

* Anahtar Kelimeler: c-fos, Fos proteinleri, hücre çoğalması, farklılaşma; Key Words: c-fos, Fos proteins, cellular proliferation, differentiation; Alındığı Tarih: 03 Ekim 2003; Uz. Dr. Nurullah Keklikoğlu: İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, İstanbul. Yazışma Adresi (Address): Dr. Nurullah Keklikoğlu, İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, 34390, Çapa, İstanbul.

c-fos Geni ve Fos Proteinleri *

Nurullah KEKLİKOĞLU

Background.- c-fos is a gene that is transcribed temporarily and rapidly by factors that cause growth and differentiation by affecting cells. Fos proteins are nuclear proteins that are produced by c-fos gene. c-fos is considered to be a third nuclear messenger. The expression and accumulation of c-fos gene, a protooncogene that is a member of IEG (Immediate Early Gene) group, and Fos proteins, a member of AP-1 (Activator Protein-1) family oncoproteins, upsurge along with cellular activation under the affect of certain stimuli. This gene and proteins play a very important role during cellular proliferation, differentiation and programmed cell death (apoptosis). The c-fos gene and Fos proteins, being a potential activator of transcription, are a key to understand congenital anomalies, oncogenic transformation and normal development due to their relationship with abovementioned biological processes.

Keklikoğlu N. c-fos Gene and Fos Proteins. Cerrahpaşa J Med 2004; 35:

c-fos Geninin transkripsiyonunu ilk kez 1984 yılında Mike E. Greenberg ve Ed B. Ziff büyüme faktörleri (growth faktörler) ile stimüle ettikleri fibroblastlarda gösterdiler.¹ c-fos Geninin transkripsiyonu, hücreleri etkileyerek büyüme ve farklılaşmayı sağlayan çok sayıda etken tarafından hızla ve geçici olarak sağlanır.² Bu yüzden c-fos geni hücrede herhangi bir uyarana karşı ilk yanıt veren genlerdendir (Immediate-Early Gene, IEG veya Early Responses Gene, ERG). Bu gruba giren genler hücre büyümesi (growth), çoğalması (proliferasyonu), farklılaşması (differansiasyon) ve hücrenin programlı ölümü (apoptosis) ile ilgili transkripsiyon faktörleridir.^{3,4}

IEG (İmmediate-Early Gene) grubundan olan c-fos geni çekirdeksel (nüklear) bir transkripsiyon faktörüdür ve nüklear üçüncü ulak veya hücrenel işlevler yönünden ana anahtar (cellular master switch) olarak düşünülmektedir.^{5,6} Bir diğer tanımlama ile 'çekirdeksel protoonkojen (nuclear protooncogene)' olan c-fos hücre çoğalması ve farklılaşması sırasında, gen ekspresyonunun aşamalı düzenlenmesi ile ilgilidir.⁷ Fos proteinleri bu c-fos geninin ürünü olan çekirdek proteinleridir. Bunların hücredeki ekspresyonu ve birikimi herhangi bir etki olmaksızın görülebilir ancak bu ekspresyonu ve birikim çeşitli uyarılara yanıt olarak hücre aktivasyonu ile birlikte artar.⁸ (Resim 1, Resim 2, Resim 3 ve Resim 4).

Fos proteinleri yine bir IEG olan c-jun geninin ürettiği Jun proteinleri ile birlikte transkripsiyon faktör kompleksi Activator Protein-1 (AP-1) in komponentleri olarak birlikte işlev görürler.⁹ Fos proteinlerinin ekspresyonu tipik olarak geçicidir. Ancak bu ailenin bazı üyelerinin ekspresyonundaki yüksekliğin devamının kronik stimülasyonlar tarafından provake edildiği rapor edilmiştir. Bu

Fos benzeri (Fos-like) proteinler Fra (kronik-Fos akrabası antijen, chronic-Fos related antigen) olarak adlandırılırlar.¹⁰

AP-1 (Activator Protein-1); Fos proteinleri (c-Fos, Fos B, Fra 1 ve Fra 2), Jun proteinleri (c-Jun, Jun B ve Jun D) ve bazı ATF proteinlerinden (ATFa, ATF-2 ve ATF-3) oluşmuştur.^{11,12,13} Fos proteinleri, Jun proteinleri ile stabil dimerler oluşturur. Oysa Jun proteinleri homodimerler veya Fos ve ATF proteinleri ile heterodimerler oluşturabilir.^{14,15,16,17} Bütün AP-1 proteinleri fosfoproteinlerdir ve hiperfosforilasyon ve defosforilasyon onların DNA-bağlanma ve transaktivasyon aktivitelerini etkileyebilir.¹⁸

AP-1 Kompleksin üyeleri değişik gen ekspresyonlarını modüle ederler. Bu komponentler çoğalma, farklılaşma, programlı ölüm ve onkojenik (oncogenic) transformasyon gibi çok sayıda hücre sel süreçlerle kritik olarak ilgilidir.^{19,20,21}

İŞLEV

c-fos Transkripsiyonu çok çeşitli mitojenler ve farklılaşmayı uyaran maddeler tarafından uyarılabilir ve bağımsız olarak yeni protein sentezi meydana getirir. Bu yüzden bu tür genler protoonkojenler (protooncogenler) ve bunların ürünü olan proteinler de onkoproteinler (oncoproteinler) olarak adlandırılırlar. Kanser gelişiminde Fos proteinlerinin katkısı olduğu bilinmektedir.²² Bazı tümör tiplerinde c-fos ve c-jun düzeyinin arttığı gösterilmiş ve bu artışın artan hücre çoğalmasının bir kanıtı olacağı için tümör oluşmasında (tümorogenesiste) önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür.^{15,23} Ancak protoonkojenler yalnız kötü huylu gelişim (malignancy) ile birlikte değildir, normal büyüme ve farklılaşmayı da düzenlerler. Gelişimsel anomalilerin protoonkojenlerin uygun olmayan

aktivasyonuyla yüksek düzeyde onkoprotein üretmelerine veya protoonkojenlerin anormal üretimine yol açan bir mutasyona bağlı olabileceği ileri sürülmüştür.²⁴

Tüm AP-1 proteinleri büyüme faktörlerine hücrel yanıtın bazı yönlerini düzenlerler. c-fos Protoonkojeninin büyüme faktörleri (growth faktörler, GF) tarafından oluşturulan uyarıların hücre dışı ortamdaki hücre çekirdeği içine iletilmesinde temel rolü oynadığına inanılmaktadır.

c-fos Bazı uyarı çeşitlerini takiben ilgili nöron topluluklarının çekirdeklerinde Fos proteinlerini uyarır.²⁵ Bu yüzden c-fos gibi IEG'lerin ekspresyonunun merkezi sinir sisteminde nöronal aktiviteyi yansıtan bir model olduğu düşünülür.²⁶ ve nöronal aktivite göstergesi olarak kullanılırlar.^{27,28,29} Bu özelliğinden hangi etkinin, merkezi sinir sistemindeki hangi nöronlarda aktivite değişikliği yaptığını saptanmasında yani nöronal haritalama yönteminde yararlanılır.^{14,30,31}

Ancak nöronların tümünün aktive edildikleri zaman gen ekspresyon etmedikleri, c-fos ekspresyonu eşliğinin nöronlar arasında farklı olabileceği ve c-fos ekspresyonu yokluğunun nöronal aktivite yokluğunu göstermeyebileceği ve c-fos ekspresyonundaki artışın da nöronal aktivite artışını göstermeyebileceği yönünde iddialar vardır.²⁷

c-fos Gibi IEG'lere NGF (Neuron growth factor) aksiyonu için gereksinim olduğu³² ve örneğin hasarlanmış retinal ganglion hücrelerinin rejenerasyonlarıyla ilgili olduğu, bu yüzden nöronların canlılığını sürdürmesi ve rejenerasyonunun anlaşılması için c-fos'un düzenlediği biyolojik olaylar zincirinin kesin tanımlanmasına çok gereksinim olduğu bildirilmektedir.³³

c-fos Hücrelerin hücre dışı değişikliklere vereceği yanıtın büyüklüğünü saptamada da fonksiyonel bir gösterge (marker) olarak yaygın kullanılır.³⁴

Etki Mekanizmaları

c-fos un Transkripsiyonu bazı nörohormonal etkilerle İntron 1 de lokalize olan intragenik bölge tarafından kontrol edilir. Bu kontrolde etkin olan CRE (cAMP/Ca+2 response –yanıt- element) ve SRE (serum response –yanıt- element) dir.³⁵ Bunlar çeşitli hücre dışı uyarılara yanıtta c-fos transkripsiyonunun düzenlenmesi için gereklidir.^{4,32,36}

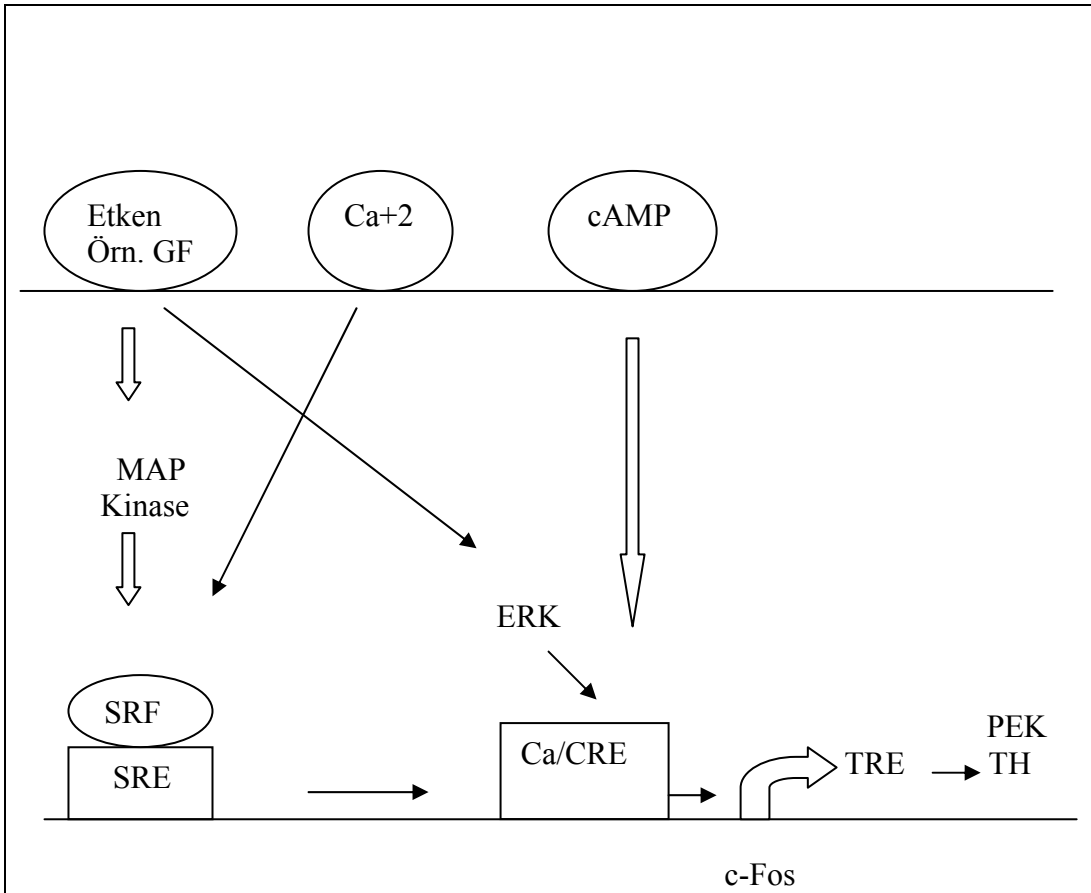
Büyüme faktörleri (growth faktörler, GF) c-fos u ERK (Hücre dışı uyarı ile ilgili kinaz, extracellular signal related kinase) aktivasyonu yoluyla uyarır.³⁷ SRE (serum response –yanıt- element) değişik büyüme ve gelişimi uyarın sinyaller yoluyla c-fosun transkripsiyonal aktivasyonundan sorumludur. SRE ile SRF (serum response –yanıt- factor) arasındaki etkileşim bu transkripsiyonun düzenlenmesinde önemlidir.³⁸

c-fos Transkripsiyonu büyüme faktörleri ile uyarıldıktan sonra 10 dk. içerisinde en üst düzeye ulaşır ve TRE (tetradecanol phorbol acetate response –yanıt- element) aracılığı ile hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. PEK (Proenkephalin) ve TH (tyrosine hydroxylase) genleri c-fosun potansiyel hedefleridir.^{5,39} Şekil 1.

Pek çok hücre dışı etkenin c-fos transkripsiyonunun hızlı ve geçici olarak artmasını sağlamasına karşın, bazı geçici, nöral ve hormonal stimülasyonla bu transkripsiyonun azaltılabileceğini gösteren çalışmalar vardır.⁴⁰ Örneğin, somatostatinin c-fos ekspresyonu ve MAP-kinase (Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz, Mitogen-activated protein kinase) aktivitesini baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir.⁴¹ Ayrıca hücrenin yaşlanmasıyla AP-1 transkripsiyon faktörün kompozisyonunda ve DNA bağlanma kapasitesinde önemli değişiklikler olur.⁴² Hücrel yaşlanma; gen ekspresyonundaki proliferatif kapasite

değişiklikleri, c-fosun serumla uyarılabilirliğindeki bozukluk ve SRFnin bağlanma aktivitesindeki bozukluk gibi çok sayıdaki fenotipik değişikliklerle karakterizedir. Bu değişiklikler yaşlı hücrelerde transkripsiyonun potansiyel aktivatörü olan c-fos ekspresyonunu azaltan etkenlerdir.^{38, 43, 44}

Sonuç olarak, c-fos geni ve Fos proteinlerinin growth faktörler, mitojenler ve pek çok hücre dışı etkenle ekspresyonunun artması ve bu artışın hücredeki büyüme, çoğalma, farklılaşma ve programlı ölüm gibi çok önemli biyolojik süreçlerle ilgisi yüzünden, bu gen ve proteinler özellikle doğumsal anomalilerin, oncogenic transformasyonun ve normal gelişimin değerlendirilmesi yönünde yapılacak hücresel ve genetik çalışmalarda önemli bir anahtardır.



Şekil 1. Bir etken ile (örneğin büyüme faktörleri, GF ile) uyarılma sonucu c-Fos transkripsiyonuna yol açan mekanizmanın şematik gösterimi.

Resim 1. Herhangi bir deneysel stimülasyon uygulanmamış sıçan ince barsağı (duodenum) villuslarında, çekirdeklerinde c-Fos immunoreaktivitesi gösteren hücreler (oklar), X160, (N. Keklikoğlu koleksiyonundan).

Resim 2. Herhangi bir deneysel stimülasyon uygulanmamış sıçan ince barsağındaki fibroblast çekirdeklerinde (f) kuvvetli c-Fos immunoreaktivitesi, X1000, (N. Keklikoğlu koleksiyonundan).

Resim 3. Herhangi bir deneysel stimülasyon uygulanmamış sıçan pankreası Langerhans adacığı hücrelerinin çekirdeklerinde kuvvetli (k), zayıf (z) ve negatif (n) c-Fos immunoreaktivitesi, X1000, (N. Keklikoğlu koleksiyonundan).

Resim 4. Herhangi bir deneysel stimülasyon uygulanmamış sıçan böbrek korteksinde glomeruluslarda (oklar) yoğunlaşan c-Fos immunoreaktivitesi, X63, (N. Keklikoğlu koleksiyonundan).

ÖZET

c-fos, Hücreleri etkileyerek büyüme ve farklılaşmayı sağlayan etkenler tarafından hızlı ve geçici transkripsiyonu sağlanan genlerdendir. Fos proteinleri de c-fos geninin ürünü olan çekirdek proteinleridir. c-fos Çekirdeksel üçüncü ulak

olarak değerlendirilir. IEG (İmmediate Early Gene) grubundan bir protoonkojen olan c-fos geni ve AP-1 (Activator Protein-1) ailesi üyesi onkoproteinlerden olan Fos proteinlerinin ekspresyonu ve birikimi çeşitli uyarılara yanıt olarak hücre aktivasyonu ile birlikte artar. Bu gen ve proteinler hücre çoğalması, farklılaşması ve programlı ölümünde (apoptosis) en önemli rolü oynamaktadırlar. Transkripsiyonun potansiyel aktivatörü olan c-fos geni ve Fos proteinleri bu biyolojik süreçlerle ilgisi yüzünden özellikle doğumsal anomalilerin, onkojenik transformasyonun ve normal gelişimin değerlendirilmesinde önemli bir anahtardır.

KAYNAKLAR

1. Greenberg ME, Ziff EB. Stimulation of 3T3 cells induces transcription of the c-fos proto-oncogene. *Nature* 1984; 311: 433-438
2. Fisch TM, Prywes R, Reeder RG. c-fos sequence necessary for basal expression and induction by epidermal growth factor, 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate and the calcium ionophore. *Mol Cell Biol* 1987; 7: 3490-3502
3. Roche E, Buteau J, Aniento I, Reig JA, Soria B, Prentki M. Palmitate and oleate induce the immediate-early response genes c-fos and nur-77 in the pancreatic beta-cell line INS-1. *Diabetes* 1999; 48: 2007-2014
4. Scholf C, Waring M, Bergwitz C, Arseniev L, von zur Muhlen A, Brabant G. Cyclic-adenosine 3',5'-monophosphate-stimulated c-fos gene transcription involves distinct calcium pathways in single beta-cells. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 186: 121-131

5. Zhu YS, Brodsky M, Franklin SO, Huang T, Inturrisi CE. Metrazole induces the sequential activation of c-fos, proenkephalin, and tyrosine hydroxylase gene expression in the rat adrenal gland: modulation by glucocorticoid and adrenocorticotropic hormone. *Mol Pharmacol* 1993; 44: 328-335
6. Susini S, Roche E, Prentki M, Schlegel W. Glucose and glucoincretin peptides synergize to induce c-fos, c-jun, junB, zif-268, and nur-77 gene expression in pancreatic β (INS-1) cells. *The FASEB Journal*. 1998; 12: 1173-1182
7. Stachowiak MK, Sar M, Tuominen RK, Jiang HK, An S, Iadarola MJ, Poisner A, Hong JS. Stimulation of adrenal medullary cells in vivo and in vitro induces expression of c-fos proto-oncogene. *Oncogene* 1990; 5: 69-73
8. Iwata K, Takahashi O, Tsuboi Y, Ochiai H, Hibiya J, Sakaki T, Yamaguchi Y, Sumino R. Fos protein induction in the medullary dorsal horn and first segment of the spinal cord by tooth-pulp stimulation in cats. *Pain* 1998; 75: 27-36
9. Glover JNM, Harrison SC. Crystal structure of the Heterodimeric bZIP Transcription Factor c-Fos/ c-Jun Bound to DNA. *Nature* 1995; 373: 257-261
10. Nankova BB, Rivkin M, Kelz M, Nestler EJ, Sabban EL. Fos-related antigen 2: potential mediator of the transcriptional activation in rat adrenal medulla evoked by repeated immobilization stress. *J Neurosci* 2000; 20: 5647-5653

11. Fleischmann A, Hafezi F, Elliott C, Reme EC, R  ther U, Wagner FE. Fra-1 replaces c-Fos-dependent functions in mice. *Gene and Dev* 2000; 14: 2695-2700
12. Fralix KD, Zhao S, Venkatasubbarao K, Freeman JW. Rap1 reverses transcriptional repression of TGF- β Type II receptor by a mechanism involving AP-1 in the human pancreatic cancer cell line, UK Pan-1. *Journal of Cellular Physiology* 2002; 194: 88-98
13. Kool J, Hamdi M, Cornelissen-Steijger P, van der Eb AJ, Terleth C, van Dam H. Induction of ATF3 by ionizing radiation is mediated via a signaling pathway that includes ATM, Nibrin1, stress-induced MAP kinases and ATF-2. *Oncogene*. 2003; 22: 4235-4242.
14. Stamp JA, Herber J. Multiple immediate-early gene expression during physiological and endocrine adaptation to repeated stress. *Neuroscience* 1999; 94: 1313-1322
15. Franchi A, Calzolari A, Zampi G. Immunohistochemical detection of c-fos and c-jun expression and cartilaginous tumours of the skeleton. *Virchows Arch* 1998; 432: 515-519
16. Angel P, Karin M . The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochem Biophys Acta* 1991; 1072: 129-157
17. Karin M, Zhend-gang L, Zandi E. AP-1 function and regulation. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 240-246
18. Foletta VC. Transcription factor AP-1, and the role of Fra-2. *Immunol Cell Biol* 1996; 74: 121-133

19. Bakiri L, Matsuo K, Wisniewvska M, Wagner EF, Yaniv M. Promoter specificity and biological activity of tethered AP-1 dimers. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 4952-4964
20. Chiarini LB, Freitas FG, Petrs-Silva H, Linden R. Evidence that the bifunctional redox factor/AP endonuclease Ref-1 is an anti-apoptotic protein associated with differentiation in the developing retina. *Cell Death Differ* 2000; 7: 272-281
21. Nishikawa S. Localization of transcription factor AP-1 family proteins in ameloblast nuclei of the rat incisor. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 2000; 48: 1511-1520
22. De Sousa SO, Mesquita RA, Pinto DS Jr, Gutkind S. Immunolocalization of c-Fos and c-Jun in human oral mucosa and in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2002; 31: 78-81
23. Lee CS, Charalambous D. Immunohistochemical localisation of the c-fos oncoprotein in pancreatic cancer. *Zentralbl Pathol* 1994; 140: 271-275
24. Roivainen A, Söderström KO, Pirila L, Aro H, Kortekangas P, Palo MR, Jama YT, Toivanen A, Toivanen P. Oncoprotein expression in human synovial tissue: an immunohistochemical study of different types of arthritis. *British Journal of Rheumatology* 1996; 35: 933-942
25. Ruch JV. Odontoblast commitment and differentiation. *Biochem Cell Biol* 1998; 76: 923-938
26. Sagen J, Wang H. Adrenal medullary grafts suppress c-fos induction in spinal neuron of arthritic rats. *Neurosci Lett* 1995; 192: 181-184

27. Sigan JB, Herzberg U, Frydel BR, Sagen J. Adrenal medullary transplants reduce formalin-evoked c-fos expression in the rat spinal cord. *Brain Res* 2002; 944: 174-183
28. Laorden ML, Nunez C, Almela P, Milanes MV. Morphine withdrawal-induced c-fos expression in the hypothalamic paraventricular nucleus is dependent on the activation of catecholaminergic neurones. *J Neurochem* 2002; 83: 132-140
29. Wang Z, Zheng H, Berthoud HR. Functional vagal input to chemically identified neurons in pancreatic ganglia as revealed by Fos expression. *Am J Physiol* 1999; 277: E958-64
30. Hoffman GE, Lyo D. Anatomical markers of activity in neuroendocrine systems: are we all 'fos-ed out'? *J Neuroendocrinol* 2002; 14: 259-268
31. Zheng H, Li YF, Weiss M, Mayhan GW, Patel PK. Neuronal expression of fos protein in the forebrain of diabetic rats. *Brain Research* 2002; 956: 268-275
32. Ahn S, Olive M, Aggarwal S, Krylov D, Ginty DD, Vinson C. A dominant-negative inhibitor of CREB reveals that is general mediator of stimulus-dependent transcription of c-fos. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 967-977
33. Oshitari T, Dezava M, Okada S, Takano M, Negishi H, Horie H, Sawada H, Tokuhisa T, Adachi-Usami E. The role of c-fos in cell death and regeneration of retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2442-2449

34. Morgan JJ, Curran T. Immediate-early genes: ten years on. *Trends Neurosci* 1995; 18: 66-67
35. Susini S, Van Haasteren G, Li S, Prentki M, Schlegel W. Essentiality of intron control in the induction of c-fos by glucose and glucocorticoid peptides in INS-1 β -cells. *The FASEB Journal* 2000; 14: 128-136
36. Knae S, Prentice MA, Mriano JM, Cuttitta F, Jakowlew SB. Differential induction of early response genes by adrenomedullin and transforming growth factor-beta1 in human lung cancer cells. *Anticancer Res* 2002; 22: 1433-1444
37. Cavigelli M, Dolfi F, Claret FX, Karin M. Induction of c-fos expression through JNK-mediated TCF/Elk-1 phosphorylation. *EMBO J* 1995; 14: 5957-5964
38. Lorenzini A, Tresini M, Maval-Dewan M, Frisoni L, Zhang H, Allen RG, Sell C, Cristofalo VJ. Role of the Raf/MEK/ERK and the PI3K/Akt(PKB) pathways in fibroblast senescence. *Exp Gerontol* 2002; 37: 1149-1156
39. Puchacz E, Stachowiak EK, Florkiewicz RZ, Lukas RJ, Stachowiak MK. Basic fibroblast growth factor (bFGF) regulates tyrosine hydroxylase and proenkephalin mRNA levels in adrenal chromaffin cells. *Brain Res* 1993; 610: 39-52
40. Skar R, Larsen TH, Serck-Hanssen G. Regulation of c-fos expression by IGF-I in bovine chromaffin cells: desensitization following cholinergic activation. *Mol Cell Endocrinol* 1994; 106: 213-220

41. Yoshitomi H, Fujii Y, Miyazaki M, Nakajima N, Inagaki N, Seino S. Involvement of MAP kinase and c-fos signaling in the inhibition of cell growth by somatostatin. *Am J Physiol* 1997; 272: E769-774
42. Sheerin A, Thompson KS, Goyns MH. Altered composition and DNA binding activity of the AP-1 transcription factor during the ageing of human fibroblasts. *Mec Ageing Dev* 2001; 122: 1813-1824
43. Tresini M, Lorenzini A, Frisoni L, Allen RG, Cristofalo VJ. Lack of Elk-1 phosphorylation and dysregulation of the extracellular regulated kinase signaling pathway in senescent human fibroblast. *Exp Cell Res* 2001; 269: 287-300
44. Cohen DR, Ferreira PC, Gentz R, Franza BR Jr., Curran T. The product of a fos-related gene, fra-1, binds cooperatively to the AP-1 site with Jun: Transcription factor AP-1 is comprised of multiple protein complexes. *Genes & Dev* 1989; 3: 173-184