

Przedstawiono aktualny stan wiedzy o różnych mechanizmach działania Herceptyny w komórkach raka z nadekspresją receptorów HER2, czyli białka p185. Badania podstawowe i kliniczne uzasadniły wprowadzenie monoklonalnego przeciwciała przeciwko białku p185 (Herceptyny) do terapii przeciwnowotworowej oraz pozwoliły na wypracowanie nowoczesnej strategii postępowania leczniczego nazywanej z ang. receptor enhancement chemosensitivity (REC). Jest ona oparta na zjawisku uczulania za pomocą Herceptyny komórek nowotworowych z nadekspresją receptorów HER2 na chemiczne leki przeciwnowotworowe. W wyniku takiego uczulenia lek chemiczny podawany w skojarzeniu z tym przeciwciałem trafia wybiórczo do komórek nowotworowych z nadekspresją receptorów HER2, ponieważ jest podawany na tarczę molekularną, czyli na określoną onkoproteinę, którą w tym przypadku jest białko receptora HER2.

Badania innych autorów, dotyczące również receptorów z rodziny HER wykazały, że rozwój i progresja złośliwego fenotypu nowotworów pochodzenia nabłonkowego z nadekspresją receptorów p185, opiera się na 3-punktowej osi wyznaczonej przez działanie 3 wzajemnie regulujących się onkoprotein: heterodimeru receptorów HER2 i HER3, autokrynnie produkowanych heregulin (HRG) i cyklooksygenazy 2 (COX2). Centralnym ogniwem tej osi jest heterodimer receptorów HER2/HER3. Zablokowanie tego ogniwa Herceptyną neutralizuje mitogenną aktywność pozostałych 2 onkoprotein. W przypadku autokrynnych heregulin bowiem ten właśnie heterodimer stanowi główny element na drodze przekazywania sygnałów mitogennych przez heregulinę, natomiast w przypadku cyklooksygenazy 2, heterodimer ten indukuje onkogeną, konstytucjonalną aktywację genu COX2.

Słowa kluczowe: rak gruczołu piersiowego, Herceptyna, receptory rodziny HER, cyklooksygenaza 2, heregulina.

Wielokierunkowe działanie Herceptyny w komórkach raka z nadekspresją receptora HER2 (białka p185)

Manysided herceptin action in HER2 overexpressing cells

Wojciech Kozłowski, Ewa Szacikowska

Zakład Patomorfologii Klinicznej CSK WAM w Warszawie

WSTĘP

Nie jest przypadkiem, że rolę receptorów z rodziny HER w progresji nowotworów pochodzenia nabłonkowego u ludzi dostrzeżono najpierw w tych przypadkach raków, w których były zamplifikowane geny kodujące 2 z tych receptorów, mianowicie gen HER1 kodujący receptor nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR) i/lub gen HER2 kodujący receptor HER2, czyli białko p185.

Jak wiadomo, amplifikacja genu polega na zwielokrotnieniu prawidłowej jego kopii w komórce i jest równoznaczna z onkogeną aktywacją w przypadku protoonkogenu. Wszystkie zamplifikowane kopie takiego genu wykazują ekspresję/nadekspresję i prowadzą do pojawiania się co prawda prawidłowych receptorów na powierzchni błon komórkowych, jednak wówczas liczba tych receptorów jest znacznie większa niżeli na powierzchni komórek prawidłowych. Taka sytuacja molekularna receptorów prowadzi do gwałtownej zmiany ich funkcji [1]. W tej nowej sytuacji receptory HER jak gdyby *zapominają*, że w warunkach prawidłowych przekazywały tylko sygnały mitogenne pochodzące od zewnątrzkomórkowych czynników wzrostu (regulacja parakrynną). Receptory HER przy takim ich zagęszczeniu na powierzchni komórek, zaczynają niezależnie od parakrynnych czynników wzrostu same wysyłać mitogenne sygnały (wzbudzać kaskady fosforylacji), idące szlakiem ras-raf-MAPKs do macierzystego jądra komórkowego. Sygnalizacja ta jest tak dalece niezależna od czynników wzrostu znajdujących się na zewnątrz komórki, że może odbywać się nawet pod nieobecność tych czynników wzrostu, co praktycznie oznacza, że te mitogenne sygnały wysyłane przez pomnożone receptory HER, są fałszywe [1]. Sygnały te prowadzą do uaktywniania licznych cytoplazmatycznych kinaz białkowych, które całymi kaskadami przenoszą reszty fosforanowe aż do MAPKs (*mitogen activated protein kinase*).

W tej sytuacji MAPKs ulegają fosforylacji na resztach treoninowych i tyrozynowych [2]. Powstaje podwójnie ufosforylowana, bardzo aktywna biologicznie postać MAPKs. A właśnie liczba tych aktywnych MAPKs gwałtownie wzrasta po amplifikacji genu HER. Zwiększenie ilości form aktywnych MAPKs wiąże się zawsze z rozregulowaniem sygnałów kontrolujących wzrost prowadząc dalej do aktywacji kaskad fosforylacji MAPKs (kinaz strumienia dolnego) odgrywających zasadniczą rolę w progresji cyklu komórkowego [2]. Komórki takie zaczynają gwałtownie proliferować. Zatem można przyjąć, że amplifikacja genów rodziny HER, poprzez kodowane przez te geny receptory nadaje komórkom, w których występuje cechy wyjątkowo złośliwego fenotypu. W praktyce najczęściej mamy do czynienia z amplifikacją genu HER2. Łączy się ona często z nadekspresją wszystkich zamplifikowanych kopii genów, prowadząc do pojawienia się wyjątkowo dużej liczby receptorów HER2 (białka p185) na powierzchni takich komórek. Nic więc dziwnego, że takie przypadki jako jedne z najbardziej złośliwych były klinicznie najłatwiejsze do zaobserwowania. Już w połowie lat 80. klinicyści powiązali występowanie amplifikacji genu HER2 ze szczególnie złośliwością niektórych nowotworów pochodzenia nabłonkowego u ludzi. Rak piersi był jednym z pierwszych, w którym opisywano amplifikację tego genu, wiążąc ją z dużą dynamiką procesu nowotworowego, złym rokowaniem i dużą śmiertelnością. Wkrótce okazało się, że dotyczy to również wielu innych nowotworów, w których występuje amplifikacja tego genu. W przypadku raka piersi wcześniej zwrócono uwagę na fakt, że przypadki z amplifikacją genu HER2 bardzo słabo poddają się leczeniu adjuwantowemu, zarówno hormonalnemu, jak i chemicznemu [3, 4]. Nic więc dziwnego, że rodzina receptorów HER, w szczególności zaś receptor HER2 skupił na sobie wyjątkową uwagę zarówno klinicystów, jak i medycyny doświad-

The present state of art is presented on various mechanisms of Herceptin action in cancer cells with overexpression of HER2 receptors, that is p185 protein. Basic and clinical studies justified the introduction of monoclonal antibody against p185 protein (Herceptin) to antitumour treatment and made possible to develop a modern strategy of therapeutic management, called receptor enhancement chemosensitivity (REC). It is based on the phenomenon of sensitization by Herceptin of malignant cells with HER2 receptor overexpression to chemical antitumour preparations. In the result of such sensitization, a chemotherapeutic agent administered in combination with the antibody reaches selectively tumour cells with HER2 receptor overexpression. Since it is administered onto molecular target, that is onto a definite oncoprotein which, in this case, is HER2 receptor protein. Also studies on the receptors of the HER family performed by other authors demonstrated that the development and progression of malignant phenotype of epithelial tumours with p185 receptor overexpression are based on a three-point axis determined by the effects of three oncoproteins mutually regulating each other: heterodimer of HER2 and HER3 receptors, heregulins (HRG) produced by autocrine mechanism and cyclo-oxygenase 2 (COX2). The central link of this axis is HER2/HER3 heterodimer. The blockade of this link by Herceptin neutralizes mitogenic activity of the remaining two oncoproteins. In the case of autocrine heregulins, this heterodimer is the main element in transmission pathway of mitogenic signals by heregulins while in the case of cyclo-oxygenase 2, this heterodimer induces oncogenic, constitutional COX 2 gene activation.

Key words: breast cancer, Herceptin, HER receptors family, cyclooxygenase 2, heregulin.

czalnej. Zaowocowało to lawiną badań. Pod koniec lat 80. rozstrzygnięto kluczowy problem dotyczący nadekspresji receptora HER2 (białka p185) w nowotworach pochodzenia nabłonkowego u ludzi. Opublikowano w tym czasie wyniki badań przeprowadzonych na komórkach transfekowanych genem HER2 i na zwierzętach transgenicznym. W pracach tych wykazano, że prawdziwa jest hipoteza, iż zwiększona produkcja receptora HER2 (p185) jest nie tylko markerem, ale bezpośrednio uczestniczy w patogeniezie i wpływa na kliniczną agresywność guzów wykazującą taką nadprodukcję [5–7]. Należy podkreślić, że wyniki te były następnie w latach późniejszych wielokrotnie potwierdzone przez różne ośrodki badawcze na świecie i dziś jako niepodważalne stanowią bardzo obszerny materiał [8–13].

Skoro wykazano, że zwiększona liczba receptorów HER2 (białka p185) na powierzchni błony komórkowej bezpośrednio uczestniczy w patogeniezie raka i jest wyznacznikiem jego wyjątkowej agresywności, naturalną kolejną rzeczą był pomysł, aby sprawdzić, czy te receptory można blokować swoistym przeciwciałem i w ten sposób neutralizować ich działanie. Pod koniec lat 80. podjęto pierwsze tego rodzaju próby w badaniach *in vitro* [14]. Tak właśnie wyglądały skromne początki badań nad monoklonalnym przeciwciałem anti-p185, które obecnie w postaci preparatu pod nazwą Herceptyna wkracza progresywnie na całym świecie do leczenia raka piersi z nadekspresją receptora HER2 (białka p185). Od czasu pierwszych prób z monoklonalnym przeciwciałem anti-p185 minęło 10 lat. W ciągu tych lat prowadzono intensywne badania nad działaniem tego przeciwciała w komórkach raka z nadekspresją receptora HER2. Badania te doprowadziły do wykrycia faktu uczulania przez stosowane przeciwciało takich komórek raka na chemiczne leki przeciwnowotworowe. Dało to podstawy do wypracowania nowoczesnej strategii postępowania leczniczego o nazwie *receptor enhancement chemosensitivity* – REC, która obecnie ciągle jest udoskonalana [15].

W ciągu minionych 10 lat dokonał się również ogromny postęp wiedzy onkobiologicznej. Dzięki technikom biologii molekularnej poznaliśmy wiele nowych faktów, które rzuciły zupełnie nowe światło na zjawiska związane z progresją nowotworów pochodzenia nabłonkowego u ludzi z udziałem zamplifikowanego genu HER2. Ogromne znaczenie dla postępu wiedzy dotyczącej progresji tych raków miały również intensywnie prowadzone badania podstawowe nad receptorami z rodziny HER. Szczególnie interesujące dane przyniosły wyniki uzyskane w ciągu ostatnich kilku lat. Wyniki tych badań doprowadziły do przesunięcia środka ciężkości w rozumieniu tych nowotworów z produktu omawianego genu, czyli receptora HER2 (białka p185) na heterodimer receptorów HER2/HER3, co z jednej strony zachowało ogromne faktyczne znaczenie receptora HER2, z drugiej zaś ujawniło bardzo waż-

ną rolę receptora HER3, o którym jeszcze kilka lat temu wiedziano bardzo niewiele [16]. Również wyniki lat ostatnich wykazały podstawowe znaczenie autokrynej ekspresji heregulin (HRGs) dla kancerogenezy i progresji fenotypu złośliwego nowotworów pochodzenia nabłonkowego z amplifikacją genu HER2, co bezpośrednio wiąże się z działaniem heterodimeru receptorów HER2/HER3 [17]. Także wynikiem badań ostatnich lat jest zidentyfikowanie nowego onkogenu, którego produkt – enzym cyklooksigenaza 2 odgrywa ogromną rolę w kancerogenezie nowotworów nabłonkowych. W 1999 r. przedstawiono wyniki badań, w których wykazano współdziałanie i wzajemne regulowanie się wymienionych wyżej trzech onkoprotein, czyli heterodimeru receptorów HER2/HER3, autokrynnie produkowanych heregulin i cyklooksigenazy 2, pozwalające sformułować 3-punktową oś, na której opiera się zaburzenie wzrostu komórek nowotworowych pochodzenia nabłonkowego u ludzi [18]. Sformułowanie takiej 3-punktowej osi, działającej jako pewna całość w związku z daleko idącymi współzależnościami między 3 tworzącymi ją onkoproteinami, pokazuje nowe mechanizmy pośredniego działania Herceptyny, poprzez które hamuje ona bardzo skutecznie nowotworową dynamikę cyklu komórkowego, niwecząc działanie całej tej osi.

Celem artykułu jest naświetlenie wszystkich punktów działania Herceptyny w komórkach raka z nadekspresją receptorów HER2 dla pełnego pokazania działania tego przeciwciała, co wykracza daleko poza płaszczyznę oddziaływania antygen-przeciwciała.

WYPRACOWANIE STRATEGII POSTĘPOWANIA LECZNICZEGO O NAZWIE RECEPTOR ENHANCEMENT CHEMOSENSITIVITY – REC

Jak już wspomniano, pierwsze próby blokowania receptora HER2 (białka p185) za pomocą monoklonalnego przeciwciała skierowanego przeciwko p185, pochodzą z końca lat 80. [14]. Kolejne lata badań przedklinicznych przeprowadzonych *in vitro* i *in vivo*, dostarczyły dowodów na to, że wymienione przeciwciała hamują znamienne wzrost komórek guza, wykazujących nadekspresję receptora HER2 (białka p185) [19–23]. Te zachęcające wyniki doprowadziły do przeprowadzenia w 1996 r. pierwszej próby klinicznej dożylnego podania *recombinant humanized anti-p185 HER2 antibody* [rhu Mab HER2 (Herceptin)], pacjentkom z rakiem piersi wykazującym nadekspresję białka p185, u których wystąpiły liczne przerzuty po intensywnym rutynowym leczeniu chemicznym [24]. W pracy tej wykazano, że podane przeciwciało jest aktywne klinicznie i nie daje efektu toksyczności. Tymczasem intensywnie prowadzone badania podstawowe, konsekwentnie wykazywały, że działanie monoklonalnych przeciwciał anti-p185 jest skutecznym sposobem uczulania komórek nowotworowych z nadekspresją genu HER2 na chemiczne leki przeciwnowotworowe [19, 21–23, 25, 26].

Badania komórek raka piersi i jajnika z amplifikacją genu HER2 u ludzi, przeprowadzono na dużą skalę celem sprawdzenia wpływu tych przeciwciał podanych pojedynczo i w kombinacji z cis-diaminodichloroplatiną (CDDP) [22]. Badania przeprowadzone zarówno na liniach komórkowych *in vitro*, jak i *in vivo* na bezgrasicznych myszach wykazały, że wpływ monoklonalnych przeciwciał, swoistych dla zewnątrzkomórkowego epitopu białka p185, stosowanych pojedynczo, daje efekt cytostatyczny, a w kombinacji ze stosowanym lekiem – cytotoksyczny, podnosząc znacznie skuteczność działania leku [22]. Wpływ podawania leku i przeciwciała okazał się specyficznie wybiórczy dla komórek wykazujących nadprodukcję białka p185, i był obserwowany przy bardzo niskim stężeniu przeciwciała, przy którym po podaniu wyłącznie przeciwciała nie obserwowano efektu w ogóle. Stosowanie kojarzonego podawania przeciwciała z lekiem nie prowadziło do wzrostu toksyczności ogólnej u myszy i dawało całkowitą remisję przeszczepów guzów ludzkiego raka piersi u badanych zwierząt. Obserwowany synergizm związany jest, jak wykazano [22, 23, 27], z wewnątrzkomórkowym blokowaniem zdolności naprawczych DNA przez stosowane przeciwciała. W wyniku tego działania uszkodzenia DNA wywołane przez CDDP były większe i większa liczba komórek guza uruchamiała mechanizm zaprogramowanej śmierci komórki. Ta zaobserwowana synergistyczna aktywność została nazwana REC (*receptor enhancement chemosensitivity*) i ma ogromne potencjalne perspektywy zastosowania klinicznego ze względu na wysoką swoistą aktywność jedynie wobec komórek z nadekspresją białka p185 oraz ze względu na statystycznie znamienne zwiększanie potencjału zabijania takich komórek [22]. W pierwszej pracy klinicznej, w której przedstawiono rezultaty zastosowania tej strategii włączającej kombinację CDDP i monoklonalnych przeciwciał u pacjentek z rakiem piersi z amplifikacją genu HER2, opornych na chemioterapię, zaprezentowano wyniki tak niezwykle zachęcające, że stały się one zapowiedzią dalszych tego typu prób klinicznych [28], przeprowadzanych z zastosowaniem również innych leków przeciwnowotworowych (np. antracyklin czy taksanów), które uzyskały bardzo dobre wyniki w badaniach przedklinicznych [26]. Najnowsze badania przedkliniczne i podstawowe wykazały addytywny lub synergistyczny sposób działania szerokiego spektrum chemicznych leków przeciwnowotworowych w połączeniu ze swoistymi monoklonalnymi przeciwciałami anty-p185 i w pełni potwierdziły doniesienia wcześniejsze [29]. Również najnowsze badania kliniczne potwierdziły skuteczność tego typu leczenia [30]. W 1999 r. po raz drugi została wykonana kliniczna próba skuteczności i bezpieczeństwa podawania rhu Mab HER2 – Herceptyny, pacjentkom z rakiem piersi, wykazującym nadekspresję receptora HER2 [31]. Grupa badanych pacjentek obejmowała 222 przypadki i była 5-krotnie liczniejsza niż zbadała w 1996 r., kiedy to dokonano pierwszej

takiej próby. Do badania tego zakwalifikowano również i tym razem pacjentki, u których wystąpiły liczne przerzuty po intensywnym leczeniu chemicznym. Wielorakie korzyści z zastosowanej terapii, trwała obiektywna odpowiedź i korzystny profil toksyczności – oto podstawowe wyniki uzyskane w tej pracy, której autorzy wnioskują, że podawanie rhu Mab HER2 jest nowym ważnym sposobem leczenia pacjentek z guzami wykazującymi nadekspresję genu HER2 [31].

Z omawianych wyżej wyników uzyskanych w pracach podstawowych, przedklinicznych i klinicznych wynika, że strategia REC góruje nad leczeniem wg konwencjonalnych sposobów leczenia chemicznego, głównie ze względu na dużą skuteczność, brak toksyczności i wysoce swoiste działanie polegające na kierowaniu leku na tarczę molekularną, czyli na ściśle określoną onkoproteinę, którą w tym przypadku jest receptor HER2 (p185).

Badania podstawowe kilku ostatnich lat koncentrowały się na badaniu sposobu powstawania i działania w komórce raka heterodimeru receptorów HER2/HER3, co doprowadziło do ujawnienia kolejnych korzyści terapeutycznych wynikających z podawania Herceptyny.

HETERODIMER RECEPTORÓW HER2/HER3 – JEDNA Z NAJAGRESYWNIEJSZYCH ONKOPROTEIN

Wieloletnie poszukiwania ligandu receptora HER2 zostały zakończone, nie dlatego, że znaleziono peptydowy czynnik wzrostu, który może wiązać się z tym receptorem aktywując go. Okazało się bowiem, iż receptor ten ulega aktywacji na zupełnie innej zasadzie aniżeli pozostałe receptory rodziny HER lub też w ogóle inne receptory wymagające kontaktu ze swoistymi dla nich ligandami. Sposób aktywacji tego receptora jest szczególny i zapewne dlatego towarzyszą temu szczególne skutki [32, 33]. Otóż receptor HER2 (białko p185) nie przyłącza bezpośrednio żadnego ligandu lecz może ulegać bardzo silnej aktywacji katalitycznej przez ligandy heterologiczne, a więc przyłączane przez inne receptory HER, po warunkiem, że sam utworzy z tymi receptorami kompleks dimeryczny [32, 33]. Tych ligandów jest wiele, toteż stopień aktywacji receptora HER2 może być bardzo różny w utworzonych heterodimerach. Zależy to z jednej strony od rodzaju innego receptora rodziny HER, z którym receptor HER2 utworzy heterodimer, z drugiej zaś strony od tego, z jakim ligandem związany jest inny receptor wchodzący w skład takiego kompleksu dimerycznego. Dwa podstawowe typy ligandów biorą udział w aktywacji receptorów rodziny HER. Są to peptydowe czynniki wzrostu typu EGF i typu HRG (heregulin) [34]. Jednak, co należy w tym miejscu podkreślić, o pracy pozostałych receptorów z rodziny HER decyduje receptor HER2, wpływający na trwałości po-

wiązania ligandu z receptorem. I tak, gdy liczba receptorów HER2 na powierzchni komórek zaczyna wyraźnie przekraczać liczbę takich receptorów na powierzchni prawidłowych komórek nabłonkowych, trwałość powiązania ligandu z receptorami HER znacznie wzrasta, z równoczesnym wzrostem trwałości utworzonych przez takie receptory heterodimerów. Ma to zasadnicze znaczenie dla losów komórki. Jak już wcześniej wspomniano, heterodimery te przy zwiększonej ilości receptorów HER na powierzchni komórek, wysyłają nasilone sygnały mitogenne kaskadami fosforylacji szlakiem ras-raf-MAPKs, prowadząc do intensyfikacji podziałów komórkowych [33]. Dlatego też przy nadekspresji receptora HER2 trwałość tych heterodimerów wzrasta, nabierają one charakteru onkoprotein i stają się odpowiedzialne za wzrost proliferacji takich komórek. W procesach tych szczególną rolę odgrywa heterodimer receptorów HER2/HER3, ponieważ jest on najsilniejszym mitogenem wśród wszystkich heterodimerów tworzonych przez receptory rodziny HER [32, 33]. Sprawne powstawanie tego heterodimeru w komórkach raka prowadzi do wzrostu złośliwości jego fenotypu. Aby heterodimer ten mógł tworzyć się w znacznych ilościach, poza nadekspresją receptora HER2 musi być w komórkach raka spełniony jeszcze jeden warunek. Niezbędny jest zwiększony poziom autokrynnie produkowanych heregulin (HRGs) [35] (w niektórych pracach określane są one jako *neu differentiation factor* – NDF).

ROLA AUTOKRYNNIE PRODUKOWANYCH HEREGULIN

Heregulin (ponad 15 aktywnych biologicznie izoform) są peptydami wzrostowymi. W komórkach nowotworów pochodzenia nabłonkowego u ludzi, peptydy te wiążą się swoiście z receptorem HER3 (jak również z HER4) jako ligandy, prowadząc do aktywacji tych receptorów oraz ich spontanicznej i preferencyjnej heterodimeryzacji z receptorem HER2 (białkiem p185) [33, 34–37]. W heterodimerze HER2/HER3 obydwaj receptory szczególnie intensywnie aktywują się wzajemnie, a powstały kompleks jest wyjątkowo trwały, co ogromnie przedłuża jego mitogenne działanie [32–34].

Z prac innych autorów wiadomo, że nabłonkowe komórki gruczołu piersiowego po transformacji nowotworowej wykazują zwiększoną ekspresję mRNA HRGs i immunoreaktywnych izoform tego peptydowego czynnika wzrostu [17]. Równie istotnym faktem badawczym było sklonowanie w jednej z linii komórkowej raka piersi nowej izoformy heregulin – gamma-HRG, która nie ulega ekspresji w prawidłowym nabłonku, pojawia się jednak po transformacji nowotworowej i jak wykazano, która jest włączana w autokrynnym mechanizmie wzrostu nowotworowego [38]. Z wcześniejszych prac [39] również było wiadomo, że HRGs prowadzą do aktywacji receptora HER2 i pobudzają wzrost komórek raka piersi, tak-

że pod nieobecność estrogenów. Cytowane prace pokazują wyraźnie, że w komórkach raka piersi dochodzi do intensyfikacji oddziaływania peptydowych czynników wzrostu HRG w związku z transformacją nowotworową. Wobec tego wydaje się, że zwiększenie autokryny produkcji czynników wzrostu typu HRG odgrywa niesłychanie ważną rolę w proliferacji komórek raka piersi. Jak wskazują na to wyniki badań ostatnich kilku lat, autokryna zwiększona ekspresja tego czynnika wzrostu w komórkach raka stanowi bowiem główny mechanizm prowadzący do powstawania w komórce tej jednej z najagresywniejszych onkoprotein, jaką jest heterodimer receptorów HER2/HER3 [17, 18, 33, 35, 36].

Jest również interesujące, że badania ostatnich kilku lat wskazują, iż w guzach przełyku pokarmowego powszechnie występuje nadekspresja genu HER2 [18, 40, 41] oraz intensywne wybarwienie receptora HER3 w teście immunohistochemicznym [18, 42]. Obecnie stopniowo rodzi się przekonanie o nieuchronności powstawania heterodimerów HER2/HER3 we wszystkich najbardziej złośliwych nowotworach pochodzenia nabłonkowego. W 1999 r. Vadlamudi i wsp. [18] wykazali, że w rakach jelita grubego u ludzi, receptory HER2 i HER3 występują w formie konstytucjonalnie aktywnej w postaci heterodimerycznych kompleksów, co oznacza, że heterodimery te wykazują bardzo silne właściwości do nadawania ciągłych fałszywych, niezależnych od sygnałów zewnętrznych, wewnątrzkomórkowych impulsów o intensywnym mitogennym charakterze. Działają więc one w komórce jak silne onkoproteiny. W omawianej pracy wykazano ponadto, że opisywane dimery powstają jedynie w tych komórkach raka jelita grubego, które wykazują ekspresję i wydzielają białko 40 kDa, rozpoznawane immunologicznie jako heregulin. One to mogą aktywować receptor HER2, jeżeli powstają heterodimery HER2/HER3. Czyli w komórkach raka jelita grubego mamy do czynienia z konstytucjonalną aktywacją receptora HER2 na drodze autokryny pobudzenia przez heregulinę heterodimeru HER2/HER3, a więc z takim samym procesem, jak omawiany wyżej przy raku gruczołu piersiowego. Wyniki tej pracy są pierwszym doniesieniem wykazującym wyłączenie konstytucjonalnie aktywnego heterodimeru receptorów HER2/HER3 pod wpływem autokryny heregulin.

Rola heterodimeru receptorów HER2/HER3 i heregulin produkowanych autokrynie wykracza poza problem raka piersi, wiąże się bowiem ze sprawą progresji również innych nowotworów pochodzenia nabłonkowego u ludzi, czemu poświęca się coraz więcej uwagi. Najnowsze wyniki badań doświadczalnych wskazują na to, że endogenne heregulin w połączeniu ze zwiększoną ekspresją receptorów rodziny HER, szczególnie zaś receptora HER2, mogą działać jako potencjalny komórkowy czynnik, który kontroluje poziom ekspresji białka cyklooksygenazy 2 [18].

CYKLOOKSYGENAZA 2 – WSPÓLZALEŻNOŚĆ Z RECEPTORAMI HER I HEREGULINAMI

Enzymatyczne białko cyklooksygenaza 2 (COX2) ma silny charakter onkogenny, m.in. w związku z tym, że blokuje apoptozę [43, 44]. Zebrano już wiele danych na to, że nadekspresja COX2 jest niezbędna w ogóle dla przemiany nowotworowej komórek nabłonkowych, o czym świadczy m.in. fakt powszechnego występowania wysokiej ekspresji COX2 w komórkach transformowanych i różnych typach nowotworów pochodzenia nabłonkowego u ludzi, w tym również w raku piersi [43–51]. Najnowsze prace wykazują zależność konstytucjonalnej aktywacji genu COX2 od występowania w komórce nowotworowej zwiększonej aktywacji receptorów z rodziny HER, gdyż wówczas gen COX2 jest dla nich jedną z tarczy molekularnych [52, 53]. Zależność ta ma niesłychanie istotne znaczenie, ponieważ pokazuje powiązania między szlakiem działania receptorów HER i genem COX2. Wobec powszechności występowania nadekspresji receptora HER2 i HER3 w raku jelita grubego oraz wysokiej ekspresji białka COX2 w przypadku tego nowotworu, na tym właśnie materiale badano, czy istnieją powiązania między endogenną ekspresją HRGs a ekspresją genu COX2 [18]. Badając 8 różnych linii komórkowych raka jelita grubego u ludzi oraz komórki raka jelita grubego od 8 różnych pacjentów wykazano, że w przypadkach tych dochodzi do tworzenia konstytucjonalnie zaktywowanych heterodimerów receptorów HER2/HER3, czyli wysyłających ciągłe, fałszywe mitogenne sygnały szlakiem ras-raf-MAPKs, pod warunkiem występowania w tych komórkach autokryny ekspresji HRGs. Jeżeli swoistym przeciwciałem anti-HER3 uniemożliwiono wiązanie peptydów HRGs z receptorem HER3 to zgodnie z przypuszczeniem uzyskano zmniejszenie ilości heterodimerów receptorów HER2/HER3, lecz zupełnie nieoczekiwanie wywoływało to również redukcję ekspresji białka COX2 [18]. W tej samej pracy pokazano w badaniach na liniach komórkowych raka jelita grubego, że podawanie do medium hodowlanego egzogennych HRGs indukuje ekspresję mRNA COX2 i tworzenie heterodimerów HER2/HER3. Obydwa te biologiczne pobudzenia uzyskane egzogennymi HRGs można zablokować swoistym inhibitorem enzymu COX2. A więc swoisty inhibitor białka COX2 blokuje również powstawanie konstytucjonalnie aktywnego kompleksu dimerycznego receptorów HER2/HER3. Widać więc, że z jednej strony liczba heterodimerów receptorów HER2/HER3 reguluje ekspresję genu COX2 w odpowiedzi na stymulację HRGs, z drugiej zaś strony obniżenie poziomu białka COX2 przez swoisty inhibitor, niweluje działanie tego heterodimeru i stymulujące go działanie HRGs. Omawiane wyniki umacniają pogląd, że współdziałanie i wzajemne regulowanie się tych 3 typów onkoprotein, jakimi są: heterodimer receptorów HER2/HER3, autokryny heregulin i cyklooksygenaza 2, odgrywa podstawową rolę w zaburzeniach wzrostu nowotworowych komórek pochodzenia nabłonkowego u ludzi.

PODSUMOWANIE

Postęp wiedzy w zakresie działania receptorów z rodziny HER, jaki dokonał się w ciągu ostatnich kilku lat, pozwala dziś znacznie lepiej rozumieć korzyści płynące ze stosowania strategii REC. Dziś wiadomo już, że stosując monoklonalne przeciwciało anti-p185 (Herceptynę), doprowadzamy do dysocjacji heterodimeru HER2/HER3 – jednej z najagresywniejszych onkoprotein – i w ten sposób likwidujemy centralne i najważniejsze ogniwo 3-punktowej osi wyznaczonej przez 3 współdziałające i współregulujące się wzajemnie onkoproteiny, jakimi są: heterodimer receptorów HER2/HER3, endogenne heregulin i cyklooksygenaza 2. Monoklonalne przeciwciało anti-p185, powoduje dysocjację istniejących heterodimerów HER2/HER3 oraz uniemożliwia komórkom z nadekspresją receptora p185 tworzenie nowych tego rodzaju kompleksów. Przez tego typu działanie niweluje się w komórce również skutki działania autokryny heregulin, które mimo związania się z receptorami HER3 nie mogą utworzyć heterodimeru HER2/HER3. Dalszą konsekwencją działania Herceptyny poprzez zmniejszenie w komórce ilości heterodimeru HER2/HER3 jest zmniejszenie ekspresji białka COX2, które skutecznie blokuje apoptozę. Przeciwciało to stwarza jednocześnie dogodne warunki do wybiórczego działania leku chemicznego na tarczę molekularną w ramach strategii REC i uzyskanie z niej pełnej korzyści, a więc maksymalnego niszczenia komórek z nadprodukcją receptora HER2 (białka p185).

Ponieważ opisywane wyżej zależności wykazano w badaniach komórek raka jelita grubego, pochodzących zarówno z guzów pacjentów, jak i w wielu liniach komórkowych, wydaje się, że starannie opracowany, nowoczesny sposób leczenia oparty na strategii REC może teraz sprawdzić się również w leczeniu raka jelita grubego. Należy oczekiwać korzyści terapeutycznych w przypadku wzbogacenia strategii REC o swoisty inhibitor COX2. Zatem już obecnie istnieje dostateczna ilość dowodów na to, że strategia REC może przynieść swoisty przełom w leczeniu wszystkich nowotworów pochodzenia nabłonkowego ze zwiększoną produkcją receptorów HER2, szczególnie w swej wersji poszerzonej o swoisty inhibitor enzymu COX2.

PIŚMIENNICTWO

1. Kozłowski W, Szacikowska E. *Receptory HER/ErbB w prawidłowym nabłonku i kancerogenezie*. Współczesna Onkologia 2000; 4: 7-12.
2. Lewis TS, Shapiro PS, Ahn NG. *Signal transduction through MAP kinase cascades*. Adv Cancer Res 1998; 74: 49-139.
3. Szacikowska E, Kozłowski W. *Tamoksifen/antiestrogeny zwiększają agresywność raka piersi z amplifikacją i/lub nadekspresją genu HER2*. Współczesna Onkologia 1999; 3: 97-103.
4. Szacikowska E, Kozłowski W. *Podłoże chemooporności raka piersi z amplifikacją i/lub nadekspresją genu HER2*. Współczesna Onkologia 1999; 4: 145-51.
5. Hudziak RM, Schlessinger J, Ullrich A. *Increased expression of the putative growth factor receptor p185 HER2 causes transformation and tumorigenesis*

- sis of NIH 3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84: 7159-63.
6. Di Fiore PP, Pierce JH, Kraus MH, et al. *ErbB-2 is a potent oncogene when overexpressed in NIH 3T3 cells*. Science 1987; 237: 178-82.
 7. Guy CT, Webster MA, Schaller M, et al. *Expression of the neu protooncogene in the mammary epithelium of transgenic mice induces metastatic disease*. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 10578-82.
 8. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. *Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/neu oncogene*. Science 1987; 235: 177-82.
 9. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. *Studies of HER2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer*. Science 1989; 244: 707-12.
 10. Allred DC, Clark GM, Tandon AK, et al. *HER2/neu in node-negative breast cancer: Prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma*. J Clin Oncol 1992; 10: 599-605.
 11. Kern JA, Schwartz DA, Norolberg JE, et al. *p185 neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival*. Cancer Res 1990; 50: 5184-91.
 12. Uhino S, Tsuda H, Maruyama K. *Overexpression of c-erbB-2 protein in gastric cancer*. 1993; 72: 3179-84.
 13. Ravdin PM, Chamness GC. *The c-erbB-2 proto-oncogene as a prognostic and predictive marker in breast cancer: A paradigm for the development of other macromolecular markers – A review*. Gene 1995; 159: 19-27.
 14. Hudziak RM, Lewis GD, Winget M, et al. *p185 HER2 monoclonal antibody has antiproliferative effects in vitro and sensitized human breast tumor cells to tumor necrosis factor*. Mol Cell Biol 1999; 9: 1165-72.
 15. Pegram M, Hsu S, Lewis G, et al. *Inhibitory effects of combinations of HER-2/neu antibody and chemotherapeutic agents used for treatment of human breast cancers*. Oncogene 1999; 18: 2241-51.
 16. Szacikowska E, Kozłowski W. *Heterodimer receptorów HER2/HER3, autokrynnie heregulinu i cyklooksygenaza 2, a działanie Herceptyny*. Współczesna Onkologia 2000; 4: 93-9.
 17. Mincione G, Bianco C, Kannan S, et al. *Enhanced expression of heregulin in c erbB2 and c-Haras transformed mouse and human mammary epithelial cells*. J Cell Biochem 1996; 60: 437-46.
 18. Vadlamudi R, Mandal M, Adam L, et al. *Regulation of cyclooxygenase-2 pathway by HER2 receptor*. Oncogene 1999; 18: 305-14.
 19. Hancock MC, Langton BC, Chan T, et al. *A monoclonal antibody against the c-erbB2 protein enhances the cytotoxicity of cis-diaminedichloroplatinum against human breast and ovarian tumor cell lines*. Cancer Res 1991; 51: 4575-80.
 20. Harwerth IM, Weis W, Schlegel J, et al. *Monoclonal antibodies directed to the erbB-2 receptor inhibit in vivo tumor cell growth*. Br J Cancer 1993; 68: 1140-5.
 21. Artega CL, Carty-Dugger T, Winner A. *Antibodies p185 HER2 enhance etoposide – induced cytotoxicity against human breast carcinoma cells*. Proc Am Soc Clin Oncol 1993; 12: 1012.
 22. Pietras RJ, Fendy BM, Chazin VR, et al. *Antibody to HER-2/neu receptor blocks DNA repair after cisplatin in human breast and ovarian cancer cells*. Oncogene 1994; 9: 1829-38.
 23. Artega CL, Winner AR, Poirier MC, et al. *p185 c-erbB-2 signal enhances cisplatin – induced cytotoxicity in human breast carcinoma cells: Association between an oncogenic receptor tyrosine kinase and drug induced DNA repair*. Cancer Res 1994; 54: 3758-65.
 24. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, et al. *Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185 HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu overexpressing metastatic breast cancer*. J Clin Oncol 1996; 14: 737-44.
 25. Lopez AM, Pergam MD, Landaw EM, et al. *Modals to assess combination therapy interactions: Optimal timing of anti HER2 antibody and doxorubicin in breast cancer*. Proc Am Assoc Cancer Res 1997; 38: 605 (abstr 4061).
 26. Baselga J, Norton L, Albnell J, et al. *Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts*. Cancer Res 1998; 58: 2825-31.
 27. Klapper LN, Vaisman N, Hurwitz E, et al. *A subclass of tumor-inhibitory monoclonal antibodies to Erb2/HER2 blocks crosstalk with growth factor receptors*. Oncogene 1997; 14: 2099-109.
 28. Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, et al. *Phase II study of receptor – enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti – p 185 HER2/neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu – overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment*. J Clin Oncol 1998; 16: 2659-71.
 29. Pegram M, Hsu S, Lewis G, et al. *Inhibitory effects of combinations of HER2/neu antibody and chemotherapeutic agents used for treatment of human breast cancers*. Oncogene 1999; 18: 2241-51.
 30. Slamon D, Leyland-Jones B, Shak S, et al. *Addition of Herceptin (humanized anti-HER2 antibody) to first line chemotherapy for HER2 overexpressing metastatic breast cancer (HER2+/MBC) markedly increases anticancer activity: A randomized multinational controlled phase III trial*. Proc Am Soc Clin Oncol 1998; 17: 98A (abstr 377).
 31. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, et al. *Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2 – overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease*. J Clin Oncol 1999; 17: 2639-48.
 32. Carraway KL, Cantley LC. *Neu acquisition for Erb B3 and Erb B4: A role for receptor heterodimerization in growth signaling*. Cell 1994; 78: 5-8.
 33. Karunagaran D, Tzahar E, Beerli R, et al. *Erb-2 is a common auxiliary subunit of NDF and EGF receptors: Implications for breast cancer*. EMBO J 1996; 15: 254-6.
 34. Alroy I, Yarden Y. *The Erb B signaling network in embryogenesis: signal diversification through combination ligand – receptor interaction*. FEBS Lett 1997; 410: 83-6.
 35. Amundadottir LT, Leder P. *Signal transduction pathways activated and required for mammary carcinogenesis in response to specific oncogenes*. Oncogene 1998; 16: 737-46.
 36. Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H, et al. *Diversification of neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions*. EMBO J 1996; 15: 2452-67.
 37. Pinkas-Kramarski R, Shelly M, Glathe S, et al. *Neu differentiation factor/neuregulin isoforms activate receptor combination*. J Biol Chem 1996; 271: 19029-32.
 38. Schaefer G, Fitzpatrick DV, Sliwkowski MX. *γ Heregulin: a novel heregulin isoform that is an autocrine growth factor for the human breast cancer cell line, MDA-MB-175*. Oncogene 1997; 15: 1385-94.
 39. Pietras RJ, Arboleda J, Reese DM, et al. *HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone – independent growth in human breast cancer cells*. Oncogene 1995; 10: 2435-46.
 40. Kapitanović S, Radosević S, Kapitanović M, et al. *The expression of p 185 HER2/NEU correlates with stage of disease and survival in colorectal cancer*. Gastroenterol 1997; 112: 11103-13.
 41. Yang JL, Yu Y, Marković B, et al. *Overexpression of c-erb B2 mRNA and/or c-neu oncoprotein is a predictor for metastases from colorectal cancer*. Anticancer Res 1997; 17: 1023-6.
 42. Ciardiello F, Kim N, Saeki T, et al. *Differential expression of epidermal growth factor – related proteins in human colorectal tumors*. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 7792-6.
 43. Sheng H, Sho J, Morrow JD, et al. *Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells*. Cancer Res 1998; 58: 362-6.
 44. Tsujii M, DuBois RN. *Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2*. Cell 1995; 83: 493-501.
 45. Eberhart CE, Coffey RY, Radhika A, et al. *Up-regulation of cyclooxygenase 2 – gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas*. Gastroenterol 1994; 107: 1183-8.
 46. Tsujii M, Kowano S, DuBois RN. *Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential*. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 3336-40.
 47. Kawamori T, Rao CV, Seibert K. *Chemopreventive activity of Celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis*. Cancer Res 1998; 58: 409-12.
 48. Sheng H, Shao J, Krikland SC, et al. *Inhibition of human colon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2*. J Clin Invest 1997; 99: 2254-9.
 49. Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, et al. *Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells*. Cancer Res 1996; 56: 4424-9.
 50. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, et al. *Increased expression of cyclooxygenase-2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas*. Cancer Res 1998; 58: 3761-4.
 51. Tucker ON, Dannenberg AY, Yang EK, et al. *Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer*. Cancer Res 1999; 59: 987-90.
 52. Coffey RJ, Hawkey CJ, Damstrup L, et al. *EGF receptor activation induces nuclear targeting of COX2 basolateral release of prostaglandins and mitogenesis in polarizing colon cancer cells*. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 657-62.
 53. Mestre JR, Subbaramaiah K, Sacks PG, et al. *Retinoids suppress epidermal growth factor – induced transcription of cyclooxygenase-2 in human oral squamous carcinoma cells*. Cancer Res 1997; 57: 2890-5.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr hab. n. med. **Wojciech Kozłowski**
kierownik Zakładu Patomorfologii Klinicznej
prof. nadzw. Centralnego Szpitala Klinicznego WAM
ul. Szaserów 128
00-909 Warszawa
tel./fax (022) 810 38 92