文章编号:1000-1638(2026)05-0540-11 DOI:10.13484/j.nmgdxxbzk.20260510

Smad蛋白结构与信号通路研究*

巩红宇,海 超,宋丽爽,刘雪霏,白春玲,苏广华,李光鹏,杨 磊
(内蒙古大学生命科学学院省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室,呼和浩特 010070)

摘要: Smad蛋白是TGF-β超家族信号通路的关键下游效应分子,介导胞外信号向细胞核的转导,调控基因表达。本文系统总结了Smad蛋白的分类、结构特征及信号转导机制,重点阐述了其保守的MH1/MH2结构域功能、R-Smad的磷酸化激活、Smad复合物的核转位与转录调控作用。深入探讨了磷酸化、泛素化、乙酰化等翻译后修饰网络对Smad活性的精密调控,并梳理了MAPK、PI3K/Akt、TRAF6-TAK1等非经典信号通路与经典Smad通路的交叉对话。文章还分析了Smad信号异常在癌症、纤维化等疾病发生发展中的作用机制,这些机制共同构成复杂且环境依赖的Smad信号网络,在发育与疾病中发挥核心作用,为相关疾病治疗提供了新的靶点与思路。

关键词: Smad; TGF-β超家族; 蛋白结构和功能; 翻译后修饰; 信号通路
中图分类号:Q51 **文献标志码:**A

转化生长因子-β(Transforming growth factor-β,TGF-β)属于TGF-β超家族,该家族还包括活化素(Activins)、抑制素(Inhibins)、生长和分化因子(Growth differentiation factor,GDF)、缪勒氏管抑制质(Mullerian inhibitor substance,MIS)以及骨形成蛋白(Bone morpho-genetic proteins,BMPs)。TGF-β超家族信号通路在进化上高度保守,它通过调控细胞增殖、分化、凋亡、迁移和细胞外基质合成等过程,在胚胎发育、免疫调节、组织修复和癌症进展中发挥核心作用[1-2]。

TGF-β超家族信号从细胞膜受体向细胞核内的信号传递依赖于一系列下游细胞内介质,Smad蛋白家族在其中发挥着关键作用[3]。其信号转导起始于配体与细胞膜表面特异性受体丝氨酸/苏氨酸激酶的结合,进而引起下游信号转导分子Smad磷酸化,参与TGF-β和BMP等信号通路。Smad蛋白C端被活化受体磷酸化后,与Smad4形成三聚体复合物并转运入核[4]。在核内,Smad复合物与其他转录因子(Transcription factors,TFs)发生互作。之后结合到特定基因的启动子区域调控基因的表达,实现对生物体发育过程的调节[5-6]。

Smad是TGF-β超家族信号传导通路的主要组成部分,在信号从膜受体向核内传递过程中发挥着极其重要的作用。研究表明,Smad蛋白除了在经典TGF-β信号转导中发挥重要作用之外,还与其他信号途径(如Wnt、Hippo、MAPK等)共同构成复杂的调控网络[5]。此外,Smad蛋白的翻译后修饰(如磷酸化、泛素化、乙酰化等)和亚细胞定位进一步调控其功能,在癌症、纤维化、自身免疫性疾病和心血管疾病中发挥多重作用。因此,深入理解Smad蛋白的调控机制和功能多样性对于揭示其基本的细胞生命活动规律具有重要意义。本文旨在系统梳理Smad蛋白家族的分类与结构,详细阐述

* **收稿日期:**2025-09-23; **修回日期:**2026-01-24
基金项目:内蒙古自治区科技重大专项(2021ZD0009)
作者简介:巩红宇(1999—),女,山西忻州人,2023级博士研究生。主要从事胚胎工程及生物育种研究。E-mail: vickygonghy@163.com
通信作者:杨 磊(1987—),男,内蒙古呼和浩特人,教授,博士。主要从事动物生殖生物技术与生物育种研究。E-mail: mrknowall@126.com

其在TGF-β超家族信号转导中的核心作用机制与精细调控网络，深入探讨其在生物发育过程中的功能。

1　Smad蛋白家族分类

Smad是TGF-β家族主要的信号效应器，TGF-β信号进入细胞后主要与各类Smad蛋白发生互作[7]。Smad蛋白家族成员按功能分为以下3类：受体活化型Smad（Receptor activated，R-Smad），依赖于Ⅰ型受体而活化的Smad分子，包括Smad2/3/5/8，在特定TGF-β信号转导通路中发挥作用；辅助因子型Smad（Co-factor Smad，Co-Smad），如Smad4，是TGF-β家族各类信号传导过程中常见的信号转导因子，可以和大多数R-Smad结合，R-Smad一旦被激活就会与Co-Smad分子结合，形成R-Smad/Co-Smad复合物，通过转位入核，同核内调控因子共同调节靶基因的转录；抑制型Smad（Inhibitory Smad，I-Smad），如Smad6/7，通过阻断R-Smad与受体或Co-Smad的结合，对Smad的信号通路进行负反馈调节[7-10]。

基于与TGF-β超家族蛋白结合的Ⅰ型受体及其激活的Smad蛋白，可将TGF-β超家族蛋白分为两个进化发育分支：一个分支是早期进化的超家族成员，包括BMP-2/4/5/6/7/8/9/10、GDF-1/3/5/6/7，它们通过Ⅰ型受体并激活R-Smad1/5/8；另一个分支是后期得到进化的超家族成员，包括TGF-βs、激活素、GDF-8/9/11、BMP-3和nodal，它们通过Ⅰ型受体结合并激活R-Smad2/3通路[11]。

2　Smad结构

R-Smad和Co-Smad蛋白都由Mad同源1（MH1）和Mad同源2（MH2）两个高度保守的结构域组成（图1）。R-Smad的N端MH1结构域包含核定位信号（NLS）和一个对DNA结合至关重要的β-发夹结构。在Smad2的情况下，MH1结构域还包含一个额外的氨基酸序列（E3插入），该序列负调控Smad2的DNA结合能力。R-Smad的C端MH2结构域包含一个L3环，该环对于Smad-TGF-β受体相互作用以及TGF-β受体诱导的R-Smad磷酸化至关重要，并且介导R-Smad与激活的Ⅰ型受体之间的相互作用。L3环也存在于Smad4结构中，在形成三聚体复合物期间与R-Smad相互作用[4]。Smad2和Smad3的MH2结构域的C端，有一个由氨基酸Ser-X-Ser（SXS）分隔的两条丝氨酸组成的短保守基序，被激活的Ⅰ型受体磷酸化，从而导致R-Smad激活。抑制型Smad7保留了保守的MH2结构域，但在C端缺乏SXS基序，其N端区域与MH1结构域具有较小的相似性。MH1和MH2结构域由连接子区分开，连接子区在不同的Smad蛋白中具有不同的松散二级结构（图1）。连接子区包含多个磷酸化位点（P），这些位点对Smad的稳定性、亚细胞定位和活性的调节非常重要，是各种激酶调节Smad稳定性和功能的靶点[4,11-12]。

R-Smad和Smad4的MH1结构域包含β-hairpin（βH）结构，βH结构对DNA结合非常重要。I-Smad（Smad6/7）的MH1结构域缺少βH结构。常见的Smad2含有额外插入序列E3，其破坏了βH结构，因此缺乏DNA结合能力。但Smad2的另外一种蛋白亚型Smad2β缺乏这种插入结构，反而保持了βH的活性，因此保留了DNA结合能力[7]。所有的R-Smad都有一个C端SXS基序，其中最后两个丝氨酸被Ⅰ型受体直接磷酸化[11,13]。MH2结构域内的L3环是决定R-Smad与TGF-β型和BMP型Ⅰ型受体结合的关键结构（图1）[14-15]。

在大部分细胞中，R-Smad的两种类型（AR-Smad和BR-Smad）通常响应不同的配体信号。但R-Smad的磷酸化特异性并不是绝对的。例如，TGF-β可通过非经典的Ⅰ型受体（如ALK-2和ALK-3）直接磷酸化同属BR-Smad的Smad1和Smad5，而非仅依赖于TβRⅠ。活化的R-Smad与Smad4形成三聚体复合物（2个R-Smad和1个Smad4）。这些复合物被转移到细胞核，在核中与TFs、共激活因子或者共抑制因子共同调节特定基因的表达。

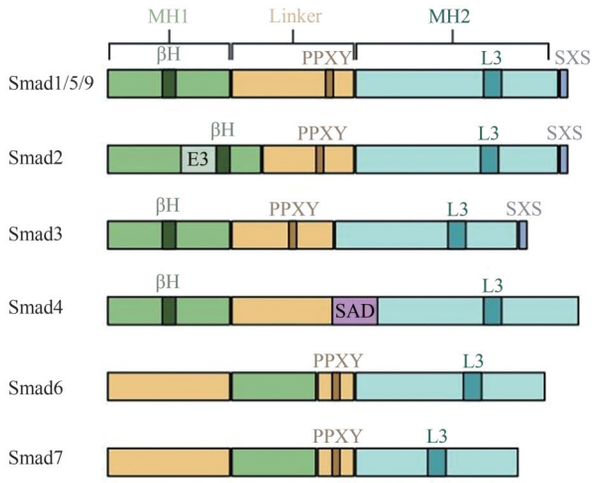


图1 Smad结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of Smad structure

3 Smad蛋白的翻译后修饰调控

Smad蛋白的MH1、连接区和MH2结构域为其功能的发挥提供了结构基础,而其活性、稳定性和亚细胞定位则受到一个复杂的翻译后修饰网络的精密调控[16-17]。

Smad磷酸化是调控其功能最核心、最广泛的修饰方式,可分为激活型磷酸化和抑制型磷酸化[18]。C末端SXS基序被Ⅰ型受体磷酸化是Smad信号激活的标志性事件。当Ⅰ型受体被激活后,其激酶结构域会特异性识别并磷酸化R-Smad C末端SXS基序中的丝氨酸残基。这一修饰引发R-Smad的构象变化,使其与受体解离,并暴露出与Smad4结合的界面,从而启动三聚体复合物的组装与核转位[11,19]。值得注意的是,不同Ⅰ型受体的L45环结构与R-Smad的L3环结构之间的特异性互补决定了磷酸化的特异性,例如TGF-β主要通过ALK5激活Smad2/3,而BMP则通过ALK1/2/3/6激活Smad1/5/8[14,20]。R-Smad的连接区是多种激酶的汇聚点,这些磷酸化事件主要发挥着负向调控作用,是Smad信号与其他通路交叉对话的关键节点[21-22]。生长因子EGF等激活细胞外调节蛋白激酶(ERK)后,ERK可磷酸化Smad1的Ser206和Smad3的Ser213位点间连接区[19,23],这不仅阻碍了Smad复合物与Smad4的结合,还会使其与磷酸肽锚定蛋白结合,导致R-Smad滞留于细胞质,从而抑制BMP和TGF-β的转录活性[24]。细胞周期蛋白依赖性激酶CDK4和CDK2,也会磷酸化Smad3连接区的Thr179和Ser213位点[25]。然后,糖原合酶激酶GSK-3β对磷酸化位点进行“预磷酸化引导”,进一步磷酸化Ser204位点,这一系列的磷酸化修饰也会抑制Smad3的转录活性[26]。

泛素化则是通过调控Smad蛋白的降解,精确控制信号的强度和持续时间[27-28]。研究表明,Smurf和Arkadia是介导Smad通过蛋白酶体途径降解的两种主要E3泛素连接酶[29-30]。Smurf1主要靶向BMP通路中的Smad1/5和Ⅰ型受体(如ALK2),促进其通过蛋白酶体途径降解。Smurf2则更倾向于与Smad2和TβRⅠ结合。重要的是,Smurf2的活性本身也受到调控,例如,在TGF-β的刺激下,未磷酸化的Smad2/3可与Smurf2结合,引导其定位至核内,并促进其降解转录共抑制因子SnoN,从而在信号初期起到增强信号的作用;而在信号后期,Smurf2又转而降解Smad2,终止信号[31]。与Smurf相反,Arkadia(RNF111)通过泛素化降解抑制性Smad7,从而解除Smad7对通路的抑制,起到增强信号的正反馈作用[32]。Arkadia的缺失会导致Smad7的积累,从而削弱TGF-β/BMP信号响应。

在细胞核内,乙酰化修饰在调控Smad转录共激活功能中发挥着重要作用。p300/CBP作为重要的组蛋白乙酰转移酶和转录共激活因子,不仅能乙酰化组蛋白,还可以乙酰化Smad蛋白[33-34]。例如,p300可乙酰化Smad2的Lys19和Lys20(位于MH1结构域)以及Smad3的Lys378(位于MH2结构域)。这些乙酰化修饰增强了Smad与DNA的结合能力,并促进其与其他转录因子的相互作用,最

大化地激发其转录激活潜能。此外,研究还表明SUMO化修饰会影响Smad的稳定性、核质穿梭及其与其他转录因子的相互作用[35-36]。SUMO化修饰作为一种类泛素化修饰,Smad4是其主要靶点。SUMO化修饰发生在Smad4的Lys113和Lys159位点,对Smad4的转录活性具有抑制作用[37-38]。

上述Smad蛋白的翻译后修饰网络是一个高度动态、相互关联的精密系统,整合了来自TGF-β和其他信号通路的输入,共同决定了Smad信号的强度、持续时间和特异性输出。在了解了这些基础调控机制后,可更深入地剖析Smad信号从激活到核内作用的完整过程。

4　Smad信号激活与转导机制

4.1　Smad的上游启动

Smad2和Smad3的MH2结构域可与一种Smad锚定蛋白SARA结合[20]。SARA是一种通过中心FYVE(依据其与Fab1、YOTB、Vac1和EEA1的同源性命名)结构域靶向早期内体膜的蛋白,可与磷脂酰肌醇3-磷酸(PtdIns3P)结合。一个小的Smad结合域(SBD)被鉴定为FYVE结构域的羧基末端,具有Smad2和Smad3的特异性,但不结合BMP型R-Smad。Smad MH2结构域包含3个主要结构元素:位于一端的β-三明治核心、位于中心的三螺旋束以及包含Ser-X-Ser基序的羧基末端柔性尾部。β-三明治核心由多个β链组成,其折叠与叉头相关结构域(FHA)和干扰素调节因子相关结构域(IAD)同源;三螺旋束由插入序列和羧基末端α-螺旋共同建立,未磷酸化的MH2结构域主要作为单体存在,但也表现出三聚化的倾向;羧基末端包含保守的SSXS磷酸化基序,是介导磷酸化依赖的三聚化的关键元件。SARA的Smad结合域(SBD)以延伸构象结合于MH2的β-三明治和三螺旋束表面,将MH2结构域以可接近的状态呈现给Ⅰ型受体,使受体能够磷酸化羧基末端的Ser-X-Ser基序(图2)[39]。

R-Smad的MH2结构域能够特异性识别并结合被磷酸化激活的Ⅰ型受体GS环区域。磷酸化将GS区域从抑制蛋白FKBP12的结合位点转变为底物R-Smad的招募位点。位于TβRⅠ的GS环序列185-TTSGSGSGLP-194中的丝氨酸和苏氨酸残基都可以被磷酸化[40]。通过蛋白质嵌合体和定点诱变对R-Smad相互作用的特异性进行研究,确定了在Ⅰ型受体激酶的β4-β5环(L45环)内的4个残基簇决定Smad的选择性[14]。这些残基在BMP和TGF-β受体之间的交换逆转了它们各自对R-Smad的特异性[21]。此外,在R-Smad的L3环中发现了两个互补残基,表明受体的L45环和R-Smad的L3环可能存在直接相互作用[15]。MH2结构域的凹面与受体激酶结构域的凸面在形状和大小上具有互补性,使得MH2结构域的结合有利于稳定受体激酶的活性构象。R-Smad的C端Ser-X-Ser基序必须与激酶羧基叶内的底物袋结合才能完成磷酸化[13]。GS结构域和氨基末端激酶叶会形成R-Smad MH2结构域的对接位点,从而正确定位可磷酸化的Ser-X-Ser基序与ATP结合口袋相邻。

4.2　R-Smad的C端磷酸化

在与配体结合后,由Ⅱ型受体激活的Ⅰ型受体通过其C端两个磷酸化的丝氨酸位点,结合并激活R-Smad[11]。R-Smad分为两类:一类是由Activin/TGF-β激活的AR-Smad,包括Smad2/3;另一类是由BMP等激活的BR-Smad,包括Smad1/5/9。

在大部分细胞中,R-Smad的两种类型(AR-Smad和BR-Smad)通常响应不同的配体信号,但R-Smad的磷酸化特异性并不是绝对的。例如,TGF-β可以通过TβRⅠ或者ALK-2和ALK-3磷酸化属于BR-Smad的Smad1和Smad5[8]。活化的R-Smad与Smad4形成三聚体复合物(2个R-Smad和1个Smad4)(图2)。这些复合物被转移到细胞核,在核中与TFs、共激活因子或者共抑制因子共同调节特定基因的表达(图2)[9,41]。R-Smad和Smad4具有保守的N端MH1和C端MH2结构域。MH1结构域具有核定位信号,它们的β-发夹结构可使Smad与DNA结合[11]。MH2结构域的L3环介导R-Smad与Ⅰ型受体的联系,有助于特定配体诱导的R-Smad激活,也有助于三聚体复合物中Smad-Smad的相互作用[15]。

除Smad4或抑制性Smad6和Smad7外,所有R-Smad中的MH2结构域都有一个包含可被Ⅰ型

受体磷酸化的两个C端丝氨酸的短序列[13]。MH1和MH2结构域之间的连接区域包含多种激酶的磷酸化位点,其中部分位点参与其他信号通路的转导,磷酸化时这些位点可作为其他蛋白的附着点。因此,R-Smad的连接区域是其与其他激酶信号通路相互作用的枢纽[19,23]。此外,各类R-Smad具有独特的生化特性,且多种Smad蛋白经可变剪接可产生不同异构体,进一步增加了该家族结构的复杂性。有研究表明,由于一个序列的插入破坏了MH1结构域的β片,会致使Smad2缺乏DNA结合能力[6]。

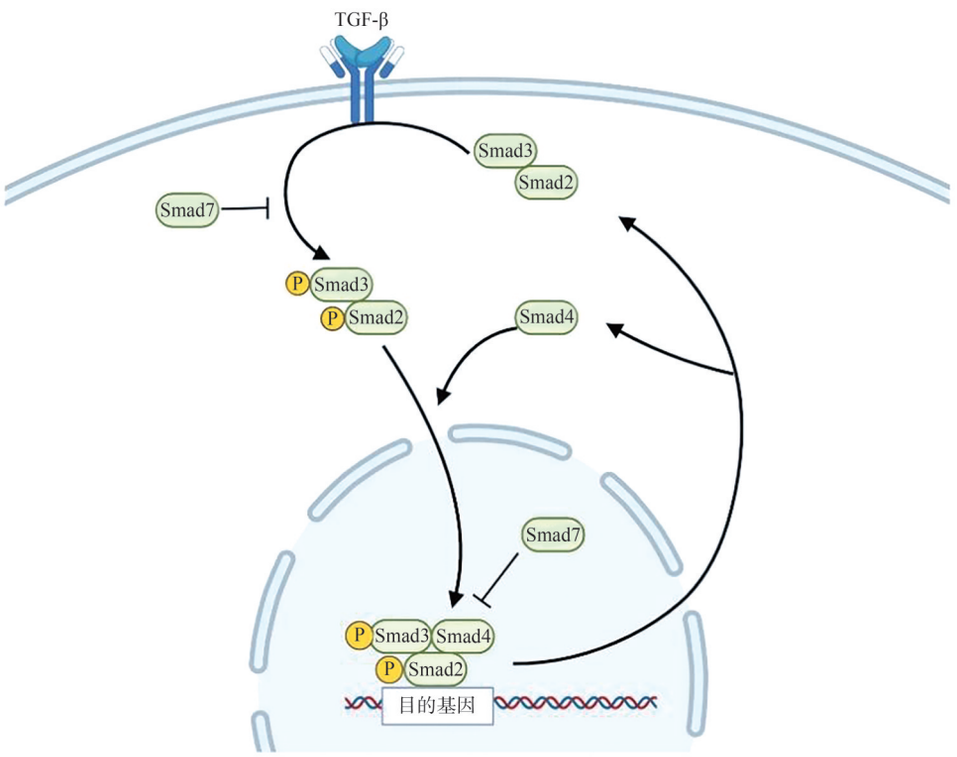


图2 TGF-β/Smad信号通路示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the TGF-β/Smad signaling pathway

4.3 Smad复合物的形成与核转位

Smad4显示出与R-Smad相似的结构域排列,但缺乏羧基末端Ser-X-Ser扩展[37]。Smad4 MH2结构域的晶体结构也显示出与R-Smad相似的折叠拓扑结构。一个由35个残基组成的特异性插入序列延长了H3螺旋,并诱导生成一个额外的β-链,该β-链随后与截短的羧基末端尾部形成反平行折叠。Smad4的转录活性依赖于Smad活化结构域(SAD),该结构域由位于MH2结构域氨基末端的45个富含脯氨酸的残基片段组成[38]。

与DNA的相互作用由R-Smad和Smad4的氨基末端MH1结构域介导[17]。Smad3的MH1结构域的晶体结构首次揭示了精确的结合模式,该结构域包括核心回文序列GTCTAGAC在内的典型Smad结合元件(SBE)[11,34]。MH1结构域采用由3个半胱氨酸残基和1个组氨酸配位的锌原子稳定的α/β折叠[35]。两个MH1结构域通过插入主槽的β-发夹结构,在DNA的相反表面结合到SBE的每个半位点(或Smad盒)上[42]。特异的氢键相互作用由3个保守残基Arg74、Gln76和Lys81形成,通过β-发夹基序和α2螺旋与磷酸主链产生额外的相互作用[11]。

Smad复合物通过TFs与特定DNA序列结合,与近端启动子序列的结合主要由相关TFs决定。串联或回文重复的SBEs可促使Smad的高亲和力结合或指导Smad介导的转录。Smad复合物与DNA结合TFs的启动子邻近排列可通过两种途径实现:高亲和力TFs先于Smad被募集或两者协同

共募集[9]。这种空间上的邻近排列有助于增强Smad复合物对其结合位点的DNA亲和力。其不仅促进了Smad的募集，还增强了Smad相关TFs在响应TGF-β时的DNA结合[43]。

4.4　Smad信号的非经典通路

尽管上述经典的R-Smad/Smad4通路是TGF-β信号转导的核心，但越来越多的研究表明，TGF-β超家族还能激活一系列不依赖于Smad4的非经典信号通路，这些通路与经典通路共同构成了一个庞大而灵活的调控网络[22,44]。

TGF-β能快速激活ERK、JNK和p38 MAPK这3条主要的MAPK通路。TGF-β可通过Shc-Grb2-SOS复合物的招募或G蛋白偶联受体及其效应器激活Ras-ERK通路[40,45]。ERK通路在TGF-β信号中扮演着复杂的双重角色，一方面ERK介导的R-Smad连接区磷酸化可拮抗TGF-β信号的传导，另一方面ERK信号与Smad信号协同，共同调控特定基因子集（如MMP9、PAI-1等）的表达，从而促进细胞的迁移[46-47]。p38和JNK的激活与TGF-β诱导的细胞凋亡密切相关，TGF-β激活p38和JNK的关键在于TGF-β活化激酶1（TAK1）。TAK1通过其衔接蛋白TAB1被TGF-β受体复合物直接或间接招募并激活，进而磷酸化激活MKK3/6-p38和MKK4/7-JNK通路[39]。

TGF-β对PI3K-Akt通路的激活是其抑制细胞凋亡并驱动细胞代谢重编程的核心机制。TGF-β受体可直接与p85亚基结合并激活PI3K，催化生成PIP3，进而募集并激活Akt[48-49]。TGF-β还可通过整合素信号或间接通过诱导的自分泌因子（如PDGF）来激活Akt通路[50]。激活的Akt通过抑制促凋亡蛋白（如Bad、Caspase-9）从而拮抗TGF-β本身可能诱导的凋亡效应。TGF-β通过Akt-mTOR信号轴促进糖酵解和蛋白质合成，为细胞迁移和增殖提供能量和物质基础[51]。此外，Akt同样可以磷酸化R-Smad（如Smad3和Thr179位点），对Smad转录活性进行负反馈抑制[52]。

TRAF6-TAK1轴被认为是Smad非依赖性信号传导的重要信号通路。在TGF-β刺激下，TRAF6被招募至活化的TβRⅠ，随后催化合成K63连接的泛素链。这些泛素链并不直接标记蛋白降解，而是招募并激活TAK1。TAK1被激活后，便可进一步激活下游的p38、JNK以及NF-κB信号通路。

这些非经典Smad通路不仅扩展了TGF-β超家族信号的功能范围，而且其与经典Smad通路构成的充满交叉对话和反馈调节的复杂信号网络极大地拓展了TGF-β超家族信号的生物学功能范畴与调控精度。例如，ERK/MAPK可磷酸化R-Smad的连接区，抑制其活性和核积累[20]；而Akt也可通过磷酸化R-Smad影响其功能[28]。全面理解非经典Smad通路是驾驭TGF-β信号用于疾病治疗的关键。

5　Smad信号通路与疾病

近年来，TGF-β/Smad信号网络的研究日益深入，逐步揭示了其在各类疾病发生发展中的关键作用与分子机制。Smad信号通路的异常调控与肿瘤、组织纤维化、心血管疾病、免疫性疾病、代谢性疾病和神经退行性疾病等多种疾病的发生密切相关。

5.1　Smad信号异常与肿瘤

TGF-β/Smad信号在肿瘤早期发挥抑癌作用，但在晚期则促进癌细胞的侵袭、转移和免疫逃逸。研究显示，Smad4的缺失或突变不仅常见于胰腺癌，在结直肠癌、胆管癌中也高频发生[53]。Smad2/3的翻译后修饰异常则会改变其稳定性、亚细胞定位及转录活性，进而导致TGF-β抑癌与促癌的功能转换[9]。在肿瘤微环境中，TGF-β通过Smad信号通路促进上皮-间质转化（EMT），并协同Hippo、Wnt等信号通路调控肿瘤干细胞特性[54]。此外，TGF-β诱导的Smad2/3活化会抑制$CD8^+$ T细胞功能，促进调节性T细胞分化，同时还会诱导M2型肿瘤相关巨噬细胞极化，从而促进免疫逃逸[55]。靶向TGF-β/Smad通路的小分子受体激酶抑制剂、Smad3拮抗剂和单克隆抗体等目前已在临床前和早期临床试验中初步应用，其与免疫检查点抑制剂联用展现出潜在的治疗前景[56]。

5.2　Smad信号异常与纤维化疾病

组织纤维化是多种慢性疾病的共同病理特征，如肝纤维化、肺纤维化、肾纤维化等。组织纤维化

的发生与慢性损伤修复失调有关,研究表明Smad2和Smad3的过度活化是纤维化的关键原因。在TGF-β刺激下,活化的Smad2/3复合物转入细胞核,促进胶原蛋白、纤维连接蛋白等细胞外基质基因的过度表达,导致基质沉积和组织结构破坏[57]。单细胞转录组学研究表明,在纤维化进程中,特定细胞亚群(如活化的成纤维细胞、肌成纤维细胞)中Smad2/3信号显著上调,并与其他通路(如PDGF、WNT)进行交叉对话,共同驱动细胞外基质过度沉积[58]。

研究发现,Smad7的表观遗传沉默(如DNA甲基化、组蛋白去乙酰化)或降解加速是纤维化中Smad信号持续活化的常见机制[59]。靶向Smad3的小干扰RNA(siRNA)或反义寡核苷酸(ASO)在动物模型中显示出抗纤维化效果,并已有相关药物进入临床试验阶段(如用于肾纤维化的SMAD3 ASO)[60]。此外,调控Smad磷酸酶(如PPM1A)或去泛素化酶以恢复Smad稳态,也成为纤维化治疗的新策略[61]。

5.3 Smad信号异常与其他疾病

除了肿瘤与纤维化,Smad信号异常还与心血管疾病(如动脉粥样硬化、心肌肥厚)、自身免疫性疾病(如系统性硬化症、类风湿关节炎)及代谢性疾病密切相关。

在动脉粥样硬化疾病中,内皮细胞Smad2/3信号的激活加剧炎症反应和斑块不稳定性;而平滑肌细胞中Smad1/5/8的活化则与血管钙化相关[62]。此外研究还发现,循环外泌体携带的Smad信号分子可作为疾病生物标志物[63]。在肥胖与2型糖尿病中,脂肪组织与肝脏的TGF-β/Smad3信号通路过度激活,促进胰岛素抵抗、脂肪炎症和纤维化[64]。肌肉中Smad2/3信号则与糖代谢紊乱和线粒体功能失调相关。在自身免疫与炎症性疾病中,Smad7在黏膜免疫中起关键保护作用。研究表明,其表达不足或功能缺陷与炎症性肠病(IBD)、类风湿关节炎(RA)及系统性硬化症(SSc)等病症密切相关[65]。调控Smad7表达的microRNA(如miR-21、miR-31)已成为潜在的干预靶点[66]。

6 总结与展望

TGF-β与Ⅱ型和Ⅰ型异质复合物结合,启动信号通路,诱使Ⅰ型受体激活和R-Smad C端磷酸化。激活的R-Smad与Ⅰ型受体分离,与Smad4形成复合物,R-Smad/Smad4复合物转运到细胞核中,通过TFs和共调节因子调节基因表达[9,11]。抑制性Smads(Smad6和Smad7)与Ⅰ型受体结合后,阻止R-Smad的激活,或干扰R-Smad与Smad4复合物的形成,干预Smad的功能性激活。Smad介导的控制通常是短暂的,这不仅是因为Smad激活的短暂性,还因为TGF-β、激活素和BMP诱导的Smad复合物通过表达随后抑制Smad激活或Smad介导的转录蛋白质来激活负反馈回路[33]。例如,TGF-βs、激活素和BMP通过Smad复合物诱导Smad6和Smad7的表达,进而抑制配体诱导的R-Smad活化。

从Smad信号传导的机制可以看出,Smad复合物不仅直接靶向基因转录,进而引起次级基因表达的变化,而且还控制mRNA剪接、miRNA表达和加工以及表观遗传变化。作为Smad复合物转录辅激活因子的p300乙酰转移酶,使H3K9乙酰化;SETDB1甲基转移酶诱使H3K9甲基化,抑制转录活动;Smad介导的组蛋白去乙酰化酶的募集导致组蛋白去乙酰化。在hnRNPE1协作下,TGF-β激活的Smad复合物调节mRNA剪接[6]。激活的R-Smad通过p68 RNA解旋酶和Drosha RNA酶复合物,直接加工miRNA[19]。活化的Smad2或Smad3与m6A甲基转移酶复合物结合,促进mRNA的甲基化。Smad与TFs的相互作用决定了基因响应对信号的依赖性,而翻译后机制控制着Smad的可用性、性质和行为。伴随Smad复合物形式的多样性,Smad通路成为一条高度精细、环境依赖且多用途的基因表达调控通路。

综上所述,Smad蛋白作为TGF-β超家族信号通路的中心枢纽,其从膜受体到核内基因调控的分子机制已被逐步揭示。本文系统梳理了Smad蛋白的分类、结构基础及其作为信号枢纽的核心机制:配体与受体结合触发R-Smad C端特异性磷酸化,激活的R-Smad与Smad4形成复合物并转位入核,通过与其他转录因子及共调节因子组装,最终调控靶基因表达。与此同时,一个复杂的翻译后修

饰网络(磷酸化、泛素化、乙酰化等)以及MAPK、PI3K/Akt、TRAF6-TAK1等非经典通路的交叉对话,共同赋予了该通路应对不同细胞内外环境的巨大可塑性与功能多样性。Smad通路绝非一个简单线性的"开-关"电路,而是庞大而复杂的调控网络。它的精密性和复杂性确保了细胞能够对相同的初始信号产生截然不同且高度情境化的响应。尽管我们对Smad机制的理解已取得了长足进步,但其深层逻辑和动态调控原理仍有许多未知等待探索。首先,Smad蛋白存在多重、动态的翻译后修饰,这些修饰如何组合成特定的"修饰密码",并被细胞内"阅读器"精确识别,从而调控其稳定性、定位及转录活性,是理解信号调控的关键。发展针对特定翻译后修饰状态的检测工具与干预手段,将有助于Smad"修饰密码"的整合与功能解析。其次,同一TGF-β信号在不同细胞类型、组织微环境或疾病阶段常产生迥异甚至相反的输出(如生长抑制与促进、上皮-间质转化)。未来可综合运用单细胞多组学、空间转录组及活细胞成像技术,在分辨细胞状态的同时,实时解析Smad信号动力学(如振荡、脉冲),揭示决定信号输出特异性的核心调控元件。再者,Smad通路与Wnt、Hippo、NOTCH等关键发育和稳态信号通路存在广泛交叉对话。未来研究需利用系统生物学方法与人工智能模型(如图神经网络等深度学习算法),整合多组学数据,构建可预测的信号网络动态模型,以揭示其在发育、再生与疾病中的全局性调控逻辑。此外,基于对Smad通路调控机制的深入理解,开发时空特异性的干预工具成为可能。例如,设计靶向特定Smad复合物构象或特定蛋白质翻译后修饰(PTM)状态的小分子;开发基于CRISPR-dCas9的表观遗传或转录调控工具,在特定细胞群体中精确干预Smad靶基因;探索Smad通路抑制剂与免疫疗法、靶向疗法的联合应用,以克服肿瘤微环境中的免疫抑制或纤维化疾病的基质硬化。总之,Smad信号通路研究已从机制发现步入系统整合与精准干预的新阶段。通过跨学科技术融合与创新,不仅有望更完整地描绘这一核心信号网络的动态全景,更能最终实现对其在疾病中异常活动的精准重编程,为相关疾病的诊断与治疗带来突破。

参考文献:

[1] Horbelt D, Denkis A, Knaus P. A portrait of transforming growth factor β superfamily signalling: Background matters[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2012, 44(3): 469-474.

[2] Xiao Y T, Xiang L X, Shao J Z. Bone morphogenetic protein[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 362(3): 550-553.

[3] Kitisin K, Saha T, Blake T, et al. TGF-β signaling in development[J]. Science's STKE: Signal Transduction Knowledge Environment, 2007, 2007(399): cm1.

[4] Schmierer B, Hill C S. TGFβ-SMAD signal transduction: Molecular specificity and functional flexibility[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2007, 8(12): 970-982.

[5] Ikushima H, Miyazono K. TGFβ signalling: A complex web in cancer progression[J]. Nature Reviews Cancer, 2010, 10(6): 415-424.

[6] Wrana J L, Attisano L. The Smad pathway[J]. Cytokine & Growth Factor Reviews, 2000, 11(1/2): 5-13.

[7] Tzavlaki K, Moustakas A. TGF-β signaling[J]. Biomolecules, 2020, 10(3): 487.

[8] Aashaq S, Batool A, Mir S A, et al. TGF-β signaling: A recap of SMAD-independent and SMAD-dependent pathways[J]. Journal of Cellular Physiology, 2022, 237(1): 59-85.

[9] Derynck R, Budi E H. Specificity, versatility, and control of TGF-β family signaling[J]. Science Signaling, 2019, 12(570): eaav5183.

[10] Hu H H, Chen D Q, Wang Y N, et al. New insights into TGF-β/Smad signaling in tissue fibrosis[J]. Chemico-Biological Interactions, 2018, 292: 76-83.

[11] Chaikuad A, Bullock A N. Structural basis of intracellular TGF-β signaling: Receptors and smads[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2016, 8(11): a022111.

[12] Massagué J. TGFβ signalling in context[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2012, 13(10): 616-630.

[13] Shi Y G, Massagué J. Mechanisms of TGF-β signaling from cell membrane to the nucleus[J]. Cell, 2003, 113(6): 685-700.

[14] Chaikuad A, Alfano I, Kerr G, et al. Structure of the bone morphogenetic protein receptor ALK2 and implications for fibrodysplasia ossificans progressiva[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(44): 36990-36998.

[15] Lo R S, Chen Y G, Shi Y, et al. The L3 loop: A structural motif determining specific interactions between SMAD proteins and TGF-β receptors[J]. The EMBO Journal, 1998, 17(4): 996-1005.

[16] Feng X H, Derynck R. Specificity and versatility in TGF-β signaling through Smads[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2005, 21: 659-693.

[17] Macias M J, Martin-Malpartida P, Massagué J. Structural determinants of Smad function in TGF-β signaling[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2015, 40(6): 296-308.

[18] Kretzschmar M, Massagué J. SMADs: Mediators and regulators of TGF-β signaling[J]. Current Opinion in Genetics & Development, 1998, 8(1): 103-111.

[19] Nakao A, Imamura T, Souchelnytskyi S, et al. TGF-β receptor-mediated signalling through Smad2, Smad3 and Smad4[J]. The EMBO Journal, 1997, 16(17): 5353-5362.

[20] Chen Y G, Hata A, Lo R S, et al. Determinants of specificity in TGF-β signal transduction[J]. Genes & Development, 1998, 12(14): 2144-2152.

[21] Derynck R, Zhang Y E. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-β family signalling[J]. Nature, 2003, 425(6958): 577-584.

[22] Mu Y B, Gudey S K, Landström M. Non-Smad signaling pathways[J]. Cell and Tissue Research, 2012, 347(1): 11-20.

[23] Wu G, Chen Y G, Ozdamar B, et al. Structural basis of Smad2 recognition by the Smad anchor for receptor activation[J]. Science, 2000, 287(5450): 92-97.

[24] Abraham D, Podar K, Pacher M, et al. Raf-1-associated protein phosphatase 2A as a positive regulator of kinase activation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(29): 22300-22304.

[25] Datto M B, Frederick J P, Pan L, et al. Targeted disruption of Smad3 reveals an essential role in transforming growth factor β-mediated signal transduction[J]. Molecular and Cellular Biology, 1999, 19(4): 2495-2504.

[26] Yang X, Letterio J J, Lechleider R J, et al. Targeted disruption of SMAD3 results in impaired mucosal immunity and diminished T cell responsiveness to TGF-β[J]. The EMBO Journal, 1999, 18(5): 1280-1291.

[27] Kang J S, Liu C, Derynck R. New regulatory mechanisms of TGF-β receptor function[J]. Trends in Cell Biology, 2009, 19(8): 385-394.

[28] Savage-Dunn C. TGF-β signaling[J/OL]. WormBook: The Online Review of *C. elegans Biology*, 2005, 9: 1-12. https://www.wormbook.org/chapters/www_tgfbsignal/tgfbsignal.html.

[29] Souchelnytskyi S, Nakayama T, Nakao A, et al. Physical and functional interaction of murine and *Xenopus* Smad7 with bone morphogenetic protein receptors and transforming growth factor-β receptors[J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(39): 25364-25370.

[30] Suzuki C, Murakami G, Fukuchi M, et al. Smurf1 regulates the inhibitory activity of Smad7 by targeting Smad7 to the plasma membrane[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(42): 39919-39925.

[31] Zhang Y, Musci T, Derynck R. The tumor suppressor Smad4/DPC 4 as a central mediator of Smad function[J]. Current Biology, 1997, 7(4): 270-276.

[32] Hayashi H, Abdollah S, Qiu Y B, et al. The MAD-related protein Smad7 associates with the TGFβ receptor and functions as an antagonist of TGFβ signaling[J]. Cell, 1997, 89(7): 1165-1173.

[33] Zhang Y, Feng X H, Derynck R. Smad3 and Smad4 cooperate with c-Jun/c-Fos to mediate TGF-β-induced transcription[J]. Nature, 1998, 394(6696): 909-913.

[34] Feng X H, Lin X, Derynck R. Smad2, Smad3 and Smad4 cooperate with Sp1 to induce p15(Ink4B) transcription in response to TGF-β[J]. The EMBO Journal, 2000, 19(19): 5178-5193.

[35] Kawabata M, Imamura T, Miyazono K. Signal transduction by bone morphogenetic proteins[J]. Cytokine & Growth Factor Reviews, 1998, 9(1): 49-61.

[36] Chacko B M, Qin B, Correia J J, et al. The L3 loop and C-terminal phosphorylation contribute to the conformational change in Smad2 and Smad3 upon C-terminal phosphorylation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(39): 36690-36698.

[37] Qin B, Lam S S, Lin K. Crystal structure of a transcriptionally active Smad4 fragment[J]. Structure, 1999, 7(12): 1493-1503.

[38] Shi Y, Hata A, Lo R S, et al. A structural basis for mutational inactivation of the tumour suppressor Smad4[J]. Nature, 1997, 388(6637): 87-93.

[39] Yu L, Hébert M C, Zhang Y E. TGF-β receptor-activated p38 MAP kinase mediates Smad-independent TGF-β responses[J]. The EMBO Journal, 2002, 21(14): 3749-3759.

[40] Heldin C H, Miyazono K, Dijke P T. TGF-β signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins[J]. Nature, 1997, 390(6659): 465-471.

[41] Wrana J L, Attisano L, Cárcamo J, et al. TGF β signals through a heteromeric protein kinase receptor complex[J]. Cell, 1992, 71(6): 1003-1014.

[42] Zhu H J, Burgess A W. Regulation of transforming growth factor-β signaling[J]. Molecular Cell Biology Research Communications, 2001, 4(6): 321-330.

[43] Attisano L, Wrana J L. Signal transduction by the TGF-β superfamily[J]. Science, 2002, 296(5573): 1646-1647.

[44] Liu F, Pouponnot C, Massagué J. Dual role of the Smad4/DPC4 tumor suppressor in TGFβ-inducible transcriptional complexes[J]. Genes & Development, 1997, 11(23): 3157-3167.

[45] Yamashita M, Fatyol K, Jin C Y, et al. TRAF6 mediates Smad-independent activation of JNK and p38 by TGF-β[J]. Molecular Cell, 2008, 31(6): 918-924.

[46] Lamouille S, Connolly E, Smyth J W, et al. TGF-β-induced activation of mTOR complex 2 drives epithelial-mesenchymal transition and cell invasion[J]. Journal of Cell Science, 2014, 127(Pt 5): 1259-1273.

[47] Hata A, Chen Y G. TGF-β signaling from receptors to Smads[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2016, 8(9): a022061.

[48] Ross S, Hill C S. How the smads regulate transcription[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2008, 40(3): 383-408.

[49] Wrana J L. Regulation of Smad activity[J]. Cell, 2000, 100(2): 189-192.

[50] Miyazono K, Dijke P T, Heldin C H. TGF-β signaling by Smad proteins[J]. Advances in Immunology, 2000, 75: 115-157.

[51] Ishida W, Hamamoto T, Kusanagi K, et al. Smad6 is a Smad1/5-induced Smad inhibitor: Characterization of bone morphogenetic protein-responsive element in the mouse Smad6 promoter[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(9): 6075-6079.

[52] Afrakhte M, Morén A, Jossan S, et al. Induction of inhibitory Smad6 and Smad7 mRNA by TGF-β family members[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1998, 249(2): 505-511.

[53] Zhang Y, Alexander P B, Wang X F. TGF-β family signaling in the control of cell proliferation and survival[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2017, 9(4): a022145.

[54] Batlle E, Massagué J. Transforming growth factor-β signaling in immunity and cancer[J]. Immunity, 2019, 50(4): 924-940.

[55] David C J, Massagué J. Contextual determinants of TGFβ action in development, immunity and cancer[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2018, 19(7): 419-435.

[56] Lan Y, Zhang D, Xu C X, et al. Enhanced preclinical antitumor activity of M7824, a bifunctional fusion protein simultaneously targeting PD-L1 and TGF-β[J]. Science Translational Medicine, 2018, 10(424): eaan5488.

[57] Meng X M, Nikolic-Paterson D J, Lan H Y. TGF-β: The master regulator of fibrosis[J]. Nature Reviews Nephrology, 2016, 12(6): 325-338.

[58] Song B, Zhu Y, Zhao Y, et al. Machine learning and single-cell transcriptome profiling reveal regulation of fibroblast activation through THBS2/TGFβ1/P-Smad2/3 signalling pathway in hypertrophic scar[J]. International Wound Journal, 2024, 21(3): e14481.

[59] Li C, Kuemmerle J F. Epigenetic silencing of Smad7 contributes to fibrosis in stricturing Crohn's disease[J]. Gastroenterology, 2018, 154(1): S17.
[60] Wang Z R, Wang J H, Hu C L, et al. The effect of down-regulation of Smad3 by RNAi on hepatic stellate cells and a carbon tetrachloride-induced rat model of hepatic fibrosis[J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2011, 44(2): 91-99.
[61] Zhu Y, Ni T, Deng W, et al. Effects of NLRP6 on the proliferation and activation of human hepatic stellate cells[J]. Experimental Cell Research, 2018, 370(2): 383-388.
[62] Deng H, Schwartz M A. High fluid shear stress inhibits cytokine-driven Smad2/3 activation in vascular endothelial cells[J]. Journal of the American Heart Association, 2022, 11(14): e025337.
[63] Xu R, Rai A, Chen M S, et al. Extracellular vesicles in cancer-implications for future improvements in cancer care [J]. Nature Reviews Clinical Oncology, 2018, 15(10): 617-638.
[64] Luo T, Nocon A, Fry J, et al. AMPK activation by metformin suppresses abnormal extracellular matrix remodeling in adipose tissue and ameliorates insulin resistance in obesity[J]. Diabetes, 2016, 65(8): 2295-2310.
[65] Zorzi F, Angelucci E, Sedda S, et al. Smad7 antisense oligonucleotide-based therapy for inflammatory bowel diseases[J]. Digestive and Liver Disease, 2013, 45(7): 552-555.
[66] Cottonham C L, Kaneko S, Xu L. miR-21 and miR-31 converge on TIAM1 to regulate migration and invasion of colon carcinoma cells[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(46): 35293-35302.

(责任编委 那顺布和)

Structure and Signaling Pathways of Smad Proteins

GONG Hongyu, HAI Chao, SONG Lishuang, LIU Xuefei, BAI Chunling,
SU Guanghua, LI Guangpeng, YANG Lei
(*State Key Laboratory of Reproductive Regulation and Breeding of Grassland Livestock, School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot* 010070, *China*)

Abstract: Smad proteins are the principal downstream effectors of the transforming growth factor-β (TGF-β) superfamily signaling pathways, transmitting extracellular cues to the nucleus to regulate gene expression. The classification, structural features, and signal transduction mechanisms of Smad proteins are systematically summarized. Particular emphasis is placed on the functional roles of the conserved MH1 and MH2 domains, the phosphorylation-dependent activation of receptor-regulated Smads (R-Smads), and the nuclear translocation and transcriptional regulatory activities of Smad complexes. An in-depth discussion of the precise regulation of Smad signaling is provided by post-translational modification networks, including phosphorylation, ubiquitination, and acetylation. In addition, the crosstalk between canonical Smad signaling and non-canonical pathways, such as MAPK, PI3K/Akt, and TRAF6-TAK1 signaling, is comprehensively reviewed. Finally, the roles of dysregulated Smad signaling in the initiation and progression of diseases are analyzed, particularly cancer and fibrosis. Collectively, these mechanisms constitute a complex and context-dependent Smad signaling network that plays a central role in development and disease, and provides potential therapeutic targets and conceptual frameworks for the treatment of Smad-related disorders.

Key words: Smad; TGF-β superfamily; protein structure and function; post-translational modification; signaling pathway