

МАТРИКС-ЗАВИСИМАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ АКТИВНОСТИ TGF $\beta$ , КАК  
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА СИНДРОМА МАРФАНА

Урываев А.М.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

*кафедра военно-полевой терапии*

*г. Минск*

Интерес к вопросу изучения структуры и функции соединительной ткани (СТ) неуклонно растет и обусловлен накоплением новых знаний и успехами последних лет в области молекулярной, клеточной биологии и генетики. Особую роль в этом играют наследственные нарушения соединительной ткани (ННСТ).

Собственно соединительная ткань делится на плотную и рыхлую соединительную ткань. Плотная подразделяется на оформленную и неоформленную. Плотная оформленная образует связки, сухожилия, хрящи и

кости. Плотная неоформленная встречается в апоневрозах, капсулах и оболочках многих органов. Рыхлая соединительная ткань встречается повсеместно: составляет строму органов, окружает снаружи сосуды, нервы, мышцы, фасции и т.д. и состоит из клеток и внеклеточного матрикса (ВКМ) [1]. ВКМ представляет собой сложную сеть различных белков, основная роль которого состоит в формировании тканевой архитектуры путем создания основы для клеточной адгезии [2]. Взаимодействие клеток с ВКМ происходит через рецепторы на поверхности клеток – интегрины. Взаимодействие интегринов с участками белков ВКМ приводит к обоюдной или двусторонней передаче информации о клеточном окружении – как внутрь клетки, так и во ВКМ из клетки, что, в свою очередь, является сигналом для запуска специфических для данной ткани функций. Таким образом, регулируются миграция, пролиферация, дифференцировка и выживание клеток [3]. Абсолютно все клетки, включая стволовые и раковые взаимодействуют с ВКМ. Более того принятие решения на самообновление, миграцию или дифференцировку стволовых клеток зависит от сигналов, получаемых из ВКМ. Наиболее значимыми факторами, влияющими на судьбу стволовых клеток, являются плотность и состав ВКМ [4]. С другой стороны с ВКМ взаимодействуют многочисленные биоактивные лиганды. Эти взаимодействия представляют собой важнейшие механизмы, формирующие морфогенетические градиенты в процессе эмбрионального развития, а также сигналы-инструкции во взрослом организме [5].

ВКМ является более динамичной структурой, чем считалось раньше. Структуры ВКМ подвергаются постоянным растяжениям и сокращениям, а также реорганизации, регулируемые клеточной и тканевой подвижностью [6]. Так в исследовании Sivakumar et al., 2006 [7] показана высокая степень клеточной подвижности в зрелой культуре остеобластов, что вело к растяжению, сокращению и даже разрыву фибрилл фибронектина. Движения клеток активно реорганизуют ВКМ, перемещая на своей поверхности «глобулы» компонентов ВКМ, которые в свою очередь могут быть как источником формирования новых фибрилл, так и присоединяться к уже существующим. Силы, которые формировались при движении клеток, реже приводили к разрыву существующих фибрилл [8]. В исследовании Czirok et al., 2006 [9] показано влияние общей подвижности ткани на реорганизацию ВКМ.

Мутации генов, участвующих в сложных процессах сборки и распада компонентов ВКМ могут приводить к развитию ННСТ. Сегодня известна большая группа моногенных ННСТ, сопряженных с мутацией генов, кодирующих белки ВКМ (коллагены различных типов, фибриллин, тенасцин),

генов рецепторов ростовых факторов, в частности TGF $\beta$ , матричных металлопротеиназ (ММП), интегринов [1]. Это синдром Марфана (СМ), синдром Элерса - Данло, несовершенный остеогенез (НО) и др. В основе этих синдромов лежат известные мутации генов, приводящие к сборке дефектных белков ВКМ, наследуемые преимущественно по аутосомно-доминантному (АД) или аутосомно-рецессивному (АР) типам.

СМ – АД ННСТ, в основе которого лежат мутации (описано более 1000 мутаций) гена FBN1, приводящие к нарушениям формирования фибриллина.

*Структуры, образующиеся из фибриллина выполняют две наиважнейшие функции в организменной физиологии: они создают структурную матрицу, придающую физические свойства соединительной ткани и действуют как платформа для циркулирующих модуляторов клеточного поведения, в частности TGF $\beta$  и BMP [5].* Такие белки, как LAP (ассоциированный с латентностью пептид), LTPB, FBN-1 принимают участие в модуляции биодоступности сигнальных молекул, т.е. наделены TGF $\beta$ -сигнализирующими функциями.

В норме TGF $\beta$  играет важнейшую роль при эмбриональном развитии, заживлении ран, формировании иммунного ответа, мышечной дифференцировке, росте костей, контроле клеточной пролиферации и пр. [10, 11]

Избыточная TGF $\beta$  активация ассоциируется с такими состояниями, как аневризма аорты [12], болезнь Альцгеймера [13], цирроз печени [14], рак [15], фиброз легких [16], артриты [17], мышечная дистрофия [18], воспаление [19], делая TGF $\beta$  стратегической целью для терапевтического воздействия [20].

Синтез и созревание TGF $\beta$  проходит ряд этапов. В эндоплазматическом ретикулуме формируется молекула предшественника, которая сразу после синтеза подвергается димеризации. Димер состоит из двух частей: N – концевая область pro-LAP и C-концевая область TGF $\beta$  [21]. В дальнейшем pro-LAP подвергается протеазному расщеплению фурином в аппарате Гольджи и формируется LAP [22]. LAP-TGF $\beta$  димер называется SLC (малый латентный комплекс). Малый латентный комплекс связывается с другим белком LTBP (анг., latent TGF $\beta$  binding protein, латентный TGF $\beta$  -связывающий белок), после чего становится способным покинуть клетку и называется LLC (большой латентный комплекс). TGF $\beta$  секретируется большинством клеток организма, однако эта секреция происходит в неактивном (латентном) состоянии в виде большого латентного комплекса. Несмотря на то, что синтез и рецепторы к TGF $\beta$  (TGF $\beta$ RI/II) встречаются повсеместно в организме, активация TGF $\beta$  происходит в месте, где TGF $\beta$  теряет латентное состояние [23].

Белки LTBP и TGF $\beta$ , а также фибриллин ко-эволюционировали, развившись в семейства из 4-х изоформ LTBP, 3-х TGF $\beta$  и 4-х фибриллина [24].

Формирование микрофибрилл, а затем и эластических волокон сложный многоэтапный процесс, который продолжает изучаться [25]. В процессе начальной сборки микрофибрилл значимую роль играют фибронектин, интегрин  $\alpha 5 \beta 1$ , LTBP, гепарансульфат протеогликаны, без которых начальный процесс сборки микрофибрилл останавливается [26, 27].

Импульсом для активации TGF $\beta$  связанных сигнальных путей является не секреция из клетки, а высвобождение TGF $\beta$  из латентного комплекса. Выделяют протеазо-зависимый и протеазо-независимый пути активации TGF $\beta$ .

Протеазо-независимый путь активации работает в присутствии ингибиторов протеаз [28]. Для реализации активации по данному пути были необходимы: ковалентная связь SLC с LTBP [29], - связь интегрин с актиновым цитоскелетом, специфический участок LTBP1 и волокна фибронектина. Механические тракционные силы между поверхностью клетки и ВКМ передаются через интегрины на LTBP и высвобождают TGF $\beta$  через деформацию молекулы LAP [30].

В недавних исследованиях доказана возможность связывания TGF $\beta$  с GARP (glycoprotein-A repetitions predominant protein) на поверхности Т супрессоров и тромбоцитов. Это взаимодействие оказывает положительное действие на интегрин-зависимую активацию TGF $\beta$ . Предполагается, что TGF $\beta$ -GARP взаимодействие играет важную роль в иммунном ответе [31].

Протеазо-зависимый путь активации TGF $\beta$  обусловлен расщеплением LAP матричными металлопротеиназами (ММР) [32]. Ввиду большого количества и многообразия ММР систематизация данных для оценки их значимости *in vivo* затруднена. ММР1 расщепляет LTBP1 в области «латентного лассо» высвобождая молекулу TGF $\beta$  из латентного комплекса, тем самым активируя ее [33].

Альтернативные пути и факторы. Еще одной группой, усиливающей активацию TGF $\beta$ , являются декликозидазы (Endoglycosidase F) [34], (Influenza neuramidase) [35, 36]. В человеческом TGF $\beta$  существуют три потенциальных N-гликозигированных участка, и только первый из них выявляется во всех изоформах TGF $\beta$ . Этот участок расположен вблизи от так называемого «латентного лассо» (latency lasso), участка LAP, где находятся места приложения ММР. Гликозилирование данного участка может препятствовать расщеплению протеазочувствительной области LAP, а дегликозилирование наоборот может способствовать активации протеазного расщепления. Значимость данного участка подтверждена в эксперименте, где его удаление из молекулы TGF $\beta$  приводило к снижению TGF $\beta$  секреции из клетки на 85% [37].

В последние годы выявляются все новые биоактивные молекулы, стимулирующие активацию TGF $\beta$ . Тромбоспондин 1 (TSP1) был описан во

многих порой противоречащих друг другу исследованиях в отношении его роли в активации TGF $\beta$ . Так *in vitro* добавление экзогенного TSP1 в культуру клеток и латентного TGF $\beta$  способствовало высвобождению активного TGF $\beta$  [38]. Предположительно за это отвечает RFK участок между первым и вторым доменами TSP1. Выявлено потенциальное взаимодействие между RFK участком TSP1 и LSKL участком LAP [39]. Также отмечается, что TSP2 не активирует TGF $\beta$  и не имеет в своем составе участка RFK [40]. Тем не менее, некоторым исследователям не удалось активизировать TGF $\beta$  в ответ на применение экзогенного TSP1 [41]. Мыши с нокаутированным геном TSP1 демонстрируют преимущественно нормальное развитие, однако у них отмечается тяжелое воспаление легочной ткани [42], и гистологические аномалии, частично характерные для TGF $\beta$ 1 нокаутированных мышей [43].

Показано, F-спондин усиливает активацию TGF $\beta$  в хрящевой ткани [44]. Предполагается параллель в его действии с механизмом TSP1, однако достоверных доказательств еще не получено.

Еще одним кандидатом на дальнейшее исследование является нейропептин [45]. Механизм его воздействия не ясен. Существует предположение, что нейропептин является ко-рецептором TGF $\beta$  [46, 47], и может инициировать его собственные внутриклеточные каскады.

Высвобождение активной молекулы TGF $\beta$  также зависит физико-химические факторов, таких как, изменение pH, активных форм кислорода, ионизирующей радиации и пр.[<sup>48, 49</sup>]

После высвобождения активная молекула TGF $\beta$  становится способной к взаимодействию с TGF $\beta$ -рецепторами. Выделяют три основных типа рецепторов TGF $\beta$  – рецепторы I, II и III типа (мембранные гликопротеины), которые по своей природе являются киназами, для которых молекула TGF $\beta$  является лигандом. Благодаря своей димерной структуре TGF $\beta$  способен одновременно взаимодействовать с обоими I и II типами специфических рецепторов, тогда как рецептор III типа стерически способствует этому процессу. Далее запускается классический каскад трансдукторов сигнала, входящих в семью Smad.

В настоящее время известно несколько различных Smad белков, которые подразделяются на три субсемейства: R-Smad (Smad 1, -2, -3, -5 и -8), активируемые рецептором, отвечающие за трансдукцию сигнала; Co-Smads, образующие комплексы с Smad4, проникающие внутрь ядра и обеспечивающие сигнализацию всех субсемейств TGF $\beta$ ; ингибиторные I-Smads (Smad 6 и -7), являющиеся антагонистами TGF $\beta$  суперсемейства.

TGF $\beta$  RII оказывает прямое стимулирующее действие на TGF $\beta$  RI, которое приводит к фосфорилированию R-Smad, связанной с TGF $\beta$  RI. В

частности, классический сигнальный каскад включает фосфорилирование рецептором I типа и активирование Smad2 и Smad3, их гетеромеризацию с участием Smad4 и перемещение гетеромерного комплекса внутрь ядра, где они выполняют функцию факторов транскрипции и участвуют в регуляции целевых генов [50, 51]. Хотя данный базовый сценарий является единым для всего суперсемейства TGF $\beta$ , каждое субсемейство использует собственный набор R-Smads: Smad 2/3 для - TGF $\beta$  и Smad 1/5/8 – для BMP.

В последние годы открыты неклассические пути реализации TGF $\beta$  воздействия, когда молекула TGF $\beta$  может активировать не только канонический каскад Smad белков, но и другие не-канонические сигнальные пути [52]. Это фосфатидилинозитол-3-ОН киназа (анг. phosphatidylinositol-3-OH kinase, PI3K) / АКТ, Rho-ассоциированная протеиновая киназа (анг. Rho-associated protein kinase, ROCK), и митоген-активируемые протеинкиназой (анг. mitogen-activated protein kinase, MAPK) каскады, последний из которых включает extracellular signal-regulated kinase (ERK), Jun N-terminal kinase (JNK) и p38 [52].

**BMP** входит в суперсемейство TGF $\beta$ . В настоящее время происходит дальнейшее изучение и эволюция понимания тканеспецифических ролей BMP [53]. На данный момент изучено 19 видов BMP у млекопитающих. В зависимости от структуры и функции они разделены на 7 подгрупп. Известно, что механизмы, контролирующие биоактивность BMP, отличаются от таковых у TGF $\beta$ . Активная молекула BMP также как и TGF $\beta$  является димером. Если димер образуется из молекул одного вида он называется гомодимер. Гетеродимер образуется из мономеров BMP разного вида [54]. Интересным представляется различие в сродстве с рецепторами в зависимости от того является ли BMP гомо- или гетеродимером [55].

BMP присоединяются к микрофибриллам нековалентной связью без вспомогательных белков. Хорошо изучена роль BMP в формировании костной ткани [56], однако роль BMP значительно шире и продолжает изучаться [57, 58, 59]. TGF $\beta$  стимулирует пролиферацию остеобластов, но замедляет их дифференцировку, в то время как BMP напротив – стимулирует дифференцировку и замедляет пролиферацию [60, 61].

Результаты исследований со стволовыми клетками (СК) показывают, что повышенная активация биохимических сигналов TGF $\beta$ , происходящих в клетках СК, подавляет BMP-сигнализацию, которая является ключевым регулятором формирования костной ткани [62]. Баланс между воздействием данных сигнальных молекул определяет эффективность формирования костной ткани и, предположительно, является ответственным за формирование костных признаков СК. Увеличивается количество публикаций подтверждающих

антагонизм между BMP и TGF $\beta$  и в других тканях и органах [63, 64]. А изменение баланса между этими сигнальными путями вследствие мутаций генов, кодирующих участников их реализации, может приводить к ряду заболеваний, включая рак [65, 66].

Таким образом, знания о СМ за последние годы претерпели значительную эволюцию. Предложены новые диагностические Гентские критерии, значительно расширилось понимание роли белков, которые, выполняют не только структурную, как предполагалось, но и функциональную роль, обеспечивая избыточную активацию TGF $\beta$  и реализуя патогенетический механизм развития СМ.

## Литература

- 1 Кадурина Т.И., Горбунова В.Н. Дисплазия соединительной ткани. Руководство для врачей. СПб.: Элби-СПб, 2009. 704 с.
- 2 Hynes, R. O. and Yamada, K. M. Extracellular Matrix Biology, 2012. pp. 397. Cold Spring Harbor, NY: CSHL Press.
- 3 Geiger, B. and Yamada, K. M., Molecular architecture and function of matrix adhesions, 2012., Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 3,3.
- 4 Singh P, Schwarzbauer JE. Fibronectin and stem cell differentiation - lessons from chondrogenesis. J Cell Sci. 2012 Aug 15;125(Pt 16):3703-12.
- 5 Ramirez F., Rifkin D.B. Extracellular microfibrils: contextual platforms for TGF $\beta$  and BMP signaling. Curr Opin Cell Biol. 2009;21:616–622.
- 6 Czirok, A., Rongish, B. J., and Little, C. D. Extracellular matrix dynamics during vertebrate axis formation. 2004., Dev. Biol. 268, 111–122.
- 7 Sivakumar, P., Czirok, A., Rongish, B. J., Divakara, V. P., Wang, Y. P., and Dallas, S. L., New insights into extracellular matrix assembly and reorganization from dynamic imaging of extracellular matrix proteins in living osteoblasts, 2006., J. Cell Sci. 119, 1350–1360.
- 8 Sarah L. Dallas, Qian Chen, and Pitchumani Sivakumar. Dynamics of Assembly and Reorganization of Extracellular Matrix Proteins, 2006., Dev. Biol. 75, 1 - 24
- 9 Czirok, A., Zamir, E.A., Filla, M. B., Little, C.D., and Rongish, B. J. Extracellular matrix macro-assembly dynamics in early vertebrate embryos, 2006., Curr. Top. Dev. Biol. 73, 238–258.
- 10 Dunker N, Krieglstein K. TGF $\beta$ 2/ TGF $\beta$ 3/ double knockout mice display severe midline fusion defects and early embryonic lethality. Anatomy and Embryology (Berl) 2002;206(1/2):73–83.
- 11 Sanford LP, Ormsby I, Gittenberger-de Groot AC, Sariola H, Friedman R, Boivin GP, et al. TGF $\beta$ 2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGF $\beta$  knockout phenotypes. Development 1997;124(13):2659–70.
- 12 Doyle JJ, Gerber EE, Dietz HC. Matrix-dependent perturbation of TGF $\beta$  signaling and disease. FEBS Letters 2012;586(14):2003–15.
- 13 Wyss-Coray T, Masliah E, Mallory M, McConlogue L, Johnson-Wood K, Lin C, et al. Amyloidogenic role of cytokine TGF $\beta$ 1 in transgenic mice and in Alzheimer's disease. Nature 1997;389(6651):603–6.
- 14 Dooley S, ten Dijke P. TGF $\beta$  in progression of liver disease. Cell and Tissue Research 2012;347(1):245–56
- 15 Blobel GA, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. New England Journal of Medicine 2000;342(18):1350–8. (Massague J. TGF $\beta$  in cancer. Cell 2008;134(2):215–30.

- 
- 16 Coward WR, Saini G, Jenkins G. The pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease* 2010;4(6):367–88.
- 17 Pohlers D, Brenmoehl J, Loffler I, Muller CK, Leipner C, Schultze-Mosgau S et al. TGF $\beta$  and fibrosis in different organs – molecular pathway imprints *Biochimica et Biophysica Acta* 2009;1792(8):746–56.
- 18 Burks TN, Cohn RD. Role of TGF $\beta$  signaling in inherited and acquired myopathies. *Skelet Muscle* 2011;1(1):19.
- 19 Han G, Li F, Singh TP, Wolf P, Wang XJ. The pro-inflammatory role of TGF $\beta$ 1: a paradox? *International Journal of Biological Sciences* 2012;8(2): 228–35.
- 20 Akhurst RJ, Hata A. Targeting the TGF $\beta$  signalling pathway in disease. *Nature Reviews Drug Discovery* 2012;11(10):790–811.
- 21 Koli K, Saharinen J, Hyytiainen M, et al. Latency, activation, and binding proteins of TGF $\beta$ . *Microsc Res Tech* 2001; 52: 354–62.
- 22 Dubois CM, Laprise MH, Blanchette F, Gentry LE, Leduc R. 1995. Processing of transforming growth factor- $\beta$  1 precursor by human furin convertase. *J Biol Chem* 270:10618–10624
- 23 Рудой, А. С. TGF $\beta$ -зависимый патогенез синдрома Марфана и родственных наследственных нарушений соединительной ткани/ А. С. Рудой // Артериальная гипертензия. 2009. Т. 15, № 2. С. 223–226.
- 24 Robertson I, Jensen S, Handford P. TB domain proteins: evolutionary insights into the multifaceted roles of fibrillins and LTBP. *Biochem J.* 2010;433:263–76.
- 25 Ramirez F, Sakai LY, Rifkin DB, Dietz HC. Extracellular microfibrils in development and disease. *Cell Mol Life Sci* 2007;64:2437–2446.
- 26 Zilberberg, L., Todorovic, V., Dabovic, B., Horiguchi, M., Courousse, T., Sakai, L.Y., and Rifkin, D.B. (2012) Specificity of latent TGF $\beta$  binding protein (LTBP) incorporation into matrix: role of fibrillins and fibronectin. *J. Cell Physiol.* 227, 3828-3836
- 27 Dallas, S.L., Sivakumar, P., Jones, C.J., Chen, Q., Peters, D.M., Mosher, D.F., Humphries, M.J., and Kielty, C.M. (2005) Fibronectin regulates latent transforming growth factor-beta (TGF $\beta$ ) by controlling matrix assembly of latent TGF $\beta$ -binding protein-1. *J. Biol. Chem.* 280, 18871-18880
- 28 Munger JS, Huang X, Kawakatsu H, Griffiths MJ, Dalton SL, Wu J, et al. The integrin  $\alpha$  v  $\beta$  6 binds and activates latent TGF $\beta$ 1: a mechanism for regulating pulmonary inflammation and fibrosis. *Cell* 1999;96(3):319–28.
- 29 Annes JP, Chen Y, Munger JS, Rifkin DB. Integrin  $\alpha$ V $\beta$ 6-mediated activation of latent TGF $\beta$  requires the latent TGF $\beta$  binding protein- 1. *Journal of Cell Biology* 2004;165(5):723–34.
- 30 Fontana L, Chen Y, Prijatelj P, Sakai T, Fassler R, Sakai LY, et al. Fibronectin is required for integrin  $\alpha$ v $\beta$ 6-mediated activation of latent TGF $\beta$  complexes containing LTBP-1. *FASEB Journal* 2005;19(13):1798–808.
- 31 Wang R, Wan Q, Kozhaya L, Fujii H, Unutmaz D (2008) Identification of a Regulatory T Cell Specific Cell Surface Molecule that Mediates Suppressive Signals and Induces Foxp3 Expression. *PLoS ONE* 3(7): e2705.
- 32 Yang Z, Mu Z, Dabovic B, Jurukovski V, Yu D, Sung J, et al. Absence of integrin-mediated TGF $\beta$ 1 activation in vivo recapitulates the phenotype of TGF $\beta$ 1-null mice. *Journal of Cell Biology* 2007;176(6):787–93.
- 33 Ge G, Greenspan DS. BMP1 controls TGF $\beta$ 1 activation via cleavage of latent TGF $\beta$ -binding protein. *Journal of Cell Biology* 2006;175(1):111–20.
- 34 Miyazono K, Heldin CH. Role for carbohydrate structures in TGF $\beta$ 1 latency. *Nature* 1989;338(6211):158–60.
- 35 Schultz-Cherry S, Hinshaw VS. Influenza virus neuraminidase activates latent transforming growth factor beta. *Journal of Virology* 1996;70(12):8624–9.



- 
- 36 Carlson CM, Turpin EA, Moser LA, O'Brien KB, Cline TD, Jones JC, et al. Transforming growth factor-beta: activation by neuraminidase and role in highly pathogenic H5N1 influenza pathogenesis. *PLOS Pathogens* 2010;6(10): e1001136.
- 37 Brunner AM, Lioubin MN, Marquardt H, Malacko AR, Wang WC, Shapiro RA, et al. Site-directed mutagenesis of glycosylation sites in the transforming growth factor-beta 1 (TGFβ1) and TGFβ2 (414) precursors and of cysteine residues within mature TGFβ1: effects on secretion and bioactivity. *Molecular Endocrinology* 1992;6(10):1691–700
- 38 Murphy-Ullrich JE, Poczatek M. Activation of latent TGFβ by thrombospondin-1: mechanisms and physiology. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 2000;11(1/2):59–69.
- 39 Ribeiro SM, Poczatek M, Schultz-Cherry S, Villain M, Murphy-Ullrich JE. The activation sequence of thrombospondin-1 interacts with the latency-associated peptide to regulate activation of latent transforming growth factor-beta. *Journal of Biological Chemistry* 1999;274(19):13586–93.
- 40 Schultz-Cherry S, Chen H, Mosher DF, Misenheimer TM, Krutzsch HC, Roberts DD, et al. Regulation of transforming growth factor-beta activation by discrete sequences of thrombospondin 1. *Journal of Biological Chemistry* 1995;270(13):7304–10
- 41 Grainger DJ, Frow EK. Thrombospondin 1 does not activate transforming growth factor beta1 in a chemically defined system or in smooth-muscle-cell cultures. *Biochemical Journal* 2000;350(Pt 1):291–8
- 42 Lawler J, Sunday M, Thibert V, Duquette M, George EL, Rayburn H, et al. Thrombospondin-1 is required for normal murine pulmonary homeostasis and its absence causes pneumonia. *Journal of Clinical Investigation* 1998;101(5): 982–92.
- 43 Crawford SE, Stellmach V, Murphy-Ullrich JE, Ribeiro SM, Lawler J, Hynes RO, et al. Thrombospondin-1 is a major activator of TGFβ1 in vivo. *Cell* 1998;93(7):1159–70
- 44 Attur MG, Palmer GD, Al-Mussawir HE, Dave M, Teixeira CC, Rifkin DB, et al. F-spondin, a neuroregulatory protein, is up-regulated in osteoarthritis and regulates cartilage metabolism via TGFβ activation. *FASEB Journal* 2009;23(1):79–89
- 45 Glinka Y, Prud'homme GJ. Neuropilin-1 is a receptor for transforming growth factor beta-1, activates its latent form, and promotes regulatory T cell activity. *Journal of Leukocyte Biology* 2008;84(1):302–10.
- 46 Glinka Y, Stoilova S, Mohammed N, Prud'homme GJ. Neuropilin-1 exerts co-receptor function for TGFβ1 on the membrane of cancer cells and enhances responses to both latent and active TGFβ. *Carcinogenesis* 2011;32(4):613–21.
- 47 Grandclement C, Pallandre JR, Valmary Degano S, Viel E, Bouard A, Balland J, et al. Neuropilin-2 expression promotes TGFβ1-mediated epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer cells. *PLoS ONE* 2011;6(7):e20444
- 48 Lyons RM, Keski-Oja J, Moses HL. Proteolytic activation of latent transforming growth factor-beta from fibroblast-conditioned medium. *Journal of Cell Biology* 1988;106(5):1659–65.
- 49 Barcellos-Hoff MH, Dix TA. Redox-mediated activation of latent transforming growth factor-beta 1. *Molecular Endocrinology* 1996;10(9):1077–83.
- 50 Massague J., Seoane J., Wotton D. Smad transcription factors // *Genes Dev.* 2005. Vol. 19 (23). P. 2783–2810
- 51 Derynck, R. and Miyazono, K (2008) *The TGFβ Family*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY
- 52 Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGFβ family signalling. *Nature*. 2003; 425:577–84. PubMed: 14534577
- <sup>53</sup> Reddi AH, Reddi A. Bone morphogenetic proteins (BMPs): from morphogens to metabologens. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009;20:341–2.
- <sup>54</sup> Sampath TK, Coughlin JE, Whetstone RM, Banach D, Corbett C, Ridge RJ, et al. Bovine osteogenic protein is composed of dimers of OP-1 and BMP-2A, two members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem* 1990;265:13198–205.

---

<sup>55</sup> Israel DI, Nove J, Kerns KM, Kaufman RJ, Rosen V, Cox KA, et al. Heterodimeric bone morphogenetic proteins show enhanced activity in vitro and in vivo. *Growth Factors* 1996;13:291–300.

56 Chen, D., Harris, M.A., Rossini, G., Dunstan, C.R., Dallas, S.L., Feng, J.Q., Mundy, G.R. and Harris, S.E. (1997) “Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) enhances BMP-3, 4 and bone cell differentiation marker gene expression during the induction of mineralized bone matrix formation in cultures of fetal rat calvarial osteoblasts”, *Calcif. Tissue Int.* 60, 283–290.

57 Kingsley, D.M., Bland, A.E., Grubber, J.M., Marker, P.C., Russell, L.B., Copeland, N.C. and Jenkins, N.A. (1992) The mouse short ear skeletal morphogenesis is associated with defects in a bone morphogenetic member of the TGF superfamily, *Cell* 71, 399–410.

58 Mikic, B., van derMeulen, M.C., Kingsley, D.M. and Carter, D.R. (1995) “Long bone geometry and strength in adult BMP-5 deficient mice”, *Bone* 16, 445–454.

59 Gannon, F.H., Kaplan, F.S., Olmsted, E., Finkel, G.C., Zasloff, M.A. and Shore, E. (1997) “Bone morphogenetic protein 2/4 in early fibromatous lesions of fibrodysplasia ossificans progressiva”, *Hum. Pathol.* 28, 339–343.

60 Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors* 2004;22:233–241

61 Quarto N, Leonard B, Li S, et al. Skeletogenic phenotype of human Marfan embryonic stem cells faithfully phenocopied by patient-specific induced-pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109:215–220

62 Chen, D., Harris, M.A., Rossini, G., Dunstan, C.R., Dallas, S.L., Feng, J.Q., Mundy, G.R. and Harris, S.E. (1997) “Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) enhances BMP-3, 4 and bone cell differentiation marker gene expression during the induction of mineralized bone matrix formation in cultures of fetal rat calvarial osteoblasts”, *Calcif. Tissue Int.* 60, 283–290.

<sup>63</sup> Yew KH, Hembree M, Prasad K, et al. Cross-talk between bone morphogenetic protein and transforming growth factor-beta signaling is essential for exendin-4-induced insulin-positive differentiation of AR42J cells. *J Biol Chem* 2005;280:32209–32217.

<sup>64</sup> Izumi N, Mizuguchi S, Inagaki Y, et al. BMP-7 opposes TGFβ1-mediated collagen induction in mouse pulmonary myofibroblasts through Id2. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;290: L120–L126.

<sup>65</sup> Waite, K.A. & Eng, C. From developmental disorder to heritable cancer: it’s all in the BMP/TGFβ family. *Nat. Rev. Genet.* 4, 763–773 (2003).

<sup>66</sup> Kim SH, Lee SH, Choi YL, Wang LH, Park CK, Shin YK. Extensive alteration in the expression profiles of TGFβ pathway signaling components and TP53 is observed along the gastric dysplasia-carcinoma sequence. *Histol Histopathol.* 2008;7(12):1439–1452.