

© 2020 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 23: 1-11, 2020.

DOI: [10.22201/fesz.23958723e.2020.0.200](https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.200)

## TGF- $\beta$ y células cebadas: reguladores del desarrollo del tumor

Dulce Ávila-Rodríguez<sup>1\*</sup>, Deisy Lizbeth Segura-Villalobos<sup>2</sup>,  
Alfredo Ibarra-Sánchez<sup>2</sup>, Claudia González-Espinosa<sup>2</sup> y Marina Macías-Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 04510, México. <sup>2</sup>Departamento de Farmacobiología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Ciudad de México, 14330, México.

E-mail: \*davila@ifc.unam.mx

### RESUMEN

El Factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) es una citocina pleiotrópica implicada en distintas condiciones patológicas, como desórdenes autoinmunes, alergias y en los últimos años, en el cáncer. Esta citocina ejerce efectos supresores de tumores que las células cancerosas deben evadir para lograr la progresión del tumor. Sin embargo, paradójicamente, el TGF- $\beta$  también modula procesos inflamatorios que favorecen la progresión del tumor, como el reclutamiento de células del sistema inmune al sitio del mismo; entre estas células se encuentran las células cebadas (CCs), las cuales, a su vez también participan en la regulación del tumor, a través de la secreción de distintos mediadores proinflamatorios, proangiogénicos y factores de crecimiento. En esta revisión se describen algunos avances en la comprensión del papel del TGF- $\beta$  en la regulación de las CCs y la contribución de éstas en el desarrollo y la metástasis de tumores sólidos. El entendimiento de la función del TGF- $\beta$  y de las células cebadas durante el desarrollo del cáncer es fundamental para el diseño de nuevas terapias que inhiban la progresión del tumor.

**Palabras Clave:** TGF- $\beta$ , células cebadas, secreción, tumor, microambiente tumoral.

### TGF- $\beta$ and Mast Cells: Regulators of Tumor Development

### ABSTRACT

The transforming growth factor (TGF- $\beta$ ) is a pleiotropic cytokine implicated in various pathological conditions, such as autoimmune disorders, allergies and, in recent years, cancer. This cytokine exerts tumor suppressive effects that cancer cells must evade for tumor progression. Paradoxically, TGF- $\beta$  also modulates inflammatory processes that favor tumor progression, such as the recruitment of cells from the immune system, like mast cells (MCs). This cell type participates in the regulation of tumor progression through secretion of diverse mediators: pro-angiogenic, pro-inflammatory and growth factors. Here, we review advances in understanding the role of TGF- $\beta$  in mast cells regulation, as well as their contribution in tumor development. The understanding of TGF- $\beta$  and MCs interplay during cancer development is essential for the design of new therapies to inhibit tumor progression.

**Key words:** TGF- $\beta$ , mast cells, secretion, tumor, tumoral microenvironment.

## INTRODUCCIÓN

**L**as células cebadas (CCs) fueron descritas por primera vez por Paul Ehrlich en 1878 en su tesis doctoral (Ehrlich, 1878), y desde entonces se conocen principalmente por su participación en anafilaxia y procesos alérgicos. Sin embargo, en las últimas décadas han tomado gran relevancia por su participación en distintas patologías como la osteoartritis y el cáncer. Las CCs se caracterizan por secretar una amplia variedad de mediadores químicos entre los que destacan el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ , por sus siglas en inglés, Transforming Growth Factor beta), una citocina descubierta por Anita Roberts y Michael Sporn, aproximadamente cien años después del hallazgo de las CCs (Sporn, Roberts, Wakefield & Assoian, 1986). El TGF- $\beta$  es una citocina multifuncional que regula los mecanismos de tolerancia inmunológica y las enfermedades inflamatorias. Por su papel pleiotrópico en el desarrollo del tumor ha cobrado gran importancia en el estudio del cáncer.

En esta revisión se describen las principales funciones del TGF- $\beta$ , con un enfoque en las acciones que tiene sobre las CCs y cómo, ambos protagonistas, al encontrarse en el microambiente tumoral (TME, por sus siglas en inglés, Tumor Microenvironment), pueden modular diversos procesos que influyen en el desarrollo del tumor.

## EL MICROAMBIENTE TUMORAL Y LAS CÉLULAS CEBADAS

El microambiente tumoral (TME) es el entorno en el que se encuentra el tumor, en el que coexisten las células tumorales y las células no tumorales. Estas últimas pueden ser residentes del tejido o ser reclutadas al sitio donde se desarrolla el tumor (Hui & Chen, 2015). Además, el TME está formado por una red compleja de vasos sanguíneos y linfáticos, por matriz extracelular (ECM, por sus siglas en inglés, Extracellular Matrix), que es el componente no celular que da soporte físico e inicia las señales que dictan parte del comportamiento celular como la regulación de la forma y el tipo de migración (Frantz, Stewart & Weaver, 2010); y por moléculas de señalización, como citocinas y quimiocinas, que son secretadas al medio tanto por las células tumorales como por las no tumorales (Komi & Redegeld, 2019). Todos estos elementos son lo que constituyen al TME y generan un ambiente hostil caracterizado por hipoxia, acidez y diversos cambios metabólicos que pueden modificar el fenotipo de las células tumorales y no tumorales, causando un estado proinflamatorio y proangiogénico que favorece el crecimiento y la metástasis del tumor (Whiteside, 2008; Albin, Bruno, Noonan & Mortara, 2018; Komi & Redegeld, 2019).

Al conjunto de células no tumorales que interactúan con el tumor se le conoce como estroma y está compuesto principalmente por fibroblastos, células endoteliales y células

del sistema inmune, dentro de estas últimas se encuentran los linfocitos T y B, las células NK, los macrófagos, las células dendríticas y de interés particular para esta revisión, las CCs (Varricchi *et al.*, 2017).

Las CCs son células del sistema inmune especializadas en procesos de secreción que se han relacionado principalmente con las respuestas alérgicas y antiparasitarias (Siraganian, 2003). En el desarrollo embrionario, estas células provienen del saco vitelino; mientras que, en el animal adulto, surgen de la médula ósea como precursores inmaduros y posteriormente migran a los diferentes tejidos donde completan su diferenciación bajo la influencia del microambiente local (Frossi, Mion, Sibilano, Danelli & Pucillo, 2018; Gentek *et al.*, 2018).

Las CCs van a residir en sitios que están expuestos al ambiente externo, como la piel, las mucosas y cerca de los vasos sanguíneos (Galli & Tsai, 2010). Esta localización estratégica les permite ser de las primeras células en interactuar con los alérgenos y agentes patógenos, por lo que se les considera elementos clave en la respuesta inmune innata del organismo (Cardamone, Parente, Feo & Triggiani, 2016).

Las CCs tienen la capacidad de secretar mediadores pro y antiinflamatorios dependiendo de la naturaleza del estímulo; por ejemplo, después del entrecruzamiento del receptor de alta afinidad para IgE (Fc $\epsilon$ RI); o bien, por la activación de receptores tipo Toll (TLRs, por sus siglas en inglés, Toll-Like Receptors), que median las respuestas inmunes innatas. Además de su participación en la fisiopatología de enfermedades alérgicas, las CCs han sido implicadas en una gran variedad de enfermedades no alérgicas, caracterizadas por un estado de inflamación crónica, como el cáncer (Varricchi *et al.*, 2017). En este contexto, se ha descrito la presencia de CCs en una gran variedad de tumores sólidos como melanoma, vejiga y mama, ya sea en la periferia o infiltradas en el tumor (Duncan, Richards & Mihm, 1998; Rao *et al.*, 2016; Glajcar *et al.*, 2017). Ahora se sabe que, las CCs asociadas a tumores (TAMCs, por sus siglas en inglés, Tumor-Associated Mast Cells) tienen un papel dual en la progresión del cáncer. Así, ejercen un papel protumorigénico en ciertos tipos de cáncer como el de páncreas, de estómago, de vejiga y de tiroides (Melillo *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2011; Ma, Hwang, Logsdon & Ullrich, 2013; Rao *et al.*, 2016; Visciano *et al.*, 2015; Eissmann *et al.*, 2019). En contraste, en otras neoplasias como el cáncer de mama o el cáncer de próstata, las CCs ejercen un rol antitumoral (Dabiri *et al.*, 2004; Fleischmann *et al.*, 2009).

Una vez en el TME, las CCs son activadas por distintos estímulos y liberan una gran variedad de mediadores químicos, los cuales van a modular procesos relacionados con el desarrollo o la destrucción del tumor, como son la

inmunosupresión o la citotoxicidad, respectivamente (Oldford & Marshall, 2015; Hui & Chen, 2015; Komi & Redegeld, 2019). Dentro de estos mediadores destaca el TGF- $\beta$ , una potente citocina que regula diversos procesos celulares y que tiene efectos pro y antitumorales (Li, Wan, Sanjabi, Robertson & Flavell, 2006).

### TGF- $\beta$ : ¿PRO O ANTI TUMORIGÉNICO?

El TGF- $\beta$  es una citocina multifuncional que pertenece a la superfamilia del TGF- $\beta$ , la cual incluye a diversas proteínas como activinas, inhibinas y proteínas morfogenéticas del hueso

(BMP, por sus siglas en inglés, Bone Morphogenetic Proteins). En mamíferos existen 3 isoformas de TGF- $\beta$  (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3). Estas isoformas ejercen funciones similares; sin embargo, la expresión de cada una de ellas es específica de cada tejido (Shull *et al.*, 1992). La isoforma del TGF- $\beta$ 1 es la más expresada y quizás la más relevante en las células del sistema inmune (Batlle & Massagué, 2019).

El TGF- $\beta$  es sintetizado y secretado en forma latente (inactivo) (Figura 1). Este propéptido contiene una porción N-terminal conocida como péptido asociado de latencia (LAP, por sus

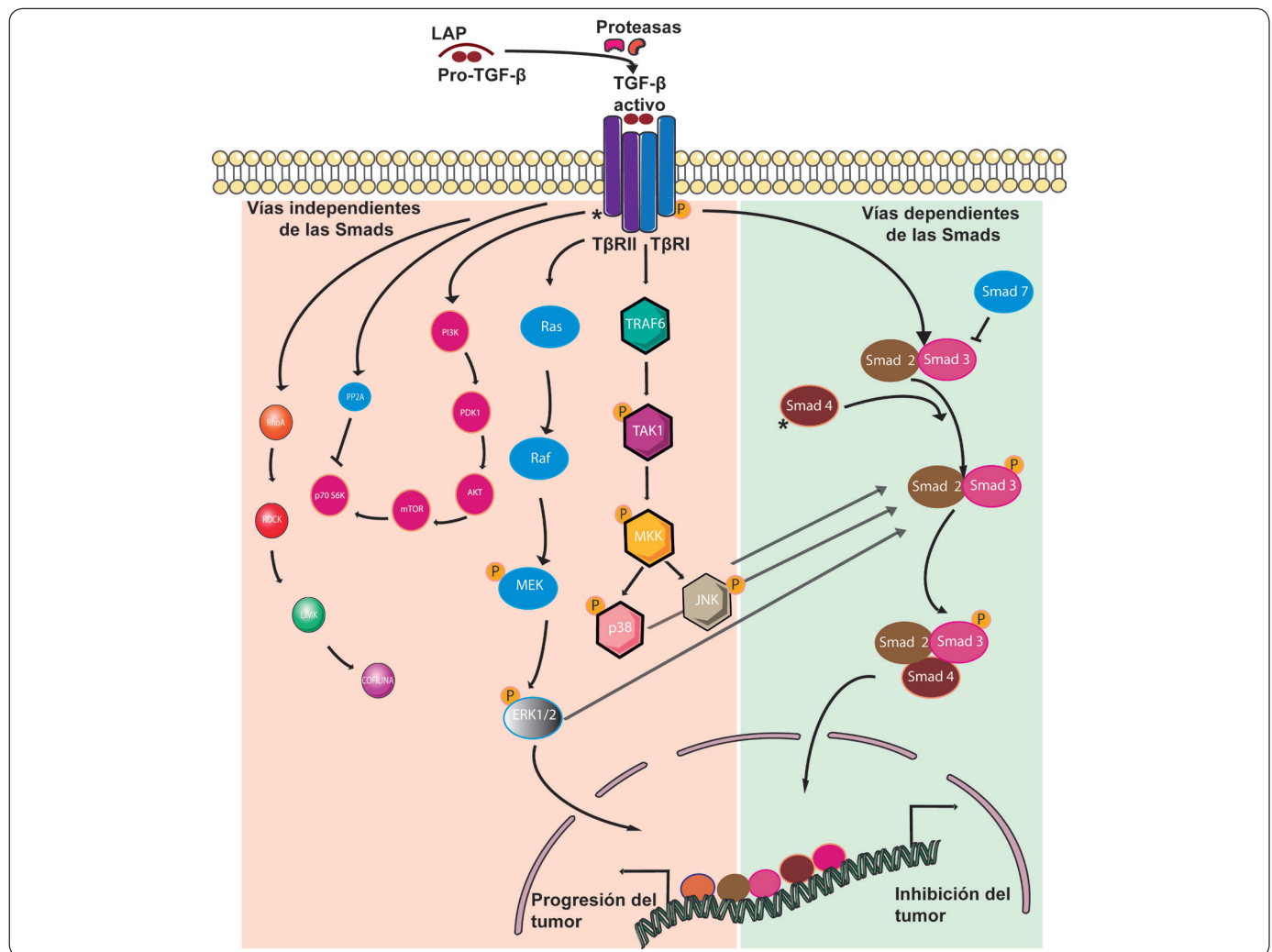


Figura 1. Señalización del TGF- $\beta$  en células cebadas. El TGF- $\beta$  es sintetizado como una molécula inactiva (pro-TGF- $\beta$ ) unida al péptido asociado a la latencia (LAP). Una vez que LAP es secretado y procesado por la acción de proteasas, es separado del complejo de latencia liberando al TGF- $\beta$  activo. El TGF- $\beta$  activo se une al T $\beta$ R $\beta$ II, que a su vez se asocia con el T $\beta$ R $\beta$ I para formar un complejo de receptores. Posteriormente, T $\beta$ R $\beta$ II fosforila al T $\beta$ R $\beta$ I favoreciendo su actividad de cinasa. La activación del receptor T $\beta$ R $\beta$ I induce el reclutamiento y la fosforilación de las proteínas Smad2/3, las cuales forman un complejo con la Smad4, este complejo se transloca al núcleo, en donde se une a co-activadores o co-represores transcripcionales, que regulan la expresión de múltiples genes. Smad7 funciona como un regulador negativo de la vía. Además de activar la vía de señalización dependiente de las Smads, el TGF- $\beta$  puede activar a algunas vías no canónicas como: la vía de las MAPK, la vía de Rho-GTPasa y la vía de PI3K/AKT que se relacionan con la progresión del tumor. Además, algunas proteínas de las vías no canónicas pueden fosforilar a las proteínas Smad.\*Proteínas donde se ha descrito que ocurren mutaciones que conllevan a una señalización aberrante.

siglas en inglés, Latency-Associated Peptide), y un segmento carboxilo terminal que corresponde al TGF- $\beta$  maduro. Una vez en el complejo de Golgi, el TGF- $\beta$  se dimeriza y posteriormente sufre un corte proteolítico por una furina que lo separa de la proteína LAP, aunque el TGF- $\beta$  permanece unido de forma no covalente al LAP. Antes de ser secretado, el LAP puede asociarse a la proteína de unión al TGF- $\beta$  latente (LTBP, por sus siglas en inglés, Latent TGF $\beta$ -Binding Protein), la cual le permite asociarse a proteínas de la ECM y quedar almacenado hasta su activación. Este complejo una vez secretado, puede ser activado por distintos estímulos como un pH extremo, altas temperaturas, cambios conformacionales o por la proteólisis de LAP (Travis & Sheppard, 2014).

El TGF- $\beta$  activo ejerce sus funciones al unirse a sus receptores con actividad de cinasa de residuos de serina y treonina, localizados en la membrana plasmática. Una vez que el TGF- $\beta$  se une al receptor de tipo II, éste recluta y fosforila al receptor de tipo I y esta fosforilación, a su vez, favorece la actividad de lo que se conoce como la vía canónica dependiente del reclutamiento y fosforilación de las proteínas Smads, las cuales pueden regular la transcripción de más de 500 genes. Además de activar las vías de señalización dependientes de las proteínas Smads, el TGF- $\beta$  activa vías de señalización independientes (no canónicas) de estas proteínas, como la cascada de las MAP cinasas que incluyen a TRAF-6/TAK1, ERK, p38, JNK y otras vías como la de PI3K/AKT/mTOR y la vía de las GTPasas Rho. La activación de estas vías se relaciona con procesos como la supervivencia, la proliferación celular y la inhibición de la apoptosis. Estos procesos son importantes para la iniciación y la progresión tumoral (Massagué, 2012; Batlle & Massagué, 2019). En primera instancia, el TGF- $\beta$  se considera un potente supresor de tumores, ya que puede inhibir la proliferación de células epiteliales, endoteliales y hematopoyéticas (Gallier & Schiemann, 2006). Sin embargo, esta citocina juega un papel paradójico en el cáncer, porque se sabe que en etapas tempranas suprime el crecimiento tumoral, mientras que en etapas avanzadas puede estimular su crecimiento. Se ha observado que, en la mayoría de los tumores malignos, existen alteraciones de la vía de señalización del TGF- $\beta$ , ya sea por mutaciones en su receptor o en las proteínas de señalización río abajo, como las Smads.

Grady y colaboradores (Grady *et al.*, 1999) demostraron que, en varias líneas celulares de cáncer de colon, con mutaciones en el receptor II para el TGF- $\beta$ , hay un aumento en la proliferación celular, debido a que el TGF- $\beta$  no ejerce sus funciones antiproliferativas en el tumor. Otro estudio hecho por Maurice y colaboradores (Maurice *et al.*, 2001), demostró que los adenocarcinomas de páncreas contienen varias mutaciones en la proteína Smad4 y, en consecuencia, una pobre señalización del TGF- $\beta$ . Con estos datos se sugiere que la correcta activación de la vía del TGF- $\beta$

suprime el crecimiento tumoral en el cáncer colorrectal y de páncreas. Por otro lado, se ha propuesto que la función protumoral del TGF- $\beta$  se debe a que las células tumorales, en etapas tardías del cáncer, adquieren resistencia a los efectos antiproliferativos y apoptóticos de esta citocina (Krstic & Santibanez, 2014). Además, el TGF- $\beta$  puede inducir procesos como la transición epitelio-mesénquima (EMT por sus siglas en inglés, Epithelial-Mesenchymal Transition) en las células cancerosas, dándoles una capacidad migratoria relevante en los procesos de metástasis (Nieto, Huang, Jackson & Thiery, 2016). Hay evidencias de que el aumento en los niveles de expresión de esta citocina correlaciona con la metástasis del cáncer de mama y de colon; y dicha sobreexpresión no se observa en los correspondientes tumores primarios (Dalal, Keown & Greenberg, 1993; Picon, Gold, Wang, Cohen & Friedman, 1998). Los resultados de tales investigaciones evidencian el papel dual que presenta el TGF- $\beta$ , por esto la contribución exacta en el cáncer sigue siendo un tema de discusión.

Es importante mencionar que, en el TME, el TGF- $\beta$  es producido constitutivamente por las células tumorales y por las células del estroma, incluidos los linfocitos T, los macrófagos y las CCs (Baumgartner, Deramo & Beaven, 1996). Se ha descrito que las CCs almacenan en sus vesículas a la forma latente del TGF- $\beta$  y a la quimasa, lo cual sugiere que esta proteasa podría activar al complejo latente después de su secreción (Gordon & Galli, 1994; Lindstedt *et al.*, 2001).

### ACCIONES DEL TGF- $\beta$ SOBRE LAS CCs

El TGF- $\beta$  tiene distintos efectos sobre las CCs, regulando la supervivencia, la migración y la secreción de los mediadores. Por ejemplo, el TGF- $\beta$  modifica el desarrollo y la función de las CCs, mejorando la diferenciación temprana de los precursores e incrementando la expresión de enzimas que son secretadas como las proteasas. Asimismo, en etapas tardías, inhibe la sobrevivencia de estos precursores (Kashyap *et al.*, 2005; Miller, Wright, Knight & Thornton, 1999; Norozian *et al.*, 2006). Además, se ha descrito que el TGF- $\beta$  disminuye la expresión de los receptores c-kit, cuyo ligando es el factor de crecimiento para las células troncales (SCF, por sus siglas en inglés, Stem Cell Factor) (Zhao, Gomez, Yu, Ryan & Schwartz, 2008). La activación de esta vía de señalización está relacionada con la maduración, migración y supervivencia de las CCs (Galli & Tsai, 2010). También, el TGF- $\beta$  disminuye la expresión del receptor Fc $\epsilon$ RI y la secreción de mediadores proinflamatorios como TNF- $\alpha$ , IL-6 e histamina (Bissonnette, Enciso & Befus, 1997; Gómez *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2008). La disminución de estos mediadores repercute positiva o negativamente en el desarrollo del tumor. Por ejemplo, se sabe que el TNF- $\alpha$  y la IL-6 están implicados en la inhibición del crecimiento tumoral al inducir la apoptosis de las células tumorales. Mientras que, otros mediadores inflamatorios como la heparina, contribuyen al desarrollo

tumoral, induciendo procesos angiogénicos que van a nutrir al tumor (Komi & Redegeld, 2019).

Por otra parte, se ha descrito que el TGF- $\beta$  induce un aumento en la expresión de proteasas como la quimasa y la triptasa en las CCs (Funaba *et al.*, 2006). En algunos estudios se ha identificado a estas proteasas como activadores de las metaloproteasas de matriz (MMPs por sus siglas en inglés, Matrix Metalloproteinase), que son un grupo de enzimas que degradan proteolíticamente a la ECM y coordinan sus funciones con los inhibidores de las metaloproteasas (TIMP por sus siglas en inglés, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase). Se ha descrito que las CCs secretan MMP-2 (gelatinasa A), MMP-9 (gelatinasa B), MMP-1 (Colagenasa) y MMP-3 (Estromelisin) (Brownell *et al.*, 1995; Tozi *et al.*, 1998), que regulan la migración de las CCs, favorecen la angiogénesis y la metástasis de las células tumorales. El balance entre la actividad de las MMPs y TIMPs repercute en la regulación de la degradación de la ECM y, en consecuencia, en la regulación de la capacidad de motilidad y de invasión de las células. Cabe mencionar, que se ha descrito un asa de retroalimentación positiva entre el TGF- $\beta$  y las MMPs, en donde el TGF- $\beta$  latente puede ser activado mediante la acción de las MMPs, mientras que la secreción del TGF- $\beta$  activo por las células tumorales y por las CCs modula la expresión de MMPs y de sus reguladores TIMPs (Kristic & Santibanez, 2014). Este fenómeno, en conjunto, puede contribuir a la progresión tumoral.

### RECLUTAMIENTO DE LAS CCs AL TUMOR

Como se mencionó anteriormente, el TGF- $\beta$  regula la secreción de los mediadores y, además, es considerado como uno de los quimioatrayentes más potentes para las CCs, induciendo así, su migración (Gruber, Marchese & Kew, 1994; Olsson, Piek, Ten, Dijke & Nilsson, 2000). Se propone que la producción de TGF- $\beta$  por las células del estroma tumoral podría favorecer la infiltración de las CCs y atraerlas al sitio del tumor (Tóth-Jakatics, Jimi, Takebayashi & Kawamoto, 2000; Elpek *et al.*, 2001). De hecho, las CCs son de las primeras células del sistema inmune en ser reclutadas al sitio del tumor (Benítez-Bribiesca, Wong, Utrera & Castellanos, 2001).

La migración celular es un proceso altamente integrado mediante el cual las células se mueven de una locación a otra, dicha capacidad de migrar les permite cambiar de posición dentro de los tejidos y llegar a diferentes sitios, entre ellos al del tumor. Para que las células migren deben ocurrir ciertos cambios, primero la célula se polariza y genera protrusiones de membrana mediadas por la polimerización de actina, posteriormente modifica sus adhesiones con el sustrato y finalmente ocurre la retracción del cuerpo de las células hacia la dirección de movimiento (Vicente-Manzanares, Webb & Horwitz, 2005). Al unirse el TGF- $\beta$  activo a sus receptores de membrana, se estimulan las vías de señalización intracelulares

que regulan la migración celular (Figura 2); sin embargo, el mecanismo molecular completo por el cual el TGF- $\beta$  regula la migración de las CCs no se conoce completamente. Gruber y colaboradores (Gruber *et al.*, 1994) observaron que la estimulación de las CCs con concentraciones femtomolares del TGF- $\beta$ , inducía una forma polarizada y la adquisición de esta forma asimétrica, se relaciona con células que se preparan para iniciar la migración. Después de la adquisición de una forma asimétrica, la remodelación rápida del citoesqueleto de actina es un evento crucial para el inicio de la migración. La familia de proteínas GTPasas Rho participan activamente en la remodelación de la actina (Riento & Ridley, 2003). En la línea celular RBL-2H3, derivada de una leucemia basofílica de rata, que es usada como un modelo de CCs, se ha observado que el TGF- $\beta$  participa en la remodelación del citoesqueleto de actina (Edlund, Landström, Heldin & Aspenström, 2002), la estimulación rápida (de 15 a 30 min) con TGF- $\beta$  induce un intenso “ruffling”, fenómeno que es dependiente de las GTPasas Rho y Cdc42; en contraste, la estimulación tardía (48 h) con TGF- $\beta$  resulta en la formación de fibras de estrés, dicho arreglo del citoesqueleto es dependiente de Rho y de las proteínas de la vía canónica del TGF- $\beta$ , las Smads (Massagué, 2012).

Además, se ha descrito que el TGF- $\beta$  regula la remodelación del citoesqueleto de actina mediante la regulación de la ADF/cofilina, una proteína que participa en la despolimerización de la actina. La ADF/cofilina es activada mediante la desfosforilación por la proteína fosfatasa dual específica SSHs (del inglés Slingshot) y otras fosfatasas como la proteína fosfatasa 2A (PP2A) (Oleinik, Krupenko & Krupenko, 2010) y es inactivada al ser fosforilada en el residuo de la Ser-3 por la cinasa LIMK (Yang *et al.*, 1998). En las CCs derivadas de la médula ósea nuestro grupo observó que la estimulación con TGF- $\beta$  induce la activación de la PP2A río abajo de la cinasa Fyn, lo cual favorece la activación de la cofilina y por lo tanto la despolimerización de la actina. Además, observamos que las células migraban eficientemente ante un estímulo de TGF- $\beta$  (Ramírez-Valadez, Vázquez-Victorio, Macías-Silva & González-Espinosa, 2017). En la línea celular HMC-1, la cual se deriva de CCs humanas, se ha descrito que la migración inducida por el TGF- $\beta$  depende de la vía de señalización de las MAP cinasas, ya que cuando las células son tratadas con el compuesto PD98059 (inhibitor de MEK1y MEK2), la migración se ve bloqueada (Olsson, Piek, Ten, Dijke & Nilsson, 2001).

Otro factor importante en la regulación de la migración son las interacciones de las células con la ECM. Las integrinas son los principales receptores que transducen las señales del medio exterior al interior de la célula, a través de la regulación de la dinámica del citoesqueleto de actina. En CCs de la mucosa intestinal se ha observado un aumento en la expresión de la integrina  $\alpha7\beta1$ , que favorece la unión a la

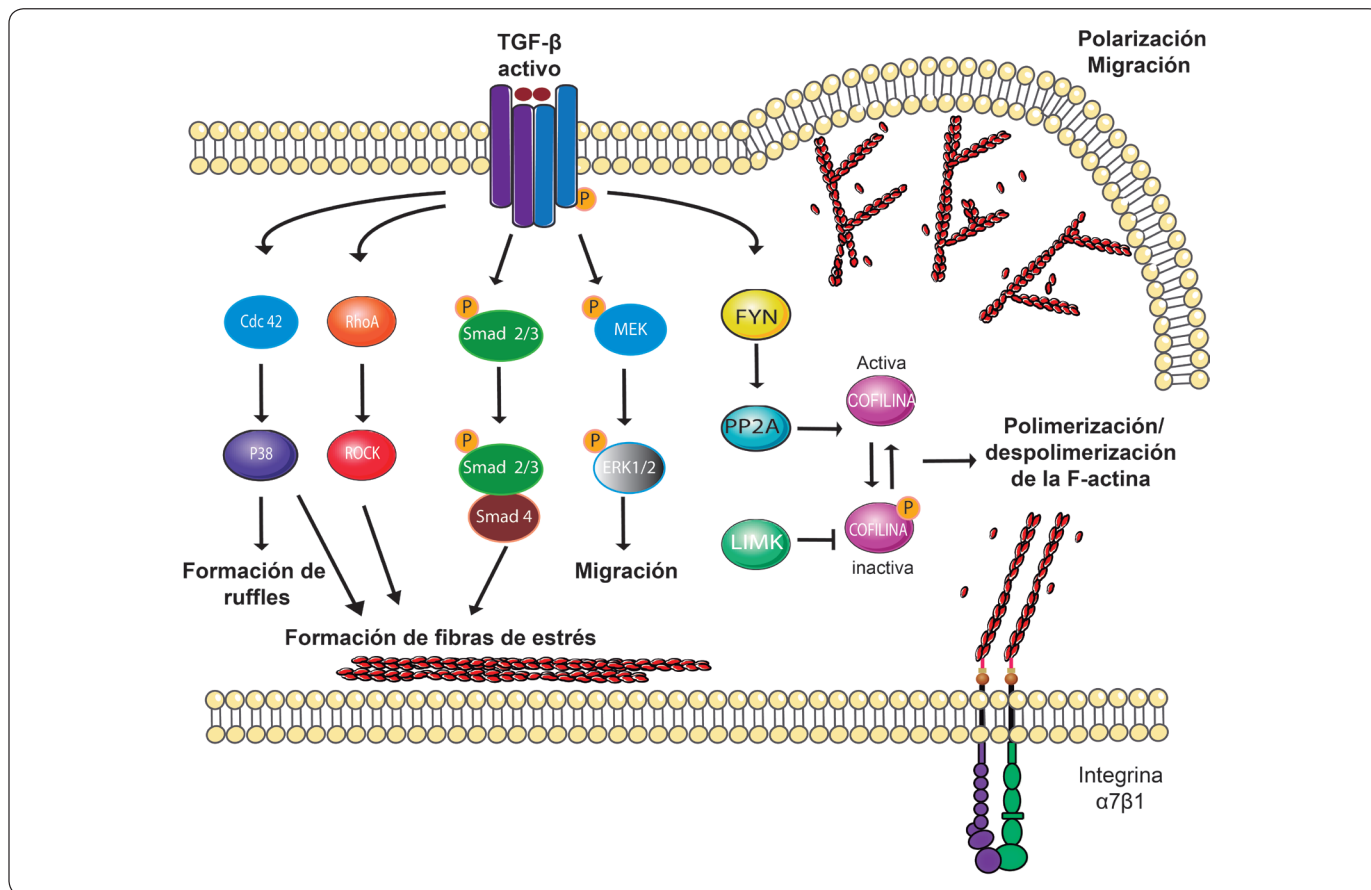


Figura 2. Vías de señalización del TGF- $\beta$  que regulan la migración de las células cebadas hacia los tumores. El TGF- $\beta$  activo se une a su receptor e induce distintas vías de señalización que regulan la migración de las células cebadas. El TGF- $\beta$  induce la vía de Cdc42-p38 que favorecen la formación de arrugas o “ruffles” en la membrana, así como la vía de Rho-ROCK que junto con la vía de señalización de las proteínas Smads regula la organización de la actina filamentosa en fibras de estrés. La vía MEK-ERK se ha visto implicada en la inducción de la motilidad, aunque no se conoce el mecanismo completo. Por otro lado, el TGF- $\beta$  induce la activación de la PP2A río abajo de la cinasa Fyn, lo cual favorece la activación de la cofilina, mientras que la cinasa LIMK inactiva a la cofilina manteniendo así una regulación de la polimerización y despolimerización de la F-actina. Finalmente, el TGF- $\beta$  induce la expresión de la integrina  $\alpha 7\beta 1$ , la cual favorece la unión a la ECM facilitando la migración.

proteína de la membrana basal, laminina-1. Este cambio en la expresión de integrinas facilita la migración (Rosbottom *et al.*, 2002). Además, también el TGF- $\beta$  regula la expresión de la subunidad de las integrinas  $\alpha E$ , favoreciendo su localización intraepitelial (Wright *et al.*, 2002).

### EL TGF- $\beta$ , LAS CCS Y EL TME

Con base en lo que se mencionó anteriormente, proponemos un modelo en el que el TGF- $\beta$ , junto con otros factores quimioatrayentes como el SCF y la esfingosina 1-fosfato (S1P), podrían atraer a las CCs al sitio del tumor (Figura 3). Una vez en el tumor, las CCs podrían ser estimuladas por el TGF- $\beta$ , dando como respuesta la secreción de mediadores angiogénicos como el VEGF-A. Este último se considera como uno de los mediadores de mayor potencia en la inducción de la angiogénesis, que es un fenómeno necesario para proveer de oxígeno y nutrientes al tumor y transportar

a las células malignas a otros sitios del organismo donde pueden colonizar y formar otro tumor (Roskoski, 2007; Albini *et al.*, 2018). Nuestro grupo también describió que en las CCs el TGF- $\beta$  aumenta la vida media del mensajero de VEGF (Benítez-Garrido, *et al.*, 2009). Por otro lado, un mayor número de CCs se han visto en tumores de pulmón, laringe, riñón y mama (Dundar *et al.*, 2008; Sawatsubashi *et al.*, 2000; Tuna, Yorukoglu, Unlu, Mungan & Kirkali, 2006; Ribatti *et al.*, 2007), el aumento correlaciona con una alta densidad de capilares y esto ha sido considerado como un mal pronóstico en la inhibición del crecimiento del tumor (Ribatti *et al.*, 2003).

Como se mencionó anteriormente, las CCs son capaces de secretar TGF- $\beta$ , sugiriendo que en el tumor existe una intercomunicación o “crosstalk” paracrina entre las CCs y las células del estroma. Por ejemplo, en respuesta al TGF- $\beta$ , los

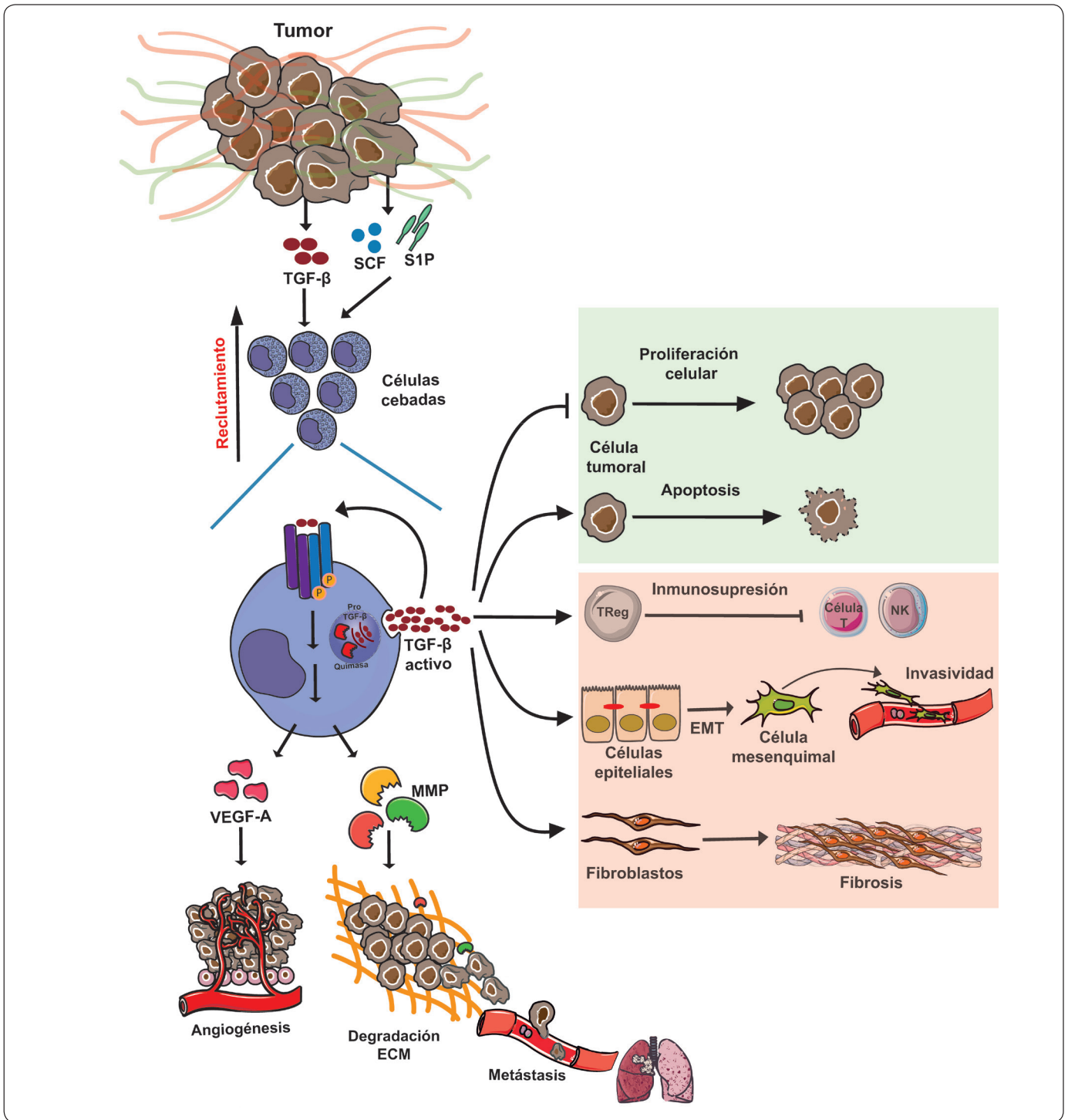


Figura 3. Modelo de las acciones del TGF- $\beta$  secretado por las CCs asociadas a los tumores. El modelo propone que las células tumorales liberarían al TGF- $\beta$  activo, el cual sería capaz de reclutar a las CCs al sitio del tumor. Una vez allí, las CCs podrían secretar TGF- $\beta$  activo con la ayuda de la enzima quimasa, que puede escindir al complejo TGF- $\beta$ /LAP. Ya en el TME, el TGF- $\beta$  puede inhibir la proliferación o inducir la apoptosis de las células tumorales (funciones antitumorales, recuadro verde); o bien, puede ejercer funciones protumorales (recuadro rojo), como son la activación de las células T reguladoras (T<sub>Regs</sub>), que inducen un estado de inmunosupresión en el TME; la inducción del fenotipo mesenquimal de las células epiteliales, que promueve su invasividad y migración a otros tejidos; o la activación de fibroblastos para aumentar la producción de colágeno y promover la rigidez de la ECM en el TME. Además, las CCs pueden ser estimuladas por el TGF- $\beta$  y liberar factores proangiogénicos como el VEGF, y/o enzimas como las MMP, que degradan la ECM y favorecen el crecimiento y la metástasis del tumor.

fibroblastos asociados a cáncer (CAF, por sus siglas en inglés, Cancer-Asociated Fibroblasts), cuya función principal es secretar proteínas de MEC, aumentan el depósito de fibras de colágeno, que se relaciona con procesos fibróticos (Schiller, Javelaud & Mauviel, 2004). Por otro lado, el TGF- $\beta$  induce el proceso EMT, donde las células epiteliales pierden su polaridad, disminuyen las adhesiones célula-célula y favorece la migración celular (Nieto *et al.*, 2016). La EMT ocurre durante la metástasis y la fibrosis. El TGF- $\beta$  induce dicha transición a través de la combinación de las vías dependientes e independiente de las proteínas Smads, como la vía de señalización de RAS-MAP cinasas (Zhang, 2009). También se sabe que el TGF- $\beta$  es capaz de inducir un aumento en la expresión del factor de transcripción Foxp3 en células T CD4<sup>+</sup>, y promueve un fenotipo supresor de estas células, que son conocidas como células T reguladoras o T<sub>Regs</sub> (Kelly, Houston, Sherwood, Casulli & Travis, 2017; Chen *et al.*, 2003). La vía de señalización que desencadena el TGF- $\beta$  en las T<sub>Regs</sub> ocasiona el aumento en la expresión de proteínas antiapoptóticas y en la supresión de proteínas proapoptóticas, aumentando así, la población de estas células (Ouyang, Beckett, Ma & Li, 2010). La presencia de T<sub>Regs</sub> en el TME se ha relacionado principalmente con la progresión del tumor, ya que, estas células pueden inhibir a células del sistema inmune que intentan destruir al tumor, como los linfocitos T y las células NK (Figura 3), llevando así a un estado de inmunosupresión en el TME y, por lo tanto, a la progresión tumoral (De Rezende, Silva, Rangel & Guimarães, 2010). Sumado a lo anterior, el TME genera un ambiente adverso caracterizado por bajos niveles de oxígeno, condición en la que se ha descrito que las CCs secretan CCL2 (Yoshimura, 2017), una quimiocina que atrae a otras células del sistema inmune al sitio del tumor, como monocitos, células NK y linfocitos T, aumentando así, el estado inflamatorio y la progresión del tumor. Cabe mencionar que recientemente nuestro grupo ha observado que el TGF- $\beta$  estimula la síntesis y secreción de CCL2 en células cebadas RBL-2H3; sin embargo, los mecanismos moleculares implicados están aún bajo estudio (Ávila-Rodríguez *et al.*, (2019) manuscrito en preparación).

## CONCLUSIONES

El TGF- $\beta$  es una de las citocinas reguladoras más importantes en el crecimiento tumoral. Este mediador tiene un papel pleiotrópico dependiendo del contexto celular. En la actualidad se han desarrollado distintas terapias basadas en la inhibición de las vías del TGF- $\beta$ . Sin embargo, ya que el TGF- $\beta$  tiene múltiples funciones fisiológicas, una inhibición a largo plazo de su vía de señalización llevaría potencialmente a efectos indeseables, como la activación inmune aberrante o un proceso defectuoso de la reparación tisular. Por lo anterior, una terapia en donde se inhiba un blanco cuidadosamente, para que minimice los efectos secundarios es la meta a alcanzar. Por otro lado, la participación de las CCs en el desarrollo del tumor había sido poco considerada y aunque no está clara,

merece mayor investigación. Revelar la intercomunicación entre las CCs, células tumorales y el TME, podría proporcionar información relevante sobre la comprensión de la patogénesis del cáncer.

## AGRADECIMIENTOS

La Dra. Dulce Ávila Rodríguez y la M. en C. Deisy Lizbeth Segura Villalobos agradecen las becas que les fueron otorgadas: a la primera de ellas posdoctoral por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM y a la segunda doctoral por el CONACYT. El agradecimiento de los autores se hace extensivo al M. en C. Ernesto Griego Melo, por el apoyo en la realización de las figuras. El trabajo de los grupos de las Dras. Claudia González Espinosa y Marina Macías Silva ha sido apoyado con recursos del proyecto No. 188565 del CONACYT-ANR.

## REFERENCIAS

- Albini, A., Bruno, A., Noonan, M.D. & Mortara, L. (2018). Contribution to Tumor Angiogenesis From innate immune Cells within the Tumor Microenvironment: implications for immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, **9** (527), 1-19. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00527.
- Ávila-Rodríguez, D., González-Espinosa, C., Vázquez-Victorio, G., Ibarra-Sánchez, A., Anaya-Rubio, I.A., Ríos-López, D.G., Caligaris, C., Blank, U., Sosa-Garrocho, M. & Macías-Silva, M. (2019). Manuscrito en preparación.
- Batlle, E. & Massagué, J. (2019). Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling in Immunity and Cancer. *Immunity*, **50**(4), 924-940. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.024.
- Baumgartner, R. A., Deramo, V.A. & Beaven M.A. (1996). Constitutive and inducible mechanisms for synthesis and release of cytokines in immune cell lines. *J. Immunol.*, **157** (9), 4087-4093.
- Benítez-Briebesca, L., Wong, A., Utrera, D. & Castellanos, E. (2001). The role of mast cell tryptase in neoangiogenesis of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. *J. Histochem. Cytochem.*, **49**(8), 1061-1062. DOI: 10.1177/002215540104900816.
- Benítez-Garrido, J.P., Ibarra-Sanchez, A., Macías Silva, M., Villalobos Molina, R., Padilla-Trejo, J. A. & Gonzalez-Espinosa, C. (2009). TGF $\beta$  Presence During IgE-dependent Sensitization Primes Mast Cells for Higher VEGF Production After FcRI Activation. *Open Allergy J.*, **2**, 16-26.
- Bissonnette, E.Y., Enciso, J.A. & Befus, A.D. (1997). TGF-beta1 inhibits the release of histamine and tumor necrosis factor-alpha from mast cells through an autocrine pathway. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **16**(3), 275-282. DOI: 10.1165/ajrcmb.16.3.9070612.
- Brownell, E., Fiorentino, L., Jolly, G., Wolfe, K., Kincaid, S., Seperack, P. & Visco, D. (1995). Immunolocalization of stromelysin-related protein in murine mast cell



- granules. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **107(1-3)**, 333-345. DOI:10.1159/000237019.
- Cardamone, C., Parente, R., Feo, G.D. & Triggiani, M. (2016). Mast cells as effector cells of innate immunity and regulators of adaptive immunity. *Immunol. Lett.*, **178**, 10-14. DOI: 10.1016/j.imlet.2016.07.003.
- Chang, D.Z., Ma, Y., Ji, B., Wang, H., Deng, D., Liu, Y., Abbruzzese, J.L., Liu, Y.J., Logsdon, C.D. & Hwu, P. (2011). Mast cells in tumor microenvironment promotes the *in vivo* growth of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research*, **17**, 7015-7023. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0607.
- Chen, W. J., Jin, W., Hardegen, N., Lei, K. J., Li, L., Marinos, N. & Wahl, S. M. (2003). Conversion of Peripheral CD4 + CD25 - Naive T Cells to CD4 + CD25 + Regulatory T Cells by TGF- $\beta$  Induction of Transcription Factor Foxp3. *J. Exp. Med.*, **198(12)**, 1875-1886. DOI:10.1084/jem.20030152.
- Dabiri, S., Huntsman, D., Makretsov, N., Cheang, M., Gilks, B., Bajdik, C., Gelmon, K., Chia, S. & Hayes, M. (2004). The presence of stromal mast Cells identifies a subset of invasive breast cancers with a favorable prognosis. *Mod. Pathol.*, **17**, 690-695. DOI: 10.1038/modpathol.3800094.
- Dalal, B. I., Keown, P. A. & Greenberg, A. H. (1993). Immunocytochemical localization of secreted transforming growth factor-beta 1 to the advancing edges of primary tumors and to lymph node metastases of human mammary carcinoma. *Am. J. Pathol.*, **143(2)**, 381-389.
- De Rezende, L. C. D., Silva, I. V., Rangel, L. B. A. & Guimarães, M. C. C. (2010). Regulatory T Cell as a target for cancer therapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, **58(3)**, 179-190. DOI:org/10.1007/s00005-010-0075-0.
- Duncan, M.L., Richards, A.L. & Mihm Jr., C.M. (1998). Increased mast cell density in invasive melanoma. *J. Cutan. Pathol.*, **25**, 11-15. DOI: 10.1111/j.1600-0560.1998.tb01683.x.
- Dundar, E., Oner, U., Peker, B.C., Metintas, M., Isiksoy, S. & Ak, G. (2008). The significance and relationship between mast cells and tumor angiogenesis in non-small cell lung carcinoma. *J. Int. Med. Res.*, **36**, 88-95. DOI: 10.1177/147323000803600112.
- Edlund, S., Landström, M., Heldin, C.H. & Aspenström, P. (2002). Transforming growth factor-beta-induced mobilization of actin cytoskeleton requires signaling by small GTPases Cdc42 and RhoA. *Mol. Biol. Cell.*, **13(3)**, 902-914. DOI: 10.1091/mbc.01-08-0398.
- Ehrlich P., (1878). Beiträge zur Theorie und Praxis der histologischen Färbung. Thesis. Leipzig University. 6-17.
- Eissmann, M.F., Dijkstra, C., Jarnicki, A., Pheese, T., Brunnberg, J., Poh, A.R., Etemadi, N., Tsantikos, E., Thiem, S., Huntington, N.D., Hibbs, M.L., Boussioutas, A., Grimbaldston, M.A., Buchert, M., O'Donoghue, R.J.J., Masson, F. & Ernst, M. (2019). IL-33-mediated mast cell activation promotes gastric cancer through macrophage mobilization. *Nat. Commun.*, **10(2735)**, 1-16. DOI: 10.1038/s41467-019-10676-1.
- Elpek, G.O., Gelen, T., Aksoy, N.H., Erdoğan, A., Dertsiz, L., Demircan, A. & Keleş, N. (2001). The prognostic relevance of angiogenesis and mast cells in squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J. Clin. Pathol.*, **54(12)**, 940-944. DOI: 10.1136/jcp.54.12.940.
- Fleischmann, A., Schlomm, T., Kollermann, J., Sekulic, N., Huland, H., Mirlacher, M., Sauter, G., Simon, R. & Erbersdobler, A. (2009). Immunological microenvironment in prostate cancer: high mast cell densities are associated with favorable tumor characteristics and good prognosis. *Prostate*, **69(9)**, 976-981. DOI: 10.1002/pros.20948.
- Frantz, C., Stewart, K.M. & Weaver, V.M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *J. Cell Sci.* **15**; **123(Pt 24)**, 4195-4200. DOI: 10.1242/jcs.023820.
- Frossi, B., Mion, F., Sibilano, R., Danelli, L. & Pucillo, C.E.M. (2018). Is it time for a new classification of mast cells? What do we know about mast cell heterogeneity? *Immunol. Rev.*, **282(1)**, 35-46. DOI: 10.1111/imr.12636.
- Funaba, M., Ikeda, T., Murakami, M., Ogawa, K., Nishino, Y., Tsuchida, K., Sugino, H. & Abe, M. (2006). Transcriptional regulation of mouse mast cell protease-7 by TGF-beta. *Biochim. Biophys. Acta*, **1759(3-4)**, 166-170. DOI: 10.1016/j.bbaexp.2006.04.003.
- Galli, S.J. & Tsai, M. (2010). Mast cells in allergy and infection: versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity. *Eur. J. Immunol.*, **40(7)**, 1843-1851. DOI: 10.1002/eji.201040559.
- Gallagher, A.J., Neil, J.R. & Schiemann, W.P. (2006). Role of transforming growth factor-beta in cancer progression. *Future Oncol.*, **2(6)**, 743-763. DOI: 10.2217/14796694.2.6.743.
- Gentek, R., Ghigo, C., Hoeffel, G., Bulle, J.M., Msallam, R., Gautier, G., Launay, P., Chen, J., Ginhoux, F. & Bajénoff, M. (2018). Hemogenic Endothelial Fate Mapping Reveals Dual Developmental Origin of Mast Cells. *Immunity*, **48(6)**, 1160-1171. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.04.025.
- Glajcar, A., Szpor, J., Pacek, A., Ewa Tyrak, K., Chan, F., Streb, J., Hodorowicz-Zaniewska, D. & Okón, K. (2017). The relationship between breast cancer molecular subtypes and mast cell populations in tumor microenvironment. *Virchows Archiv.*, **470(5)**, 505-515. DOI: 10.1007/s00428-017-2103-5.
- Gómez, G., Ramírez, C.D., Rivera, J., Patel, M., Norozian, F., Wright, H.V., Kashyap, M.V., Barnstein, B.O., Fischer-Stenger, K., Schwartz, L.B., Kepley, C.L. & Ryan, J.J. (2005). TGF-beta 1 inhibits mast cell Fc epsilon RI expression. *J. Immunol.* **15**; **174(10)**, 5987-5993. DOI: 10.4049/jimmunol.174.10.5987.
- Gordon, J.R. & Galli, S.J. (1994). Promotion of mouse fibroblast collagen gene expression by mast cells

- stimulated via the Fc epsilon RI. Role for mast cell-derived transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha. *J. Exp. Med.* 1; **180(6)**, 2027-2037. DOI: 10.1084/jem.180.6.2027.
- Grady, W. M., Myeroff, L. L., Swinler, S. E., Rajput, A., Thiagalingam, S., Lutterbaugh, J. D. & Markowitz, S. (1999). Mutational Inactivation of Transforming Growth Factor  $\beta$  Receptor Type II in Microsatellite Stable Colon Cancers. *Cancer Res.*, **59(2)**, 320–324.
- Gruber, B.L., Marchese, M.J., & Kew, R.R. (1994). Transforming growth factor-beta 1 mediates mast cell chemotaxis. *J. Immunol.* 15; **152(12)**, 5860-5867.
- Hui, L. & Chen, Y. (2015). Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil. *Cancer Lett.*, **368**, 7-13. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.039.
- Kashyap, M., Bailey, D.P., Gomez, G., Rivera, J., Huff, T.F. & Ryan, J.J. (2005). TGF-beta1 inhibits late-stage mast cell maturation. *Exp. Hematol.*, **33(11)**, 1281-1291. DOI: 10.1016/j.exphem.2005.07.001.
- Kelly, A., Houston, S. A., Sherwood, E., Casulli, J. & Travis, M. A. (2017). Regulation of Innate and Adaptive Immunity by TGF $\beta$ . *Advances in Immunol.*, **134**, 137–233. DOI: 10.1016/bs.ai.2017.01.001.
- Komi, D.E.A. & Redegeld, F.A. (2019). Role of Mast Cells in Shaping the Tumor Microenvironment. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, DOI: 10.1007/s12016-019-08753-w.
- Krstic, J. & Santibanez, J.F. (2014). Transforming growth factor beta and matrix metalloproteinases: functional interactions in tumor stroma-infiltrating myeloid cells. *Scientific World Journal.*, **2014**, 521754. DOI: 10.1155/2014/521754.
- Li, M.O., Wan, Y.Y., Sanjabi, S., Robertson, A.K. & Flavell, R.A. (2006). Transforming growth factor- $\beta$  regulation of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.*, **24**, 99-146. DOI: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737.
- Lindstedt, K.A., Wang, Y., Shiota, N., Saarinen, J., Hyytiäinen, M., Kokkonen, J.O., Keski-Oja, J. & Kovanen, P.T. (2001). Activation of paracrine TGF-beta1 signaling upon stimulation and degranulation of rat serosal mast cells: a novel function for chymase. *FASEB J.*, **15(8)**, 1377-1388. DOI: 10.1096/fj.00-0273com.
- Ma, Y., Hwang, R.F., Logsdon, C.D. & Ullrich, S.E. (2013). Dynamic mast cell-stromal cell interactions promote growth of pancreatic cancer. *Cancer Res.*, **73**, 3927–3937. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4479.
- Massagué, J. (2012). TGF $\beta$  signalling in context. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13(10)**, 616-630. DOI: 10.1038/nrm3434.
- Maurice, D., Pierreux, C. E., Howell, M., Wilentz, R. E., Owen, M. J. & Hill, C. S. (2001). Loss of Smad4 function in pancreatic tumors: C-terminal truncation leads to decreased stability. *J. Biol. Chem.*, **276(46)**, 43175–43181. DOI: 10.1074/jbc.M105895200.
- Melillo, R.M., Guarino, V., Avilla, E., Galdiero, M.R., Liotti, F., Prevete, N., Rossi, F.W, Basolo, F., Ugolini, C., de Paulis, A., Santoro, M. & Marone, G. (2010). Mast cells have a protumorigenic role in human thyroid cancer. *Oncogene*, **29 (47)**, 6203-6215. DOI: 10.1038/onc.2010.348.
- Miller, H.R., Wright, S.H., Knight, P.A., & Thornton, E.M. (1999). A novel function for transforming growth factor-beta1: up regulation of the expression and the IgE-independent extracellular release of a mucosal mast cell granule-specific beta-chymase, mouse mast cell protease-1. *Blood.* 15; **93(10)**, 3473-3486.
- Nieto, M.A, Huang, R.Y., Jackson, R.A. & Thiery, J.P. (2016). EMT: 2016. *Cell*, 30; **166(1)**, 21-45. DOI: 10.1016/j.cell.2016.06.028.
- Norozian, F., Kashyap, M., Ramirez, C.D., Patel, N., Kepley, C.L., Barnstein, B.O. & Ryan, J.J. (2006). TGFbeta1 induces mast cell apoptosis. *Exp. Hematol.*, **34(5)**, 579-587. DOI: 10.1016/j.exphem.2006.02.003.
- Oldford, A.S. & Marshall, S.J. (2015). Mast cells as targets for immunotherapy of solid tumors. *Mol. Immunol.*, **63**, 113-124. DOI: 10.1016/j.molimm.2014.02.020.
- Oleinik, N.V., Krupenko, N.I. & Krupenko, S.A. (2010). ALDH1L1 inhibits cell motility via dephosphorylation of cofilin by PP1 and PP2A. *Oncogene*, 25; **29(47)**, 6233-6244. DOI: 10.1038/onc.2010.356.
- Olsson, N., Piek, E., Ten, Dijke, P. & Nilsson, G. (2000). Human mast cell migration in response to members of the transforming growth factor-beta family. *J. Leukoc Biol.*, **67(3)**, 350-356. DOI: 10.1002/jlb.67.3.350.
- Olsson, N., Piek, E., Sundström, M., Ten, Dijke, P. & Nilsson, G. (2001). Transforming growth factor beta mediated mast cell migration dependson mitogen-activated protein kinase activity. *Cell Signal.*, **13(7)**, 483-490. DOI: 10.1016/s0898-6568(01)00176-0.
- Ouyang, W., Beckett, O., Ma, Q. & Li, M. O. (2010). Transforming growth factor- $\beta$  signaling curbs thymic negative selection promoting regulatory T cell development. *Immunity*, **32(5)**, 642–653. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.04.012.
- Picon, A., Gold, L. I., Wang, J., Cohen, A. & Friedman, E. (1998). A subset of metastatic human colon cancers expresses elevated levels of transforming growth factor beta1. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev.*, **7(6)**, 497–504.
- Ramírez-Valadez, K.A., Vázquez-Victorio G., Macías-Silva, M. & González-Espinosa, C. (2017). Fyn kinase mediates cortical actin ring depolymerization required for mast cell migration in response to TGF- $\beta$  in mice. *Eur. J. Immunol.* **47(8)**, 1305-1316. DOI: 10.1002/eji.201646876.
- Rao, Q., Chen, Y., Yeh, C.R., Ding, J., Li, L., Chang, C. & Yeh, C. (2016). Recruited mast cells in the tumor microenvironment enhance bladder cancer metastasis via modulation of ER $\beta$ /CCL2/CCR2 EMT/MMP9 signals. *Oncotarget*, **7**, 7842-7855. DOI: 10.18632/oncotarget.5467.

- Ribatti, D., Ennas, M.G., Vacca A., Ferreli, F., Nico, B., Orru, S. & Sirigu, P. (2003). Tumor vascularity and tryptase positive mast cells correlate with a poor prognosis in melanoma. *Eur. J. Clin. Invest.*, **33**, 420-425. DOI: 10.1046/j.1365-2362.2003.01152.x.
- Ribatti, D., Finato, N., Crivellato, E., Guidolin, D., Longo, V., Mangieri, D., Nico, B., Vacca, A. & Beltrami, C.A. (2007). Angiogenesis and mast cells in human breast cancer sentinel lymph nodes with and without micrometastases. *Histopathology*. **51**, 837-842. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2007.02869.x.
- Riento, K. & Ridley, A.J. (2003). Rocks: multifunctional kinases in cell behaviour. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **4**(6), 446-456. DOI: 10.1038/nrm1128.
- Rosbottom, A., Scudamore, C.L., von der Mark, H., Thornton, E.M., Wright, S.H. & Miller, H.R. (2002). TGF- $\beta$  1 regulates adhesion of mucosal mast cell homologues to laminin-1 through expression of integrin  $\alpha$  7. *J. Immunol.*, **169**(10), 5689-5695. DOI: 10.4049/jimmunol.169.10.5689.
- Roskoski, R. Jr. (2007). Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **62**(3), 179-213. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.01.006.
- Sawatsubashi, M., Yamada, T., Fukushima, N., Mizokami, H., Tokunaga, O. & Shin, T. (2000). Association of vascular endothelial growth factor and mast cells with angiogenesis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Virchows Arch.*, **436**, 243-248. DOI: 10.1007/s004280050037.
- Schiller, M., Javelaud, D. & Mauviel, A. (2004). TGF- $\beta$ -induced SMAD signaling and gene regulation: consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing. *J. Dermatol. Sci.*, **35**, 83-92. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2003.12.006.
- Shull, M.M., Ormsby, I., Kier, A.B., Pawlowski, S., Diebold, R.J., Yin, M., Allen, R., Sidman, C., Proetzel, G., Calvin, D., Annunziata, N. & Doetschman T. (1992). Targeted disruption of the mouse transforming growth factor- $\beta$ 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature*, **359**(6397), 693-699. DOI: 10.1038/359693a0.
- Siraganian, R.P. (2003). Mast cell signal transduction from the high-affinity IgE receptor. *Curr. Opin Immunol.*, **15**(6), 639-646. DOI: 10.1016/j.coi.2003.09.010.
- Sporn, M.B., Roberts, A.B., Wakefield, L.M., & Assoian, R.K. (1986). Transforming growth factor- $\beta$ : biological function and chemical structure. *Science*, **1**; **233**(4763), 532-534.
- Tóth-Jakatics, R., Jimi, S., Takebayashi, S. & Kawamoto, N. (2000). Cutaneous malignant melanoma: correlation between neovascularization and peritumor accumulation of mast cells over expressing vascular endothelial growth factor. *Hum. Pathol.*, **31**(8), 955-960. DOI: 10.1053/hupa.2000.16658.
- Tozzi, C.A., Thakker-Varia, S., Yu, S.Y., Bannett, R.F., Peng, B.W., Poiani, G.J., Wilson, F.J. & Riley, D.J. (1998). Mast cell collagenase correlates with regression of pulmonary vascular remodeling in the rat. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **18**(4), 497-510. DOI: 10.1165/ajrcmb.18.4.2536.
- Travis, M.A. & Sheppard, D. (2014). TGF- $\beta$  activation and function in immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, **32**, 51-82. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120257.
- Tuna, B., Yorukoglu, K., Unlu, M., Mungan, M.U. & Kirkali, Z. (2006). Association of mast cells with microvessel density in renal cell carcinomas. *Eur. Urol.*, **50**, 530-534. DOI: 10.1016/j.eururo.2005.12.040.
- Varricchi, G., Galdiero, M.R., Loffredo, S., Marone, G., Iannone, R., Marone, G. & Granata, F. (2017). Are Mast Cells MASTers in Cancer?. *Front. Immunol.* **12**; **8**, 424. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00424.
- Vicente-Manzanares, M., Webb, D.J. & Horwitz, A.R. (2005). Cell migration at a glance. *J. Cell Sci.*, **118**(Pt 21), 4917-4919. DOI: 10.1242/jcs.02662.
- Visciano, C., Liotti, F., Prevete, N., Cali, G., Franco, R., Collina, F., de Paulis, A., Marone, G., Santoro, M. & Melillo, R.M. (2015). Mast Cells induce epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell features in human thyroid cancer cells through an IL-8-Akt-Slug pathway. *Oncogene*, **34**(40), 5175-5186. DOI: 10.1038/onc.2014.441.
- Whiteside, T.L. (2008). The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene*, **27**, 5904-5912. DOI: 10.1038/onc.2008.271.
- Wright, S.H., Brown, J., Knight, P.A., Thornton, E.M., Kilshaw, P.J. & Miller, H.R. (2002). Transforming growth factor- $\beta$ 1 mediates coexpression of the integrin subunit  $\alpha$ E and the chymase mouse mast cell protease-1 during the early differentiation of bone marrow-derived mucosal mast cell homologues. *Clin. Exp. Allergy.*, **32**(2), 315-324. DOI: 10.1046/j.1365-2222.2002.01233.x.
- Yang, N., Higuchi, O., Ohashi, K., Nagata, K., Wada, A., Kangawa, K., Nishida, E. & Mizuno, K. (1998). Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in Rac-mediated actin reorganization. *Nature*, **25**; **393**(6687), 809-812. DOI: 10.1038/31735.
- Yoshimura T. (2017). The production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCL2 in tumor microenvironments. *Cytokine*. **98**, 71-78. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.02.001.
- Zhang, Y. E. (2009). Non-Smad pathways in TGF- $\beta$  signaling. *Cell Res.*, **19**(1), 128-139. DOI: 10.1038/cr.2008.328.
- Zhao, W., Gomez, G., Yu, S.H., Ryan, J.J. & Schwartz, L.B. (2008). TGF- $\beta$ 1 attenuates mediator release and de novo Kit expression by human skin mast cells through a Smad-dependent pathway. *J. Immunol.*, **15**; **181**(10), 7263-7272. DOI: 10.4049/jimmunol.181.10.7263.