

Bogdan Żurawski¹, Adrianna Makarewicz^{1,2},
Marta Biedka^{2,3}, Roman Makarewicz²

¹ Ambulatorium Chemioterapii, Centrum
Onkologii w Bydgoszczy

² Katedra i Klinika Onkologii i Brachy-
terapii Collegium Medicum w Bydgoszczy
Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika
w Toruniu

³ Oddział Radioterapii 1, Centrum
Onkologii w Bydgoszczy

Address for correspondence/
Adres do korespondencji:

Lek. med. Bogdan Żurawski
Ambulatorium Chemioterapii, Centrum
Onkologii w Bydgoszczy
ul. Romanowskiej 2,
85-796 Bydgoszcz
tel. 52 374 35 25
e-mail: bzur@wp.pl

Received: 09.05.2013

Accepted: 04.06.2013

Published: 27.03.2014

STATISTIC STATYSTYKA

Word count Liczba słów	1578
Tables Tabele	0
Figures Ryciny	0
References Piśmiennictwo	29

Implementation of biomarkers in cancer – the role of integrin b1

Zastosowanie biomarkerów w chorobach nowotworowych – rola integryny b1

Review article/Artykuł poglądowy

Summary

Integrins are a large family of transmembrane proteins involved in intercellular communication and in the contact of cells with extracellular matrix. They are present in healthy and cancer cells as well. They are important in many processes: among other things, thrombosis, angiogenesis and in the metastasis of the neoplastic cells.

Integrins expressed preferentially on various types of tumor cells and the activated endothelial cells of tumor angiogenesis. Therefore, the integrins receptors are becoming a valuable target for diagnosis and treatment of malignant tumors.

The aim of this article is to demonstrate a possible role of integrin b1 as a predictive and/or prognostic markers.

Key words: biomarkers, integrin, cancer

Streszczenie

Integryny to olbrzymia grupa białek przezbłonowych biorących udział w komunikacji międzykomórkowej i uczestniczących w kontaktach komórek z macierzą pozakomórkową. Obecne są, zarówno w komórkach prawidłowych, jak i nowotworowych. Odgrywają ważną rolę w wielu procesach, m. in. zakrzepowo-zatorowych, w angiogenezie oraz w procesie przerzutowania komórek nowotworowych.

Ekspresja integryn występuje na różnych typach komórek aktywując komórki śródbłonna guza do angiogenezy. Dlatego też receptory integryn są interesującym targetem dla diagnostyki i leczenia nowotworów złośliwych.

Celem pracy jest przedstawienie potencjalnej roli integryn, jako czynników predykcyjnych i/lub prognostycznych.

Słowa kluczowe: biomarkery, integryny, rak

WSTĘP

W codziennej praktyce klinicznej poszukuje się czynników, które mogłyby spełniać funkcję markera diagnostycznego, czy być wykładnikiem predykcyjnym i/lub prognostycznym choroby nowotworowej. Mimo identyfikacji wielu domniemanych markerów, tylko kilka z nich ma zastosowanie. Jakkolwiek w chwili obecnej nie istnieje pojedynczy marker różnicujący dobrze lub źle rokujących pacjentów. To sprawia, że są prowadzone liczne badania nad wykorzystaniem różnych czynników, jako markerów, w tym biomarkerów, takich jak: integryny.

Integryny to heterodimeryczne cząsteczki przezbłonowe zbudowane z podjednostek alfa(l) i beta(b). Oba te łańcuchy są niekonwencjonalnie związane i leżą w przestrzeni pozakomórkowej. W wiązaniu biorą udział jony wapnia i magnezu [2]. Za swoistość odpowiedzialna jest podjednostka „alpha”. Różne podjednostki „alpha” łączą się tylko z jednym typem podjednostki beta i wszystkie podgrupy definiuje się na tej podstawie. Stąd wyszczególniono integryny b1, b2, b3, itd. [3].

Integryny odgrywają kluczową rolę w wielu procesach:

- bezpośredniego wiązania i migracji komórek,
- adhezji,
- aktywacji białek sygnałowych,
- angiogenezie i limfoangiogenezie,
- powstawaniu guza i przerzutowaniu,
- zakrzepowo – zatorowych.

Udział cząsteczek adhezyjnych, w tym integryn, we wszystkich wymienionych procesach jest niepodważalny, co sprawia ogromny wzrost zainteresowania, tym tematem. Nadal nie satysfakcjonujące wyniki leczenia raka piersi, coraz młodszy wiek chorych i agresywny przebieg wymusza poszukiwanie nowych czynników predykcyjnych, prognostycznych oraz markerów diagnostycznych. Dane naukowe sugerują, że taką rolę w przyszłości mogą odegrać integryny [4].

Celem pracy, na podstawie badań własnych, jest zaprezentowanie aktualnych danych, dotyczących integryn i ich potencjalnego wykorzystania w praktyce klinicznej.

OMÓWIENIE

Integryny stanowią liczną i zróżnicowaną grupę cząstek adhezyjnych. Ich rola polega na adhezji komórek i przekazywaniu sygnału. Mają także wpływ na ekspresję genów, fosforylację kinaz białkowych oraz stężenie wolnego wapnia w komórkach [5]. Są to heterodimery zbudowane z łańcucha alfa (masa 130-210 kD) oraz beta (masa 90-130 kD) [6]. Połączone niekonwencjonalnym wiązaniem, w którym biorą udział dwuwartościowe kationy, a zwłaszcza jony wapnia i magnezu [5]. Wyodrębniono 8 podjednostek integryn: beta1-beta8. Każda z podjednostek ma zdolność utworzenia heterodimerycznego receptora z różnymi podjednostkami alfa. Wyjątek stanowi podjednostka alfav, która może wiązać kilka podjednostek beta np. alfav beta1, alfav beta3 [1,7].

Do grupy najlepiej poznanych należą: integryny beta1,2,3. Integryny beta1, noszą wspólną nazwę VLA (Very Late Antigen) lub CD 29 [7]. Nazwa „bardzo późne integryny” pochodzi od pierwszej identyfikacji cząsteczek na powierzchni komórek T. Bowiem integryny te biorą udział w wiązaniu komórek z macierzą pozakomórkową, spotykane są na większości komórek układu immunologicznego, charakterystyczne jest to, że nie występują na erytrocytach [8,9,10].

Rola integryn w procesach patologicznych, w tym nowotworzeniu i przerzutowaniu jest niepodważalna. Powstawanie przerzutów to proces wieloetapowy obejmuje: adhezję, czyli zdolność przylegania komórek nowotworowych do śródbłonna, diapedezę oraz enzymatyczną modyfikację (proteazy) istoty międzykomórkowej, umożliwiające migrację komórek nowotworowych. Celem tej wędrówki jest powstawanie ogniska wtórnego (przerzutowego). Stymulacja komórek nowotworowych oraz komórek śródbłonna do ekspresji cząsteczek adhezyjnych odbywa się z udziałem czynników wzrostowych oraz proteaz wydzielanych przez makrofagi, limfocyty, granulocyty tworzące nacieki wokół komórek nowotworowych [1,11].

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że integryny pełnią funkcję w procesie angiogenezy i limfoangiogenezy.

W etiopatogenezie nowotworów, coraz większą rolę przypisuje się procesom angiogenezy i limfoangiogenezy. Jest to bardzo ważne zagadnienie, wobec którego pokłada się olbrzymie nadzieje. Główne trendy badawcze są ukierunkowane na znalezienie nowych czynników predykcyjnych i prognostycznych. Dane naukowe sugerują, że wyższe stężenie czynników angiogennych koreluje z ilością naczyń w guzie i głębokością nacieku, czasem całkowitego przeżycia oraz życia bez cech choroby. Ustalono, że procesy angiogenezy mogą prowadzić do progresji choroby i gorszego rokowania w różnych lokalizacjach choroby nowotworowej [12,13,14].

Angiogeneza to proces tworzenia się nowych naczyń na bazie już istniejących kapilar, kontrolowany przez czynniki endogenne, które stymulują, bądź hamują rozwój naczyń [15]. Odgrywa ważną rolę w wielu zjawiskach, zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych, przebiega wieloetapowo. Nowotworzenie rozpoczyna się już w momencie, gdy guz składa się z kilkudziesięciu komórek, natomiast tworzenie nowych naczyń wg Folkmana przy wielkości guza 1–2 cm³. Proces angiogenezy jest niezbędny do dostarczenia składników odżywczych do guza. Zaburzenie adhezji komórek oraz niewłaściwe reakcje komórkowe są jednym ze składowych wzrostu guza i powstawania przerzutów, za które odpowiadają integryny [16,17].

Limfoangiogeneza współistnieje z procesami angiogenezy, m. in. w wyniku stymulacji VEGF-C, który pobudza procesy angiogenezy poprzez receptor VEGFR-2 i/lub pobudza procesy limfoangiogenezy poprzez receptor VEGFR-3. Czynnikiem inicjującym ten proces są: VEGF-C, VEGF-D, Prox- 1, Tie2, alfa9beta1 integryny, bFGF [18].

Droga limfatyczna jest najczęstszym sposobem rozprzestrzeniania się komórek nowotworowych, już w bardzo wczesnych etapach choroby. Tak jest m. in. w raku piersi. Kapilary limfatyczne mogą rozrastać się z istniejących już naczyń limfatycznych, w ten sam sposób, jak naczynia krwionośne. Istnieje hipoteza, że nowe naczynia formowane są w wyniku pobudzenia procesów zwanych limfoangiogenezą. Do niedawna zakładano, że system limfatyczny jest nieobecny „anatomicznie” w guzie oraz, że tworzenie naczyń limfatycznych to proces wtórny do angiogenezy, chociaż jednoczesowy wzrost naczyń krwionośnych i limfatycznych jest również możliwy [18,19]. Aktualnie coraz więcej faktów przemawia za tym, że procesy limfoangiogenezy są obecne od samego początku rozwoju choroby nowotworowej. Tak, więc oznaczanie integrzyn może nam wskazywać chore, u których procesy angiogenezy i limfoangiogenezy są aktywne, co może sugerować bardziej agresywny i/lub zaawansowany przebieg choroby [12].

Uważa się, że komórki nowotworowe wykazują pewne właściwe dla danego nowotworu preferencje do osiedlania się w poszczególnych narządach. Wykazano nadmierną ekspresję integrzyn beta4 oraz alfa6 na komórkach raka płaskonabłonkowego [20]. W badaniach nad rakiem płaskonabłonkowym szyjki macicy HPV16/18, zarówno negatywnych, jak i pozytywnych stwierdzono korelacje między stopniem atypii komórek nowotworowych a stopniem ekspresji integrzyn alfa 6 [6]. Integryna alfa beta3 pełni rolę w adhezji komórek czerniaka podczas kolonizacji węzłów chłonnych. Integryna alfa 2 beta1 odgrywa dużą rolę w tworzeniu przerzutów do węzłów chłonnych u chorych na raka żołądka. Integryna alfa2beta2 prawdopodobnie jest związana z tworzeniem przerzutów tego raka do otrzewnej [21]. Badania nad szczurami wykazały, że adhezja komórek raka okrężnicy do komórek śródbłonka naczyń w wątrobie, uwarunkowana była interakcją integrzyn alfa6, beta1, beta4 z ligandami na komórkach naczyń, a szybka ekstrakwazacja komórek nowotworowych do tkanki mięszu wątroby, była zależna od integrzyn alfa2, alfa6, beta1, beta4 [22].

Evelyn S. Yao i współpracownicy z Uniwersytetu z San Francisco wykazali, że zwiększony sygnał B1 integrzyn bierze udział w progresji nowotworowej u chorych na raka piersi, jak również przeciwciała hamujące b1 integrzyn prowadzi do selektywnej stymulacji apoptozy. Te wnioski przedstawiono na podstawie analizy ekspresji b1 na grupie 249 chorych z rakiem piersi, gdzie mediana czasu obserwacji wynosiła 8.4 roku. Te odkrycia pokazują, że ekspresja b1 integrzyn stanowi wartość prognostyczną w raku piersi i może pomóc w identyfikacji pacjentów z bardziej agresywnym przebiegiem choroby [23]. Miejmy nadzieję, że z czasem będzie możliwe zastosowanie terapii celowanych u tej grupy pacjentów.

W pracy Lawson'a i wsp. przedstawiono 150 chorych na raka drobnokomórkowego płuca, u których oceniano beta1 integrzynę. Podzielili oni guzy pod względem ekspresji na trzy stopnie: słabą, średnią i wysoką, wykazu-

jąc, że pacjenci z wysoką ekspresją mieli gorsze rokowanie i był to niezależny czynnik w analizie statystycznej [24].

Kolejną pracą analizującą wartość predykcyjną i prognostyczną integrzyn był raport dziecięcej grupy onkologicznej, dotyczący ostrych białaczek szpikowych. Walter i wsp. badał integrzynę należącą do „bardzo późnych integrzyn” VLA 4, jako niezależny czynnik predykcyjny redukcji ryzyka nawrotu i wykazał, że u pacjentów z wysokim ryzykiem nawrotu choroby i krótkim czasem wolnym od choroby była niska ekspresja VLA-4, w przeciwieństwie do grup chorych o średnim i niskim ryzyku nawrotu choroby, gdzie ekspresja VLA-4 była wysoka [25].

Pierwszym antagonistą integrzyn, który został dopuszczony do badań klinicznych był Vitaxin. Jest to humanizowana pochodna mysiego przeciwciała LM609 przeciwko integrynie alfa1, beta3, przeciwciała, które było używane do badań nad rolą tej cząstki adhezyjnej w procesie nowotworzenia [26]. W 2001 roku opublikowano wyniki badania, w którym stosowano Vitaxin w leczeniu mięsaka gładkokomórkowego. Włączono do badania 15 pacjentów, u 9 z nich punktem wyjścia był przewód pokarmowy. Vitaxin podawano raz w tygodniu w 90 minutowym wlewie dożylnym w dawce 0,25 mg/kg. Maksymalny czas leczenia wynosił 6 miesięcy. U żadnej z osób nie stwierdzono regresji guza, u 5 pacjentów osiągnięto stabilizację, natomiast u pozostałych wystąpiła progresja choroby [27]. W 2005 roku podczas zjazdu Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (ang. American Society Clinical Oncology – ASCO) zaprezentowano wyniki badania II fazy leczenia Vitaxinem pacjentów z powodu rozsianego czerniaka. Do badania włączono 112 pacjentów uprzednio nie leczonych. Podawano Vitaxin w dawce 8 mg/kg/ na tydzień oraz dakarbazynę (DTIC) w dawce 1000 mg/m² co 21 dni. 57 pacjentów było leczonych Vitaxinem w monoterapii, a 55 chorych zakwalifikowano do leczenia Vitaxinem z DTIC. W grupie leczonej Vitaxinem odsetek całkowitych odpowiedzi wyniósł 0%, EDPR (wskaźnik wczesnej progresji choroby) 49%, czas wolny od progresji choroby wyniósł 1,4 miesiąca. W ramieniu obejmującym leczenie skojarzone odsetek całkowitych odpowiedzi wyniósł 13%, EDPR (wskaźnik wczesnej progresji choroby) 38%, czas wolny od progresji choroby wyniósł 2,6 miesiąca. Na podstawie tych wyników autorzy badania wyciągnęli wnioski, iż Vitaxin może być skuteczną terapią w leczeniu zaawansowanego czerniaka w monoterapii, jak i w skojarzeniu z DTIC [28]. Kolejnym lekiem jest Cilengitide. Jest syntetycznym peptydem, który wiąże się z receptorami alfavbeta3, alfavbeta5 komórek śródbłonka powodując ich apoptozę. W 2007 roku opublikowano badania II fazy z użyciem tego leku u pacjentów z glejakami złośliwymi. Do badania włączono 51 pacjentów, u 5 zaobserwowano obiektywną odpowiedź, u 16 stabilizację. Lek był podawany w dawce 2400 mg/m² dożylnie dwa razy w tygodniu [29]. W literaturze pojawiają się doniesienia o potencjalnym wykorzystaniu klarytromycyny, która w badaniach in vitro hamuje wzrost komórek raka gru-

czołowego płuca, częściowo poprzez zmniejszenie ekspresji integrzyn alfa2 beta1 [28].

PODSUMOWANIE

Dotychczasowe badania nad rolą integrzyn nie dają jasnych wytycznych, co do ich wartości, jako czynnika predykcyjnego, prognostycznego i markera diagno-

stycznego. Konieczne są dalsze badania nad zrozumieniem biologii nowotworu i roli integrzyn w powstawaniu i przerzutowaniu choroby nowotworowej. Badania wskazują, że integrzyny mogą stać się ważnym narzędziem w leczeniu nowotworów złośliwych, dlatego ważne jest prowadzenie dalszych badań nad ich potencjalnym wykorzystaniem w codziennej praktyce klinicznej.

References/Piśmiennictwo:

1. Van der Flier A., Sonnenber A. Function and interactions of integrins. *Cell Tissue Res*, 2001; 305: 285 – 298.
2. Borowska K., Jędrzych B., Czerny K. Udział integrzyn w procesach fizjo- i patologicznych. *Pol Merkuriusz Lek*, 2006; XXI: 124, 362.
3. Rosen PP., Groshen S., Saigo PE., Kinne DW., Hellman S. Pathological prognostic factors in stage I and stage II breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow – up of 18 years. *J Clin Oncol*, 1989; 7: 1239 – 1251.
4. Aplin AE., Howe AK., Juliano RL. Cell adhesion molecules, signal transduction and cell growth. *Curr Opin Cell Biol*, 1999; 11:737 – 744.
5. Czyż M. Regulacja ekspresji integrzyn. *Acta Hematol Pol*, 2000; 31, 1: 17 – 23.
6. Kędzia W., Schmidt M., Jasiński M. i wsp. Integryna alpha-6 w rakach płaskonabłonkowych szyjki macicy HPV 16/18 pozytywnych i negatywnych. *Ginekolog Pol*, 2001; 72, 4: 2005 – 2011.
7. Liu Y., Pixley R., Fusaro M., et al. Cleaved high – molecular – weight kininogen and its domain 5 inhibit migration and invasion of human prostate cancer cell through the epidermal growth factor receptor pathway. *Oncogene*, 2009; 28: 2750 – 2785.
8. Braun – Falco O., Plewig G., Wolff HH. i wsp. *Dermatologia*. Wydawnictwo Czelej. Tom I. 2002; 33 – 35.
9. Iżycka A., Jabłońska E. Rola cząsteczek adhezyjnych w chorobie nowotworowej. *Pol Merkuriusz Lek*, 2002; 13, 76: 343 – 348.
10. Juliano LR., Varner JA. Adhesion molecules in cancer. The role of integrins. *Curr Opin Cell Biol*, 1993; 5: 812 – 1118.
11. Stupack DG. The biology of integrins. *Oncology*, 2007; 21: 6 – 15.
12. Vermeulen PB., Gasparini G., Fox SB., et al. Quantification of angiogenesis solid human tumours an: international consensus on the methodology and criteria of evaluation. *Eur J Cancer*, 1996; 14: 2474 – 2484.
13. Obermair A., Wanner C., Bilgi S., et al. Tumor angiogenesis in stage IB cervical cancer: correlation of microvessel density with survival. *Am J Obstet Gynecol*, 1998; 178: 314 – 319.
14. Schoppmann S., Fenzl A., Schindl M., et al. Hypoxia inducible factor-1 α correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2006; 99: 135 – 140.
15. Biedka M., Makarewicz R., Lebioda A., Kardymowicz H., Goralewska A. Naczyniowo – śródbłonkowy czynnik wzrostu C, jako czynnik predykcyjny w raku szyjki macicy. *Współcz Onkol*, 2010; 14: 87 – 92.
16. Conway E., Collen D., Carmeliet P. Molecular mechanism of blood vessel growth. *Cardiovasc Res*, 2001; 49: 507 – 521.
17. Alitalo K., Carmeliet P. Molecular mechanisms of lymphangiogenesis in health and disease. *Cancer Cells*, 2002; 4: 219 – 226.
18. Biedka M., Makarewicz R., Kopczyńska E., Marszałek A., Kardymowicz H., Goralewska A. Angiogenesis and lymphangiogenesis as prognostic factors after therapy in patients with cervical cancer. *Współcz Onkol*, 2012; 16: 6 – 11.
19. Drake C., La Rue A., Ferrara N. VEGF regulates cell behavior during vasculogenesis. *Dev Biol*, 2000; 224: 178 – 188.
20. Gassman P., Enns A., Haier J. Role of tumor cell adhesion and migration in organ - specific metastasis formation. *Oncology*, 2004; 27: 577 – 582.
21. Eble J., Heier J. Integrins in cancer treatment. *Curr Cancer Drug Targets*, 2006; 6: 89 – 105.
22. Enns A., Gassman P., Schluter K., et al. Integrins can directly mediate tumor cell adhesion within the liver sinusoids. *J Gastr Surg*, 2004; 8: 1049 – 1051.
23. Ewlyn S., Yao Hui Zhang et al. Increased b1 integrin is associated with decreased survival in invasive breast cancer. *Can Res*, 2007; 67: 659 – 664.
24. Lawson M., Cummings N., Rassl D., et al. Bcl-2 and b1-integrin predict survival in a tissue microarray of small cell lung cancer. *Br J Cancer*, 2010; 103: 1710 – 1715.
25. Roland B. Walter, Todd A. Alonzo, Robert B., et al. High Expression of the Very Late Antigen-4 Integrin Independently Predicts Reduced Risk of Relapse and Improved Outcome in Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Report From the Children’s Oncology Group. *J Clin Oncol*, 2012; 28: 2831 – 2839.
26. Rolski J., Niemiec M. Inhibitory integrzyn w leczeniu nowotworów. *Współcz Onkol*, 2006; 12: 374 – 375.
27. Patel SR., Jenkins J., Papadopolus N., et al. Pilot study of vitaxin – an angiogenesis inhibitor – in patients with advanced leiomyosarcomas. *Cancer*, 2001; 92: 1340 – 1348.
28. Hersey P., Sosman J., et al. A phase III, randomized, open – label study evaluation the antitumor activity of MEDI-522, a humanized monoclonal antibody direct against the human alpha v beta 3(avb3)integrin+/-dacarbazine in patients with metastasitic melanoma (MM). *J Clin Oncol*, 2005; 750.
29. Nabors LB., Mikkelsen T., Rosenfeld S., et al. Phase I and correlative biology study of cilengitide in patients with recurrent malignant glioma. *J Clin Oncol*, 2007; 25: 1651 – 1657.