

Received: 2013.08.07
Accepted: 2014.02.19
Published: 2014.03.20

Białka z rodziny SMAD: współczesna wiedza na temat ich ekspresji i potencjalnej roli w chorobach nowotworowych*

SMAD family proteins: the current knowledge on their expression and potential role in neoplastic diseases

Magdalena Witkowska, Piotr Smolewski

Zakład Hematologii Doświadczalnej, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Transformujący czynnik wzrostu beta pełni w ludzkim organizmie wiele istotnych funkcji. Bierze udział m.in. w procesach angiogenezy, reguluje wejście komórek w proces apoptozy oraz wykazuje właściwości stymulujące podziały hepatocytów, limfocytów i komórek hematopoetycznych szpiku. Unikalną grupą białek, odpowiedzialnych za przewodzenie sygnału indukowanego przez TGF- β do jądra komórkowego są białka z rodziny SMAD. Jest to grupa białek, która po otrzymaniu sygnału związanego z aktywacją TGF- β , działa na czynniki transkrypcyjne w jądrze komórkowym prowadząc bezpośrednio do ekspresji odpowiednich genów. Według obecnego stanu wiedzy, zaburzenia w funkcjonowaniu białek SMAD zostały wykryte w wielu stanach chorobowych. Ich zmniejszona ekspresja jest obserwowana m.in. w chorobach sercowo-naczyniowych, takich jak pierwotne nadciśnienie płucne czy zawał mięśnia sercowego, chorobach autoimmunologicznych (toczniu układowym rumieniowatym i stwardnieniu rozsianym), chorobie Alzheimer'a czy osteoporozie. Najnowsze wyniki badań wykazały dysfunkcję białek SMAD w chorobach nowotworowych. Mutacja białka SMAD-4 jest obecna u połowy chorych na raka trzustki, 20% chorych na raka jelita grubego i 10% chorych na raka płuca. Mutację białka SMAD-2 natomiast wykryto u 7% chorych na raka jelita grubego i raka płuca. Na podstawie licznych prac można również przypuszczać, że ekspresja białek SMAD może się stać potencjalnym czynnikiem prognostycznym w niektórych chorobach nowotworowych.

Słowa kluczowe:

SMAD • TGF- β • nowotwory • karcinogeneza • apoptoza • angiogeneza

Summary

Transforming growth factor beta (TGF- β) plays a crucial role and takes part in many processes in the human body both in physiology and pathology. This cytokine is involved in angiogenesis, regulates apoptosis and stimulates divisions of cells, such as hepatocytes, lymphocytes or hematopoietic cells. SMAD proteins family is a unique group of particles responsible for transducing the signal induced by TGF- β into the nucleus. This molecules, after receiving a signal from activated TGF- β , act on transcription factors in the nucleus, leading directly to the expression of the corresponding genes. According to current knowledge, disturbances in the

* Praca była sponsorowana przez grant Nr 503/8-093-01/503-01 z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Key words:	functioning of SMAD proteins are present in a number of diseases. The reduced expression was observed, for example in cardiovascular diseases such as primary pulmonary hypertension or myocardial infarction, autoimmune diseases for instance systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis, Alzheimer's disease or osteoporosis. The latest clinical data showed the presence of mutations in SMAD proteins in cancerogenesis. Mutation of SMAD-4 protein can be detected in half of the patients with pancreatic cancer, 20% of patients with colorectal cancer and 10% of patients with lung cancer. However, mutation in SMAD-2 protein was observed in 7% of both patients with colorectal cancer and lung cancer. On the basis of numerous works, SMAD protein expression would be valuable prognostic factor in some of neoplastic diseases.
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1094726
Word count:	3260
Tables:	–
Figures:	2
References:	66

Adres autora: prof. Piotr Smolewski, Zakład Hematologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, WSS. im. M. Kopernika, ul. Ciołkowskiego, 293-510 Łódź; e-mail: piotr_smolewski@wp.pl

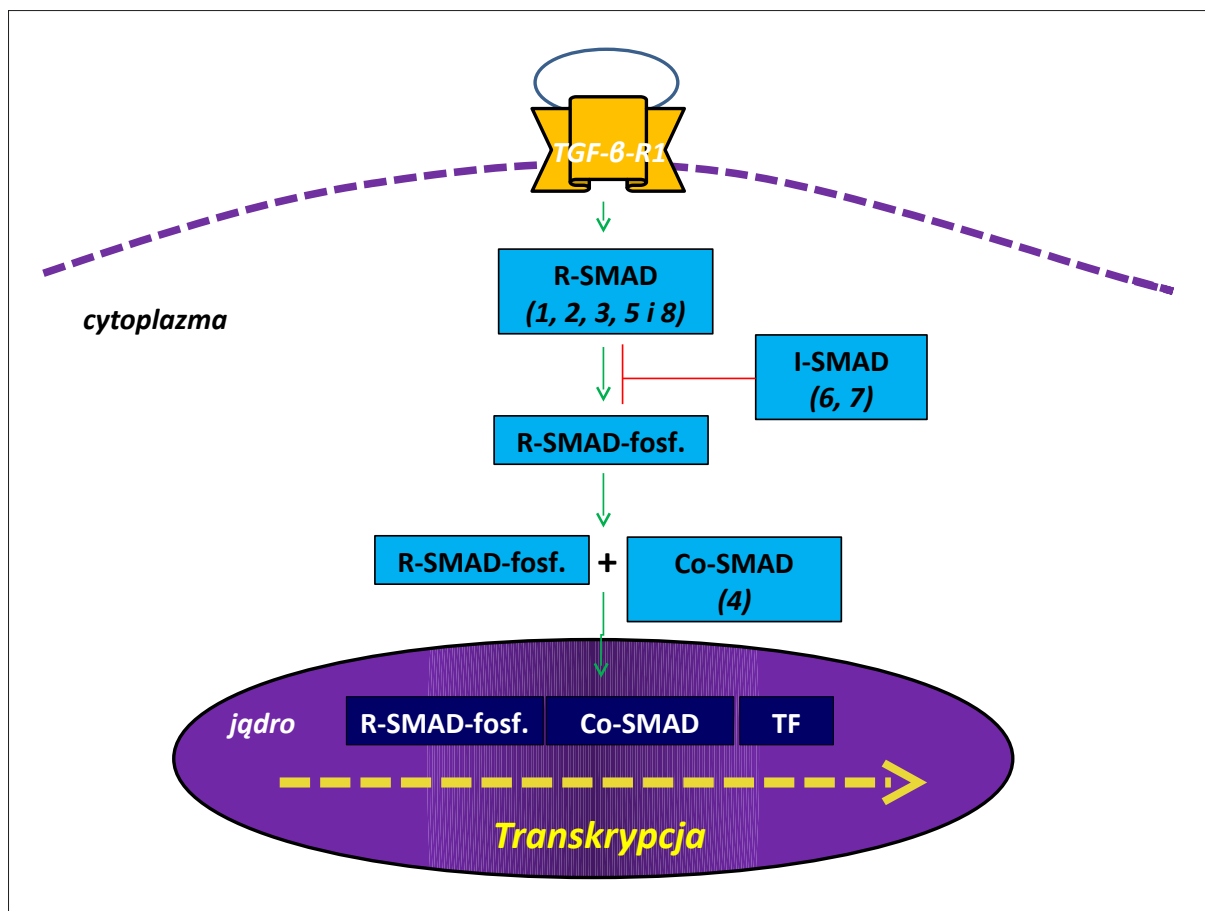
WSTĘP

Białka z rodziny SMAD są unikalną grupą białek uczestniczącą w przekazywaniu sygnału do wnętrza komórki po pobudzeniu receptora TGF- β . Nazwa tej rodziny wywodzi się z dwóch białek homologicznych Sma występującego u *Caenorhabditis elegans* oraz Mad obecnego u *Drosophila melanogaster* [46,48]. Dzięki odkryciu białek SMAD możliwe stało się dokładne opisanie mechanizmu przewodzenia sygnału przez TGF- β z receptorów błonowych do jądra komórkowego. TGF- β jest bardzo istotną cytokiną, która uczestniczy w wielu procesach, m.in. angiogenezy, stymulacji, syntezy i degradacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej, czy regulacji procesu chemotaksji i apoptozy [8,16,27,30,34,56]. Wykazuje również właściwości stymulujące podziały komórek mezenchymalnych oraz hamowanie podziału komórek limfatycznych, endotelialnych, szpiku kostnego oraz hepatocytów. Drogi sygnałowe z udziałem białek SMAD są identyczne zarówno u bezkręgowców, jak i u kręgowców. Świadczy to o bardzo wczesnym ewolucyjnie wykształceniu ich funkcji. Dotychczas udowodniono rolę białek SMAD zarówno w zdrowym, jak i chorym organizmie [3,44]. Fizjologicznie białka te uczestniczą w embriogenezie, procesie gojenia ran czy w obronie przed infekcjami [50]. Zaburzenia ich funkcji zostały zaobserwowane m.in. w chorobach autoimmunologicznych [38], takich jak toczeń układowy rumieniowaty czy stwardnienie rozsiane, chorobie Alzheimera [39], chorobach o podłożu genetycznym oraz w niektórych nowotworach [57]. Ich rola w onkogenezie nie jest nadal całkowicie poznana. Wiadomo, że są odpowiedzialne za pobudzanie spontanicznej apoptozy w komórkach nowotworowych, hamują angiogenezę w komórkach podścieliska guza oraz wspólnie z innymi białkami pobudzającymi przez receptor TGF- β wywołują proces zapalny, powodując namno-

żenie komórek nowotworowych i szybką progresję choroby. Wyniki najnowszych opublikowanych badań wskazują na dużą zależność między ekspresją białek z rodziny SMAD a stopniem zaawansowania i rokowaniem w nowotworach złośliwych (m.in. w raku jelita grubego, trzustki i ostrej białaczce szpikowej). Mutacja białka SMAD-4 jest obecna u połowy chorych na raka trzustki, 20% chorych na raka jelita grubego i 10% chorych na raka płuc. Mutacje białka SMAD-2 zaobserwowano u 7% chorych na raka jelita grubego i 7% chorych na raka płuc.

PODZIAŁ I BUDOWA BIAŁEK Z RODZINY SMAD

Białka z rodziny SMAD można podzielić na trzy podtypy w zależności od funkcji pełnionej w przekazywaniu sygnału przez TGF- β [57]. Pierwszą grupę tworzą białka biorące udział w przekazywaniu sygnału do jądra komórkowego, tzw. białka aktywowane przez receptor (R-SMAD). U ludzi opisano dotychczas pięć, do których należą SMAD-1, -2, -3, -5 i -8. Struktura chemiczna poszczególnych białek z grupy R-SMAD jest bardzo podobna. Każde z nich zawiera dwie konserwatywne domeny: N-kończową i C-kończową, nazwane odpowiednio MH1 i MH2. Obie domeny MH wykazują homologię do białka Mad; są oddzielone od siebie fragmentem łącznikowym. Domena N-kończowa wykazuje aktywność wiązania DNA, podczas gdy C-kończowa odpowiada głównie za oddziaływanie z innymi białkami [41]. Nieaktywne R-SMAD znajdują się w cytoplazmie komórki. Do drugiego podtypu białek zaliczamy białka pośredniczące, tzw. Co-SMAD, jedynym przedstawicielem tej grupy jest białko SMAD-4. Jego funkcja polega na łączeniu się z białkami R-SMAD w celu utworzenia kompleksu, który umożliwi wnikięcie R-SMAD z cytoplazmy do jądra komórkowego. Działanie antagonistyczne w stosunku do obu grup wykazują białka należące



Ryc. 1. Ogólny schemat mechanizmu przekazywania sygnału w komórce z udziałem białek z rodziny SMAD. Przyłączenie się cytokiny TGF-β uaktywnia TβR-I. Białka R-SMAD (1,2,3,5 i 8) znajdujące się głównie w cytoplazmie, po aktywacji są fosforyzowane, a następnie tworzą kompleks z białkiem Co-SMAD (4). Gotowy kompleks jest transportowany do jądra komórkowego, gdzie po połączeniu z DNA wywołuje transkrypcję odpowiednich genów; TGF-β - transformujący czynnik wzrostu beta, TGF-β RI - receptor typu I transformującego czynnika wzrostu, R-SMAD - białka SMAD aktywowane przez receptor, R-SMAD-fosf.- białka SMAD aktywowane przez receptor po fosforylacji, Co-SMAD - białka SMAD pośredniczące, I-SMAD - białka SMAD inhibitorowe, TF- czynnik transkrypcyjny

do grupy trzeciej - białka inhibitorowe (I-SMAD): SMAD-6 i 7. Są one zbudowane jedynie z domeny C-końcowej MH2, przy braku N-końcowej domeny MH1. Obydwa białka w warunkach prawidłowych znajdują się w jądrze komórkowym.

PRZEKAZYWANIE SYGNAŁU ZA POMOCĄ BIAŁEK SMAD

W przekazywaniu sygnału z udziałem TGF-β są zaangażowane trzy typy receptorów błonowych: receptor typu I (TGF-βRI), typu II (TGF-βRII) i typu III (TGF-βRIII) [11]. Receptor typu I (tzw. receptor Alk) jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej 53 kDa. W jego obrębie istnieje siedem podgrup odpowiednio od Alk1 do Alk7. TGF-β działa głównie przez receptory Alk 1, które występują w komórkach endotelialnych - Alk2, obecnych komórkach układu sercowo-naczyniowego oraz najważniejsze z wymienionych - receptory Alk5. Receptor typu I składa się z domeny o aktywności kinazy serynowo-treoninowej, która zajmuje region transbłonowy oraz z domeny odpowiedzialnej za wiązanie liganda [40]. W TGF-βRI występuje również domena zewnątrz błonowa - glicynowo-serynowa (domena GS). Tam się odbywa fosforylacja reszt seryny i treoniny z następującą aktywacją

tego receptora. Wśród receptorów istnieje także typ trzeci - TGF-βRIII, którego rolą jest ułatwienie dostępu liganda do receptorów typu I i II. Masa cząsteczkowa tego receptora wynosi 280-330 kDa [40].

TGF-β wykazuje duże powinowactwo do receptora typu II, przy braku powinowactwa do receptora typu I, dlatego ligand początkowo wiąże się jedynie z receptorem typu II. To pozwala na przyłączenie receptora typu II do TGF-βRI [52]. To wiązanie umożliwia powstanie kompleksu ligand-receptor, który składa się z dimeru białka TGF-β, dwóch cząsteczek TGF-βRI oraz dwóch TGF-βRII. Dzięki takiemu połączeniu dochodzi do fosforylacji reszt seryny i treoniny receptora typu I przez receptor typu II, co powoduje jego aktywację [13]. Zaktywowany receptor przekazuje sygnał bezpośrednio do cytoplazmy, gdzie dochodzi do fosforylacji białek z podgrupy R-SMAD. W fazie spoczynku białka te znajdują się głównie w cytoplazmie, natomiast po ich aktywacji są transportowane do jądra komórkowego, gdzie pozostają tylko na czas stymulacji komórki przez TGF-β. Tam w połączeniu z innymi białkami kofaktorowymi, regulują procesy transkrypcji określonych genów. Istotne jest to, że wolne białka

SMAD mają niewielką swoistość wiązania się z DNA. W celu wygenerowania odpowiedzi transkrypcyjnej jest konieczne aby współdziałały z innymi białkami wiążącymi DNA lub ze sobą nawzajem. Czynniki te mają charakter aktywatorów lub represorów i od ich działania zależy aktywacja lub zahamowanie ekspresji danego genu. Rola białek SMAD polega na wyborze transkrypcyjnych koaktywatorów (np. białka p300) lub korepresorów (np. białka p107), w zależności od typu komórki, w której odbywa się proces i od rodzaju genu, który będzie aktywowany. Mechanizm przekazywania sygnału za pomocą białek SMAD przedstawiono na ryc. 1. Do znanych czynników hamujących funkcje białek SMAD należą m.in. jądrowe onkoproteiny c-Ski i c-Sno.

Białka SMAD-1, -5 i -8 pośredniczą głównie w przekazywaniu sygnału przez działanie białka morfogenetycznego kości (BMP) [36], natomiast białka SMAD-2 i -3 głównie zależnie od TGF. SMAD-4 funkcjonuje jako białko łączące obie drogi. Dotychczas nie poznano dokładnie mechanizmu odpowiedzialnego za transport jądrowo-cytoplazmatycznego białek z rodziny SMAD. Wiadomo, że w tym procesie główną rolę pełni interakcja między nukleoproteinami CAN/Nup214 i Nup153 a białkami SMAD-2 i 3.

Białka z podgrupy I-SMAD negatywnie regulują przesyłanie sygnału przez TGF- β , głównie przez współzawodnictwo z białkami R-SMAD o łączenie z receptorem lub z Co-SMAD. SMAD-7 przyłącza do receptorów TGF- β ligazę ubikwitynową Smurf2 [25], co powoduje degradację i proteosomalną i lizosomalną kompleksów obu receptorów typu I oraz II. Działanie inhibitorowe białka SMAD-6 polega głównie na wybiórczym hamowaniu sygnału przez receptor typu I dla BMP. Dochodzi do niszczenia kompleksu SMAD-1-Co-SMAD i tworzenia nieaktywnego kompleksu SMAD-1-SMAD-6 [21].

Warto podkreślić, że oprócz typowego szlaku odpowiedzi na sygnał generowany przez TGF- β za pośrednictwem białek z rodziny SMAD, istnieją również szlaki niezależne od działania tych białek. Sygnał ten może być przekazywany również przez kinazę białkową aktywowaną przez mitogeny MAPK (mitogen activated protein kinase), w tym głównie przez kinazy białkowe ERK1 i ERK2 (extracellular signal-regulated kinase), JNK (Jun-N terminal kinase), p38 i fosfatidyloinozytolu 3 (phosphoinositide 3-kinase-PI3K) [4]. Szlak niezależny od białek SMAD może być także aktywowany przez endogliny, beta-glikany oraz bliżej nieokreślone białko połączone wiązaniami fosfatydiloinozytolowymi. Warto zauważyć, że beta-glikany nie są obecne we wszystkich typach komórek. Wykazują one cechy koreceptora, który może zostać zastąpiony przez endogliny (m.in. w komórkach endotelialnych) [14].

Innymi poznаныmi drogami przewodzenia pobudzanych przez TGF- β jest szlak zależny od serynowo-treoninowej kinazy Akt, która jest głównym przekazywaczem sygnału w szlaku PI3K [5]. Pełni ona główną rolę w regulacji procesów wzrostu, przeżycia, metabolizmu i proliferacji komórek w organizmie. Mimo że aktywność kinazy Akt nie wystarcza do zainicjowania onkogenezy, z pewnością przyczynia się do progresji choroby.

Pobudzenie TGF- β wpływa również na aktywowanie białek z nadrodziny RAS, kodowanych przez protoonkogen *ras* będący homologiem wirusowego onkogenu zidentyfikowanego w wirusie mięsaka myszy (rat sarcoma), do których zaliczamy: *ras* homolog rodziny member A (RhoA) (Ras homologous), *ras*-related C3 botulinum toxin substrate 1 (Rac1) i cell division control protein 42 (Cdc42) [7,29,66], odpowiedzialne za regulację struktury cytoszkieletu. Z najnowszych badań wynika, że zachowanie prawidłowej budowy i funkcji cytoszkieletu jest konieczne do postępu fazy G₁ cyklu komórkowego, mitozy oraz cytokinezy.

Kolejnym szlakiem niezależnym od białek SMAD jest pobudzanie kinazy białkowej serynowo-treoninowej mTOR (mammalian target of rapamycin) [32]. Jej główna rola polega na regulacji wzrostu i proliferacji komórki oraz na regulowaniu procesów translacji i transkrypcji. Kinaza ta jest odpowiedzialna za integrację wielu szlaków komórkowych, m.in. czynników wzrostu i insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 i 2.

Wykazano również wpływ TGF- β na sygnalizację transkrypcyjnego czynnika jądrowego NF- κ B (nuclear factor kappa B). Głównym działaniem NF- κ B jest jego działanie antyapoptotyczne, które przyczynia się do „nieśmiertelności” zmutowanych komórek i rozwoju wielu chorób o charakterze nowotworowym [18]. Drogi przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego, niezależne od białek SMAD, przedstawiono na ryc. 2.

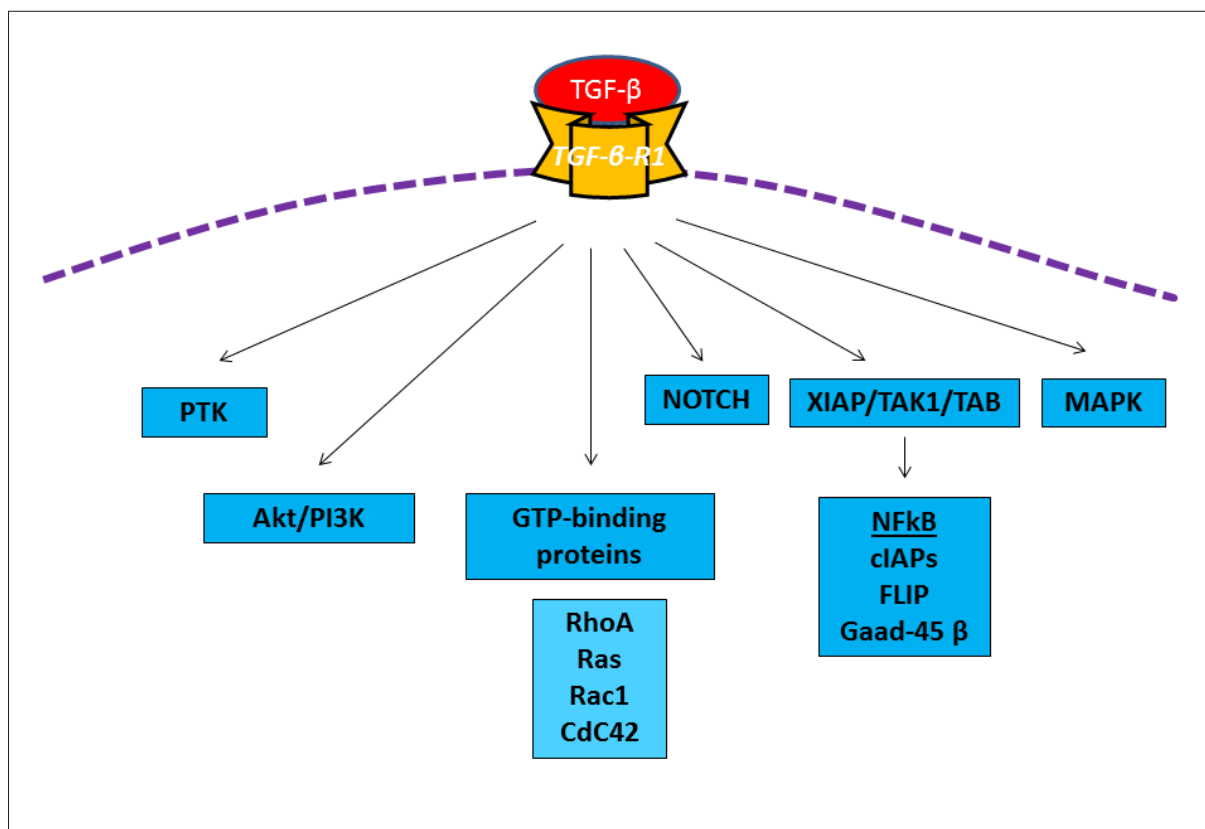
ROLA BIAŁEK SMAD W CHOROBYCH NOWOTWOROWYCH

Guzy mózgu

Zmiany w ekspresji i aktywności białek z rodziny SMAD wykryto na liniach komórkowych i na próbkach pobranych od pacjentów z rozpoznanymi guzami mózgu. W linii komórek glejaka wykryto, że poziom białek SMAD-3 był znacząco niższy w 9 z 10 badanych linii komórkowych [66]. W badaniach prowadzonych przez Kjellmana i wsp. udowodniono, że stężenia mRNA białek SMAD-2, -3 i -4 w próbkach od chorych na glioblastomę były znacząco mniejsze w porównaniu do zdrowych osób [28]. Wyniki te są sprzeczne z danymi otrzymanymi przez Bruna i wsp. [9]. Uzyskali oni wyższe stężenie fosforylowanego białka SMAD-2 (p-SMAD-2), które korelowało z wyższym stopniem zaawansowania glejaka. W celu rozstrzygnięcia tych rozbieżności konieczne są dalsze badania zarówno na liniach komórkowych, jak i próbkach pobranych od chorych na nowotwory ośrodkowego układu nerwowego.

Rak jajnika

Mimo że mutacje w białkach z rodziny SMAD nie są powszechne u chorych na raka jajnika, zaobserwowano je w pierwotnych hodowlach lub liniach komórkowych [51]. Obniżona ekspresja lub całkowita nieobecność białka SMAD-4 zmniejsza zdolność do wiązania DNA. Inaktywacja tego białka wiąże się z bardziej agresywnym przebiegiem



Ryc. 2. Rola TGF- β w przekazywaniu sygnału wewnątrzkomórkowego. Po przyłączeniu TGF- β do receptora dochodzi do uaktywnienia wielu szlaków komórkowych obecnych w komórkach nowotworów złośliwych, takich jak Notch, mitogeny MAPK, PI3K, białek łączących GTP, białek z nadrodziny Ras, czy czynnika jądrowy NF- κ B; TGF- β - transformujący czynnik wzrostu beta, TGF- β RI - receptor typu I transformującego czynnika wzrostu, PTK - kinazy tyrozynowej, PI3K - kinazę fosfatydylinozytolu 3, AKT- kinaza białkowa B, MAPK - kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny, GTP - białka wiążące GTP

tego nowotworu [1]. Na podstawie badań Chana i wsp. podejrzewano, że SMAD-3 i -4 są zaangażowane w tworzeniu przerzutów odległych [10]. Deregulacja w szlaku sygnalizacji TGF- β /SMAD-4 powoduje wyciszenie domniemanego genu supresorowego RunX1T1 w czasie procesu kancerogenezy [64]. Za pomocą techniki mikromacierzy wykazano, że ekspresja genu *SMAD-4* była zupełnie inna u osób zdrowych w porównaniu do chorych na raka jajnika [35]. Był to również niezależny czynnik prognostyczny warunkujący krótsze przeżycie pacjentów z rakiem jajnika [26].

Rak piersi

W wielu badaniach udowodniono defekt w szlaku sygnałowym zależnym od białek SMAD, zaburzenia te nie są zbyt częste w raku piersi. Według dotychczas przeprowadzonych badań klinicznych, udowodniono zmniejszenie ekspresji białek SMAD-4, co wiązało się z gorszym rokowaniem i krótszym czasem przeżycia pacjentów [60]. Białko SMAD-4 może być również niezależnym czynnikiem rokowniczym u chorych na przewodowego raka piersi [37]. Nieliczne badania potwierdzają również rolę białka SMAD-6. U pacjentów z agresywnym przebiegiem opisano zmniejszoną ekspresję tego białka oraz białka SMAD-4. Wiązało się to również z opornością na leczenie 5-fluorouracyłem [65].

Rak żołądka

Wśród chorych na raka żołądka wykazano zależność między aktywacją szlaku z udziałem białek SMAD a przebiegiem choroby. Shinto i wsp. zbadali korelację między poziomem ekspresji SMAD-2 a rokowaniem u poszczególnych chorych [53]. Poziom ekspresji SMAD-2 był znacznie wyższy u pacjentów z postacią rozlaną oraz u chorych z mnogimi przerzutami. Wiązało się to ze znacznie gorszym rokowaniem w tej grupie. Zmniejszone pobudzenie szlaku TGF- β może być również spowodowane zmniejszoną ekspresją białka SMAD-3. Małe lub niewykrywalne stężenie tego białka zaobserwowano w 37,5% komórek raka żołądka. W liniach komórkowych, które wykazywały niedobór ekspresji SMAD-3, po wprowadzeniu genu tego białka, dochodziło do zahamowania wzrostu i namnażania komórek nowotworowych powodowane szlakiem zależnym od TGF- β [20].

Rak wątrobowo-komórkowy

Dotychczas przeprowadzone badania kliniczne wykazały nadekspresję białka SMAD-3 u chorych na raka wątrobowo-komórkowego. Białko to promuje apoptozę indukowaną pobudzeniem z dwóch źródeł, zarówno przez TGF- β , jak i aktywacją szlaku zależnego od kinaz MAP (MAPK)

i białka p53, które występują selektywnie w komórkach nowotworowych wątroby [62]. Białko to dodatkowo tłumia transkrypcję podstawowych inhibitorów apoptozy, białek z rodziny BCL-2, przez bezpośrednie wiązanie do swojego promotora [63].

Rak jelita grubego

Defekt w sygnale przewodzenia przez białka z rodziny SMAD jest częstą anomalią u chorych na raka jelita grubego. Obecność mutacji białka SMAD-2 wykryto prawie u 6% pacjentów [15]. Większość zaburzeń wykryto w domenie MH2 tego białka, co zapobiega tworzeniu się kompleksu z SMAD-3 i SMAD-4. Mutacja SMAD-3 jest bardzo rzadko spotykana w guzach litych, podczas gdy mutacja zmiany sensu w tym genie została stwierdzona na liniach komórkowych raka jelita grubego [31]; zmniejsza to aktywność tego białka. Zmniejszona ekspresja białka SMAD-4 została zidentyfikowana u chorych z zaawansowanym rakiem okrężnicy i w 16% raków jelita grubego [55]. W wielu badaniach klinicznych udowodniono zmniejszoną ekspresję białek z rodziny SMAD u chorych na raka jelita grubego. Dotyczy to najczęściej danych związanych z SMAD-4 oraz SMAD-2. Ma to bezpośredni związek ze złym rokowaniem, z powodu większego zaawansowania choroby i obecności przerzutów do węzłów chłonnych w chwili diagnozy [61].

Rak trzustki

Rak trzustki jest jednym z najgorzej rokujących nowotworów, ze względu na wysoki stopień zaawansowania choroby w chwili rozpoznania, oporności na leczenie oraz agresywny przebieg. W wykonanych dotychczas badaniach wykazano ścisły związek między utratą ekspresji białka SMAD-4 a rozwojem raka trzustki. Mutacja lub delecja SMAD-4 jest dobrze scharakteryzowanym zaburzeniem w szlaku TGF- β , które występuje na późnym etapie rozwoju nowotworu. W raku trzustki, homozygotyczna mutacja SMAD-4 jest obecna w około 30% przypadków, inaktywacja tego białka jest stwierdzana w około 20% przypadków, natomiast utrata całego regionu 18Q - u prawie 90% chorych [17]. Wymienione wyżej mutacje występują głównie w domenie MH2, natomiast mutacje nonsensowne, zmiany sensu i zmiany ramki odczytu są obecne zarówno w domenie MH2, jak MH1 [19].

Podwójna rola mutacji SMAD-4 została odkryta na modelu raka trzustki u myszy. Chociaż delecja genu kodującego białko SMAD-4, jak i receptora typu 2 dla TGF- β nie wpływają na rozwój tego nowotworu, jednak aktywacja K-Ras, utrata ekspresji białka SMAD-4 lub T β RII prowadziły do szybkiej progresji nowotworu. Możliwym wytłumaczeniem jest to, że część SMAD-4 pośredniczy w hamowaniu sygnalizacji poprzez TGF- β , głównie w zaawansowanym stadium raka trzustki.

Istotnym odkryciem było stwierdzenie przez Smirne'a i wsp. wysokiego poziomu TGF- β u chorych na gruczolakoraka trzustki [54]. Wskazuje, że

TGF- β mogłoby się stać użytecznym markerem do monitorowania aktywności choroby.

Rak płuca

Zmniejszona ekspresja białek szlaku TGF- β prawdopodobnie ma również istotny wpływ na rozwój raka płuca. Jeon i wsp. zaobserwowali korelację między dłuższym czasem przeżycia a nieobecnością białka inhibitorowego SMAD-6 [24]. Ponadto część ta przyczynia się do rozwoju raka płuca przez ograniczenie działania hamującego wzrost komórek zależnego od szlaku TGF- β [58]. Nieobecność białka SMAD-6 powoduje wzrost spontanicznej apoptozy w komórkach raka płuca.

Ostra białaczka szpikowa

W kręgu chorób hematologicznych zaburzenia ekspresji i funkcji białek z rodziny SMAD zostały najlepiej udokumentowane u chorych na ostrą białaczkę szpikową (OBS). Szlak zależny od TGF- β jest silnym inhibitorem proliferacji komórek białaczkowych. W OBS, w wyniku translokacji t(8, 21) powstaje chimeryczny czynnik transkrypcyjny AML1/ETO. W badaniach przeprowadzonych przez Jakubowiaka i wsp. wykazano, że AML1/ETO tłumia aktywność transkrypcyjną i blokuje odpowiedź zależną od TGF- β 1 [23]. Gen fuzyjny AML1/ETO prawdopodobnie wiąże się z białkiem SMAD-3 zamiast pobudzania szlaku sygnałowego zależnego od TGF- β . To może zaburzać aktywność TGF- β przyczyniając się do rozwoju białaczki.

U chorych na OBS wykryto ponadto obecność mutacji w białku SMAD-4, która wpływa na zmniejszoną ekspresję lub całkowitą nieobecność tej cząsteczki. Charakteryzują się one przede wszystkim mutacją zmiany sensu w domenie MH1 i mutacją zmiany ramki odczytu w domenie MH2. Zmutowane białko SMAD-4 nie wykazuje aktywności transkrypcji [22].

W ostrej białaczce promielocytowej (APL) obecna jest translokacja t(15, 17), dochodzi do fuzji genu 17q12 receptora kwasu retinowego α (RAR α) z jądrowym czynnikiem regulacyjnym (PML) na chromosomie 15q22. W rezultacie powstaje białko fuzyjne PML-RAR α . PML występuje w dwóch izoformach jądrowej i cytoplazmatycznej, izoforma cytoplazmatyczna jest konieczna do powstania kompleksu SMAD-2/3 z białkiem kotwiczącym SARA (Smad anchor for activation) oraz do nagromadzenia się białka SARA wraz z receptorami TGF- β . To powoduje fosforylację białek SMAD [35].

Przewlekła białaczka szpikowa

U chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (PBSz), obecność t(9,22) powoduje powstawanie genu fuzyjnego BCR-ABL (w badaniu cytogenetycznym powstaniu chromosomu Philadelphia). Białko fuzyjne BCR-ABL jest kinazą tyrozynową, która zwiększa oporność komórek nowotworowych na działanie TGF- β : hamowania wzro-

stu komórek i procesu apoptozy. W PBSz, ekspresja protoonkogenu *EVI-1*, która jest na bardzo niskim poziomie w prawidłowych komórkach krwiotwórczych, jest znacznie zwiększona [47]. Protoonkogen *EVI-1* wiąże się z domeną MH2 białka SMAD-3 tłumiąc jego zdolność do wiązania się z DNA i aktywność transkrypcyjną. W ten sposób dochodzi do wy tłumienia sygnalizacji przez szlak TGF- β .

Moller i wsp. wykazali, że gen *BCR-ABL*, wzmacnia sygnał przewodzenia szlaku TGF- β w komórkach COS-1 [42]. Zwiększona ekspresja *BCR-ABL* w tych komórkach pobudza aktywność transkrypcyjną TGF- β , pośredniczy przez interakcję między T β RI i domeną kinazy *BCR-ABL*. To powoduje zwiększenie aktywności białka SMAD-3 i SMAD2.

Ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkowa

U dzieci chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną T-komórkową (T-OBL), białko SMAD-3 jest nieobecne lub jego ekspresja jest znacznie mniejsza niż u osób zdrowych [59]. Jednak mRNA SMAD-3 jest wykrywalne i jego poziom jest podobny. Poziom ekspresji SMAD-3 jest decydujący dla komórek białaczkowych podczas odpowiedzi na TGF- β . Zmniejszenie ekspresji białka SMAD-3 wpływa na ekspresję innych onkogenów. W dotychczasowych badaniach wykazano, że utrata ekspresji białka SMAD-3 może współistnieć z utratą ekspresji białka p27. Utrata ekspresji p27 jest często obserwowana w ludzkich komórkach białaczkowych, promując szybki rozwój tego nowotworu [59].

U dorosłych chorych na T-OBL sygnalizacja przez szlak TGF- β jest inaktywowana przez aktywność wirusowej onkoproteiny TAX. Częstka ta utrudnia aktywację promotorów szlaku TGF- β hamując zdolności do pośredniczenia białek SMAD w aktywacji transkrypcyjnego czynnika CBP/p300 [43]. Według innego modelu białko TAX współdziała z domeną MH2 białek SMAD-2, -3 i -4 w celu hamowania tworzenia się kompleksu SMAD-3/4. Następuje zakłócenie interakcji między białkami SMAD a czynnikiem transkrypcyjnym CBP/p300. Nie dochodzi do wiązania się kompleksów złożonych z białek SMAD z docelową sekwencją DNA, a tym samym hamowania sygnalizacji TGF- β [33]. Białko TAX pośredniczy również w aktywacji JNK, co prowadzi do zwiększonej fosforylacji c-Jun. Jest ona następnie bodźcem do tworzenia kompleksu SMAD-3/c-Jun, który hamuje zdolność białek SMAD-3 do wiązania się z DNA [2].

Chłoniaki nieziarnicze

W chłoniakach nieziarniczych (non-Hodgkin' lymphomas; NHL) B-komórkowych wykazano dotychczas pod-

wyższone stężenie SMAD-1 oraz aktywację jego fosforylacji w odpowiedzi na sygnalizację TGF- β . To wskazuje na rolę SMAD-1 w pośredniczeniu w przekazywaniu sygnału wywołanego przez TGF- β NHL [45]. W innych badaniach u chorych na B-komórkowe NHL, stwierdzono, że fosforylacja białek SMAD-1 i -5 jest głównym procesem umożliwiającym antyproliferacyjne wywołanie pobudzenia TGF- β . Duża aktywność receptora T β RI w tych komórkach odgrywa prawdopodobnie ważną rolę w sygnalizacji przez białka SMAD-1 i -5 [6]. Ponadto, w regulacji proliferacji przez TGF- β jest co najmniej częściowo zależna od aktywacji p38 MAPK [6]. Linia komórkowa oporna na TGF- β nie ma funkcjonalnych receptorów T β RII. Prowadzi to do braku jądrowej translokacji fosforylowanych białek SMAD-3 i SMAD-2 oraz braku ekspresji białka p21 i zmniejszenia ekspresji c-Myc [12].

W chłoniaku rozlanym z dużych limfocytów B (diffuse large B-cell lymphoma; DLBCL), miR-155, którego ekspresja w tym typie chłoniaka jest nadmierna, wiąże się z białkiem SMAD-5 poprzez 3' UTR genu *SMAD-5*. Leczenie linii komórkowej DLBCL TGF- β 1 spowodowało fosforylację SMAD-2 i -3, ale także SMAD-1. Wskazuje to na aktywną sygnalizację. Nadekspresja miR-155 w tej linii komórkowej korelowała ze słabszym przewodzeniem sygnału za pośrednictwem TGF- β 1 i indukcji p21CIP1. W nadekspresji miR-155 i zmniejszonej ekspresji SMAD5 dochodzi do zakłócenia p21CIP1. Indukuje to szlak niezależny od hamującego wpływu TGF- β 1 tworząc związek między miR-155, szlakiem zależnym od TGF- β a rozwojem nowotworu [49].

PODSUMOWANIE

Udział białek z rodziny SMAD oraz szlaku sygnalizującego z udziałem TGF- β jest bardzo złożonym i precyzyjnie regulowanym procesem, który odgrywa istotną rolę podczas rozwoju organizmu oraz utrzymaniu jego homeostazy. Jest on szeroko powiązany z wieloma innymi szlakami sygnałowymi (PI3-K, NF- κ B, czy kinazami MAP). Co więcej, jest on zaangażowany w kancerogenezę nie tylko guzów litych, ale również nowotworów układu krwiotwórczego. Paradoksalnie, białka z rodziny SMAD mogą pełnić rolę zarówno supresorową, jak i promotorową w rozwoju nowotworu. Działanie hamujące kancerogenezę zostało szczegółowo opisane jako działanie antyproliferacyjne i proapoptotyczne. Podczas progresji nowotworu często dochodzi do hamowania aktywności TGF- β i w rezultacie zmniejszonej ekspresji lub całkowitego braku białek z rodziny R-SMAD. Postępy w badaniach pomogły udowodnić przydatność oceny ekspresji białek SMAD, jako niezależnego czynnika prognostycznego, m.in. w raku trzustki i jelita grubego. Nadal brakuje pewnych i kompletnych danych z badań w innych chorobach nowotworowych.

PÍSMIENICTWO

- [1] Antony M.L., Nair R., Sebastian P., Karunagaran D.: Changes in expression, and/or mutations in TGF- β receptors (TGF- β RI and TGF- β RII) and Smad 4 in human ovarian tumors. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2010; 136: 351-361
- [2] Arnulf B., Villemain A., Nicot C., Mordelet E., Charneau P., Kersual J., Zermati Y., Mauviel A., Bazarbachi A., Hermine O.: Human T-cell lymphotropic virus oncoprotein Tax represses TGF- β 1 signaling in human T cells via c-Jun activation: a potential mechanism of HTLV-I leukemogenesis. *Blood*, 2002; 100: 4129-4138
- [3] Attisano L., Wrana J.L.: Smads as transcriptional co-modulators. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2000; 12: 235-243
- [4] Bakin A.V., Rinehart C., Tomlinson A.K., Arteaga C.L.: p38 mitogen-activated protein kinase is required for TGF β -mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration. *J. Cell. Sci.*, 2002; 115: 3193-3206
- [5] Bakin A.V., Tomlinson A.K., Bhowmick N.A., Moses H.L., Arteaga C.L.: Phosphatidylinositol 3-kinase function is required for transforming growth factor β -mediated epithelial to mesenchymal transition and cell migration. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 36803-36810
- [6] Bakkebo M., Huse K., Hilden V.I., Smeland E.B., Oksvold M.P.: TGF- β -induced growth inhibition in B-cell lymphoma correlates with Smad1/5 signalling and constitutively active p38 MAPK. *BMC Immunol.*, 2010; 11: 57
- [7] Bhowmick N.A., Ghiassi M., Bakin A., Aakre M., Lundquist C.A., Engel M.E., Arteaga C.L., Moses H.L.: Transforming growth factor- β 1 mediates epithelial to mesenchymal transdifferentiation through a RhoA-dependent mechanism. *Mol. Biol. Cell.*, 2001; 12: 27-36
- [8] Brierie B., Moses H.L.: Tumour microenvironment: TGF β : the molecular Jekyll and Hyde of cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2006; 6: 506-520
- [9] Bruna A., Darken R.S., Rojo F., Ocaña A., Peñuelas S., Arias A., Paris R., Tortosa A., Mora J., Baselga J., Seoane J.: High TGF β -Smad activity confers poor prognosis in glioma patients and promotes cell proliferation depending on the methylation of the PDGF-B gene. *Cancer Cell*, 2007; 11: 147-160
- [10] Chan M.W., Huang Y.W., Hartman-Frey C., Kuo C.T., Deatherage D., Qin H., Cheng A.S., Yan P.S., Davuluri R.V., Huang T.H., Nephew K.P., Lin H.J.: Aberrant transforming growth factor β 1 signaling and SMAD4 nuclear translocation confer epigenetic repression of ADAM19 in ovarian cancer. *Neoplasia*, 2008; 10: 908-919
- [11] Cheifetz S., Weatherbee J.A., Tsang M.L., Anderson J.K., Mole J.E., Lucas R., Massagué J.: The transforming growth factor- β system, a complex pattern of cross-reactive ligands and receptors. *Cell*, 1987; 48: 409-415
- [12] Chen G., Ghosh P., Osawa H., Sasaki C.Y., Rezanka L., Yang J., O'Farrell T.J., Longo D.L.: Resistance to TGF- β 1 correlates with aberrant expression of TGF- β receptor II in human B-cell lymphoma cell lines. *Blood*, 2007; 109: 5301-5307
- [13] Derynck R., Feng X.H.: TGF- β receptor signaling. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997; 1333: F105-F150
- [14] Engel M.E., McDonnell M.A., Law B.K., Moses H.L.: Interdependent SMAD and JNK signaling in transforming growth factor- β -mediated transcription. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 37413-37420
- [15] Eppert K., Scherer S.W., Ozcelik H., Pirone R., Hoodless P., Kim H., Tsui L.C., Bapat B., Gallinger S., Andrulis I.L., Thomsen G.H., Wrana J.L., Attisano L.: MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGF β -regulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell*, 1996; 86: 543-552
- [16] Flanders K.C., Burmester J.K.: Medical applications of transforming growth factor- β . *Clin. Med. Res.*, 2003; 1: 13-20
- [17] Furukawa T.: Molecular pathology of pancreatic cancer: implications for molecular targeting therapy. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*; 2009; 7 (Suppl. 11): S35-S39
- [18] Gingery A., Bradley E.W., Pederson L., Ruan M., Horwood N.J., Oursler M.J.: TGF- β coordinately activates TAK1/MEK/AKT/NF κ B and SMAD pathways to promote osteoclast survival. *Exp. Cell Res.*, 2008; 314: 2725-2738
- [19] Hahn S.A., Hoque A.T., Moskaluk C.A., da Costa L.T., Schutte M., Rozenblum E., Seymour A.B., Weinstein C.L., Yeo C.J., Hruban R.H., Kern S.E.: Homozygous deletion map at 18q21.1 in pancreatic cancer. *Cancer Res.*, 1996; 56: 490-494
- [20] Han S.U., Kim H.T., Seong D.H., Kim Y.S., Park Y.S., Bang Y.J., Yang H.K., Kim S.J.: Loss of the Smad3 expression increases susceptibility to tumorigenicity in human gastric cancer. *Oncogene*, 2004; 23: 1333-1341
- [21] Hata A., Lagna G., Massagué J., Hemmati-Brivanlou A.: Smad6 inhibits BMP/Smad1 signaling by specifically competing with the Smad4 tumor suppressor. *Genes Dev.*, 1998; 12: 186-197
- [22] Imai Y., Kurokawa M., Izutsu K., Hangaishi A., Maki K., Ogawa S., Chiba S., Mitani K., Hirai H.: Mutations of the Smad4 gene in acute myelogenous leukemia and their functional implications in leukemogenesis. *Oncogene*, 2001; 20: 88-96
- [23] Jakubowiak A., Pouppnot C., Berguido F., Frank R., Mao S., Massagué J., Nimer S.D.: Inhibition of the transforming growth factor β 1 signaling pathway by the AML1/ETO leukemia-associated fusion protein. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 40282-40287
- [24] Jeon H.S., Dracheva T., Yang S.H., Meerzaman D., Fukuoka J., Shakoobi A., Shilo K., Travis W.D., Jen J.: SMAD6 contributes to patient survival in non-small cell lung cancer and its knockdown re-establishes TGF- β homeostasis in lung cancer cells. *Cancer Res.*, 2008; 68: 9686-9692
- [25] Kavsak P., Rasmussen R.K., Causing C.G., Bonni S., Zhu H., Thomson G.H., Wrana J.L.: Smad7 binds to Smurf2 to form an E3 ubiquitin ligase that targets the TGF β receptor for degradation. *Mol. Cell.*, 2000; 6: 1365-1375
- [26] Kennedy B.A., Deatherage D.E., Gu F., Tang B., Chan M.W., Nephew K.P., Huang T.H., Jin V.X.: ChIP-seq defined genome-wide map of TGF β /SMAD4 targets: implications with clinical outcome of ovarian cancer. *PLoS One*, 2011; 6: e22606
- [27] Kim S.G., Jong H.S., Kim T.Y., Lee J.W., Kim N.K., Hong S.H., Bang Y.J.: Transforming growth factor- β 1 induces apoptosis through Fas ligand-independent activation of the Fas death pathway in human gastric SNU-620 carcinoma cells. *Mol. Biol. Cell*, 2004; 15: 420-434
- [28] Kjellman C., Olofsson S.P., Hansson O., Von Schantz T., Lindvall M., Nilsson I., Salford L.G., Sjögren H.O., Widegren B.: Expression of TGF- β isoforms, TGF- β receptors, and Smad molecules at different stages of human glioma. *Int. J. Cancer*, 2000; 89: 251-258
- [29] Klimaszewska-Wisniewska A., Nowak J.M., Żyryń A., Grzanka A.: Udział białek Rho w regulacji postępu fazy G1 cyklu komórkowego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 15-25
- [30] Krzemień S., Knapczyk P.: Aktualne poglądy dotyczące znaczenia transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- β) w patogenezie niektórych stanów chorobowych. *Wiad. Lek.*, 2005; 58: 536-539
- [31] Ku J.L., Park S.H., Yoon K.A., Shin Y.K., Kim K.H., Choi J.S., Kang H.C., Kim I.J., Han I.O., Park J.G.: Genetic alterations of the TGF- β signaling pathway in colorectal cancer cell lines: a novel mutation in Smad3 associated with the inactivation of TGF- β -induced transcriptional activation. *Cancer Lett.*, 2007; 247: 283-292
- [32] Lamouille S., Derynck R.: Cell size and invasion in TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition is regulated by activation of the mTOR pathway. *J. Cell Biol.*, 2007; 178: 437-451

- [33] Lee D.K., Kim B.C., Brady J.N., Jeang K.T., Kim S.J.: Human T-cell lymphotropic virus type 1 tax inhibits transforming growth factor- β signaling by blocking the association of Smad proteins with Smad-binding element. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 33766-33775
- [34] Lee K.Y., Bae S.C.: TGF- β -dependent cell growth arrest and apoptosis. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2002; 35: 47-53
- [35] Lin H.K., Bergmann S., Pandolfi P.P.: Cytoplasmic PML function in TGF- β signalling. *Nature*, 2004; 431: 205-211
- [36] Liu F., Hata A., Baker J.C., Doody J., Cárcamo J., Harland R.M., Massagué J.: A human Mad protein acting as a BMP-regulated transcriptional activator. *Nature*, 1996; 381: 620-623
- [37] Liu N.N., Xi Y., Callaghan M.U., Fribley A., Moore-Smith L., Zimmerman J.W., Pasche B., Zeng Q., Li Y.L.: SMAD4 is a potential prognostic marker in human breast carcinomas. *Tumour Biol.*, 2014; 35: 641-650
- [38] Lu L.Y., Chu J.J., Lu P.J., Sung P.K., Hsu C.M., Tseng J.C.: Expression of intracellular transforming growth factor-beta1 in CD4⁺CD25⁺ cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2008; 41: 165-173
- [39] Lueddecking E.K., DeKosky S.T., Mehdi H., Ganguli M., DeKosky S.T., Kamboh M.I.: Analysis of genetic polymorphisms in the transforming growth factor beta1 gene and the risk of Alzheimer's disease. *Hum. Genet.*, 2000; 106: 565-569
- [40] Massagué J.: Receptors for the TGF- β family. *Cell*, 1992; 69: 1067-1070
- [41] Massagué J., Seoane J., Wotton D.: Smad transcription factors. *Genes Dev.*, 2005; 19: 2783-2810
- [42] Möller G.M., Frost V., Melo J.V., Chantry A.: Upregulation of the TGF β signalling pathway by Bcr-Abl: implications for haemopoietic cell growth and chronic myeloid leukaemia. *FEBS Lett.*, 2007; 581: 1329-1334
- [43] Mori N., Morishita M., Tsukazaki T., Giam C.Z., Kumatori A., Tanaka Y., Yamamoto N.: Human T-cell leukemia virus type I oncoprotein Tax represses Smad-dependent transforming growth factor β signaling through interaction with CREB-binding protein/p300. *Blood*, 2001; 97: 2137-2144
- [44] Moustakas A., Souchelnytskyi S., Heldin C.H.: Smad regulation in TGF- β signal transduction. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 4359-4369
- [45] Munoz O., Fend F., de Beaumont R., Husson H., Astier A., Freedman A.S.: TGF β -mediated activation of Smad1 in B-cell non-Hodgkin's lymphoma and effect on cell proliferation. *Leukemia*, 2004; 18: 2015-2025
- [46] Niemczyk M., Foronczewicz B., Mucha K.: Rola TGF beta. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2005; 113: 401-408
- [47] Ogawa S., Kurokawa M., Tanaka T., Tanaka K., Hangaishi A., Mitani K., Kamada N., Yazaki Y., Hirai H.: Increased Evi-1 expression is frequently observed in blastic crisis of chronic myelocytic leukemia. *Leukemia*, 1996; 10: 788-794
- [48] Osman A., Niles E.G., LoVerde P.T.: Expression of functional *Schistosoma mansoni* Smad 4: role in Erk-mediated transforming growth factor β (TGF- β) down-regulation. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 6474-6486
- [49] Rai D., Kim S.W., McKeller M.R., Dahia P.L., Aguiar R.C.: Targeting of SMAD5 links microRNA-155 to the TGF- β pathway and lymphomagenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 3111-3116
- [50] Roberts A.B., Sporn M.B., Assoian R.K., Smith J.M., Roche N.S., Wakefield L.M., Heine U.I., Liotta L.A., Falanga V., Khehl J.H., Fauci A.S.: Transforming growth factor type β : rapid induction of fibrosis and angiogenesis *in vivo* and stimulation of collagen formation *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 4167-4171
- [51] Schutte M., Hruban R.H., Hedrick L., Cho K.R., Nadasdy G.M., Weinstein C.L., Bova G.S., Isaacs W.B., Cairns P., Nawroz H., Sidransky D., Casero R.A. Jr., Meltzer P.S., Hahn S.A., Kern S.E.: DPC4 gene in various tumor types. *Cancer Res.*, 1996; 56: 2527-2530
- [52] Shi Y., Massagué J.: Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*, 2003; 113: 685-700
- [53] Shinto O., Yashiro M., Toyokawa T., Nishii T., Kaizaki R., Matsuzaki T., Noda S., Kubo N., Tanaka H., Doi Y., Ohira M., Muguruma K., Sawada T., Hirakawa K.: Phosphorylated smad2 in advanced stage gastric carcinoma. *BMC Cancer*, 2010; 10: 652
- [54] Smirne C., Camandona M., Alabiso O., Bellone G., Emanuelli G.: High serum levels of transforming growth factor-beta1, interleukin-10 and vascular endothelial growth factor in pancreatic adenocarcinoma patients. *Minerva Gastroenterol. Dietol.*, 1999; 45: 21-27
- [55] Takagi Y., Kohmura H., Futamura M., Kida H., Tanemura H., Shimokawa K., Saji S.: Somatic alterations of the DPC4 gene in human colorectal cancers *in vivo*. *Gastroenterology*, 1996; 111: 1369-1372
- [56] Talar B., Czyż M.: Rola szlaków sygnałowych TGF- β w nowotworach. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1008-1017
- [57] Tian M., Neil J.R., Schiemann W.P.: Transforming growth factor- β and the hallmarks of cancer. *Cell. Signal.*, 2011; 23: 951-962
- [58] Vázquez P.F., Carlini M.J., Daroqui M.C., Colombo L., Dalurzo M.L., Smith D.E., Grasselli J., Pallotta M.G., Ehrlich M., Bal de Kier Joffé E.D., Puricelli L.: TGF-beta specifically enhances the metastatic attributes of murine lung adenocarcinoma: implications for human non-small cell lung cancer. *Clin. Exp. Metastasis*, 2013; 30: 993-1007
- [59] Wolfrum L.A., Fernandez T.M., Mamura M., Fuller W.L., Kumar R., Cole D.E., Byfield S., Felici A., Flanders K.C., Walz T.M., Roberts A.B., Aplan P.D., Balis F.M., Letterio J.J.: Loss of Smad3 in acute T-cell lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2004; 351: 552-559
- [60] Xie W., Mertens J.C., Reiss D.J., Rimm D.L., Camp R.L., Haffty B.G., Reiss M.: Alterations of Smad signaling in human breast carcinoma are associated with poor outcome: a tissue microarray study. *Cancer Res.*, 2002; 62: 497-505
- [61] Xie W., Rimm D.L., Lin Y., Shih W.J., Reiss M.: Loss of Smad signaling in human colorectal cancer is associated with advanced disease and poor prognosis. *Cancer J.*, 2003; 9: 302-312
- [62] Yamamura Y., Hua X., Bergelson S., Lodish H.F.: Critical role of Smads and AP-1 complex in transforming growth factor- β -dependent apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 36295-36302
- [63] Yang Y.A., Zhang G.M., Feigenbaum L., Zhang Y.E.: Smad3 reduces susceptibility to hepatocarcinoma by sensitizing hepatocytes to apoptosis through downregulation of Bcl-2. *Cancer Cell*, 2006; 9: 445-457
- [64] Yeh K.T., Chen T.H., Yang H.W., Chou J.L., Chen L.Y., Yeh C.M., Chen Y.H., Lin R.I., Su H.Y., Chen G.C., Deatherage D.E., Huang Y.W., Yan P.S., Lin H.J., Nephew K.P., Huang T.H., Lai H.C., Chan M.W.: Aberrant TGF β /SMAD4 signaling contributes to epigenetic silencing of a putative tumor suppressor, RunX1T1 in ovarian cancer. *Epigenetics*, 2011; 6: 727-739
- [65] Yu S.L., Lee D.C., Son J.W., Park C.G., Lee H.Y., Kang J.: Histone deacetylase 4 mediates SMAD family member 4 deacetylation and induces 5-fluorouracil resistance in breast cancer cells. *Oncol. Rep.*, 2013; 30: 1293-1300
- [66] Zhang L., Sato E., Amagasaki K., Nakao A., Naganuma H.: Participation of an abnormality in the transforming growth factor- β signaling pathway in resistance of malignant glioma cells to growth inhibition induced by that factor. *J. Neurosurg.*, 2006; 105: 119-128

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.