

TGF β , un peptide biologique sous contrôle : formes latentes et mécanismes d'activation

Jean-Jacques Feige
Nicolas Quirin
Sergiy Souchelnitskiy

Les TGF β (*transforming growth factors β*) appartiennent à une mégafamille de facteurs de croissance et de différenciation ubiquitaires. Ils sont stockés et transportés sous forme de complexes latents avec l' α_2 -macroglobuline (petit complexe latent) ; ces complexes peuvent être liés de façon covalente à la LTBP (*latent TGF β binding protein*) formant alors les « grands complexes latents ». La capacité de chaque type cellulaire d'activer ces différents complexes apparaît comme l'élément déterminant dans le contrôle des fonctions biologiques de TGF β . L'action de protéinases (plasmine, cathepsine D) représente à l'heure actuelle le mécanisme physiologique d'activation le mieux caractérisé : il a lieu à la surface cellulaire et les inhibiteurs de la plasmine ou de l'activateur du plasminogène empêchent l'activation du TGF β latent. Un second mécanisme physiologique d'activation récemment découvert implique la thrombospondine, une protéine trimérique sécrétée par les plaquettes sanguines activées par la thrombine. Compte tenu de l'implication de TGF β dans de nombreuses maladies, en tant que facteur thérapeutique possible ou que médiateur d'une fibrose pathologique, la maîtrise de son activation pourrait avoir un intérêt évident.

ADRESSES

J.J. Feige : directeur de recherche à l'Inserm.
N. Quirin : interne en néphrologie, étudiant en DEA.
S. Souchelnitskiy : chercheur post-doctorant. Inserm U. 244, CEA, biochimie des régulations cellulaires endocrines, département de biologie moléculaire et structurale, CEA/Grenoble, 17, rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9, France.

TIRÉS À PART

J.J. Feige.

Comme la plupart des facteurs de croissance, le TGF β (*transforming growth factor β*) est relativement mal nommé. Il doit son nom aux hypothèses qui ont conduit à sa purification, plus qu'à ses fonctions biologiques réelles. L'idée qu'une tumeur solide sécrète des facteurs peptidiques capables de transformer les cellules saines avoisinantes en cellules cancéreuses et entretienne

ainsi le développement tumoral, a conduit plusieurs groupes de recherche au début des années 1980 à purifier ces facteurs. Le test d'activité couramment utilisé reposait sur la capacité de tels facteurs de permettre à des fibroblastes de rat non transformés, incapables de pousser sans s'accrocher à un support solide, de proliférer et de former des clones cellulaires en culture en agar mou. Les groupes de Jo De Larco et Georges

RÉFÉRENCES

1. Roberts AB, Sporn MB. The transforming growth factor- β s. In : Sporn MB, Roberts AB, eds. *Peptide growth factors and their receptors I*. Berlin : Springer, 1990 : 419-72.
 2. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY, Easton DH, Bell JR, Assoian RK, Roberts AB, Sporn MB, Goeddel DV. Human transforming growth factor-beta complementary DNA sequence and expression in normal and transformed cells. *Nature* 1985 ; 316 : 701-5.
 3. Massagué J, Attisano L, Wrana JL. The TGF β family and its composite receptors. *Trends Cell Biol* 1994 ; 4 : 172-8.
 4. Kingsley DM. The TGF β superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* 1994 ; 8 : 133-46.
 5. Roberts AB, Flanders KC, Kondaiah P, Thompson NL, Van Obberghen-Schilling E, Wakefield L, Rossi P, de Crombrughe B, Heine U, Sporn MB. Transforming growth factor β : biochemistry and roles in embryogenesis, tissue repair and remodeling, and carcinogenesis. *Rec Prog Horm Res* 1988 ; 44 : 157-97.
 6. Akhurst RJ, FitzPatrick DR, Gatherer D, Lehnert SA, Millan FA. Transforming growth factor betas in mammalian embryogenesis. *Prog Growth Factor Res* 1990 ; 2 : 153-68.
 7. Kulkarni AB, Ward JM, Yaswen L, Mackall CL, Bauer SR, Huh CG, Gress RE, Karlsson S. Animal model. Transforming growth factor- β null mice. An animal model for inflammatory disorders. *Am J Pathol* 1995 ; 146 : 264-75.
 8. Ten Dijke P, Franzen P, Yamashita H, Ichijo H, Heldin CH, Miyazono K. Serine/threonine kinase receptors. *Prog Growth Factor Res* 1994 ; 5 : 55-72.
 9. Cheifetz S, Bellon T, Calés C, Vera S, Bernabeu C, Massagué J, Letarte M. Endoglin is a component of the transforming growth factor- β receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem* 1992 ; 190:27-30.
 10. Feige JJ, Baird A. La crinopexie : un modèle décrivant les mécanismes qui régissent la biodisponibilité des facteurs de croissance. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 805-10.
 11. Lawrence DA, Pircher R, Krycève-Martinerie C, Jullien P. Normal embryo fibroblasts release transforming growth factors in a latent form. *J Cell Physiol* 1984 ; 121 : 184-8.
- Todaro (Oncogen, Seattle, WA, USA), de Harold Moses (NCI, Bethesda, MD, USA), ainsi que d'Anita Roberts et Michael Sporn (NIH, Bethesda, MD, USA) ont alors isolé et identifié deux familles de peptides agissant de façon synergique qu'ils ont naturellement dénommées facteurs de croissance transformants de type α et β (TGF α et TGF β) [1]. Il est rapidement apparu cependant que ces facteurs n'étaient pas spécifiques des cellules tumorales et pouvaient être purifiés en quantité supérieure à partir de tissus sains tels que les plaquettes sanguines, le placenta ou l'os. L'analyse des séquences peptidiques de ces facteurs révéla que TGF α est une molécule apparentée au facteur de croissance épidermique EGF, dont il partage les récepteurs. En revanche, TGF β représentait un prototype d'une nouvelle classe de facteurs de croissance, sans homologie avec les facteurs déjà connus. En 1985, le clonage du gène de TGF β par le groupe de Rick Derynck à Genentech (San Francisco, CA, USA) [2] ouvrit la voie de l'identification de nombreux facteurs apparentés, aux activités biologiques diverses [3, 4]. Au sein de cette « mégafamille » représentée sur la *figure 1*, il convient désormais de distinguer des « frères » (cinq gènes de TGF β : TGF β 1 à TGF β 5), présentant une analogie de structure supérieure à 70 % et une similitude fonctionnelle, et des « cousins », représentés par des molécules de structure plus éloignée (analogie de structure inférieure à 40 %) et ayant des fonctions biologiques distinctes, tels que l'activine, l'inhibine, l'hormone anti-müllérienne (AMH ou MIS), plusieurs facteurs morphogénétiques (BMP, GDF, peptide décapentaplégique, Vg1, Nodal...) et certains facteurs neurotrophiques (GDNF, *glial cell line-derived neurotrophic factor*) (revues dans [3, 4]). Parmi les cinq gènes de TGF β connus à l'heure actuelle, trois seulement (TGF β 1 à TGF β 3) sont exprimés chez les mammifères. Bien que des différences fonctionnelles subtiles existent entre ces trois membres, ils partagent une grande diversité de fonctions et peuvent être considérés comme des produits de gènes redondants. Le plus étudié de ces facteurs, TGF β 1, a, parmi d'autres activités, la capacité d'induire la formation de mésoderme au cours de l'embryogenèse, de stimuler la prolifération des ostéoblastes et des chondrocytes, d'être chimioattractif pour les monocytes, d'inhiber les fonctions lymphocytaires (immunosuppression), d'inhiber la prolifération de divers types de cellules épithéliales et des cellules endothéliales, d'inhiber l'adipogenèse et de diminuer les fonctions stéroïdogènes de certaines cellules endocrines (revues dans [1, 4-7]). La plupart des cellules traitées par TGF β épaississent leur matrice extracellulaire par le biais d'un concert de régulations transcriptionnelles : augmentation de la synthèse de composants matriciels, diminution de la sécrétion de protéases de dégradation, augmentation de la synthèse d'inhibiteurs de ces protéases (inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type I, inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases, α 2-macroglobuline) [5]. Cet effet biologique puissant est très certainement l'explication de la capacité de TGF β de stimuler la croissance en agar mou de fibroblastes non transformés. La plupart de ces effets biologiques sont observés avec des concentrations extrêmement faibles de TGF β de l'ordre de 10 pM. Les fonctions essentielles de TGF β 1 *in vivo* ont pu être approchées par l'analyse de souris transgéniques dont le gène TGF β 1 a été invalidé par recombinaison homologue. Alors que 60 % des souris au gène TGF β 1 invalidé meurent *in utero*, 40 % se développent normalement jusqu'à terme et pendant les deux premières semaines suivant leur naissance [7]. Ce résultat inattendu, au su des effets multiples des TGF β sur la différenciation *in vitro* [6], peut être expliqué par la redondance de gènes de TGF β aux fonctions supplétives (TGF β 1, β 2, β 3) et par un sauvetage maternel des embryons TGF β 1-/- par le biais d'un transport transplacentaire de TGF β 1 (*m/s n° 11, vol. 10, p. 1161*). Cependant, les nouveau-nés TGF β 1-/- développent rapidement une inflammation massive de nombreux organes et meurent entre la troisième et la quatrième semaine d'un syndrome de perte de poids rapide [7]. Les gènes de plusieurs autres membres de la mégafamille TGF β ont été également invalidés par recombinaison homologue et le phénotype des souris corrépondantes est résumé dans le *Ta-*

RÉFÉRENCES

12. Brown PD, Wakefield LM, Levinson AD, Sporn MB. Physicochemical activation of recombinant latent transforming growth factor-beta 1, 2, and 3. *Growth Factors* 1990 ; 3 : 35-43.
13. Feige JJ, Negoescu A, Keramidas M, Souchelinskiy S, Chambaz EM. α_2 -macroglobulin: a binding protein for TGF β and various cytokines. *Horm Res* 1996 ; 45 : 227-32.
14. O'Connor-McCourt M, Wakefield LM. Latent transforming growth factor-beta in serum. A specific complex with alpha 2-macroglobulin. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 14090-9.
15. Crookston KP, Webb DJ, Wolf BB, Goniás SL. Classification of α_2 -macroglobulin-cytokine interactions based on affinity of noncovalent association in solution under apparent equilibrium conditions. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 1533-40.
16. Strickland DK, Kounnas MZ, Argraves WS. LDL receptor-related protein: a multi-ligand receptor for lipoprotein and proteinase catabolism. *FASEB J* 1995 ; 9 : 890-8.
17. McCaffrey TA, Falcone DJ, Brayton CF, Agarwal LA, Welt FG, Weksler BB. Transforming growth factor-beta activity is potentiated by heparin *via* dissociation of the transforming growth factor-beta alpha 2-macroglobulin inactive complex. *J Cell Biol* 1989 ; 109 : 441-8.
18. Keramidas M, Chambaz EM, Feige JJ. Inhibition of adrenocortical steroidogenesis by α_2 -macroglobulin is caused by associated transforming growth factor β . *Mol Cell Endocrinol* 1992 ; 84 : 243-51.
19. Gentry LE, Webb NR, Lim GJ, Brunner AM, Ranchalis JE, Twardzik DR, Lioubin MN, Marquardt H, Purchio AF. Type I transforming growth factor beta: amplified expression and secretion of mature and precursor polypeptides in Chinese hamster ovary cells. *Mol Cell Biol* 1987 ; 7 : 3418-27.
20. Dubois CM, Laprise MH, Blanchette F, Gentry LE, Leduc R. Processing of transforming growth factor β 1 precursor by human furin convertase. *J Biol Chem* 1995 ; 270 : 10618-24.
21. Archer SJ, Bax A, Roberts AB, Sporn MB, Ogawa Y, Piez KA, Weatherbee JA, Tsang MLS, Lucas R, Zheng BL, Wenker J, Torchia DA. Transforming growth factor β 1: secondary structure as determined by heteronuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochemistry* 1993 ; 32 : 1164-71.
22. Miyazono K, Ichijo H, Heldin CH. Transforming growth factor- β : latent forms, binding proteins and receptors. *Growth Factors* 1993 ; 8 : 11-22.

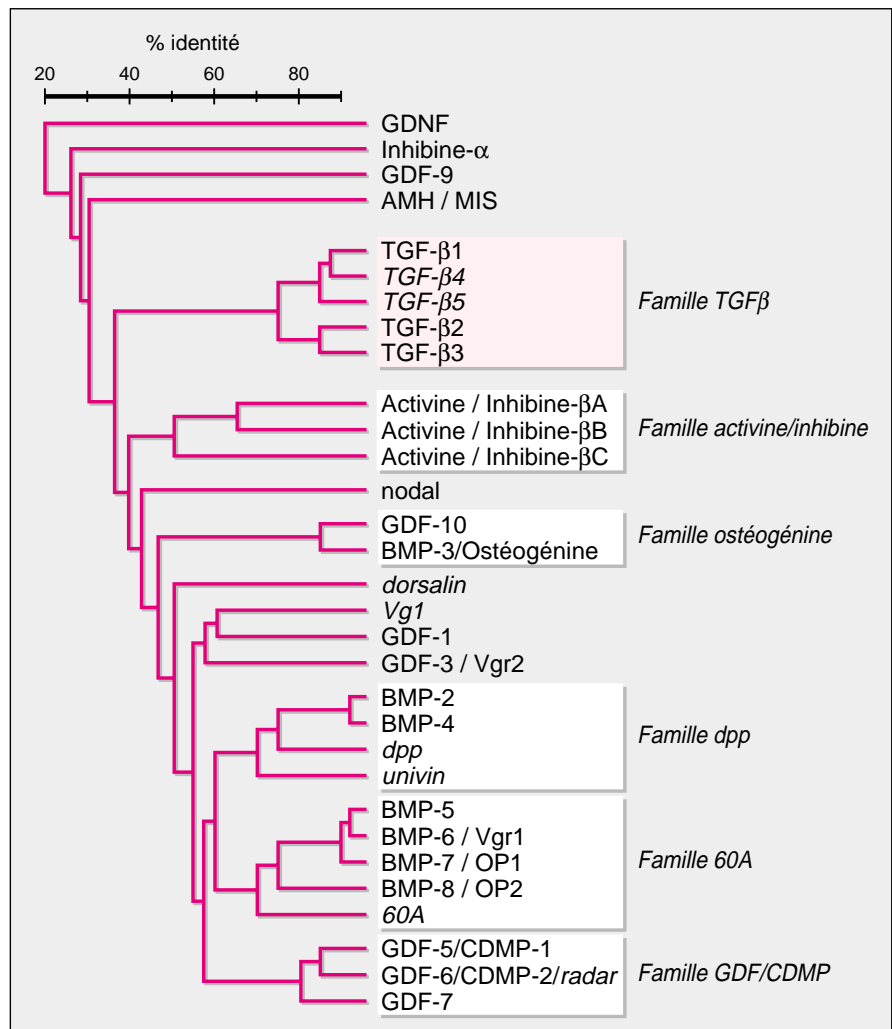


Figure 1. **La mégafamille de TGF β** . La famille de TGF β comprend une multitude de facteurs distincts qui peuvent être regroupés en sous-familles (encadrées) sur la base de leur identité de séquence. Tous ces facteurs ont été caractérisés chez les mammifères à l'exception de ceux écrits en italiques: TGF β 5 et Vg1 (*xénope*), TGF β 4 et *dorsalin* (*poulet*), *dpp* et 60A (*drosophile*) et *univin* (*oursin*). Les séquences protéiques des différents facteurs ont été alignées à partir du premier résidu cystéine invariable de la région mûre des molécules. La représentation en dendrogramme de l'analyse phylogénétique de la mégafamille est dérivée du travail de Massagué et al. [3]. GDNF: glial cell line-derived neurotrophic factor; BMP: bone morphogenetic protein; GDF: growth/differentiation factor; OP: osteogenic protein; *dpp*: decapentaplegic peptide; AMH: anti-mullerian hormone; MIS: mullerian inhibiting substance; CDMP: cartilage-derived morphogenetic protein.

bleau I. En outre, plusieurs lignées mutantes de souris présentant des défauts du développement (412.d, *brachypodism*, *short ear*) sont porteuses de mutations dans le gène d'un membre de la mégafamille TGF β (*nodal*, GDF-5, BMP-5) (voir *Tableau I*). Les TGF β exercent leurs nombreux effets biologiques par l'intermédiaire de récepteurs transmembranaires ubi-

quistes de forte affinité [3, 8]. Trois types de récepteurs sont présents sur pratiquement tous les types cellulaires: un protéoglycane transmembranaire de 200-400 kDa dénommé bêtaglycane (ou récepteur de type III, RIII) constituant un récepteur de stockage et présentant le TGF β avec une affinité accrue à ses deux récepteurs de signalisation (types I et II, RI

RÉFÉRENCES

23. Sha X, Yang L, Gentry LE. Identification and analysis of discrete functional domains in the pro region of pre-pro-transforming growth factor beta 1. *J Cell Biol* 1991 ; 114 : 827-39.

24. Miller DM, Ogawa Y, Iwata KK, ten Dijke P, Purchio AF, Soloff MS, Gentry LE. Characterization of the binding of transforming growth factor β -1, β 2, and β 3 to recombinant β 1-latency-associated peptide. *Mol Endocrinol* 1992 ; 6 : 694-702.

25. Miyazono K, Heldin CH. Role for carbohydrate structures in TGF-beta latency. *Nature* 1989 ; 338 : 158-60.

26. Miyazono K, Hellman U, Wernstedt C, Heldin CH. Latent high molecular weight complex of transforming growth factor beta1. Purification from human platelets and structural characterization. *J Biol Chem* 1988 ; 263 : 6407-15.

27. Kanzaki T, Olofsson A, Moren A, Wernstedt C, Hellman U, Miyazono K, Claesson-Welsh L, Heldin C-H. TGF- β 1 binding protein: a component of the large latent complex of TGF- β 1 with multiple repeat sequences. *Cell* 1990 ; 61 : 1051-61.

28. Saharinen J, Taipale J, Keski-Oja J. Association of the small latent transforming growth factor- β with an eight cysteine repeat of its binding protein, LTBP-1. *EMBO J* 1996 ; 15 : 245-53.

29. Dallas SL, Miyazono K, Skerry TM, Mundy GR, Bonewald LF. Dual role for the latent transforming growth factor- β binding protein in storage of latent TGF- β in the extracellular matrix and as a structural matrix protein. *J Cell Biol* 1995 ; 131 : 539-49.

30. Flaumenhaft R, Abe M, Sato Y, Miyazono K, Harpel JG, Heldin CH, Rifkin DB. Role of the latent TGF- β binding protein in the activation of latent TGF- β by co cultures of endothelial and smooth muscle cells. *J Cell Biol* 1993 ; 120 : 995-1002.

31. Olofsson A, Miyazono K, Kanzaki T, Colosetti P, Engstrom U, Heldin CH. Transforming growth factor-beta 1, -beta 2, and -beta 3 secreted by a human glioblastoma cell line. Identification of small and different forms of large latent complexes. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 19482-88.

32. Bonewald LF, Wakefield L, Oreffo RO, Escobedo A, Twardzik DR, Mundy GR. Latent forms of transforming growth factor-beta (TGF beta) derived from bone culture: identification of a naturally occurring 100 kDa complex with similarity to recombinant latent TGF beta. *Mol Endocrinol* 1991 ; 5 : 741-51.

et RII). Ces deux récepteurs transmembranaires sont doués d'une activité protéine sérine/thréonine kinase intrinsèque portée par leur domaine cytoplasmique. La liaison de TGF β sur le récepteur de type II induit une hétérodimérisation RI/RII, une transphosphorylation du domaine intracytoplasmique de RI par RII qui conduit à une stimulation de son activité sérine-thréonine kinase [3, 8]. Cela déclenche une cascade réactionnelle intracellulaire encore mal caractérisée conduisant à l'effet biologique. Il est à noter que divers autres membres de la « mégafamille » TGF β (activine, inhibine, hormone antimüllérienne, BMP) possèdent également des récepteurs de signalisation à activité sérine-thréonine kinase [3, 8]. Un récepteur glycoprotéique dénommé endogline est exprimé spécifiquement à la surface des cellules endothéliales [9]. Son homologie avec la partie protéique du β -glycane et la taille très courte de son domaine intracellulaire suggèrent qu'il s'agit également d'un récepteur de stockage/présentation.

Tout comme celle de ses récepteurs, la synthèse de TGF β est ubiquiste. La protéine TGF β est abondamment distribuée dans l'environnement péricellulaire de nombreux tissus, en particulier dans les membranes basales. De ce fait, l'activité de ce facteur très efficace se doit d'être réglée de façon stricte. Le TGF β est le prototype même d'une crinopectine de type I telle que l'ont définie J.J. Feige et A. Baird dans *médecine/sciences* [10] puisqu'il est sécrété, stocké à la surface et dans l'environnement cellulaire sous une forme latente et que son interaction avec ses récepteurs de surface est étroitement contrôlée par la cellule-cible. Les travaux pionniers de D. Lawrence et J. Jullien (Orsay, France) ont établi depuis plusieurs années que TGF β est présent dans divers tissus et dans le milieu conditionné de nombreux types cellulaires sous une forme latente incapable de se lier à ses récepteurs de forte affinité [11, 12]. Dans cet article, nous nous proposons de résumer les connaissances actuelles sur la nature moléculaire des complexes latents de TGF β isolés de divers compartiments biologiques et de faire le point sur les mécanismes physiologiques de son activation. Il ne fait aucun doute que, sans écarter le rôle

des régulations transcriptionnelles quant à l'expression du facteur et de ses récepteurs, l'étape critique qui contrôle les effets biologiques de TGF β est l'activation de la molécule latente.

Composition biochimique des formes latentes de TGF β

Plusieurs configurations de formes latentes ont été identifiées à partir de différents tissus. Les « petites » et « grandes » formes latentes sont sécrétées par une grande diversité de types cellulaires alors que le complexe α_2 -macroglobuline-TGF β est présent dans le plasma et sécrété par un nombre limité de types cellulaires. Toutes ces formes sont biologiquement inactives.

• Complexe α_2 -macroglobuline-TGF β

L' α_2 -macroglobuline (α_2 M) est un inhibiteur de protéases à large spectre présent en quantité abondante (2-4 mg/ml) dans le plasma. L'inhibition des protéases se fait par un mécanisme suicide où l'attaque protéolytique de l' α_2 M induit l'activation d'un groupement réactif thioester qui forme alors une liaison covalente avec la protéase et l'emprisonne dans la molécule d' α_2 M. L' α_2 M est synthétisée et sécrétée par divers types cellulaires et, en particulier, par les hépatocytes, les macrophages et les cellules corticosurrénales. L' α_2 M est également une protéine de liaison de diverses cytokines (bFGF, *basic fibroblast growth factor* ; PDGF, *platelet-derived growth factor*, interleukines IL1 β , IL2, IL6...) dont TGF β 1 et TGF β 2 [13]. Dans le plasma humain, la forme latente de TGF β a été identifiée comme étant un complexe α_2 M-TGF β [14]. Bien que longtemps controversée, la question de savoir si les TGF β présentent une meilleure affinité pour l' α_2 M native ou pour l' α_2 M transconformée par liaison covalente d'une protéase a trouvé une réponse définitive grâce aux élégants travaux du groupe de Steve Gonias (Charlottesville, VI, USA). TGF β 1 et TGF β 2 présentent une affinité de l'ordre de 10-80 nM pour l' α_2 M transconformée alors que l'affinité pour l' α_2 M native est de l'ordre de 300 nM pour TGF β 1 et 10 nM pour TGF β 2 [15]. TGF β for-

Tableau I		
PHÉNOTYPE DES SOURIS HOMOZYGOTES-/- POUR UN GÈNE DE LA MÉGAFAMILLE TGF β		
Gène	Mode d'inactivation	Phénotype
Simples mutants		
<i>TGFβ 1</i>	Recombinaison homologue	60% létalité embryonnaire 40% nouveau-nés apparemment normaux pendant les 2 premières semaines, puis développant une inflammation multifocale mixte, un syndrome de perte de poids rapide et décédant entre 3 et 4 semaines de complications cardiopulmonaires
<i>Activine/Inhibine βA</i>	Recombinaison homologue	Létalité périnatale; absence de moustaches et d'incisives; fente palatine
<i>Activine/Inhibine βB</i>	Recombinaison homologue	Défauts des paupières, défauts de la reproduction chez les femelles
<i>AMH/MIS</i>	Recombinaison homologue	Testicules et sperme normaux chez les mâles-/- mais persistance des canaux de Müller, présence d'utérus et stérilité; hyperplasie des cellules de Leydig
<i>BMP-4</i>	Recombinaison homologue	Létalité embryonnaire (entre J6,5 et J9,5). Défaut de gastrulation et de formation du mésoderme
<i>Nodal</i>	Mutation <i>413.d</i>	Défaut de formation de l'ectoderme primitif
<i>GDF-5</i>	Mutation <i>brachypodism</i>	Réduction du nombre et de la longueur des os des membres
<i>BMP-5</i>	Mutation <i>short ear</i>	Anomalies de la formation du squelette
<i>Inhibine-α</i>	Recombinaison homologue	Tumeurs des gonades; mâles et femelles stériles
Doublets mutants		
<i>Activine βA et Activine βB</i>	Recombinaison homologue et croisement génétique	Létalité périnatale; absence de moustaches et d'incisives; fente palatine; défauts des paupières

me rapidement un complexe réversible avec l' α_2 M, qui se transforme lentement en un complexe covalent irréversible (*figure 2*). Présent dans la plupart des types cellulaires, le récepteur de l' α_2 M (α_2 M/LRP) est un homologue du récepteur des LDL (*low density lipoproteins*) qui possède la capacité de lier une diversité de ligands (lipoprotéine lipase, activateur du plasminogène (PA), complexes PA-PAI [inhibiteur de l'activateur du plasminogène], apolipoprotéine E, VLDL (*very low density lipoproteins*), lactoferrine...) [16]. Comme illustré sur la *figure 2*, seule l' α_2 M transconformée par les protéases est capable de se lier au récepteur de l' α_2 M. La liaison est suivie d'une internalisation et d'une entrée dans la voie de dégradation lysosomiale. En aucun cas, TGF β n'est capable de transconformer l' α_2 M à la façon des protéases. Cette observation est d'importance pour

comprendre le rôle biologique du complexe α_2 M-TGF β . Il a été proposé initialement que ce complexe représentait une forme de clairance du TGF β [12]. Cela est peu probable dans la mesure où il ne peut pas se lier au récepteur de l' α_2 M. De ce fait, les complexes α_2 M native-TGF β représentent beaucoup plus probablement une forme de transport du TGF β ou une forme de neutralisation réversible de son activité. Il a été montré que les complexes non covalents α_2 M-TGF β peuvent être dissociés par l'héparine (1-100 μ g/ml) [17]. Plusieurs types cellulaires, tels que les cellules endothéliales ou les cellules de muscle lisse sécrètent des quantités importantes de glycosaminoglycanes apparentés à l'héparine et pourraient de ce fait libérer du TGF β actif à partir de complexes α_2 M-TGF β . Pour notre part, nous avons montré que l' α_2 M plasmatique

contient 1 molécule de TGF β pour 200 000 molécules. Mise au contact des cellules corticosurréaliennes, elle reproduit les effets inhibiteurs de TGF β sur la synthèse de corticostéroïdes [18]. Cette observation suggère que ces cellules sont capables de libérer du TGF β actif à partir de complexes α_2 M-TGF β .

• Petit complexe latent

L'expression du gène de TGF β 1 par recombinaison génétique dans des cellules de mammifères conduit à la sécrétion d'un précurseur dénommé pro-TGF β 1 ou « petit complexe latent » [12, 19]. Les étapes de sa synthèse sont résumées sur la *figure 3*. Après clivage du peptide signal de 29 acides aminés, le pro-TGF β 1 est coupé entre les deux résidus arginine 278 et 279 par une protéase intracellulaire récemment identifiée à la furi-

RÉFÉRENCES

33. Souchelnitskiy S, Chambaz EM, Feige JJ. Thrombospondins selectively activate one of two latent forms of transforming growth factor- β present in adrenocortical cell-conditioned medium. *Endocrinology* 1995; 136: 5118-26.
34. Oreffo ROC, Mundy GR, Seyedin SM, Bonewald LF. Activation of the bone-derived latent TGF beta complex by isolated osteoclasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 158: 817-23.
35. Harpel JG, Metz CN, Kojima S, Rifkin DB. Control of transforming growth factor- β activity: latency vs. activation. *Prog Growth Factor Res* 1992; 4: 321-35.
36. Lyons RM, Gentry LE, Purchio AF, Moses HL. Mechanism of activation of latent recombinant transforming growth factor beta 1 by plasmin. *J Cell Biol* 1990; 110: 1361-7.
37. Antonelli-Orlidge A, Saunders KB, Smith SR, D'Amore PA. An activated form of transforming growth factor beta is produced by cocultures of endothelial cells and pericytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 4544-8.
38. Sato Y, Rifkin DB. Inhibition of endothelial cell movement by pericytes and smooth muscle cells: activation of a latent transforming growth factor-beta 1-like molecule by plasmin during coculture. *J Cell Biol* 1989; 109: 309-15.
39. Kojima S, Harpel PC, Rifkin DB. Lipoprotein (a) inhibits the generation of transforming growth factor beta: an endogenous inhibitor of smooth muscle cell migration. *J Cell Biol* 1991; 113: 1439-45.
40. Grainger DJ, Kemp PR, Liu AC, Lawn RM, Metcalfe JC. Activation of transforming growth factor- β is inhibited in transgenic apolipoprotein (a) mice. *Nature* 1994; 370: 460-2.
41. Schultz-Cherry S, Murphy-Ullrich JE. Thrombospondin causes activation of latent transforming growth factor- β secreted by endothelial cells by a novel mechanism. *J Cell Biol* 1993; 122: 923-32.
42. Bornstein P, Sage EH. Thrombospondins. *Meth Enzymol* 1994; 245: 62-85.
43. Schultz-Cherry S, Ribeiro S, Gentry L, Murphy-Ullrich JE. Thrombospondin binds and activates the small and large forms of latent transforming growth factor- β in a chemically defined system. *J Biol Chem* 1994; 269: 26775-82.

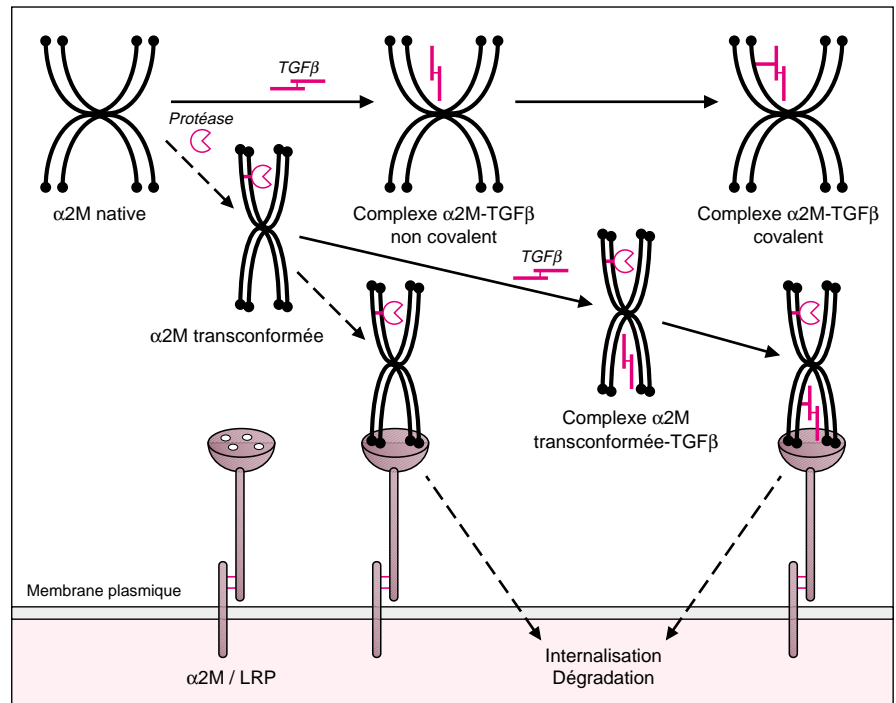


Figure 2. **Les complexes α_2M -TGF β .** L' α_2M native lie les protéases par un mécanisme suicide qui conduit à leur séquestration par formation d'une liaison covalente. Simultanément, la conformation de l' α_2M est modifiée et la forme transformée est alors capable de se lier au récepteur membranaire α_2M -R/LRP. Le TGF β se lie avec une affinité similaire à l' α_2M native et à l' α_2M transformée mais n'est pas capable de modifier à lui seul la conformation de l' α_2M . Les complexes α_2M -LRP étant rapidement internalisés et dégradés, la majeure partie des complexes α_2M -TGF β dans la circulation sanguine mettent en jeu l' α_2M native.

ne convertase [20]. La partie précurseur (résidus 30-278) dénommée LAP (*latency-associated peptide*) reste associée au peptide carboxyterminal (résidus 279-390) par des liaisons non covalentes et forme un complexe latent biologiquement inactif. L'analyse structurale du peptide actif carboxyterminal indique qu'il s'agit d'un homodimère dont les deux chaînes, reliées par un pont disulfure unique en position 355, sont orientées de façon antiparallèle [21]. La protéine LAP est également un homodimère relié par deux ponts disulfure impliquant les résidus 223 et 225 [22]. La région 50-85 de LAP est impliquée dans l'interaction avec le peptide actif carboxyterminal [23]. La protéine LAP de TGF β 1 peut s'associer de façon non covalente avec les peptides actifs TGF β 1, TGF β 2 et TGF β 3 avec des affinités voisines de l'ordre du nM [24]. Les résidus asparagine 82, 136 et 176 de LAP sont N-glycosylés et les deux premiers sont également porteurs de groupements mannose-6-

phosphate. Ces groupements glucidiques sont nécessaires à la sécrétion du petit complexe latent de TGF β . Il est à noter qu'en absence de LAP, le TGF β mûr n'est pas sécrété. Il a été proposé par ailleurs que les groupements mannose-6-phosphate de LAP interviennent dans l'association LAP-TGF β [25]. Ce petit complexe latent de TGF β d'une masse moléculaire de 105 kDa est donc le produit d'un seul gène. Il est sécrété par de nombreux types cellulaires en culture: cellules osseuses normales et tumorales, lignées de glioblastome, etc.

• Grand complexe latent

Dans le milieu de culture de diverses cellules, ainsi que dans les plaquettes sanguines, une forme latente de TGF β de plus haut poids moléculaire que la précédente a été caractérisée et purifiée [22, 26]. Ce complexe de 235-265 kDa est composé des produits de deux gènes distincts: le petit complexe latent issu du gène de

TGFβ1 (décrit dans le paragraphe précédent) et une protéine de masse moléculaire 125-160 kDa dénommée LTBP (*latent TGFβ binding protein*) [27]. LTBP est liée de façon covalente à LAP par l'intermédiaire d'un pont disulfure impliquant la cystéine 33 de pro-TGFβ1 (figure 3). Des complexes similaires ont été identifiés pour TGFβ2 et TGFβ3. Le clonage de l'ADNc de LTBP a établi qu'il s'agissait d'une protéine de liaison du calcium composée de deux types distincts de modules répétitifs riches en cystéine: des motifs de type EGF et des motifs à huit résidus cystéine [27]. Ces deux types de motifs sont observés également dans la fibrilline, une protéine de la matrice extracellulaire responsable de la pathogénie du syndrome de Marfan. Deux gènes de fibrilline et trois gènes de LTBP sont désormais connus qui diffèrent entre eux par le nombre et l'arrangement de leurs motifs répétitifs (figure 4). Un travail récent indique que le troisième motif à huit résidus cystéines est impliqué dans la liaison de LTBP1 à LAP et que les deux premiers motifs à huit résidus cystéines proches de l'extrémité aminotermine sont responsables de la liaison à la matrice extracellulaire [28]. Tout comme la fibrilline, LTBP est observée sous forme de dépôts extracellulaires fibrillaires dans de nombreux tissus et pourrait servir de ce fait à cibler le TGFβ latent à la surface cellulaire et dans les matrices péricellulaires [29]. La neutralisation de l'activité ou de l'expression de LTBP à l'aide d'anticorps ou d'oligonucléotides antisens a permis d'établir l'implication de LTBP dans l'activation du TGFβ latent par les cocultures de cellules endothéliales et de cellules de muscle lisse [30] ainsi que dans la minéralisation osseuse des cultures d'os du plafond de la boîte crânienne de fœtus de rat [29].

Mécanismes d'activation des formes latentes de TGFβ

Avant d'aborder la question de l'activation du TGFβ latent, il faut noter qu'un type cellulaire donné synthétise et sécrète souvent plusieurs types de formes latentes simultanément. A titre

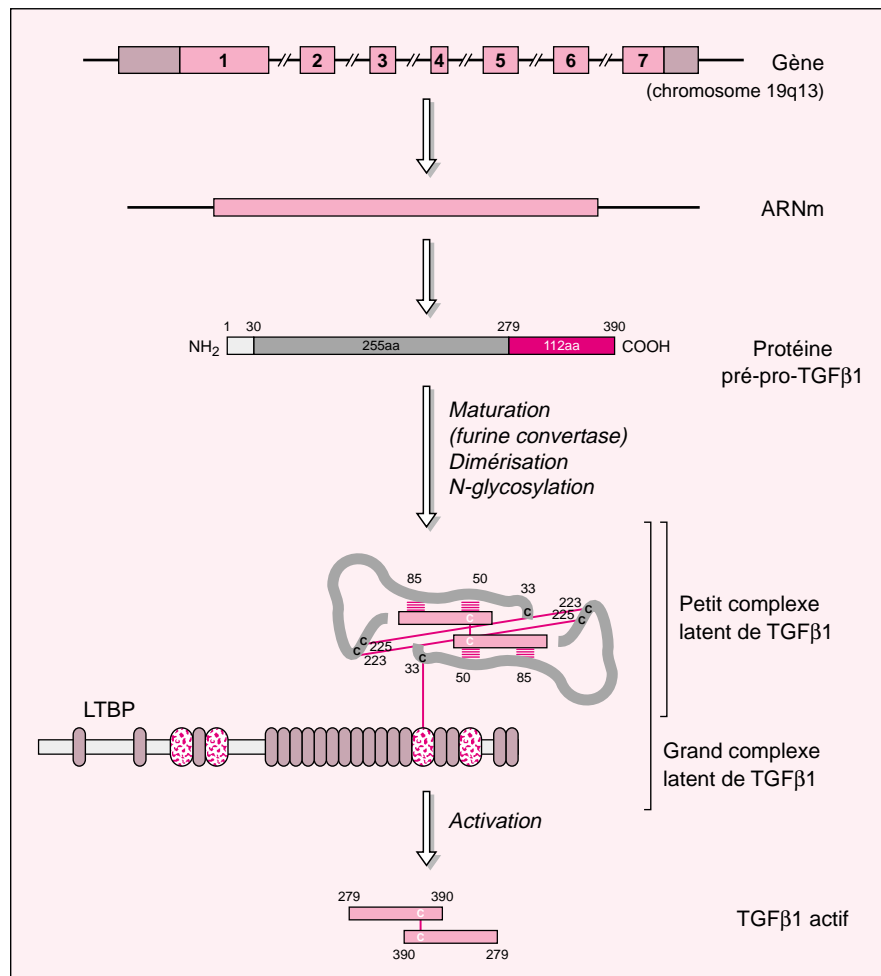


Figure 3. **La biosynthèse de TGFβ1.** Le gène de TGFβ1 est localisé sur le chromosome 19q13 et comprend 7 exons. L'ARNm est traduit en une pré-protéine de 390 acides aminés. Dans le compartiment intracellulaire, le peptide signal de 29 acides aminés est clivé, le propeptide est coupé entre les résidus 278 et 279 par la furine convertase et les chaînes peptidiques de LAP (latency associated peptide) sont N-glycosylées. L'extrémité carboxyterminale (TGFβ mûr en rouge) et le domaine aminoterminal (LAP en gris) de TGFβ1 sont dimérisés par formation de ponts disulfure (représentés par C — C). Les deux chaînes de TGFβ mûr sont orientées de façon antiparallèle et restent associées aux deux chaînes de LAP par des liaisons hydrogène (lignes parallèles) pour former le petit complexe latent. Dans de nombreux types cellulaires, une molécule de LTBP (latent TGFβ binding protein) est liée de façon covalente à LAP par un pont disulfure impliquant la cystéine 33 de LAP, pour former le grand complexe latent de TGFβ. Les différents modules constituant la protéine LTBP sont explicités sur la figure 4. L'activation des formes latentes conduit à la libération du dimère de TGFβ mûr qui est biologiquement actif.

d'exemple, une lignée de glioblastome sécrète des petits et des grands complexes latents de TGFβ1, β2 et β3 [31], des cultures de tissu osseux sécrètent le petit complexe latent de TGFβ1 ainsi que du pro-TGFβ1 non mûri [32], tandis que le milieu conditionné de cellules stéroïdo-

gènes de cortex surrénal contient un mélange de grands complexes latents de TGFβ1 et de complexes α₂-macroglobuline-TGFβ1 [33]. La capacité de chaque type cellulaire d'activer ces différents complexes apparaît comme l'élément déterminant dans le contrôle des fonctions biologiques de TGFβ.

RÉFÉRENCES

44. Schultz-Cherry S, Chen H, Mosher DF, Misenheimer TM, Krutzsch HC, Roberts DD, Murphy-Ullrich JE. Regulation of transforming growth factor- β activation by discrete sequences of thrombospondin 1. *J Biol Chem* 1995 ; 270 : 7304-10.
45. Pellerin S, Lafeuillade B, Scherrer N, Gagnon J, Shi DL, Chambaz EM, Feige JJ. Corticotropin-induced secreted protein, an ACTH-induced protein secreted by adrenocortical cells, is structurally related to thrombospondins. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 4304-10.
46. Feige JJ, Cochet C, Savona C, Shi DL, Keramidas M, Defaye G, Chambaz EM. Transforming growth factor β 1: an autocrine regulator of adrenocortical steroidogenesis. *Endocrine Res* 1991 ; 17 : 267-79.
47. Wahl SM. Transforming growth factor β : The good, the bad, and the ugly. *J Exp Med* 1994 ; 180 : 1587-90.
48. Grainger DJ, Witchell CM, Metcalfe JC. Tamoxifen elevates transforming growth factor- β and suppresses diet-induced formation of lipid lesions in mouse aorta. *Nature Med* 1995 ; 1 : 1067-73.
49. Beck LS, De Guzman L, Lee WP, Xu Y, Siegel MW, Amento EP. One systemic administration of transforming growth factor-beta 1 reverses age- and glucocorticoid-impaired wound healing. *J Clin Invest* 1993 ; 92 : 2841-9.
50. Sporn MB, Roberts AB. A major advance in the use of growth factors to enhance wound healing. *J Clin Invest* 1993 ; 92 : 2565-6.
51. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994 ; 331 : 1286-92.
52. Noble NA, Harper JR, Border WA. *In vivo* interactions of TGF- β and extracellular matrix. *Prog Growth Factor Res* 1992 ; 4 : 369-82.
53. Shah M, Foreman DM, Ferguson MWJ. Neutralisation of TGF- β 1 and TGF- β 2 or exogenous addition of TGF- β 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *J Cell Sci* 1995 ; 108 : 985-1002.
54. Border WA, Noble NA. Targeting TGF- β for treatment of disease. *Nature Med* 1995 ; 1 : 1000-1.

• Activation physico-chimique

Exceptés les complexes covalents α_2 -macroglobuline-TGF β , les diverses formes latentes décrites précédemment peuvent être activées par des traitements physico-chimiques divers tels que l'acidification, l'alcalinisation, le chauffage à 80°C, l'addition de détergents et résistent à 0,5M NaCl [11, 12]. Cela suggère fortement que les interactions entre LAP et TGF β ou entre α_2 -macroglobuline et TGF β sont réalisées par des liaisons hydrogènes. Il n'y a aucune raison de penser que ces modes d'activation physico-chimiques soient utilisés *in vivo* à l'exception toutefois du pH acide. Dans le processus de résorption osseuse, les ostéoclastes recouvrent une poche de résorption dans laquelle le pH est extrêmement acide (pH < 3). Il en résulte une déminéralisation de la matrice osseuse et une activation du TGF β latent [34]. Ce processus pourrait être mis en jeu également dans les foyers inflammatoires et au cœur de certaines tumeurs solides.

• Activation protéolytique

L'activation du TGF β latent par l'action de protéinases (plasmine, cathepsine D) représente à l'heure actuelle, grâce en particulier aux tra-

voux du groupe de Dan Rifkin, le mécanisme physiologique d'activation le mieux caractérisé [35]. Par ailleurs, le traitement de TGF β latent par de fortes doses de glycosidases (neuraminidase, N-glycosidase-F) ou de groupements glucidiques (acide sialique, mannose-6-phosphate) peut également activer le TGF β latent *in vitro* [12, 25]. Toutefois, les doses importantes requises pour cette activation suggèrent que ce processus n'a probablement pas lieu physiologiquement.

L'incubation de TGF β recombinant latent en présence de plasmine conduit à une coupure de la protéine LAP à proximité de son extrémité aminoterminal et au relargage de TGF β actif faisant suite probablement à un changement conformationnel de la molécule LAP [36] (figure 5). L'activation est plus efficace sur la petite forme latente et ne touche au maximum que 20% à 30% de la fraction activable par un traitement acide. *In vivo*, un faisceau d'arguments conduit à penser que le processus d'activation a lieu dans un compartiment bien défini : la surface cellulaire. En effet, alors qu'en cultures indépendantes, cellules endothéliales et cellules de muscle lisse (ou péricytes) sécrètent du TGF β latent, l'établissement de

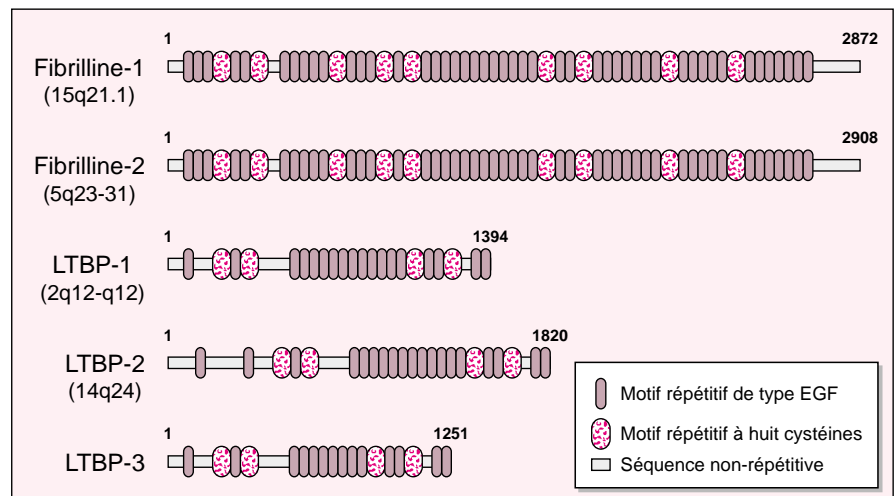


Figure 4. **La famille des fibrillines/ LTBP.** Les fibrillines 1 et 2 sont deux molécules apparentées constitutives de la matrice extracellulaire. Elles contiennent de nombreux motifs répétitifs de type EGF ainsi que des motifs répétitifs à huit résidus cystéine. Les trois molécules de LTBP sont plus courtes que les fibrillines mais contiennent les mêmes motifs en nombre plus restreint. Lorsqu'elle est connue, la localisation chromosomique des gènes humains est indiquée entre parenthèses et le nombre d'acides aminés est indiqué au-dessus de leur représentation.

contacts cellulaires hétérotypiques au cours de coculture de ces deux types cellulaires conduit à la production de TGF β actif [37, 38]. Cette activation n'a pas lieu dans le milieu de culture mais à la surface cellulaire elle-même puisqu'elle n'est pas observée quand les cellules endothéliales sont cultivées dans une nacelle disposée à 1-2 mm d'une couche de cellules de muscle lisse. Ce modèle de cocultures de cellules endothéliales et de cellules de muscle lisse a permis de définir plusieurs pré-requis à cette réaction d'activation physiologique. L'implication d'activités protéolytiques est établie par le fait que des inhibiteurs de la plasmine ou de l'activateur du plasminogène uPA empêchent l'activation du TGF β latent. De plus, l'uPA doit être lié à son récepteur membranaire (uPA-R) pour agir puisque des cellules déficientes en récepteurs de l'uPA n'activent pratiquement pas le TGF β latent. Le second pré-requis à cette activation est que, non seulement le système protéolytique, mais également le TGF β , soient localisés à la surface cellulaire. Le petit complexe latent peut satisfaire cette contrainte par le biais d'une interaction des groupements mannose-6-phosphate de LAP avec les récepteurs de l'IGF II indépendants des cations (récepteurs du mannose-6-phosphate). L'ajout d'anticorps anti-récepteurs mannose-6-phosphate ou de mannose-6-phosphate aux cocultures de cellules endothéliales et de cellules de muscle lisse bloque la production de TGF β actif. De même, l'ajout de LTBP ou d'anticorps anti-LTBP aux cocultures bloque l'activation du TGF β latent [30], suggérant que le grand complexe latent doit se lier à la surface cellulaire par la protéine LTBP pour pouvoir être activé. Il semblerait, en outre, que la localisation à la surface cellulaire du complexe réactionnel d'activation de TGF β latent puisse être stabilisé par des réactions de transglutamination. Toutefois, les substrats de la transglutaminase n'ont pas encore été clairement identifiés.

Indépendamment des cocultures hétérotypiques, plusieurs types cellulaires en culture homotypique sont capables d'activer leur TGF β latent en réponse à des stimulus biologiques. C'est le cas des kératinocytes et des cellules endothéliales en réponse aux

réti-noïdes, des ostéoblastes en réponse à la parathormone ou des cellules endothéliales en réponse au bFGF. Dans ces situations, l'implication démontrée de la cascade activateur du plasminogène/plasmine dans le processus d'activation du TGF β latent a conduit certains auteurs à examiner l'effet de la lipoprotéine (a) sur cette réaction. La lipoprotéine (a), dont la concentration plasmatique élevée représente un facteur de risque d'athérosclérose, se compose d'une lipoprotéine de faible densité complexée à l'apolipoprotéine (a). Cette dernière possède une structure en épingle homologue de celle du plasminogène. Il apparaît que la lipoprotéine (a) inhibe l'activation du TGF β par les cellules musculaires lisses en empêchant la liaison du plasminogène à la surface cellulaire [39]. Ce phénomène a également été observé dans la paroi aortique de souris transgéniques surproductrices d'apolipoprotéine (a) [40].

Activation par les thrombospondines

Un second mécanisme physiologique d'activation du TGF β a été caractérisé très récemment. Le groupe de Joanne Murphy-Ullrich a mis en évidence que l'incubation de milieu conditionné de cellules endothéliales avec de la thrombospondine induit la libération de TGF β actif [41]. La thrombospondine est une protéine trimérique sécrétée par les plaquettes sanguines activées par la thrombine. Elle est désormais dénommée thrombospondine-1 (TSP1) dans la mesure où quatre gènes homologues du gène codant pour la thrombospondine ont été identifiés [42]. Au sein de cette famille, TSP1 et TSP2 constituent une sous-famille de protéines trimériques présentant une organisation tout à fait similaire en modules répétitifs de trois types distincts tandis que les autres membres sont pentamériques. En l'absence de tout contact cellulaire, TSP1 apparaît capable d'activer aussi bien la grande que la petite forme latente de TGF β [43] mais est sans effet sur les complexes α 2-macroglobuline-TGF β [33]. L'activation dépend du temps d'interaction et de la concentration de thrombospondine mais est indépendante de la température. Elle peut être inhibée par des anticorps dirigés

contre l'extrémité aminotermine du peptide LAP (acides aminés 81-94) ou contre les unités répétitives de type I de la thrombospondine-1. Cela suggère fortement que l'activation du TGF β latent résulte d'un changement conformationnel du complexe LAP-TGF β induit par l'association moléculaire de TSP1 et de la protéine LAP (figure 5). L'association covalente de LTBP à ce complexe ne semble pas gêner cette interaction. Schultz-Cherry *et al.* ont identifié le tripeptide RFK correspondant aux acides aminés 413-415 des motifs répétitifs de type I de TSP1 comme étant suffisant pour activer TGF β latent [44]. Le peptide correspondant de TSP2 (RIR) est inactif. Notre groupe a cependant montré récemment que TSP1 et TSP2 purifiées sont équipotentes pour l'activation de la grande forme de TGF β latent, ce qui suggère l'existence d'autres séquences activatrices [33]. Dans les cellules stéroïdogènes de cortex surrénal, TSP2 dont la synthèse est très fortement induite par l'ACTH, pourrait, par le biais de l'activation de TGF β latent, rétrocontrôler négativement la production de stéroïdes induite par l'ACTH dans la mesure où le TGF β mûr est un inhibiteur très efficace de la corticostéroïdogénèse [45, 46].

Conclusions et perspectives

Le TGF β est un exemple très illustratif de la notion de crinopexie décrite précédemment dans *médecine/sciences* [10]. Ce facteur est sécrété sous forme d'un complexe inactif non covalent entre le domaine aminoterminal de son précurseur (LAP) et le peptide mûr. L'activité du facteur apparaît contrôlée au niveau de son activation plutôt qu'à celui de sa synthèse. Le complexe latent de TGF β est séquestré à la surface cellulaire par le biais de son interaction avec le récepteur du mannose-6-phosphate ou de son association covalente avec la protéine LTBP constitutive de la matrice extracellulaire (homologue de la fibrilline). C'est de ce fait au niveau de la membrane plasmique que se passe le processus d'activation. Plusieurs mécanismes physiologiques permettent cette activation: d'une part l'attaque protéolytique de LAP à la surface cellulaire par le système de protéases ac-

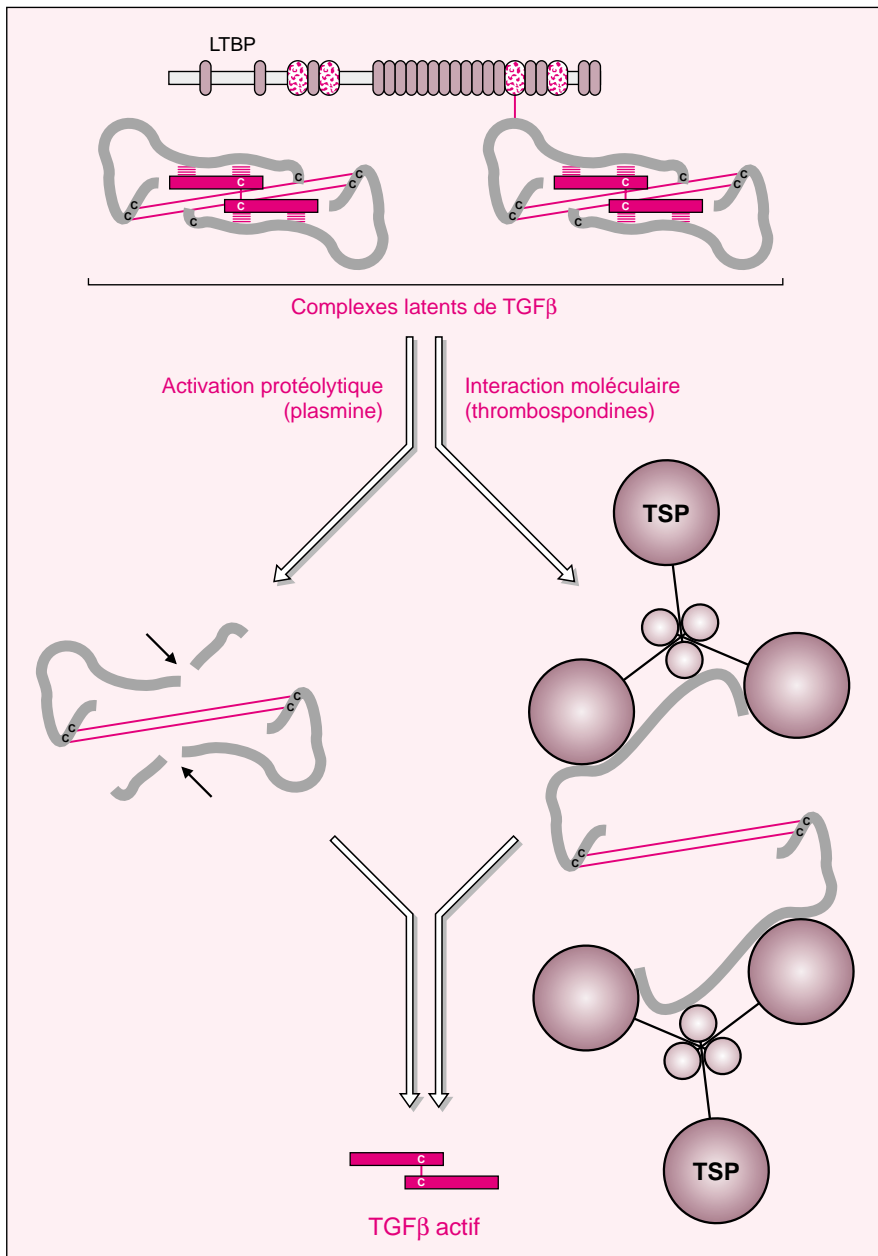


Figure 5. **Les mécanismes d'activation de TGFβ latent.** La forme mûre dimérique de TGFβ peut être libérée de son complexe latent avec la protéine LAP par deux mécanismes distincts : la coupure protéolytique par la plasmine de l'extrémité aminotermine de LAP (voie de gauche) et l'interaction moléculaire de LAP avec les thrombospondines (voie de droite). La présence de LTBP dans le complexe latent n'interfère pas avec ces réactions d'activation.

tivateur du plasminogène/plasmine, et d'autre part l'interaction moléculaire avec les thrombospondines. Les données expérimentales à notre disposition sont encore trop parcellaires pour pouvoir évaluer précisément les rôles respectifs que peuvent jouer *in vivo* chacun de ces deux mécanismes d'activation, tant du point de vue qualitatif que quantitatif.

L'élucidation de ces mécanismes d'activation ouvre un champ d'investigation nouveau en thérapeutique. Divers travaux ont montré que TGFβ apparaît comme un agent thérapeutique d'intérêt dans le traitement de maladies auto-immunes (arthrite, sclérodémie...) [47] et de l'artériosclérose [48]. De plus, des observations récentes ont établi qu'une injection

intraveineuse unique de TGFβ suffit pour améliorer significativement la cicatrisation déficiente de rats âgés ou traités aux glucocorticoïdes [49]. L'espoir de pouvoir utiliser TGFβ dans le traitement d'escarres et de plaies chroniques observées en gériatrie et en diabétologie humaine [50] doit cependant être tempéré par la crainte des effets nocifs causés par la surabondance de TGFβ. En effet, il est clairement établi que la surproduction soutenue de TGFβ actif conduit à l'accumulation de matrice extracellulaire et à la fibrose tissulaire. L'implication de TGFβ a été démontrée dans les maladies fibrotiques rénales mais également dans les fibroses cutanées, hépatiques, pulmonaires ou cardiaques [51]. L'utilisation d'agents neutralisant l'activité de TGFβ (anticorps anti-TGFβ, décorine...) s'est révélée prometteuse pour le traitement des fibroses expérimentales [51, 54]. L'approche thérapeutique consistant à moduler le niveau d'activation du TGFβ latent par l'utilisation d'agonistes ou d'antagonistes des molécules de latence (LAP, LTBP) ou des agents activateurs des formes latentes de TGFβ (plasmine, thrombospondines...) a été relativement peu explorée jusqu'à présent. Les résultats prometteurs obtenus chez les souris transgéniques surexprimant la lipoprotéine (a), chez lesquelles a été observée une diminution des concentrations de TGFβ actif dans le sérum et dans la paroi aortique [40], sont un encouragement à poursuivre et diversifier cette approche. Du fait des effets pleiotypiques de cette molécule et de la distribution ubiquiste de ses récepteurs, il sera très certainement nécessaire de réaliser un ciblage tissulaire de l'expression ou de l'activation de TGFβ pour éviter ses effets secondaires fibrotiques ■

Remerciements

Nous sommes reconnaissants au Professeur Edmond Chambaz et à nos collègues de l'Unité Inserm U. 244 de leurs contributions scientifiques et humaines au cours des années. Nos recherches ont bénéficié du soutien de l'Inserm, du CEA, de la Ligue Nationale contre le Cancer et de l'Association pour la Recherche sur le Cancer. S. Souchevniky est actuellement chercheur au *Ludwig Institute for Cancer Research* (Uppsala, Suède). Nous remercions Sonia Lidy pour son aide typographique et son sourire permanent.

Summary

TGF β , a biological peptide under control: latent forms and mechanisms of activation

Transforming growth factor- β s (TGF β s) constitute a family of pluripotent regulators of cell growth and differentiation. The three mammalian isoforms of TGF β are expressed as latent complexes that need to be converted into active forms before interacting with their ubiquitous receptors. This review provides a summary of some recent advances in the understanding of the biochemical composition of the latent forms of TGF β s and of the physiological mechanisms of their activation. Three distinct latent complexes have been characterized in the conditioned medium of a variety of cell types: a complex between α_2 -macroglobulin and mature TGF β , a non-covalent complex between the pro-region (LAP) and the mature form of TGF β and a similar complex containing the additional protein LTBP covalently linked to LAP. The mechanisms for activation of these latent forms *in vivo* are not fully characterized but may involve processes such as proteolysis and molecular interaction with thrombospondins. Although several other factors have been implicated, the critical step controlling the biological activity of TGF β appears to be the activation of the latent molecule. Modulating the level of latent TGF β activation by the use of agonists or antagonists of this reaction appears as a possible therapeutic approach for the treatment of auto-immune diseases, arteriosclerosis or wound healing.

