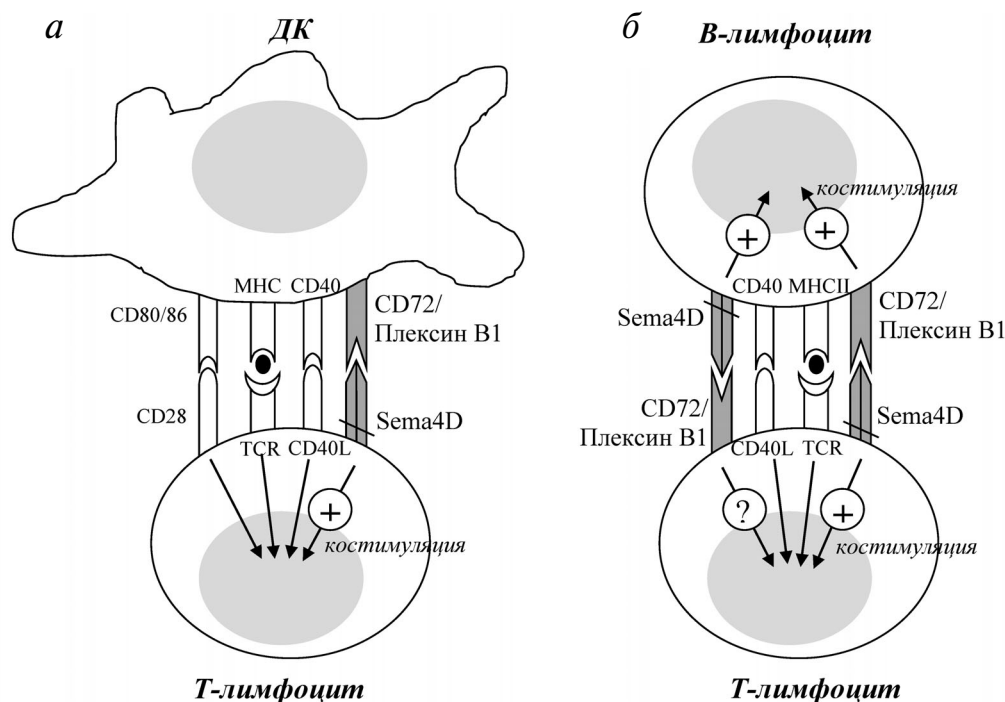
Поскольку тирозинфосфатаза CD45 непосредственно участвует в сигнализации от антигенного рецептора как в Т-, так и в В-лимфоцитах, любой фактор, способный регулировать активность самой CD45, будет неизбежно вовлечен в ответ этих клеток на антиген, в том числе мембранный Sema4D, способный при связывании лиганда инициировать активацию данной фосфатазы.

Что касается НК-клеток и нейтрофилов, для которых также продемонстрировано участие сигналов от мембранного Sema4D в функциональной активации, тирозинфосфатаза CD45 может вносить вклад в этот процесс: она экспрессируется обеими клеточными популяциями и контролирует активность как НК-клеток [37], так и нейтрофилов [38]. Однако, поскольку непосредственная связь мембранного Sema4D с CD45 в этих клетках на настоящий момент не показана, вопрос о механизмах семафорин-зависимого сигнала в этих клетках не решен. То же относится и к сигнализации от мембранного Sema4D в опухолевых клетках.

### ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ВКЛАД РЕЦЕПТОРНЫХ ФУНКЦИЙ Sema4D В РЕАЛИЗАЦИЮ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ СЕМАФОРИНА

Участие сигнала от мембранного Sema4D в активации лимфоцитов заставляет пересмотреть принятые представления о роли семафорина в ключевых событиях клеточного и гуморального иммунного ответа - примировании (первичной антигенной активации) Т-лимфоцитов и Т-зависимой В-клеточной активации.

**Рецепторные функции Sema4D в примировании Т-лимфоцитов.** Активация интактного Т-лимфоцита предполагает его взаимодействие с антиген-презентирующей, как правило, дендритной клеткой. Sema4D конститутивно представлен на мембране Т-лимфоцитов, а дендритные клетки экспрессируют лиганды для Sema4D, CD72 и плексин В1. Как следствие, в ходе активации Т-лимфоцит может наряду с основным, антигенным, сигналом (через Т-клеточный рецептор) и классическими костимулирующими сигналами (через CD28, CD154 и другие молекулы) получать дополнительный костимулирующий сигнал через мембранный Sema4D (рисунок). В экспе-



Потенциальные механизмы реализации рецепторных функций Sema4D в лимфоцитах. Сигналы, инициируемые при связывании Sema4D на мембране лимфоцитов с соответствующими лигандами (CD72 или плексинами), являются костимулирующими как для Т-, так и для В-клеток. Они могут участвовать как минимум в двух ключевых событиях иммунного ответа – примировании Т-лимфоцитов (а) и Т-зависимой В-клеточной активации (б). Пояснения в тексте. ДК – дендритная клетка, CD (clusters of differentiation) – мембранные молекулы лейкоцитов, CD40L (CD40 ligand) – лиганд для молекулы CD40, MHC (major histocompatibility complex) – молекулы главного комплекса гистосовместимости, TCR (T cell receptor) – Т-клеточный рецептор для антигена

риментах *in vivo* убедительно показана позитивная роль семафорина в процессах примирования Т-лимфоцитов [7, 39], и традиционно этот эффект связывают с Sema4D-зависимой активацией дендритных клеток через низкоаффинный CD72 [7], однако семафорин может участвовать в примировании Т-лимфоцитов не только как лиганд (через CD72), но и как рецептор, получая обратный сигнал от дендритной клетки.

**Мембранный Sema4D в Т-зависимой В-клеточной активации.** Взаимодействие активированного В-лимфоцита с Т-хелпером, необходимое для развития адекватного гуморального ответа, также находится под контролем семафорина: у животных, дефицитных по Sema4D (Sema4D<sup>-/-</sup>), снижен гуморальный иммунный ответ в отношении Т-зависимых антигенов [39], а в эксперименте *in vitro* продемонстрирована позитивная роль эндогенного Sema4D в Т-зависимой В-клеточной дифференцировке [40]. При этом имеющиеся на сегодняшний день работы, как правило, связывают реализацию этих эффектов с рецептором CD72 – он экспрессирован на В-лимфоцитах, ассоциирован с компонентом В-клеточного рецепторного (В cell receptor, BCR) комплекса CD79a и негативно регулирует BCR-зависимую активацию клеток за счет присутствия в его цитоплазматическом домене иммунорецепторных тирозиновых ингибирующих мотивов. Связывание Sema4D с CD72 блокирует ассоциацию последнего с BCR, давая возможность В-клетке активироваться в ответ на антиген [5, 6], то есть действие Sema4D через CD72 является костимулирующим для В-лимфоцита и может объяснить описанные выше эффекты семафорина в этих клетках, регистрируемые *in vivo* и *in vitro*. Однако данные Granziero et al., согласно которым связывание Sema4D на мембране CD5<sup>+</sup>В-лимфоцитов усиливает В-клеточную активацию [17], свидетельствуют о том, что сигнализация через мембранный семафорин также, по-видимому, вносит вклад в ответ В-лимфоцита на антиген. Лигандами для семафорина в данном случае могут выступать CD72 и плексин В1: они присутствуют на мембране Т-лимфоцитов и усиливают экспрессию при активации [15, 23] (рисунок). В свою очередь, В-лимфоцит, также экспрессирующий CD72 и плексин В1, в ходе контакта с Т-хелпером может одновременно инициировать активацию Sema4D на мембране Т-клетки (рисунок), усиливая синтез цитокинов, необходимых для терминальной дифференцировки В-лимфоцита.

Наряду с этим и Т-, и В-лимфоциты могут получать костимулирующие сигналы через мембранный Sema4D в ходе вторичной актива-

ции при контакте с неиммунными клетками, такими как кератиноциты или эндотелиальные клетки, от плексинов, широко представленных в этих тканях.

## ПЕРСПЕКТИВЫ

Несмотря на то что сам факт наличия рецепторной функции у трансмембранного Sema4D убедительно доказан, ключевые вопросы, связанные с «альтернативным» аспектом действия семафорина, остаются открытыми: во-первых, каковы механизмы реализации сигнала с мембранного семафорина, в частности, уровень фосфорилирования непосредственных субстратов CD45, активация дистальных элементов TCR-/BCR-зависимой сигнальной трансдукции, а также связь этих процессов с основными функциями лимфоцитов; во-вторых, имеют ли место эти механизмы в основных лимфоцитарных популяциях, а не в минорных, для которых они на сегодняшний день показаны; в-третьих, может ли трансмембранный Sema4D служить универсальным эндогенным регулятором фосфатазы CD45, облигатно участвующим в ответе лимфоцита на антиген; и наконец в-четвертых, способен ли семафорин функционировать в качестве рецептора в неиммунных тканях. Решение этих вопросов важно не только в фундаментальном плане, но и в прикладном: будучи многофункциональным регулятором, Sema4D контролирует не только физиологические, но и многие патологические процессы, и в настоящее время рассматривается как перспективная мишень в терапии целого ряда заболеваний, прежде всего онкологических [10], а нейтрализующие антитела к Sema4D, введение которых предусмотрено такой терапией, будут блокировать не только растворимый, но и мембранный семафорин, что важно учитывать для эффективного применения такой терапии.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-015-00379) и в рамках государственного задания № 01201353248.

**Конфликт интересов.** Конфликт интересов в финансовой или какой-либо иной сфере отсутствует.

**Соблюдение этических стандартов.** Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Semaphorin Nomenclature Committee. Unified nomenclature for the semaphorins/collapsins (1999) *Cell*, **97**, 551–552.
2. Bougeret, C., Mansur, I.G., Dastot, H., Schmid, M., Mahouy, G., Bensussan, A., and Boumsell, L. (1992) Increased surface expression of a newly identified 150-kDa dimer early after human T lymphocyte activation, *J. Immunol.*, **148**, 318–323.
3. Swiercz, J.M., Kuner, R., Behrens, J., and Offermanns, S. (2002) Plexin-B1 directly interacts with PDZ-RhoGEF/LARG to regulate RhoA and growth cone morphology, *Neuron*, **35**, 51–63.
4. Moreau-Fauvarque, C., Kumanogoh, A., Camand, E., Jaillard, C., Barbin G., Boquet, I., Love, C., Jones, E.Y., Kikutani, H., Lubetzki, C., Dusart, I., and Chedotal, A. (2003) The transmembrane semaphorin Sema4D/CD100, an inhibitor of axonal growth, is expressed on oligodendrocytes and upregulated after CNS lesion, *J. Neurosci.*, **23**, 9229–9239.
5. Wang, X., Kumanogoh, A., Watanabe, C., Shi, W., Yoshida, K., and Kikutani, H. (2001) Functional soluble CD100/Sema4D released from activated lymphocytes: possible role in normal and pathologic immune responses, *Blood*, **97**, 3498–3504.
6. Kumanogoh, A., Watanabe, C., Lee, I., Wang, X., Shi, W., Araki, H., Hirata, H., Iwahori, K., Uchida, J., Yasui, T., Matsumoto, M., Yoshida, K., Yakura, H., Pan, C., Parnes, J.R., and Kikutani, H. (2000) Identification of CD72 as a lymphocyte receptor for the class IV semaphorin CD100: a novel mechanism for regulating B cell signaling, *Immunity*, **13**, 621–631.
7. Kumanogoh, A., Suzuki, K., Ch'ng, E., Watanabe, C., Marukawa, S., Takegahara, N., Ishida, I., Sato, T., Habu, S., Yoshida, K., Shi, W., and Kikutani, H. (2002) Requirement for the lymphocyte semaphorin, CD100, in the induction of antigen-specific T cells and the maturation of dendritic cells, *J. Immunol.*, **169**, 1175–1181.
8. Conrotto, P., Valdembrì, D., Corso, S., Serini, G., Tamagnone, L., Comoglio, P.M., Bussolino, F., and Giordano, S. (2005) Sema4D induces angiogenesis through Met recruitment by Plexin B1, *Blood*, **105**, 4321–4329.
9. Negishi-Koga, T., Shinohara, M., Komatsu, N., Bito, H., Kodama, T., Friedel, H., and Takayanagi, H. (2011) Suppression of bone formation by osteoclastic expression of semaphorin 4D, *Nat. Med.*, **17**, 1473–1480, doi: 10.1038/nm.2489.
10. Evans, E., Jonason, S., Bussler, H., Torno, S., Veeraghavan, J., Reilly, C., Doherty, A., Seils, J., Winter, A., Mallow, C., Kirk, R., Howell, A., Giralico, S., Scrivens, M., Klimatcheva, K., Fisher, L., Bowers, J., Paris, M., Smith, S., and Zauderer M. (2015) Antibody blockade of semaphorin 4D promotes immune infiltration into tumor and enhances response to other immunomodulatory therapies, *Cancer Immunol. Res.*, **3**, 689–701, doi: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0171.
11. Tamagnone, L., Artigiani, S., Chen, H., He, Z., Ming, G.I., Song, H., Chedotal, A., Winberg, M.L., Goodman, C.S., Poo, M., Tessier-Lavigne, M., and Comoglio, P.M. (1999) Plexins are a large family of receptors for transmembrane, secreted, and GPI-anchored semaphorins in vertebrates, *Cell*, **99**, 71–80.
12. Chabbert-de Ponnat, I., Marie-Cardine, A., Pasterkamp, J., Schiavon, V., Tamagnone, L., Thomasset, N., Bensussan, A., and Boumsell, L. (2005) Soluble CD100 functions on human monocytes and immature dendritic cells require plexin C1 and plexin B1, respectively, *Int. Immunol.*, **17**, 439–447.
13. Witherden, A., Watanabe, M., Garijo, O., Rieder, E., Sarkisyan, G., Cronin, J., Verdino, P., Wilson, A., Kumanogoh, A., Kikutani, H., Teyton, L., Fischer, H., and Havran, L. (2012) The CD100 receptor interacts with its plexin B2 ligand to regulate epidermal  $\gamma\delta$  T cell function, *Immunity*, **37**, 314–325, doi: 10.1016/j.immuni.2012.05.026.
14. Giacobini, P., Messina, A., Morello, F., Ferraris, N., Corso, S., Penachioni, J., Giordano, S., Tamagnone, L., and Fasolo, A. (2008) Semaphorin 4D regulates gonadotropin hormone-releasing hormone-1 neuronal migration through PlexinB1-Met complex, *J. Cell Biol.*, **183**, 555–566.
15. Куклина Е.М., Некрасова И.В. (2017) Новые аспекты Sema4D-зависимого контроля активации лимфоцитов, *Доклады Академии наук*, **473**, 105–109.
16. Herold, C., Bismuth, G., Bensussan, A., and Boumsell, L. (1995) Activation signals are delivered through two distinct epitopes of CD100, a unique 150 kDa human lymphocyte surface structure previously defined by BB18 mAb, *Int. Immunol.*, **7**, 1–8.
17. Granziero, L., Circosta, P., Scielzo, C., Frisaldi, E., Stella, S., Geuna, M., Giordano, S., Ghia, P., and Caligaris-Cappio, F. (2003) CD100/Plexin-B1 interactions sustain proliferation and survival of normal and leukemic CD5<sup>+</sup> B lymphocytes, *Blood*, **101**, 1962–1969.
18. Mizrahi, S., Markel, G., Porgador, A., Bushkin, Y., and Mandelboim, O. (2007) CD100 on NK cells enhance IFN $\gamma$  secretion and killing of target cells expressing CD72, *PLoS One*, **2**, e818.
19. He, Y., Guo, Y., Fan, C., Lei, Y., Zhou, Y., Zhang, M., Ye, C., Ji, G., Ma, L., Lian, J., Moorman, J.P., Yao, Z.Q., Wang, J., Hao, C., Zhang, Y., and Jia, Z. (2017) Interferon- $\alpha$ -enhanced CD100/plexin-B1/B2 interactions promote natural killer cell functions in patients with chronic hepatitis C virus infection, *Front. Immunol.*, **8**, 1435, doi: 10.3389/fimmu.2017.01435.
20. Nishide, M., Nojima, S., Ito, D., Takamatsu, H., Koyama, S., Kang, S., Kimura, T., Morimoto, K., Hosokawa, T., Hayama, Y., Kinehara, Y., Kato, Y., Nakatani, T., Nakanishi, Y., Tsuda, T., Park, J.H., Hirano, T., Shima, Y., Narazaki, M., Morii, E., and Kumanogoh, A. (2017) Semaphorin 4D inhibits neutrophil activation and is involved in the pathogenesis of neutrophil-mediated autoimmune vasculitis, *Ann. Rheum. Dis.*, **76**, 1440–1448, doi: 10.1136/annrheumdis-2016-210706.
21. Zhou, H., Kann, M.G., Mallory, E.K., Yang, Y.H., Bugshan, A., Binmadi, N.O., and Basile, J.R. (2017) Recruitment of Tiam1 to semaphorin 4D activates Rac and enhances proliferation, invasion, and metastasis in oral squamous cell carcinoma, *Neoplasia*, **19**, 65–74, doi: 10.1016/j.neo.2016.12.004.
22. Li, B.J., He, Y., Zhang, Y., Guo, Y.H., Zhou, Y., Zhang, P.X., Wang, W., Zhao, J.R., Li, J.G., Zuo, W.Z., Fan, C., and Jia, Z.S. (2017) Interferon- $\alpha$ -induced CD100 on naive CD8<sup>+</sup> T cells enhances antiviral responses to hepatitis C infection through CD72 signal transduction, *J. Int. Med. Res.*, **45**, 89–100, doi: 10.1177/0300060516676136.
23. Jiang, X., Bjorkstrom, N.K., and Melum, E. (2017) Intact CD100-CD72 Interaction necessary for TCR-induced T cell proliferation, *Front. Immunol.*, **8**, 765, doi: 10.3389/fimmu.2017.00765.
24. Correa-Rocha, R., Lopez-Abente, J., Gutierrez, C., Perez-Fernandez, V.A., Prieto-Sanchez, A., Moreno-Guillen, S., Munoz-Fernandez, M.A., and Pion, M. (2018) CD72/CD100 and PD-1/PD-L1 markers are increased on T and B cells in HIV-1<sup>+</sup> viremic individuals,

- and CD72/CD100 axis is correlated with T-cell exhaustion, *PLoS One*, **13**, e0203419, doi: 10.1371/journal.pone.0203419.
25. Eriksson, E., Jeffrey, M., Emily H., Batista, D., Holditch, J., Keh, E., Norris, J., Keating, M., Deeks, G., Hunt, P., Martin, N., Rosenberg, G., Hecht, M., and Nixon, D. (2012) Expansion of CD8<sup>+</sup> T cells lacking Sema4D/CD100 during HIV-1 infection identifies a subset of T cells with decreased functional capacity, *Blood*, **119**, 745–755, doi: 10.1182/blood-2010-12-324848.
  26. Liu, B., Ma, Y., Zhang, Y., Zhang, C., Yi, J., Zhuang, R., Yu, H., Yang, A., Zhang, Y., and Jin, B. (2015) CD8low CD100<sup>-</sup> T cells identify a novel CD8 T cell subset associated with viral control during human Hantaan virus infection, *J. Virol.*, **89**, 11834–11844, doi: 10.1128/JVI.01610-15.
  27. He, Y., Guo, Y., Zhou, Y., Zhang, Y., Fan, C., Ji, G., Wang, Y., Ma, Z., Lian, J., Hao, C., Yao, Q., and Jia, Z. (2014) CD100 up-regulation induced by interferon- $\alpha$  on B cells is related to hepatitis C virus infection, *PLoS One*, **9**, e113338, doi: 10.1371/journal.pone.0113338.
  28. Elhabazi, A., Lang, V., Herold, C., Freeman, G.J., Bensussan, A., Boumsell, L., and Bismuth, G. (1997) The human semaphorin-like leukocyte cell surface molecule CD100 associates with a serine kinase activity, *J. Biol. Chem.*, **272**, 23515–23520.
  29. Herold, C., Elhabazi, A., Bismuth, G., Bensussan, A., and Boumsell, L. (1996) CD100 is associated with CD45 at the surface of human T lymphocytes. Role in T cell homotypic adhesion, *J. Immunol.*, **157**, 5262–5268.
  30. Billard, C., Delaire, S., Raffoux, E., Bensussan, A., and Boumsell, L. (2000) Switch in the protein tyrosine phosphatase associated with human CD100 semaphorin at terminal B-cell differentiation stage, *Blood*, **95**, 965–972.
  31. Stover, D.R., and Walsh, K.A. (1994) Protein-tyrosine phosphatase activity of CD45 is activated by sequential phosphorylation by two kinases, *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 5523–5532.
  32. Saunders, A.E., and Johnson, P. (2010) Modulation of immune cell signalling by the leukocyte common tyrosine phosphatase, CD45, *Cell Signal.*, **22**, 339–348, doi: 10.1016/j.cellsig.2009.10.003.
  33. Simeoni, L. (2017) Lck activation: puzzling the pieces together, *Oncotarget*, **8**, 102761–102762, doi: 10.18632/oncotarget.22309.
  34. Palacios, E.H., and Weiss, A. (2004) Function of the Src-family kinases, Lck and Fyn, in T-cell development and activation, *Oncogene*, **23**, 7990–8000.
  35. Xu, Y., Harder, K.W., Huntington, N.D., Hibbs, M.L., and Tarlinton, D.M. (2005) Lyn tyrosine kinase: accentuating the positive and the negative, *Immunity*, **22**, 9–18.
  36. Irie-Sasaki, J., Sasaki, T., Matsumoto, W., Opavsky, A., Cheng, M., Welstead, G., Griffiths, E., Krawczyk, C., Richardson, C.D., Aitken, K., Iscove, N., Koretzky, G., Johnson, P., Liu, P., Rothstein, D.M., and Penninger, J.M. (2001) CD45 is a JAK phosphatase and negatively regulates cytokine receptor signaling, *Nature*, **409**, 349–354.
  37. Shi, W., Kumanogoh, A., Watanabe, C., Uchida, J., Wang, X., Yasui, T., Yukawa, K., Ikawa, M., Okabe, M., Parnes, J.R., Yoshida, K., and Kikutani, H. (2000) The class IV semaphorin CD100 plays nonredundant roles in the immune system: defective B and T cell activation in CD100-deficient mice, *Immunity*, **13**, 633–642.
  38. Куклина Е.М., Некрасова И.В., Валиева Ю.В. (2017) Участие семафорина СЕМА4D в T-зависимой активации В-лимфоцитов, *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, **163**, 444–447.
  39. Krzywinska, E., Cornillon, A., Allende-Vega, N., Vo, D.N., Rene, C., Lu, Z.Y., Pasero, C., Olive, D., Fegueux, N., Ceballos, P., Hicheri, Y., Sobacki, M., Rossi, J.F., Cartron, G., and Villalba, M. (2016) CD45 isoform profile identifies natural killer (NK) subsets with differential activity, *PLoS One*, **11**, e0150434, doi: 10.1371/journal.pone.0150434.
  40. Yu, C., Yu, H.S., Sun, K.H., Hsieh, S.C., and Tsai, C.Y. (2002) Anti-CD45 isoform antibodies enhance phagocytosis and gene expression of IL-8 and TNF-alpha in human neutrophils by differential suppression on protein tyrosine phosphorylation and p56lck tyrosine kinase, *Clin. Exp. Immunol.*, **129**, 78–85.

## RECEPTOR FUNCTIONS OF SEMAPHORIN 4D

E. M. Kuklina

*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center,  
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 614081 Perm, Russia; E-mail: ibis\_07@mail.ru*

Received April 4, 2019

Revised May 15, 2019

Accepted June 1, 2019

Semaphorin 4D (Sema4D) is a multifunctional protein widely expressed in an organism that plays an important role in the control of many physiological and pathological processes, including immunoregulation, neurogenesis, angiogenesis, and tumor progression. It was first described almost 30 years ago and has been actively studied since then. However, with rare exceptions, all studies of the Sema4D activity proceed from the assumption that semaphorin is a ligand that acts through specific receptors (CD72 and plexins) and that the main targets of Sema4D in different tissues are cells that carry these receptors on the membrane. This review analyzes the data indicating the presence of an alternative mechanism for the regulatory activity of Sema4D that involves the functioning of membrane semaphorin as a receptor ensuring the outside-in signaling. Cell signaling pathways mediated by the membrane Sema4D and their contribution to the Sema4D-dependent regulation of cell functions are discussed.

**Keywords:** membrane Sema4D, T lymphocytes, B lymphocytes, NK cells, neutrophils, tumor cells