

TGF- β (Transforming Growth Factor- β) ve Sinyal İletimi

TGF- β (TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β) AND SIGNAL TRANSDUCTION: MEDICAL EDUCATION

Mustafa SOYÖZ,^a Dr. Nurten ÖZÇELİK^a

^aTıbbi Biyoloji AD, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, ISPARTA

Özet

“Transforming Growth Factor- β (TGF- β)” ailesi, gelişimi çok yönlü kontrol eden ekstrasellüler büyüme faktörlerinin büyük bir grubunu oluşturur. Çok sayıda birbirine benzer polipeptid büyüme faktörleri içeren TGF- β üyeleri, hücre proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi, adezyonu ve ölümü gibi hücrel süreçleri düzenleme yeteneğine sahiptir. TGF- β ve ilgili faktörler, organizmanın tüm dokularının gelişiminde, homeostazisinde ve onarımında çok önemli rol oynarlar.

TGF- β ve benzer faktörler, 2 tip reseptör olan serin/treonin protein kinazları bir araya getirerek gen ekspresyonunu düzenlerler. Bu kinazlardan biri diğerini fosforlar, fosforlanan kinaz SMAD proteinlerine dönüşür. SMAD'lar, hücre çekirdeği içine sinyal taşıyan ve özel olarak DNA'ya bağlanma kabiliyeti ile transkripsiyonel kompleks oluşturan orijinal bir protein ailesidir. Reseptör kompleksin ligand aktivasyonundan sonra tip I reseptör kinazlar spesifik SMAD'ları fosforile ederler, bu fosforile olan SMAD'lar daha sonra Smad4 ile birleşerek hücre çekirdeğine taşınırlar. Bu kompleksler çekirdek içinde yalnız veya DNA-bağlanma altbirimi ile birleşik halde bulunabilir ve spesifik promotor elemanlarına bağlanarak hedef genleri aktive ederler.

Çeşitli hastalıklarda TGF- β sinyal iletim yolunda değişiklikler tespit edilmiştir. Büyüme inhibitörü yanıtlarının TGF- β 'ya iletiminin eksikliği, kanser hücrelerinde sıklıkla görülen bir durumdur. TGF- β aktivitesinin artışı akciğer, böbrek, karaciğer ve diğer organlarda, dokular arasındaki matriks materyalinin artışı ile karakterize fibrotik hastalıklarda merkezi bir rol oynar.

Anahtar Kelimeler: Transforming growth factor beta; smad proteinleri; sinyal iletimi

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:426-433

1. TGF- β Süperaillesi

TGF- β ailesi gelişimi çok yönlü kontrol eden ekstrasellüler büyüme faktörlerinin büyük bir grubudur. Organizmanın tüm dokularının gelişiminde, homeostazisinde ve ona-

Abstract

The transforming growth factor- β (TGF- β) family comprising a large group of extracellular growth factors controls the development of the organism. TGF- β family members consists of a large number of structurally related polypeptide growth factors, each capable of regulating a fascinating array of cellular processes including cell proliferation, differentiation, motility, adhesion, and death. TGF- β and related factors play a prominent role in the development, homeostasis and repair of virtually all tissues in organisms.

TGF- β and related factors regulate gene expression by bringing together two types of receptor serine/treonine protein kinases. One of these kinases phosphorylates the other, which in turn phosphorylates SMAD proteins. SMADs are a novel family of signal transducers that move into the nucleus and generate transcriptional complexes of specific DNA-binding ability. Upon ligand activation of the receptor complex, the type I receptor kinase phosphorylates specific SMADs, which then forms a complex with Smad4 and moves into the nucleus. In the nucleus, these complexes, either alone or in association with a DNA-binding subunit, activate target genes by binding to specific promoter elements.

Alterations of TGF- β signaling pathways underlie many human disorders. A loss of growth inhibitory responses to TGF- β is often observed in cancer cells. A gain of TGF- β activity is thought to play a central role in fibrotic disorders characterized by excessive accumulation of interstitial matrix material in the lung, kidney, liver, and other organs.

Key Words: Transforming growth factor beta; smad proteins; signal transduction

rımında çok önemli rol oynayan TGF- β ailesi, yapısal olarak ilişkili çok sayıda polipeptid büyüme faktörleri içerir, bunların her biri hücre proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi, adezyonu ve ölümü gibi hücrel süreçleri düzenleme yeteneğine sahiptir.¹

TGF- β ailesi, hedef hücrenin uyarıya verdiği yanıtın çeşidine bağlı etkileri olan çok fonksiyonlu agonistlerdir. Örneğin, bu ailenin bir üyesi olan TGF- β 1, mezenşimal gelişimin düzenleyicisi olarak tanımlanmış ve bundan farklı olarak epitel

Geliş Tarihi/Received: 21.02.2006 **Kabul Tarihi/Accepted:** 18.06.2006

Yazışma Adresi/Correspondence: Mustafa SOYÖZ
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji AD, ISPARTA
msoyoz@yahoo.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

hücrelerde antimitojen olduğu gözlenmiştir. Aktinler, hipofiz fonksiyonunun hormonal düzenleyicileridir, bunun yanında kurbağalarda mezoderm oluşumuna katılırlar. TGF- β ailesinin bilinen üyeleri ve en önemli aktiviteleri Tablo 1’de gösterilmiştir.^{1,2}

TGF- β ve ilgili faktörler, 2 tip reseptör olan serin/treonin protein kinazları bir araya getirerek gen ekspresyonunu düzenlerler. Bu kinazlardan biri diğerini fosforlar, bu fosforlanan kinaz SMAD proteinlerine dönüşür. SMAD’lar, hücre çekirdeği içine sinyal taşıyan ve özel olarak DNA’ya bağlanma kabiliyeti ile transkripsiyonel kompleks oluşturan orijinal bir protein ailesidir.^{1,3}

TGF- β ailesi üyeleri serin/treonin kinaz aktivitesine sahip reseptörlere bağlanarak hücre hareketlerini başlatırlar. TGF- β ailesi üyeleri, transmembran protein ailesinden olan serin/treonin kinaz aktivitesine sahip TGF- β reseptör ailesine sinyal iletirler. TGF- β reseptör ailesi, yapısal ve fonksiyonel özellikleri göz önünde tutularak tip I ve tip II reseptörler olmak üzere 2 alt gruba ayrılmıştır (Şekil 1).⁴

Protein kinaz bölgesinin hemen önünde çok iyi korunmuş 30 amino asitlik bölge tip I reseptörü diğerlerinden ayırır. Sahip olduğu SGSGSG dizileri nedeni ile bu bölge GS bölgesi olarak adlandırılır. GS bölgesi, muhtemelen tip I reseptör kinazların katalitik aktivitelerini veya substratlarla etkileşimini kontrol edebilen önemli bir düzenleyici bölgedir.⁵

Tip I ve tip II reseptörlerin kinaz bölgeleri, serin/treonin protein kinaz bölgesinin dizileri ile uygunluk gösterir. Buna bağlı olarak, tip I reseptörler kendi substratlarını fosforlarken serin rezidüleri üzerinde SMAD proteinlerini fosforlar, tip II reseptörler ise kendilerini ve serin-treonin rezidüleri üzerindeki tip I reseptörleri fosforlar fakat tirozin rezidülerini fosforlamaz.^{6,7}

2. Reseptör Kompleks Oluşumu

TGF- β ve ilgili faktörler, tip I ve tip II reseptör çiftlerine bağlanır ve bunları birleştirerek sinyalin aktivasyonunu sağlarlar. İki farklı ligand bağlanma çeşidi gözlenmiştir. TGF- β ve aktinin reseptörleri

Tablo 1. TGF- β ailesi ve tanımlanan aktiviteleri.

İsimleri	Belirlenen aktiviteleri
BMP2 alt grubu BMP2 [Dpp ^D] BMP4	Gastrulasyon, nörogenez, kondriogenez, interdijital apoptozis; kurbağada, mezoderm oluşumu; sinekte, dorsalizasyon, gözler ve kanatlar.
BMP5 alt grubu BMP5 [60 A ^D] BMP6/Vgrl BMP7/OP1 BMP8/OP2	BMP2 ve 4 ile birlikte bu alt grup hemen hemen bütün organların gelişimine katılırlar; nörogenezis.
GDF5 alt grubu GDF5/CDMP1 GDF6/CDMP2 GDF7	Kol ve bacakların oluşumunda kondriogenez
BMP3 alt grubu BMP3/osteogenin GDF10	Osteojenik farklılaşma, endokondral kemik oluşumu, monosit kemotaksisi.
Ara Üyeler Nodal [Xnr 1-3 ^X]	Aksiyal mezoderm indüksiyonu, sağ-sol asimetrisi
Dorsalin	Nöral tüpte hücre farklılaşmasının düzenlenmesi
GDF8 GDF9	İskelet kası büyümesinin inhibisyonu
Aktinin alt grubu Aktinin β A Aktinin β B Aktinin β C Aktinin β D	Hipofiz hormonu olan folikül stimüle edici hormonun (FSH) üretimi, eritroid hücre farklılaşması; kurbağa da mezoderm indüksiyonu
TGF-β alt grubu TGF- β 1 TGF- β 2 TGF- β 3	Epitel ve hematopoietik hücrelerde hücre döngüsünün tutulması, mezenşimal hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının kontrolü, ekstrasellüler matriks üretimi, immün baskılama.
Diğer Üyeler MIS/AMH İnhibin α	Müller kanalının gerilemesi FSH üretiminin inhibisyonu ve aktininin diğer faaliyetleri
GDNF	Dopaminerjik nöronların sürekliliği, böbrek gelişimi

Drosophila (^D) ve *Xenopus* (^X)’daki önemli homologlar.

BMP: Kemik morfogenetik proteini.

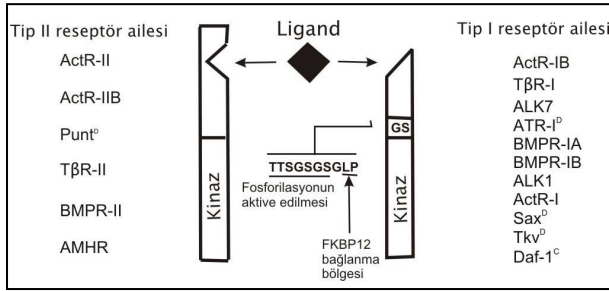
GDF: Büyüme ve farklılaşma faktörü.

CDMP: Kıkırdak türevli morfogenetik protein.

MIS/AMH: Müller inhibe edici madde/anti-Müller hormonu.

GDNF: Glial hücre kökenli nörotropik faktör.

için karakteristik olan 1. bağlanma çeşidi ligandın tip II reseptöre direkt bağlanması suretiyle gerçekleşir, daha sonra tip I reseptör ile bu kompleks (ligand-tip II reseptör) arasında etkileşim olur. Tip I reseptörler ligandı tanıyıp ve tip II reseptöre bağlanır.⁸ İkinci bağlanma çeşidi ise “Bone



Şekil 1. Tip I ve II TGF-β reseptör aileleri. Tip I reseptörde protein kinaz bölgesi GS bölgesinden önde gelir. TβR-I'in karakteristik GS dizisi motifi üzerinde, fosforilasyon bölgesi ve FKBP12 bağlanma bölgesi. Omurgalıdaki üyeleri listelenmiştir (Massagué J, 1998'den modifiye edilmiştir).

Morphogenetic Protein (BMP) reseptörleri ve bu gruba dahil olanlar için tipiktir, tip I ve tip II BMP reseptörleri liganda beraber bağlanırlar.⁹ Öncelikle aktif, ligand-tip I/tip II reseptör kompleksi oluşur, tip II reseptör fosforilasyon ile tip I reseptörü aktive eder, daha sonra tip I reseptör sitoplazmadan hücre çekirdeğine sinyal ileten SMAD proteinlerini fosforlar.^{1,2,10}

Sinyaller, aktivatörü olan tip II reseptör (TβR-II) tarafından fosforlanmış TGF-β tip I reseptörlerinden (TβR-I) ortama verilir. Ligandın bağlanması tip I ve tip II reseptörlerinin heteromerik kompleks oluşturmasına yol açar.^{5,11,12} Ligandların dimerik yapısında, monomerlerden biri tip I reseptörlerden biri ile diğer monomer ise tip II reseptörle birleşir, sonuçta heterotetramerik reseptör kompleksi oluşturulur.¹² Bu kompleksin oluşması için sinyal gereklidir. TβR-I ve TβR-II kinazları içeren kimerik reseptörler farklı konfigürasyonlar oluşturabilirler, sinyal sadece tip I ve tip II reseptör kinazların bir araya gelmesiyle elde edilir.¹³

Reseptör aktivasyonundaki en önemli basamak tetramerik reseptör kompleksinin fosforilasyonudur. TβR-II'deki belirli fosforilasyon bölgeleri reseptörün sinyal aktivitesini düzenler; Ser 213 ve Ser 409'un fosforilasyonu TβR-II aktivitesi için gereklidir, bunun yanında Ser 416'nın fosforilasyonu TβR-II sinyal iletimini inhibe eder.¹⁴ TβR-II ve aktivin tip IIB reseptörü özellikle tirozin rezidüleri üzerinde otofosforile olabildiği kadar serin ve treonin rezidüleri üzerinde de otofosforile olabilir ve dolayısıyla çift özellikli kinazlar gibi fonksiyon

görebilirler. TβR-I, TβR-II tarafından GS yapısı içindeki çeşitli rezidülerden fosforlanır, bu fosforlanma TβR-I kinazın aktivasyonunu sağlar (Şekil 1).⁵ TβR-I, GS yapısının N-terminal bölümüne lokalize olmuş Ser 165 üzerinden fosforile olur. Ser 165'teki herhangi bir mutasyon tip I reseptörün daha güçlü sinyal vermesine yol açar, güçlü sinyallerde büyümenin inhibisyonunu ve matris birikimini etkiler. Buna göre, Ser 165'in fosforilasyonu TGF-β sinyal iletimini düzenleyebilir.^{10,15}

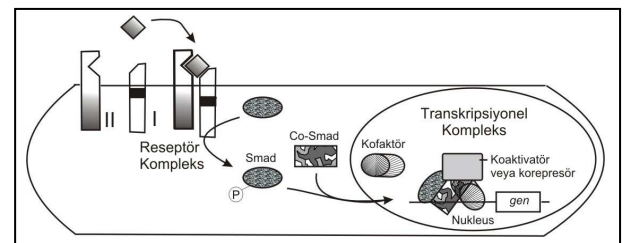
3. Reseptör Kompleksten Sinyal Akışı

Tip II reseptörün aracılık yaparak tip I reseptörü aktive etmesi TGF-β sinyallerinin başlamasına neden olur. Bu aktive olan tip I reseptör, hücre çekirdeğine sinyal taşıyan SMAD proteinlerini fosforlar ve aktive eder. SMAD ailesine ait proteinler, tip I reseptör kinazların tanımlanmış ilk substratlarıdır ve reseptör sinyallerinin hücre çekirdeği içindeki hedef genlere iletiminde merkezi bir rol oynar (Şekil 2).¹⁰

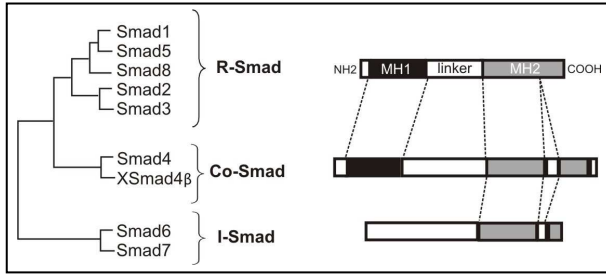
3.1. SMAD Alt Grupları ve Fonksiyonları

Yapısal ve fonksiyonel etkenler göz önünde tutulduğunda, SMAD'lar 3 ayrı alt gruba ayrılırlar: (a) Reseptör ile regüle edilen SMAD'lar (R-Smad'lar); TGF-β ailesi reseptör kinazlarının direkt substratlarıdır. (b) Common-partner SMAD'lar (Co-Smad'lar); R-Smad'larla birleşerek sinyal iletimine katılan SMAD'lar ve (c) İnhibitör SMAD'lar (I-Smad'lar); diğer 2 grubun sinyal fonksiyonunu inhibe eden antagonist SMAD'lardır (Şekil 3).¹⁶

R-Smad'larda kendi içlerinde 2 gruba ayrılırlar, bunlar; BMP Smad'lar ve TGF-β/aktivin



Şekil 2. SMAD'lar ile TGF-β sinyal iletimi: Temel sinyal mekanizması; Ligand reseptör kompleksle birleşir SMAD'ları fosforile eder ve SMAD'lar transkripsiyonel kompleksle birleşerek hedef genin sentezini kontrol ederler (Heldin et al., 1997'den modifiye edilmiştir).



Şekil 3. Omurgalı SMAD'larının filogenetik ağacı ve yapılarının şeması. Toplam 3 ayrı grup vardır: R-Smad'lar, Co-Smad'lar ve I-Smad'lar. XSmad4β hariç belirtilen bütün SMAD'lar insanlarda bulunur (Itoh et al., 2000'den modifiye edilmiştir).

Smad'lar. BMP Smad'lar, Smad1 ve birbirine yakın homologlardan Smad5 ve Smad8, "Bone Morphogenetic Protein Receptor-I (BMPR-I)'in substratları ve BMP sinyallerin aracılardır. TGF-β/aktivin Smad'lar ise Smad2 ve 3, TβR-I'in substratları ayrıca TGF-β ve aktivin sinyallerinin aracılardır. Memeli epitel hücrelerinde Smad2 ve 3, gelişimin inhibisyonuna ve haberci genlerden TGF-β ve aktivinin transkripsiyonunun aktivasyonuna aracılık ederler.^{17,18}

R-Smad'lar sinyal iletimi görevlerini yerine getirmek için diğer bir SMAD'a ihtiyaç duyarlar. Omurgalılarda, bu grubun üyelerinden bilineni Co-Smad'lar grubuna dahil Smad4'tür. Reseptör regüle eden SMAD'lar, benzer reseptörler tarafından fosforile olduğu zaman Smad4'lerle birleşirler.^{1,17} Smad4, yapısı itibari ile R-Smad'larla benzer olmasına rağmen, agonistlerinden gelen yanıt ile normal olarak fosforile olamaz. Memeli hücrelerinde Smad2 veya 3'e bağlı gelişimi inhibe eden bir yanıt için Smad4 gereklidir. Ayrıca Smad4, TGF-β, aktivin ve BMP sinyal iletim yollarının da bir üyesidir.¹

İnsan Smad'larından 6 ve 7, SMAD'lardan yapısal olarak ayrı olan diğer bir alt gruptur ve inhibitör SMAD'lar olarak adlandırılırlar. Bilinen tek aktivitesi, R-Smad'ların sinyal fonksiyonunu inhibe ettiğidir. Smad6 BMP sinyallerini inhibe ederken, Smad7, TGF-β ve BMP sinyallerinin her ikisini de inhibe edebilir.^{1,16}

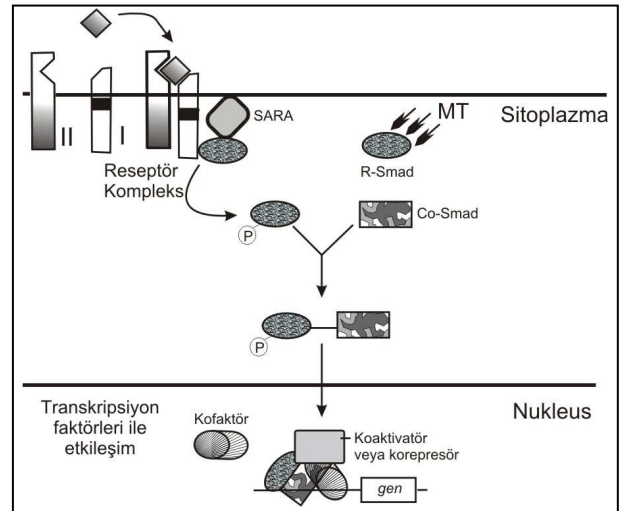
3.2. SMAD Proteinleri Aracılığı ile Sinyal İletimi

Bazal kısımda SMAD'lar homo-oligomerler olarak bulunurlar. Reseptör kompleksin ligand

aktivasyonundan sonra tip I reseptör kinazlar spesifik SMAD'ları fosforile ederler, fosforile olan SMAD'lar daha sonra Smad4 ile birleşerek hücre çekirdeğine taşınırlar. Bu kompleksler çekirdek içinde yalnız veya DNA-bağlanma altbirimi ile birleşik halde bulunabilir ve spesifik promotor elemanlarına bağlanarak hedef genleri aktive eder (Şekil 4).^{1,2,15,16}

SMAD'lar agonistlerinin uyarısıyla serin-fosforlarlar. Örneğin Smad1, BMP2 veya 4'ün; Smad2, TGF-β veya aktivinin; ve Smad3, TGF-β'nin uyarısı ile serin fosforlarlar.^{1,6,17}

FYVE bölgesi içeren zara tutunmuş bir protein olan SARA (reseptör aktivasyonu için SMAD tutucu), reseptör aktivasyonu için gereklidir. SARA içindeki FYVE bölgesi 2 tane çinko parmak motifi içerir, fosfotidilinositol-3-fosfata bağlanabilmesi, SARA'nın endozomal zara bağlanmasını da sağlar. SARA, R-Smad'larla etkileşime girer, R-Smad'lar TGF-β'nin SMAD bağlanma bölgesine ve SARA'nın C-uç bölgesine bağlanırlar. Smad2 ve Smad3 ün C-uç fosforilasyonu ile, tip I reseptör ve SMAD arasındaki afinite azaldığı gibi SMAD ile SARA arasındaki afinite de azalır. Bu olay TGF-β



Şekil 4. R- ve Co-Smad'ların aktivasyonu. Ligandın indüklediği heteromerik kompleks oluşumu ve tip I ve tip II reseptörlerinin aktivasyonunun ardından R-Smad'lar fosforlanır ve Co-Smad'lar ile heteromerik kompleks oluştururlar, bu kompleks hücre çekirdeğine taşınır, hücrenin çeşidine göre hedef genin ekspresyonu burada kontrol edilir. Aktive edilmemiş Smad'lar, mikrotübüllere (MT) birleşik olarak sitoplazma içinde tutulabilirler. SARA; reseptör aktivasyonu için SMAD tutucu. (Itoh et al., 2000'den modifiye edilmiştir).

reseptör, aktif R-Smad ve SARA dan oluşan kompleksin ayrılmasıyla sonuçlanır.^{15,16}

Reseptör tarafından fosforlanan SMAD'lar Smad4 ile birleşir, oluşan kompleks transkripsiyonun aktivasyonu için gereklidir.^{2,19,20} Smad1 ile Smad4'ün birleşmesine cevap olarak BMPR-I'in aktivasyonu gerçekleşir, Smad1'in, Smad2 ve 3 ile birleşmesi, T β R-I veya ActR-IB aktivasyonu ile sonuçlanır.^{6,17} Yapısal faktörler ve Smad4'ün L3 kıvrımındaki mutasyonların gözlemleri baz alındığında, Smad4'ün Smad2 ile birleşme kabiliyetinin ortadan kalktığı gözlenmiştir, burada Smad4'ün L3 kıvrımının R-Smad'larla birleşmeye aracılık yaptığı açıktır. SMAD L3 kıvrımı, 2 farklı etkileşime karışmaktadır: (a) R-Smad'larda iken reseptörlerle etkileşim ve (b) Smad4'te iken reseptör tarafından aktive olan SMAD'larla etkileşim.¹

3.3. Hücre Çekirdeğindeki Lokalizasyonları ve Regülasyonları

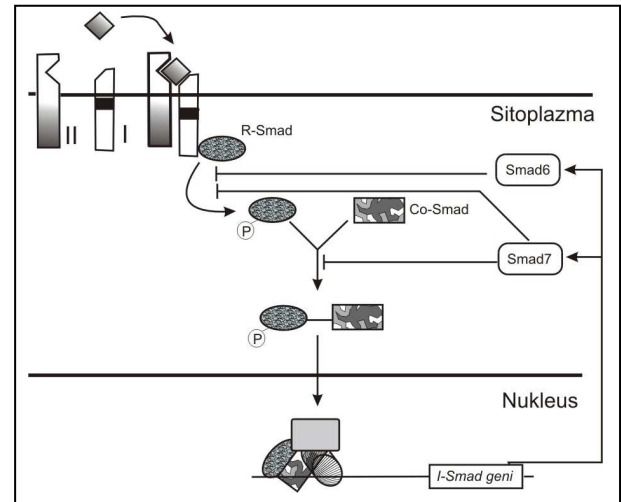
Reseptör tarafından aktiflenen SMAD'ların nüklear translokasyonları, agonistlerin indüklediği fosforilasyon ve Smad4'le birleşme kinetiği ile gerçekleşir. Smad4, TGF- β veya BMP'ye cevap olarak hücre çekirdeğine transloke olur ve translokasyon Smad1 ve 2'nin varlığında gerçekleşir. Reseptör aktive eden SMAD'lar Smad4'e sitoplazmada bağlanır ve Smad4'ü hücre çekirdeği içine taşırlar.^{2,15,21}

TGF- β ailesi sinyal iletiminin en önemli araçları olan SMAD'lar, sinyal iletimini hücrenin durumuna göre tamamlamak ve adapte etmek için farklı tipte düzenleme mekanizmalarına maruz kalırlar. Düzenleme mekanizmalarından bir tanesi, bağlantı bölgesindeki "mitogen-activated protein (MAP)"-kinaz alanlarının fosforlanmasıyla SMAD'ların hücre çekirdeği içindeki birikiminin inhibe edilmesidir. Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve hepatosit büyüme faktörü gibi agonistler "Extracellular signal-regulated MAP-kinases (Erk MAP-kinazı)" aktive ederek Smad1'in bağlantı bölgesinde 4 PXSP motifiindeki serinlerin hızlı bir şekilde fosforilasyonuna yol açarlar. Bu fosforilasyon Erk MAP-kinaz tarafından katalizlenir ve Smad1'in fosforilasyonu BMP-reseptör aracılığı ile fosforilasyonundan bağımsız olarak gerçekleşir. Erk aracılığı ile fosforilasyon Smad1'in hücre çekirdeğindeki biriki-

mini inhibe eder, ayrıca Smad1 ile Smad4'ün birleşmesini de engeller. Smad1'in hücre çekirdeğinde birikimine bağlı olan BMP uyarılarının antagonisti, Erk MAP-kinaz yolunun atıvasyonudur. Diğer R-Smad'larında bağlantı bölgelerinde MAP-kinaz fosforilasyon alanları mevcuttur. MAP kinazlar ile SMAD'ların regülasyonu, TGF- β sinyal iletiminin düzenlenmesinde gereklidir.¹ Ayrıca Smad3, hücre döngüsünü düzenleyen moleküllerin transkripsiyonel kontrolünü de sağlar.³

3.4. Antagonistik SMAD'larla İnhibisyon

I-Smad'lar (İnhibitör Smad'lar) aktif tip I reseptör ile hızlı bir şekilde etkileşime girerler, böylece R-Smad'ların aktif tip I reseptöre geçişini engellerler (Şekil 5).¹⁶ Smad6 ve 7, R-Smad'larla gerçekleşen sinyal iletiminin inhibitörleridir. Ekspresyon olmadığı zaman Smad6, BMP ve kısmen TGF- β sinyal iletimini inhibe eder, Smad7'de TGF- β ve BMP sinyal iletimini inhibe edebilir. Smad6, çok düşük konsantrasyonlarda olsa bile kurbağa embriyolarında ve memeli hücrelerinde BMP sinyal iletiminin spesifik inhibitörüdür. İnhibitör Smad'lar, negatif geri bildirim sürecine katılarak TGF- β yanıtının şiddetini ve süresini düzenlerler. Böylece TGF- β 'nın yanıtıyla Smad7 ekspresyonu hızlı bir şekilde artar. Smad6 ve 7 ekspresyo-



Şekil 5. I-Smad'ların faaliyetlerinin mekanizması. TGF- β /Smad sinyal iletiminin negatif regülasyonu I-Smad'lar ile gerçekleşebilir. I-Smad'lar, R-Smad'ların aktivasyonunu veya Smad4 ile oluşturacakları heteromerik kompleks oluşumunu engelleyerek aktivitelerini gösterebilirler (Itoh et al., 2000'den modifiye edilmiştir).

nu damar endotel hücrelerinde ani stresle artar, bu uyarı da muhtemelen otokrin TGF- β 'ya aracılık eder. Smad6 ve 7'nin inhibitör etkisinin açıklanmasında önerilen mekanizmalardan birine göre, I-Smad'lardan her biri farklı TGF- β reseptör ailesine bağlanırlar ve reseptör-regüle eden SMAD'ların fosforilasyonunu engellerler. Bu mekanizma Smad6 ve 7'nin ekspresyonlarının olmadığı durumlarda gözlenen BMP ve TGF- β etkilerinin non-selektif inhibisyonunu açıklayabilir. Üstünde durulan diğer bir mekanizma da, BMP sinyal iletiminin Smad6 tarafından selektif inhibisyonudur. Smad6'nın düşük seviyeleri Smad1'in reseptör aracılığı ile fosforilasyonunu engelleyemez fakat aktif Smad1'e bağlanmak için Smad4 ile rekabete girer.¹

4. İnsan Hastalıklarında

TGF- β Sinyal İletiminin Aksaklığı

TGF- β sinyal iletim yolundaki değişiklikler insanlarda görülen birçok hastalıkta bildirilmiştir. Büyüme inhibitörü yanıtlarının TGF- β 'ya iletiminin eksikliği kanser hücrelerinde sıklıkla görülen bir durumdur ve TGF- β aktivitesinin artışı akciğer, böbrek, karaciğer ve diğer organlarda dokular arasındaki matriks materyalinin aşırı bir şekilde artışı ile karakterize fibrotik hastalıklarda merkezi bir rol oynar.^{22,23} Anormal TGF- β aktivitesinin iltihaplı hastalıklarda da rol aldığı bildirilmiştir.²⁴ TGF- β ailesi üyelerinin veya reseptörlerinin yoksun olduğu veya ekspresyonunun olmadığı fare fenotipindeki değişimlerin organizmanın gelişimi üzerinde veya birçok organın homeostazında çok büyük etkileri olduğu bildirilmiştir.¹ TGF- β sinyal iletimi aksaklığının insan hastalıklarına yol açtığına direkt bulguların bulunmasının yanında, TGF- β ailesi üyelerini kodlayan genlerin, reseptörleri veya SMAD proteinleri mutasyona uğramış olabilir.¹

4.1. Kanserde TGF- β Reseptör Mutasyonları

Hücrenin G1 evresinde durdurulması, terminal farklılaşmanın artışı veya hücre ölümü mekanizmalarının aktivasyonu gibi hücre proliferasyonunun negatif regülasyonun değişik formları TGF- β 'nın hedef hücreler üzerindeki etkileridir.²⁵ İnsan tümöründen üretilmiş hücre hatlarında bu tip uyarılardaki eksiklik birçok çalışmada tanımlanmıştır.²²

TGF- β sinyal iletiminin aksaması nedeniyle kansere yatkınlık veya kanser oluşabilir.

Mikrosatellit instabiliteli gastrointestinal kanserlerdeki mutasyonlarda inaktif TGF- β tip II reseptörünün bulunması, TGF- β sinyal iletim aksaklığının kansere yatkınlık oluşturabileceği görüşünü doğrulamaktadır. Mikrosatellit instabilitesi çoğu sporadik kanserlerde ve DNA'daki basit tekrarlayan dizilerdeki yanlış eşleşen bazların tamirinde nükleotid çıkartılması ve eklenmesi esnasında meydana gelen defektler müşterektir. İnsan T β R-II geninin ekstrasellüler yapısını kodlayan dizide, 709. nükleotidden başlayan 10 baz çiftlik poliadenin tekrarları bulunur. Bu tekrarlara 1 veya 2 bazın eklenmesi veya silinmesi çoğu sporadik kolon kanserlerinde ve mikrosatellit instabiliteli gastrointestinal kanserlerde meydana gelir.²⁶ T β R-II poliadenin tekrarındaki mutasyonlar kalıtsal non-polipozis koli kanserli bireylerden alınan (HNPCC) (çok sıklıkla ortaya çıkan kolon, endometrial ve gastrik kanserlerle karakterize ailesel bir sendrom) kolon ve gastrik tümörlerde de bulunmuştur. Benzeri durumlarda, T β R-II allellerinin hepside poliadenin tekrarlarında mutasyona sahiptir. Fakat bazı durumlarda ikinci allel farklı bir mutasyonla inaktive olabilir, bunlardan bazıları; (a) kinaz yapısının kodlama bölgesindeki GTGTGT dizisine GT dinükleotidinin eklenmesi veya (b) yukarıdaki kinazı inaktive eden yanlış anlamlı mutasyonlar.^{26,27} Bu sonuçlar T β R-II'nin diğer tümör süpresör genlerle beraber iki önemli inaktivasyon mekanizmasını paylaştığını göstermiştir.

Endometrium, pankreas, akciğer ve meme kanserlerinin somatik veya kalıtsal formlarında veya mikrosatellit instabiliteli miyelodisplastik sendromda T β R-II'nin poliadenin tekrarındaki mutasyonlar nadirdir. Bu bulgular, T β R-II poliadenin tekrarı mutasyonları ile ilgili yeni kanıtlar sağlar, poliadenin tekrarındaki mutasyonlar, mikrosatellit instabilitesinde rastgele seçilmiş diziler değildir, fakat kolon ve gastrik kanserlerin gelişimi sırasında özellikle seçilirler. Başka bir araştırmada, T β R-II mutasyonları, T-hücre lenfomasında, gastrik kanserler, baş ve boyun karsinomlarında da tanımlanmıştır.^{1,28-30}

4.2. Kanserde SMAD Mutasyonları

SMAD'lar tümör süpresördür. Smad4, pankreas ve kolon kanserlerinde sıklıkla, diğer kanser türlerinde ise daha az inaktive edilir.^{31,32} Smad2 ise kolon ve akciğer kanserlerinde tümör süpresördür. Smad3^{-/-} farelerde metastatik kolon kanseri gelişebilir ve bu farelerdeki kolon kanseri hiperproliferasyonla ilişkilidir.^{33,34} Smad3, pediatrik T-hücre akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve gastrik kanserlerde de önemli bir tümör süpresördür.^{35,36} Smad3 proteininin kaybı, pediatrik T-hücre ALL'nin spesifik özelliklerindedir.³⁵

TGF- β sinyal iletim ağı kanserde, Smad2, Smad4/DPC4 mutasyonları ile hasara uğrar. Smad4/DPC4, kromozom 18q21 de aday tümör süpresör gen olarak tanımlanmıştır, Smad4/DPC4 insan pankreatik karsinomlarının yarısında somatik olarak silinir veya mutasyona uğrar. Biallelik Smad4/DPC4 inaktivasyonu da kolorektal karsinomların büyük bir bölümünde meydana gelir. Meme, over, baş ve boyun, prostatik, özofagus ve gastrik kanserlerde de nadir olarak Smad4/DPC4 mutasyonları görülür. Smad4 inaktivasyonu diğer bir tümör süpresör gen olan APC'nin inaktivasyonu ile birlikte bağırsak tümörlerine yol açar. Smad2'de 18q21 lokalize olmuştur ve kolon kanserinde inaktive edici mutasyonların hedefidir. Kolon kanserinde TGF- β 'nin uyarı kabiliyetinin kaybolmasına, muhtemelen T β R-II, Smad2 veya Smad4/DPC4'teki mutasyonlar neden olmaktadır.^{1,37,38}

Smad2 ve Smad4/DPC4 kanserde, yanlış anlamlı mutasyonlar, anlamsız mutasyonlar, küçük delesyonlar, çerçeve kayması mutasyonları veya belirli kromozom bölgesinin kaybolması ile inaktive olur. Çoğu yanlış anlamlı mutasyonlar MH2 yapısının içinde tanımlanırlar. Smad4 MH2 yapısının kristal yapısı çözüldüğünde, bu yapıda tümöre neden olan yanlış anlamlı mutasyonlardan, Smad trimer yapısı içindeki monomer-monomer etkileşimlerinde kritik rol oynayan amino asitlerin etkilendiği düşünülmektedir. Bu mutasyonlar SMAD homo-oligomerizasyonu zayıflatırlar ve TGF- β 'nin tetiklediği Smad2-Smad4 birlikteliğini engellerler. Tümör hücrelerinin, Smad2 ve Smad4/DPC4'ün MH1 yapısında yanlış anlamlı

mutasyonlar tespit edilmiştir. Yanlış anlamlı mutasyonlar, MH1 yapısının, homoloğu MH2'ye olan afinitesini arttırarak molekülün inhibe edici konformasyonda kalmasına neden olur ve SMAD fonksiyonunu inaktive ederler.^{1,39}

Görülüyor ki gelişimi çok yönlü kontrol eden TGF- β süperailisi ve TGF- β sinyal iletimine aracılık eden diğer moleküller, çok hassas bir denge içinde kontrol edilmektedir. Sinyal iletiminin her basamağı ayrı bir önem taşımaktadır. Aracı moleküllerden birinin eksikliği dokuların gelişimini ve homeostazisi etkileyebilir. Belki de TGF- β sinyal iletim mekanizması, günümüzde aydınlatılması beklenen birçok kanser türüne ve gelişim bozukluklarına ışık tutabilir.

KAYNAKLAR

1. Massague J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998;67:753-91.
2. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003;113:685-700.
3. Liu F. Smad3 phosphorylation by cyclin-dependent kinases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17:9-17.
4. Mathews LS, Vale WW. Expression cloning of an activin receptor, a predicted transmembrane serine kinase. *Cell* 1991;65:973-82.
5. Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massague J. Mechanism of activation of the TGF-beta receptor. *Nature* 1994;370:341-7.
6. Kretschmar M, Liu F, Hata A, Doody J, Massague J. The TGF-beta family mediator Smad1 is phosphorylated directly and activated functionally by the BMP receptor kinase. *Genes Dev* 1997;11:984-95.
7. Souchelnytskyi S, ten Dijke P, Miyazono K, Heldin CH. Phosphorylation of Ser165 in TGF-beta type I receptor modulates TGF-beta1-induced cellular responses. *EMBO J* 1996;15:6231-40.
8. Bassing CH, Yingling JM, Howe DJ, Wang T, He WW, Gustafson ML, et al. A transforming growth factor beta type I receptor that signals to activate gene expression. *Science* 1994;263:87-9.
9. Nishitoh H, Ichijo H, Kimura M, Matsumoto T, Makishima F, Yamaguchi A, et al. Identification of type I and type II serine/threonine kinase receptors for growth/differentiation factor-5. *J Biol Chem* 1996;271:21345-52.
10. Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 1997;390:465-71.
11. Liu F, Ventura F, Doody J, Massague J. Human type II receptor for bone morphogenic proteins (BMPs): extension of the two-kinase receptor model to the BMPs. *Mol Cell Biol* 1995;15:3479-86.

12. Yamashita H, ten Dijke P, Franzen P, Miyazono K, Heldin CH. Formation of hetero-oligomeric complexes of type I and type II receptors for transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 1994;269:20172-8.
13. Luo K, Lodish HF. Signaling by chimeric erythropoietin-TGF-beta receptors: homodimerization of the cytoplasmic domain of the type I TGF-beta receptor and heterodimerization with the type II receptor are both required for intracellular signal transduction. *EMBO J* 1996;15:4485-96.
14. Luo K, Lodish HF. Positive and negative regulation of type II TGF-beta receptor signal transduction by autophosphorylation on multiple serine residues. *EMBO J* 1997;16:1970-81.
15. ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF-beta-Smad signalling. *Trends Biochem Sci* 2004;29:265-73.
16. Itoh S, Itoh F, Goumans MJ, Ten Dijke P. Signaling of transforming growth factor-beta family members through Smad proteins. *Eur J Biochem* 2000;267:6954-67.
17. Lagna G, Hata A, Hemmati-Brivanlou A, Massague J. Partnership between DPC4 and SMAD proteins in TGF-beta signalling pathways. *Nature* 1996;383:832-6.
18. Suzuki A, Chang C, Yingling JM, Wang XF, Hemmati-Brivanlou A. Smad5 induces ventral fates in *Xenopus* embryo. *Dev Biol* 1997;184:402-5.
19. Chang H, Brown CW, Matzuk MM. Genetic analysis of the mammalian transforming growth factor-beta superfamily. *Endocr Rev* 2002;23:787-823.
20. Levy L, Hill CS. Smad4 dependency defines two classes of transforming growth factor {beta} (TGF-{beta}) target genes and distinguishes TGF-{beta}-induced epithelial-mesenchymal transition from its antiproliferative and migratory responses. *Mol Cell Biol* 2005;25:8108-25.
21. Liu F, Pouppnot C, Massague J. Dual role of the Smad4/DPC4 tumor suppressor in TGFbeta-inducible transcriptional complexes. *Genes Dev* 1997;11:3157-67.
22. Fynan TM, Reiss M. Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor-beta and its role in oncogenesis. *Crit Rev Oncog* 1993;4:493-540.
23. Border WA, Ruoslahti E. Transforming growth factor-beta in disease: the dark side of tissue repair. *J Clin Invest* 1992;90:1-7.
24. Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC, et al. Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:770-4.
25. Massague J. G1 cell-cycle control and cancer. *Nature* 2004;432:298-306.
26. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, et al. Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995;268:1336-8.
27. Lu SL, Zhang WC, Akiyama Y, Nomizu T, Yuasa Y. Genomic structure of the transforming growth factor beta type II receptor gene and its mutations in hereditary non-polyposis colorectal cancers. *Cancer Res* 1996;56:4595-8.
28. Vincent F, Hagiwara K, Ke Y, Stoner GD, Demetrick DJ, Bennett WP. Mutation analysis of the transforming growth factor beta type II receptor in sporadic human cancers of the pancreas, liver, and breast. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;223:561-4.
29. Akiyama Y, Iwanaga R, Saitoh K, Shiba K, Ushio K, Ikeda E, et al. Transforming growth factor beta type II receptor gene mutations in adenomas from hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 1997;112:33-9.
30. Knaus PI, Lindemann D, DeCoteau JF, Perlman R, Yankelev H, Hille M, et al. A dominant inhibitory mutant of the type II transforming growth factor beta receptor in the malignant progression of a cutaneous T-cell lymphoma. *Mol Cell Biol* 1996;16:3480-9.
31. Massague J, Blain SW, Lo RS. TGFbeta signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell* 2000;103:295-309.
32. Liu F. Receptor-regulated Smads in TGF-beta signaling. *Front Biosci* 2003;8:1280-303.
33. Yu Q, Geng Y, Sicinski P. Specific protection against breast cancers by cyclin D1 ablation. *Nature* 2001;411:1017-21.
34. Zhu Y, Richardson JA, Parada LF, Graff JM. Smad3 mutant mice develop metastatic colorectal cancer. *Cell* 1998;94:703-14.
35. Wolfrain LA, Fernandez TM, Mamura M, Fuller WL, Kumar R, Cole DE, et al. Loss of Smad3 in acute T-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:552-9.
36. Han SU, Kim HT, Seong DH, Kim YS, Park YS, Bang YJ, et al. Loss of the Smad3 expression increases susceptibility to tumorigenicity in human gastric cancer. *Oncogene* 2004;23:1333-41.
37. Takagi Y, Kohmura H, Futamura M, Kida H, Tanemura H, Shimokawa K, et al. Somatic alterations of the DPC4 gene in human colorectal cancers in vivo. *Gastroenterology* 1996;111:1369-72.
38. MacGrogan D, Pegram M, Slamon D, Bookstein R. Comparative mutational analysis of DPC4 (Smad4) in prostatic and colorectal carcinomas. *Oncogene* 1997;15:1111-4.
39. Hata A, Lo RS, Wotton D, Lagna G, Massague J. Mutations increasing autoinhibition inactivate tumour suppressors Smad2 and Smad4. *Nature* 1997;388:82-7.