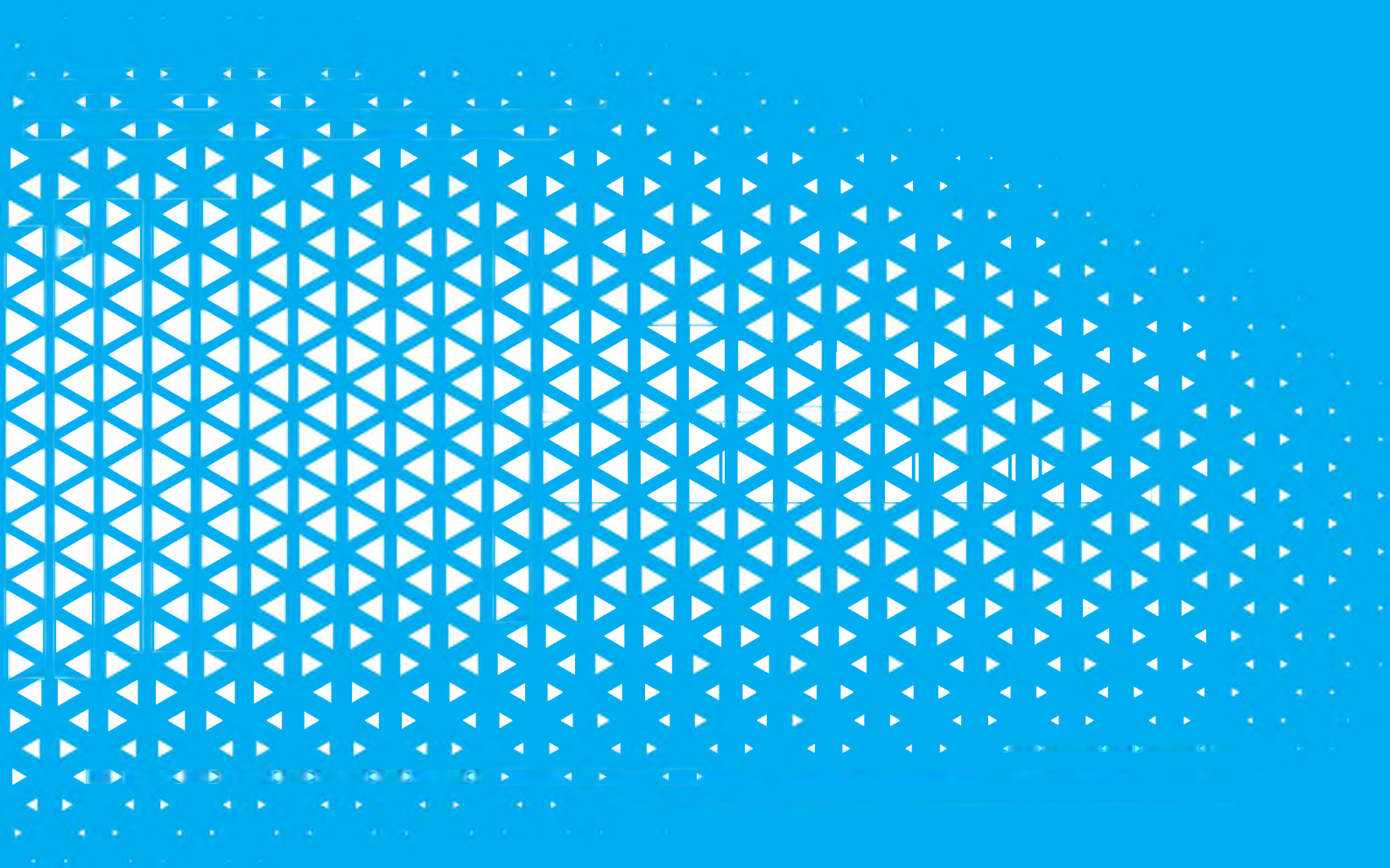




# contenido

# El potencial terapéutico de T $\beta$ RII-SE, una nueva variante del receptor tipo II de TGF- $\beta$ .

Andrés J. ORQUEDA  
Docente del DCAyT (UNM)  
aorqueda@docentes.unm.edu.ar

## Introducción

El Factor de Crecimiento Transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) es una familia de citoquinas que controlan un gran número de procesos biológicos tales como la proliferación y diferenciación celulares, la migración y la apoptosis. Las isoformas de esta familia son proteínas sintetizadas por las células como grandes precursores, que posteriormente son clivados en fragmentos (1).

Las 3 isoformas, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3, pueden unirse con distinta afinidad a sus receptores tipo I y tipo II, llamados T $\beta$ RI y T $\beta$ RII. La unión de los ligandos a sus receptores desencadena una cascada de señales en el interior de las células que conduce a la modificación de la expresión génica y de la actividad de diversas proteínas. En este contexto, no sorprende que la alteración de la señalización normal de esta citoquina esté asociada a diversas enfermedades y patologías como inflamación, fibrosis y cáncer (2). Por tal motivo, fármacos que actúen sobre la vía de TGF- $\beta$  pueden resultar altamente beneficiosos en el tratamiento de esos desórdenes.

## Receptores de TGF- $\beta$ y modo de acción

Los receptores T $\beta$ RI y T $\beta$ RII pertenecen a la superfamilia de receptores de especificidad dual, con actividad tanto serina/treonina quinasa como tirosina quinasa. Están presentes en las membranas de numerosos tipos celulares y, además de TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3, pueden unir a los ligandos Proteína Morfogénica de Hueso, Activina, Nodal, etc. (1).

Estos receptores se caracterizan por presentar un dominio extracelular pequeño rico en cisteínas, otro transmembrana, uno yuxta-membrana, y un dominio quinasa. En la vía de señalización de TGF- $\beta$ , la citoquina actúa como dímero uniéndose a dos receptores T $\beta$ RI y dos T $\beta$ RII, en relación estequiométrica 2:2:2. Inicialmente, los receptores se encuentran en las

membranas plasmáticas como monómeros, homodímeros o heterodímeros. Como TGF- $\beta$ 1 y TGF- $\beta$ 3 tienen mayor afinidad por T $\beta$ RII que por T $\beta$ RI, normalmente la señalización comienza por la unión de esos ligandos a T $\beta$ RII, tras lo cual T $\beta$ RI es reclutado al complejo. El complejo T $\beta$ RII-T $\beta$ RI queda así estabilizado y permite la unión de TGF- $\beta$ 2, de menor afinidad por el T $\beta$ RII en estado libre (3).

Por otro lado, los receptores de TGF- $\beta$  forman complejos con una variedad de proteínas co-receptoras que modulan su actividad. Entre ellos, la proteína de unión a inunofilina FK506 de 12 kDa (FKBP12) normalmente está unida a T $\beta$ RI inhibiendo su dominio quinasa. Luego de formado el complejo receptor heterotetramérico por la unión del ligando, T $\beta$ RII fosforila y activa a T $\beta$ RI, lo que conduce a un cambio conformacional que permite la liberación de FKBP12, perdiéndose la inhibición de la actividad quinasa de T $\beta$ RI, que entonces se vuelve activa y adquiere la capacidad de interactuar con factores Smad regulados por receptor. Entre estos factores se encuentran las proteínas Smad2/3, que a su vez modulan la actividad de Smad4, que transloca al núcleo para regular la transcripción de una gran variedad de genes a través de secuencias específicas de unión a Smads en el ADN (4).

Otros co-receptores que estabilizan el complejo heterotetramérico son Betaglicano y Endoglin, proteínas transmembrana o ancladas a la membrana con la capacidad de regular la presentación de los ligandos o modificar la actividad quinasa de T $\beta$ RI y T $\beta$ RII, promoviendo o inhibiendo la señal disparada por la citoquina. Betaglicano puede ser clivado perdiendo su dominio de anclaje a la membrana y actuar como isoforma soluble que inhibe la señalización de TGF- $\beta$  al unir la citoquina y reducir su disponibilidad (5).

La actividad de los receptores de TGF- $\beta$  está regulada por varios mecanismos que incluyen: la autofosforilación de T $\beta$ RI y T $\beta$ RII; la actividad de proteínas fosfatasa que contrarrestan la activación por fosforilación; la degradación vía proteasoma; la modificación por SUMOilación; y la endocitosis de los receptores (6).

Además, TGF- $\beta$  puede modular procesos biológicos mediante vías no canónicas, independientes de los factores Smad, casos en los que el receptor activado modula otras vías de señalización paralelas, que incluyen a las proteínas MAP quinasas p38, ERK1/2 y JNK, y a PI3K/Akt, Ras y JAK-STAT, entre otras, o a través del *crosstalk* entre ambas vías (7).

Finalmente, si bien los receptores de TGF- $\beta$  están presentes en las membranas celulares, estos pueden actuar en otras ubicaciones: por ejemplo, al ser incorporados al interior celular por endocitosis en endosomas, desde allí activan cascadas de señalización mediadas por Smads.

### **Alteración de la vía de TGF- $\beta$ . Implicancias en patologías**

La vía de señalización de TGF- $\beta$  está involucrada en numerosos procesos biológicos, por lo que no sorprende que la altera-

ción de la misma esté relacionada con una amplia variedad de desórdenes y patologías en humanos. En primer lugar, TGF- $\beta$  activa la Transición Epitelio-Mesénquima (EMT), evento en el cual las células del tipo epitelial comienzan a producir proteínas y componentes de la matriz extracelular propias de las células del tipo mesenquimal, proceso evidenciado por la reducción de la síntesis de proteínas epiteliales E-cadherina, y el simultáneo aumento de la de péptidos de células mesenquimales Vimentina y Actina de Músculo Liso-alfa.

Por otro lado, la activación de la vía de TGF- $\beta$  mediada por Smads está estrechamente asociada a efectos pro-fibróticos. En modelos de fibrosis renal y hepática se ha demostrado que TGF- $\beta$  es un mediador clave del progreso de la fibrosis, existiendo casos en los que sus niveles son mayores a los normales, o en los que hay una sobre-expresión de sus receptores. También se ha descrito la inducción de EMT y fibrosis túbulointersticial por administración de TGF- $\beta$ , y de fibrosis renal en animales transgénicos por sobre-expresión de TGF- $\beta$  (8).

Uno de los mecanismos involucrados en la progresión de la fibrosis por alteración de la señalización de TGF- $\beta$  es el de los microRNAs (miRs): por ejemplo, miR-302 tiene como blanco al ARNm de T $\beta$ RII, conduciendo a una señalización aberrante de TGF- $\beta$  y la fibrosis renal. Por otro lado, miR-let-7b es un microRNA cuya transcripción es reprimida por TGF- $\beta$  en el riñón. Dado que miR-let-7b inhibe la expresión de T $\beta$ RI, la acción sostenida de la citoquina conduce a la inducción de T $\beta$ RI por un mecanismo mediado por miR-let-7b que puede llevar a fibrosis renal (9).

También, está ampliamente reportada la asociación entre las mutaciones de los receptores de TGF- $\beta$  y el cáncer. Por ejemplo, se han registrado mutaciones inactivantes del gen codificante del T $\beta$ RII en carcinomas de colon y recto en un 30 % de los pacientes (10). Además, son frecuentes las mutaciones en cáncer de vesícula, leucemias y cabeza y cuello. Todo esto muestra el rol supresor de tumores de TGF- $\beta$  al inhibir la proliferación celular en los órganos y tejidos mencionados (11). Sin embargo, la relación entre TGF- $\beta$  y el cáncer es controversial, dado que está reportada tanto su actividad como gen supresor de tumores (inhibiendo la proliferación celular) como la de promotor tumoral, induciendo la transición epitelio-mesénquima, la capacidad metastásica y la angiogénesis (2).

La expresión alterada de diversos microRNAs también se relaciona con la progresión tumoral mediada por TGF- $\beta$  en humanos: miR-17-92 por un lado, y miR-520c y miR-373, por otro, inhiben la expresión de T $\beta$ RII, y su actividad está asociada a tumores de tipo neuroblastoma y de mama, respectivamente (12). Además, miR-140-5p normalmente reprime la expresión del gen codificante de T $\beta$ RI, y su actividad es crítica para la progresión de carcinomas hepatocelulares (9).

Otros desórdenes asociados a alteraciones de la vía de TGF- $\beta$  son: la telangiectasia hemorrágica hereditaria, una patología autosómica dominante caracterizada por telangiectasias mucocutáneas y malformaciones arteriovenosas en las que se



reportaron mutaciones en una variante de T $\beta$ R1 y en el coreceptor Endoglin; y el síndrome de Marfan, caracterizado por una alteración del tejido conectivo, en el que se describieron mutaciones en los receptores T $\beta$ R1 y T $\beta$ R2 (13).

## T $\beta$ R2-SE. Potencial terapéutico

Recientemente se ha caracterizado la variante de *splicing* de T $\beta$ R2, llamada T $\beta$ R2-SE, una novedosa versión truncada y soluble con una delección en el ARNm que carece de los dominios intracelular y transmembrana, lo que le permite la secreción al medio extracelular. T $\beta$ R2-SE posee alta afinidad por TGF- $\beta$ , y no necesitaría de la interacción con receptores adicionales. Se han descrito su estructura, modificaciones post-traduccionales y ligandos a los que se une, aunque el conocimiento acerca de su rol en condiciones fisiológicas o patológicas es muy pobre.

Está documentada la expresión de T $\beta$ R2-SE en linfocitos humanos, en células Jurkat, en líneas celulares humanas de riñón embrionario immortalizadas, en células linfoblastoides humanas y en células madre estromales derivadas de tejido adiposo. Resulta clave que su sobreexpresión en ciertos tipos celulares los vuelve insensibles a TGF-1 (14).

También se demostró la eficacia de T $\beta$ R2-SE en el tratamiento de la fibrosis hepática, describiendo su unión a receptores de TGF- $\beta$  y la capacidad de revertir el daño y fibrosis inducida en el hígado de ratones tratados con CCl $_4$  (14).

La activación de la señalización de TGF- $\beta$  que frecuentemente ocurre en cáncer y fibrosis, vuelve a TGF- $\beta$  un blanco terapéutico prometedor, por lo que se puede suponer que el empleo de T $\beta$ R2-SE como fármaco bloquearía la vía de TGF- $\beta$  e inhibiría distintos tipos de fibrosis como la renal -que puede estar asociada con la expresión inhibida del T $\beta$ R2 o con la inducción de T $\beta$ R1 (15)- o la hepática, y ayudaría en el tratamiento contra diversas patologías.

## Conclusiones finales

Considerando los antecedentes que muestran la estrecha relación entre la activación de la vía de TGF- $\beta$  y varias patologías, principalmente la fibrosis, surge el interés en ahondar en la capacidad de T $\beta$ R2-SE de restablecer la señalización normal, y desarrollarlo como agente terapéutico. Es importante señalar que ya se ha patentado la variante T $\beta$ R2-SE y que se están investigando sus efectos anti-fibróticos en otros órganos, con vistas a explotarlo comercialmente.

## Bibliografía:

- 1- Massagué J., Attisano L. y Wrana J.L. (1994). The TGF- $\beta$  family and its composite receptors. *Trends Cell Biol*, 4(5), 172-178.
- 2- Heldin C.H. y Moustakas A. (2016). Signaling Receptors for TGF- $\beta$  Family Members. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 8(8), a022053.
- 3- Groppe J., Hinck C.S., Samavarchi-Tehrani P., Zubieta C., Schuermann J.P., Taylor A.B., Schwarz P.M., Wrana J.L. y Hinck A.P. (2008). Cooperative assembly of TGF- $\beta$  superfamily signaling complexes is mediated by two disparate mechanisms and distinct modes of receptor binding. *Mol Cell*, 29, 157-168.
- 4- Massagué J. (2012). TGF $\beta$  signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 13(10), 616-630.
- 6- Kang J.S., Saunier E.F., Akhurst R.J. y Derynck R. (2008). The type I TGF- $\beta$  receptor is covalently modified and regulated by sumoylation. *Nat Cell Biol*, 10, 654-664.
- 7- Tang L.-Y., Heller M., Meng Z., Yu L.-R., Tang Y., Zhou M. y Zhang Y.E. (2017). Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) directly activates the JAK1-STAT3 axis to induce hepatic fibrosis in coordination with the SMAD pathway. *J Biol Chem*, 292(10), 4302-4312.
- 5- López-Casillas F., Payne H.M., Andres J.L. y Massagué J. (1994). Betaglycan can act as a dual modulator of TGF- $\beta$  access to signaling receptors: Mapping of ligand binding and GAG attachment sites. *J Cell Biol*, 124, 557-568.
- 8- Yeh Y.C., Wei W.C., Wang Y.K., Lin S.C., Sung J.M. y Tang M.J. (2010). Transforming growth factor- $\beta$ 1 induces Smad3-dependent  $\beta$ 1 integrin gene expression in epithelial-to-mesenchymal transition during chronic tubulointerstitial fibrosis. *Am J Pathol*, 177, 1743-1754.
- 9- Wang B., Jha J.C., Hagiwara S., McClelland A.D., Jandeleit-Dahm K., Thomas M.C., Cooper M.E. y Kantharidis P. (2014). Transforming growth factor- $\beta$ 1-mediated renal fibrosis is dependent on the regulation of transforming growth factor receptor 1 expression by let-7b. *Kidney Int*, 85, 352-361.
- 10- Biswas S., Trobridge P., Romero-Gallo J., Billheimer D., Myeroff L.L., Willson J.K.V., Markowitz S.D. y Grady W.M. (2008). Mutational inactivation of TGFBR2 in microsatellite unstable colon cancer arises from the cooperation of genomic instability and the clonal outgrowth of transforming growth factor  $\beta$  resistant cells. *Genes Chromos Cancer*, 47, 95-106.
- 11- Kandath C., McLellan M.D., Vandin F., Ye K., Niu B.F., Lu C., Xie M.C., Zhang Q.Y., McMichael J.F., Wyczalkowski M.A., Leiserson M.D.M., Miller C.A., Welch J.S., Walter M.J., Wendl M.C., Ley T.J., Wilson R.K., Raphael B.J. y Ding L. (2013). Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*, 502, 333-339.
- 12- Keklikoglou I., Koerner C., Schmidt C., Zhang J.D., Heckmann D., Shavinskaya A., Allgayer H., Guckel B., Fehm T., Schneeweiss A., Sahin O., Wiemann S. y Tschulena U. (2012). MicroRNA-520/373 family functions as a tumor suppressor in estrogen receptor negative breast cancer by targeting NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$  signaling pathways. *Oncogene*, 31, 4150-4163.
- 13- Mizuguchi T., Collod-Beroud G., Akiyama T., Abifadel M., Harada N., Morisaki T., Allard D., Varret M., Claustres M., Morisaki H., Ihara M., Kinoshita A., Yoshiura K., Junien C., Kajii T., Jondeau G., Ohta T., Kishino T., Furukawa Y., Nakamura Y., Niihara N., Boileau C. y Matsumoto N. (2004). Heterozygous TGFBR2 mutations in Marfan syndrome. *Nat Genet*, 36, 855-860.
- 14- Bertolio M.S., La Colla A., Carrea A., Romo A., Canziani G., Echarte S.M., Campisano S., Barletta G.P., Monzon A.M., Rodríguez T.M., Chisari A.N. y Dewey R.A. (2021). A novel splice variant of human TGF- $\beta$  type II receptor encodes a soluble protein and its Fc-tagged version prevents liver fibrosis in vivo. *Front Cell Dev Biol*, 10 (9), 690397.
- 15- Faherty N., Curran S.P., O'Donovan H., Martin F., Godson C., Brazil D.P. y Crean J.K. (2012). CCN2/CTGF increases expression of miR-302 microRNAs, which target the TGF $\beta$  type II receptor with implications for nephropathic cell phenotypes. *J Cell Sci*, 125, 5621-5629.



Video de la ponencia del Dr. Andrés Orqueda en el Ateneo del DCAyT: Tratamiento de la nefropatía diabética. Estrategias basadas en la utilización de células MUSE provenientes de sangre de cordón umbilical y en la actividad de la variante soluble endógena del receptor tipo 2 de TGF- $\beta$ .