Udział reaktywnych form tlenu i reduktazy tioredoksyny w regulacji migracji komórek

Jolanta Sroka✉

Zbigniew Madeja

Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

✉Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków; tel. (012) 664 61 43, e-mail: jolanta.sroka@uj.edu.pl

Artykuł otrzymano 30 marca 2009 r.
Artykuł zaakceptowano 20 kwietnia 2009 r.

Słowa kluczowe: migracja komórek, reaktywne formy tlenu, reduktaza tioredoksyny, kinaza białkowa C

Wykaz skrótów: FAK (*ang. focal adhesion kinase*) — kinaza kontaktów zogniskowanych; MAPK (*ang. Mitogen Activated Protein Kinases*) — kinazy aktywowane mitogenami; MMP (*ang.metaloproteinase*) — metaloproteinaza; PKC (*ang. Protein Kinase C*) — białkowa kinaza C; PI3K (*ang. phosphoinositide 3-kinase*) — fosfatydyloinozytolo-3-kinaza; PIP_3 (*ang. phosphatidyl inositol-3,4,5-triphosphate*) — fosfatydyloinozytolo-3,4,5-trifosforan; PMA (*ang. phorbol 12-myristate 13-acetate*); PTEN (*ang. phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten*); RFT — reaktywne formy tlenu; Trx (*ang. thioredoxin*) — tioredoksyna; TrxR (*ang. thoiredoxin reductase*) — reduktaza tioredoksyny

Podziękowania: Autorzy dziękują pani mgr Jadwidze Goldzie za opracowanie graficzne rycin. Praca powstała w ramach realizacji projektu badawczego N305 336434 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

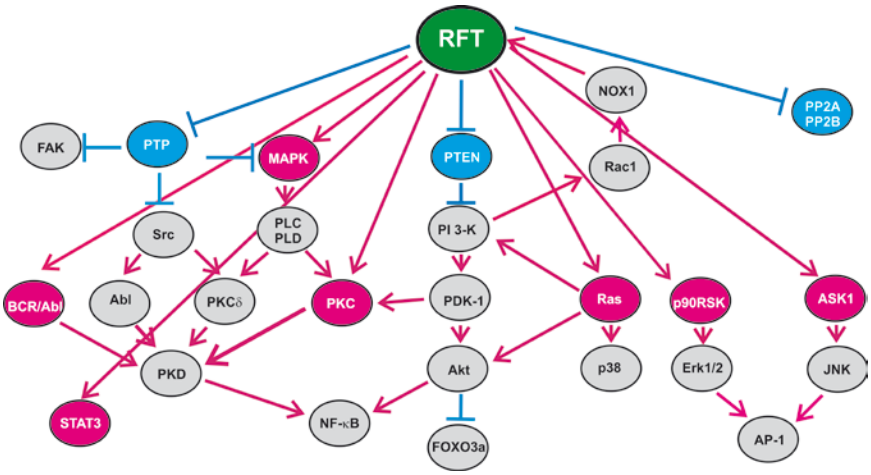
STRESZCZENIE

Reaktywne formy tlenu (RFT) przez wiele lat uważane były za czynnik uszkadzający komórki i zaburzający wiele procesów. Jednak w ciągu ostatnich lat pojawiło się wiele dowodów na to, że RFT w stężeniu fizjologicznym odgrywają ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórek i regulują takie procesy, jak proliferacja, różnicowanie, apoptoza oraz migracja. Liczne badania wskazują, że jednym z mechanizmów, poprzez który czynniki wzrostowe i cytokiny indukują migrację komórek, jest kontrolowane wytwarzanie RFT w sposób zależny, między innymi, od oksydazy NADPH. RFT, utleniając wiele kluczowych dla przesyłania sygnałów białek, takich jak np. kinaza białkowa C, kinazy MAP, PI3K, fosfatazy tyrozynowe, fosfataza PTEN, zmieniają ich aktywność, co w znaczący sposób wpływa na reorganizację cytoszkieletu aktynowego, adhezję komórek i migrację. W artykule omówiono udział wybranych ścieżek sygnałowych zależnych od RFT, zaangażowanych w regulację aktywności ruchowej komórek zwierzęcych zarówno prawidłowych, jak i nowotworowych. Opisano również układ tioredoksyna-reduktaza tioredoksyny, odpowiedzialny za redukcję utlenionych przez RFT białek i przedstawiono wyniki badań dotyczące roli reduktazy tioredoksyny w regulacji migracji komórek.

WPROWADZENIE

Aktywność ruchowa komórek zwierzęcych towarzyszy wielu procesom zachodzącym w żywych organizmach. Wyróżnić wśród nich można embriogenezę [1], regenerację i gojenie się ran [2], reakcje obronne układu immunologicznego [3] oraz procesy związane z tworzeniem przerzutów przez komórki nowotworowe [4]. Ruch komórek w odpowiedzi na zewnątrzkomórkowe czynniki, takie jak cytokiny, chemokiny lub czynniki wzrostowe regulowany jest przez wiele białek i cząsteczek sygnałowych. Jednym z głównych mechanizmów regulacji aktywności białek związanych z migracją komórek są reakcje fosforylacji i defosforylacji, katalizowane przez takie enzymy, jak: MAPK (ang. *Mitogen Activated Protein Kinases*), PKC (ang. *protein kinase C*), FAK (ang. *focal adhesion kinase*), ROCK (ang. *rho-associated coiled-coil-forming kinase*), PI3K (ang. *phosphoinositide 3-kinase*), PTEN (ang. *phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)* i wiele innych [5-8]. Jednak, na co wskazuje wiele ostatnich badań, modyfikacja działania szlaków przekazywania sygnału w komórkach poprzez regulację aktywności niektórych białek enzymatycznych, może być również efektem ich odwracalnego utleniania przez reaktywne formy tlenu (RFT). Wpływ RFT na funkcjonowanie szlaków przekazywania sygnału w komórce zachodzi głównie poprzez zahamowanie aktywności fosfataz, między innymi fosfataz serynowo/treoninowych, tyrozynowych i fosfolipidowych, takich jak PP (ang. *protein phosphatases*), PTP (ang. *tyrosine phosphatase*) i PTEN. Utlenienie reszt cysteinowych w centrum aktywnym tych fosfataz prowadzi do ich inaktywacji i — w konsekwencji — wpływa na regulację wielu kaskad sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, przede wszystkim zależnych od kinaz MAP, PI3K i PKC [9-11]. RFT mogą również bezpośrednio wpływać na aktywność wielu kinaz białkowych [9] (Ryc. 1 i 2).

Większość RFT powstaje w komórkach w toku ich fizjologicznego metabolizmu, głównie w mitochondriach wskutek „ucieczki" elektronów z łańcucha oddechowego. RFT charakteryzują się wysoką reaktywnością, dlatego też reakcje redoks zachodzą w komórkach z bardzo dużą szybkością. Szybkość i łatwość dyfuzji RFT oraz ich zdolność do niespecyficznego reagowania z wieloma składnikami komórki może prowadzić do zaburzeń funkcjonowania wielu procesów w niej zachodzących, co — w konsekwencji — może być przyczyną rozwoju licznych chorób, między innymi miażdżycy, cukrzycy, choroby Alzheimera, choroby Parkinsona oraz chorób nowotworowych [12,13]. Jednak jak wcześniej wspomniano, działanie RFT w komórkach nie ogranicza się jedynie do wywoływania szkodliwych efektów. Istnieje wiele dowodów na to, że RFT w stężeniu fizjologicznym odgrywają ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórek



Rycina 1. Drogi sygnalizacji wewnątrzkomórkowej regulowane przez RFT. Wpływ RFT na poziom fosforylacji białek zachodzi głównie poprzez zahamowanie aktywności fosfataz serynowo/treoninowych PP, tyrozynowych PTP i fosfolipidowych PTEN, co wpływa na regulację wielu kaskad sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, przede wszystkim zależnych od kinaz MAP, PI3K i PKC, prowadząc, między innymi, do aktywacji czynników transkrypcyjnych, takich jak STAT-3, NF-κB i AP-1. Czerwony kolor wskazuje na bezpośrednią aktywację poszczególnych białek pod wpływem RFT, natomiast niebieski — na zahamowanie ich aktywności. Opracowano na podstawie [9].

i regulują takie procesy, jak profileracja, różnicowanie, apoptoza oraz migracja [13-14].

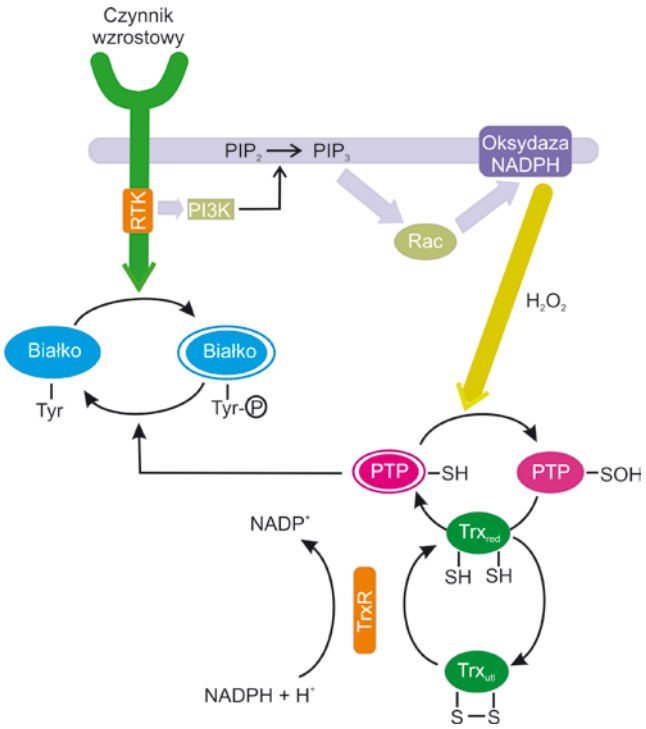
ROLA REAKTYWNYCH FORM TLENU W REGULACJI MIGRACJI KOMÓREK ZWIERZĘCYCH

Dane literaturowe wskazują, że RFT zaangażowane są w regulację migracji wielu typów komórek zwierzęcych zarówno prawidłowych, jak i nowotworowych (Tab. 1). RFT wytwarzane między innymi pod wpływem działania cytokin i czynników wzrostowych, takich jak PDGF, EGF, VEGF, TNF-α, interleukina-1 odgrywają istotną rolę w reorganizacji cytoszkieletu aktynowego, adhezji komórek do podłoża, kontaktów międzykomórkowych, zmian morfologii i migracji komórek. Regulacja aktywności ruchowej komórek przez RFT może odbywać się poprzez wpływ na aktywność wielu białek, takich jak MAPK, FAK, Src, PKC, PI3K, PTEN, Rho-GTPazy, jednak mechanizm tej regulacji nie jest w pełni wyjaśniony [9,10].

OKSYDAZA NADPH

Możliwość działania wspomnianych czynników wzrostu i cytokin na migrację komórek za pośrednictwem RFT wymaga ich kontrolowanego wytwarzania. Jednym z ważniejszych enzymów zaangażowanych w wytwarzanie RFT w komórkach jest oksydaza NADPH, katalizująca powstawanie anionorodnika ponadtlenkowego w wyniku transferu elektronów z NADPH na tlen cząsteczkowy. Najlepiej scharakteryzowana jest oksydaza NADPH występująca w komórkach fagocytujących, takich jak makrofagi, monocyty i neutrofile, odpowiedzialna za „wybuch tlenowy", mający znaczenie w procesach obronnych organizmu. Oksydaza NADPH jest transbłonowym kompleksem podjednostek $p22^{phox}$ i $gp91^{phox}$, tworzących cytochrom b558. Pozostałe podjednostki tego enzymu $p47^{phox}$, $p67^{phox}$, $p40^{phox}$ oraz Rac1 (w monocytach i makrofagach) lub Rac2 (w neutrofilach) występują w cytoplazmie. Pod wpływem stymulacji podjednostki $p47^{phox}$, $p67^{phox}$ i $p40^{phox}$ przemieszczają się do błony, gdzie łączą się z cytochromem b558. Ostatnim etapem aktywacji oksydazy NADPH jest przyłączenie się do utworzonego kompleksu zaktywowanego białka Rac, które bezpośrednio aktywuje oksydazę NADPH do wytwarzania anionorodnika ponadtlenkowego [31]. W ostatnich latach wykazano, że oksydaza NADPH występuje nie tylko w komórkach fagocytujących. W komórkach niefagocytujących istnieje 5 izoform oksydazy NADPH, różniących się między sobą podjednostką $gp91^{phox}$. Izoformy te kodowane są przez różne geny i określane są mianem Nox 1-5 (od NADPH oxidase), przy czym Nox2 odpowiada $gp91^{phox}$ [32]. Specyficzna lokalizacja poszczególnych izoform tego enzymu w obrębie komórki lub tkanki umożliwia lokalne wytwarzanie RFT i precyzyjną regulację zależnych od RFT dróg wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału. W przeciwieństwie do „wybuchu tlenowego" podczas fagocytozy, produkcja anionorodnika ponadtlenkowego w komórkach niefagocytujących jest niewielka i większość RFT pojawia się we wnętrzu komórki [31].

O istotnym znaczeniu udziału oksydazy NADPH w regulacji migracji komórek wydaje się również świadczyć fakt, że jest ona aktywowana przez białka Rac [33]. Biał-



Rycina 2. Regulacja jednej z wybranych ścieżek sygnałowych przez RFT. Stymulacja komórek czynnikiem wzrostowym indukuje aktywację PI3K i powstanie PIP_3, który aktywując białka Rac wpływa na wytwarzanie H_2O_2 za pośrednictwem oksydazy NADPH. H_2O_2 inaktywuje fosfatazę tyrozynową PTP, co prowadzi do wzrostu poziomu fosforylacji i aktywacji wielu białek. Kolejnym etapem tej kaskady sygnalizacyjnej jest redukcja utlenionej PTP przy udziale tioredoksyny (Trx). Utleniona tioredoksyna jest redukowana w reakcji katalizowanej przez reduktazę tioredoksyny (TrxR). Opracowano na podstawie [41].

ka Rac to małe białka G należące do rodziny białek Rho, które pełnią kluczową rolę w regulacji migracji komórek. Białka Rho, a wśród nich białka Rac, Cdc42 i Rho są GTPazami, biorącymi udział, między innymi, w przebudowie cytoszkieletu aktynowego, co w konsekwencji prowadzi do wytworzenia lamellipodium, filopodiów, włókien naprężeniowych oraz kontaktów zogniskowanych [8,34-36]. Białka te, podobnie jak heterotrimeryczne białka G, zmieniają cyklicznie formę aktywną związaną z GTP na nieaktywną związaną z GDP i odwrotnie. Przejście ze stanu nieaktywnego w stan aktywny wymaga udziału szeregu białek regulatorowych. Należą do nich: białka GEF (ang. *guanine nucleotide exchange factors*), umożliwiające wymianę GDP na GTP, białka GDI (ang. *guanine nucleotide dissociation inhibitor*), tworzące kompleks z małymi białkami G, uniemożliwiający wymianę GDP na GTP oraz białka GAP (ang. *GTPase activating proteins*), aktywujące hydrolizę GTP do GDP. W komórkach niestymulowanych małe białka G występują w cytoplazmie w formie nieaktywnej, będącej wynikiem przyłączenia się GDI do ich izoprenylowanego C-końca, co uniemożliwia im związanie się z fosfolipidami błon komórkowych lub błon wewnątrzkomórkowych. Oddysocjowanie białka GDI wskutek jego fosforylacji lub oddziaływań z białkami ERM (ang. *ezrin/radixin/moesin*) prowadzi do zakotwiczenia GTPaz w błonie, a oddziaływanie z GEF indukuje wymianę GDP na GTP i — w konsekwencji — ich aktywację. Inaktywacja małych białek G następuje natomiast przy udziale białek GAP, które zwiększają ich GTPazową aktywność, skutkiem czego jest hydroliza GTP do GDP [37,38].

FOSFATAZY I KINAZY

Migracja komórek jest procesem, który wymaga ścisłej przestrzennej i czasowej koordynacji wytwarzania wielu cząsteczek sygnałowych [39]. Przykładowo, białka Rac i Cdc42 oraz fosfatydyloinozytolo-3,4,5-trifosforan (PIP_3, ang. *phosphatidyl inositol-3,4,5-triphosphate*), będący produktem PI3K preferencyjnie lokalizują się w błonie krawędzi wiodącej migrującej komórki, natomiast fosfataza PTEN, która defosforyluje PIP_3, występuje w jej tylnej części [40,41]. Dzięki takiej lokalizacji PI3K i PTEN możliwe jest utrzymywanie gradientu PIP_3, co zapewnia polaryzację kształtu komórki i jej efektywną migrację. Wydaje się, że w wytworzeniu i utrzymaniu takiego gradientu dużą rolę odgrywają również RFT. PIP_3, powstający w wyniku aktywacji PI3K jest, między innymi, aktywatorem białek Rac, które są odpowiedzialne za wytwarzanie lamellipodium w poruszającej się komórce [42]. Inną funkcją białek Rac jest aktywacja oksydazy NADPH, prowadząca do lokalnego powstawania H_2O_2, który hamuje aktywność PTEN [43]. Ponieważ, jak już wspomniano, białka Rac lokalizują się wybiórczo w obrębie krawędzi wiodącej

Tabela 1. Czynniki stymulujące migrację komórek za pośrednictwem RFT

Typ komórek	Czynnik stymulujący	Efekty	Referencje
komórki endotelialne aorty (MAEC)	wytworzenie rany	RFT w komórkach w obrębie rany ↑, wbudowywanie monomerów aktyny do filamentów ↑, migracja ↑	[15]
komórki endotelialne aorty (AoSMC)	nitrotyrozyna	RFT ↑, receptora PDGF-B ↑, MMP-2 ↑, integryny αV i β3 ↑, ERK1/2 ↑, migracja ↑	[16]
komórki mięśniówki gładkiej ściany naczyniowej (VSMC)	bFGF	oksydazy NADPH ↑, RFT ↑, JNK ↑, fosforylacja paksykiny, MMP ↑, migracja ↑	[17]
VSMC	H_2O_2 PDGF	RFT ↑, PTP ↓, chemotaksja ↑	[18]
VSMC	MCP-1	RFT ↑, ERK1/2 ↑, chemotaksja ↑	[19]
VSMC	IGF-1	Rac1 ↑, oksydaza NADPH ↑, RFT ↑, MMP-2 ↑, migracja ↑	[20]
keratynocyty HaCaT	wytworzenie rany	RFT ↑, KGFR ↑, fosforylacja c-Src, fosforylacja FRS2, migracja ↑	[21]
pępowinowe komórki endotelialne pHUVEC	konstytutywnie aktywna forma Rac (Tat-RacV12)	RFT ↑, kontakty międzykomórkowe ↓, włókna naprężeniowe ↑, fosforylacja kompleksu-VE-kadheryna-katenina, migracja ↑	[22]
monocyty	anionorodnik ponadtlenkowy	RFT ↑, RhoA↑, Rac1↑, Cdc42 ↑, PKC ζ ↑, migracja ↑	[23]
makrofagi J774	anionorodnik ponadtlenkowy	RFT ↑, RhoA↑, Rac1↑, Cdc42 ↑, PKC ζ ↑, migracja ↑	[23]
leukocyty	VCAM-1	oksydaza NADPH ↑, RFT↑, MMP-2 ↑, MMP-9 ↑, migracja ↑	[24]
rak płaskokomórkowy SASH1	anionorodnik ponadtlenkowy	RFT↑, wytwarzanie lamellipodiów, F-aktyna ↑, RhoA↑, Rac1↑, Cdc42 ↑, PKC ζ ↑, migracja ↑	[23]
czerniak	kwas hialuronowy	oksydaza NADPH ↑, RFT ↑, PKC ↑, Rac1↑, FAK, MMP-2 ↑, migracja ↑	[25]
kostniakomięsaki OST i MNNG	TNFα	RFT ↑, adhezja do lamininy ↑, MMP-9 ↑, NFκB ↑, migracja ↑	[26]
gruczolakorak HT29-D4	kwas arachidonowy	oksydaza NADPH ↑, RFT ↑, PKC δ ↑, migracja ↑	[27]
włókniakomięsak HT-1080	PMA	RFT ↑, MMP-2 ↑, MMP-9 ↑, NFκB ↑, migracja ↑	[28]
wątrobiak HepG2	PMA	RFT ↑, EMT, PKC α ↑, fosforylacja ERK ↑, migracja ↑	[29]
embrionalne komórki nerki HEK-293	PMA difenylocyna	PKC δ↑, migracja ↑	[30]

komórki, to właśnie w tym rejonie komórki będzie miała miejsce inaktywacja fosfatazy PTEN. W konsekwencji, w przedniej części komórki PIP_3 nie będzie ulegał defosforylacji. Ponieważ aktywna forma PTEN jest przede wszystkim obecna w tylnej części komórki umożliwia to utrzymywanie wzdłuż osi komórki gradientu PIP_3 koniecznego do jej polaryzacji i kierunkowej migracji w odpowiedzi na czynnik stymulujący [39,40].

Istnieje wiele doniesień, że RFT regulują również aktywność kinaz MAP (JNK, p38 i ERK), biorących udział w regulacji nie tylko procesów proliferacji, różnicowania i śmierci, ale również migracji komórek [5,44]. Dane literaturowe wskazują, że aktywacja MAPK przez RFT stymuluje ruch keratynocytów, fibroblastów, komórek mięśni gładkich, neutrofili i wielu innych [5]. Nie do końca znana jest odpowiedź na pytanie w jaki sposób MAPK regulują migrację komórek, wiadomo jednak, że fosforylują one między innymi paksylinę, kinazę kontaktów zogniskowanych (FAK), białka towarzyszące mikrotubulom — MAP, kinazę lekkich łańcuchów miozyny (MLCK) oraz kalpainę, wpływając w ten sposób na dynamikę kontaktów zogniskowanych, na organizację aktyny i mikrotubul, czyli tych składników komórki, które bezpośrednio zaangażowane są w adhezję komórek, rozpłaszczanie, tworzenie wypustek i retrakcję tylnej części poruszającej się komórki. Jedną z charakterystycznych cech modulowania migracji komórek przez kinazy MAP jest ciągła aktywacja sygnału, jak się wydaje konieczna do utrzymania odpowiedniego poziomu ekspresji genów związanych z potranslacyjną modyfikacją białek cytoszkieletarnych i adhezyjnych [5,44]. Wciąż nie wiadomo, jaka jest droga aktywacji kinaz MAP przez RFT. Jedną z możliwości jest bezpośrednia aktywacja tych kinaz przez RFT [45]. Inną z sugerowanych dróg sygnałowych jest szlak prowadzący przez PKC, której aktywacja może być również regulowana przez RFT [6,46]. Stwierdzono, między innymi, że PKC aktywuje ERK, która jest zaangażowana w regulację migracji fibroblastów [47] oraz wątrobiaka (*ang. hepatoma*) HepG2 [29].

PKC, podobnie jak kinazy MAP, należy do kinaz serynowo-treoninowych. Zidentyfikowano przynajmniej 11 izoform PKC i sklasyfikowano je ze względu na sposób ich aktywacji. Izoformy klasyczne aktywowane są przez diacyloglicerol i Ca^{2+}, nowe również przez diacyloglicerol, ale bez udziału Ca^{2+}, natomiast nietypowe są niezależne od diacyloglicerolu i Ca^{2+}. Aktywność PKC jest regulowana przez 2 odrębne mechanizmy: fosforylację reszt tyrozyny, która reguluje centrum aktywne enzymu i jej wewnątrzkomórkową lokalizację oraz przez wtórne przekaźniki, umożliwiające związanie PKC z błoną i jej aktywację przez usunięcie pseudosubstratu z centrum aktywnego enzymu [6,48]. Specyficzna budowa cząsteczki PKC sprawia, że jest ona również podatna na działanie zarówno związków utleniających, jak i redukujących. Zarówno domena regulatorowa, jak i katalityczna zawierają wiele miejsc bogatych w cysteinę, które mogą być regulowane przez mechanizmy redoks [46,49]. Wykazano, że utlenienie PKC może prowadzić do jej aktywacji, natomiast redukcja hamuje aktywność tego enzymu. Nie wiadomo, czy możliwa jest aktywacja tą drogą wszystkich izoform PKC. Dowiedziono jednak, że izoformy α, $\beta 1$, δ, ε i ζ mogą być w ten sposób regulowane przynajmniej w niektórych typach komórek [30,48,50,51].

Wpływ PKC na morfologię i aktywność ruchową zależy od typu komórek. Z reguły jednak w wyniku aktywacji PKC następuje stymulacja migracji komórek. Reakcję taką zaobserwowano, między innymi, w przypadku fibroblastów [52], embrionalnych komórek ludzkiej nerki HEK-293 [30] oraz komórek włókniakomięsaka HT1080 [53]. Istnieje jednak grupa komórek, a wśród nich neutrofile [54] i komórki szczurzego mięsakoraka Walkera WC256 [55], które pod wpływem działania estru forbolu PMA, powszechnie znanego aktywatora PKC, traciły polaryzację kształtu, a ich migracja ulegała zahamowaniu.

Badania bezpośredniego zaangażowania RFT w regulację zależnej od PKC migracji przeprowadzono między innymi na komórkach wątrobiaka HepG2 [29], raka płaskokomórkowego SASH1, makrofagach J774.1, monocytach [23] i embrionalnych komórkach ludzkiej nerki HEK293 [30]. Badania Kuribayashi i in. [23] wykazały, że anionorodnik ponadtlenkowy znacząco stymuluje ich migrację, a obserwacja że ruch komórek SASH1 z nadprodukcją Cu-Zn SOD oraz komórek J774.1 i monocytów traktowanych NAC (powszechnie znanym przeciwutleniaczem) ulega całkowitemu zahamowaniu, potwierdziły znaczącą rolę RFT w regulacji migracji komórek w tych układach eksperymentalnych. Autorzy wykazali, że RFT indukują ruchliwość komórek poprzez regulację aktywności małych białek G z rodziny Rho. Stwierdzono także powiązanie dróg sygnałowych zależnych od białek Rho i PKC. Anionorodnik ponadtlenkowy aktywuje w tych komórkach tylko jedną izoformę PKC, a mianowicie PKC ζ, która następnie fosforyluje RhoGDI-1, co umożliwia oddysocjowanie białek Rho od tego kompleksu i ich aktywację [23]. RFT odgrywają również istotną rolę w zależnej od PKC migracji komórek wątrobiaka HepG2. Stymulowana PMA i zależna od RFT aktywacja PKC α i fosforylacja ERK w tych komórkach wpływa na obniżenie ekspresji integryn i E-kadheryn, a w konsekwencji — indukcję przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT) oraz wzrost ich ruchliwości [29]. Z kolei Sroka i in. [30] wykazali wpływ reduktazy tioredoksyny, jednego z enzymów zaangażowanych w regulację stanu redoks komórki, na zależną od PKC δ migrację embrionalnych komórek ludzkiej nerki HEK-293.

ADHEZJA — INTEGRYNY I KADHERYNY

RFT pełnią również istotna funkcję w regulacji dróg sygnałowych aktywowanych przez integryny podczas adhezji komórek do białek macierzy zewnątrzkomórkowej [56]. W komórkach endotelialnych stwierdzono istnienie ścisłej zależności pomiędzy aktywacją integryn a kaskadami przekazywania sygnału zależnymi od MAPK, PI3K i NF-κB, które również regulowane są przez RFT. Badania te dowodzą, że komórki hodowane w zawiesinie w obecności PDGF mają znacznie niższy poziom wewnątrzkomórkowych RFT niż komórki przyczepione do podłoża, co sugeruje, że wytwarzanie RFT w komórkach stymulowanych czynnikami wzrostowymi jest procesem zależnym od białek adhezyjnych i ich oddziaływaniem z podłożem [44,57]. Dane literaturowe z ostatnich lat pod-

kreślają udział białek Rac1 w migracji poprzez ich wpływ na kontakty komórka-komórka oraz komórka-macierz zewnątrzkomórkowa. Wykazano, że RFT wytwarzane w fibroblastach na drodze zależnej od Rac są niezbędne do inaktywacji fosfatazy tyrozynowej LMM-PTP (ang. *low-molecular-weight protein tyrosine phosphatase*) oraz aktywacji FAK, indukującej tworzenie się kontaktów zogniskowanych w komórkach przyczepionych do podłoża, rozpłaszczenie komórek i ich migrację [58]. Z kolei Nimnual i in. [59] stwierdzili, że wytwarzanie RFT przy udziale oksydazy NADPH wskutek aktywacji białek Rac powoduje spadek aktywności białek Rho, czego efektem było wytworzenie lamellipodium i indukcja rozpłaszczania się komórek HeLa na podłożu. RFT w tym układzie hamowało aktywność LMW-PTP, a następnie powodowało wzrost fosforylacji tyrozyny i aktywację białka p190RhoGAP, aktywującego hydrolizę GTP do GDP w białkach Rho i — w konsekwencji — ich inaktywację.

Istnieją również doniesienia, że RFT pośredniczą w koniecznej do efektywnej migracji, zależnej od białek Rac1, utracie połączeń pomiędzy komórkami endotelialnymi. Białkiem pośredniczącym tutaj w adhezji międzykomórkowej jest VE-kadheryna. Jej cytoplazmatyczna domena przyłącza się do β-kateniny, związanej z aktyną za pośrednictwem α-kateniny [60]. Zerwanie kontaktów międzykomórkowych jest następstwem fosforylacji kompleksu VE-kadheryna/β-katenina przez Src. Transfekcja komórek endotelialnych pHUVEC konstytutywnie aktywną forma białka Rac (tat-RacV12) indukowała wytwarzanie RFT, które, aktywując kinazę Src, wpływały na wzrost poziomu fosforylacji kompleksu-VE-kadheryna-katenina, której następstwem było zerwanie połączeń międzykomórkowych [22]. Wykazano także, że w miejscach kontaktów komórka-komórka lokalizują się fosfatazy PTP, między innymi PTP1B i VE-PTP, utrzymując w ten sposób niski poziom fosforylacji kompleksu VE-kadheryna/β-katenina i stabilizując kontakty międzykomórkowe [61,62]. Dlatego też lokalne wytwarzanie RFT w miejscach kontaktów może powodować utlenienie i inaktywację fosfataz i fosforylację białek wspomnianego kompleksu.

METALOPROTEINAZY

Kolejną regulowaną przez RFT drogą przekazywania sygnału, mogącą wpływać na migrację komórek, jest aktywacja metaloproteinaz lub inaktywacja ich tkankowych inhibitorów. Jednym z obserwowanych efektów wzrostu aktywności metaloproteinaz, które posiadają zdolność trawienia większości białek macierzy zewnątrzkomórkowej jest stymulacja migracji komórek [63]. Aktywacja tych enzymów przez RFT prawdopodobnie zachodzi na drodze utleniania reszt tiolowych w ich domenach katalitycznych [64]. RFT mogą również modulować ekspresję tych białek albo poprzez zmianę aktywności białek Ras, albo poprzez bezpośrednią aktywację kinaz z rodziny MAP, między innymi ERK1/2 i p38 lub inaktywację fosfataz, regulujących aktywność tych kinaz [9]. Dowiedziono także, że aktywność inhibitorów metaloproteinaz, np. inhibitora aktywatora plazminogenu, może być hamowana poprzez utlenienie metioniny w jego centrum aktywnym.

ROLA REDUKTAZY TIOREDOKSYNY W REGULACJI MIGRACJI KOMÓREK

Modyfikacja aktywności białek w wyniku utleniania wymaga również istnienia mechanizmu wpływającego na powrót regulowanych białek do stanu wyjściowego poprzez redukcję utlenionych reszt aminokwasowych. Jednym z postulowanych układów enzymatycznych odpowiedzialnych za ten proces jest system tioredoksyny, na który składają się tioredoksyna (Trx) i reduktaza tioredoksyny (TrxR) [65] (Ryc. 2). Układ tioredoksyny (Trx/TrxR), oprócz ochrony przed stresem oksydacyjnym, jest zaangażowany również w szereg funkcji związanych z przesyłaniem sygnału w komórce, poprzez regulację aktywności czynników transkrypcyjnych (między innymi p53, NF-κβ, AP-1) oraz wielu enzymów, w tym fosfataz PTP1B, PP2B i PTEN oraz kinaz ASK-1 i PKC [66,67].

Tioredoksyny (Trx) stanowią grupę polipeptydów o masie cząsteczkowej 12 kDa. W komórkach ssaków wyróżnia się kilka rodzajów Trx: cytoplazmatyczną Trx1, mitochondrialną Trx2, jądrową NRX (nukleoredoksyna), dwie formy występujące w siateczce śródplazmatycznej Erdj5 oraz TMX, będącą tioredoksyną transbłonową, a także SpTrx1 i SpTrx2, zlokalizowane w plemnikach. Specyficznymi substratami dla Trx są między innymi reduktaza rybonukleotydowa, reduktaza sulfotlentku metioniny, izomeraza disiarczkowa białek (PDI) oraz, wspominane wyżej, czynniki transkrypcyjne. Trx jest również specyficznym donorem elektronów dla peroksyredoksyn [66,67]. Pod wpływem stresu oksydacyjnego i w stanach zapalnych Trx1 i jej skrócona forma Trx-80 są również wydzielane na zewnątrz komórki, gdzie przejawiają właściwości immunomodulacyjne. Zewnątrzkomórkowa Trx1 wywołuje efekty podobne do działania autokrynnych czynników wzrostowych i cytokin, indukując gromadzenie się i proliferacja limfocytów oraz wzrost komórek nowotworowych, a także reguluje procesy syntezy cytokin, takich jak TNF, IL-1, IL-2, IL-6 i IL-8. Ponadto, jest czynnikiem chemotaktycznym dla monocytów, neutrofili i limfocytów T [66].

Reduktazy tioredoksyny (TrxR) są homodimerycznymi oksydoreduktazami o masie cząsteczkowej 54-58 kDa, zależnymi od NADPH i zawierającymi w centrum aktywnym selenocysteinę. W komórkach ssaków wyróżnia się 3 rodzaje TrxR: cytoplazmatyczną TrxR1, mitochondrialną TrxR2 i narządowo specyficzną TGR, występującą w jądrach i posiadającą zdolność redukcji nie tylko tioredoksyny, ale również utlenionego glutationu. Dotychczasowe badania wskazują, że TrxR jest jedynym enzymem mogącym redukować utlenioną Trx, jednak Trx nie jest jedynym białkiem, które redukowane jest przez ten enzym. Poza Trx substratami dla TrxR są między innymi nadtlenki kwasów tłuszczowych, witamina K, witamina C, anionorodnik ponadtlenkowy, seleniny, selenocysteina, peroksydaza glutationowa, ubichinon, p53 oraz PKC [66].

Jak wcześniej wspomniano, TrxR oprócz ochrony przed stresem oksydacyjnym pełni w komórce wiele znaczących funkcji. Do najważniejszych z nich należy niewątpliwie regulacja proliferacji komórek oraz hamowanie apoptozy na drodze regulacji procesów utleniania i redukcji wielu bia-

łek. Wykazano, między innymi, zahamowanie proliferacji mysich komórek Neuro2A wykazujących nadekspresję *TrxR2* [68] oraz embrionalnych komórek nerki człowieka HEK-293 z nadekspresją *TrxR1* lub *TrxR2* [69]. Niewiele jednak wiadomo o udziale TrxR w regulacji migracji komórek. Ponieważ RFT są zaangażowane w regulację migracji komórek można przypuszczać, że TrxR może odgrywać rolę również i w tym procesie. Dodatkowym argumentem przemawiającym za taką możliwością jest fakt, że TrxR może mieć wpływ na aktywność PKC [45], jednego z kluczowych regulatorów ruchliwości komórek.

Badania roli cytoplazmatycznej TrxR1 w regulacji aktywności ruchowej komórek prowadzono na liniach komórek HEK-293 o trwałej nadprodukcji tego enzymu [30]. Wcześniejsze badania wykazały, że w komórkach tych aktywność TrxR1 jest około 5-krotnie wyższa niż w komórkach kontrolnych [70]. W przeprowadzonych przez Srokę i in. [30] doświadczeniach stwierdzono, że wpływ PMA i difenylocyny, aktywatorów PKC, na morfologię i migrację badanych komórek zależy od stopnia ekspresji TrxR1. PMA indukowało powstawanie komórek spolaryzowanych, wytwarzających aktywne lammelipodia. Zmiany te harmonizowały z reorganizacją cytoszkieletu aktynowego oraz wzrostem aktywności ruchowej komórek, były jednak znacznie wyraźniejsze w komórkach kontrolnych niż w komórkach z nadekspresją *TrxR1*. Różnice te były jeszcze lepiej widoczne w przypadku komórek inkubowanych w obecności difenylocyny. Reakcja komórek na poziomie zmian morfologicznych, reorganizacji cytoszkieletu aktynowego i aktywności migracyjnej widoczna była jedynie w komórkach kontrolnych, a całkowicie zahamowana w komórkach z nadekspresją *TrxR1*. Stwierdzono również, że obserwowane różnice w reakcji komórek z nadekspresją *TrxR1* są związane z wpływem tego enzymu na aktywność PKC. W komórkach kontrolnych stymulacja migracji w wyniku działania difenylocyny związana była z aktywacją PKC δ. Zahamowanie aktywności PKC δ rotleryną, specyficznym inhibitorem tej izoformy lub wyciszenie genu kodującego PKC δ poprzez transfekcję komórek kontrolnych siRNA-PKC δ, znosiło efekty morfologiczne wywołane difenylocyną. W komórkach z trwałą nadekspresją *TrxR1*, w których nie obserwowano stymulacji migracji w wyniku działania difenylocyny nie obserwowano również aktywacji PKC δ. Przeprowadzone badania po raz pierwszy wykazały, że TrxR1 może być zaangażowana w regulację migracji komórek [30]. Hipoteza, że TrxR1 jest zaangażowana w regulację aktywności PKC δ znalazła pełne potwierdzenie w badaniach łączących zjawisko komunikacji międzykomórkowej przez złącza szczelinowe z aktywnością reduktazy tioredoksyny [71]. Autorzy tej pracy wykazali, że difenylocyna i PMA hamują komunikację międzykomórkową w komórkach HEK-293 na drodze zależnej od PKC δ stymulacji fosforylacji koneksyny Cx43, natomiast w komórkach z nadekspresją *TrxR1* takiego efektu nie obserwowano, co może być związane z hamującym wpływem TrxR1 na aktywację PKC δ. Wydaje się, że efekt ten związany jest z sugerowaną możliwością regulacji aktywności PKC na drodze redoks, jednak nie można wykluczyć, że hamujący wpływ TrxR1 na PKC zachodzi na drodze pośredniej poprzez zmiany aktywności fosfataz i kinaz, zaangażowanych w regulację aktywności tego enzymu [72].

PODSUMOWANIE

Coraz więcej dowodów wskazuje, że RFT oprócz szkodliwego działania na komórki odgrywają ważną rolę w prawidłowym ich funkcjonowaniu poprzez regulację takich procesów, jak proliferacja, różnicowanie, apoptoza oraz migracja. RFT wpływają na aktywność czynników transkrypcyjnych i wielu enzymów, przede wszystkim kinaz i fosfataz. Dotychczasowe badania wyraźnie wskazują, że RFT mogą pełnić istotną funkcję w przesyłania sygnału w komórce. Mechanizm działania RFT w regulacji migracji komórek nie został jeszcze wystarczająco poznany. Liczne badania wskazują jednak, że RFT odgrywają istotną rolę w reorganizacji cytoszkieletu aktynowego, adhezji komórek do podłoża, kontaktów międzykomórkowych, zmian morfologii i migracji komórek. Regulacja aktywności ruchowej komórek przez RFT może odbywać się poprzez wpływ na aktywność wielu białek, takich jak: MAPK, FAK, PKC, PI3K, PTEN i GTPazy Rho. Niewiele wiadomo również na temat specyficznych mechanizmów odpowiedzialnych za powrót regulowanych białek do stanu wyjściowego poprzez redukcję utlenionych reszt aminokwasowych. Dokładniejsze poznanie tych mechanizmów pozwoli na lepsze zrozumienie złożonych procesów związanych z regulacją migracji komórek.

PIŚMIENNICTWO

1. Locascio A, Nieto MA (2001) Cell movements during vertebrate development: integrated tissue behaviour versus individual cell migration. Curr Opin Genet Dev 11: 464-469
2. Raja, Sivamani K, Garcia MS, Isseroff RR (2007) Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. Front Biosci 12: 2849-2868
3. Imhof BA, Dunon D (1997) Basic mechanism of leukocyte migration. Horm Metab Res 29: 614-621
4. Yang J, Weinberg RA (2008) Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. Dev Cell 14: 818-829
5. Huang C, Jacobson K, Schaller MD (2004) MAP kinases and cell migration. J Cell Sci 117: 4619-4628
6. Larsson C (2006) Protein kinase C and the regulation of the actin cytoskeleton. Cell Signal 18: 276-284
7. Cain RJ, Ridley AJ (2009) Phosphoinositide 3-kinases in cell migration. Biol Cell 101: 13-29
8. Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, Firtel RA, Ginsberg MH, Borisy G, Parsons JT, Horwitz AR (2003) Cell migration: integrating signals from front to back. Science 302: 1704-1709
9. Storz P (2005) Reactive oxygen species in tumor progression. Front Biosci 10:1881-1896
10. Wu WS (2006) The signaling mechanism of ROS in tumor progression. Cancer Metastasis Rev 25: 695-705
11. Genestra M (2007) Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Cell Signal 19: 1807-1819
12. Karihtala P, Soini Y (2007) Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. APMIS 115: 81-103
13. Dröge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 82: 47-95
14. Thannickal VJ, Fanburg BL (2000) Reactive oxygen species in cell signaling. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 279: L1005-1028

15. Moldovan L, Moldovan NI, Sohn RH, Parikh SA, Goldschmidt-Clermont PJ (2000) Redox changes of cultured endothelial cells and actin dynamics. Circ Res. 86:549-557
16. Mu H, Wang X, Lin P, Yao Q, Chen C (2008) Nitrotyrosine promotes human aortic smooth muscle cell migration through oxidative stress and ERK1/2 activation. Biochim Biophys Acta 1783: 1576-1584
17. Schröder K, Helmcke I, Palfi K, Krause KH, Busse R, Brandes RP (2007) Nox1 mediates basic fibroblast growth factor-induced migration of vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27: 1736-1743
18. Kappert K, Sparwel J, Sandin A, Seiler A, Siebolts U, Leppänen O, Rosenkranz S, Ostman A (2006) Antioxidants relieve phosphatase inhibition and reduce PDGF signaling in cultured VSMCs and in restenosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 2644-2651
19. Lo IC, Shih JM, Jiang MJ (2005) Reactive oxygen species and ERK 1/2 mediate monocyte chemotactic protein-1-stimulated smooth muscle cell migration. J Biomed Sci 12: 377-388
20. Meng D, Lv DD, Fang J (2008) Insulin-like growth factor-I induces reactive oxygen species production and cell migration through Nox4 and Rac1 in vascular smooth muscle cells. Cardiovasc Res Nov 80: 299-308
21. Li M, Firth JD, Putnins EE (2009) An *in vitro* analysis of mechanical wounding-induced ligand-independent KGFR activation. J Dermatol Sci 53: 182-191
22. van Wetering S, van Buul JD, Quik S, Mul FP, Anthony EC, Klooster JP, Collard JG, Hordijk PL (2002) Reactive oxygen species mediate Rac-induced loss of cell-cell adhesion in primary human endothelial cells. J Cell Sci 115: 1837-1846
23. Kuribayashi K, Nakamura K, Tanaka M, Sato T, Kato J, Sasaki K, Takimoto R, Kogawa K, Terui T, Takayama T, Onuma T, Matsunaga T, Niitsu Y (2007) Essential role of protein kinase C zeta in transducing a motility signal induced by superoxide and a chemotactic peptide, fMLP. J Cell Biol 176: 1049-1060
24. Cook-Mills JM (2006) Hydrogen peroxide activation of endothelial cell-associated MMPs during VCAM-1-dependent leukocyte migration. Cell Mol Biol 52: 8-16
25. Kim Y, Lee YS, Choe J, Lee H, Kim YM, Jeoung D (2008) CD44-epidermal growth factor receptor interaction mediates hyaluronic acid-promoted cell motility by activating protein kinase C signaling involving Akt, Rac1, Phox, reactive oxygen species, focal adhesion kinase, and MMP-2. J Biol Chem 283: 22513-22528
26. Harimaya K, Tanaka K, Matsumoto Y, Sato H, Matsuda S, Iwamoto Y (2000) Antioxidants inhibit TNFalpha-induced motility and invasion of human osteosarcoma cells: possible involvement of NFkappaB activation. Clin Exp Metastasis 18: 121-129
27. Sadok A, Bourgarel-Rey V, Gattacceca F, Penel C, Lehmann M, Kovacic H (2008) Nox1-dependent superoxide production controls colon adenocarcinoma cell migration. Biochim Biophys Acta 1783: 23-33
28. Lee KJ, Hwang SJ, Choi JH, Jeong HG (2008) Saponins derived from the roots of Platycodon grandiflorum inhibit HT-1080 cell invasion and MMPs activities: regulation of NF-kappaB activation via ROS signal pathway. Cancer Lett 268: 233-243
29. Wu WS, Tsai RK, Chang CH, Wang S, Wu JR, Chang YX (2006) Reactive oxygen species mediated sustained activation of protein kinase C alpha and extracellular signal-regulated kinase for migration of human hepatoma cell Hepg2. Mol Cancer Res 4: 747-758
30. Sroka J, Antosik A, Czyz J, Nalvarte I, Olsson JM, Spyrou G, Madeja Z (2007) Overexpression of thioredoxin reductase 1 inhibits migration of HEK-293 cells. Biol Cell 99: 677-687
31. Dworakowski R, Alom-Ruiz SP, Shah AM (2008) NADPH oxidase-derived reactive oxygen species in the regulation of endothelial phenotype. Pharmacol Rep 60: 21-28
32. Ushio-Fukai M (2009) Compartmentalization of Redox Signaling through NADPH Oxidase-derived ROS. Antioxid Redox Signal 11
33. Hordijk PL (2006) Regulation of NADPH oxidases: the role of Rac proteins. Circ Res 98: 453-62
34. Ridley AJ (2001) Rho GTPases and cell migration. J Cell Sci 114: 2713-2722
35. Ridley AJ, Hall A (1992) The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. Cell 70: 389-399
36. Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A (1992) The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. Cell 70: 401-410
37. Fabczak H (2001) Rodzina białek Rho a cytoszkielet. Kosmos 50: 283-293
38. Ivetic A, Ridley AJ (2004) Ezrin/radixin/moesin proteins and Rho GTPase signaling in leucocytes. Immunology 112:165-176
39. Etienne-Manneville S (2008) Polarity proteins in migration and invasion. Oncogene 27: 6970-6980
40. Devreotes P, Janetopoulos C (2003) Eukaryotic chemotaxis: distinctions between directional sensing and polarization. J Biol Chemm 278: 20445-20448
41. Merlot S, Firtel RA (2003) Leading the way: Directional sensing through phosphatidylinositol 3-kinase and other signaling pathways. J Cell Sci 116: 3471-3478
42. Innocenti M, Frittoli E, Ponzanelli I, Falck JR, Brachmann SM, Di Fiore PP, Scita G (2003) Phosphoinositide 3-kinase activates Rac by entering in a complex with Eps8, Abi1, and Sos-1. J Cell Biol 160: 17-23
43. Rhee SG, Bae YS, Lee SR, Kwon J (2000) Hydrogen peroxide: a key messenger that modulates protein phosphorylation through cysteine oxidation. Sci STKE (53): PE1
44. Wu WS, Wu JR, Hu CT (2008) Signal cross talks for sustained MAPK activation and cell migration: the potential role of reactive oxygen species. Cancer Metastasis Rev 27: 303-314
45. Galli S, Antico Arciuch VG, Poderoso C, Converso DP, Zhou Q, Bal de Kier Joffé E, Cadenas E, Boczkowski J, Carreras MC, Poderoso JJ (2008) Tumor cell phenotype is sustained by selective MAPK oxidation in mitochondria. PLoS ONE 3: e2379
46. Gopalakrishna R, Gundimeda U, (2001) Protein kinase C as a molecular target for cancer prevention by selenocompounds. Nutr Cancer 40: 55-63
47. Nomura N, Nomura M, Takahira M, Sugiyama K (2007) Phorbol 12-myristate 13-acetate-activated protein kinase C increased migratory activity of subconjunctival fibroblasts via stress-activated protein kinase pathways. Mol Vis 13: 2320-2327
48. Barnett ME, Madgwick DK, Takemoto DJ (2007) Protein kinase C as a stress sensor. Cell Signal 19:1820-1829
49. Gopalakrishna R, Gundimeda U, Schiffman JE, McNeill TH (2008) A direct redox regulation of protein kinase C isoenzymes mediates oxidant-induced neuritogenesis in PC12 cells. J Biol Chem 283: 14430-14444
50. Konishi H, Tanaka M, Takemura Y, Matsuzaki H, Ono Y, Kikkawa U, Nishizuka Y (1997) Activation of protein kinase C by tyrosine phosphorylation in response to H2O2. Proc Natl Acad Sci U S A. 94: 11233-11237
51. Rimessi A, Rizzuto R, Pinton P (2007) Differential recruitment of PKC isoforms in HeLa cells during redox stress. Cell Stress Chaperones 12: 291-298
52. Fridman R, Lacal JC, Reich R, Bonfil D, Ahn CH (1990) Differential effects of phorbol ester on the *in vitro* invasiveness of malignant and non-malignant human fibroblast cells. J cell Physiol 142: 55-60
53. Keller HU, Hunziker IP, Sordat B, Niggli V, Sroka J (2000) Protein kinase C isoforms involved in regulation of cell shape and locomotion of human fibrosarcoma HT1080 cells. Int J Cancer 88: 195-203
54. Keller HU, Zimmermann A, Cottier H (1985) Phorbol myristate acetate (PMA) suppresses polarization and locomotion and alters F-actin content of Walker carcinosarcoma cells. Int J Cancer 36**:** 495–501
55. Wicki A, Niggli V (1999) Role of protein kinase C isoforms in locomotion of Walker 256 carcinosarcoma cells. Int J Cancer 81**:** 255-261
56. Gregg D, de Carvalho DD, Kovacic H (2004) Integrins and coagulation: a role for ROS/redox signaling? Antioxid Redox Signal 6: 757-764

57. Chiarugi P, Pani G, Giannoni E, Taddei L, Colavitti R, Raugei G, Symons M, Borrello S, Galeotti T, Ramponi G (2003) Reactive oxygen species as essential mediators of cell adhesion: the oxidative inhibition of a FAK tyrosine phosphatase is required for cell adhesion. J Cell Biol 161: 933-944
58. Chiarugi P (2008) From anchorage dependent proliferation to survival: lessons from redox signalling. IUBMB Life 60: 301-307
59. Nimnual AS, Taylor LJ, Bar-Sagi D (2003) Redox-dependent downregulation of Rho by Rac. Nat Cell Biol 5: 236-241
60. Dejana E, Corada M, Lampugnani MG (1995) Endothelial cell-to-cell junctions. FASEB J 9: 910-918
61. Balsamo J, Arregui C, Leung T, Lilien J (1998) The nonreceptor protein tyrosine phosphatase PTP1B binds to the cytoplasmic domain of N-cadherin and regulates the cadherin-actin linkage. J Cell Biol 143: 523-532
62. Nawroth R, Poell G, Ranft A, Kloep S, Samulowitz U, Fachinger G, Golding M, Shima DT, Deutsch U, Vestweber D (2002) VE-PTP and VE-cadherin ectodomains interact to facilitate regulation of phosphorylation and cell contacts. EMBO J 21: 4885-4895
63. Stallings-Mann M, Radisky D (2007) Matrix metalloproteinase-induced malignancy in mammary epithelial cells. Cells Tissues Organs 185: 104-110
64. Rajagopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS (1996) Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atheriosclerotic plaque stability. J Clin Invest 98: 2572-2579
65. Holmgren A (1989) Thioredoxin and glutaredoxin systems. J Biol Chem 264: 13963-13966
66. Nordberg J, Arnér ES (2001) Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radic Biol Med. 31: 1287-1312
67. Powis G, Montfort WR (2001) Properties and biological activities of thioredoxins. Annu Rev Biophys Biomol Struct 30: 421-455
68. Patenaude A, Ven Murthy MR, Mirault ME (2004) Mitochondrial thioredoxin system: effects of TrxR2 overexpression on redox balance, cell growth, and apoptosis. J Biol Chem 279: 27302-27314
69. Nalvarte I, Damdimopoulos AE, Nystrom C, Nordman T, Miranda-Vizuete A, Olsson JM, Eriksson L, Bjornstedt M, Arner ES, Spyrou G (2004) Overexpression of enzymatically active human cytosolic and mitochondrial thioredoxin reductase in HEK-293 cells. Effect on cell growth and differentiation. J Biol Chem 279: 54510-54517
70. Madeja Z, Sroka J, Nyström C, Björkhem-Bergman L, Nordman T, Damdimopoulos A, Nalvarte I, Eriksson LC, Spyrou G, Olsson JM, Björnstedt M (2005) The role of thioredoxin reductase activity in selenium-induced cytotoxicity. Biochem Pharmacol 69: 1765-1772
71. Sroka J, Czyz J, Wojewoda M, Madeja Z (2008) The inhibitory effect of diphenyltin on gap junctional intercellular communication in HEK-293 cells is reduced by thioredoxin reductase 1. Toxicol Lett 183: 45-51
72. Deszo EL, Brake DK, Cengel KA, Kelley KW, Freund GG (2001) CD45 negatively regulates monocytic cell differentiation by inhibiting phorbol 12-myristate 13-acetate-dependent activation and tyrosine phosphorylation of protein kinase C delta. J Biol 276: 10212-10217

Reactive oxygen species in regulation of cell migration. The role of thioredoxin reductase

Jolanta Sroka✉, Zbigniew Madeja

Department of Cell Biology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology Jagiellonian University, 7 Gronostajowa St., 30-387 Cracow, Poland

✉e-mail: jolanta.sroka@uj.edu.pl

Key words: migration, reactive oxygen species, thioredoxin reductase, protein kinase C

ABSTRACT

It is generally accepted that reactive oxygen species (ROS) act as signalling molecules and regulate various physiological processes, including proliferation, differentiation, apoptosis and migration. The initiation and proper functioning of several signalling pathways leading to the effective motility rely on the action of. several growth factors and cytokines, which induce generation of ROS, among others by NADPH oxidase. ROS modify the activity of several key enzymes, resulting in the reorganization of actin cytoskeleton, adhesion and stimulation of migration. There is an evidence that ROS can oxidase such critical target molecules as PKC, MAPK, PI3K, tyrosine phospatases (PTPs) and PTEN. In this review, some ROS-dependent transduction pathways, involved in regulation of cell migration are discussed. Moreover, the thioredoxin/thioredoxin reductase system, which is responsible for reduction of oxidised proteins has been described and some data concerning the effect of thioredoxin reductase on the regulation of PKC-dependent cell motility have been presented.