

Przydatność kliniczna badania cykliny D1 w guzach nowotworowych – przegląd piśmiennictwa

Clinical usefulness of cyclin D1 investigation in neoplastic tumors – review of the literature

Urszula Brudnik, Anna Wojas-Pelc, Ana Alekseenko

Katedra i Klinika Dermatologii *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, kierownik Katedry i Kliniki: dr hab. med. Anna Wojas-Pelc

Post Dermatol Alergol 2007; XXIV, 1: 48–51

Streszczenie

Cyklinozależne kinazy serynowo-treoninowe, a wśród nich cyklina D1 odpowiadają za regulację cyklu komórkowego w fazie G1. Zarówno cykliny, jak i białka współdziałające z nimi są obecnie przedmiotem intensywnych badań, ponieważ ich zaburzenia mogą prowadzić do nowotworzenia. W niniejszym artykule przedstawiono przegląd piśmiennictwa dotyczący badań nad ekspresją cykliny D1 w raku żołądka, raku piersi, gruczolakoraku prostaty, raku okrężnicy i odbytnicy, gruczolakoraku płuc, idiopatycznym włóknieniu płuc oraz raku kolczystokomórkowym głowy i szyi. Autorzy zwrócili uwagę na doniesienia dotyczące badań ekspresji tego białka w rakach skóry (kolczystokomórkowym, podstawnocomórkowym), w znamionach dysplastycznych oraz w czerniaku.

Słowa kluczowe: cyklina D1, guzy nowotworowe, raki skóry, czerniak.

Abstract

Cyclin-dependent serine-threonine kinases, among them D1 cyclin, are responsible for cell cycle regulation in the G1 phase. Cyclins, as well as proteins cooperating with them, are broadly investigated, because their dysfunction may lead to neoplastic transformation. In this article we present an overview of the literature concerning cyclin D1 expression in: gastric cancer, breast cancer, prostate adenocarcinoma, colon and rectum cancer, lung adenocarcinoma, idiopathic pulmonary fibrosis, and squamous cell carcinoma of the head and neck. The authors have underlined the articles where cyclin D1 expression is studied in: skin cancers (squamous cell carcinomas and basal cell carcinomas), dysplastic nevi and malignant melanoma.

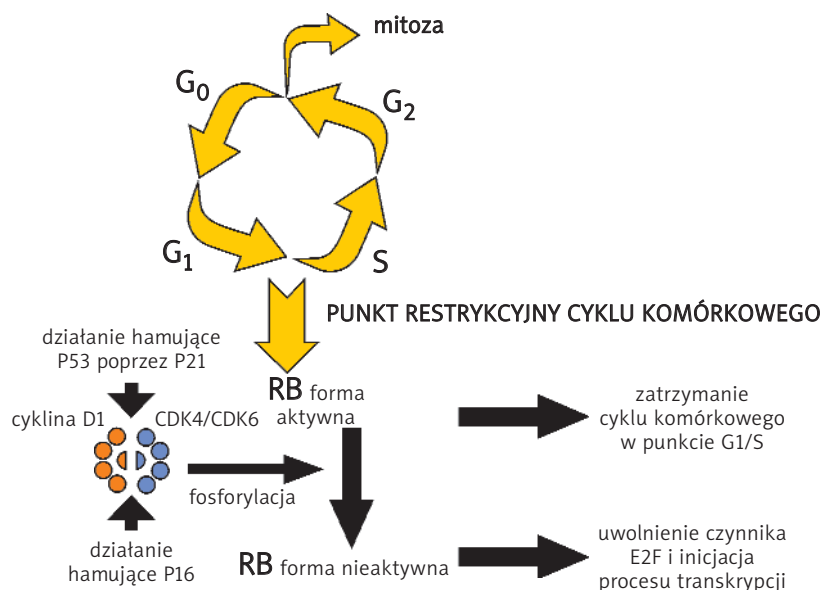
Key words: cyclin D1, neoplastic tumors, skin cancer, melanoma.

Proces nowotworowy jest wynikiem zachwiania równowagi pomiędzy pozytywnymi i negatywnymi regulatorami proliferacji komórkowej. Cykl komórkowy składa się z naprzemiennego występowania podziału komórkowego (mitozy) oraz interfazy. Typowa komórka większość życia spędza w interfazie. Ta część cyklu komórkowego składa się z 3 faz: G1, S i G2. W trakcie fazy G1 (okres pomiędzy mitozą i początkiem replikacji DNA) następuje synteza RNA i białek, w fazie S następuje replikacja DNA, natomiast w fazie G2 (przerwa pomiędzy fazą S i mitozą) – reparacja niektórych uszkodzeń DNA. Zaburzenia kontroli cyklu komórkowego mogą wystąpić w każdej fazie, wykazano jednakże, że

najczęściej występują one w fazie G1 oraz w momencie przejścia fazy G1 w S (punkt restrykcyjny G1/S).

Cyklinozależne kinazy serynowo-treoninowe (CDK) to grupa enzymów odpowiedzialnych za regulację cyklu komórkowego w najdłuższej jego fazie – G1. Biorą one udział w procesach fosforyzacji i defosforylacji odpowiednich białek [1], a ich aktywność zależy od bardzo ważnej grupy białek regulatorowych cyklu komórkowego – cyklin. Cykliny zalicza się do 3 klas: C, D (D1, D2, D3) i E. Klasa cyklin D tworzy kompleksy z kinazami CDK4 i CDK6, niezbędnymi do zapoczątkowania replikacji DNA w fazie S poprzez fosforyzację kluczowych dla cyklu komórkowego białek, takich jak pRb. Dochodzi wówczas do aktywacji czynnika

Adres do korespondencji: dr hab. med. Anna Wojas-Pelc, Katedra i Klinika Dermatologii *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Kopernika 19, 31-501 Kraków



Ryc. 1. Cykl komórkowy a cyklina D1

transkrypcyjnego E2F i przejścia komórki przez punkt restrykcyjny G1/S.

Białko pRb wykazuje dużą aktywność wówczas, gdy jest mało ufosforylowane. Jego działanie słabnie wraz ze wzrostem stopnia fosforylacji przez kinazy zależne od cyklin. Aktywne pRb wiąże kompleks transkrypcyjny E2F i dezaktywuje go, co w końcowym efekcie powoduje zatrzymanie komórki w punkcie segregacji G1/S. W postaci nieufosforylowanej stanowi więc główny hamulec zegara komórkowego (ryc. 1).

Zarówno cykliny, jak i CDK oraz białka współdziałające z nimi są obecnie przedmiotem intensywnych badań ze względu na kluczową rolę w cyklu komórkowym oraz fakt, że ich zaburzenia mogą prowadzić do nowotworzenia.

Cyklina D1 (CD1), kodowana przez gen PRAD (CCND1) zlokalizowany na chromosomie 11q13, jest białkiem zaliczanym do grupy protoonkogenów. Czynniki wzrostu (np. naskórkowy czynnik wzrostu – EGF, insulinowy czynnik wzrostu (IGF-1, IGF-2) [2, 3], niektóre hormony (np. androgeny, gastryna) [4], retinoidy oraz wiele innych czynników reguluje ekspresję cykliny D1 w zależności od tych czynników komórkach [5–7]. Badano ekspresję cykliny D1 w komórkach raka żołądka, piersi, płuca, przetyku, nerek, tarczycy oraz nowotworach płaskonabłonkowych głowy i szyi. Wielu badaczy wykazało, że zwiększona ekspresja cykliny D1 korelowała z wczesnym początkiem raka, niebezpieczeństwem progresji i pojawieniem się przerzutów [8–13].

Tenderenda i wsp. [8] ocenili ekspresję białka regulatorowego cyklu komórkowego cykliny D1 w raku żołądka. Dodatkowo zbadali, czy jego obecność koreluje z aktyw-

nością proliferacyjną komórek, z ekspresją białka p53, stopniem złośliwości histologicznej nowotworu oraz przerzutami do węzłów chłonnych. Nie stwierdzili istotnych statystycznie zależności między ekspresją cykliny D1 a ww. czynnikami. Stąd wniosek, iż cyklina D1 nie odgrywa prawdopodobnie kluczowej roli w progresji raka żołądka [8].

Analizując na podstawie danych z piśmiennictwa znaczenie różnych czynników w rokowaniu i przebiegu raka piersi, Pierzchała i wsp. [11] podkreślają rolę prognostyczną obecności białka regulatorowego cykliny D1 w komórkach raka. Autorzy powołują się na badania zespołu z Malezji, gdzie przebadano 440 pacjentek z rakiem piersi i stwierdzono, że nadekspresja cykliny D1 była obserwowana statystycznie częściej w guzach dobrze zróżnicowanych, które wykazywały ekspresję receptorów estrogenowych (w tej grupie chorych nie wykazano zajęcia przez proces chorobowy węzłów chłonnych). Wykazano natomiast istotną statystycznie zależność pomiędzy amplifikacją genu cykliny D1 a obecnością przerzutów do węzłów chłonnych pachy. Pozwoliło to autorom na wysunięcie hipotezy, że stwierdzenie ekspresji cykliny D1 w komórkach raka piersi sugeruje lepsze rokowanie, natomiast wykazanie jedynie amplifikacji genu dla tego białka oznacza gorsze rokowanie [11]. McIntosh i wsp. [9] wykazali w 28% przypadków raka piersi zwiększoną ekspresję cykliny D1, ale aż w 69% przypadków zwiększoną ekspresję cykliny D3 i obu białek jednocześnie, sugerując, że więcej niż jeden typ D-cyklin może odgrywać rolę w rozwoju i progresji raka piersi. Dodatkowo autorzy wykazali, że jeśli zwiększonej ekspresji cykliny D1 towarzyszyła zwiększona ekspresja receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu

(EGFR) i proteiny pRb, prognoza była znamienne gorsza niż w przypadkach nadekspresji samej cykliny D1 [9].

Badania ekspresji cykliny D1 w gruczolakorakach prostaty u mężczyzn przedstawiają rozbieżne wyniki. Stwierdzano zarówno znamienne nadekspresję cykliny D1 (nawet do 30%) [15,16], jak i ekspresję cykliny porównywalną do grupy kontrolnej [17]. Według autorów amerykańskich cyklina D1 w gruczolakorakach prostaty może mieć zarówno wpływ mitogeny – zależny od CDK4 i supresorowego białka Rb, jak i antyproliferacyjny – zależny od regulacji czynnika jądrowego AF-1 [18].

W 50% biopsji pobranych od 70 chorych z rakiem okrężnicy i odbytnicy stwierdzono nadekspresję cykliny D1, co sugeruje, że jednym z potencjalnych mechanizmów odpowiedzialnych za proliferację może być dysregulacja dotycząca tego białka [6]. Wykazano, że utrzymujący się przewlekle podwyższony poziom żołądkowo-jelitowego peptydu hormonalnego – gastryny (odpowiedzialnej za szereg funkcji komórkowych, takich jak wzrost, apoptoza i sekrecja), zwiększa ponad 3-krotnie ryzyko rozwoju raka okrężnicy [11]. Zwiększając transkrypcję białka regulatorowego cykliny D1 w komórkach gruczolakoraka żołądka (*gastric adenocarcinoma cell line* – AGSE), gastryna i jej prekursorzy (G-17) mogą indukować procesy proliferacji [18].

Fu i wsp. [14], badając ekspresję cykliny D1 w przytarczycach, wykazali nadekspresję tego białka nie tylko w guzach nowotworowych, ale również w zaburzeniach hormonalnych tego gruczołu (w prawidłowej tkance przytarczyc ekspresja białka cykliny D1 występowała rzadko).

Tominaga i wsp. [12] przebadali biopaty płucne pobrane od 54 chorych z gruczolakorakiem płuc oraz od 11 chorych z atypową hiperplazją pęcherzykową (*atypical alveolar hyperplasia* – AAH). Autorzy wykazali nadekspresję cykliny D1 w 60% przypadków wczesnego gruczolakoraka, w 71% gruczolakoraka w późnym stadium zaawansowania oraz w 91% przypadków chorych z AAH. Cyklina D1 w komórkach prawidłowego nabłonka płuc nie była wykrywana. Autorzy postawili hipotezę, że nadekspresja cykliny D1 w pęcherzykach płucnych wiąże się z nadmierną proliferacją komórek, jest szczególnie nasiloną w przypadkach AAH i w efekcie prowadzi do transformacji nowotworowej [12].

Chu i wsp. [13] ocenili wpływ długotrwałej ekspozycji na nikotynę na przebieg cyklu komórkowego (szczególnie fazy G1) w komórkach nabłonka płuc myszy. Autorzy wykazali zwiększoną ekspresję cykliny D1 w komórkach poddanych przez 8 tyg. działaniu nikotyny. Potwierdzili, że długotrwała ekspozycja na nikotynę prowadzi do nadekspresji cykliny D1, fosforylacji białka pRb i w efekcie aktywacji czynnika transkrypcyjnego E2F [13].

Watts i wsp. [19] przeanalizowali wpływ innego białka z grupy Ras – RhoA, na ekspresję cykliny D1 w idiopatycznym włóknieniu płuc (*idiopathic pulmonary fibrosis* – IPF). Główną przyczyną powstawania IPF jest uszkodzenie nabłonka oddechowego pęcherzyków płucnych z uszkodzeniem błony podstawnej. Wykazano, że pod wpływem czynników wzrostowych (TGF- β , PDGF) dochodzi w tych komórkach do nagromadzenia fibroblastów i miofibroblastów,

które charakteryzują się przedłużonym przeżyciem, podczas gdy komórki nabłonka ulegają zwiększonej apoptozie. Autorzy stwierdzili, że zahamowanie szlaku transmisji sygnału z udziałem RhoA zmniejsza ekspresję cykliny D1 w fibroblastach płucnych. Interesujące, że aktywne białko RhoA w obecności TGF- β dodatkowo zwiększa ekspresję cykliny D1 w fibroblastach chorych na IPF, natomiast nie wykazuje takiego działania w stosunku do fibroblastów osób grupy kontrolnej. Dysregulacja ekspresji cykliny D1 prowadzi więc w konsekwencji do nadmiernej proliferacji fibroblastów i prawdopodobnie rozwoju IPF [19].

Zwiększoną ekspresję cykliny D1 lub amplifikację genu CCND1 wykazano w 35–64% przypadków raka kolczystokomórkowego głowy i szyi [15, 20]. Pignataro i wsp. [20] przeanalizowali wyniki wielu badań dotyczących ekspresji D-cyklin u chorych na raka krtani. Omówili liczne prace, w których autorzy wykazali korelację pomiędzy nadekspresją cykliny D1 (w badaniu immunohistochemicznym) a takimi czynnikami, jak nawrotowość raka po wycięciu chirurgicznym [15] oraz inwazyjność zmian [17].

W dostępnej literaturze można znaleźć niewiele danych na temat roli cykliny D1 w nowotworach skóry. Liang i wsp. [21] przebadali 46 chorych z chorobą Bowena, 134 chorych z rakiem kolczystokomórkowym (SCC) i 127 chorych z rakiem podstawnokomórkowym (BCC), stwierdzając cyklino-D1-dodatnie komórki w 63% przypadków choroby Bowena (BOD), 69,4% przypadków SCC i 54,3% przypadków BCC. Wyniki badań sugerują, że nadekspresja cykliny D1 może być markerem zmian dysplastycznych skóry. Badacze uważają, że zwiększa ona potencjał wzrostowy komórek, ale nie ma wpływu na ich różnicowanie. Cyklino-D1-dodatnie komórki wykryto na całej grubości dysplastycznego nabłonka w BOD, w komórkach guza w SCC, a w gniazdach komórek rakowych w BCC. W obszarze zdrowej skóry nie wykazano ekspresji cykliny D1. Dodatkowo autorzy sugerują, że nadekspresja cykliny D1 w raku kolczystokomórkowym wiąże się z gorszym rokowaniem.

Badając 23 chorych ze znamionami dysplastycznymi, Ewanowicz i wsp. [22] stwierdzili zwiększoną ekspresję cykliny D1 na granicy skórno-naskórkowej aż w 65% znamion. Znamiona dysplastyczne o średnim lub znacznym stopniu atypii komórkowej mają wyższy odsetek cyklino-D1-dodatnich komórek niż znamiona dysplastyczne o niskim stopniu atypii. Nie udało się jednak wykazać, czy nadekspresja cykliny D1 była uwarunkowana translokacją lub amplifikacją chromosomu 11q13. W badaniach autorzy wykazali, iż różnica w rozmieszczeniu komórek cyklino-D1-dodatnich może być pomocna w odróżnieniu znamienia Spitz od czerniaka złośliwego, sugerując, że ekspresja cykliny D1 zależy od dojrzałości melanocytów [22].

Udział cykliny D1 w powstawaniu i rozwoju czerniaka budzi wiele kontrowersji. Ramirez i wsp. [23] przebadali 126 chorych ze zmianami barwnikowymi skóry (znamiona barwnikowe złożone, znamiona barwnikowe dermalne, melanoma *in situ*) pod kątem oceny ekspresji cykliny D1. Poziom tego białka był istotnie statystycznie wyższy

w czerniaku niż w znamionach. Poziom cykliny D1 w znamionach złożonych nie różni się od poziomu tego białka w znamionach łączących. Biologiczna rola cykliny D1 w powstawaniu przerzutów czerniaka pozostaje niejasna. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem ekspresji D1 a występowaniem przerzutów. Nie wiadomo też, dlaczego cykliny D1 wykazuje największą ekspresję właśnie na granicy skórno-naskórkowej. Ciekawe są doniesienia dotyczące dysregulacji poziomu białek kinazozależnych (cyklin) a rokowaniem w SSM (*Superficial Spreading Melanoma*) i NM (*Nodular Melanoma*). Florenes i wsp. [24] przebadali 172 chorych z czerniakiem bez przerzutów (110 chorych z SSM, 62 chorych z NM), 73 chorych z przerzutami czerniaka oraz 10 chorych z typowymi znamionami. Wykorzystując analizę Kaplan-Meiera, wykazano, że wysoki poziom cykliny D3 był wskaźnikiem wczesnego nawrotu oraz skrócenia czasu przeżycia pacjentów z SSM ($p=0,001$, $p=0,009$), natomiast nie miał wpływu na rokowanie w NM ($p=0,64$, $p=0,23$). Poziom cykliny D1 nie wpływał ani na długość remisji, ani na przeżycie.

Interesujące są wyniki badań przedstawiających zależność pomiędzy poziomem cykliny D1 a odpowiedzią skóry na promieniowanie UV. Ekspozycja na promieniowanie UV to najczęstszy czynnik etiologiczny czerniaka skóry. Kliniczna różnorodność tego nowotworu spowodowana jest odmiennymi zaburzeniami genetycznymi. Czerniak skóry, rozwijający się w okolicach ostnionych, często wykazuje mutacje genu BRAF+, utratę chromosomu 10, natomiast w okolicach odstnionych – zwiększoną liczbę kopii genu CCND1 [25, 26]. W trakcie prawidłowego cyklu komórkowego równowagę pomiędzy syntezą a degradacją białek ściśle kontroluje poziom cyklin kinazozależnych. Na zaburzenie tej równowagi wpływa właśnie promieniowanie UVB. Dochodzi wówczas do nagromadzenia cykliny D1, utraty łączności z macierzą i proliferacji komórkowej [5].

Wyniki przedstawionych prac wskazują, że badanie ekspresji cykliny D1 może posłużyć do oceny zaawansowania niektórych procesów nowotworowych. Niekiedy pozwala też na ocenę skuteczności podjętego leczenia.

Praca realizowana z grantu statutowego numer 501/NKL/145/L

Piśmiennictwo

- Sanak M. Regulacja cyklu komórkowego i różnicowania. *Med Prakt* 7/1998.
- Albanese C, D'Amico M, Reutes A, et al. Activation of the cyclin D1 gene by the E1A-associated protein p300 through AP-1 inhibits cellular apoptosis. *J Biol Chem* 1999; 274: 34186-95.
- Holthoner W, Pillinger M, Gröger M, et al. Fibroblast growth factor-2 induces Lef/Tcf-dependent transcription in human endothelial cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 45847-53.
- Fu M, Rao M, Wang C, et al. Acetylation of Androgen Receptor Enhances Coactivator Binding and Promotes Prostate Cancer Cell Growth. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 8563-75.
- Song DH, Rana B, Wolfe JR, et al. Gastrin-induced gastric adenocarcinoma growth is mediated through cyclin D1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G217-G22.
- Utsunomiya T, Doki Y, Takemoto H, et al. Correlation of beta-catenin and cyclin D1 expression in colon cancers. *Oncology* 2001; 61: 226-33.
- Pradeep A, Sharma C, Sathyanarayana P, et al. Gastrin mediated activation of cyclin D1 transcription involves β -catenin and CREB pathway in gastric cancer cells. *Oncogene* 2004; 23: 3689-99.
- Tenderenda M, Jesionek-Kupnicka D. Badania nad ekspresją cykliny D1 w raku żołądka oraz jej korelacją z aktywnością proliferacyjną Ki67, ekspresją białka p53, przerzutami do węzłów chłonnych i stopniem złośliwości histologicznej – doniesienie wstępne. *Onkol Pol* 2000; 3/4: 135-9.
- McIntosh GG, Anderson JJ, Milton I, et al. Determination of the prognostic value of cyclin D1 overexpression in breast cancer. *Oncogene* 1995; 11: 885-91.
- Utikal J, Udart M, Leiter U, et al. Numerical abnormalities of the Cyclin D1 gene locus on chromosome 11q13 in non-melanoma skin cancer. *Cancer Lett* 2005; 219: 197-204.
- Pierzchała RP, Pasz-Walczak G, Jeziorski A. Nowe czynniki rokownicze w raku piersi – przegląd piśmiennictwa. *Współcz Onkol* 2004; 9: 429-34.
- Tominaga M, Sueoka N, Irie K, et al. Detection and discrimination of preneoplastic and early stages of lung adenocarcinoma using hnRNP B1 combined with the cell cycle-related markers p16, cyclin D1, and Ki-67. *Lung Cancer* 2003; 40: 45-53.
- Chu M, Guo J, Chen C-Y. Long-term exposure to nicotine, via ras pathway, induces cyclin D1 to stimulate G1 cell cycle transition. *J Biol Chem* 2005; 280: 6369-79.
- Fu M, Wang C, Li Z, et al. Minireview: Cyclin D1: normal and abnormal functions. *Endocrinology* 2004; 145: 5439-47.
- Bellacosa A, Almadori G, Cavallo S, et al. Cyclin D1 gene amplification in human laryngeal squamous cell carcinoma: prognostic significance and clinical implications. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 175-80.
- Drobnjak M, Osman I, Scher HI, et al. Overexpression of cyclin D1 is associated with metastatic prostate cancer to bone. *Clin Cancer Res* 2000; 6 (5): 1891-5.
- Wang XF, Nakashima T, Masuda M, et al. Cyclin D1 overexpression in laryngeal carcinomas. *Nippon Jabiinkoka Gakkai Kaiho* 1998; 101: 212-5.
- Petre C, Wetherill YB, Danielsen M, Knudsen KE. Cyclin D1: mechanism and consequence of androgen receptor co-repressor activity. *J Biol Chem* 2002; 277: 2207-15.
- Watts KL, Cottrell E, Hoban P, Spiteri MA. RhoA signaling modulates cyclin D1 expression in human lung fibroblasts; implications for idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res* 2006; 7: 88.
- Pignataro L, Sambataro G, Pagani D, Pruner G. Clinico-prognostic value of D-type cyclins and p27 in laryngeal cancer patients: a review. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2005; 25: 75-85.
- Liang SB, Furihata M, Takeuchi T, et al. Overexpression of cyclin D1 in nonmelanocytic skin cancer. *Virchows Arch* 2000; 436: 370-6.
- Ewanowich C, Brynes RK, Medeiros L, et al. Cyclin D1 expression in dysplastic nevi: an immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 208-10.
- Ramirez JA, Guitart J, Rao MS, Diaz LK. Cyclin D1 expression in melanocytic lesions of the skin. *Ann Diagn Pathol* 2005; 9: 185-8.
- Florenes VA, Faye RS, Maelandsmo GM, et al. Levels of Cyclin D1 and D3 in Malignant Melanoma: Deregulated Cyclin D3 Expression Is Associated with Poor Clinical Outcome in Superficial Melanoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3614-20.
- Curtin J, Fridlyand J, Kageshita T, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005; 353: 2135-47.
- Sauter ER, Yeo U, von Stemm A, et al. Cyclin D1 is a candidate oncogene in cutaneous melanoma. *Cancer Res* 2002; 62: 3200-6.