

Ekspresja białek Id2 w nowotworach złośliwych jajnika

Id2 protein expression in malignant ovarian tumours

Sylwia Czekierdowska, Artur Czekierdowski, Jan Kotarski

I Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie; kierownik Kliniki: prof. dr hab. med. Jan Kotarski

Przeгляд Menopauzalny 2009; 1: 20–25

Streszczenie

Białka z grupy Id mogą istotnie wpływać na angiogenezę i rozsiew nowotworów złośliwych. Celem pracy było zbadanie, czy ocena ekspresji białek z grupy Id2 w guzach złośliwych jajnika ma związek ze stopniem różnicowania histologicznego i zaawansowania klinicznego tych nowotworów. Średnia wieku operowanych 49 kobiet wynosiła $56,1 \pm 12,7$ roku (zakres 27–80 lat), w tym 18 (36,7%) pacjentek było przed menopauzą. W badaniu histologicznym ponad połowa guzów złośliwych była rakami surowiczymi ($n = 26$), rozpoznano ponadto 14 raków śluzowych, 5 endometrioidalnych oraz 4 guzy przerzutowe. Ekspresję białka Id2 jako obecność odczynów barwnych o różnej intensywności stwierdzono w 40 przypadkach nowotworów złośliwych jajnika. W ponad 40% przypadków ($n = 17$) odnotowano wysoką ekspresję białka Id2. W pozostałych 9 (19%) przypadkach nie stwierdzono odczynów barwnych w komórkach nowotworowych. Wszystkie te guzy były rakami surowiczymi. Reakcje barwne widoczne były zarówno w jądrach komórkowych, jak i w cytoplazmie komórek nowotworowych oraz w komórkach wokół mikronaczyń bezpośrednio sąsiadujących ze światłem kapilary. W 19 z 25 przypadków (76%) raków mało zaawansowanych klinicznie stwierdzono ekspresję Id2 o średnim lub dużym nasileniu. Stopień różnicowania histologicznego guza złośliwego jajnika miał istotny wpływ ($p = 0,009$) na ekspresję białka Id2. W guzach nisko zróżnicowanych (G3) ponad 60% (12 z 18) charakteryzowało się średnią lub dużą ekspresją Id2 (5–9 pkt). Status menopauzalny nie wpływał istotnie na intensywność ekspresji Id2. Wysoką ekspresję białka Id2 (7–9 pkt) obserwowano zarówno u kobiet przed menopauzą (39%), jak i po menopauzie (32%), ale brak ekspresji Id2 był charakterystyczny przede wszystkim dla kobiet po menopauzie (8 z 9 przypadków). Na podstawie wyników przeprowadzonych badań autorzy sądzą, że badanie ekspresji białka Id2 może być wykorzystane jako dodatkowy parametr charakteryzujący różne typy złośliwych guzów jajnika u kobiet.

Słowa kluczowe: rak jajnika, białka Id, czynniki transkrypcyjne HLH, angiogeneza

Summary

It has been suggested that various proteins from the "Id" group may play an important role in malignant tumour angiogenesis and metastasis formation. Our aim was to assess whether the expression of Id2 proteins is associated with tumour type, histological grading and FIGO stage in women with malignant ovarian neoplasms. The mean age of 49 patients operated on was 56.1 ± 12.7 years (range: 27–80 years) and 18 (36.7%) women in this group were premenopausal. Histological examination revealed that more than half of tumours were serous ovarian cancers ($n = 26$). Other malignancies included 14 mucinous, 5 endometrioid and 4 metastatic tumours. Expression of Id2 protein estimated semiquantitatively (as 1 to 9 points) was found in 40 cases. In 40% of these tumours ($n = 17$) a high degree of Id2 expression was found. All 9 (19%) tumours without expression of Id2 were serous ovarian cancers. Id2 protein was found in both nuclei and cytoplasm of cancer cells. Also some staining was seen in pericytes adjacent to the microcapillary lumen. In 19 of 25 cases (76%) of low FIGO stage (I and II) tumours Id2 expression was medium or high. Histological grading also had a significant influence ($p = 0.009$) on Id expression. Most (12 of 18) low-grade tumours (G3) had medium or high Id2 content assessed as 5 to 9 points. Menopausal status had no significant influence on intensity of Id2 staining. High expression of Id2 protein (7 to 9 points) was observed in women before (39%) and after menopause (32%). However, absent Id2 expression was predominantly found in women after menopause (8 of 9 cases). Based on these preliminary results we conclude that the assessment of Id2 protein may be used as an additional parameter to characterize various types of malignant tumours in women.

Key words: ovarian cancer, Id proteins, HLH transcriptional factors, angiogenesis

Adres do korespondencji:

dr hab. med. **Artur Czekierdowski**, prof. nadzw. UM, I Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Staszica 16, 20-081 Lublin, e-mail: a.czekierdowski@am.lublin.pl

Rak jajnika jest jednym z najgorzej rokujących nowotworów narządów płciowych u kobiet. W rozwoju złośliwych nowotworów jajnika istotną rolę odgrywają procesy aktywacji onkogenów z jednoczesną inaktywacją genów supresorowych oraz proces neoangiogenezy [1, 2]. W regulację tych procesów zaangażowanych jest szereg mechanizmów, wśród których ważną funkcję pełnią czynniki transkrypcyjne. Rodzina HLH (*helix-loop-helix*) liczy ponad 200 różnych czynników transkrypcyjnych zidentyfikowanych w większości organizmów żywych [3]. Podrodzina białek HLH określana jako białka Id (od *inhibitor of differentiation/DNA synthesis*) odgrywa istotną rolę w biologii nowotworów [4]. Wyróżniono i opisano dotąd cztery rodzaje białek Id, oznaczając je kolejno numerami Id1–Id4. Geny *Id* pełnią funkcję zarówno onkogenów kooperujących, jak i dominujących. Te onkogenne właściwości genów *Id* oraz dobrze udokumentowana zdolność do indukcji proliferacji komórek współistnieją z właściwościami supresorowymi czynników transkrypcyjnych HLH, których aktywność jest blokowana przez białka Id [5].

Najnowsze badania nad białkami Id wskazują, że odgrywają one istotną rolę w biologii nowotworów. Jako onkoproteiny powodują zahamowanie apoptozy komórek, hamują ponadto ich różnicowanie oraz stymulują wzrost. Białka Id mogą istotnie wpływać na angiogenezę i inwazyjność guza, a zwiększona ekspresja genów *Id* występuje w wielu zaawansowanych klinicznie postaciach nowotworów złośliwych, takich jak rak trzustki, glejaki, raki jelita grubego i szpiczaki [6–8]. W ostatnich latach coraz częściej sugeruje się, że białka *Id* mogłyby odgrywać rolę nowych markerów nowotworowych. Badania wskazują ponadto, że białka Id1, Id2 i Id3 mogą pełnić ważną funkcję we wczesnych etapach kancerogenezy raka wątroby, szyjki macicy czy endometrium [9–11]. Dotąd niewiele wiadomo na temat znaczenia zaburzonej ekspresji genów *Id* u chorych na raka jajnika.

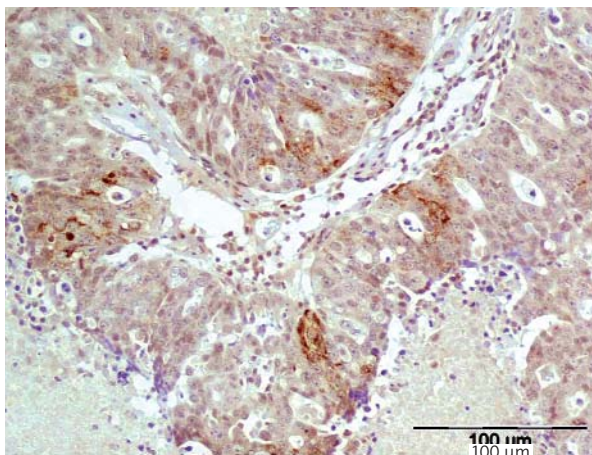
Nieliczne badania, najczęściej prowadzone do tej pory na liniach komórkowych nowotworów jajnika, dotyczyły głównie białka Id1. Schindl i wsp. [12] wykazali istotne zależności pomiędzy zwiększoną ekspresją Id1 a stopniem zróżnicowania oraz zaawansowania nowotworu i krótszym okresem przeżycia chorych. Inne białko z rodziny Id, określane jako Id2, jest swoistym opozycjonistą w stosunku do białka Id1. Charakteryzuje się działaniem supresorowym, hamując ekspresję białek p16, p21 i białka *retinoblastoma* (Rb) [13]. W warunkach fizjologicznych Id1 jest włączone w procesy regulacji różnicowania w czasie rozwoju embrionalnego oraz w procesie spermatogenezy w odpowiedzi na działanie androgenów [14]. Białko Id2 jest głównym celem dla białka Rb, co sugeruje, że jest ono jednym z kluczowych składników systemu kontroli cyklu komórkowego [15]. Zaburzenia ekspresji Id2 mogą wpływać na zwiększoną i niekontrolowaną proliferację komórek [4]. Nadmierna ekspresja Id2 powoduje blokadę szlaku hamującego ekspresję białka Rb. Supresja tego szlaku jest charakte-

rystyczna dla kancerogenezy i obecna w większości nowotworów złośliwych [5, 14]. Nieznana jest obecnie rola Id2 jako potencjalnego czynnika prognostycznego w różnych typach histologicznych raka jajnika.

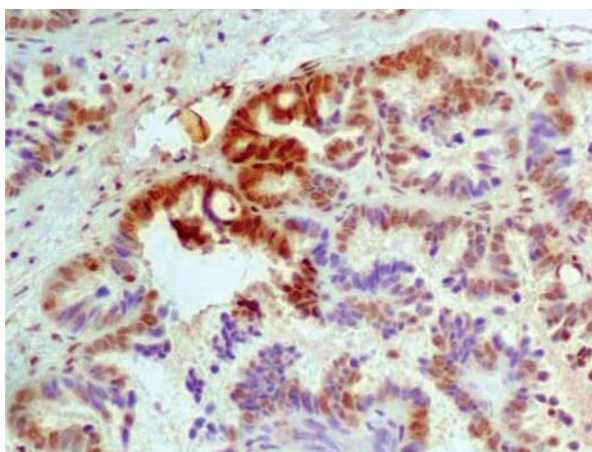
Celem pracy było zbadanie, czy ocena ekspresji białek Id2 w guzach złośliwych jajnika ma związek ze stopniem zróżnicowania histologicznego i zaawansowania klinicznego tych nowotworów.

Materiał i metody

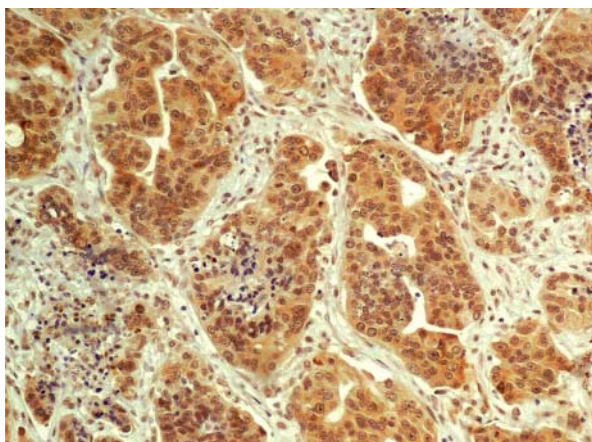
Badaniami objęto grupę 49 kobiet, które były operowane w I Klinice Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie z powodu guzów złośliwych jajnika w latach 2005–2006. Oceniano wiek oraz status menopauzalny każdej pacjentki, rodzaj histologiczny i stopień zróżnicowania guza, stadium zaawansowania klinicznego nowotworu wg FIGO. Status menopauzalny kobiet po wcześniejszej histerektomii określono jako ukończenie 50. roku życia. Materiał do badań histologicznych i immunohistochemicznych pobrany został przez doświadczonego patologa z centralnej części zmiany, z pominięciem obszarów martwiczych oraz obszarów naciekania sąsiednich narządów. Badania immunohistochemiczne wykonano na skrawkach parafinowych utrwalonych w formalinie o grubości 5 µm. Po odparafinowaniu i uwodnieniu materiału tkanekowego w szeregu alkoholowym zastosowano procedurę odstąpienia determinanty antygenowej, wykorzystując bufor cytrynianowy (0,01 M; pH = 6,0) i trzy cykle mikrofalowe (każdy po 5 min, moc 750 W). Aktywność endogennej peroksydazy blokowano 3-procentowym roztworem nadtlenku wodoru przez 20 min w temperaturze pokojowej. Preparaty płukano każdorazowo 3 razy przez 5 min w buforze TBS, a następnie inkubowano z przeciwciałem pierwotnym skierowanym przeciwko badanemu antygenowi Id2 (Invitrogen, USA) w rozcieńczeniu 1 : 100 przez 60 min w temperaturze pokojowej. Następnie zastosowano przeciwciało wtórne z kompleksem streptawidyna/biotyna skoniugowane z peroksydazą (LSAB2/HRP kit; DAKO, Dania). Peroksydazę wykrywano przy użyciu chromogenu – roztworu czterochlorku 3'-3'-diaminobenzylidyny (DAB, DAKO Dania). Preparaty zostały dodatkowo wybarwione hematoksyliną Mayera. Kontrolę negatywną stanowiły identycznie przygotowane preparaty guzów, ale bez zastosowania przeciwciał. W kontroli pozytywnej wg zaleceń producenta zestawów wykorzystano fragmenty prawidłowego jądra męskiego, w którym typowo stwierdzana jest ekspresja białka Id2. Do oceny preparatów histologicznych wykorzystano mikroskop Olympus CX41 z kamerą cyfrową DP12, cały ten system zintegrowano z komputerem PC. Obrazy mikroskopowe archiwizowano na twardym dysku komputera, a następnie analizowano przy użyciu programu DP-Soft firmy Olympus (Japonia).



Ryc. 1. Przykład niskiej ekspresji białka Id2 (4 pkt) w surowiczym raku jajnika (powiększenie 100 ×). Reakcje barwne widoczne przede wszystkim w cytoplazmie



Ryc. 2. Przykład średniej ekspresji białka Id2 (6 pkt) w surowiczym raku jajnika (powiększenie 100 ×). Część komórek charakteryzuje się bardzo intensywną ekspresją Id2. Odczyny barwne widoczne głównie w jądrze komórkowym



Ryc. 3. Wysoka ekspresja białka Id2 (9 pkt) w surowiczym raku jajnika (powiększenie 100 ×). Większość komórek nowotworowych wykazuje odczyny barwne zarówno w cytoplazmie, jak i jądrach komórkowych

Ocenę półilościową ekspresji białka Id2 przeprowadzono wg zmodyfikowanego sposobu opisanego przez Schindla i wsp. [12]. Określono odsetkowy udział komórek nowotworowych wykazujących ekspresję Id2 w porównaniu ze wszystkimi komórkami w polu widzenia oraz intensywność odczynów barwnych. W tym celu nadawano im odpowiednią liczbę punktów, tzn. gdy ekspresję stwierdzano w przypadku 0–10% komórek przyznawano 0 pkt, analogicznie przy 11–20% przyznawano 1 pkt; 21–50% – 2 pkt; 51–80% – 3 pkt; powyżej 80% – 4 pkt. Słaby odczyn oceniano na 1 pkt, średni odczyn na 2 pkt; intensywny odczyn na 3 pkt. Ze względu na stwierdzone różnice w lokalizacji ekspresji Id2 w obszarze jądrowym i/lub cytoplazmatycznym przyznawano dodatkowo 1 lub 2 pkt. Po zsumowaniu liczba przyznawanych punktów dla ocenianego przypadku wahała się od 0 do 9. W zależności od uzyskanej liczby punktów ekspresję białka Id2 definiowano jako brak (0–2 pkt), słabą (3–4 pkt), średnią (5–6 pkt) lub wysoką (7–9 pkt).

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica v.6.0 (Statsoft, Polska). Ze względu na brak zgodności z rozkładem normalnym do wykrycia istotności różnic między cechami niepowiązаныmi dla dwóch grup użyto nieparametrycznego testu U Manna-Whitney'a oraz testu kolejności rang ANOVA wg Kruskala w przypadku więcej niż dwóch grup. Przyjęto 5-procentowy błąd wnioskowania i związany z nim poziom istotności statystycznej $p < 0,05$ wskazujący na istnienie istotnych różnic bądź zależności.

Wyniki

W badanej grupie kobiet z nowotworami złośliwymi przydatków średnia wieku wynosiła $56,1 \pm 12,7$ roku (zakres wieku 27–80 lat), w tym 18 (36,7%) pacjentek było przed menopauzą, a 31 (63,3%) po menopauzie. W grupie badanej ponad połowa guzów złośliwych była rakami surowiczymi ($n = 26$). Wśród pozostałych zmian nowotworowych stwierdzono 14 raków śluzowych, 5 guzów typu endometrialnego oraz 4 guzy przerzutowe. W I stopniu zaawansowania klinicznego wg FIGO było 21 chorych (11 po menopauzie), w II stopniu – 4 pacjentki (2 po menopauzie), w III – 21 kobiet (15 po menopauzie) a w IV stopniu – 3 (wszystkie po menopauzie). Stopień zróżnicowania histologicznego przedstawiał się następująco: 10 raków w stopniu G1, 21 w stopniu G2, pozostałe 18 guzów były w stopniu G3.

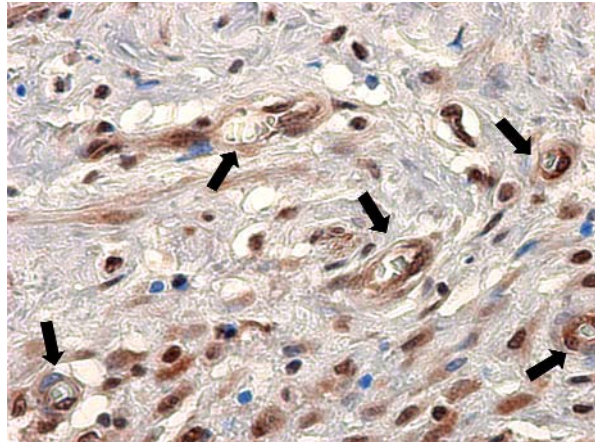
W ocenie ekspresji białka Id2 stwierdzono obecność odczynów barwnych o różnej intensywności w 40 przypadkach nowotworów złośliwych jajnika. Przykłady reakcji barwnej przedstawiono na rycinach 1–4. W ponad 40% przypadków ($n = 17$) stwierdzono wysoką ekspresję białka Id2 (6–9 pkt) (ryc. 3). W pozostałych 9 (19%) przypadkach nie stwierdzono odczynów barwnych w komórkach nowotworowych. Co ciekawe, wszystkie te

przypadki to raki surowicze. Reakcje barwne z przeciwciałem anti-Id2 widoczne były zarówno w jądrach komórkowych, jak i cytoplazmie komórek nowotworowych. Ponadto w części badanych przypadków stwierdzono odczyn barwny w komórkach wokół mikronaczyń zarówno bezpośrednio sąsiadujących ze światłem kapilary, co wskazuje na endotelocyty, jak i w komórkach im towarzyszących wokół ściany naczynia, co sugeruje, że najprawdopodobniej były to pericyty (ryc. 4.).

Intensywność ekspresji Id2 w zależności od rodzaju histologicznego guza nie różniła się istotnie pomiędzy grupami. W rakach typu surowiczego stopień nasilenia ekspresji Id2 rozkładał się równomiernie (ryc. 1.–3.); prawie połowa przypadków charakteryzowała się brakiem lub słabą reakcją barwną. W 14 przypadkach raków śluzowych większość (78%) wykazywała odczyn barwny definiowane jako średnie lub intensywne. Stopień zaawansowania klinicznego choroby również nie miał istotnego wpływu na intensywność obserwowanych odczynów barwnych w nowotworach złośliwych jajnika z przeciwciałem anti-Id2. Ze względu na niewielką liczbę przypadków w stopniu II i IV wg FIGO, do celów statystycznych zostały one zgrupowane odpowiednio razem ze stopniem I i III wg FIGO. Interesujący jest fakt, że 19 z 25 przypadków (76%) nisko zaawansowanych klinicznie (I i II wg FIGO) raków charakteryzowało się ekspresją Id2 o średnim lub wysokim nasileniu. Biorąc pod uwagę stopień zróżnicowania histologicznego guza złośliwego jajnika, stwierdzono pomiędzy badanymi grupami istotne statystycznie różnice ($p = 0,009$) w ekspresji białka Id2. W przypadku nowotworów nisko zróżnicowanych (G3) ponad 60% (12 z 18) charakteryzowało się średnią lub wysoką ekspresją Id2 (5–9 pkt). Status menopauzalny nie miał istotnego wpływu na intensywność ekspresji Id2. Wysoką ekspresję białka Id2 (7–9 pkt) obserwowano zarówno u kobiet przed menopauzą (39%), jak i po menopauzie (32%). Co ciekawe, zaobserwowany brak ekspresji Id2 w części preparatów guzów złośliwych jajnika był charakterystyczny dla kobiet po menopauzie (8 z 9 przypadków).

Dyskusja

Wyniki badań własnych wskazują, że pomiędzy badanymi guzami złośliwymi jajnika mogą istnieć istotne różnice w zależności od stopnia zróżnicowania histologicznego, rodzaju guza oraz jego stopnia zaawansowania klinicznego wg FIGO. Może to sugerować potencjalną przydatność oceny ekspresji białka Id2 w charakterystyce nowotworów złośliwych jajnika u kobiet. Obserwacje autorów są zgodne z wynikami opublikowanych ostatnio badań, w których zasugerowano, że białka Id mogą być potencjalnymi markerami wczesnego procesu nowotworowego [13, 16, 17]. Podczas gdy większość białek HLH wpływa stymulująco na ekspresję genów, białka Id działają hamująco, uniemożliwiając wiązanie DNA



Ryc. 4. Przykład ekspresji białka Id2 wokół mikronaczyń nowotworowych oraz w części komórek nowotworowych w śluzowym raku jajnika (powiększenie 200 ×). Odczyn barwny widoczny w jądrach komórkowych oraz w cytoplazmie. Mikronaczynia zaznaczone strzałkami, w ich świetle widoczne niewybarwione, bezjądrzaste erytrocyty

do czynników transkrypcyjnych HLH. Ze względu na znane właściwości onkogenne białek Id oraz z uwagi na fakt, że brak ekspresji genów *Id* w liniach komórek nowotworowych prowadzi do zahamowania wzrostu, wydaje się prawdopodobne, że białka Id odgrywają istotną rolę w mechanizmie transformacji nowotworowej, mogąc być jej przyczyną [3]. W dostępnym piśmiennictwie istnieje niewiele – często sprzecznych – doniesień na temat roli białka Id2 w procesie nowotworzenia. Uzyskane przez autorów wstępne wyniki badań sugerują, że zwiększona ekspresja tego białka często towarzyszy rozrostom nowotworowym i nie jest zależna od rodzaju histologicznego guza złośliwego. Brak istotnych różnic w zależności od stopnia zaawansowania choroby sugeruje, że zaburzenia związane z ekspresją białek Id2 prawdopodobnie pojawiają się na bardzo wczesnym etapie procesu kancerogenezy. Co ciekawe, badania autorów wskazują na fakt, że już w przypadku nisko zaawansowanych klinicznie raków ponad 70% z nich miało wyraźnie podwyższoną ekspresję białka Id2. Coppe i wsp. [16] stwierdzili, że nasilenie ekspresji Id2 stanowi swoisty rodzaj przeciwwagi w stosunku do działania Id1. Pojawienie się tego białka było związane ze zmniejszeniem potencjału proliferacyjnego i inwazyjności komórek nowotworowych prostaty. Jednocześnie obniżony poziom ekspresji Id2 obserwowano w przypadku bardziej agresywnych i inwazyjnych raków niż w przypadku zróżnicowanej i nieinwazyjnej postaci raka *in situ*. Stighall i wsp. [11], oceniając za pomocą metod immunohistochemicznych ekspresję Id2 w pierwotnym raku piersi, stwierdzili obecność reakcji barwnych w jądrze i cytoplazmie komórek nowotworowych. Wykazali oni, że podwyższona ekspresja Id2 była istotnie częściej związana z nowotworami o mniej agresywnym fenotypie. Co więcej, duże stężenie tego białka w cyto-

Tab. I. Charakterystyka kliniczna pacjentek i ekspresja białka Id2 w badanych nowotworach złośliwych jajnika

| Liczba przypadków | Brak ekspresji Id2 (0-2) | Niska ekspresja Id2 (3-4) | Średnia ekspresja Id2 (5-6) | Wysoka ekspresja Id2 (7-9) | Poziom istotności p |
|--|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| N = 49 (100%) | n = 9 (18,4%) | n = 9 (18,4%) | n = 14 (28,6%) | n = 17 (34,6) | |
| status menopauzalny | | | | | |
| przed menopauzą n = 18 | 1 (2%) | 4 (8,1%) | 6 (12,2%) | 7 (14,2%) | Z = 0,964; |
| po menopauzie n = 31 | 8 (16,3%) | 5 (10,2%) | 8 (16,3%) | 10 (20,4%) | p = 0,33 |
| stopień zróżnicowania histologicznego | | | | | |
| G1 n = 10 | 0 (0%) | 1 (2%) | 2 (4%) | 7 (14,2%) | H = 9,4 p = 0,009 |
| G2 n = 21 | 7 (14,2%) | 4 (8,1%) | 6 (12,2%) | 4 (8,1%) | |
| G3 n = 18 | 2 (4%) | 4 (8,1%) | 6 (12,6%) | 6 (12,6%) | |
| stopień zaawansowania klinicznego wg FIGO | | | | | |
| I + II n = 21 + 4 (50,9%) | 4 (8,1%) | 2 (4%) | 8 (16,3%) | 11 (20,3%) | Z = 1,7 p = 0,07 |
| III + IV n = 21 + 3 (48,9%) | 5 (10,2%) | 7 (14,2%) | 6 (12,2%) | 6 (12,6%) | |
| rodzaj histologiczny guza | | | | | |
| surowicze n = 26 (53%) | 9 (18,3%) | 3 (6,1%) | 6 (12,2%) | 8 (16,3%) | H = 2,9 p = 0,39 |
| śluzowe n = 14 (28,5%) | 0 (0%) | 3 (6,1%) | 6 (12,2%) | 5 (10,2%) | |
| endometrialne n = 5 (10,2%) | 0 (0%) | 2 (4%) | 1 (2%) | 2 (4%) | |
| inne n = 4 (8,1%) | 0 (0%) | 1 (2%) | 1 (2%) | 2 (4%) | |

plazmie było związane z lepszym rokowaniem. Przeprowadzone dodatkowo badania *in vitro* na liniach komórek nowotworowych wykazały, że zwiększona ekspresja Id2 miała istotny wpływ na zmniejszenie inwazyjności komórek [11]. Chaudhary i wsp. [13], badając grupę czynników inhibitorowych Id w komórkach nabłonkowych prostaty, stwierdzili, że Id1 związane jest z indukcją proliferacji, podczas gdy Id2 oraz Id4 są zaangażowane w regulowanie procesów różnicowania w komórkach w odpowiedzi na działanie androgenów.

Pionierskie prace Lydena i wsp. [7] dotyczące roli białek Id i przeprowadzone na myszach transgenicznym z defektem genów *Id1* oraz *Id3* potwierdziły hipotezę zakładającą, że białka te są krytyczne w powstawaniu naczyń w guzach. Szczególnie dwa rodzaje białek, tzn. Id1 i Id3, w naczyniach krwionośnych nowotworów wpływają na zmianę fenotypu na angiogeny w komórkach śródbłonna i pojawienie się zjawiska indukcji angiogenezy, tzw. *angiogenic switch* [18]. Własne obserwacje w badanej grupie preparatów złośliwych guzów jajnika sugerują, że również w przypadku białka Id2 jego zwiększona ekspresja może wiązać się z nasilonymi procesami angiogenezy. Intensywne odczyny barwne stwierdzone w komórkach mikronaczyń nowotworowych mogą potwierdzać tę hipotezę. W następnym etapie badań interesująca wydaje się ocena gęstości mikronaczyń proliferujących w powiązaniu z oceną ekspresji białek Id.

Badania Linga i wsp. [17] wykazały, że zwiększona ekspresja Id1 prowadzi do zwiększonej ekspresji czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) poprzez aktywację ge-

nu VEGF. Aktywna forma VEGF z kolei stymuluje proliferację komórek śródbłonna i powstawanie nowych naczyń. Podobne wyniki opublikowali Ding i wsp. [19], którzy badali wpływ białek Id1 na receptor EGF w komórkach nowotworowych pęcherza moczowego. Najnowsze badania wpływu Id2 na VEGF wykazały, że białko to hamuje produkcję VEGF [20]. Komórki nowotworowe wątroby o podwyższonej ekspresji Id2 charakteryzowały się jednocześnie obniżoną ekspresją VEGF. Dodatkowe badania na genetycznie zmodyfikowanych komórkach z defektem genu *Id2* potwierdziły hamujący wpływ tego białka na produkcję i sekrecję VEGF. Tsunedomi i wsp. [20] zasugerowali, że zwiększona ekspresja Id2 może częściowo zmniejszać inwazyjność komórek nowotworowych poprzez ograniczenie ich migracji, na którą bezpośrednio wpływa VEGF.

Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że białka Id mogą być potencjalnie nie tylko nowymi markerami nowotworowymi, ale być może także – w niedalekiej przyszłości – wysoce efektywnym i selektywnym celem w terapii nowotworów [5]. Pomimo że nie są czynnikami transkrypcyjnymi w klasycznym ujęciu, to kontrolują aktywność szeregu istotnych białek regulatorowych zaangażowanych w procesy transkrypcyjne. Poprzez wpływ na te czynniki białka Id stanowią centralny punkt wielu szlaków regulujących proliferację, różnicowanie, migrację oraz interakcje komórkowe. Potencjalne wykorzystanie białek Id jako celu terapeutycznego może więc wpłynąć na różne aspekty transformacji nowotworowej i progresji choroby. Z ww. względów i na podstawie przeprowadzonych badań autorzy sądzą, że ocena ekspresji

białka Id2 może być wykorzystana jako dodatkowy parametr charakteryzujący różne typy złośliwych guzów jajnika u kobiet.

Piśmiennictwo

1. Czekierdowski A, Czekierdowska S, Danilos J, et al. Microvessel density and CpG island methylation of THBS2 gene in malignant ovarian tumors. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59, suppl. 4: 53-65.
2. Czekierdowski A, Czekierdowska S. Ocena stężeń czynników angiogennych VEGF, VEGF-R i VCAM-1 w surowicy kobiet z nowotworami złośliwymi jajnika przed i po menopauzie. *Prz Menopauz* 2007; 3: 128-33.
3. Norton JD, Deed RW, Craggs G, Sablitzky F. Id helix-loop-helix proteins in cell growth and differentiation. *Trends Cell Biol* 1998; 8: 58-65.
4. Lasorella A, Uo T, Iavarone A. Id proteins at the cross-road of development and cancer. *Oncogene* 2001; 20: 8326-33.
5. Iavarone A, Lasorella A. ID proteins as targets in cancer and tools in neurobiology. *Trends Mol Med* 2006; 12: 588-94.
6. Maruyama H, Kleeff J, Wildi S, et al. Id-1 and Id-2 are overexpressed in pancreatic cancer and in dysplastic lesions in chronic pancreatitis. *Am J Pathol* 1999; 155: 815-22.
7. Lyden D, Young AZ, Zagzag D, et al. Id1 and Id3 are required for neurogenesis, angiogenesis and vascularization of tumour xenografts. *Nature* 1999; 401: 670-7.
8. Lee KT, Lee YW, Lee JK, et al. Overexpression of Id-1 is significantly associated with tumour angiogenesis in human pancreas cancers. *Br J Cancer* 2004; 22: 1198-203.
9. Schindl M, Oberhuber G, Obermair A, et al. Overexpression of Id-1 protein is a marker for unfavorable prognosis in early-stage cervical cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 5703-6.
10. Schoppmann SF, Schindl M, Bayer G, et al. Overexpression of Id-1 is associated with poor clinical outcome in node negative breast cancer. *Int J Cancer* 2003; 104: 677-82.
11. Stighall M, Manetopoulos C, Axelson H, Landberg G. High ID2 protein expression correlates with a favourable prognosis in patients with primary breast cancer and reduces cellular invasiveness of breast cancer cells. *Int J Cancer* 2005; 115: 403-11.
12. Schindl M, Schoppmann SF, Ströbel T, et al. Level of Id-1 protein expression correlates with poor differentiation, enhanced malignant potential, and more aggressive clinical behavior of epithelial ovarian tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 779-85.
13. Chaudhary J, Schmidt M, Sadler-Riggelman I. Negative acting HLH proteins Id 1, Id 2, Id 3, and Id 4 are expressed in prostate epithelial cells. *Prostate* 2005; 64: 253-64.
14. Lasorella A, Iavarone A, Israel MA. Id2 specifically alters regulation of the cell cycle by tumor suppressor proteins. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 2570-8.
15. Iavarone A, Garg P, Lasorella A, et al. The helix-loop-helix protein Id-2 enhances cell proliferation and binds to the retinoblastoma protein. *Genes Dev* 1994; 8: 1270-84.
16. Coppe JP, Itahana Y, Moore DH, et al. Id-1 and Id-2 proteins as molecular markers for human prostate cancer progression. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2044-51.
17. Ling MT, Lau TC, Zhou C, et al. Overexpression of Id-1 in prostate cancer cells promotes angiogenesis through the activation of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Carcinogenesis* 2005; 26: 1668-76.
18. Benezra R, Rafii S, Lyden D. The Id proteins and angiogenesis. *Oncogene* 2001; 20: 8334-41.
19. Ding Y, Wang G, Ling MT, et al. Significance of Id-1 up-regulation and its association with EGFR in bladder cancer cell invasion. *Int J Oncol* 2006; 28: 847-54.
20. Tsunedomi R, Iizuka N, Tamesa T, et al. Decreased ID2 promotes metastatic potentials of hepatocellular carcinoma by altering secretion of vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1025-31.