

Rola czynników wzrostu w patogenezie raka trzustki

Część I: Receptory nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR) i czynnik wzrostu wiążący heparynę podobny do EGF (HB-EGF)

The role of growth factors in pathogenesis of pancreatic cancer

Part I: Epidermal growth factor receptors (EGFR) and heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF)

Marek Olakowski

Oddział Chirurgii Przewodu Pokarmowego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Przegląd Gastroenterologiczny 2007; 2 (4): 170–174

Słowa kluczowe: rak trzustki, nabłonkowy czynnik wzrostu, czynnik wzrostu wiążący heparynę podobny do EGF.

Key words: pancreatic cancer, epidermal growth factor, heparin-binding EGF-like growth factor.

Adres do korespondencji: dr n. med. Marek Olakowski, Oddział Chirurgii Przewodu Pokarmowego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice, e-mail: olakom@mp.pl

Streszczenie

Rodzina receptorów nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR) składa się z grupy białek przebłonowych, mających wewnętrzną aktywność enzymu kinazy tyrozynowej. Należą do niej 4 receptory, tj. EGFR/ErbB-1, HER2/ErbB-2, HER3/ErbB-3 i HER4/ErbB-4. Nadekspresję EGFR stwierdza się w komórkach raka trzustki (RT) w ponad 40% preparatów wykonanych z guzów nowotworowych usuniętych chirurgicznie. U chorych z nadekspresją EGFR częściej diagnozuje się przerzuty do wątroby i wznówę miejscową. Obserwuje się również korelację między ekspresją EGFR a stopniem zróżnicowania histologicznego i zaawansowania klinicznego RT. W badaniach eksperymentalnych nadekspresja białka HER2/neu w komórkach przyspiesza ich proliferację i wiąże się z transformacją nowotworową oraz powstawaniem przerzutów. Prace, w których badano przydatność oznaczania ekspresji HER2 w praktyce klinicznej, nie przyniosły jednoznacznej odpowiedzi. Wykazano, że w raku głowy trzustki nadekspresja c-erbB-3 ma związek ze złym prognozowaniem. Czynniki wzrostu wiążący heparynę podobny do EGF (HB-EGF) może brać udział w aktywacji autokrynej i parakrynej EGFR, przyczyniając się do wzrostu komórek RT.

Czynniki wzrostu są małymi cząsteczkami polipeptydowymi, które wiążą się z receptorami i poprzez układ przekazywania sygnałów wywołują odpowiedź komórki na dany sygnał. Obecnie znanych jest przynajmniej 20 rodzin białek, zawierających ponad 130 różnych czynników wzrostu, i nieustannie odkrywa się lub syntetyzuje nowe. Czynniki wzrostu produkują różne typy komórek

Abstract

The epidermal growth factor receptor (EGFR) family consists of a group of transmembrane proteins with an intrinsic tyrosine kinase activity. It consists of 4 members: EGFR/ErbB-1, HER2/ErbB-2, HER3/ErbB-3 and HER4/ErbB-4. Overexpression of EGFR is observed in pancreatic cancer cells in over 40% of specimens from surgically excised tumours. In patients with overexpressed EGFR, liver metastases and local recurrence are more frequently observed. A correlation between expression of EGFR and grading and staging is observed. In experimental studies the overexpression of HER2/neu protein in cells triggers proliferation and is connected with neoplastic transformation and metastases. Experimental studies of the usefulness of HER2/neu measurements in clinical practice give inconsistent results. It was shown that overexpression of c-erbB-3 in pancreatic cancer is connected with poor prognosis. Heparin-binding EGF-like growth factor can play a role in auto- and paracrine activation of EGFR, contributing to proliferation of pancreatic cancer cells.

i działają przez mechanizmy autokryjne i/lub parakryjne. Biorą one udział w fibrogenzie, kancerogenezie, angiogenezie, migracji komórek, miejscowej odpowiedzi immunologicznej oraz tworzeniu matriksu zewnątrzkomórkowego. W raku trzustki (RT) zaobserwowano występowanie zmian molekularnych dotyczących różnych czynników wzrostu oraz ich receptorów, co wska-

zuje, że cząsteczki te uczestniczą w patogenezie omawianego nowotworu [1].

Receptor nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR)

Rodzina receptorów nabłonkowego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor receptor* – EGFR) składa się z grupy białek przezbłonowych, mających wewnętrzną aktywność enzymu kinazy tyrozynowej. Należą do niej 4 receptory, tj. EGFR/ErbB-1, HER2/ErbB-2, HER3/ErbB-3 i HER4/ErbB-4. Każdy członek rodziny ErbB ma domenę kinazy tyrozynowej znajdującą się w cytoplazmie, domenę przezbłonową przechodzącą przez błonę komórkową oraz domenę zewnątrzkomórkową, glikozylowaną, wiążącą ligand (ryc. 1) [2].

Wiązanie się ligandu z receptorem rozpoczyna kaskadę przekaźnictwa sygnałów do jądra komórki (ryc. 2.), gdzie dochodzi do odpowiedzi biologicznej na dany sygnał, której wynikiem jest wiele zjawisk, tj. proliferacja, migracja, adhezja, angiogeneza, różnicowanie oraz przeżycie komórki [3]. Zaburzenie regulacji genów w tym ściśle kontrolowanym układzie w następstwie nadekspresji, amplifikacji lub mutacji i/lub stymulacji autokryny prowadzi do rozwoju wielu chorób, w tym nowotworów [4].

EGFR/ErbB-1

EGFR jest białkiem o masie 170 kD i pierwszym odkrytym przedstawicielem rodziny receptorów nabłonkowego czynnika wzrostu [5]. Jego homologię z produktem genu wirusa erytroblastozy u ptaków v-erbB wykorzystano do sklonowania ludzkiego odpowiednika tego genu i poznania właściwości onkogennych EGFR [6]. EGFR może być aktywowany zarówno przez naskórkowy czynnik wzrostu (ang. *epidermal growth factor* – EGF), jak i TGF- α , który jest kluczowym modulatorem procesu proliferacji komórek prawidłowych i nowotworowych [7].

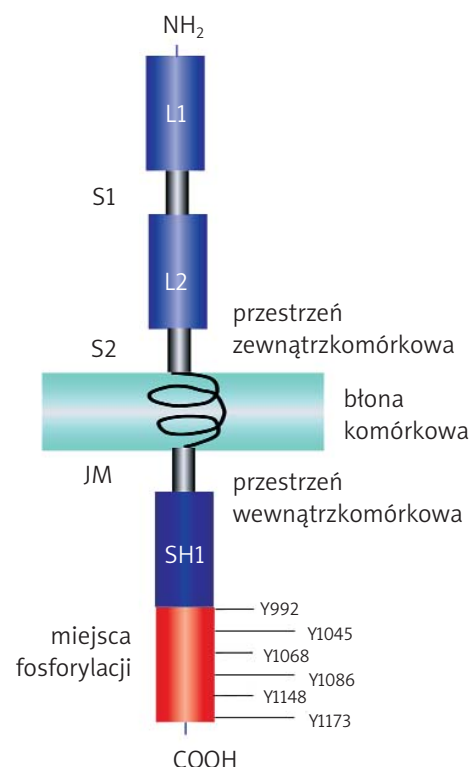
W komórkach RT obserwuje się nadekspresję EGFR, a ponadto równoległy wzrost stężenia mRNA tego receptora, bez jednoczesnego wzrostu liczby kopii jego genu. Komórki te produkują i mają zdolność do wiązania egzogennego TGF- α , a także przetwarzają EGF.

Korelacje współistniejące między nadekspresją EGFR, produkcją TGF- α , przetwarzaniem EGF oraz zmniejszaniem liczby i czułości receptorów (ang. *down-regulation*) przez TGF- α mogą w różny sposób wpływać na wzrost komórek RT [8].

Nadekspresję EGFR stwierdza się w komórkach RT w ponad 40% preparatów wykonanych z guzów nowotworowych usuniętych chirurgicznie [9–11]. Jej obecność ma wpływ na zwiększenie agresywności RT [12]. U chorych z nadekspresją EGFR częściej rozpoznaje się prze-

rzuty do wątroby i wznowę miejscową. Obserwuje się również korelację między ekspresją EGFR a stopniem różnicowania histologicznego i zaawansowania klinicznego tego nowotworu [9].

W badaniach doświadczalnych wykazano, że przyczyną niekontrolowanego wzrostu RT może być nie tylko mutacja czy nadekspresja EGFR, ale także tzw. mechanizm autokryny (ang. *autocrine loop*) polegający na równoczesnej nadekspresji receptora i wzmożonej produkcji przez komórki nowotworowe jego ligandu – EGF i/lub TGF- α [13]. Obserwacje te potwierdzono w badaniach klinicznych. Wykazano związek między

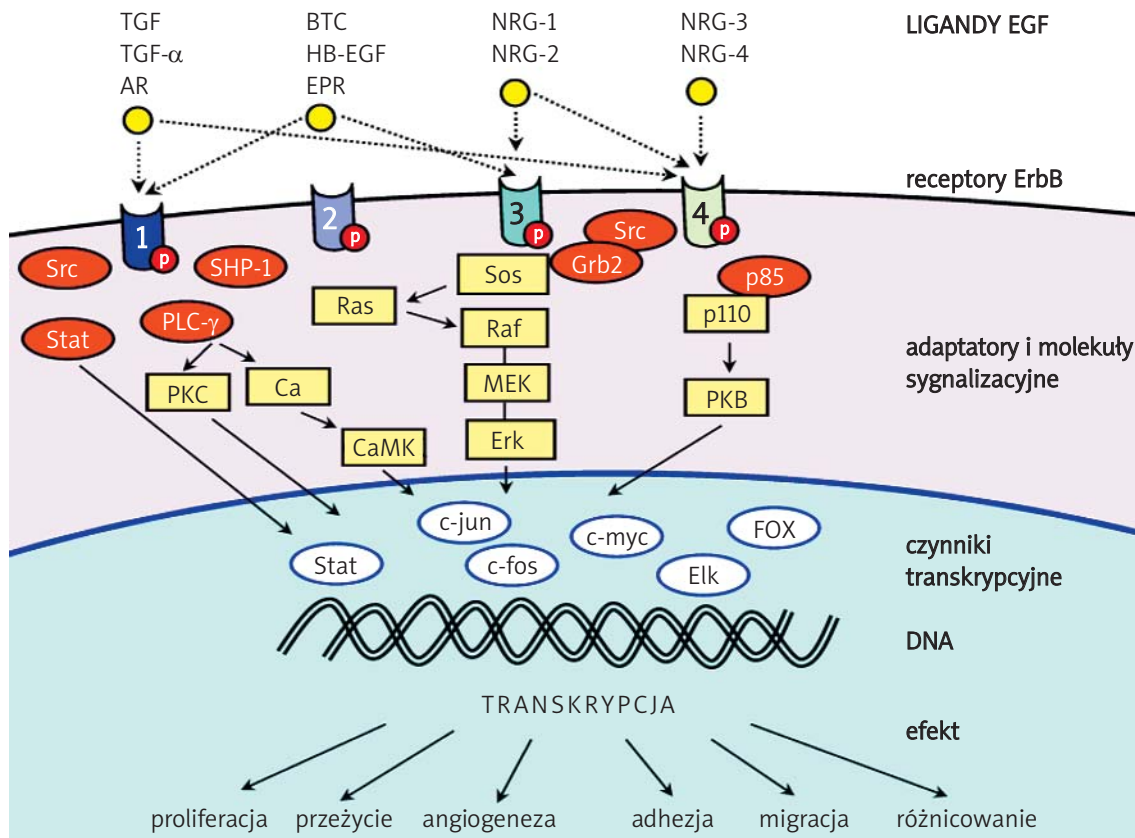


Ryc. 1. Schemat budowy EGFR wg [2] w modyfikacji własnej

Monomer EGFR ma domenę zewnątrzkomórkową, składającą się z 2 poddomen (L1 i L2) wiążących ligand oraz 2 domen zawierających cysteiny (S1 i S2). Domena S1 pozwala na dimeryzację EGFR z drugim receptorem ErbB. SH1 jest domeną kinazy tyrozynowej i znajduje się w domenie cytoplazmatycznej nad 6 resztami tyrozynowymi odpowiedzialnymi za transfosforylację. EGFR ma również domenę przezbłonową oraz okotobłonową (JM)

Fig. 1. Schematic structure of EGFR according to [2] in own modification

The EGFR monomer possesses an extracellular domain consisting of two ligand-binding subdomains (L1 and L2) and two cysteine-rich domains (S1 and S2). S1 domain permits dimerization with a second ErbB receptor. SH1 is the protein tyrosine kinase domain and resides in the cytoplasmic domain above the six tyrosine residues available for transphosphorylation. EGFR also possesses a transmembrane domain and juxtamembran domain (JM)



Ryc. 2. Schemat układu przekazywania sygnałów związany z receptorem ErbB wg [3] w modyfikacji własnej. Ligandy należące do rodziny EGF wiążą się ze swoimi receptorami, powodując tworzenie się różnych dimerów ErbB. ErbB-2, który nie ma ligandu bezpośrednio indukującego homodimeryzację, potrzebuje partnera, żeby uczestniczyć w przekazywaniu sygnałów. Homodimery ErbB-3 nie uczestniczą w przekazywaniu sygnałów, ponieważ receptor ma zaburzoną aktywność kinazy. W konsekwencji aktywacji receptora, różne cząsteczki z funkcją adaptorową lub enzymatyczną przyłączają się do receptorów ErbB. Te z kolei aktywują dalsze komponenty układu, co prowadzi do zmian w aktywności licznych czynników transkrypcyjnych w jądrze komórki. Dla przejrzystości ilustracji wiele składowych układu zostało pominiętych

Fig. 2. The ErbB signalling network according to [3] in own modification

Ligands of the EGF family bind to their receptors causing the formation of different ErbB dimers. ErbB-2, which has no direct ligand inducing homodimerization, needs a partner to acquire signalling potential. ErbB-3 homodimers cannot signal, because the receptor has impaired kinase activity. Following receptor activation various molecules with adaptor or enzymatic functions are directly recruited to the ErbBs. These then activate downstream signalling components, which lead to changes in the activity of multiple nuclear transcription factors. For illustrative clarity many components of the network have been omitted

równoczesną nadekspresją EGFR, EGF oraz TGF- α w komórkach nowotworowych a średnicą guza oraz stopniem zaawansowania klinicznego nowotworu [11]. Stwierdzono również, że jednoczesna nadekspresja EGFR i EGF w komórkach nowotworowych koreluje z czasem przeżycia chorych na RT [10]. Nie zanotowano natomiast poprawy wykrywalności RT, badając ekspresję EGF i EGFR w surowicy [14].

HER2/ErbB-2

Gen c-erbB-2 (zwany również HER2/neu) należy do rodziny onkogenów ErbB i lokalizuje się na chromosomie 17q21. Koduje on glikoproteinę przezbłonową o masie 185 kD, mającą aktywność kinazy tyrozynowej, która funkcjonuje jako receptor dla grupy ligandów, tj. heregu-

liny, gp30 oraz czynnika neu. W badaniach eksperymentalnych nadekspresja białka HER2/neu w komórkach przyspiesza ich proliferację i ma związek z transformacją nowotworową oraz powstawaniem przerzutów [15]. W prawidłowych komórkach przewodów trzustkowych nadekspresja HER2 w ogóle nie występuje [16], lub znajduje się ją sporadycznie [17]. Obserwuje się natomiast stopniowy wzrost częstości jej występowania, począwszy od hiperplazji (55%) i dysplazji przewodów trzustkowych (67%), do raka inwazyjnego włącznie (80%) [16]. W raku naciekającym średnio zróżnicowanym obserwowano ją w 69% przypadków, a w nisko zróżnicowanym nie stwierdzono jej wcale. Wskazuje to na udział tego genu we wczesnych etapach onkogenezy i jego związek ze stopniem zróżnicowania guza [17].

Dugan i wsp. [18] stwierdzili, że ekspresja HER2 jest znacząco niższa w nisko zróżnicowanych obszarach guza (obszary bez utkania gruczolowego) w porównaniu z obszarami dobrze i średnio zróżnicowanymi. Jednak w innych badaniach [19, 20] nie potwierdzono związku między stopniem zróżnicowania guza a ekspresją HER2.

Nadekspresję genu HER2 wykrywa się metodą immunohistochemiczną w komórkach RT w ok. 20% preparatów pochodzących z guzów usuniętych chirurgicznie [19, 21–23]. Według ostatnich danych prawdopodobnie jest ona wynikiem nie tylko wzrostu transkrypcji tego genu, ale również jego amplifikacji [24]. Ocena ekspresji HER2 w dużym stopniu zależy od metodyki badań. Stwierdzono duże rozbieżności w wynikach uzyskanych przy zastosowaniu różnych metod badawczych [23].

Prace, w których badano przydatność oznaczania ekspresji HER2 w praktyce klinicznej, nie przyniosły jednoznacznej odpowiedzi. Wykazano, że nadekspresja HER2/neu zarówno w preparatach guzów nowotworowych, jak i osoczu chorych na RT wiąże się ze skróceniem czasu przeżycia [25, 26]. W innych badaniach nie zaobserwowano związku między ekspresją HER2 w tkance nowotworu a parametrami patologicznymi, klinicznymi [21] oraz prognozowaniem [20, 27].

HER3/ErbB-3

Gen c-erbB-3 koduje glikoproteinę o masie 160–180 kD, która ma wszystkie strukturalne cechy receptora EGF. Największą homologię sekwencji c-erbB-3 obserwuje się w stosunku do domen katalitycznych EGFR (60%), c-erbB-2 (62%) oraz c-erbB-4 (63%). Receptor ten, w odróżnieniu od innych członków rodziny EGF, wykazuje niewielką lub nie wykazuje aktywności wobec kinazy tyrozynowej [28]. Nadekspresję białka c-erbB-3 stwierdzono w różnych nowotworach u ludzi [29]. W RT zaobserwowano 6,7-krotny wzrost stężenia mRNA erbB-3 w 17 z 27 próbek RT, a w 47% preparatów intensywną reakcję immunohistochemiczną na obecność jego białka [30]. Wykazano również, że w raku głowy trzustki nadekspresja c-erbB-3 występuje częściej niż c-erbB-2 i EGFR, a jej obecność ma związek ze złym prognozowaniem [31].

HER4/ErbB-4

Białko erbB-4/HER4 o masie 180 kD jest najnowszym zidentyfikowanym członkiem rodziny receptorów EGF. Sklonowano je w 1993 r. Domena zewnątrzkomórkowa receptora erbB-4 jest homologiczna w stosunku do receptora erbB-3, a wewnątrzkomórkowa w 77–79% przypomina budową strukturę receptora EGF i erbB-2 [32]. Receptor erbB-4 ma aktywność kinazy tyrozynowej i po związaniu z hereguliną ulega homodimeryzacji i heterodimeryzacji. Następnie dochodzi do odszczepienia białkowej domeny wewnątrzkomórkowej o masie 80 kD.

Domena ta występuje zarówno w cytoplazmie, jak i jądrze komórek prawidłowych oraz nowotworowych i może reagować z czynnikami transkrypcyjnymi [33]. Obecność receptora erbB-4 stwierdzono w wielu tkankach płodowych i u osobników dorosłych w nabłonku przewodu pokarmowego, dróg moczowych i oddechowych, narządach rodnych oraz w skórze, mięśniach szkieletowych, układzie krążenia, narządach dokrewnych i układzie nerwowym [34].

W badaniach immunohistochemicznych wykazano, że w trzustce prawidłowej receptor erbB-4 jest obecny głównie na powierzchni i w cytoplazmie komórek przewodów trzustkowych i pęcherzykowych oraz w bardzo małej ilości w komórkach wysp. Natomiast w komórkach RT zaobserwowano słaby lub umiarkowany odczyn immunohistochemiczny na obecność erbB-4. Nie stwierdzono żadnego związku między przeżyciem chorych na RT a wynikiem badania immunohistochemicznego na obecność receptora erbB-4. Jednak chorzy na wczesną postać RT mieli 6 razy mniejszą ekspresję mRNA erbB-4 w porównaniu z grupą chorych na zaawansowany nowotwór [35].

W innym badaniu [36] stwierdzono, że brak ekspresji HER4 może zwiększać zdolność komórek RT do tworzenia przerzutów.

Czynnik wzrostu wiążący heparynę podobny do EGF (HB-EGF)

HB-EGF (ang. *heparin-binding EGF-like growth factor*) jest polipeptydem o masie molekularnej 22 kD, który wiąże się z EGFR i powoduje jego aktywację. W eksperymencie przeprowadzonym na liniach komórkowych stwierdzono, że HB-EGF bierze udział w aktywacji autokrynnej i parakrynnej EGFR, przyczyniając się do wzrostu komórek RT [37].

W badaniu klinicznym wykazano, że HB-EGF uczestniczy we wczesnej fazie rozwoju RT. Nadekspresję HB-EGF w komórkach RT stwierdzono w 55% preparatów wykonanych z resekowanych guzów nowotworowych. Częściej była ona obserwowana w przypadku guzów dobrze zróżnicowanych, o małej średnicy, we wczesnym stopniu zaawansowania, które charakteryzują się niską ekspresją EGFR [38].

Piśmiennictwo

1. Balaz P, Friess H, Buchler MW. Growth factors in pancreatic health and disease. *Pancreatology* 2001; 1: 343-55.
2. Bazley LA, Gullick WJ. The epidermal growth factor receptor family. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12 (Suppl 1): S17-27.
3. Holbro T, Hynes NE. ErbB receptors: directing key signaling networks throughout life. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2004; 44: 195-217.
4. Prenzel N, Fischer OM, Streit S i wsp. The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8: 11-31.

5. Barnes CJ, Kumar R. Epidermal growth factor receptor family tyrosine kinases as signal integrators and therapeutic targets. *Cancer Metastasis Rev* 2003; 22: 301-7.
6. Downward J, Yarden Y, Mayes E i wsp. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature* 1984; 307: 521-7.
7. Salomon DS, Gullick WJ. The erbB family of receptors and their ligands: multiple targets for therapy. *Signal* 2001; 2: 4-11.
8. Korc M. Potential role of the epidermal growth factor receptor in human pancreatic cancer. *Int J Pancreatol* 1990; 7: 71-81.
9. Tobita K, Kijiami H, Dowaki S i wsp. Epidermal growth factor receptor expression in human pancreatic cancer: significance for liver metastasis. *Int J Mol Med* 2003; 11: 305-9.
10. Uegaki K, Nio Y, Inoue Y i wsp. Clinicopathological significance of epidermal growth factor and its receptor in human pancreatic cancer. *Anticancer Res* 1997; 17: 3841-7.
11. Yamanaka Y, Friess H, Kobrin MS i wsp. Coexpression of epidermal growth factor receptor and ligands in human pancreatic cancer is associated with enhanced tumor aggressiveness. *Anticancer Res* 1993; 13: 565-9.
12. Ueda S, Ogata S, Tsuda H i wsp. The correlation between cytoplasmic overexpression of epidermal growth factor receptor and tumor aggressiveness: poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas* 2004; 29: 1-8.
13. Chen J, Liu TH. Expression of EGF, TGF- α , EGFR and c-erbB2 genes and their gene products in human pancreatic carcinoma cell lines. *Zentralbl Patol* 1994; 140: 265-70.
14. Birk D, Gansauge F, Gansauge S i wsp. Serum and correspondent tissue measurements of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGF-R). Clinical relevance in pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1999; 25: 89-96.
15. Hung MC, Lau YK. Basic science of HER-2/neu onkogen: a review. *Semin Oncol* 1999; 26: 51-9.
16. Apple SK, Hecht JR, Lewin DN i wsp. Immunohistochemical evaluation of K-ras, p53 and HER-2/neu expression in hyperplastic, dysplastic and carcinomatous lesions of the pancreas: evidence for multistep carcinogenesis. *Hum Pathol* 1999; 30: 123-9.
17. Day JD, Diguseppe JA, Yeo C i wsp. Immunohistochemical evaluation of HER-2/neu expression i pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasms. *Hum Pathol* 1996; 27: 119-24.
18. Dugan MC, Dergham ST, Kucway R i wsp. HER-2/neu expression i pancreatic adenocarcinoma: relation to tumor differentiation and survival. *Pancreas* 1997; 14: 229-36.
19. Tamiolakis D, Venizelos I, Simopoulos C i wsp. Correlation of immunohistochemically detected HER-2/neu (c-erbB-2) with histological stage and perineural invasion i pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 334-7.
20. Ueda S, Ogata S, Tsuda H i wsp. The correlation between cytoplasmic overexpression of epidermal growth factor receptor and tumor aggressiveness: poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas* 2004; 29: 1-8.
21. Novtny J, Petruzelka L, Vedralova J i wsp. Prognostic significance of c-erbB-2 gene expression in pancreatic cancer patients. *Neoplasma* 2001; 48: 188-91.
22. Safran H, Steinhoff M, Mangray S i wsp. Overexpression of the HER-2/neu oncogene in pancreatic adenocarcinoma. *Am J Clin Oncol* 2001; 24: 496-9.
23. Saxby AJ, Nielsen A, Scarlett CJ i wsp. Assessment of HER-2 status in pancreatic adenocarcinoma: correlation of immunohistochemistry, quantitative real-time RT-PCR and FISH with aneuploidy and survival. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 1125-34.
24. Hermanova M, Lukas Z, Nenutil R i wsp. Amplification and overexpression of HER-2/neu i invasive ductal carcinomas of the pancreas and pancreatic intraepithelial neoplasms and relationship to the expression of p21 (WAF1/CIP1). *Neoplasma* 2004; 51: 77-83.
25. Lei S, Appert HE, Nakata B i wsp. Overexpression of HER2/neu oncogene in pancreatic cancer correlates with shortened survival. *Int J Pancreatol* 1995; 17: 15-21.
26. Okada N, Ohshio G, Hamaki K i wsp. Elevated serum c-erbB-2 protein levels in patients with pancreatic cancer: correlation to metastasis and sorter survival. *Oncology* 1995; 52: 392-6.
27. Koka V, Pott A, Koch M i wsp. Role of immunohistochemical identification of HER-2/neu and detection of variability in overexpression in pancreatic carcinoma. *Anticancer Res* 2002; 22: 1593-7.
28. Prigent SA, Gullick WJ. Identification of c-erbB-3 binding sites for phosphatidylinositol 3'-kinase and SHC using an EGF receptor/c-erbB-3 chimera. *EMBO J* 1994; 13: 2831-41.
29. Gullick WJ. The c-erbB-3/HER3 receptor in human cancer. *Cancer Surv* 1996; 27: 339-49.
30. Friess H, Yamanaka Y, Kobrin MS i wsp. Enhanced erbB-3 expression in human pancreatic cancer correlates with tumor progression. *Clin Cancer Res* 1995; 1: 1413-20.
31. Vaidya P, Kawarada Y, Higashiguchi T i wsp. Overexpression of different members of the type 1 growth factor receptor family and their association with cell proliferation in periampullary carcinoma. *J Pathol* 1996; 178: 140-5.
32. Plowman GD, Culouscou JM, Whitney GS i wsp. Ligand-specific activation of HER4/p180erb4, a fourth member of the epidermal growth factor receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 746-50.
33. Linggi B, Cheng QC, Rao AR i wsp. The ErbB-4 s80 intracellular domain is a constitutively active tyrosine kinase. *Oncogene* 2006; 25: 60-3.
34. Srinivasan R, Poulosom R, Hurst HC i wsp. Expression of the c-erbB-4/HER-4 protein and mRNA in normal human fetal and adult tissues and in a survey of nine solid tumor types. *J Pathol* 1998; 185: 236-45.
35. Graber HU, Friess H, Kaufmann B i wsp. ErbB-4 mRNA expression is decreased in non-metastatic pancreatic cancer. *Int J Cancer* 1999; 84: 24-7.
36. Thybusch-Bernhardt A, Beckmann S, Juhl H. Comparative analysis of the EGF-receptor family in pancreatic cancer: expression of HER-4 correlates with a favourable tumor stage. *Int J Surg Investig* 2001; 2: 393-400.
37. Kobrin MS, Funatomi H, Friess H i wsp. Induction and expression of heparin-binding EGF-like growth factor in human pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 202: 1705-9.
38. Ito Y, Higashiyama S, Takeda T i wsp. Expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in pancreatic adenocarcinoma. *Int J Pancreatol* 2001; 29: 47-52.