

Received: 2013.04.09
Accepted: 2013.07.04
Published: 2013.09.15

Rola szlaków sygnałowych TGF- β w nowotworach*

TGF- β signaling pathways in cancers

Beata Talar, Małgorzata Czyż

Zakład Biologii Molekularnej Nowotworów, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Cytokina TGF- β wpływa na wzrost i różnicowanie wielu typów komórek oraz homeostazę tkankową. Ponadto, białko to pełni główną rolę w patogenezie licznych chorób. Szlaki sygnałowe indukowane w komórkach nowotworowych przez ligandy należące do rodziny TGF- β mogą powodować hamowanie bądź progresję kancerogenezy w zależności od stadium choroby i typu nowotworu. W komórkach prawidłowych oraz we wczesnych etapach transformacji nowotworowej ligandy TGF- β pobudzają szlaki sygnałowe prowadzące do ekspresji genów zaangażowanych w hamowanie proliferacji, stymulację różnicowania się komórek, indukcję apoptozy bądź autofagii, eliminację stanów zapalnych i supresję angiogenezy. W zaawansowanym stadium choroby nowotworowej TGF- β pełni rolę promotora tworzenia przerzutów poprzez modulowanie mikrośrodowiska i macierzy zewnątrzkomórkowej, indukowanie syntezy chemokin i wyciszenie odpowiedzi immunologicznej oraz udział w przejściu nabłonkowo-mezenchymalnym (EMT). Szlaki sygnałowe stymulowane przez TGF- β oddziałują również na populację o cechach nowotworowych komórek macierzystych. Pleiotropowa funkcja TGF- β w rozwoju nowotworów jest wynikiem współdziałania tej cytokiny z różnymi szlakami sygnałowymi, m.in.: Hedgehog, WNT, PI3K-AKT, NOTCH, INF- γ , TNF- α , RAS-ERK.

Słowa kluczowe: TGF- β • SMAD • EMT • nowotworowe komórki macierzyste

Summary

TGF- β is a multifunctional cytokine involved in growth, cell differentiation and maintenance of tissue homeostasis. In addition, TGF- β plays a key role in the pathogenesis of many diseases, including cancer. TGF- β -induced signaling pathways have either tumor-suppression or tumor-promoting effects in a cancer-type-specific and stage-dependent manner. TGF- β at an early stage of cancer development induces signaling pathways involved in inhibition of cell proliferation, induction of differentiation, apoptosis or autophagy, suppression of angiogenesis and inflammation. At a later stage of disease, TGF- β exerts metastasis-promoting activity associated with epithelial-to-mesenchymal transition, modulation of cancer microenvironment and extracellular matrix components, inflammation and immune suppression. Furthermore, the TGF- β pathways play a pivotal role in the maintenance of stem cell-like properties of tumor cells. The pleiotropic action of TGF- β during tumorigenesis depends on interactions with different signaling pathways, including Hedgehog, WNT, PI3K-AKT, NOTCH, INF- γ , TNF- α , and RAS-ERK.

Key words: TGF- β • SMAD • EMT • cancer stem cells

* Artykuł opracowano w ramach projektu nr 2012/06/M/NZ2/00109 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1068073>

Word count: 3226

Tables: –

Figures: 2

References: 63

Adres autorki: mgr Beata Talar, Zakład Biologii Molekularnej Nowotworów, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Mazowiecka 6/8, 92-215 Łódź; e-mail: talar.beata@gmail.com

Wykaz skrótów: **ASO** – oligonukleotydy antysensowe; **ATF** – czynnik transkrypcyjny (activating transcription factor); **BMPs** – białka morfogenetyczne kości (bone morphogenetic protein); **CDK** – kinazy cykliczne (cyclin-dependent kinases); **DNDM** – kompleks białek demetylujących DNA (DNA demethylating complex); **EMT** – przemiana komórek nabłonkowych w mezenchymalne (epithelial to mesenchymal transition); **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa (extracellular matrix); **ERK** – kinaza aktywowana przez czynniki pozakomórkowe (extracellular signal-regulated kinase); **GDFs** – czynniki wzrostu i różnicowania (growth and differentiation factors); **HATs** – acetylotransferazy histonów (histone acetyltransferase); **HDACs** – deacetylazy histonów (histone deacetylases); **ID** – inhibitory czynników transkrypcyjnych typu bHLH (inhibitors of DNA binding 1/inhibitors of differentiation); **LAP** – peptyd związany z latencją (latency-associated peptide); **LLC** – duży kompleks latentny (large latent complex); **GRB2** – białko adaptorowe (growth factor receptor-bound 2); **JNK** – kinaza białka c-Jun (c-Jun N-terminal kinase); **LTBP** – latentne białko wiążące TGF- β (latent TGF β -binding protein); **MAPK** – kinazy aktywowane mitogenami (mitogen-activated protein kinases); **MMPs** – metaloproteiny (metalloproteinases); **PAR6** – białko odpowiedzialne za asymetryczne podziały komórkowe oraz utrzymanie polarności komórki (partitioning defective 6 homolog alpha); **PP2A** – fosfataza 2A (protein phosphatase 2A); **RAS** – rodzina kinaz protoonkogennych; **RHOA** – kinaza należąca do rodziny białek G (ras homolog gene family, member A); **SARA** – białko kotwiczące SMAD (SMAD anchor for receptor activation); **SBD** – sekwencja rozpoznawana przez białka SMAD (SMAD-binding domain); **SHCA** – białko adaptorowe (Src homology 2 domain containing); **SKI** – czynnik transkrypcyjny (Sloan-Kettering institute protoonkogen); **SKIL** – czynnik transkrypcyjny (ski-related novel oncogene); **SMAD** – przekaźniki drugiego rzędu aktywowane nadrodziną białek TGF- β (Sma and Mad related proteins); **R-SMADs (SMAD 1, -2, -3, -5 i -8)** – białka SMAD regulowane receptorem (receptor-regulated SMADs); **Co-SMAD (SMAD4)** – wspólny mediator SMAD (co-mediator SMAD); **I-SMADs (SMAD6, SMAD7)** – inhibitorowe białka SMAD (inhibitory SMADs); **SMURF1** – ligaza biorąca udział w degradacji SMAD (SMAD-specific E3 ubiquitin protein ligase 1); **SWI/SNF** – kompleks przebudowujący chromatynę (switch/sucrose nonfermentable); **S6K** – kinaza rybosomalna S6 (ribosomal protein S6 kinase); **TAK1** – kinaza 1 aktywowana przez TGF- β (TGF- β -associated kinase 1); **TGF- β** – transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor type beta); **T β R-I/ALK** – receptor TGF- β typu I (TGF- β type I receptor/activin receptor-like kinase); **T β R-II** – receptor TGF- β typu II (TGF- β type II receptor); **T β R-III** – receptor TGF- β typu III (TGF- β type III receptor); **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworów α (tumor necrosis factor α); **WNT** – białko sekrecyjne typu wingless (wingless-type protein).

WSTĘP

Rodzina cytokin TGF- β (transforming growth factor type beta) obejmuje ponad 30 białek o podobnej strukturze. Należą do niej m.in. TGF- β , aktywiny, inhibiny, czynniki wzrostu i różnicowania (growth and differentiation factors – GDFs), białka morfogenetyczne kości (bone morphogenetic proteins – BMPs) i białko syntetyzowane w komórkach węzła zarodkowego (nodal growth differentiation factor – NODAL) [48]. Do transdukcji sygnału z udziałem tych ligandów konieczne są dwa typy receptorów transbłonowych: T β RI i T β RII, o aktywności kinazy serynowo-treoninowej. W komórkach ssaków jest obecnych pięć rodzajów receptora typu II i siedem rodzajów receptora typu I. Wiązanie cytokiny powoduje utworzenie swoistych dla danej cytokiny heterotetramerów recep-

torowych. Receptor typu II fosforyluje receptor typu I, co z kolei rozpoczyna proces transdukcji sygnału w cytoplazmie. Szlaki indukowane TGF- β pełnią wiele funkcji uczestnicząc w procesach fizjologicznych zapewniających prawidłowy przebieg embriogenezy, rozwój wielu typów tkanek i narządów oraz utrzymanie homeostazy tkankowej w dojrzałym organizmie [58]. Białka należące do rodziny TGF- β biorą udział w regulacji układu immunologicznego oraz w procesie gojenia się ran (fizjologiczny proces włóknienia). Zaburzenia syntezy i funkcji białek TGF- β oraz składników ich szlaków sygnałowych obserwowane są również w licznych stanach patologicznych, jak: w zwłóknieniu płuc, wątroby, nerek, serca oraz sklerodermii, w chorobach o podłożu autoimmunologicznym

(m.in. toczeniu rumieniowatym), w zespole mielodysplastycznym, w patologii naczyń (miażdżycy, chorobie genetycznej Rendu-Oslera-Webera) oraz w zespole Morfana [2,53]. Aktywność szlaków sygnałowych indukowanych przez cytokiny TGF- β jest zależna od typu komórek, etapu ich różnicowania, mikrośrodowiska, interakcji z innymi szlakami sygnałowymi, stopnia zaawansowania choroby oraz wrodzonych cech genetycznych osobnika. Wszystkie komórki układu odpornościowego, w tym limfocyty T, B, komórki dendrytyczne, a także makrofagi wydzielają TGF- β , co powoduje zahamowanie ich proliferacji, różnicowania oraz aktywacji przez inne cytokiny. TGF- β jest zatem silnym immunosupresorem. Zaburzenie szlaków sygnałowych indukowanych przez TGF- β może prowadzić do autoimmunizacji i rozwoju zapalenia, a w konsekwencji do powstania stanów patologicznych, w tym nowotworów. Zmiany epigenetyczne oraz mutacje w komórkach nowotworowych prowadzą do zmiany funkcji TGF- β z supresorowej w promującą kancerogenezę [20,25,37]. Ta zmiana funkcji TGF- β , związana również z przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym (epithelial-mesenchymal transition – EMT), nazywana jest „paradoksem TGF- β ”. W pracy omówiono najnowsze doniesienia na temat roli TGF- β w transformacji nowotworowej oraz w przebiegu i progresji nowotworów.

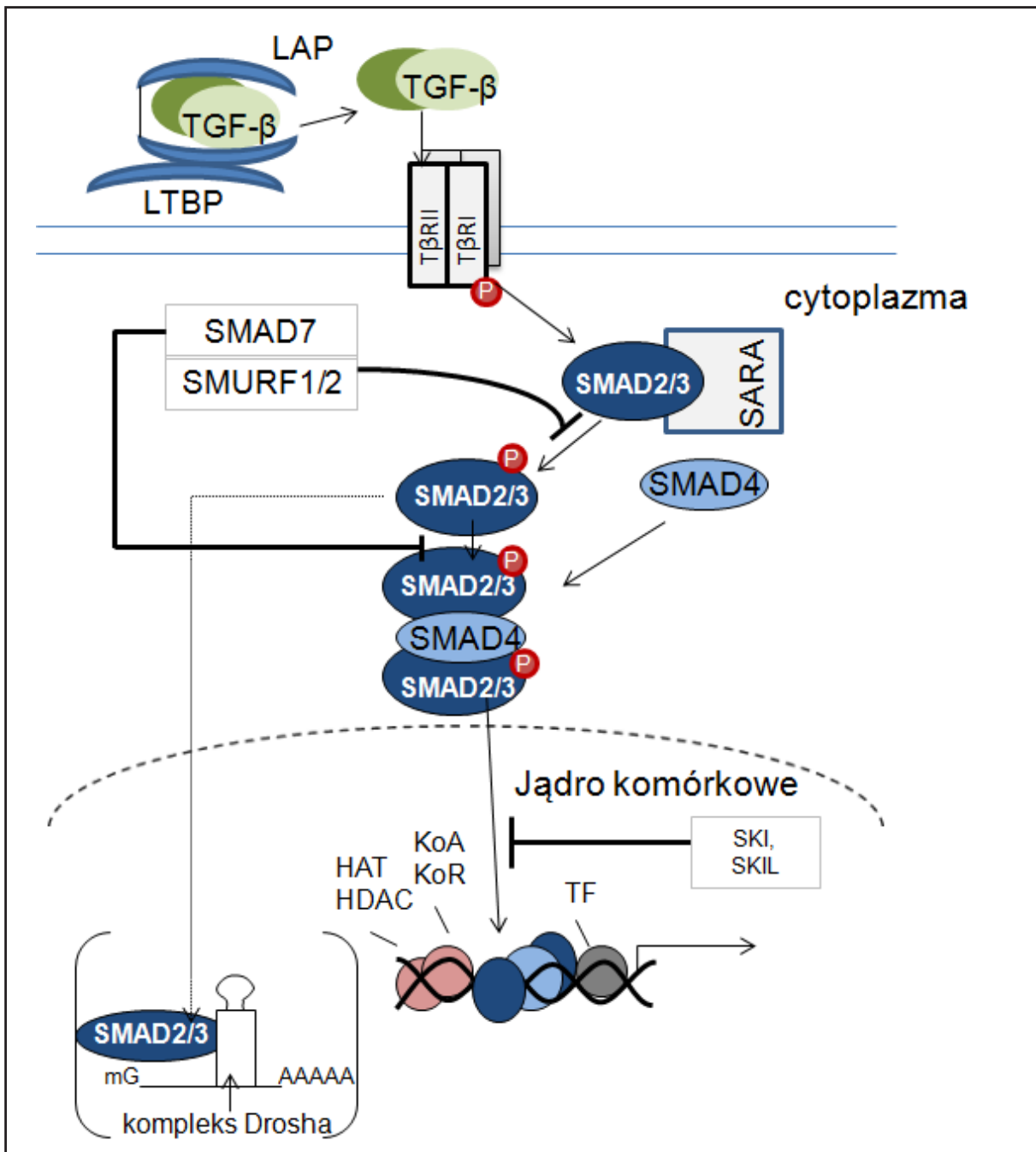
SZLAKI SYGNAŁOWE INDUKOWANE PRZEZ TGF- β

W komórkach ludzkich występują trzy izoformy TGF- β (oznaczane jako TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) wykazujące około 70% homologii w budowie [2]. Prekursor cytokiny TGF- β homodimeryzuje oraz łączy się niekowalencyjnie z peptydem LAP (latency-associated peptide). Bezpośrednio przed sekrecją TGF- β wiąże się kowalencyjnie z białkiem LTBP (latent TGF- β binding protein) [30,50]. Wielkocząsteczkowy, nieaktywny kompleks (large latent complex – LLC) wydzielany jest do macierzy zewnątrzkomórkowej i w tej postaci TGF- β jest stabilny. Aktywacja TGF- β poprzez uwolnienie z kompleksu LLC może nastąpić po osiągnięciu komórek docelowych, na skutek zmiany pH w niszy, proteolizy, oddziaływania LLC z integrzynami lub trombospondyną 1 [50]. Aktywny dimer TGF- β wiążąc się z receptorem uruchamia wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe. Wyróżnia się trzy klasy receptorów TGF- β -zależnych: receptory typu I (T β RI, ALK) i receptory typu II (T β RII), bezpośrednio uczestniczące w przekazywaniu sygnału do wnętrza komórki oraz receptory typu III (T β RIII), pełniące funkcję koreceptora pozbawionego aktywności enzymatycznej [2,30]. Inicjacja kaskady przekazywania sygnału do jądra komórkowego rozpoczyna się od przyłączenia TGF- β do receptora T β RII i aktywacji jego podjednostki kinazowej. Zmiany konformacyjne w T β RII wywołują wzrost powinowactwa do T β RI. Powstaje heterotetramer (T β RII-T β RI)₂ niezbędny do fosforylacji reszt seryny i treoniny T β RI [31]. W strukturze T β RI następują zmiany konformacyjne, uwolnienie inhibitora FKBP1A (białko należące do rodziny immunofilin, FK506 binding protein 1A) z centrum aktywnego i aktywacja domeny kinazowej. Substratami T β RI są cząsteczki sygnałowe drugiego rzędu, w tym białka R-SMAD (białka SMAD

regulowane receptorem, receptor-regulated SMADs) oraz elementy innych szlaków sygnałowych, np. białko SHCA (białko adaptorowe, Src homology 2 domain containing) [35,48].

Szlak sygnałowy TGF- β zależny od rodziny białek SMAD

Szlak kanoniczny TGF- β jest zależny od białek SMAD (Sma and Mad related proteins) (ryc.1). W organizmie ludzkim syntetyzowanych jest osiem białek SMAD. Pięć z nich, R-SMAD1, -2, -3, -5 i -8, są substratami receptora T β RI (receptor-regulated SMAD). R-SMAD tworzą kompleksy ze SMAD4 (tzw. Co-SMAD, wspólny mediator SMAD, co-mediator SMAD). SMAD6 i SMAD7 są inhibitorami interakcji T β RI-R-SMAD oraz R-SMAD-Co-SMAD. Oddziaływania domeny kinazowej receptora T β RI z konserwatywnym regionem C-terminalnym białka SMAD (domena MH2) są wysoce swoiste [32,48]. Ponadto, w zależności od typu liganda indukującego kaskadę przekazywania sygnału, rekrutowane są różne białka SMAD. Aktywny receptor T β RI stymuluje fosforylację białka R-SMAD-2 lub -3 przyłączonego do endosomalnego białka SARA (SMAD anchor for receptor activation). Fosforylowane białka R-SMAD tworzą heterodimer z białkiem Co-SMAD. Powstający kompleks transportowany jest do jądra komórkowego, gdzie poprzez domenę MH1 łączy się z sekwencjami CAGAC (SMAD-binding domain, SBD) lub z sekwencjami bogatymi w pary GC w regionach promotorowych bardzo wielu genów [15]. Selektowność działania białek SMAD osiągana jest przez oddziaływanie z różnymi czynnikami transkrypcyjnymi, np. AP-1, ETS, C/EBP β , FoxH1 i FoxO. Ponadto, kompleks SMAD oddziałuje z kompleksem przebudowującym chromatynę (SWI/SNF, switch/sucrose nonfermentable), a w niektórych przypadkach z kompleksem białek demetylujących DNA (DNA demethylating complex – DNDM) [29,30,51]. Białka SMAD rekrutują również acetylotransferazy histonowe (histon acetyl transferase – HATs), p300, CBP, GCN5 lub deacetylazy histonowe (histon deacetylases – HDACs), np. RBL1, odpowiednio indukując bądź hamując transkrypcję określonych genów [48]. Na każdym poziomie przekazywania sygnału szlak zależny od SMAD regulowany jest przez modyfikacje, takie jak fosforylacja, ubikwitylacja czy ADP-rybozylacja. Wewnątrzjądrowa akumulacja oraz aktywność R-SMAD jest hamowana przez kinazy ERK (extracellular signal-regulated kinase), JNK (c-JUN N-terminal kinase), CDK (cyclin-dependent kinases) poprzez fosforylację reszt Ser-Pro lub Thr-Pro, licznie występujących w łączniku domen MH1 oraz MH2 [17,59]. Fosforylacja łącznika prowadzi do zależnej od SMURF1 (SMAD-specific E3 ubiquitin protein ligase 1) lub NEDD4L (neural precursor cell expressed developmentally down-regulated protein 4-like) ubikwitylacji prowadzącej do degradacji białka [22]. Inhibitorowe białko SMAD7 (I-SMAD) hamuje szlak TGF- β poprzez indukcję degradacji T β RI oraz hamowanie fosforylacji R-SMAD i tworzenie kompleksu R-SMAD-Co-SMAD. Innym sposobem hamowania funkcji SMAD są oddziaływania z korepresorami, takimi jak c-SKI i SKIL [5]. W raku prostaty, z mutacją w genie supresorowym PTEN, wykazano, że czynnik transkrypcyjny COUP-



Ryc.1. Szlak sygnałowy indukowany przez TGF- β zależny od białek SMAD

-TFII hamuje zależną od SMAD4 transkrypcję genów, powodując zniesienie przeciwnowotworowych funkcji TGF- β [42]. Białka będące partnerami SMAD w wiązaniu DNA oraz te będące regulatorami aktywności transkrypcyjnej powstających kompleksów są często tkankowo-specyficzne. Na przykład TGF- β hamuje ekspresję ID1 w komórkach nabłonkowych poprzez tworzenie kompleksu z korepresorem ATF-3, podczas gdy w komórkach macierzystych glejaka, w których brak jest białka ATF-3, TGF- β indukuje ekspresję ID1 [3]. Ponieważ ATF-3 jest indukowany przez TNF- α , współpraca szlaków TGF- β i TNF- α określa poziom

białka ID1 w komórkach. Oddziaływania z innymi szlakami sygnałowymi oraz interakcje z różnymi kofaktorami wiążącymi DNA określają zatem wzór wiązania białek SMAD w regionach promotorowych genów, co może tłumaczyć różnorodność odpowiedzi transkrypcyjnej w różnych komórkach.

Białka SMAD kontrolują również ekspresję genów kodujących miRNA [21]. SMAD2 lub SMAD3, niezależnie od białka SMAD4, biorą udział w procesie modulowania biosyntezy miRNA poprzez oddziaływanie z kompleksem Drosha [7].

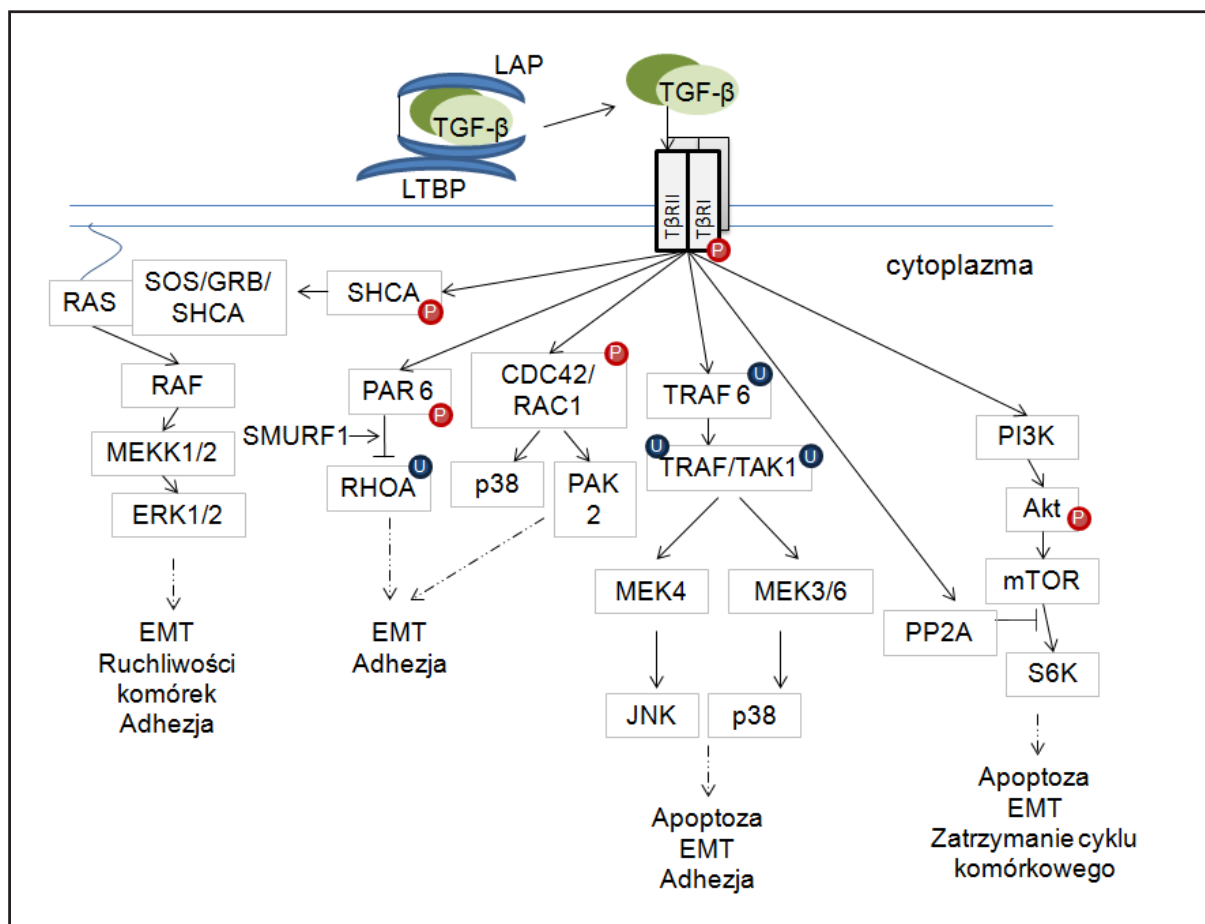
Szlaki sygnałowe TGF- β niezależne od SMAD

Sygnały indukowane przez TGF- β mogą ulegać propagacji także bez udziału białek SMAD (ryc.2.) [35]. TGF- β bezpośrednio aktywuje szlak kinaz: RAS-RAF-MEK-ERK1/2 w wyniku fosforylacji białka SHCA przez zaktywowany T β RI lub T β RII. Fosforylowane białko SHCA tworzy kompleks SHCA/GRB/SOS1 (son of sevenless homolog 1) odpowiedzialny za sekwencyjną aktywację białka RAS, a następnie RHO, MEK i ERK [62]. Ponadto, T β RI i T β RII indukują poliubikwitinację TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6), który rekrutuje i aktywuje TAK1 (TGF β -associated kinase 1), wywołując indukcję szlaków JNK i p38. Selektywną aktywację p38 MAPK i fosforylację jej substratów obserwowano w komórkach glejaka [9]. TGF- β stymuluje ubikwitinację i zależną od SMURF degradację RHOA przez ufosforylowane białko PAR6 (partitioning defective 6 homolog alpha), reguluje również aktywność innych GTP-az rodziny RHO, co ma szczególne znaczenie w przejściu nabłonkowo-mezenchymalnym (EMT) komórek nowotworowych [35]. EMT jest procesem istotnym we wczesnym rozwoju organizmu oraz w procesie gojenia się ran. W nowotworach, EMT zależne od TGF- β jest ważne w procesie powstawania przerzutów. Stwierdzono, że zablokowanie PAR6 w mysim modelu przerzutowego raka piersi hamuje powstawanie przerzutów do płuc[56].

Niezależnie od tego czy TGF- β indukuje szlaki sygnałowe z udziałem białek SMAD czy bez ich udziału, oddziałuje z innymi szlakami sygnałowymi, takimi jak: WNT, Hedgehog, PI3K-AKT, NOTCH, INF- γ , TNF- α , RAS-ERK [2,19]. Współdziałanie szlaków może się opierać na wzajemnej regulacji ekspresji ligandów i elementów szlaku lub enzymatycznej modyfikacji poszczególnych białek sygnałowych. Szlaki WNT i TGF- β wzajemnie regulują ekspresję swoich ligandów. Ponadto ich elementy oddziałują ze sobą w kompleksie transkrypcyjnym SMAD3-SMAD4- β -katenina-TCF, a także w kompleksie cytoplazmatycznym SMAD7-AXIN (axin1 – represor szlaku WNT, jeden z głównych składników kompleksu destrukcyjnego β -kateniny). Udowodniono również, że TGF- β aktywuje kanoniczny szlak WNT poprzez hamowanie ekspresji DKK1, głównego inhibitora szlaku [1]. Aktywność szlaku TGF- β jest również modulowana przez INF- γ i TNF- α , które aktywują ekspresję I-SMAD. Interakcje wyżej wymienionych szlaków mogą prowadzić do zmiany funkcji TGF- β z supresorowej w promującą kancerogenezę [37].

ROLA TGF- β W NOWOTWORACH

Szlaki sygnałowe indukowane w nowotworach przez ligandy należące do rodziny TGF- β mogą prowadzić do zahamowania kancerogenezy bądź progresji choroby no-



Ryc.2. Szlaki sygnałowe indukowane przez TGF- β niezależne od białek SMAD

wotworowej [7]. We wczesnych etapach transformacji nowotworowej TGF- β pobudza kaskady sygnałowe stymulujące ekspresję genów zaangażowanych w hamowanie proliferacji, stymulację różnicowania się komórek, aktywację apoptozy bądź autofagii, supresję angiogenezy i procesy prowadzące do zniesienia stanów zapalnych [29]. W zaawansowanym stadium choroby TGF- β pełni rolę promotora tworzenia przerzutów poprzez udział w przejściu nabłonkowo-mezenchymalnym, przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej, modulowaniu mikrośrodowiska, indukowaniu syntezy chemokin i wyciszaniu odpowiedzi immunologicznej [16]. Zmiana funkcji TGF- β wiąże się ze zmianami epigenetycznymi i genetycznymi w komórkach nowotworowych [20,27]. W licznych nowotworach, ekspresja białek zaangażowanych w szlaki sygnałowe TGF- β np. T β RII, T β RI, SMAD4 ulega zahamowaniu na skutek mutacji lub utraty heterozygotyczności. Mutacje w receptorze T β RII powiązane są z niestabilnością mikrosatelitarną i niewydolnością systemu naprawy DNA, co w konsekwencji prowadzi do zmiany ramki odczytu i braku ekspresji genu [37]. Z kolei SMAD2 oraz SMAD4 kodowane są przez geny mieszczące się na dłuższym ramieniu chromosomu 18, który także ulega licznym mutacjom [27,61]. Selektowna eliminacja składników szlaku sygnałowego TGF- β w raku trzustki, jelita grubego, żołądka często prowadzi do całkowitego wyciszenia sygnału. Znacznie niższy poziom mutacji obserwuje się w raku piersi, skóry i glejakach [37]. Zaobserwowano jednak, że wzmocnieniu ulega ekspresja T β RI w raku prostaty i jelita grubego. Badania immunohistochemiczne wykazały, że poziom TGF- β w raku piersi, prostaty, jelita grubego koreluje ze zwiększoną zdolnością do tworzenia przerzutów i stopniem zaawansowania nowotworu w ob-razie klinicznym [18].

Udział TGF- β w supresji kancerogenezy

Zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych przez TGF- β następuje głównie przez regulację ekspresji białek regulujących cykl komórkowy. TGF- β aktywuje transkrypcję genów kodujących białko wiążące eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E (4E binding protein – 4EBP1) oraz inhibitory kinaz cyklozależnych (p15, p21, p57) [52]. W efekcie sygnał indukowany przez TGF- β prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego w późnej fazie G1, na skutek zahamowania aktywności kinaz cyklozależnych. Ponadto, TGF- β hamuje syntezę c-MYC (myelocytomatosis viral oncogene homolog), fosfatazy treoninowo-tyrozynowej, CDC25A (cell division cycle 25A), białek ID (inhibitor of DNA binding) oraz czynnika transkrypcyjnego E2F [31]. Utrata ekspresji CDC25A prowadzi do fosforylacji kinaz cyklozależnych CDK4 i CDK6, a w konsekwencji do ich dezaktywacji. Zahamowanie ekspresji czynnika E2F blokuje przejście komórki przez punkt kontrolny na granicy faz G1/S oraz transkrypcję białek fazy S. Białka ID (ID1, ID2, ID3, ID4) są inhibitorami czynników transkrypcyjnych typu bHLH (basic helix-loop-helix), odpowiadających za ekspresję genów tkankowoswoistych warunkujących różnicowanie komórek, np. MyoD. W przypadku ich zwiększonej ekspresji

dochodzi do zahamowania różnicowania komórek. Regulacja ekspresji wyżej wymienionych białek zaangażowanych w cykl komórkowy oparta jest o kanoniczny szlak TGF- β , zależny od białek SMAD. Specyficzność działania kompleksu R-SMAD-Co-SMAD zależy od rodzaju czynników transkrypcyjnych współtworzących kompleks transkrypcyjny [31]. W przypadku inhibitorów CDK indukcja ekspresji p21 zależy od kompleksu SMAD-FOXO, podczas gdy kompleks SMAD-FOXO-EBP β indukuje transkrypcję p15. Z kolei c-MYC oraz geny białek z rodziny ID regulowane są poprzez SMAD-E2F4/5-C/EBP β i SMAD-ATF [13,31]. c-MYC oprócz tego, że stymuluje proliferację komórek, oddziałując z białkiem PIAS2 (protein inhibitor of activated STAT homolog 2), hamuje ekspresję p15 i p21. TGF- β regulując ekspresję c-MYC pośrednio wpływa na poziom p15 i p21.

TGF- β zatrzymuje proliferację komórek nowotworowych również poprzez udział w indukcji apoptozy i autofagii [14]. Szlaki sygnałowe TGF- β , zarówno te zależne od białek SMAD, jak i niezależne, biorą udział w aktywacji proapoptycznych kaspaz oraz w regulacji ekspresji, lokalizacji i aktywacji białek pro- i antyapoptycznych rodziny BCL2 [55]. Ekspresja białek uczestniczących w programowanej śmierci komórki, w tym BIK (BCL2-interacting killer), BIM (BCL-2 interacting mediator of cell death), DAPK (death associated protein kinase), FAS (TNF receptor superfamily, member 6), GADD45 β (growth arrest and DNA-damage-inducible beta) oraz zaangażowanych w autofagię, w tym ATG5 (autophagy related 5 homolog), ATG7 (autophagy related 7 homolog), Beclin1/ATG6 (autophagy related 6 homolog) jest pozytywnie regulowana przez TGF- β . Jednocześnie wykazano, że białko adaptorowe DAXX (death-domain associated protein) oddziałując z receptorem T β RII niezależnie od białek SMAD, indukuje apoptozę poprzez wzmocnienie aktywacji szlaku JNK [14,37].

Udział TGF- β w promocji nowotworów

Spośród wszystkich funkcji jakie TGF- β pełni w transformacji nowotworowej, najważniejszymi wydają się: udział w inwazji i migracji komórek nowotworowych oraz immunosupresji. TGF- β wycisza odpowiedź immunologiczną organizmu skierowaną przeciwko nieprawidłowym komórkom [60]. W chorobach nowotworowych obserwuje się osłabienie reaktywności immunologicznej, bowiem komórki nowotworowe mogą ograniczać funkcjonowanie układu immunologicznego przez modyfikację tych składników układu, które powinny eliminować komórki nowotworowe. TGF- β za pośrednictwem białka SMAD3 hamuje syntezę INF- γ indukowaną przez komórki NK (natural killer) [4]. INF- γ jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za cytotoksyczność komórek NK. TGF- β wydzielany przez komórki nowotworowe indukuje zmiany fenotypu makrofagów i neutrofilów, które tracą funkcję efektorową względem komórek nowotworowych [11,12]. Makrofagi przekształcają się z komórek żernych prezentujących antygeny i wytwarzających cytokiny prozapalne (fenotyp M1) w tzw. makrofagi swoiste dla nowotworów, TAM (tumor-associated macrophages) o fenotypie

M2. Komórki te wydzielają cytokiny immunosupresyjne, IL-10 i TGF- β . Niedawno wykazano, że hamowanie drogi sygnałowej TGF- β może przeprogramować makrofagi TAM w makrofagi o fenotypie M1 [39]. Poprzez szlak sygnałowy zależny od SMAD, TGF- β hamuje syntezę białek kluczowych w odpowiedzi immunologicznej: perforyn, granzymów A i B oraz proapoptotycznych cytokin: FASL i INF- γ . Prowadzi również do zaburzenia aktywacji efektorowych limfocytów T, hamowania funkcji komórek dendrytycznych i innych komórek prezentujących antygeny oraz stymuluje apoptozę limfocytów B [11,44,45]. TGF- β uczestniczy w różnicowaniu komórek układu immunologicznego, regulując ekspresję czynnika transkrypcyjnego FOXP3 (forkhead box protein P3). Czynniki ten jest głównym modulatorem rozwoju i funkcjonowania limfocytów Treg. TGF- β pozytywnie, aczkolwiek pośrednio reguluje poziom FOXP3, poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego E2A, który przyłącza się do DNA w miejscu promotorowym FOXP3, wzmacniając jego ekspresję [2].

Angiogeneza jest procesem niezbędnym do wzrostu guza i tworzenia przerzutów. TGF- β współdziałając z HIF-1 (hypoxia inducible factor 1) stymuluje neowaskularyzację poprzez zwiększenie poziomu ekspresji VEGF (vascular endothelial growth factor) oraz CTGF (connective tissue growth factor). Dodatkowo TGF- β reguluje ekspresję, wydzielanie oraz aktywację metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinases – MMPs): MMP-2 i MMP-9, jednocześnie hamując ekspresję ich inhibitora TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) [38]. Poprzez aktywację metaloproteinaz TGF- β zwiększa zdolność komórek nowotworowych do migracji i inwazji, procesów warunkujących angiogenezę [29]. W raku piersi wykazano, że ANGPTL4 (angiopoietin-like protein 4), białko kluczowe dla neowaskularyzacji i tworzenia przerzutów odległych głównie do płuc, podlega również regulacji przez szlak sygnałowy TGF- β [18].

TGF- β indukuje przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT) zarówno komórek nabłonkowych i śródbłonna, jak i komórek nowotworowych [24]. W procesie EMT spolaryzowane komórki o fenotypie komórek nabłonkowych uzyskują cechy komórek mezenchymalnych. EMT komórek nowotworowych wiąże się z nadekspresją czynników transkrypcyjnych SNAIL1/2 (human snail homolog 1/2), ZEB1/2 (zinc finger E-box binding homeobox1/2), HMGA2 (high mobility group AT-hook 2), TWIST1 (twist basic helix-loop-helix transcription factor 1). Czynniki te, podlegając pozytywnej regulacji ze strony TGF- β , hamują syntezę białek adhezyjnych (m.in.: kadheryny) ułatwiających przyleganie do siebie komórek tego samego rodzaju, co z kolei stymuluje białka odpowiedzialne za rozerwanie połączeń międzykomórkowych i utratę polarności komórek [16,41]. Komórka o fenotypie mezenchymalnym charakteryzuje się zwiększoną inwazyjnością i zdolnością do migracji, co może skutkować rozsianiem komórek nowotworowych, a więc progresją choroby [63]. Ponadto uważa się, że EMT prowadzi do zwiększenia populacji komórek mających cechy nowotworowych komórek macierzystych [28,43,46,63].

W obrębie heterogennej tkanki nowotworowej istnieje populacja komórek wykazująca zwiększoną zdolność do inicjacji nowotworu. Pewną część tej populacji stanowią komórki mające właściwości multipotencjalnych komórek macierzystych zdolnych do samoodnowy. W obrębie niszy, oprócz komórek macierzystych i różnicujących się, występują komórki układu immunologicznego, komórki mezenchymalne, a także elementy macierzy międzykomórkowej oraz sieć naczyń krwionośnych. Losy komórek macierzystych zależą od sygnałów pochodzących z mikrośrodowiska, w którym występują [23]. W raku piersi wykazano, że głównymi szlakami aktywowanymi w populacji nowotworowych komórek macierzystych są WNT i TGF- β [46]. Szlaki sygnałowe indukowane przez TGF- β pełnią główną rolę w interakcji komórek macierzystych z niszą [18]. Wykazano, że inhibitory TGF- β prowadzą do zmniejszenia populacji komórek o cechach komórek macierzystych w guzach piersi, glejakach i przewlekłej białaczce szpikowej. Liczne doświadczenia potwierdzają nadekspresję TGF- β w glejakach, która koreluje ze zwiększoną zdolnością komórek do samoodnowy i proliferacji [3,7]. Szlak TGF- β zależny od SMAD indukuje ekspresję cytokiny LIF (leukemia inhibitory factor), która aktywuje ścieżkę sygnałową JAK-STAT. Wykazano, że w glejaku zależna od LIF aktywacja JAK-STAT, prowadzi do zwiększenia zdolności do samoodnowy komórek oraz hamuje ich różnicowanie [40]. Ponadto, TGF- β indukuje ekspresję białka SOX4, które z kolei aktywuje transkrypcję SOX2 [18]. Białko SOX2 reguluje ekspresję innych kluczowych czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za utrzymanie puli komórek o cechach nowotworowych komórek macierzystych [46]. Z kolei Wang i wsp. wykazali, że szlaki sygnałowe TGF- β poprzez białko SMAD3, potranskrypcyjnie indukują syntezę miR-181, co wywołuje wzrost komórek raka piersi w postaci nieprzywierających do podłoża sferoidów (mammosfer) [57]. W odróżnieniu od powyższych przykładów istnieją również badania wykazujące, że TGF- β prowadzi do zmniejszenia populacji nowotworowych komórek macierzystych [10,49,54]. Tang i wsp. wykazali, że w raku piersi zahamowanie aktywności szlaku sygnałowego TGF- β zależnego od SMAD prowadzi do zwiększenia populacji komórek wykazujących właściwości nowotworowych komórek macierzystych. Wykazali również, że ludzkie komórki raka piersi stymulowane TGF- β traciły zdolność do samoodnowy i wzrostu w postaci mammosfer *in vitro* [54]. W raku żołądka typu rozlanego, TGF- β pochodzenia egzogenne prowadziło do zmniejszenia populacji komórek ALDH1⁺, wykazujących cechy komórek macierzystych [26]. Podobne wyniki otrzymano w mysim modelu raka płaskonabłonkowego, gdzie TGF- β redukował zdolność komórek do samoodnowy i przerzutowania [49].

Strategie terapeutyczne nakierowane na szlaki indukowane TGF- β

Poszukiwania skutecznych modulatorów szlaków TGF- β są wielokierunkowe. W badaniach przedklinicznych i klinicznych testowane jest zastosowanie oligonukleotydów antysensownych (ASO) w celu zahamowania syn-

tezy TGF-β, przeciwciał monoklonalnych anty-TGF-β, mimetyków peptydowych TβRII oraz niskocząsteczkowych inhibitorów blokujących TβRI [2]. Celem prowadzonych badań nie jest całkowite zablokowanie szlaków indukowanych TGF-β, a zahamowanie ich nadmiernej aktywności. Obniżenie ilości syntetyzowanego TGF-β przez linie komórkowe raka płuca, raka prostaty oraz jelita grubego (43-100%) uzyskano po zastosowaniu ASO AP11014 (Antisense Pharma) [47]. Trabedersen (AP12009, Antisense Pharma), który obecnie jest w I-III fazie badań klinicznych - w zależności od typu nowotworu, również hamuje syntezę liganda TGF-β [36]. Humanizowane przeciwciała monoklonalne - Fresolimumab (Cambridge Antibody Technology) blokują oddziaływania trzech izoform TGF-β z receptorem TβRII. Obecnie prowadzone są badania nad jego zastosowaniem w leczeniu czerniaka złośliwego (I faza badań klinicznych), w skojarzeniu z radioterapią w raku piersi (I faza badań klinicznych) oraz w raku nerkowokomórkowym (I faza badań klinicznych) [6,34]. Kolejnym celem terapeutycznym jest zahamowanie fosforylacji TβRII poprzez zastosowanie niskocząsteczkowych związków np.: SB-505124 (Gloxo Smith Kline), LY580276, LY550410 (Eli Lilly), Ki26894 (Kirin Pharmaceuticals) [2]. Wszystkie badania prowadzone nad tymi związkami znajdują się w fazie przedklinicznej.

PODSUMOWANIE

Zastosowanie leków oddziałujących bezpośrednio z elementami szlaków sygnałowych TGF-β jest bez wątpienia obiecującym podejściem terapeutycznym [2]. Obecnie najważniejszym wydaje się zrozumienie mechanizmu zmiany funkcji cytokiny TGF-β z supresorowej w promującą kancerogenezę. Wiadomo, że sygnały pochodzące z mikrośrodowiska nowotworu regulują aktywność egzo- i endogennego białka TGF-β. Ponadto, ostatnie doniesienia przedstawiają TGF-β w roli jednego z głównych czynników modulujących populację komórek o cechach nowotworowych komórek macierzystych. Jednak rola tej cytokiny także w tym przypadku nie jest jednoznaczna. Wydaje się, że inhibitory TGF-β mogą prowadzić do uwalniania nowotworowych komórek macierzystych z ich niszy powodując wzrost liczby krążących w krwiobiegu komórek nowotworowych oraz mikro- i makroprzerzutów. Być może konieczne będzie łączenie terapii anty-TGF-β z klasyczną chemioterapią cytotoxyczną. Złożoność mechanizmów regulujących funkcję TGF-β oraz różnorodność odpowiedzi indukowanej przez tę cytokinę powodują, że terapia przeciwnowotworowa polegająca na wyciszeniu szlaków sygnałowych zależnych od TGF-β, powinna być dobrana nie tylko do określonego typu nowotworu i stadium jego rozwoju, ale także indywidualnie, do każdego przypadku klinicznego.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Akhmetshina A., Palumbo K., Dees C., Bergmann C., Venalis P., Zerr P., Horn A., Kireva T., Beyer C., Zwerina J., Schneider H., Sadowski A., Riener M.O., MacDougald O.A., Distler O., Schett G., Distler J.H.: Activation of canonical Wnt signalling is required for TGF-β-mediated fibrosis. *Nat. Commun.*, 2012; 3: 735
- [2] Khurst R.J., Hata A.: Targeting the TGFβ signalling pathway in disease. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2012; 11: 790-811
- [3] Anido J., Sáez-Borderias A., Gonzalez-Junca A., Rodón L., Folch G., Carmona M.A., Prieto-Sánchez R.M., Barba I., Martínez-Sáez E., Prudkin L., Cuartas I., Raventós C., Martínez-Ricarte F., Poca M.A., Garcia-Dorado D. i wsp.: TGF-β receptor inhibitors target the CD44(high)/Id1(high) glioma-initiating cell population in human glioblastoma. *Cancer Cell*, 2010; 18: 655-668
- [4] Brierie B., Moses H.L.: Transforming growth factor beta (TGF-β) and inflammation in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2010; 21: 49-59
- [5] Boone B., Haspeslagh M., Brochez L.: Clinical significance of the expression of c-Ski and SnoN, possible mediators in TGF-β resistance, in primary cutaneous melanoma. *J. Dermatol. Sci.*, 2009; 53: 26-33
- [6] Bouquet F., Pal A., Pilones K.A., Demaria S., Hann B., Akhurst R.J., Babb J.S., Lonning S.M., DeWyngaert J.K., Formenti S.C., Barcellos-Hoff M.H.: TGFβ1 inhibition increases the radiosensitivity of breast cancer cells in vitro and promotes tumor control by radiation in vivo. *Clin. Cancer Res.*, 2011; 17: 6754-6765
- [7] Davis-Dusenbery B.N., Hata A.: Smad-mediated miRNA processing: a critical role for a conserved RNA sequence. *RNA Biol.*, 2011; 8: 71-76
- [8] de la Cruz-Merino L., Henao-Carrasco F., Garcia-Manrique T., Fernández-Salguero P.M., Codes-Manuel de Villena M.: Role of transforming growth factor β in cancer microenvironment. *Clin. Transl. Oncol.*, 2009; 11: 715-720
- [9] Dziembowska M., Danilkiewicz M., Wesolowska A., Zupanska A., Chouaib S., Kaminska B.: Cross-talk between Smad and p38 MAPK signalling in transforming growth factor β signal transduction in human glioblastoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007; 354: 1101-1106
- [10] Ehata S., Johansson E., Katayama R., Koike S., Watanabe A., Hoshino Y., Katsuno Y., Komuro A., Koinuma D., Kano M.R., Yashiro M., Hirakawa K., Aburatani H., Fujita N., Miyazono K.: Transforming growth factor-β decreases the cancer-initiating cell population within diffuse-type gastric carcinoma cells. *Oncogene*, 2011; 30: 1693-1705
- [11] Flavell R.A., Sanjabi S., Wrzesinski S.H., Licona-Limón P.: The polarization of immune cells in the tumour environment by TGFβ. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010; 10: 554-567
- [12] Fridlender Z.G., Sun J., Kim S., Kapoor V., Cheng G., Ling L., Worthen G.S., Albelda S.M.: Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-β: „N1” versus „N2” TAN. *Cancer Cell*, 2009; 16: 183-194
- [13] Gomis R.R., Alarcón C., Nadal C., Van Poznak C., Massagué J.: C/EBPβ at the core of the TGFβ cytostatic response and its evasion in metastatic breast cancer cells. *Cancer Cell*, 2006; 10: 203-214
- [14] Heldin C.H., Landström M., Moustakas A.: Mechanism of TGF-β signaling to growth arrest, apoptosis, and epithelial-mesenchymal transition. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2009; 21: 166-176
- [15] Heldin C.H., Moustakas A.: Role of Smads in TGFβ signaling. *Cell Tissue Res.*, 2012; 347: 21-36
- [16] Heldin C.H., Vanlandewijck M., Moustakas A.: Regulation of EMT by TGFβ in cancer. *FEBS Lett.*, 2012; 586: 1959-1970
- [17] Hough C., Radu M., Doré J.J.: TGF-beta induced Erk phosphorylation of smad linker region regulates smad signaling. *PLoS One*, 2012; 7: e42513

- [18] Ikushima H., Miyazono K.: TGFbeta signalling: a complex web in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer*, 2010; 10: 415-424
- [19] Ikushima H., Miyazono K.: TGF-beta signal transduction spreading to a wider field: a broad variety of mechanisms for context-dependent effects of TGF- β . *Cell Tissue Res.*, 2012; 347: 37-49
- [20] Inman G.J.: Switching TGFbeta from a tumor suppressor to a tumor promoter. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2011; 21: 93-99
- [21] Inui M., Martello G., Piccolo S.: MicroRNA control of signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2010; 11: 252-263
- [22] Itoh S., ten Dijke P.: Negative regulation of TGF- β receptor/Smad signal transduction. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2007; 19: 176-184
- [23] Iwasaki H., Suda T.: Cancer stem cells and their niche. *Cancer Sci.*, 2009; 100: 1166-1172
- [24] Jing Y., Han Z., Zhang S., Liu Y., Wei L.: Epithelial-mesenchymal transition in tumor microenvironment. *Cell Biosci.*, 2011; 1: 29
- [25] Kaminska B., Kocyc M., Kijewska M.: TGF beta signaling and its role in glioma pathogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2013; 986: 171-187
- [26] Katsuno Y., Ehata S., Yashiro M., Yanagihara K., Hirakawa K., Miyazono K.: Coordinated expression of REG4 and aldehyde dehydrogenase 1 regulating tumorigenic capacity of diffuse-type gastric carcinoma-initiating cells is inhibited by TGF- β . *J. Pathol.*, 2012; 228: 391-404
- [27] Levy L., Hill C.S.: Alterations in components of the TGF- β superfamily signaling pathways in human cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2006; 17: 41-58
- [28] Mani S.A., Guo W., Liao M.J., Eaton E.N., Ayyanan A., Zhou A.Y., Brooks M., Reinhard F., Zhang C.C., Shipitsin M., Campbell L.L., Polyak K., Briskin C., Yang J., Weinberg R.A.: The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*, 2008; 133: 704-715
- [29] Massagué J.: TGF β in cancer. *Cell*, 2008; 134: 215-230
- [30] Massagué J.: TGF β signalling in context. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2012; 13: 616-630
- [31] Massagué J., Gomis R.R.: The logic of TGF β signaling. *FEBS Lett.*, 2006; 580: 2811-2820
- [32] Massagué J., Seoane J., Wotton D.: Smad transcription factors. *Genes Dev.*, 2005; 19: 2783-2810
- [33] Massagué J., Wotton D.: Transcriptional control by the TGF- β /Smad signaling system. *EMBO J.*, 2000; 19: 1745-1754
- [34] Morris J.C., Shapiro G.I., Tan A.R., Lawrence D.P., Olencki T.E., Dezube B.J., Hsu F.J., Reiss M., Berzofsky J.A.: Phase I/II study of GC1008: a human anti-transforming growth factor-beta (TGF β) monoclonal antibody (MAB) in patients with advanced malignant melanoma (MM) or renal cell carcinoma (RCC). *J. Clin. Oncol.*, 2008; 26: Abstract 9028
- [35] Mu Y., Gudey S.K., Landström M.: Non-Smad signaling pathways. *Cell Tissue Res.*, 2012; 347: 11-20
- [36] Oettle H., Seufferlein H. i wsp.: Final results of a phase I/II study in patients with pancreatic cancer, malignant melanoma, and colorectal carcinoma with trabedersen. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30: Abstract 4034
- [37] Padua D., Massagué J.: Roles of TGF β in metastasis. *Cell Res.*, 2009; 19: 89-102
- [38] Pardali E., ten Dijke P.: Transforming growth factor-beta signaling and tumor angiogenesis. *Front. Biosci.*, 2009; 14: 4848-4861
- [39] Peng J., Tsang J.Y., Li D., Niu N., Ho D.H., Lau K.F., Lui V.C., Lamb J.R., Chen Y., Tam P.K.: Inhibition of TGF-beta signaling in combination with TLR7 ligation re-programs a tumoricidal phenotype in tumor-associated macrophages. *Cancer Lett.*, 2013; 331: 239-249
- [40] Penuelas S., Anido J., Prieto-Sánchez R.M., Folch G., Barba I., Cuartas I., García-Dorado D., Poca M.A., Sahuquillo J., Baselga J., Seoane J.: TGF-beta increases glioma-initiating cell self-renewal through the induction of LIF in human glioblastoma. *Cancer Cell*, 2009; 15: 315-327
- [41] Pieniążek M., Donizy P., Ziętek M., Szynglarewicz B., Matkowski R.: Rola szlaków sygnalizacyjnych związanych z TGF- β w patogenezie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) jako głównego elementu warunkującego progresję choroby nowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 583-591
- [42] Qin J., Wu S.P., Creighton C.J., Dai F., Xie X., Cheng C.M., Frolov A., Ayala G., Lin X., Feng X.H., Ittmann M.M., Tsai S.J., Tsai M.J., Tsai S.Y.: COUP-TFII inhibits TGF-beta-induced growth barrier to promote prostate tumorigenesis. *Nature*, 2013; 493: 236-240
- [43] Radisky D.C., LaBarge M.A.: Epithelial-mesenchymal transition and the stem cell phenotype. *Cell Stem Cell*, 2008; 2: 511-512
- [44] Ramesh S., Wildey G.M., Howe P.H.: Transforming growth factor β (TGF β)-induced apoptosis: the rise & fall of Bim. *Cell Cycle*, 2009; 8: 11-17
- [45] Rubtsov Y.P., Rudensky A.Y.: TGF β signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007; 7: 443-453
- [46] Sakaki-Yumoto M., Katsuno Y., Derynck R.: TGF- β family signaling in stem cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1830: 2280-2296
- [47] Schlingensiepen K.H., Bischof A., Egger T., Hafner M., Herrmuth H., Jachimczak P., Kielmanowicz M., Niewel M., Zavadova E., Stauder G.: The TGF-beta1 antisense oligonucleotide AP 11014 for the treatment of non-small cell lung, colorectal and prostate cancer: preclinical studies. *J. Clin. Oncol.*, 2004; 22 (Suppl. 14S): 3132
- [48] Schmierer B., Hill C.S.: TGF β -SMAD signal transduction: molecular specificity and functional flexibility. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 970-982
- [49] Schober M., Fuchs E.: Tumor-initiating stem cells of squamous cell carcinomas and their control by TGF- β and integrin/focal adhesion kinase (FAK) signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 10544-10549
- [50] Shi M., Zhu J., Wang R., Chen X., Mi L., Walz T., Springer T.A.: Latent TGF- β structure and activation. *Nature*, 2011; 474: 343-349
- [51] Silvestri C., Narimatsu M., von Both I., Liu Y., Tan N.B., Izzi L., McCaffery P., Wrana J.L., Attisano L.: Genome-wide identification of Smad/Foxh1 targets reveals a role for Foxh1 in retinoic acid regulation and forebrain development. *Dev. Cell*, 2008; 14: 411-423
- [52] Stalsinska L., Ferenc T.: The role of TGF-beta in cell cycle regulation. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 441-449
- [53] Stepien-Wyrobiec O., Hrycek A., Wyrobiec G.: Transformujący czynnik wzrostu beta (TGF-beta) – budowa, mechanizmy oddziaływania oraz jego rola w patogenezie toczenia rumieniowatego układu. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 688-693
- [54] Tang B., Yoo N., Vu M., Mamura M., Nam J.S., Ooshima A., Du Z., Desprez P.Y., Anver M.R., Michalowska A.M., Shih J., Parks W.T., Wakefield L.M.: Transforming growth factor- β can suppress tumorigenesis through effects on the putative cancer stem or early progenitor cell and committed progeny in a breast cancer xenograft model. *Cancer Res.*, 2007; 67: 8643-8652
- [55] Tian M., Neil J.R., Schiemann W.P.: Transforming growth factor- β and the hallmarks of cancer. *Cell Signal.*, 2011; 23: 951-962
- [56] Vilorio-Petit A.M., David L., Jia J.Y., Erdemir T., Bane A.L., Pin-naduwege D., Roncari L., Narimatsu M., Bose R., Moffat J., Wong J.W., Kerbel R.S., O'Malley F.P., Andrulis I.L., Wrana J.L.: A role for the TGF β -Par6 polarity pathway in breast cancer progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 14028-14033
- [57] Wang Y., Yu Y., Tsuyada A., Ren X., Wu X., Stubblefield K., Rankin-Gee E.K., Wang S.E.: Transforming growth factor- β regulates the

sphere-initiating stem cell-like feature in breast cancer through miRNA-181 and ATM. *Oncogene*, 2011; 30: 1470-1480

[58] Wu M.Y., Hill C.S.: TGF- β superfamily signaling in embryonic development and homeostasis. *Dev. Cell*, 2009; 16: 329-343

[59] Xu P., Liu J., Derynck R.: Post-translational regulation of TGF- β receptor and Smad signaling. *FEBS Lett.*, 2012; 586: 1871-1884

[60] Yang L., Pang Y., Moses H.L.: TGF- β and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends Immunol.*, 2010; 31: 220-227

[61] Zhang B., Halder S.K., Kashikar N.D., Cho Y.J., Datta A., Gorden D.L., Datta P.K.: Antimetastatic role of Smad4 signaling in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 2010; 138: 969-980

[62] Zhang Y.E.: Non-Smad pathways in TGF- β signaling. *Cell Res.*, 2009; 19: 128-139

[63] Zhou C., Liu J., Tang Y., Liang X.: Inflammation linking EMT and cancer stem cells. *Oral Oncol.*, 2012; 48: 1068-1075

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.