

Received: 03.08.2012

Accepted: 21.09.2012

Published: 30.11.2012

Wybrane czynniki molekularne związane z przerzutowaniem raka jajnika

Selected molecular factors associated with metastases of ovarian cancer

Избранные молекулярные факторы, связанные с метастазированием рака яичника

¹ Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu. Kierownik: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Drews

² Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu. Kierownik: prof. dr hab. n. med. Janina Markowska

Correspondence to: Dr n. med. Jolanta Lubin, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Oddział Ginekologii,
ul. Szamarzewskiego 82/84, 61-569 Poznań, tel.: 61 854 90 16, faks: 61 851 04 90

Source of financing: Department own sources

Streszczenie

Przerzutowanie jest cechą charakterystyczną progresji nowotworów złośliwych i główną przyczyną niepowodzeń w leczeniu raka. Dzięki zdolności do występowania w miejscach poza ogniskiem pierwotnym komórki nowotworowe mogą zachować cechę komórek nieśmiertelnych, co pozwala na przetrwanie nowotworu i nazwanie go chorobą przewlekłą. Stosując dostępne dziś metody leczenia miejscowego, takie jak chirurgia i radioterapia, nie jesteśmy w stanie w pełni kontrolować rozprzestrzeniania się komórek nowotworowych, a systemowa chemioterapia w chemiowrażliwych nowotworach nie zawsze „eradykuje” chorobę. Rak jajnika może szerzyć się poprzez rozsiew w jamie brzusznej oraz naczynia chłonne, dając przerzuty odległe. Proces przerzutowania jest niezmiernie złożony, wpływa na niego wiele różnych czynników decydujących o wzajemnym przyleganiu komórek do siebie, nabyciu zdolności ruchliwości i migracji przez komórki nowotworowe. Nowotwory, którym towarzyszą przerzuty odległe, są klasyfikowane jako najbardziej zaawansowane, co oznacza jednocześnie złe rokowanie dla pacjenta. Mechanizm przerzutowania jest przedmiotem wielu badań mających na celu wyłonienie czynników, które mogą być tarczą dla terapii celowanych nowotworów, w tym raka jajnika. W artykule przedstawiono geny i ich produkty oraz inne białka związane z przerzutowaniem: gen *HER2*, gen *AEG-1*, kisspeptynę, kadherynę-E, surwiwinę, uPAR, klusterynę, gen *Met*, klaudyny 3 i 4, kalikreiny, gen *SDF-1*. Celem pracy było usystematyzowanie obszernej wiedzy na temat przerzutowania oraz syntetyczna analiza danych dotyczących tego procesu.

Słowa kluczowe: rak jajnika, przerzuty nowotworowe, gen *HER2*, gen *AEG-1*, kisspeptyna, kadheryna-E, surwiwina, uPAR, klusteryna, gen *Met*, klaudyny 3 i 4, kalikreiny, gen *SDF-1*

Summary

Development of metastases is a typical feature of cancer progression and the main cause of treatment failure in cancer treatment. Due to their ability to settle far from original tumor location, cancer cells may preserve the feature of immortal cells, enabling survival of tumor and transition to chronic phase of the disease. Applying currently available techniques of topical treatment, such as surgery and radiotherapy, we are unable to control fully spread of cancer cells, while systemic chemotherapy even in chemosensitive tumors does not eradicate the disease in all cases. Ovarian cancer may spread by dissemination within the abdominal cavity and lymphatic vessels, resulting in distant metastases. The process of metastases' development is extremely complex, depending on many different factors governing intercellular adhesion and acquisition of ability to move and migrate by cancer cells. Tumors with coexisting distant metastases are considered most advanced, which means also a grim prognosis for the patient. Mechanism of metastases' development is the subject of several studies, attempting to identify factors which might lend

themselves for targeted therapy of cancers, including ovarian cancer. The paper presents genes, their products and other metastases-associated proteins: *HER2* gene, *AEG-1* gene, kisspeptin, E-cadherin, survivin, uPAR, clusterin, *Met* gene, claudins 3 and 4, kallikreins, *SDF-1* gene. This paper is meant to systematize extensive knowledge on the development of metastases development and synthetic analysis of data concerning this process.

Key words: ovarian cancer, metastases, *HER2* gene, *AEG-1* gene, kisspeptin, E-cadherin, survivin, uPAR, clusterin, *Met* gene, claudins 3 and 4, kallikreins, *SDF-1* gene

Содержание

Метастазирование является свойством характерным для прогрессии злокачественных опухолей и главной причиной неудач в лечении рака. Ввиду способности образования в местах, расположенных вне первоначального очага, опухолевые клетки могут сохранять качество бессмертных клеток, что позволяет опухоли выживать и отнести ее к хроническим заболеваниям. Применяя доступные в настоящее время методы местного лечения, как хирургия и радиотерапия, мы не в состоянии вполне контролировать процесс распространения опухолевых клеток, а системная химиотерапия в случае химиочувствительных опухолей не всегда «эрадирует» болезнь. Рак яичника может распространяться, диссеминируя в брюшную полость и лимфатические узлы, что в итоге приводит к отдаленным метастазам. Процесс метастазирования исключительно сложен, подвергается воздействию многих разнообразных факторов, решающих о взаимном прилегании клеток друг к другу, приобретении опухолевыми клетками способности передвигаться и мигрировать. Опухоли, которым сопутствуют отдаленные метастазы, классифицируются как самые продвинутые стадии, что одновременно означает плохой прогноз для пациента. Механизм метастазирования является предметом многочисленных исследований, проводимых с целью обнаружения факторов, которые могут стать щитом для целенаправленного системного лечения опухолей, в том числе рака яичника. В статье представлены гены и их продукты, а также другие белки, связанные с метастазированием: ген *HER2*, ген *AEG-1*, кисспептин, Е-кадгерин, сурвивин, uPAR, кластерин, ген *Met*, клаудины 3 и 4, калликреины, ген *SDF-1*. Цель работы – систематизировать обширные познания на тему метастазирования и синтетический анализ данных, касающихся этого процесса.

Ключевые слова: рак яичника, опухолевые метастазы, ген *HER2*, ген *AEG-1*, кисспептин, Е-кадгерин, сурвивин, uPAR, кластерин, ген *Met*, клаудины 3 и 4, калликреины, ген *SDF-1*

Przerzutowanie jest cechą charakterystyczną progresji nowotworów złośliwych i główną przyczyną niepowodzeń w leczeniu raka. Rak jajnika szerzy się dwoma drogami – poprzez rozsiew w jamie brzusznej oraz naczynia chłonne – i daje przerzuty odległe. Nabywanie fenotypu przerzutowego komórki jest złożonym procesem, w którym uczestniczą między innymi cząsteczki adhezyjne – integryny i kadheryny, decydujące o adhezji komórek do macierzy i wzajemnym przyleganiu komórek, oraz metaloproteinazy macierzowe, powodujące nabycie zdolności ruchliwości i migracji komórki. Jeśli komórka znajdzie się w naczyniach chłonnych, muszą zaistnieć warunki do jej zakotwiczenia, namnożenia się i utworzenia się w ten sposób ogniska przerzutowego. Mechanizm przerzutowania jest przedmiotem wielu badań mających na celu wyłonienie czynników, które mogą okazać się tarczą dla terapii celowanych w walce z rozsiewem raka – ich próby kliniczne zostały już podjęte (np. pazopanib przeciw VEGFR 1, 2 i 3; wolicyksymab przeciwko integrynie). Spośród dość dobrze poznanych czynników związanych z przerzutowaniem w pracy omówiono następujące geny i ich produkty: gen *HER2*, gen *AEG-1*, kisspeptynę, kadherynę-E, surwiwinę, uPAR, klusterynę, gen *Met*, klaudyny 3 i 4, kalikreiny, gen *SDF-1*.

Development of metastases is a characteristic feature of progression of malignant tumors and the main cause of failures in cancer treatment. Ovarian cancer spreads by two way – by direct spread within the abdominal cavity and by lymphatic vessels – thus developing distant metastases. Acquisition of a metastases-prone phenotype by cancer cells is a complex process, involving, among others, adhesion molecules (integrins and cadherins), controlling adhesion of cells to extracellular matrix and adjacent cells, as well as matrix metalloproteinases, making the cells able to move and migrate. If a cell enters a lymphatic vessel, then there should exist conditions for it to anchor, proliferate and to develop a metastatic focus.

The mechanism of metastases' development is the subject of much research aiming at identification of factors which might be a target for targeted therapies in our fight against cancer spread. Some of them entered clinical trials, e.g. pazopanib against VEGFR 1, 2 and 3, or woliciximab against integrin.

Among fairly well known factors associated with metastases' development, the paper discusses the following genes and their products: *HER2* gene, *AEG-1* gene, kisspeptin, E-cadherin, survivin, uPAR, clusterin, *Met* gene, claudins 3 and 4 and the *SDF-1* gene.

GEN HER2

Gen *HER2* (*NEU, ERBB2*), zlokalizowany na chromosomie 17q21, koduje białko HER2 należące do rodziny błonowych receptorów dla EGFR (*epidermal growth factor receptor*) o aktywności kinazy tyrozynowej. W normalnych warunkach receptor ten zaangażowany jest w prawidłowe podziały komórkowe, różnicowanie i przeżycie komórek. W wielu nowotworach złośliwych występuje jego nadekspresja, co sprawia, że może on tworzyć homodimer HER2/HER2 lub z innymi receptorami tej grupy heterodimer, np. HER2/HER3, i na tej drodze komórka otrzymuje szereg sygnałów pobudzających ją do podziału⁽¹⁾. Stwierdzono, że nadekspresja HER2 prowadzi w wielu nowotworach – w tym w raku jajnika – do inwazji, przerzutowania i wzmożonej angiogenezy skojarzonej ze złą prognozą⁽²⁾. W 2003 roku Bookman i wsp.⁽³⁾ ogłosili wyniki badania II fazy w nawrotowym lub opornym raku jajnika lub pierwotnym raku otrzewnej leczonych za pomocą trastuzumabu (humanizowanego przeciwciała). Jednakże tylko ponad 11% pacjentek z ponad 830 chorych ujawniło nadekspresję HER2, dlatego też wartość tej terapii uznano za ograniczoną. W badaniach przeprowadzonych w ostatnich latach stwierdzono, że amplifikacja genomowego *HER2* i nadekspresja HER2 występuje odpowiednio w ponad 35% i ponad 29,0% przypadków raka jajnika, ale wyłącznie śluzowych⁽⁴⁾. Podobnie jak w raku piersi uważa się, że HER2 może stać się celem tarczowej terapii, zwłaszcza w przerzutowym raku jajnika, której próby już podjęto⁽²⁾.

GEN AEG-1

Gen *AEG-1* (*astrocyte elevated gene*), ulokowany na chromosomie 8q22, koduje białko AEG-1 zwane metadheryną. Stwierdzono, że zwiększona ekspresja *AEG-1* ma w różny sposób związek z inwazją nowotworów. Może aktywować szlak kinaz fosfoinozytolu 3-PI3K-Akt, biorący również udział w sygnałowaniu onkogennym, oraz zdolność transkrypcyjną czynnika jądrowego κ B, który reguluje wiele procesów związanych z przerzutowaniem, wpływając na metaloproteinazy, białka adhezyjne i chemokiny. *AEG-1* odgrywa kluczową rolę w inwazji, angiogenezie i regulacji apoptozy, a także w zakotwiczeniu się komórek raka, co jest istotą przerzutowania⁽⁵⁻⁷⁾.

Oznaczenia immunohistochemiczne i metoda Western blot w tkankach raka jajnika wykazywały, że nadekspresja AEG-1 koreluje z rozsiewem wewnątrzotrzewnowym tego nowotworu oraz przerzutowaniem. Stwierdzono, że nadekspresja ta jest czynnikiem predykcijnym przerzutowania nabłonkowego raka jajnika do węzłów chłonnych (czułość 83,7%, swoistość 57,4%) oraz rozsiewu wewnątrzotrzewnowego (czułość 64,8%, swoistość 86,2%)⁽⁸⁾.

Pacjentki z nadekspresją AEG-1 są także odporne na leczenie chemiczne, mają gorszą prognozę – krótkie całkowite przeżycie i częściej nawroty⁽⁹⁾. Wykazano, że wyciszenie *AEG-1* w komórkach raka blokuje jego potencjał agresywny:

HER2 GENE

HER2 gene (*NEU, ERBB2*), localized at chromosome 17q21, encodes the HER2 protein, belonging to the family of membrane-bound epidermal growth factor receptors (EGFR) showing activity of tyrosine kinase. In a normal setting, this receptor mediates normal cellular divisions, differentiation and survival of cells. Several malignant tumors feature its overexpression, so it can form homodimers HER2/HER2 or heterodimers, e.g. HER2/HER3, and in this way the cell receives a series of signals triggering its divisions⁽¹⁾. It was noticed that in many tumor types including ovarian cancer, HER2 overexpression results in invasion, metastases and enhanced angiogenesis closely correlated with poor prognosis⁽²⁾. In 2003, Bookman et al.⁽³⁾ published the results of a phase II trials with recurrent and treatment-resistant ovarian cancer and primary peritoneal cancer treated with trastuzumab (humanized antibodies). However, only 11% of patients out of over 830 presented HER2 overexpression, therefore the value of this therapy was deemed limited. In studies performed over the last few years, amplification of genomic *HER2* and HER2 overexpression is present in over 35% and in over 29% of ovarian cancer, respectively, but only in the mucous types thereof⁽⁴⁾. Similar to breast cancer, HER2 may become a target for targeted therapy, particularly in metastatic ovarian cancer. Clinical trials thereof are already underway⁽²⁾.

AEG-1 GENE

AEG-1 (astrocyte elevated gene) is located at chromosome 8q22, encoding the protein AEG-1 called metadherin. It was noticed that enhanced *AEG-1* overexpression is associated in several ways with tumor invasion. It may activate the pathway of phosphoinositol kinases 3-PI3K-Akt, also engaged in oncogenic signaling, as well as transcription ability of the nuclear factor κ B, controlling several processes associated with metastases development, by acting on metalloproteinases, adhesion molecules and chemokines. *AEG-1* plays a crucial role in invasion, angiogenesis and control of apoptosis as well as in anchoring of cancer cells, which is the essence of metastases formation⁽⁵⁻⁷⁾.

Immunohistochemical testing and Western blot technique in ovarian cancer tissues revealed that AEG-1 overexpression correlated with intraperitoneal dissemination of the tumor and development of distant metastases. This overexpression proved to be a predictive factor for invasion of lymph nodes by epithelial ovarian cancer (sensitivity 83.7%, specificity 57.4%) and intraperitoneal spread (sensitivity 64.8%, specificity 86.2%)⁽⁸⁾.

Patients overexpressing AEG-1 are also resistant to chemotherapy and have worse prognosis – shorter overall survival and more frequent recurrences⁽⁹⁾. Studies demonstrate that inhibition of *AEG-1* expression in cancer cells

proliferację, migrację i inwazję. Stąd też upatruje się możliwości wyciszenia *AEG-1* w komórkach raka jako celowanej terapii genowej w nowotworach złośliwych⁽¹⁰⁾.

KISSPEPTYNA

Kisspeptyna (KiSS-1, metastatyna) jest neurohormonem należącym do grupy peptydów kodowanych przez gen *KiSS-1*, zlokalizowany na chromosomie 1q32. Kisspeptyny występują w kilku biologicznie aktywnych formach. Uczestniczą w biologii rozrodu: dojrzewaniu, owulacji, implantacji zarodka i utrzymaniu ciąży⁽¹¹⁾. Jedną z kisspeptyn – metastatyną, będącą ligandem receptora GPR54, bierze udział w biologii wielu nowotworów, w tym raka jajnika. Zarówno receptor GPR54, jak i kisspeptyna obecne są w różnych tkankach organizmu, np. w mózgu, wątrobie, trzustce, jelicie cienkim i jajnikach. Kisspeptyna wykazuje aktywność biologiczną już w bardzo niskich, femtomolowych stężeniach. Udowodniono jej hamujące działanie w rozwoju wielu nowotworów, związane z indukcją apoptozy i migracją komórek, oraz hamowanie przerzutowania nowotworów w różnych lokalizacjach: *melanoma*, rak piersi i trzustki^(12,13). W 2007 roku dowiedziono, że immunoreaktywność kisspeptyny i GPR54 w tkankach raka jasnokomórkowego jajnika była skojarzona z dobrą prognozą i dłuższym przeżyciem chorych. Opisano także, że kisspeptyna jest supresorem przerzutowania raka jajnika i może być tarczą dla molekularnej terapii w tym nowotworze^(14,15).

KADHERYNA-E

Kadheryna-E (*E-cadherin*, *endothelial cadherin*, CDH1), kodowana przez gen zlokalizowany na chromosomie 16q22, jest glikoproteiną przezbłonową należącą do grupy białek adhezyjnych. Odpowiada za przyleganie sąsiadujących komórek nabłonka, a niezbędnym czynnikiem są jony wapnia. Poprzez kateniny (α , β , γ), również białka adhezyjne, kadheryna-E łączy się z elementami cytoszkieletu aktynowego sąsiadującej komórki, tworząc integralne kompleksy⁽¹⁶⁾. Osłabienie przylegania komórek na skutek utraty funkcji kadheryny-E jest jedną z przyczyn większej ruchliwości komórek ułatwiających przerzutowanie w wielu nowotworach, w tym w raku jajnika, którego fenotyp przerzutowy skutkuje rozsiewem wewnątrzotrzewnowym i przerzutami do węzłów chłonnych^(17,18). Uważa się, że molekularnymi mechanizmami, przez które utrata kadheryny-E prowadzi do progresji i przerzutowania raka, są nadekspresja integryny α_5 i aktywacja szlaku MAPK oraz PI3K^(17,19). Wykazano, że w raku jasnokomórkowym jajnika pozytywna immunoekspresja kadheryny-E (>10%) skojarzona była z lepszym 5-letnim przeżyciem, głównie dzięki dobrej odpowiedzi na leczenie paklitakselem⁽²⁰⁾. Przeciwnie przeciwnie integrynie $\alpha_5\beta_1$ hamowało przerzutowanie do otrzewnej w raku jajnika. Integryny mogą być potencjalną tarczą terapeutyczną w raku jajnika⁽¹⁹⁾.

blocks its aggressive potential: proliferation, migration and invasion. Thus the idea of *AEG-1* silencing in cancer cells as a targeted gene therapy in malignant tumors⁽¹⁰⁾.

KISSPEPTIN

Kisspeptin (KiSS-1, metastatin) is a neurohormone belonging to the group of peptides encoded by the *KiSS-1* gene, located on chromosome 1q32. Kisspeptins exist in several biologically active forms. They participate in biology of reproduction: maturation, ovulation, embryo implantation and maintenance of pregnancy⁽¹¹⁾. One of kisspeptins – metastatin, a ligand of the GPR54 receptor, takes part in biology of many tumors, including ovarian cancer. Both the GPR54 receptor and kisspeptin are present in various tissues, e.g. in the brain, liver, pancreas, small bowel and ovaries. Kisspeptin shows biological activity at extremely low concentrations at a femtomol level. Studies confirmed its effectiveness in inhibiting the development of several tumors, by acting on induction of apoptosis and migration of cells, as well as by inhibition of development of metastases of tumors of various origins: melanoma, breast and pancreas^(12,13). In 2007 was proven that immunoreactivity of kisspeptin and GPR54 in clear-cell ovarian cancer correlated with a more favorable prognosis and longer survival. It was also stated that kisspeptin is a suppressor of metastases in ovarian cancer and may be the target for molecular gene therapy in this tumor^(14,15).

E-CADHERIN

E-cadherin (endothelial cadherin, CDH1), encoded by a gene located on chromosome 16q22, is a transmembrane glycoprotein belonging to the group of adhesion proteins. It is responsible for adhesion of adjacent epithelial cells and calcium ions are an indispensable factor in the process. Using catenins (α , β , γ) and adhesion proteins, E-cadherin binds with components of actinic cytoskeleton of adjacent cells, forming integral complexes⁽¹⁶⁾. Weakened intercellular adhesion resulting from loss of function by E-cadherin is one of the causes of increased mobility of tumor cells, facilitating spread of many cancer types, including ovarian cancer, whose phenotype leads to intraperitoneal dissemination and invasion of regional lymph nodes^(17,18). In general opinion, molecular mechanisms whereby loss of E-cadherin function results in progression and dissemination of tumors, consist in overexpression of integrin α_5 and activation of MAPK and PI3K pathways^(17,18). As demonstrated in clear-cell ovarian cancer, positive immune expression of E-cadherin (>10%) is correlated with better 5-years' survival, mainly due to favorable response to paclitaxel-based treatment⁽²⁰⁾. Anti-integrin $\alpha_5\beta_1$ inhibited peritoneal dissemination in ovarian cancer. Therefore, integrins are a potential therapeutic target in ovarian cancer⁽¹⁹⁾.

SURWIWINA

Surwiwina (IAP-4, *inhibitor of apoptosis protein*) jest produktem genu zlokalizowanego na chromosomie 17q25. Występuje w dwóch izoformach: surwiwina 2 β i Δ Ex3. Stwierdza się ją w rozwoju tkanek płodowych, a w śladowej ilości także w tkankach proliferujących u dorosłych, odnawiających się (*endometrium*, łożysko). Należy do rodziny białek hamujących apoptozę. Poprzez domenę BIR (*baculovirus IAP repeat*) łączy się z kaspazami, enzymami kontrolującymi programowaną śmierć komórki (kaspaza 3, 7 i 9), i blokuje apoptozę. Jej obecność wykryto w większości nowotworów. W raku jajnika stwierdzono ją w 73% tkanek nowotworowych⁽²¹⁾, w 47% guzów o typie *borderline* i 19% guzów łagodnych. Wysoki poziom surwiwiny korelował ze stopniem zaawansowania klinicznego, stopniem zróżnicowania histologicznego (G) i przerzutami do węzłów chłonnych⁽²²⁾. W innych badaniach wykazano korelację jej wyższego stężenia z pozytywną cytologią otrzewnową i przerzutami do sieci większej⁽²³⁾. Sam fakt występowania surwiwiny w tkankach nowotworowych i brak jej ekspresji w tkankach zdrowych może być podstawą terapii celowanej, na przykład blokowania genu surwiwiny bez skutków ubocznych dla zdrowych tkanek⁽²¹⁾.

uPAR

uPAR (*urokinase plasminogen activator receptor*) jest produktem genu o lokalizacji 19q132. Posiada fizjologicznie pleiotropowe działanie: uczestniczy w regulacji cyklu komórkowego, odpowiada za migrację komórek i angiogenezę. Wchodzi w skład systemu aktywatora plazminogenu, którego ważnymi funkcjami są degradacja proteolityczna macierzy pozakomórkowej (*extracellular matrix*, ECM), migracja komórek i przerzutowanie nowotworów⁽²⁴⁾. uPAR wiąże się i aktywuje integryny $\alpha_1\beta$, przyczyniając się do zmian w tych białkach, tworzy połączenia z fibronektynami, co zmienia funkcję cząstek adhezyjnych, promując inwazję nowotworu i przerzutowanie⁽²⁵⁾. W badaniach immunohistochemicznych wykazano, że w zaawansowanych rakach jajnika nadekspresja uPAR występuje w 88% guzów pierwotnych i 90% guzów przerzutowych⁽²⁶⁾. W badaniach Kenny i wsp.⁽²⁷⁾ tylko u 8% wszystkich chorych nie wykryto ekspresji uPAR. Stwierdzono ją we wszystkich typach histologicznych raka jajnika. Zastosowane przeciwciała przeciwko uPAR redukowały przerzuty, indukowały apoptozę, zmniejszała również interakcję między uPAR a integryną α_5 . Zdaniem autorów dowodzi to możliwości leczenia celowanego.

KLUSTERYNA

Klusteryna (*apolipoprotein J*) jest produktem genu *CLU* umiejscowionego na chromosomie 8p21. Jest glikoproteiną, której ekspresję stwierdzono w wielu ludzkich

SURVIVIN

Survivin (IAP-4, inhibitor of apoptosis protein) is a product of gene located on chromosome 17q25. It exists in two isoforms: survivin 2 β and Δ Ex3. It participated in the development of fetal tissues and is present at trace quantities also in proliferating and regenerating tissues in the adults (*endometrium*, *placenta*). It is one of apoptosis-inhibiting proteins. Mediating the BIR domain (*baculovirus IAP repeat*) it binds with caspases 3, 7 and 9 (enzymes controlling programmed cell death), thus blocking apoptosis. Its presence has been detected in most tumors. In ovarian cancer it is present in up to 73% of cells⁽²¹⁾, in *borderline* tumors – in up to 47% and in benign tumors – in up to 19%. Elevated survivin level correlated with clinical stage, histological grade (G) and presence of metastases to lymph nodes⁽²²⁾. Other studies have demonstrated a correlation between high level thereof with positive peritoneal cytology and metastases to the *omentum maius*⁽²³⁾. The mere fact of presence of survivin in tumor tissues and lack of its expression in healthy tissues may be a premise for using it in targeted therapy, e.g. by blocking the survivin gene without any side effects in healthy tissues.

uPAR

uPAR (urokinase plasminogen activator receptor) is a product of gene located on chromosome 19q132. It features physiological pleiotropic activity: participates in the control of cell cycle, is responsible for cell migration and angiogenesis. It is part of the plasminogen activator system, whose key functions consist in proteolytic degradation of extracellular matrix (ECM), cell migration and tumor spread⁽²⁴⁾. uPAR binds to and activates integrins $\alpha_1\beta$, altering these proteins and linking them with fibronectins, thereby altering the function of these adhesion molecules and thus promoting local invasion and distant spread of tumor⁽²⁵⁾.

Immunohistochemical studies revealed that in advanced ovarian cancer uPAR overexpression is present in 88% of primary tumors and in 90% of metastatic tumors⁽²⁶⁾. In the study by Kenna et al.⁽²⁷⁾, only 8% of all patients had no uPAR overexpression. On the other hand, uPAR was seen in all histological types of ovarian cancer. Application of anti-uPAR antibody resulted in reduction of metastases, induction of apoptosis and reduced interaction between uPAR and integrin α_5 . In these authors' opinion, this proves feasibility of targeted therapy in this area.

CLUSTERIN

Clusterin (apolipoprotein J) is a product of the *CLU* gene located on chromosome 8p21. It is a glycoprotein expressed in several human tissues. It is secreted to body fluids and participates in the transport of lipids and hormones, regulation of cell cycle, DNA repair, intercellular adhesion and control of immune system. It plays a role

tkankach. Wydzielana jest do płynów ustrojowych. Bierze udział w transporcie lipidów i hormonów, regulacji cyklu komórkowego, naprawie DNA, adhezji komórek i regulacji systemu immunologicznego. Odgrywa rolę w karcynogenezie i ma znaczenie prognostyczne w wielu nowotworach u ludzi⁽²⁸⁾.

W ponad 46% raków jajnika stwierdzono immunohistochemicznie nadekspresję klusteryny i odnotowano związek statystycznie znamieny ze stopniem wg FIGO oraz typem histologicznym nowotworu (w 62% raków surowicznych), jak również krótszym przeżyciem⁽²⁹⁾. Klusteryna odgrywa kluczową rolę w progresji, chemiooporności raka jajnika, głównie na paklitaksel, poprzez interakcję z nim. Możliwym wyjaśnieniem oporności na chemioterapię jest lokalizacja klusteryny – jądrowa lub cytoplazmatyczna, bądź istnienie jej różnych izoform^(30,31). Pełni również funkcję w przerzutowaniu raka jajnika. W terapii celowanej klusteryna może odgrywać rolę poprzez wzmocnienie pozytywnej odpowiedzi na paklitaksel⁽³²⁾.

GEN MET

Gen *Met* (*mesenchymal-epithelial transition factor*) zlokalizowany jest na chromosomie 7q31. Koduje białko c-Met (Met), kinazę tyrozynową, będące jednym z trzech receptorów rodziny HGF (*hepatocyte growth factor*)⁽³³⁾.

Jednym z proponowanych mechanizmów udziału Met w inwazji i przerzutowaniu raka jajnika jest udział fibronektyny. Receptor fibronektyny (integryna $\alpha_5\beta_1$) aktywuje c-Met i poprzez wiązanie się do ECM (macierzy pozakomórkowej) powoduje zmianę właściwości adhezyjnych, co skutkuje inwazją i przerzutowaniem⁽³⁴⁻³⁶⁾.

W badaniach 41 pacjentek w IIIC stopniu zaawansowania stwierdzono, że nadekspresja c-Met korelowała z parametrami kliniczno-histopatologicznymi, w tym z całkowitym przeżyciem oraz z przerzutami do węzłów chłonnych okołoaortalnych⁽³⁶⁾. Istnieje szansa na rozwój terapii celowanej z c-Met⁽³⁵⁾.

KLAUDYNY 3 I 4

Klaudyny 3 i 4 są produktami genu umiejscowionego na chromosomie 7q11. Należą do rodziny około 20 białek połączeń ścisłych (*tight junction*) między komórkami; odpowiadają za integralność błony komórkowej i jej funkcję⁽³⁷⁾.

Stwierdzono, że w raku jajnika klaudyny 3 i 4 ulegają nadekspresji, co związane jest ze zwiększoną inwazją i zdolnością do przerzutowania. Prawdopodobnym mechanizmem jest wykorzystanie szlaku MMP-2 (*matrix metalloproteinase-2*), ponieważ wykryto jednocześnie zwiększoną ekspresję tego enzymu macierzy^(38,39). Dowiedziano, że klaudyny 3 i 4 posiadają receptory wysokiego powinowactwa do enterotoksyny *Clostridium perfringens*. Istnieje zatem możliwość, że obie klaudyny mogą być celami terapii celowanej w raku jajnika.

in carcinogenesis and has an established prognostic value in several tumors in humans⁽²⁸⁾.

In over 46% of ovarian cancer cases, immunohistochemical studies documented overexpression of clusterin and a statistically significant correlation was noticed with FIGO stage, histological type (62% of serous cancers) and shorter survival⁽²⁹⁾. Clusterin plays a key role in tumor progression and chemoresistance of ovarian cancer mainly against paclitaxel, by interacting therewith. A possible explanation of resistance against chemotherapy may rely in location of clusterin – nuclear or cytoplasmic – or existence of several isoforms thereof^(30,31). Clusterin plays also a role in the development of metastases. Concerning targeted therapy, clusterin may play a role by enhancing positive therapeutic response to paclitaxel⁽³²⁾.

MET GENE

Met gene (*mesenchymal-epithelial transition factor*) is located on chromosome 7p31. It encodes the protein c-Met (tyrosine kinase), which is one of three receptors of the HGF (*hepatocyte growth factor*) family⁽³³⁾.

One of suggested mechanisms explaining the role of Met in invasion and metastases' formation of ovarian cancer involves fibronectin. Fibronectin receptor (integrin $\alpha_5\beta_1$) activates c-Met and by binding with ECM changes adhesive properties, resulting in invasion and development of metastases⁽³⁴⁻³⁶⁾.

A study of 41 patients at FIGO stage IIIC revealed that c-Met overexpression correlates with clinical-histological parameters, including overall survival and metastases to periaortal lymph nodes⁽³⁶⁾. There is a chance to use c-Met for targeted therapy⁽³⁵⁾.

CLAUDINS 3 AND 4

Claudins 3 and 4 are products of gene located on chromosome 7q11. They belong to a family of about 20 proteins found in intercellular tight junctions and responsible for integrity of cell membranes and their functions⁽³⁷⁾. Claudins undergo overexpression in ovarian cancer, which is associated with invasion and development of metastases. A possible mechanism depends on the MMP-2 pathway (*matrix metalloproteinase-2*), as an elevated expression of this matrix enzyme has been also detected^(38,39). Claudins 3 and 4 proved to have high-affinity receptors for *Clostridium perfringens* enterotoxin. There is, therefore, a real possibility to use both claudins in targeted therapy of ovarian cancer.

KALLIKREINS

Kallikreins are enzymes – serine proteases – encoded by gene located on chromosome 19q13.4. In normal conditions, they participate in remodeling of tissues, but also in tumor progression⁽⁴⁰⁾. By degradation of ECM proteins, e.g. fibronectin, laminin, vitronectin and collagen,

KALIKREINY

Kalikreiny są enzymami-proteazami serynowymi kodowanymi przez gen zlokalizowany na chromosomie 19q13.4. W procesach fizjologicznych uczestniczą w remodelowaniu tkanek, ale biorą również udział w progresji raka⁽⁴⁰⁾. Poprzez degradację protein macierzy pozakomórkowej, takich jak fibronektyna, laminina, witronektyna i kolagen, ułatwiają migrację komórek i przerzutowanie⁽⁴¹⁾.

Wśród około 20 zidentyfikowanych kalikrein w raku jajnika udział biorą kalikreiny 5-8, 10, 11 i 13. Mechanizm ich działania nie został dokładnie poznany, ale prawdopodobnie ekspresja kalikreiny może być wynikiem aktywacji szlaku sygnalizacyjnego receptora estrogenowego. Wykazano, że ich zwiększone stężenie było związane z przerzutowaniem raka jajnika do sieci większej. Stwierdzono, że niektóre z nich, zwłaszcza 6-8 i 10, uczestniczą w wytwarzaniu wysięku otrzewnowego⁽⁴²⁾. Kalikreiny mogą być kandydatem do terapii celowanej^(41,42).

GEN *SDF-1*

Gen *SDF-1* (*stromal cell-derived factor-1*) znajduje się na chromosomie 10q11.1. Koduje białko SDF-1, które posiada cztery izoformy, powstające na skutek alternatywnego składowania (splicingu). Izofomy te różnią się zawartością aminokwasów i funkcją. Najlepiej poznana jest izoforma SDF-1 α , która działa poprzez receptory CXCR4 i CXCR7. Kompleks SDF-1/CXCR4 wzmacnia sekrecję cytokin VEGF-1 i integryny β_1 , które nasilają neoangiogenezę, adhezję, proliferację i inwazję komórek nowotworowych, a także odgrywają rolę w przerzutowaniu komórek CXCR+ do narządów wykazujących ekspresję SDF-1 poprzez naprowadzanie przerzutów do węzłów chłonnych, kości i płuc. W ostatnich latach wykazano, że kompleks SDF-1/CXCR4 odgrywa kluczową rolę w przerzutowaniu prawie 23 nowotworów, w tym: piersi, jajnika, gruczołu krokowego, drobnokomórkowego płuca, a także gruczołowego szyjki macicy. Stwierdzono, że przeciwciała monoklonalne przeciwko CXCR4 hamują przerzutowanie raka do płuc i węzłów chłonnych⁽⁴³⁾. Kompleks SDF-1/CXCR4 stymuluje proliferację linii komórkowych raka piersi i raka jajnika szlakiem parakrynnym w taki sam sposób jak estradiol⁽⁴⁴⁾. CXCR7 jest nowo poznany receptorem SDF-1, który ulega ekspresji na powierzchni wielu komórek nowotworowych, bierze udział w procesach nowotworzenia, wzrostu i adhezji. Receptor ten nie uczestniczy w procesie hematopoezy, w którym główną rolę odgrywają CXCR4 i SDF-1. Może stanowić ważną tarczę terapeutyczną w leczeniu przeciwnowotworowym⁽⁴⁵⁾. Ostatnie badania wykazały, że połączenie się drobnocząsteczkowych inhibitorów dla CXCR4 i CXCR7 może dramatycznie zredukować inwazję, przenikanie do naczyń krwionośnych i przerzutowanie komórek nowotworowych w inwazyjnym raku piersi⁽⁴⁶⁾.

they facilitate migration and dissemination of tumor cells⁽⁴¹⁾.

About 20 kallikreins identified to date, in ovarian cancer predominate kallikreins 5-8, 10, 11 and 13. Their mechanism of action has not been fully elucidated yet, but their expression most probably results from activation of estrogen receptor-dependent signal pathway. Their elevated level is associated with dissemination of cancer to the *omentum maius*. Some kallikreins, mainly 6-8 and 10, play a role in the production of peritoneal exudate⁽⁴²⁾. Kallikreins are also a good candidate for targeted therapy^(41,42).

SDF-1 GENE

SDF-1 gene (stromal cell-derived factor-1) is found on chromosome 10q11.1. It encodes the SDF-1 protein, which has 4 isoforms arising as a result of alternative splicing. These isoforms differ by content of amino acids and function. The best known is the SDF-1 α isoform, acting via receptors CXCR4 and CXCR7. The complex SDF-1/CXCR4 increases secretion of cytokines VEGF-1 and integrin β_1 , which in turn enhance neoangiogenesis, adhesion, proliferation and invasion of tumor cells, and also play a role in dissemination of CXCR+ cells to organs showing expression of SDF-1 by guiding metastases to lymph nodes, bones and lungs. Recently published studies confirmed that the SDF-1/CXCR4 complex plays a crucial role in formation of metastases of nearly 23 tumor types, including breast cancer, ovarian cancer, prostate cancer, small-cell lung cancer and adenomatous cervical cancer. It was stated that anti-CXCR4 monoclonal antibody inhibits cancer spread to lungs and lymph nodes⁽⁴³⁾. The SDF-1/CXCR4 complex stimulates proliferation of cell lines of breast cancer and ovarian cancer by the paracrine pathway, in the same way as estradiol does⁽⁴⁴⁾. CXCR7 is a newly discovered SDF-1 receptor, expressed on the surface of several cancer cells, involved in neoplasia, growth and adhesion. This receptor does not participate in the hematopoiesis, where the main role is played by CXCR4 and SDF-1. Nevertheless, it may be an important target in targeted anti-tumor treatment⁽⁴⁵⁾. Recent studies revealed that binding of small molecular inhibitors with CXCR4 and CXCR7 may dramatically reduce invasion, penetration to blood vessels and dissemination of tumor cells in invasive breast cancer⁽⁴⁶⁾.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Arteaga C.L.: Overview of epidermal growth factor receptor biology and its role as a therapeutic target in human neoplasia. *Semin. Oncol.* 2002; 29 (supl. 14): 3-9.
2. Chuang T.C., Hsu S.C., Cheng Y.T. i wsp.: Magnolol down-regulates *HER2* gene expression, leading to inhibition of HER2-mediated metastatic potential in ovarian cancer cells. *Cancer Lett.* 2011; 311: 11-19.

3. Bookman M.A., Darcy K.M., Clarke-Pearson D. i wsp.: Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 283-290.
4. Sheng Q., Liu J.: The therapeutic potential of targeting the EGFR family in epithelial ovarian cancer. *Br. J. Cancer* 2011; 104: 1241-1245.
5. Yoo B.K., Emdad L., Lee S.G. i wsp.: Astrocyte elevated gene-1 (*AEG-1*): a multifunctional regulator of normal and abnormal physiology. *Pharmacol. Ther.* 2011; 130: 1-8.
6. Lee S.G., Su Z.Z., Emdad L. i wsp.: Astrocyte elevated gene-1 (*AEG-1*) is a target gene of oncogenic Ha-ras requiring phosphatidylinositol 3-kinase and c-Myc. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2006; 103: 17390-17395.
7. Emdad L., Sarkar D., Su Z.Z. i wsp.: Activation of the nuclear factor κ B pathway by astrocyte elevated gene-1: implications for tumor progression and metastasis. *Cancer Res.* 2006; 66: 1509-1516.
8. Li C., Liu J., Lu R. i wsp.: *AEG-1* overexpression: a novel indicator for peritoneal dissemination and lymph node metastasis in epithelial ovarian cancers. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2011; 21: 602-608.
9. Meng F., Luo C., Ma L. i wsp.: Clinical significance of astrocyte elevated gene-1 expression in human epithelial ovarian carcinoma. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2011; 30: 145-150.
10. Emdad L., Sarkar D., Lee S.G. i wsp.: Astrocyte elevated gene-1: a novel target for human glioma therapy. *Mol. Cancer Ther.* 2010; 9: 79-88.
11. Roa J., Tena-Sempere M.: *KiSS-1* system and reproduction: comparative aspects and roles in the control of female gonadotropic axis in mammals. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2007; 153: 132-140.
12. Makri A., Pissimissis N., Lembessis P. i wsp.: The kisspeptin (*KiSS-1*)/*GPR54* system in cancer biology. *Cancer Treat. Rev.* 2008; 34: 682-692.
13. Prentice L.M., Klausen C., Kalloger S. i wsp.: Kisspeptin and *GPR54* immunoreactivity in a cohort of 518 patients defines favourable prognosis and clear cell subtype in ovarian carcinoma. *BMC Med.* 2007; 5: 33.
14. Hata K., Dhar D.K., Watanabe Y. i wsp.: Expression of metastin and a G-protein-coupled receptor (*AXOR12*) in epithelial ovarian cancer. *Eur. J. Cancer* 2007; 43: 1452-1459.
15. Jiang Y., Berk M., Singh L.S. i wsp.: *KiSS1* suppresses metastasis in human ovarian cancer via inhibition of protein kinase C α . *Clin. Exp. Metastasis* 2005; 22: 369-376.
16. Hajra K.M., Fearon E.R.: Cadherin and catenin alterations in human cancer. *Gene Chromosomes Cancer* 2002; 34: 255-268.
17. Auersperg N., Wong A.S., Choi K. i wsp.: Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology. *Endocr. Rev.* 2001; 22: 255-288.
18. Elloul S., Silins I., Trope C.G. i wsp.: Expression of E-cadherin transcriptional regulators in ovarian carcinoma. *Virchows Arch.* 2006; 449: 520-528.
19. Sawada K., Mitra A.K., Radjabi A.R. i wsp.: Loss of E-cadherin promotes ovarian cancer metastasis via α_5 -integrin, which is a therapeutic target. *Cancer Res.* 2008; 68: 2329-2339.
20. Ho C.M., Cheng W.F., Lin M.C. i wsp.: Prognostic and predictive values of E-cadherin for patients of ovarian clear cell adenocarcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2010; 20: 1490-1497.
21. Urbaniak J.: Expression of survivin in human cancer. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2004; 13: 1037-1046.
22. Liguang Z., Peishu L., Honglun M. i wsp.: Survivin expression in ovarian cancer. *Exp. Oncol.* 2007; 29: 121-125.
23. No J.H., Jeon Y.T., Kim Y.B., Song Y.S.: Quantitative detection of serum survivin and its relationship with prognostic factors in ovarian cancer. *Gynecol. Obstet. Invest.* 2011; 71: 136-140.
24. Smith H.W., Marshall C.J.: Regulation of cell signalling by uPAR. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010; 11: 23-36.
25. Wei Y., Tang C.H., Kim Y. i wsp.: Urokinase receptors are required for $\alpha_5\beta_1$ integrin-mediated signaling in tumor cells. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 3929-3939.
26. Wang L., Madigan M.C., Chen H. i wsp.: Expression of urokinase plasminogen activator and its receptor in advanced epithelial ovarian cancer patients. *Gynecol. Oncol.* 2009; 114: 265-267.
27. Kenny H.A., Leonhardt P., Ladanyi A. i wsp.: Targeting the urokinase plasminogen activator receptor inhibits ovarian cancer metastasis. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17: 459-471.
28. Shannan B., Seifert M., Leskov K. i wsp.: Challenge and promise: roles for clusterin in pathogenesis, progression and therapy of cancer. *Cell Death Differ.* 2006; 13: 12-19.
29. Yang G.F., Li X.M., Xie D.: Overexpression of clusterin in ovarian cancer is correlated with impaired survival. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2009; 19: 1342-1346.
30. Hassan M.K., Watari M., Christenson L. i wsp.: Intracellular clusterin negatively regulates ovarian cancer cells to paclitaxel. *Tumour Biol.* 2011; 32: 1031-1047.
31. Wei L., Xue T., Wang J. i wsp.: Roles of clusterin in progression, chemoresistance and metastasis of human ovarian cancer. *Int. J. Cancer* 2009; 125: 791-806.
32. Park D.C., Yeo S.G., Wilson M.R. i wsp.: Clusterin interacts with paclitaxel and confer paclitaxel resistance in ovarian cancer. *Neoplasia* 2008; 10: 964-972.
33. Zhou H.Y., Pon Y.L., Wong A.S.: HGF/MET signaling in ovarian cancer. *Curr. Mol. Med.* 2008; 8: 469-480.
34. Mitra A.K., Sawada K., Tiwari P. i wsp.: Ligand independent activation of c-Met by fibronectin and $\alpha_5\beta_1$ -integrin regulates ovarian cancer invasion and metastasis. *Oncogene* 2011; 30: 1566-1576.
35. Sourbier C.: Met and the microenvironment: new insights for ovarian cancer metastasis. *Cell Adh. Migr.* 2011; 5: 209-210.
36. Ayhan A., Ertunc D., Tok E.C., Ayhan A.: Expression of the c-Met in advanced epithelial ovarian cancer and its prognostic significance. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2005; 15: 618-623.
37. Martin T.A., Jiang W.G.: Loss of tight junction barrier function and its role in cancer metastasis. *Biochim. Biophys. Acta* 2009; 1788: 872-891.
38. Agarwal R., D'Souza T., Morin P.J.: Claudin-3 and claudin-4 expression in ovarian epithelial cells enhances invasion and is associated with increased matrix metalloproteinase-2 activity. *Cancer Res.* 2005; 65: 7378-7385.
39. Shih I.M., Davidson B.: Pathogenesis of ovarian cancer: clues from selected overexpressed genes. *Future Oncol.* 2009; 5: 1641.
40. Yousef G.M., Diamandis E.P.: The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr. Rev.* 2001; 22: 184-204.
41. Ghosh M.C., Grass L., Soosaipillai A. i wsp.: Human kallikrein 6 degrades extracellular matrix proteins and may enhance the metastatic potential of tumour cells. *Tumour Biol.* 2004; 25: 193-199.
42. Dorn J., Harbeck N., Kates R. i wsp.: Impact of expression differences of kallikrein-related peptidases and of uPA and PAI-1 between primary tumor and omentum metastasis in advanced ovarian cancer. *Ann. Oncol.* 2011; 22: 877-883.
43. Kucia M., Jankowski K., Reza R. i wsp.: CXCR4-SDF-1 signaling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J. Mol. Histol.* 2004; 35: 233-245.
44. Hall J.M., Korach K.S.: Stromal cell-derived factor 1, a novel target of estrogen receptor action, mediates the mitogenic effects of estradiol in ovarian and breast cancer cells. *Mol. Endocrinol.* 2003; 17: 792-803.
45. Maksym R.B., Tarnowski M., Grymula K. i wsp.: The role of stromal-derived factor-1 – CXCR7 axis in development and cancer. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 625: 31-40.
46. Hawkins O.E., Richmond A.: The dynamic yin-yang interaction of CXCR4 and CXCR7 in breast cancer metastasis. *Breast Cancer Res.* 2012; 14: 103.