

Rak płaskonabłonkowy obejmuje 90% wszystkich nowotworów złośliwych jamy ustnej, a częstość rozpoznawania oraz zgonów z jego powodu rośnie w ciągu ostatnich dekad. Większość decyzji terapeutycznych podejmuje się na podstawie obecności czynników prognostycznych. Autorzy przedstawiają przegląd piśmiennictwa dotyczący wartości oceny ekspresji białka MCM2 w komórkach nowotworowych oraz możliwości jej wykorzystania w procesie diagnostycznym i leczeniu chorych z rakiem jamy ustnej.

**Słowa kluczowe:** rak płaskonabłonkowy jamy ustnej, czynnik prognostyczny, MCM 2.

## Ocena potencjalnej przydatności prognostycznej ekspresji białka MCM2 w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej

*Potential prognostic value of MCM2 expression evaluation in oral cavity squamous cell carcinoma*

Aneta Neskoromna-Jędrzejczak<sup>1</sup>, Marta Tyndorf<sup>1</sup>, Piotr Arkuszewski<sup>1</sup>, Józef Kobos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej i Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>2</sup>Zakład Patomorfologii Wieku Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Rak jamy ustnej znajduje się w grupie 10 najczęściej rozpoznawanych nowotworów złośliwych pochodzenia nabłonkowego u człowieka. Stanowi on 3–6% wszystkich nowotworów złośliwych, a w ciągu ostatnich dekad znacznie wzrósł współczynnik zachorowań i śmiertelności spowodowanej rakiem płaskonabłonkowym (*squamous cell carcinoma* – SCC), szczególnie wśród młodych mężczyzn, zwłaszcza w niektórych krajach Europy Środkowej i Wschodniej [1–3]. Obecnie rok po rozpoznaniu raka jamy ustnej przeżywa 81% chorych, ale 5 lat już jedynie 48–56% pacjentów, niezależnie od tego, w jakim stopniu zaawansowania podjęli oni leczenie [3]. Chorzy we wczesnych stadiach zaawansowania (I i II stopień) z dość dobrymi wynikami leczenia są chirurgicznie lub za pomocą radioterapii, a wybór metody uzależnia się od względów estetycznych, funkcjonalnych oraz od doświadczenia zarówno chirurga, jak i radioterapeuty. Pacjenci prezentujący wyższe stadia zaawansowania poddawani są leczeniu chirurgicznemu z uzupełniającym napromienianiem. Kluczowe decyzje w procesie terapeutycznym podejmuje się na podstawie zakwalifikowania zaawansowania nowotworu wg systemu TNM oraz konwencjonalnej oceny mikroskopowej stopnia złośliwości (G1, 2, 3) [3]. Ze względu na niesatysfakcjonujące wyniki leczenia wydaje się to jednak niewystarczające i widoczna jest potrzeba znalezienia czynników prognostycznych mogących określić biologiczną agresywność guzów, co przekładałoby się na określone postępowanie lecznicze [1, 2, 4].

Na stan kliniczny pacjentów z rakiem jamy ustnej wpływa głównie dynamika wzrostu masy guza oraz skłonność do dawania przerzutów. Zwiększenie masy guza wynika z utraty równowagi pomiędzy namnażaniem się komórek a apoptozą, podczas gdy zdolność do dawania przerzutów uwarunkowana jest interakcjami między komórkami oraz między komórkami a macierzą międzykomórkową [2]. W związku z tym obiecującym narzędziem jest ocena ekspresji białek komórek guza odpowiadających za agresywność biologiczną nowotworu, zwana ITFG (*invasive tumour front grading*). Stworzony przez Bryne'a system IFG opierał się na ocenie 5 parametrów: stopnia keratynizacji, polimorfizmu jąder komórkowych (ocena procentowa liczby dojrzałych komórek), liczby mitoz w polu widzenia, typu naciekania i odpowiedzi tkanek otaczających [1, 5–10]. Poszukuje się jednak nowych markerów o dużej czułości i specyficzności. Analizie poddaje się obecność białek – produktów onkogenów, takich jak: gen *EGFR* (receptora dla ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu), *c-myc*, cykliny D1, *bcl-1* [2, 11, 13]. Są to geny, które powstają z protoonkogenów (prawidłowych genów wpływających na wzrost i różnicowanie komórki) na skutek mutacji punktowych, translokacji

Squamous cell carcinoma (SCC) makes up at least 90% of oral malignancies and its incidence and attributable mortality have been growing over the last decades. Most therapeutic decisions connected with SCC patients are now made on the basis of prognostic and predictive factors. The authors present a review of the literature of the predictive value of MCM 2 expression in neoplasms and the possible usefulness of its evaluation for diagnosis and treatment of oral cancer patients.

**Key words:** oral squamous cell carcinoma, prognostic factor, MCM2.

lub amplifikacji [2, 4, 8, 13]. Kolejną grupą genów, których produkty mogą wskazywać na zaburzenie w cyklu komórkowym, są geny supresorowe, czyli: p53, Rb oraz p16/p21/p27. Zaburzenia w systemie supresorowym p53 są jedną z najpowszechniejszych aberracji molekularnych obserwowanych w wielu nowotworach człowieka. Gen p53 znany powszechnie jako „strażnik genomu”, zatrzymuje cykl komórkowy pomiędzy fazą G1 i S i stymuluje naprawę DNA po jego uszkodzeniu. Kolejną ważną funkcją p53 jest indukcja apoptozy. Mutację genu p53 spotyka się w ok. 60% raków jamy ustnej [2, 14–17]. Kolejnymi markerami, z którymi wiąże się nadzieje, są markery proliferacji oraz regulatory cyklu komórkowego. Są to Ki-67/MIB 1 oraz PCNA, jądrowe, niehistonowe antygeny, które pojawiają się niemal we wszystkich fazach cyklu komórkowego. Należy jednak pamiętać o tym, że Ki-67 nie jest zbyt dobrym wskaźnikiem różnicującym dysplazję i raka [2, 18]. W ocenie zdolności do przerzutowania pod uwagę bierze się ekspresję cząstki CD 44 oraz naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) [3, 5, 19, 20]. Pierwsze białko jest wielofunkcyjną glikoproteiną zaangażowaną w interakcje limfocytów z komórkami endothelium, adhezję komórek do białek macierzy zewnątrzkomórkowej, limfohematopoezę, uwalnianie cytokin i aktywację limfocytów [5]. Drugie natomiast stymuluje rozwój naczyń krwionośnych i limfatycznych w wielu typach nowotworów [3, 19, 20]. Pomimo wykrycia wielu potencjalnych czynników prognostycznych, nadal nie wprowadzono standardów postępowania diagnostycznego oraz algorytmu leczenia raka jamy ustnej. Kolejnym białkiem, z którym wiąże się wiele nadziei w ustaleniu rokowania u pacjentów z rozpoznaniem złośliwym nabłonkowym nowotworem błony śluzowej jamy ustnej, jest MCM2.

Rodzina MCM (*minichromosome maintenance*) składa się z 6 białek (MCM2–7). Są one kluczowymi białkami dla procesu licencjonowania, inicjacji oraz elongacji podczas replikacji DNA [21, 22]. Białka MCM są również związane z czynnikami transkrypcyjnymi, co może sugerować ich wpływ na proces transkrypcji. Uważa się, że heteroheksameryczny kompleks MCM2–7 pełni funkcję helikazy replikacyjnych. Co więcej, ludzkie MCM wykazują ekspresję w komórkach nowotworowych, a nie są oznaczane w nienamnażających się „zdrowych” komórkach. W związku z tym cząstki MCM wydają się być cennym markerem nowotworów złośliwych oraz docelowym białkiem, z którym mogłyby wiązać się leki przeciwnowotworowe [22, 23]. Wczesne, nieinwazyjne zmiany przedrakowe (dysplazja lub wewnątrz nabłonkowa neoplazja) charakteryzują się obecnością komórek o nieprawidłowej morfologii oraz zwiększonym indeksem mitotycznym. Jednocześnie zwiększa się ekspresja białek MCM, łącznie z innymi markerami proliferacji komórek, takimi jak Ki67 czy geminina [23]. Istotne jest również, że ekspresja MCM stwierdzana jest w fazie G1, G2, S oraz M cyklu komórkowego [23].

Ekspresja MCM2–7 została uznana za ważny czynnik prognostyczny w przypadku wielu nowotworów złośliwych, takich jak: rak piersi, płuc, gruczołu krokowego, pęcherza czy przetyku [21, 23–26]. Gonzales i wsp. wykazali, że MCM2 może być uznany za silny i niezależny czynnik prognostyczny w raku piersi. Białko to wykazywało znamienne częstszą ekspresję niż uznany marker proliferacji Ki-67. Większa ekspresja MCM2 wiązała się również z większą masą guza, wyższym indeksem mitotycznym oraz stopniem złośliwości histologicznej (G). Białko MCM2 był również związane w sposób znamieny statystycznie z całkowitym przeżyciem, czasem przeżycia wolnym od choroby, rozwojem wznowy miejscowej i przerzutami do regionalnych węzłów chłonnych u badanych pacjentek [25]. W przypadku raka prostaty Meng wykazał u chorych z wysoką ekspresją omawianego białka, że czas przeżycia wolnego od choroby jest znacznie krótszy niż u tych z niską ekspresją MCM2. Ciekawe jest również to, że badacze nie wykazali związku pomiędzy nadekspresją MCM i innymi, tradycyjnymi klinicznymi i patologicznymi czynnikami prognostycznymi, co przemawia za uznaniem białka za niezależny czynnik rokowniczy [21].

Kruger i wsp. oceniali ekspresję białka MCM2 w raku brodawkowym pęcherza moczowego w stopniu zaawansowania T1. Wykazali oni, że wysoka eks-

presja badanej proteiny wiąże się w sposób znamieny statystycznie z wczesną wznową guza oraz z szybkim wzrostem nowotworu. Co ciekawe, ekspresja MCM 2 okazała się jedynym czynnikiem, który korelował z czasem przeżycia wolnym od choroby, w związku z powyższymi wynikami autorzy uznali, że ocena badanego białka może być przydatnym narzędziem do identyfikowania pacjentów wysokiego ryzyka [26]. Kolejnym nowotworem, w przypadku którego oceniano ekspresję białek rodziny MCM, jest rak szyjki macicy. Zespół Ishimi wykazał, że zawartość mRNA MCM2 w inkubowanych komórkach uzyskanych z tkanki guza była 4 razy wyższa niż w ludzkich fibroblastach z linii komórkowej WI-38 [27]. Mukharrije i wsp. zwracają natomiast uwagę na możliwość wykorzystania barwienia immunohistochemicznego na obecność MCM jako testu przesiewowego dla raka szyjki macicy w krajach rozwijających się. Podkreślają oni, że zgodność rozpoznania w przypadku oceny ekspresji MCM i ostatecznego rozpoznania wynosiła 100% w porównaniu z 85% takich samych rozpoznania w przypadku testu Papanicolaou. Co więcej, wykonanie badania immunohistochemicznego zabierało ok. 20% czasu potrzebnego na przeprowadzenie testu Papanicolaou [28]. Następnym testem przesiewowym z wykorzystaniem oceny obecności białka MCM2 jest badanie w kierunku raka jelita grubego. Oceniana jest ekspresja powyższej proteiny w komórkach złuszczonej błony śluzowej obecnych w stolcu. Davies i wsp. wykazali obecność zabarwiających się komórek w stolcu 37 na 40 badanych z objawowym rakiem jelita grubego, ale nie stwierdzono ekspresji MCM2 w komórkach zawartych w stolcu 25 zdrowych osób włączonych do grupy kontrolnej [29].

Kolejnym wartym przytoczenia badaniem jest praca przeprowadzona pod kierownictwem Yanga, dotycząca wartości MCM2, Ki-67 oraz gensoliny w raku niedrobnokomórkowym płuc. Wykazali oni, że wysoki poziom ekspresji MCM2 był skorelowany z rodzajem mikroskopowym guza (rak płaskonabłonkowy) oraz stopniem złośliwości histologicznej (niskie zróżnicowanie komórek). Badanie również pokazało związek ekspresji białka MCM2 z krótkim czasem przeżycia chorych [24].

Oceniano również wartość prognostyczną białka MCM2 w przypadku nowotworów głowy i szyi. W guzach tarczycy stwierdzono wyższą ekspresję badanego białka w przypadku zmian złośliwych (rak pęcherzykowy oraz brodawkowaty w porównaniu z gruczolakiem pęcherzykowym i guzkami gorącymi), szczególnie zaś nasiloną w raku brodawkowatym. Autorzy sugerują użycie barwienia immunohistochemicznego na obecność białka MCM2 jako przedoperacyjnego testu różnicującego nowotwory łagodne i złośliwe [30]. Również w przypadku guzów gruczołów ślinowych może ono służyć jako czuły marker proliferacji różnicujący zmiany o różnym stopniu złośliwości, np. pomiędzy gruczolakiem wielopostaciowym i rakiem na podłożu gruczolaka wielopostaciowego oraz raka gruczolowo-torbielowatego i wielopostaciowego wysoko zróżnicowanego gruczolakoraka [31].

Według brytyjskich autorów oznaczanie ekspresji MCM2 w biopsji szczołeczkowej guzów krtani pozwala w mało inwazyjny sposób różnicować zmiany dysplastyczne i nowotwory złośliwe [32].

Wnioskując z badania Kodani, MCM2 może mieć znaczącą wartość prognostyczną również w raku jamy ustnej. Wysoka ekspresja tego białka koreluje bowiem z niskim zróżnicowaniem histologicznym komórek guza, inwazyjnym naciekaniem oraz obecnością przerzutów [33].

#### Piśmiennictwo

1. Bankfalvi A, Piffko J. Prognostic and predictive factors in oral cancer: the role of the invasive tumour front. *J Oral Pathol Med* 2000; 29: 291-8.
2. Bettendorf O, Piffko J, Bankfalvi A. Prognostic and predictive factors in oral squamous cell cancer: important tools for planning individual therapy? *Oral Oncol* 2004; 40: 110-19.
3. Warburton G, Nikitakis NG, Roberson P, Marinos NJ, Wu T, Sauk JJ Jr, Ord RA, Wahl SM. Histopathological and lymphangiogenic parameters in relation to lymph node metastasis in early stage oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65: 475-84.
4. Woolgar JA. Histopathological prognosticators in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2006; 42: 229-39.
5. Mori S, Nose M, Morikawa H, Sato A, Saito T, Song ST, Tanda N, Teshima T. A novel evaluation system of metastatic potential of oral squamous cell carcinoma according to the histopathological and histochemical grading. *Oral Oncol* 1998; 34: 549-57.
6. Noguchi M, Kinjyo H, Kohama GI, Nakamori K. Invasive front in oral squamous cell carcinoma: image and flow cytometric analysis with clinicopathologic correlation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 682-7.
7. Sawair FA, Irwin CR, Gordon DJ, Leonard AG, Stephenson M, Napier SS. Invasive front grading: reliability and usefulness in the management of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 1-9.
8. Schliephake H. Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer – a review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32: 233-45.
9. Starska K, Kulig A, Łukomski M. Tumor front grading in prediction of survival and lymph node metastases in patients with laryngeal carcinoma. *Adv Med Sci* 2006; 51: 200-4.
10. Szelachowska J, Dziegiel P, Jelen-Krzyszewska J, et al. Prognostic significance of nuclear and cytoplasmic expression of metallothioneins as related to proliferative activity in squamous cell carcinomas of oral cavity. *Histol Histopathol* 2008; 23: 843-51.
11. Koontongkaew S, Chareonkitajorn L, Chanvitan A, Leelakriangsak M, Amornphimoltham P. Alterations of p53, pRb, cyclin D(1) and cdk4 in human oral and pharyngeal squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2000; 36: 334-9.
12. Yuen AP, Lam KY, Choy JT, Ho WK, Wong LY, Wei WI. Clinicopathologic significance of bcl-2 expression in the surgical treatment of oral tongue carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2002; 28: 667-72.
13. Massano J, Regateiro FS, Januário G, Ferreira A. Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 67-76.
14. Gleich LL, Salamone FN. Molecular genetics of head and neck cancer. *Cancer Control* 2002; 9: 369-78.
15. Högmö A, Kuylensstierna R, Lindholm J, Munck-Wikland E. Predictive value of malignancy grading systems, DNA content, p53, and angiogenesis for stage I tongue carcinomas. *J Clin Pathol* 1999; 52: 35-40.
16. Khademi B, Shirazi FM, Vasei M, Doroudchi M, Gandomi B, Modjtahedi H, Pezeshki AM, Ghaderi A. The expression of p53, c-erbB-1 and c-erbB-2 molecules and their correlation with prognostic markers in patients with head and neck tumors. *Cancer Lett* 2002; 184: 223-30.
17. Ogden GR, Kiddie RA, Lunny DP, Lane DP. Assessment of p53 protein expression in normal, benign, and malignant oral mucosa. *J Pathol* 1992; 166: 389-94.
18. Liu SC, Kliei-Szanto AJ. Markers of proliferation in normal and leukoplakic oral epithelia. *Oral Oncol* 2000; 36: 45-51.
19. Johnstone S, Logan RM. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in oral dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2006; 42: 337-42.

20. Uehara M, Sano K, Ikeda H, Sekine J, Irie A, Yokota T, Tobita T, Ohba S, Inokuchi T. Expression of vascular endothelial growth factor and prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2004; 40: 321-5.
21. Meng MV, Grossfeld D, Williams GH, Dilworth S, Stoeber K, Mulley TW, Weinberg V, Carroll PR, Tlsty TD. Minichromosome Maintenance Protein 2 expression in prostate: characterization and association with outcome after therapy for cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2712-18.
22. Yu Z, Feng D, Liang C. Pairwise interactions of six human MCM protein subunits. *J Mol Biol* 2004; 340: 1197-206.
23. Williams GH, Stoeber K. Cell cycle markers in clinical oncology. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19: 672-9.
24. Yang J, Ramnath N, Moysich KB, et al. Prognostic significance of MCM-2, Ki-67 and gelsolin in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2006; 6: 203-12.
25. Gonzalez MA, Pinder SE, Callagy G, Vowler SL, Morris LS, Bird K, Bell JA, Laskey RA, Coleman N. Minichromosome maintenance protein 2 is a strong independent prognostic marker in breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 23: 4306-13.
26. Krüger S, Thorns C, Stöcker W, Müller-Kunert E, Böhle A, Feller AC. Prognostic value of MCM2 immunoreactivity in stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urology* 2003; 43: 138-45.
27. Ishimi Y, Okayasu I, Kato C, Kwon HJ, Kimura H, Yamada K, Song SY. Enhanced expression of MCM proteins in cancer cells derived from uterine cervix. *Eur J Biochem* 2003; 270: 1089-101.
28. Mukherjee G, Muralidhar B, Bafna UD, Laskey RA, Coleman N. MCM immunocytochemistry as a first line cervical screening test in developing countries: a prospective cohort study in a regional cancer centre in India. *Br J Cancer* 2007; 96: 1107-11.
29. Davies RJ, Freeman A, Morris LS, et al. Analysis of minichromosome maintenance proteins as a novel method for detection of colorectal cancer in stool. *Lancet* 2002; 359: 1917-9.
30. Mehrotra P, Gonzalez MA, Johnson SJ, Coleman N, Wilson JA, Davies BR, Lennard TW. MCM-2 and Ki-67 have limited potential in pre-operative diagnosis of thyroid malignancy. *Laryngoscope* 2006; 116: 1434-8.
31. Vargas PA, Cheng Y, Barrett AW, Craig GT, Speight PM. Expression of MCM-2, Ki-67 and geminin in benign and malignant salivary gland tumours. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 309-18.
32. Chatrath P, Scott IS, Morris LS, et al. Aberrant expression of minichromosome maintenance protein-2 and Ki-67 in laryngeal squamous epithelial lesions. *Br J Cancer* 2003; 89: 1048-54.
33. Kodani I, Osaki M, Shomori K, Araki K, Goto E, Ryoke K, Ito H. Minichromosome maintenance 2 expression is correlated with mode of invasion and prognosis in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 468-74.

#### Adres do korespondencji

##### Marta Tyndorf

Klinika Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej i Onkologicznej  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
ul. Kopcińskiego 22  
90-153 Łódź  
e-mail: marta\_tyndorf@yahoo.pl