

Celem artykułu jest przedstawienie wyników najnowszych badań podstawowych dotyczących hormonoreaktywności nabłonkowych komórek ludzkiego raka piersi z amplifikacją genu *HER-2*. Badania te – prowadzone na modelach komórkowych – w sposób jednoznaczny określają rolę tamoksifenu/antyestrogenów w procesach związanych z regulacją wzrostu komórek. Badania te pokazują również, że gen *HER-2*, którego produkt, receptorowe białko p185, prowadzi w przypadku amplifikacji tego genu do znaczącego wzrostu proliferacji takich komórek i podwyższenia ich potencjału przerzutowania, jest genem pozostającym pod kontrolą estrogenów. W obecności receptorów estrogenowych, estradiol w komórkach z amplifikacją genu *HER-2* prowadzi do spadku ilości transkryptu tego genu, zaś tamoksifen/antyestrogeny intensyfikują jego transkrypcję, prowadząc do wzrostu agresywności takiego klonu w guzie. Mechanizm ten prowadzi do obserwowanego klinicznie, statystycznie znamiennego skrócenia przez tamoksifen/antyestrogeny, czasu wolnego od wznowy i czasu całkowitego przeżycia w porównaniu z grupą kontrolną pacjentek, również z amplifikacją genu *HER-2*, lecz nie poddanych leczeniu antyestrogenami. Tak więc podawanie antyestrogenów pacjentkom chorym na raka piersi z amplifikacją genu *HER-2* jest szkodliwe.

W artykule zaprezentowano prace kliniczne z ostatnich 10 lat, które stanowią doniesienia w pełni zgodne z wynikami najnowszych badań podstawowych. Niektóre z nich już osiem lat temu rzuciły właściwe światło na ten problem, lecz były źle przyjęte.

Słowa kluczowe: tamoksifen, antyestrogeny, rak piersi, gen *HER-2*, białko p185.

# Tamoksifen/Antyestrogeny zwiększają agresywność raka piersi z amplifikacją i/lub nadekspresją genu *HER-2*

*Tamoxifen/Antioestrogens increase aggressiveness of breast cancer with *HER-2* gene amplification and/or overexpression*

Ewa Szacikowska, Wojciech Kozłowski

Zakład Patomorfologii Klinicznej Centralnego Szpitala Klinicznego Wojskowej Akademii Medycznej w Warszawie

## WSTĘP

Wzrost komórek nabłonkowych ludzkiego gruczołu piersiowego jest ściśle regulowany przez receptory zarówno hormonów peptydowych (czynników wzrostu), jak i hormonów sterydowych. Zaburzenia ekspresji dotyczące poszczególnych receptorów obydwu wymienionych klas hormonów związane są z różnymi aspektami raka gruczołu piersiowego. Wśród receptorów czynników wzrostu, które najczęściej łączone są z patogenezą raka piersi znajdują się te, które należą do rodziny receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK) *HER/ErbB*. Obecnie istnieją podstawy do tego, aby uważać, że tamoksifen/antyestrogeny uczestniczą w skomplikowanych procesach regulowania ekspresji i aktywności receptorowych kinaz tyrozynowych, należących do rodziny *HER/ErbB*, a zatem leki te uczestniczą nie tylko w endokrynej, ale również auto- i parakrynej regulacji wzrostu komórek. Zmienia to w istotny sposób pogląd na działanie tamoksifenu/antyestrogenów na komórki raka piersi u kobiet, przebiegające z nadprodukcją tych kinaz. Z tego faktu wynika równocześnie konieczność zmian w dotychczasowym postępowaniu terapeutycznym w tych przypadkach, wynikających ze szkodliwego działania antyestrogenów u takich pacjentek.

## ROLA PRODUKTU GENU *HER-2* (BIAŁKA p185) W KOMÓRCE NABŁONKOWEJ Z KLINICZNYM ODNIESIENIEM DO AMPLIFIKACJI TEGO GENU W RAKU PIERSI

Od dawna znany jest fakt, że guzy z identycznym rozpoznaniem patomorfologicznym i podobnymi objawami klinicznymi mogą znacznie różnić się w dalszym przebiegu choroby nowotworowej. Odpowiedzialne za to zjawisko są mutacje różnych genów, mające wpływ na agresywność choroby. Często towarzyszy te-

mu produkcja określonych białek, które mogą być markerami dla poszczególnych guzów. W ostatnich latach, wśród intensywnie badanych białek-markerów, szczególną uwagę – jako czynnik prognostyczny w raku piersi – zyskał produkt genu *HER-2*, receptorowe białko p185 kDa. Gen *HER-2* ulega postnatalnie ekspresji w prawidłowych komórkach nabłonkowych, czemu towarzyszy określony poziom białka p185 produkowanego w tych komórkach i mierzalny w surowicy krwi w odpowiednim zakresie wartości przyjętych jako norma. Onkogenowa aktywacja genu *HER-2* pojawia się w nabłonkowych guzach nowotworowych w wyniku amplifikacji i/lub nadekspresji tego genu, czemu towarzyszy wzrost ilości mRNA genu *HER-2* i zwiększona w komórkach guza ilość białka p185, produkowanego na tej matrycy. Nadekspresja prawidłowego genu komórkowego może być jednym z mechanizmów, w wyniku którego komórka nowotworowa może pozyskać selektywne pobudzenie wzrostu. Wiele guzów nabłonkowych pozyskuje zdolność do gwałtownie zwiększonej proliferacji w wyniku amplifikacji i/lub nadekspresji genu *HER-2*. Amplifikację i nadekspresję genu *HER-2*, połączoną z nadprodukcją białka p185, opisywano wielokrotnie w szeregu ludzkich nowotworów nabłonkowych, w tym także w raku piersi i jajnika, jak również płuc i przewodu pokarmowego.

Białko p185 kodowane przez gen *HER-2* jest glikoproteiną o charakterze transmembranowego receptora hormonów peptydowych z wewnątrzkomórkową domeną o właściwościach kinazy tyrozynowej i zewnątrzkomórkową domeną będącą chwytnikiem ligandów. Białko to jest w znacznym stopniu homologiczne z receptorem *HER-1* (EGFR) oraz receptorami *HER-3* i *HER-4*, z którymi tworzy rodzinę receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK) *HER/ErbB*. Odgrywają one ważną rolę w przenoszeniu zewnątrzkomórkowego sygnału mi-

*The aim of the paper is presentation of the results of the newest basic studies on hormonal reactivity of epithelial cells of human breast cancer with HER-2 gene amplification. These studies conducted on cell models unequivocally indicate the role of tamoxifen/antioestrogens in the processes connected with cell growth regulation. These studies demonstrate also that HER-2 gene, the product of which, p185 receptor protein, leads, in case of amplification of the gene, to significant proliferation increase of such cells and to rising of their metastatization potential, is the gene remaining under oestrogen control. In the presence of oestrogen receptors, oestradiol, in the cells with HER-2 gene amplification, leads to a reduction of transcript amount of this gene, while tamoxifen/antioestrogens intensify its transcription leading to increase of aggressiveness of such clone in tumour. This mechanism leads to the clinically observed, statistically significant shortening by tamoxifen/antioestrogens of the relapse-free time and overall survival time in comparison to control group of patients, also with HER-2 gene amplification but not subjected to antioestrogen treatment. Therefore, administration of antioestrogens to patients with breast cancer with HER-2 gene amplification is harmful.*

*In the paper, clinical studies are presented from the last decade which are reports fully agreeing with the results of the most recent basic studies. Some of the papers already eight years ago shed proper light onto this problem but were given cold reception.*

*Key words: tamoxifen, antioestrogens, breast cancer, HER-2 gene, p185 protein.*

togennego lub indukującego różnicowanie. Także one generują wtórne cytoplazmatyczne sygnały mitogenne lub prowadzące do różnicowania. Uważa się, że receptor *HER-2* z wewnętrzną aktywnością kinazy tyrozynowej uruchamia przewodzenie sygnału wzdłuż specyficznych kaskad *fosforylacji* z wykorzystaniem białka genu *ras* i innych szlaków przenoszenia sygnału do jądra komórkowego. Wzmiankowane cztery receptory rodziny *HER* ulegają koekspresji w różnych kombinacjach i występują w wielu normalnych tkankach. Uważa się, że nadekspresja białka p185 wpływa na wzrost wrażliwości takiej komórki na normalne poziomy czynnika wzrostu wiążącego się z receptorem, co prowadzi do generowania dodatkowych fałszywych wtórnych sygnałów mitogennych. Jako alternatywny mechanizm przyjmuje się, że zwiększony poziom receptora prowadzi do powstania formy konstytucjonalnie aktywującej receptor pod nieobecność czynnika wzrostu. Sugeruje się, że obydwa mechanizmy mogą wyzwać selektywną promocję proliferacji komórki guza dając selektywnie zwiększone szanse wzrostu dla takiego klonu komórkowego.

W ciągu ostatnich dziesięciu lat wykazano, że onkogeny kodujące czynniki wzrostu, takie jak: EGF, TGF alfa, czy IGF-1 oraz kodujące receptory czynników wzrostu, takie jak EGFR czy białko p185 odgrywają istotną rolę w patogenezie szeregu ludzkich nowotworów nabłonkowych, włączając w to raka piersi. Gen *HER-2* wydaje się odgrywać szczególnie ważną rolę w powstawaniu tych nowotworów nabłonkowych ze względu na jego częstą amplifikację i/lub nadekspresję. Amplifikacja genu *HER-2* jest w sposób konsekwentny obserwowana zarówno w raku piersi i jajnika, jak i płuc czy przewodu pokarmowego, w przypadku których 10-30 proc. guzów wykazuje takie piętno genetyczne. Przegląd literatury wskazuje, że amplifikacja genu *HER-2*, powiązana z nadprodukcją receptora *HER-2* (białko p185), pojawia się w 10-40 proc. pierwotnych raków piersi. Nadprodukcja białka p185 jest powszechna w przewlektowych rakach piersi *in situ* (DCIS), pojawiając się tam z częstością 60-85 proc., podczas gdy w inwazyjnych rakach przewodowych (IDC) sięga 30 proc. przypadków. Istnieje dodatnia korelacja między amplifikacją genu *HER-2* i jego ekspresją. Warto w tym miejscu podkreślić, że ekspresja genu jest bardziej związana z biologią guza. Tak więc raczej pomiar ekspresji genu (jako pomiar poziomu wyprodukowanego białka) może być użyteczny w ocenie i prognozowaniu chorych na raka piersi.

Intensywne badania kliniczne i podstawowe nad rakiem piersi z amplifikacją i nadekspresją genu *HER-2*, prowadzone w trakcie ostatnich 10 lat, pozwoliły uzyskać wiele faktów, które wymuszają obecnie nowy sposób diagnozowania raka piersi poprzez przyzmat genu *HER-2*. Wielu autorów uważa, że taka amplifikacja i/lub nadekspresja związane są ze złym prognozowaniem, wynikającym z intensywnej progresji procesu nowotworowego. W wielu pracach wykazano również, że przydatki te charakteryzują się równocześnie słabą

hormonoreaktywnością, co manifestowało się bardzo słabą lub wątpliwą odpowiedzią na leczenie hormonalne (HT) tamoksifenem/antioestrogenami, także w przypadkach, w których wykazano obecność receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PgR).

Przypadki raka piersi z amplifikacją i/lub nadekspresją genu *HER-2* także słabo odpowiadają na konwencjonalną chemioterapię, która wykazuje znaczną efektywność w przypadkach raka piersi bez amplifikacji genu *HER-2*.

Badania dotyczące białek będących markerami hormonoreaktywności, takich jak bcl-2, ER, PgR oraz białek związanych ze złą prognozą i utratą hormonoreaktywności, takich jak EGFR, p185, Ki-67 i TGF alfa pod kątem ich diagnostycznej użyteczności w raku piersi, wykazały – i jest to pogląd ogólnie przyjęty – że poziom białka p185, mierzony we krwi jako poziom jego zewnątrzkomórkowej domeny (ECD), jest najważniejszym markerem raka piersi, który najpełniej odzwierciedla biologię tego guza.

Wiele klinicznych grup badało problemy chemio- i hormonooporności raka piersi z nadprodukcją białka p185 i choć wyniki tych prac wykazują znaczną niespójność, większość tych prac dostarcza przekonujących danych, przemawiających za tym, że nadprodukcja receptora *HER-2* (białko p185) jest związana z:

- ▶ dużą agresywnością choroby nowotworowej;
- ▶ niską hormonoreaktywnością tych guzów bez względu na stan receptorów ER i PgR;
- ▶ chemioopornością na konwencjonalne dawki leków cytostatycznych, stosowanych z dobrym rezultatem w raku piersi bez nadprodukcji receptora *HER-2*.

Te trzy charakterystyczne cechy klinicznego obrazu raka piersi z amplifikacją i/lub nadekspresją genu *HER-2* są obecnie dobrze udokumentowane. Wskazują one na niezbędność wyodrębniania dwu podgrup klinicznych raka piersi z zupełnie odmienną biologią guza i wymagających radykalnie odmiennego leczenia adjuwantowego.

Przypadki raka piersi z nadekspresją białka p185 charakteryzują się zwiększoną ilością receptora czynników wzrostu, którym jest to białko, co stwarza warunki do specyficznej regulacji wzrostu guza i rozwoju choroby nowotworowej. Zaburzenia transmisji sygnałów mitotycznych, związane ze zwiększoną ilością receptora czynników wzrostu w przypadku amplifikacji i/lub nadekspresji genu *HER-2*, podobnie jak w przypadku nadprodukcji EGFR, prowadzą do generowania fałszywych wtórnych sygnałów mitogennych. Te fałszywe, wtórne sygnały mitogenne wywołują zwiększoną częstość podziałów komórkowych. Klinicznym wyrazem takich warunków jest agresywny przebieg choroby nowotworowej.

Od wielu lat klinicyści obserwują brak korzyści z HT stosowanej u pacjentek z amplifikacją i nadekspresją genu *HER-2*, nawet przy wysokim poziomie receptorów ER i PgR.

Ogólnie przyjęto, zgodnie z wynikami ba-

dań klinicznych, że odpowiedź na tamoksifen/antyestrogeny wynosi poniżej 10 proc. u pacjentek z podwyższonym poziomem receptora *HER-2* wobec około 60 proc. u pacjentek z normalnym poziomem p185. Na obecnym etapie badań można stwierdzić, że pewne różnice w wynikach dotyczących tego problemu, spotykane w różnych doniesieniach, są raczej nieznaczne i wydają się wynikać z różnych wartości p185 przyjętych jako poziom patologiczny w technice oznaczania p185 we krwi, jak i z nieporównywalności metod zastosowanych do badania amplifikacji genu (fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*, test immunocytochemiczny czy inne). W większości tych prac różnice w reakcji na leczenie antyestrogenami były jednak statystycznie znaczne, jeżeli porównano grupę pacjentek z amplifikacją i/lub nadekspresją genu *HER-2* z grupą pacjentek, u których gen ten był prawidłowy, a różnice wyrażane były czasem wolnym od wznowy i czasem całkowitego przeżycia. Również w większości tych prac niezmienny pozostawał fakt drastycznego spadku hormonoreaktywności w przypadku amplifikacji genu *HER-2*, nawet przy wysokim poziomie ER i PgR. Kilka lat temu przyjęto, że w guzach tych, w związku z nadprodukcją białka p185, rozwinął się autokrynnie działający mechanizm silnie stymulujący proliferację komórek w sposób niezależny od działania antyestrogenów. Dziś wiemy, że to właśnie antyestrogeny są odpowiedzialne za stymulację proliferacji w tych przypadkach. Temu problemowi będą poświęcone rozważania przedstawione poniżej.

### **HORMONOKREATYWNOŚĆ KOMÓREK NABŁONKOWYCH RAKA PIERSI Z AMPLIFIKACJĄ I/LUB NADEKSPRESJĄ GENU *HER-2***

Badania *in vitro*, prowadzone na ludzkich liniach komórkowych raka piersi wykazały, że gen *HER-2* ulega transkrypcjonalnej represji przez stymulowany estrogenem (obsadzony jako ligandem) ER. Stwierdzono również, że traktowanie tamoksifenem odwraca ten efekt prowadząc do wzrostu ekspresji genu *HER-2* w komórkach pobudzonych estrogenem. Obniżanie ekspresji genu *HER-2* przez estrogeny wydaje się być powszechnym wynikiem badań na komórkowych modelach raka piersi, sugerując, że gen *HER-2* pozostaje pod kontrolą estrogenów w prawidłowym nabłonku gruczołu piersiowego. Stwierdzono np. że poziom białka p185 wzrasta w gruczole mlecznym szczurów podczas laktacji. Świadczyłoby to o roli w utrzymaniu fenotypu zróżnicowanego i regulowaniu tej funkcji przez hormony sterydowe. Blokowanie estrogenem pobudzonego wzrostu komórek guza przez inhibitory kinazy tyrozynowej dostarcza kolejnego dowodu na udział szlaków kinazy tyrozynowej w działaniu estrogenów. Fosforylacja reszt tyrozynowych i serynowych w strukturze ER może być punktem stanowiącym połączenie szlaków sygnalizowania aktywowanych przez ER ze szlakami pobudzającymi przez czynniki wzrostu za pośrednictwem kinaz.

Wśród zalewu prac klinicznych ostatnich dziesięciolecia, dotyczących zagadnienia hormonoreaktywności guzów raka piersi z amplifikacją genu *HER-2*, czasem sprzecznych i niejednoznacznych, należy niewątpliwie wyróżnić te, które są potwierdzeniem najnowszych poglądów na ten temat, pozyskanych w badaniach podstawowych na modelach komórkowych. Są to prace, które już osiem lat temu rzuciły właściwe światło na te zagadnienia, choć ich wyniki zostały zagłuszone przez bardziej liczne, mimo że mniej wartościowe doniesienia. Niewątpliwie najwartościowsze prace kliniczne dotyczące tego problemu to prace szwedzkiej grupy pod kierunkiem Borga. W 1991 roku Borg i współpracownicy przedstawili materiał kliniczny, z którego jednoznacznie wynikało, że współwystępowanie amplifikacji genu *HER-2* z obecnością receptorów estrogenowych u pacjentek z rakiem piersi wyznacza podgrupę kliniczną o szczególnie agresywnym typie guza. Autorzy sugerowali, że w grupie pacjentek, u których w komórkach guza występuje ER, to amplifikacja genu *HER-2* stanowi niezależny wskaźnik krótkiego przeżycia, który może być użyteczny klinicznie do wyodrębnienia podgrupy klinicznej wysokiego ryzyka spośród tych pacjentek, które nie odpowiadają na HT. Rok później Allred i współpracownicy również donieśli o nikłych szansach przeżycia w podgrupie chorych na raka piersi, u których stwierdzono występowanie małych guzów, bez zajęcia węzłów chłonnych, jednak wykazujących występowanie równocześnie ekspresji ER i amplifikacji genu *HER-2*.

W 1994 roku wzmiankowana wyżej grupa Borga przedstawiła wyniki, które powinny były zrewolucjonizować ówczesne poglądy na hormonoreaktywność komórek raka piersi z amplifikacją genu *HER-2*. Otóż Borg był pierwszym klinicystą, który podając antyestrogeny pacjentkom z amplifikacją genu *HER-2* wprowadził dla nich inną grupę kontrolną, aniżeli robili to wszyscy do tej pory. Jego grupę kontrolną stanowiły pacjentki również z amplifikacją genu *HER-2*, lecz nie były one leczone antyestrogenami. Tak ustawione badanie zaowocowało istotnym odkryciem. Borg jako pierwszy wykazał, że pacjentki z grupy kontrolnej żyły dłużej, zaś leczenie antyestrogenami pacjentek z amplifikacją genu *HER-2* koreluje w sposób statystycznie znamieny ze skróceniem u nich czasu wolnego od wznowy (DFS), jak i całkowitego czasu przeżycia (OAS). Ten niekorzystny, wręcz szkodliwy sposób działania antyestrogenów występował szczególnie ostro w grupie pacjentek, u których oprócz amplifikacji genu *HER-2* występowały równocześnie receptory estrogenowe.

W przybliżeniu, około 60 proc. raków piersi zawiera komórki, w których ER ulega ekspresji i są to te przypadki, w których na ogół mniej prawdopodobne jest wystąpienie amplifikacji genu *HER-2*. Linie komórkowe raka piersi, wyprowadzone z guzów wykazujących obecność ER, zawierają względnie niskie poziomy p185 w obecności estrogenów, nato-

miast poziomy te znacznie wzrastają po usunięciu estrogenów lub podaniu antyestrogenów. Ogólnie przyjęto, że istnieje ścisła zależność między onkogeną aktywacją genu *HER-2* i brakiem ekspresji ER w guzie raka piersi. Nadekspresja receptora *HER-2* (białka p185) w estrogenowrażliwych komórkach guza prowadzi nawet do obniżenia *in vitro* ekspresji ER i autoregulacyjnego obniżenia jego poziomu. Oznacza to, że aktywacja genu *HER-2* pojawia się głównie w guzach, których komórki utraciły zdolność regulacji wzrostu przez hormony sterydowe za pośrednictwem receptorów estrogenowych. Guzy te zachowały jednak wrażliwość na te hormony poprzez obecność w ich komórkach nadprodukcji receptorów czynników wzrostu, takich jak p185 czy EGFR i mogą kontynuować pośrednią fazę progresji wzrostu guza poprzez przejście z regulacji endokrynej na pobudzenie szlaków stymulacji auto- i parakrynej. Z drugiej zaś strony receptory o charakterze kinaz tyrozynowych, należące do rodziny *HER*, mogą oddziaływać na szlaki ER. Wiadomo np. że EGFR moduluje wzrost i różnicowanie macicy u szczurów za pośrednictwem ER. Guzy raka piersi, wykazujące nadprodukcję receptorów EGFR i *HER-2*, okazały się być całkowicie odporne na działanie tamoksifenu. Nadprodukcja tych dwu receptorów wywiera addytywny wpływ na przeżycie tych pacjentek i jest wyznacznikiem szczególnie niekorzystnej prognozy. Estradiol wycisza w znacznym stopniu transkrypcję genu *HER-2*, co może mieć ważne implikacje dla funkcji genu *HER-2* w komórkach gruczołu piersiowego i jajnika, gdzie gen ten jest aktywny w kancerogenezie. Częsta amplifikacja genu *HER-2* w rakach piersi i jajnika sprawia, że interakcja z hormonami sterydowymi ma tu doniosłe znaczenie.

W estrogenowrażliwych liniach komórkowych estrogeny hamują syntezę mRNA genu *HER-2* oraz syntezę białka p185 w sposób ściśle związany z receptorem estrogenowym. Działanie tamoksifenu na te komórki prowadzi do wzrostu mRNA genu *HER-2* oraz ilości białka z tej matrycy. Wyniki te mają doniosłe znaczenie kliniczne, ponieważ w grupie guzów, w których występuje nadekspresja białka *HER-2*, podawanie tamoksifenu może mieć niepożądany skutek w postaci podwyższenia poziomu białka p185 dając obserwowany klinicznie związek między wysoką ekspresją tego białka i złą prognozą.

Nadekspresja genu *HER-2* koreluje ze słabą odpowiedzią na terapię antyestrogenową, co sugeruje, że białko p185 i ER aktywują różne szlaki sygnalizowania prowadzące do wzrostu komórek. Ponieważ tamoksifen stymuluje ekspresję genu *HER-2* w komórkach linii raka piersi z ekspresją ER, należy uznać, że podanie tamoksifenu może nasilać sygnały mitogenne poprzez szlaki sygnalizowania pobudzane produktem genu *HER-2*. Podawanie tamoksifenu w przypadku estrogenowrażliwych guzów z nadprodukcją receptora p185 potęguje ich wzrost. Ta interpretacja jest całkowicie zgodna z klinicznymi wynikami prac Borga, w których kliniczne zachowanie estro-



genowrażliwych i *HER-2* pozytywnych guzów wykazywało wzrost agresywności procesu nowotworowego w grupie leczonej tamoksifenem w porównaniu do grupy kontrolnej, w której pacjentki z amplifikacją genu *HER-2* nie otrzymywały antyestrogenów.

Kliniczne badania, których celem było określenie korzyści z adjuwantowego leczenia tamoksifenem w porównaniu z grupami pacjentek nie leczonych antyestrogenami prowadzone były również przez innych autorów w latach następnych. Prognostyczna wartość nadprodukcji białka p185 była oceniana w podgrupach pacjentek poddanych lub nie poddanych adjuwantowej terapii hormonalnej. Badania te wykazały, że tamoksifen znacznie wydłuża czas wolny od wznowy i czas całkowitego przeżycia jedynie w przypadku raka piersi z prawidłowym genem *HER-2*, lecz nie w przypadku jego amplifikacji i/lub nadekspresji. W rzeczywistości tamoksifen ma szkodliwy wpływ na przeżycie pacjentek, u których występuje nadprodukcja białka p185.

Kolejnym krokiem w badaniach podstawowych, pozwalającym lepiej zrozumieć działanie antyestrogenów w przypadku raka piersi z amplifikacją genu *HER-2* była interesująca publikacja Warri i współpracowników, która ukazała się w 1996 roku. Badacze ci wykazali, że jeden z antyestrogenów – toremifen – stymuluje uwalnianie zewnątrzkomórkowej domeny (ECD), będącej chwytnikiem ligandów transmembranowej struktury receptora p185. Badając linię komórkową BT-474 ludzkiego raka piersi z amplifikacją genu *HER-2* i estrogenową wrażliwością, autorzy potwierdzili najpierw znany fakt uwalniania ECD białka *HER-2* przez te komórki do medium hodowlanego, a następnie wykazali statystycznie znamienne wzrost stężenia ECD w medium pod wpływem toremifenu. Wykazali również, że toremifen specyficznie uczestniczy w uwalnianiu ECD, a mechanizmem tego zjawiska jest proteolityczne uwalnianie białek powierzchniowych, pojawiające się w trakcie antyestrogenowego działania toremifenu. Ponieważ poziom rozpuszczalnego ECD jest bardzo ważny dla wzrostu komórek guza, autorzy sugerują, że uwalnianie białka ECD przez toremifen jest dodatkowym poziomem regulowania aktywności kinazy tyrozynowej receptora p185. Zwiększenie ilości rozpuszczalnego chwytnika ligandów powoduje zaburzenia funkcji receptora p185 i mediowanych przez niego sygnałów mitogennych, powodując między innymi brak wrażliwości na czynniki kierujące komórkę do różnicowania. Autorzy sugerują także, że stymulowanie uwalniania ECD może być bezpośrednią przyczyną wywołującą oporność na hamujący wzrost działania antyestrogenów. Zgodnie z opinią autorów, amplifikacja genu *HER-2* prowadzi do wzrostu komórek, który w przypadku obecności receptorów estrogenowych jest wyhamowywany przez estrogeny, zaś antyestrogeny pobudzają go.

Niezwykle ważkim ze względu na implikacje kliniczne problemem mogą być najnowsze dane pochodzące z badań na komórkowych liniach ludzkiego raka piersi, a dotyczące ge-

nu *HER-3*, ściśle spokrewnionego z genem *HER-2* i współdziałającego z nim w komórkowej transformacji. Otóż z najnowszych badań wynika, że gen ten również pozostaje pod kontrolą estrogenów i reaguje tak samo na estrogeny i antyestrogeny jak gen *HER-2*. Ekspresja genu *HER-3* również jest wyciszana przez estradiol i silnie stymulowana przez antyestrogeny. Obydwie te reakcje mediowane są przez zmiany w transkrypcji genu. Wykrycie zależności, w której gen *HER-2* i *HER-3* wykazują wzmożoną ekspresję w obecności antyestrogenów jest o tyle ważne, że wydaje się, iż nadekspresja tych dwóch genów może mieć synergistyczny wpływ na zachowanie komórki. Uważa się również, że połączona nadekspresja genu *HER-2* i *HER-3*, która pojawia się w obecności antyestrogenów, chociaż względnie niska, działa silniej jako onkogeny czynnik stymulujący, aniżeli nadekspresja samego tylko genu *HER-2*. Wykazano również, że wewnątrz pierwszego intronu genu *HER-2* w komórkach wykazujących amplifikację tego genu, znajduje się sekwencja DNA wykazująca zależne od ER hamowanie promotora genu *HER-2* pod wpływem estrogenów. Sekwencja tego regionu włączana jest w mediowanie odpowiedzi transkrypcyjnej na estrogeny, a charakter tego działania zgodny jest z funkcją transkrypcjonalnego *enhancera*. Wykrycie takiego *enhancera* nie tylko potwierdza w przypadku genu *HER-2* obecność mechanizmu zależnej od ER estrogenowej regulacji transkrypcji tego genu, ale pokazuje także, że ta sekwencja DNA genu *HER-2*, jako *enhancer* oddziałuje być może na transkrypcję innych genów rodziny *HER*, zaś z pewnością – co wykazano – oddziałuje na transkrypcję genu *HER-3*.

**Ponieważ antyestrogeny mogą zwiększać transkrypcję genu *HER-2* i *HER-3*, co prowadzi do wzrostu poziomu receptorów będących produktem tych genów, zaś receptory te synergistycznie pobudzają proliferację komórkową, należy niesłychanie starannie od nowa przemyśleć w świetle tych faktów lansowaną obecnie strategię wieloletniej prewencji raka piersi za pomocą podawania tamoksifenu pacjentkom wysokiego ryzyka, u których zarówno rodzinnie, jak i u nich samych występuje mutacja genu *BRCA1* lub *BRCA2*. Z drugiej zaś strony przedstawione fakty pokazują konieczność indywidualizowanego podawania tamoksifenu pacjentkom z rakiem piersi w oparciu o wyselekcjonowanie podgrupy klinicznej z amplifikacją genu *HER-2*. Pacjentkom z tej podgrupy klinicznej nie wolno wdrażać antyestrogenowej terapii adjuwantowej.**

#### PIŚMIENICTWO W REDAKCJI

#### ADRES DO KORESPONDENCJI

dr n. przyr. Ewa Szaclikowska  
Zakład Patomorfologii Klinicznej  
Centralnego Szpitala Klinicznego WAM  
ul. Szaserów 128  
00-909 Warszawa