

## Ograniczenia aktualnych metod leczenia raka sromu – perspektywy dla immunoterapii

Vulvar cancer – limitations of current management options and potential role of immune therapy

Ограничения актуальных методов лечения рака вульвы  
– перспективы для иммунотерапии

Katedra i Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny. Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Dariusz Wydra  
Correspondence to: Jacek J. Sznurkowski, Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Kliniczna 1 A, 80-401 Gdańsk, tel.: 509 270 567, e-mail: jacek.sznurkowski@amg.gda.pl

Source of financing: Department own sources

### Streszczenie

Obowiązujący standard leczenia płaskonabłonkowego raka sromu jest zbyt rozległy dla wczesnych stadiów choroby (FIGO I, FIGO II), gdzie rzeczywista częstość występowania przerzutów do węzłów chłonnych nie przekracza 20%, i niewystarczający dla zaawansowanych (FIGO III, FIGO IV), dla których brak jest skutecznego leczenia uzupełniającego. Uwzględniając wszystkie powyższe fakty, należy poszukiwać całkowicie nowych metod terapeutycznych, które mogłyby poprawić wyniki leczenia. W ostatnim czasie szczególnego znaczenia w onkologii nabiera immunoterapia. Pojawiają się nowe antygeny i nowe sposoby terapii. Poznane dotychczas antygeny nowotworowe można podzielić na: powszechnie występujące – obecne zarówno w komórkach nowotworowych, jak i różnych komórkach prawidłowych (MUC2, PRAME, SART-1, RU1); antygeny różnicowania – obecne na komórkach nowotworowych i prawidłowych komórkach, z których wywodzi się nowotwór (CEA, PSA oraz antygeny czerniaka: gp100, MART-1 i tyrozynaza); antygeny swoiste dla nowotworu – obecne tylko w komórkach nowotworowych (onkogen *ras*,  $\beta$ -katenina, CDK4, MUM-1); antygeny rakowo-jądrowe C/TA – *cancer/testis antigens*, które z wyjątkiem jąder nie występują w zdrowych tkankach ludzkich. Celem pracy było przedstawienie najnowszej wiedzy dotyczącej antygenów rakowo-jądrowych, gdyż jest to stosunkowo nowa, mało znana i bardzo obiecująca grupa antygenów. Nieobecność antygenów rakowo-jądrowych C/TA poza tkankami nowotworowymi oraz ich wybitna zdolność do indukowania odpowiedzi immunologicznej (komórkowej i humoralnej) czyni je szczególnie atrakcyjnymi celami dla immunoterapii, zwłaszcza u kobiet.

**Słowa kluczowe:** rak sromu, immunoterapia, C/T antygeny, MAGE, NY-ESO-1

### Summary

Current standard of management of squamous cell vulvar cancer appears overly aggressive for early clinical stages (FIGO I and II), where true incidence of lymph node metastases is below 20%, and far too conservative for late stages (FIGO III and IV), where no effective complementary treatment is available. In view of these facts, entirely novel therapeutic approach should be developed in order to improve treatment outcomes. Nowadays, the role of immune therapy in oncology is increasing rapidly. New antigens and new therapeutic techniques are introduced. Cancer antigens discovered to date may be classified into: widespread antigens – present both in malignant cells and in several normal tissues (MUC2, PRAME, SART-1, RU-1); differentiating antigens – present in malignant cells and in their normal predecessors (CEA, PSA and melanoma antigens: gp100, MART-1, tyrosinase); cancer-specific antigens – present only in malignant cells (*ras* oncogene,  $\beta$ -catenin, CDK4, MUM-1); cancer/testis antigens (C/TA), which normally are present in the testes only. The aim of this paper was to present an update on C/TA, this being a relatively novel, poorly understood and very promising family of antigens. Absence of C/TA antigens beyond cancer tissue and their exquisite ability to induce immune response (both cell- and humoral-mediated), makes them an attractive target for immune therapy, particularly in the females.

**Key words:** vulvar cancer, immune therapy, C/TA, MAGE, NY-ESO-1

## Содержание

Обязывающий в настоящее время стандарт лечения плоскоэпителиального рака вульвы является черезчур обширным для начальных степеней заболевания (ФИГО 1, ФИГО 2), когда действительная частота появления метастаз в лимфатических узлах не превышает 20%, и недостаточна для развития (ФИГО 3, ФИГО 4), для которых отсутствует эффективное дополнительное лечение. Принимая во внимание все выше упомянутые факторы, необходимо искать совершенно новые терапевтические методы, которые могли бы улучшить результаты лечения. В последнее время особенное значение в области онкологии приобретает иммунотерапия. Появляются новые антигены и новые методы лечения. Известные до сих пор антигены новообразований можно разделить на: повсеместно встречающиеся – находящиеся как в клетках новообразований, так и в различных правильных клетках (МУК2, ПРАМЕ, САПТ-1, РУ1); антигены дифференциации – находящиеся на клетках новообразований и правильных клетках, из которых происходит новообразование (КЕА, ПСА и антигены меланомы: gp100, MART-1 и тирозиназа); антигены специфические для новообразования – находящиеся только в клетках новообразований (онкоген *ras*, бета-катенин, КДК4, МУМ-1); антигены рако-ядерные К/ТА, которые за исключением ядер не появляются в здоровых клетках человека. Цель работы состояла в том, чтобы представить новейшие знания относительно рако-ядерных антигенов, так как это относительно новая, мало известная, а одновременно много обещающая группа антигенов. Отсутствие рако-ядерных антигенов К/ТА кроме тканей с новообразованиями и их исключительная способность вызывания (индуцирования) иммунологического ответа, как клеточного, так и гуморального, делает их особенно привлекательной целью для иммунотерапии, особенно женщин.

**Ключевые слова:** рак вульвы, иммунотерапия, антигены К/Т, МАГЕ, НУ-ЭСО-1

### WPROWADZENIE

**L**eczenie chirurgiczne raka płaskonabłonkowego sromu jest metodą z wyboru. Najważniejszy czynnik prognostyczny wpływający na 5-letnie przeżycie stanowi zajęcie regionalnych węzłów chłonnych przez komórki nowotworowe. Wśród chorych z niezajętymi węzłami pachwinowymi wieloletnie przeżycia stwierdza się u 80-100% pacjentów, obecność przerzutów węzłowych obniża ten odsetek do 25-57%. Obecnie jedyną postacią raka sromu, którą można usunąć miejscowo bez regionalnych węzłów chłonnych, jest postać IA (guz <2 cm ograniczony do sromu lub krocza z inwazją podścieliska <1 mm, N0,M0). W pozostałych przypadkach podstawowym zabiegiem jest usunięcie zmiany na sromie oraz jednostronna lub obustronna limfadenektomia pachwinowa. Okaleczające zabiegi przeprowadza się zatem nie tylko w zaawansowanych stadiach choroby, ale również we wczesnych jej postaciach, do których zalicza się guzy T1B, T2 bez klinicznie podejrzanych regionalnych węzłów chłonnych. W grupie tych chorych rzeczywista częstość występowania przerzutów w węzłach chłonnych wynosi do 20%<sup>(1)</sup>.

Obowiązujący „standard leczenia” jest zatem bardzo niedoskonały: zbyt rozległy dla wczesnych raków sromu (T1B, T2) i niewystarczający dla zaawansowanych (T3, T4), gdzie dodatkowo brak skutecznego leczenia uzupełniającego. Obecnie trwają prace badawcze w kierunku oceny możliwości oszczędzającego leczenia chirurgicznego wczesnych postaci nowotworu. Niezbędnym warunkiem ograniczenia zakresu operacji jest możliwość wiarygodnego określenia ryzyka zajęcia regionalnych węzłów chłonnych. Mają w tym pomóc wyniki badań nad węzłem wartowniczym oraz poszukiwania nowych przedoperacyjnych czynników prognostycznych<sup>(1)</sup>.

Nie ma natomiast prac badawczych nad zupełnie nowymi metodami terapeutycznymi, które mogłyby poprawić bardzo złe wyniki

### INTRODUCTION

**A**t present, the treatment of choice of squamous cell vulvar cancer is surgical excision. The key prognostic factor influencing 5-years' survival rate is invasion of regional lymph nodes by neoplastic cells. Among patients with tumor-free inguinal lymph nodes, several years' long survival is obtained in 80-100% of them, while presence of nodal metastases reduces this proportion to 25-57%. Currently, the only vulvar cancer type which may be excised locally with sparing of regional lymph nodes is the IA type (tumor measuring less than 2 cm, limited to the vulva or perineum with stromal invasion of less than 1 mm, N0,M0). In the remaining cases, standard surgical procedure consists in excision of vulvar lesion with unilateral or bilateral inguinal lymphadenectomy. Mutilating procedures are thus performed not only in late clinical stages, but also in early ones, including T1B and T2 tumors without concomitant nodal invasion. In this group of patients, the true incidence of lymph node metastases does not exceed 20%<sup>(1)</sup>.

Present standard of management is therefore at best suboptimal, being too extensive for early cases (T1B, T2) and overly conservative for advanced clinical cases (T3 and T4), where additionally there is no effective complementary treatment available. Research currently underway aims at assessment of effectiveness of sparing surgical treatment of early tumor forms. A prerequisite for limitation of scope of surgery is our ability to reliably assess the risk of invasion of regional lymph nodes. This should be facilitated by current studies on sentinel node and search for novel preoperative prognostic factors<sup>(1)</sup>.

On the other hand, no studies are available exploring entirely novel therapeutic approach, which might hopefully improve universally poor outcomes of treatment of late-stage vulvar

leczenia zaawansowanych postaci raka sromu. W ostatnim okresie szczególnego znaczenia w onkologii nabiera immunoterapia.

Pojawiają się nowe antygeny i nowe sposoby immunoterapii. Antygenami kandydatami wydają się antygeny rakowo-jądrowe C/TA – *cancer/testis antigens*. Z wyjątkiem jąder nie występują w zdrowych tkankach ludzkich. Nieobecność antygenów rakowo-jądrowych C/TA poza tkankami nowotworowymi oraz ich wybitna zdolność do indukowania odpowiedzi immunologicznej (komórkowej i humoralnej) czyni je szczególnie atrakcyjnymi celami dla immunoterapii, zwłaszcza u kobiet<sup>(2)</sup>.

Analiza ekspresji antygenów rakowo-jądrowych C/TA mogłoby ułatwić identyfikację przerzutów komórek raka do węzła wartowniczego oraz posłużyć w przyszłości do opracowania i produkcji ewentualnej szczepionki przeciw komórkom macierzystym nowotworu.

### ANTYGENY ZWIĄZANE Z NOWOTWOREM

Na przestrzeni ostatnich 100 lat trwały poszukiwania antygenów towarzyszących guzom nowotworowym, które mogłyby być użyte do nakierowania potencjału cytotoxicznego ludzkiego układu odpornościowego bezpośrednio na komórki rakowe<sup>(3,4)</sup>. Punktem zwrotnym w pracach badawczych nad antygenami swoistymi dla guzów nowotworowych było opracowanie metody typowania autologicznego, w której komórki guza oraz normalne komórki (fibroblasty) tego samego autologicznego pacjenta były celami dla przeciwciał i cytotoxicznych limfocytów T zawartych w surowicy chorego<sup>(3,5)</sup>. Wszystko w celu identyfikacji swoistych elementów odpowiedzi immunologicznej zwalczających wyłącznie komórki nowotworu. Metodą tą wykryto szereg ważnych molekuł, między innymi p53, pRb<sup>(6,7)</sup>, a także antygeny rakowo-jądrowe rozpoznane pierwotnie jako cele dla limfocytów CD8+ w czerniaku<sup>(8)</sup>.

Następnym wielkim krokiem naprzód w poszukiwaniu antygenów związanych z nowotworem było opracowanie technologii o nazwie SEREX (*serological analysis of recombinant cDNA expression libraries*)<sup>(9)</sup>. Jest to serologiczna analiza ekspresji rekombinowanego cDNA w zbiorach tkanek oraz guzów za pomocą autologicznych surowic. Metoda ta doprowadziła do identyfikacji licznych kategorii antygenów związanych z nowotworem, ale przede wszystkim dała możliwość analizy odpowiedzi humoralnej na zlokalizowane wewnątrzkomórkowo antygeny raka, co było wcześniej niemożliwe. Obserwowana odpowiedź immunologiczna przeciw własnym (autogenicznym) komórkom nowotworowym nie tylko świadczy o istnieniu antygenów nowotworowych, ale także jest argumentem uzasadniającym próby immunoterapii nowotworów. Idealny dla celów immunoterapii wydaje się antygen specyficzny wyłącznie dla komórki rakowej, kluczowy dla jej przeżycia i nieobecny w tkankach zdrowych.

Wszystkie znane antygeny nowotworowe można podzielić na:

- Antygeny powszechnie występujące – obecne na komórkach nowotworowych i różnych komórkach prawidłowych (MUC2, PRAME, SART-1, RU1).
- Antygeny różnicowania – obecne na komórkach nowotworowych i prawidłowych komórkach, z których wywodzi się

cancer. This relates mainly to immune therapy, whose increasing role in oncology we are witnessing recently.

Novel antigens and new techniques of immune therapy are being introduced. Candidate antigens are at present the cancer/testis antigens (C/TA). Except for the testes, they are not detected in normal human tissues. Absence of C/TA outside the neoplastic tissue and their outstanding ability to induce immune response (both cell- and humoral-mediated), makes them a particularly attractive target for immune therapy, particularly in the females<sup>(2)</sup>.

Analysis of expression of C/TA might facilitate identification of cancer metastases to sentinel node and contribute to the development and production of a possible vaccine against tumor progenitor cells.

### CANCER-ASSOCIATED ANTIGENS

Over the past century, research focused on pinpointing specific cancer-associated antigens, which might be used to direct cytotoxic potential of human immune system directly at cancer cells<sup>(3,4)</sup>.

A turning point in research work concerning tumor-specific antigens was marked by development of autologous typing technique, where tumor cells and normal cells (fibroblasts) of the same patient were targets for antibodies and cytotoxic T-lymphocytes present in the patient's plasma<sup>(3,5)</sup>. This enabled identification of specific components of immune response fighting cancer cells only. This technique resulted in discovery of several key molecules, including p53, pRb<sup>(6,7)</sup> as well as T/CA, at first considered as primary targets of CD8+ lymphocytes in melanoma<sup>(8)</sup>.

The next milestone in the search for cancer-associated antigens was marked by development of the SEREX technology (serological analysis of recombinant cDNA expression libraries)<sup>(9)</sup>. This consists in serological analysis of expression of recombinant cDNA in arrays of tissues and tumors using autologous sera. This technique enabled identification of several categories of antigens correlated with tumors, but first and foremost it enabled analysis of humoral response to localized intracellular cancer antigens, which previously was impossible. Observed immune response against own (autologous) cancer cells not only confirms the presence of cancer antigens, but also justifies attempts at immune therapy in oncology. An ideal target for immune therapy would be an antigen which is specific exclusively for cancer cell, crucial for its survival and not expressed in normal tissues.

All cancer antigens may be classified into:

- Universally present antigens – expressed by both cancer cells and several normal tissues (MUC2, PRAME, SART-1, RU1).
- Differentiating antigens – present in cancer cells and those normal cells from which the tumor originates (CEA, PSA and melanoma antigens gp100, MART-1, tyrosinase);
- Cancer-specific antigens – expressed by cancer cells only. This type of antigens is extremely rare and includes antigens encoded by mutated oncogenes (e.g. *ras*),  $\beta$ -catenin, CDK4, MUM-1, caspase 8 – all appearing as a result of mutation of specific encoding genes.

nowotwór (CEA, PSA oraz antygeny czerniaka: gp100, MART-1 i tyroznaza).

- Antygeny swoiste dla nowotworu – obecne tylko w komórkach nowotworowych. Ten typ antygenów jest niezwykle rzadkością. Należą tu antygeny kodowane przez zmutowane onkogeny, między innymi onkogen *ras*. Inne to  $\beta$ -katenina, CDK4, MUM-1, kaspaza 8 – wszystkie powstają w wyniku mutacji kodującego je genu.
- Antygeny rakowo-jądrowe – obecne na komórkach nowotworowych w komórkach jądra: spermatoocytach i spermatoogoniach<sup>(10)</sup>.

**ANTYGENY RAKOWO-JĄDROWE  
(C/TA – CANCER/TESTIS ANTIGENS)  
– WSPÓLNY MIANOWNIK PROLIFERACJI  
KOMÓREK GERMINALNYCH  
ORAZ KOMÓREK RAKA**

Już od długiego czasu zwracano uwagę na zbieżność cech rozwoju raka i germinalnych linii komórkowych. Prawie 100 lat temu podobieństwo biologicznych cech trofoblastu oraz komórek raka zainspirowało Johna Bearda do sformułowania trofoblastycznej teorii raka<sup>(11)</sup>. W myśl tej koncepcji rak miał rozwijać się z germinalnych komórek, którym w okresie embriogenezy nie udało się ukończyć migracji do gonad i tym samym pozostawały rozsięte w pozagonadalnych tkankach. Pośrednimi dowodami ukazującymi związek pomiędzy rozwojem komórek germinalnych a rakiem były opisywane w ostatnich 25 latach liczne przykłady produkcji choriogonadotropin i innych hormonów trofoblastu przez różne typy nowotworów<sup>(12)</sup>. Niektóre z tych hormonów są traktowane jako wskaźniki prognostyczne w guzach nabłonkowych<sup>(13)</sup>.

Dopiero odkrycie protein występujących wyłącznie w komórkach germinalnych, trofoblastie i w guzach nowotworowych, tzw. antygenów rakowo-jądrowych (CT antygenów – *cancer/testis antigens*)<sup>(14)</sup>, bezpośrednio wskazało na związek pomiędzy gametogenezą a namnażaniem się komórek rakowych (rys. 1). Powstała teza, że to zaburzona ekspresja genów „germinalnych” w somatycznych komórkach skutkuje aktywacją uśpionego programu gametogenezy i stanowi jeden z najważniejszych czynników rozwoju guzów nowotworowych<sup>(15)</sup>. Komórki rakowe mają znacznie większy potencjał replikacyjny niż komórki tkanek, z których się wywodzą, i jest on zbliżony do możliwości proliferacyjnych komórek germinalnych. Opisano szereg cech fenotypu raka mających swoje odpowiedniki w procesie gametogenezy (rys. 1).

Cechy komórek biorących udział w gametogenezie (brązowe komórki) są podobne lub wspólne z cechami komórek tworzących guzy nowotworowe i ich przerzuty (niebieskie komórki). Do ściśle ze sobą korespondujących cech komórek raka oraz gametogenezy należą: nabywanie nieśmiertelności (włączone w transformację), inwazja (odpowiadająca implantacji), indukcja mejozy (może prowadzić do aneuploidii) oraz migracja (nawiązuje do tworzenia przerzutów). Wspólnym fenotypem dla procesu gametogenezy i powstawania guzów nowotworowych są: demetylacja, indukcja angiogenezy, unikanie odpowiedzi immunologicznej i ekspresja choriogonadotropin.

- Cancer/testis antigens (C/TA) – expressed on cancer cells and on normal spermatocytes and spermatogonia<sup>(10)</sup>.

**CANCER/TESTIS ANTIGENS  
– COMMON DENOMINATOR  
OF PROLIFERATION OF GERMINAL CELLS  
AND CANCER CELLS**

Since a long time, investigators called attention to similarity of features of developing cancer and germinal cell lines. Nearly 100 years ago, similarity of biological features of trophoblast and cancer cells inspired John Beard to propose the trophoblastic cancer theory<sup>(11)</sup>. According to this concept, cancer would develop from germinal cells, which have not migrated to the gonads during embryogenesis but instead remained disseminated in extragonadal tissues. Indirect proof of an association between the development of germinal cells and cancer stemmed from many examples of production of chorionic gonadotropins and other trophoblast-related hormones by various types of cancer published during the past 25 years<sup>(12)</sup>. Some of these hormones are considered important prognostic factors in epithelial tumors<sup>(13)</sup>. Discovery of proteins present exclusively in germinal cells, trophoblast and malignant tumors, of the so-called cancer/testis antigens (C/TA)<sup>(14)</sup>, provided a direct evidence of association between gametogenesis and proliferation of cancer cells (fig. 1). A theory was proposed that disturbed expression of “germinal” genes in somatic cells results in activation of a dormant program of gametogenesis, being one of most important factors promoting malignant transformation<sup>(15)</sup>. Cancer cells have a much higher replication potential than tissues from which they originate, being similar in this aspect to germinal cells. Several features of cancer phenotype have been described, which are reflected in the process of gametogenesis (fig. 1).

Features of cells participating in gametogenesis (brown cells) are similar or identical with those of cells encountered in the primary tumor and in its metastases. Closely corresponding features of cancer and gametogenesis include: acquisition of immortality (when engaged in transformation), invasion (corresponding to implantation), induction of meiosis (may result in aneuploidy) and migration (corresponding to metastases formation). Further common features of gametogenesis and malignant transformation include: demethylation, induction of angiogenesis, avoidance of immune response and expression of chorionic gonadotropins. Digits 1-9 indicate particular features (both corresponding and common) at particular phases of both compared processes.

Cancer/testis antigens are a group of proteins, counted among tumor-associated antigens (TAAs), encoded by genes located at the chromosome X (CT-X antigens) or at other loci (non-X CT antigens)<sup>(16)</sup>.

Expression of C/TA encoded by genes located at the chromosome X occurs naturally in spermatogonia and in trophoblastic cells.

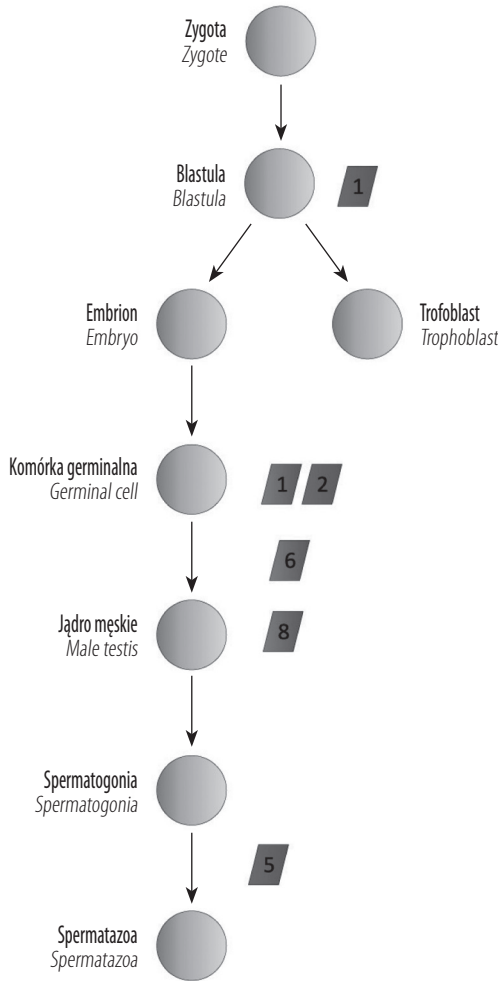
Spermatogonia originate from progenital cells of human embryo, previously immortalized as a result of global hypomethylation (become resistant to apoptosis) and acquire an abi-

Cyfry (1-9) wskazują poszczególne cechy (zarówno korespondujące, jak i wspólne) w odpowiednich etapach dla obu porównywanych procesów.

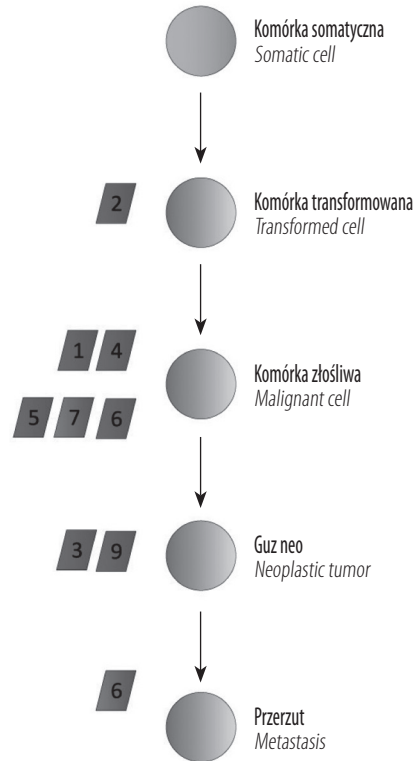
Antygeny rakowo-jądrowe (C/TA – cancer/testis antigens) są grupą białek – zaliczaną do antygenów towarzyszących guzom (tumor-associated antigens, TAAs) – kodowaną przez geny

lity to migrate towards male testis<sup>(17)</sup>. Being underway as well as within the testis, they clone mitotically. After becoming I-degree spermatocytes, they undergo a process of growth with concomitant amplification of their DNA. Spermatogonia represent the greatest replication potential of gametogenesis and thus they are perceived as stem cells of the entire process.

**GAMETOGENEZA**  
GAMETOGENESIS



**POWSTAWANIE GUZÓW ZŁOŚLIWYCH**  
DEVELOPMENT OF MALIGNANT TUMORS



Odpowiadające sobie fenotypy <i>Corresponding phenotypes</i>		Wspólne fenotypy <i>Corresponding phenotypes</i>	
Gameteogeneza <i>Gametogenesis</i>		Tworzenie guzów <i>Development of tumors</i>	
Unieśmiertelnianie <i>Immortalization</i>	2	Transformacja <i>Transformation</i>	2
Implantacja <i>Implantation</i>	4	Inwazja <i>Invasion</i>	4
Mejoza <i>Meiosis</i>	5	Aneuploidia <i>Aneuploidy</i>	5
Migracja <i>Migration</i>	6	Tworzenie przerzutów <i>Metastases</i>	6
		1	Hipometylacja <i>Hypomethylation</i>
		3	Angiogeneza <i>Angiogenesis</i>
		7	Unikanie odpowiedzi immunologicznej <i>Avoidance of immune response</i>
		8	Ekspresja antygenów C/T <i>Expression of C/T antigens</i>
		9	Ekspresja choriongonadotropin <i>Expression of chorionic gonadotropins</i>

Rys 1. Związek pomiędzy gametogenezą a namnażaniem się komórek rakowych  
Fig. 1. Associations between gametogenesis and proliferation of cancer cells



zlokalizowane albo w chromosomie X (*CT-X antigens*), albo w pozostałych chromosomach (*non-X CT antigens*)<sup>(16)</sup>.

Ekspresja antygenów rakowo-jądrowych kodowanych przez geny zlokalizowane w chromosomie X – CT-X antygenów – występuje naturalnie w spermatogoniach i komórkach trofoblastu. Spermatogonia powstaje z komórek progenitalnych embrionu ludzkiego, które wcześniej poprzez globalną hipometylację unieśmiertelniają się (stają się odporne na apoptozę) oraz uzyskują zdolność do migracji w kierunku jądra męskiego<sup>(17)</sup>. Po drodze oraz w jądrze klonują się mitotycznie. Przekształcając się w spermatocyt I rzędu, ulegają procesowi wzrostu z towarzyszącą mu amplifikacją DNA. To właśnie w spermatogoniach zawarty jest największy potencjał replikacyjny gametogenezy – właśnie dlatego są one postrzegane jako tzw. komórki pnia (*stem cells*) całego procesu.

Ekspresja CT-X antygenów spotykana w mitotycznie klonujących się komórkach raka (które również powstają z diploidalnych komórek somatycznych unieśmiertelniających się w procesie transformacji nowotworowej i uzyskujących zdolność do migracji, czyli tworzenia przerzutów) może być wykładnikiem ich potencjału replikacyjnego. Komórki nowotworowe „podobne” w zakresie mechanizmów rozmnażania właśnie do spermatogonii mogą być traktowane jak komórki macierzyste procesu inwazji nowotworowej.

Brak ekspresji CT-X antygenów w prawidłowych komórkach somatycznych wynika z faktu metylowania wysp CpG genów kodujących te białka. Demetylacja wysp CpG prowadzi do aktywacji uśpionego w zdrowej komórce somatycznej mechanizmu proliferacji właściwego dla komórek germinalnych, czego markerem staje się produkcja CT-X antygenów<sup>(16,18)</sup>.

Geny kodujące antygeny non-X CT są rozmieszczone w całym genomie. W jądrach występują w spermatocytach i odgrywają ważną rolę w procesie mejozy. Ich ekspresja w komórkach raka spotykana jest rzadziej i uważa się, że może mieć związek z nieprawidłową segregacją chromosomów oraz aneuploidią. Większość antygenów rakowo-jądrowych kodowanych przez geny zlokalizowane w chromosomie X (CT-X antygeny), w tym MAGE (*melanoma antigen*) i NY-ESO-1 (*New York esophageal squamous cell carcinoma 1 antigen*), wykazuje ekspresję w spermatogoniach, podczas gdy antygeny rakowo-jądrowe kodowane przez geny zlokalizowane poza chromosomem X (non-X CT) towarzyszą procesowi mejozy i występują głównie w spermatocytach i spermatydach.

Ekspresja CT-X antygenów różni się bardzo w różnych typach nowotworów. Jest ona wysoka w raku pęcherza moczowego, raku płuc, surowiczym raku jajnika, raku wątroby i w czerniaku złośliwym, z kolei rzadko obserwuje się ją w raku nerki, jelita grubego, raku żołądka, w białaczkach oraz chłoniakach<sup>(16)</sup>.

Co ciekawe, immunohistochemiczne analizy wykazały, że antygeny CT są rzadko równomiernie rozmieszczone w tkance guza. Często ich ekspresja jest obecna we względnie niewielkiej liczbie komórek raka, które – jak się uważa – mogą odpowiadać tzw. komórkom macierzystym (*stem cells*) „pseudotkanki” nowotworowej<sup>(17)</sup>.

W ciągu ostatniej dekady zidentyfikowano 44 rodziny antygenów C/T-TAAs, spośród nich najczęściej badano w tkankach no-

Expression of CT-X antigens, seen in mitotically proliferating cancer cells (which may also originate from diploidal somatic cells, turned immortal in the process of malignant transformation and acquiring an ability to migrate, i.e. to form metastases) may be an indicator of their replication potential. Cancer cells, “similar” to spermatogonia concerning mechanisms of proliferation, may be considered as stem cells of neoplastic invasion.

Lack of expression of CT-X antigens in normal somatic cells results from methylation of CpG islands of genes encoding these proteins. Demethylation of CpG islands results in activation of a mechanism of proliferation proper for germinal cells, which is dormant in healthy somatic cells, a process marked by production of CT-X antigens<sup>(16,18)</sup>.

Genes encoding non-X CT antigens are disseminated throughout the entire genome. In the testes they are present in spermatocytes and play an important role in meiosis. Their expression in cancer cells is far less frequent and in general opinion, may be associated with disturbed segregation of chromosomes and aneuploidy. Most C/TAs encoded by X chromosome-linked genes (CT-X antigens), including MAGE (melanoma antigen) and NY-ESO-1 (New York esophageal squamous cell carcinoma 1 antigen) show expression in spermatogonia, while non-X CTs accompany the process of meiosis and are present mainly in spermatocytes and spermatides.

Expression of CT-X antigens differs considerably in various tumor types. It is quite high in vesical cancer, lung cancer, serous ovarian cancer, liver cancer and in malignant melanoma. Contrariwise, it is rarely present in renal cancer, colorectal cancer, stomach cancer, in leukemias and in lymphomas<sup>(16)</sup>.

Interestingly enough, immunohistochemical analyses revealed that CT antigens rarely are disseminated evenly in tumor tissue. Their expression is frequently detected in relatively few cancer cells, which – as believed – may correspond to the so-called stem cells of neoplastic “pseudotissue”<sup>(17)</sup>.

During the past decade, 44 families of C/T-TAAs have been identified, thereof the most frequently studied in tumor tissues was the expression of (MAGE)-A, NY-ESO, LAGE, GAGE and SSX<sup>(19)</sup>. Studies revealed that genes encoding the MAGE-A protein influence histological differentiation grade of a tumor<sup>(20)</sup> and enhance resistance of cancer cells against cytotoxic activity of tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ )<sup>(21)</sup>, interferon-induced resistance against apoptosis or by the death receptor FAS. Overexpression of some CT/TAA genes correlates with increased resistance to cytostatics usually used in chemotherapy<sup>(22)</sup>.

An association has been proven between expression of C/T-TAA antigens and outcome of treatment in such tumors as serous ovarian cancer<sup>(23)</sup>, non-small-cell lung cancer<sup>(24)</sup> and cervical cancer<sup>(25)</sup>.

To date, a single paper has been published in the English literature in 2007, reporting on a study analyzing expression of C/T-TAA antigens in vulvar cancer. Results indicate that vulvar cancer demonstrates an enhanced expression of C/T antigens, correlating with presence of metastases to regional lymph nodes<sup>(19)</sup>.

wotworowych ekspresję (MAGE)-A, NY-ESO, LAGE, GAGE, SSX<sup>(19)</sup>. Wykazano, że geny kodujące białka MAGE-A wpływają na stopień zróżnicowania komórkowego nowotworu<sup>(20)</sup> oraz zwiększają oporność komórek raka na działanie cytotoksycznych czynników nekrozy guza (TNF- $\alpha$ )<sup>(21)</sup>, oporność na apoptozę indukowaną interferonem czy przez receptor śmierci FAS. Nadekspresja niektórych genów CT/TAA współistnieje ze zwiększoną opornością na najczęściej stosowane w chemioterapii cytostatyki<sup>(22)</sup>.

Udowodniono związek pomiędzy ekspresją antygenów C/T-TAAs a wynikami leczenia w takich nowotworach, jak rak surowiczy jajnika<sup>(23)</sup>, niedrobnokomórkowy rak płuc<sup>(24)</sup> czy rak szyjki macicy<sup>(25)</sup>. Dotychczas w piśmiennictwie anglojęzycznym opublikowano (w 2007 roku) wyniki jednego badania analizującego ekspresję antygenów C/T-TAAs w raku sromu. Wyniki pokazały, że rak sromu wykazuje nasiloną ekspresję antygenów C/T, która koreluje z obecnością przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych<sup>(19)</sup>.

### ANTYGENY RAKOWO-JĄDROWE MAGE ORAZ NY-ESO-1 – POTENCJALNE CELE DLA IMMUNOTERAPII

Antygeny nowotworowe mogą być rozpoznawane przez:

- wyłącznie limfocyty T – należą tu antygeny powszechnie występujące, takie jak MUC2, PRAME, SART-1, RU1, oraz antygeny swoiste dla nowotworu, takie jak CDK4, MUM-1, kaspaza 8;
- wyłącznie przeciwciała – należą tu antygeny: CD19, CD20, CD21, CD37, CD52, obecne w chłoniakach wywodzących się z limfocytów B; antygen karcynoembrionalny CEA CD66e, obecny głównie w raku jelita grubego, trzustki, żołądka, a rzadziej w raku płuca, sutka i trzonu macicy oraz na komórkach prawidłowych wielu odcinków przewodu pokarmowego;  $\alpha$ -fetoproteina, obecna w raku wątroby i raku jądra, a także w prawidłowej wątrobie i przewodzie pokarmowym oraz pęcherzyku żółciowym; CA-125, obecny w raku jajnika, trzustki oraz płuc; antygen PSA, swoisty dla gruczołu krokowego;
- zarówno limfocyty, jak i przeciwciała – należą tu: CEA – antygen karcynoembrionalny; antygeny rakowo-jądrowe: MAGE, NY-ESO-1, a także gp100 i MART-1<sup>(10)</sup>.

Antygeny rakowo-jądrowe wydają się idealnym celem dla immunoterapii czynnej u kobiet, ponieważ nie występują w zdrowych tkankach i wykazują wybitną zdolność indukowania odpowiedzi immunologicznej zarówno humoralnej, jak i komórkowej. Prace nad ich ekspresją trwają i w niedalekiej przyszłości pojawią się wyniki, które być może rozszerzą nasze możliwości terapeutyczne<sup>(10,26,27)</sup>.

### C/T ANTIGENS MAGE AND NY-ESO-1 – POTENTIAL TARGETS FOR IMMUNE THERAPY

Cancer antigens may be recognized by:

- T-lymphocytes only – this includes universally occurring antigens, e.g. MUC2, PRAME, SART-1 and RU1, as well as tumor-specific antigens, e.g. CDK4, MUM-1 and caspase 8;
- antibodies only – this includes antigens CD19, CD20, CD21, CD37, CD52, present in lymphomas originating from lymphocytes B; carcinoembryonic antigen (CEA) CD66e – present mainly in colorectal cancer, pancreatic cancer, stomach cancer, and, far less frequently – in lung cancer, breast cancer and endometrial cancer as well as in normal cells of several segments of the digestive system;  $\alpha$ -fetoprotein, present in liver cancer and testicular cancer as well as in normal liver, bowel and gallbladder; CA-125, present in ovarian cancer, pancreatic cancer and lung cancer; PSA antigen, specific for prostate;
- both lymphocytes and antibodies – this includes CEA, cancer/testis antigens: MAGE, NY-ESO-1, gp100 and MART-1<sup>(10)</sup>.

Cancer/testis antigens appear an ideal target for active immune therapy in the females, as they do not occur in healthy tissue and present an outstanding ability of inducing immune response, both humoral- and cell-mediated. Studies on their expression are currently underway and in a near future results will appear, hopefully increasing our therapeutic potential<sup>(10,26,27)</sup>.

### PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Emerich J., Sznurkowski J.: Leczenie chirurgiczne raka sromu. W: Markowska J. (red.): Ginekologia onkologiczna. Tom 1, wyd. 2 rozszerzone, Wydawnictwo Medyczne. Urban & Partner, Wrocław 2006.
2. Scanlan M.J., Gure A.O., Jungbluth A.A. i wsp.: Cancer/testis antigens: an expanding family of targets for cancer immunotherapy. *Immunol. Rev.* 2002; 188: 22-32.
3. Old L.J.: Cancer immunology: the search for specificity – G. H. A. Clowes Memorial lecture. *Cancer Res.* 1981; 41: 361-375.
4. Boon T., Old L.J.: Cancer Tumor antigens. *Curr. Opin. Immunol.* 1997; 9: 681-683.
5. Knuth A., Danowski B., Oettgen H.F., Old L.J.: T-cell-mediated cytotoxicity against autologous malignant melanoma: analysis with interleukin 2-dependent T-cell cultures. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1984; 81: 3511-3515.
6. Black P.H., Rowe W.P., Turner H.C., Huebner R.J.: A specific complement-fixing antigen present in SV40 tumor and transformed cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1963; 50: 1148-1156.
7. DeLeo A.B., Jay G., Appella E. i wsp.: Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1979; 76: 2420-2424.
8. Van Pel A., van der Bruggen P., Coulie P.G. i wsp.: Genes coding for tumor antigens recognized by cytolytic T lymphocytes. *Immunol. Rev.* 1995; 145: 229-250.

9. Sahin U., Türeci O., Schmitt H. i wsp.: Human neoplasms elicit multiple specific immune responses in the autologous host. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1995; 92: 11810-11813.
10. Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T. (red.): *Immunologia*. Wyd. 5 zmienione, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008.
11. Gurchot C.: The trophoblast theory of cancer (John Beard, 1857-1924) revisited. *Oncology* 1975; 31: 310-333.
12. Acevedo H.F., Tong J.Y., Hartsock R.J.: Human chorionic gonadotropin-beta subunit gene expression in cultured human fetal and cancer cells of different types and origins. *Cancer* 1995; 76: 1467-1475.
13. Louhimo J., Alfthan H., Stenman U.H., Haglund C.: Serum HCG $\beta$  and CA 72-4 are stronger prognostic factors than CEA, CA 19-9 and CA 242 in pancreatic cancer. *Oncology* 2004; 66: 126-131.
14. Scanlan M.J., Simpson A.J., Old L.J.: The cancer/testis genes: review, standardization, and commentary. *Cancer Immun.* 2004; 4: 1.
15. Old L.J.: Cancer/testis (CT) antigens – a new link between gametogenesis and cancer. *Cancer Immun.* 2001; 1: 1.
16. Simpson A.J.G., Caballero O.L., Jungbluth A. i wsp.: Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2005; 5: 615-625.
17. Jungbluth A.A., Stockert E., Chen Y.T. i wsp.: Monoclonal antibody MA454 reveals a heterogeneous expression pattern of MAGE-1 antigen in formalin-fixed paraffin embedded lung tumours. *Br. J. Cancer* 2000; 83: 493-497.
18. Weber J., Salgaller M., Samid D. i wsp.: Expression of the MAGE-1 tumor antigen is up-regulated by the demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.* 1994; 54: 1766-1771.
19. Bellati F., Napoletano C., Tarquini E. i wsp.: Cancer testis antigen expression in primary and recurrent vulvar cancer: association with prognostic factors. *Eur. J. Cancer* 2007; 43: 2621-2627.
20. Laduron S., Deplus R., Zhou S. i wsp.: MAGE-A1 interacts with adaptor SKIP and the deacetylase HDAC1 to repress transcription. *Nucleic Acids Res.* 2004; 32: 4340-4350.
21. Park J.H., Kong G.H., Lee S.W.: hMAGE-A1 overexpression reduces TNF-alpha cytotoxicity in ME-180 cells. *Mol. Cells* 2002; 14: 122-129.
22. Duan Z., Duan Y., Lamendola D.E. i wsp.: Overexpression of MAGE/GAGE genes in paclitaxel/doxorubicin-resistant human cancer cell lines. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 2778-2785.
23. Yakirevich E., Sabo E., Lavie O. i wsp.: Expression of the MAGE-A4 and NY-ESO-1 cancer-testis antigens in serous ovarian neoplasms. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 6453-6460.
24. Bolli M., Kocher T., Adamina M. i wsp.: Tissue microarray evaluation of Melanoma antigen E (MAGE) tumor-associated antigen expression: potential indications for specific immunotherapy and prognostic relevance in squamous cell lung carcinoma. *Ann. Surg.* 2002; 236: 785-793.
25. Napoletano C., Bellati F., Tarquini E. i wsp.: MAGE-A and NY-ESO-1 expression in cervical cancer: prognostic factors and effects of chemotherapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2008; 198: 99.e1-e7.
26. van der Bruggen P., Traversari C., Chomez P. i wsp.: A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991; 254: 1643-1647.
27. Korangy F., Ormandy L.A., Bleck J.S. i wsp.: Spontaneous tumor-specific humoral and cellular immune responses to NY-ESO-1 in hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 4332-4341.

**Jubileusz 60-lecia Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie,  
Oddział w Krakowie  
Kraków, 2–3 czerwca 2011 r.**



Krakowskie Centrum Onkologii zaprasza na konferencję naukową połączoną z uroczystościami rocznicowymi Jubileuszu 60-lecia Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie.

**Program:**

- **konferencja naukowa** – czwartek, 2 czerwca (Pałac Larischa, ul. Bracka 12)
- **uroczystości Jubileuszu** 60-lecia krakowskiego oddziału Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie – piątek, 3 czerwca (Sala Obrad Rady Miasta Krakowa, Pl. Wszystkich Świętych 3–4)
- **uroczyste spotkanie** Gości i Pracowników – piątek, 3 czerwca (Ogrody Muzeum Archeologicznego, ul. Poselska)

Komitet Organizacyjny zaprasza wszystkich Przyjaciół krakowskiej onkologii do udziału w spotkaniach.

Wszelkie informacje dostępne są w Internecie, pod adresem:

**[www.onkologia.krakow.pl/60lat](http://www.onkologia.krakow.pl/60lat)**

