

## Rola systemu aktywacji plazminogenu w biologii nowotworów

Elżbieta Jakubiszyn<sup>1</sup>, Piotr Dziegieł<sup>1, 2</sup>, Maciej Zabel<sup>2</sup>

*System aktywacji plazminogenu wydaje się odgrywać kluczową rolę w inwazji i przerzutowaniu. Aby guz nowotworowy stał się inwazyjny konieczne jest przekroczenie bariery błony podstawnej, a następnie macierzy pozakomórkowej. Jest to możliwe poprzez degradację białek, którą katalizuje system aktywacji plazminogenu. Uważa się, że aktywatory plazminogenu uwolnione z komórek nowotworowych katalizują proteolityczną konwersję nieaktywnego plazminogenu do aktywnej proteiny plazminy. Ta katalizuje następnie degradację białek błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej i tym samym ułatwia inwazję komórek nowotworowych do otaczających tkanek.*

*W artykule omówiono strukturę składników systemu aktywacji plazminogenu i ich rolę w adhezji i migracji komórek nowotworowych. Przedstawiono także wyniki badań oceniających wpływ ekspresji poszczególnych składników systemu na rokowanie w niektórych nowotworach u człowieka.*

### The role of plasminogen activation system in cancer biology

*The plasminogen activation system seems to play an important role in tumor invasion and metastasis. For a tumor to become invasive and ultimately metastasize, tumor cells must cross basement membrane boundaries and degradate the extracellular matrix. This is possible because the plasminogen activator system catalyzes proteins degradation. It has been assumed that plasminogen activators released from cancer cells catalyze the proteolytic conversion of the inactive zymogen plasminogen to the active proteinase plasmin, which in turn catalyzes degradation of proteins in basement membranes and extracellular matrix (ECM) and thus facilitates cancer cell invasion of the surrounding tissue.*

*In our work the structures of the plasminogen activation system's elements and theirs role in migration of cancer cells are described. Also the results of studies assessing the level of expression of particular components and its correlation with prognosis in some human cancers are discussed.*

**Słowa kluczowe:** system aktywacji plazminogenu, inwazja, przerzuty, czynniki prognostyczne

**Key words:** plasminogen activation system, cell invasion, metastasis, prognostic factors

### Elementy systemu aktywacji plazminogenu

System aktywacji plazminogenu wydaje się odgrywać ważną rolę w inwazji i przerzutowaniu komórek nowotworowych poprzez katalizowanie degradacji białek błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej. Uważa się również, że uczestniczy on w innych procesach związanych z nowotworową przebudową tkanek, które mimo, że dotyczą komórek nienowotworowych, mają silny wpływ na wzrost guza i jego inwazję (angiogeneza, desmoplazja). W skład systemu aktywacji plazminogenu wchodzi:

- plazminogen
- plazmina
- 2 typy aktywatorów plazminogenu: typ urokinazy (uPA) i typ tkankowy (tPA)
- receptor uPA (uPAR)

- 2 główne inhibitory aktywatorów plazminogenu: PAI-1 i PAI-2.

Plazminogen jest jednołańcuchowym białkiem, proenzymem plazminy, o aktywności  $10^4$  do  $10^6$  mniejszej od plazminy [1].

Proenzym ten zostaje przekształcony do dwułańcuchowej struktury plazminy przez proteolityczne rozszczepienie pojedynczego wiązania peptydowego [2]. To rozszczepienie katalizuje uPA lub tPA. Plazminogen jest wszechobecnym białkiem produkowanym głównie w wątrobie, ale również w jądrach i komórkach naskórka. Receptory plazminogenu znajdują się na powierzchni różnych typów komórek, w tym monocytów krwi, granulocytów, limfocytów i komórek śródłonka [3].

Plazmina, proteaza serynowa, składa się z 2 łańcuchów polipeptydowych. Związana z powierzchnią komórki katalizuje rozpad wielu znanych substancji międzykomórkowych i cząsteczek błony podstawnej, takich jak fi-

<sup>1</sup> Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu

<sup>2</sup> Zakład Histologii AM we Wrocławiu

bronektyna, laminina, witronektyna, fibryna i kolagen. Plazmina katalizuje również aktywację nieczynnej formy czynnika wzrostu TGF- $\beta$  (*transforming grow factor- $\beta$* ) i uwalnia bFGF (*basic fibroblast grow factor*) z miejsc jego związania z macierzą pozakomórkową [3].

Angiostatyna, uważana za inhibitor angiogenezy, jest fragmentem plazminy [1].

Aktywator plazminogenu typu urokinazy (uPA) jest proteazą serynową wytwarzaną jako jednołańcuchowe białko (pro-uPA) [2]. uPA wytwarzany jest w nerkach [1, 4, 5]. Wydzielany pro-uPA łączy się z uPAR (specyficzny receptor dla uPA), a następnie zostaje aktywowany przez plazminę do uPA, który z kolei przekształca plazminogen do plazminy. Aktywność uPA jest kontrolowana przez PAI (specyficzny inhibitor) i internalizację. Ponadto uPA bezpośrednio katalizuje konwersję nieaktywnej jednołańcuchowej formy czynnika wzrostu hepatocytów (HGF) i białka stymulującego makrofagi (MSP) do ich aktywnych form dwułańcuchowych. HGF i MSP mają sekwencję podobną do plazminy, ale są pozbawione aktywności proteolitycznej.

Aktywator plazminogenu typu tkankowego (tPA) jest białkiem wydzielanym przez komórki jako jednołańcuchowy prekursor. Plazmina przekształca prekursor przez rozszczepienie wiązania peptydowego do aktywnej dwułańcuchowej formy [1].

Obecność specyficznych receptorów dla tPA stwierdzono w hepatocytach, mózgu, śródbłonku [6]. tPA ma wysokie powinowactwo do fibryny i jest aktywowany przez jej przyłączenie. Może to świadczyć o tym, że główna biologiczna rola tPA wiąże się z fibrynolizą. tPA jest wytwarzany przez śródbłonek naczyń i uwalniany do krwi [1,3].

uPAR (receptor uPA) jest białkiem zakotwiczonym w błonie komórkowej, mającym zdolność wiązania uPA. Może też przyłączać integryny (białka związane z błoną komórkową) oraz witronektynę (białko macierzy pozakomórkowej), które odgrywają rolę w migracji i adhezji komórek [2, 3].

**Inhibitory aktywatorów plazminogenu**  
Inhibitory aktywatorów plazminogenu (PAI) należą do rodziny inhibitorów proteazy serynowej (SERPIN) [1]. Wyróżniamy dwa inhibitory: PAI-1 i PAI-2.

PAI-1 jest jednołańcuchową glikoproteiną wydzielaną przez wiele typów komórek (m.in. płytki krwi, komórki śródbłonka, komórki guza). Oprócz roli bezpośredniej inaktywacji aktywatorów plazminogenu (reaguje zarówno z uPA jak i tPA) PAI-1 związany w macierzy pozakomórkowej moduluje okołokomórkową proteolizę, wywołaną przez związany z receptorem uPA. PAI-1 jest też związany z regulacją adhezji i migracji komórkowej [1,3].

PAI-2 jest jednołańcuchowym białkiem wytwarzanym m.in. przez monocyty, komórki trofoblastu, komórki guza. W dużej ilości obecny jest w osoczu kobiet ciężarnych. Jego właściwości hamujące są 15 razy mniejsze niż PAI-1. Ogólnie PAI-2 określa się jako inhibitor pozako-

mórkowego uPA. Jednakże większość nowo syntezowanego PAI-2 pozostaje wewnątrzkomórkowo. Postuluje się wewnątrzkomórkową rolę PAI-2 na podstawie obserwacji, że cytoplazmatyczna ekspresja PAI-2 chroni komórki przed apoptozą, w której pośredniczy TNF- $\alpha$ . PAI-2 występuje w dwóch formach: wydzielniczej i cytozolowej. Forma wydzielnicza uczestniczy w kontroli przebudowy tkankowej i w fibrynolizie. Forma cytozolowa gra ważną rolę w wewnątrzkomórkowej proteolizie w takich procesach jak apoptoza i zapalenie [3].

### Fizjologiczna rola systemu aktywacji plazminogenu

Być może jedyną istotną fizjologiczną funkcją systemu aktywacji plazminogenu jest fibrynoliza. Stwierdzono, że u myszy pozbawionych genów dla plazminogenu oraz u myszy pozbawionych genów dla uPA i tPA powstają rozsiane złogi fibryny wewnątrz- i pozanaczyniowo, powodując rozległe uszkodzenia narządów, niską masę ciała i krótki czas życia [1, 3].

Zaobserwowano również, że system odgrywa istotną rolę w stymulacji chemotaksji różnych typów komórek, np. leukocytów, neutrofilów, makrofagów do miejsca infekcji oraz w stymulacji proliferacji naskórka [3, 7].

System aktywacji plazminogenu uczestniczy również w innych fizjologicznych procesach, w których dochodzi do przebudowy tkanek np.: rozerwanie pęcherzyka podczas owulacji i implantacja blastocysty, inwolucja gruczołu piersiowego po laktacji, inwolucja sterca po kastracji, gojenie ran [3]. Procesy te są w pewnym sensie podobne do inwazji nowotworowej, gdyż wiążą się z destrukcją błony podstawnej (Ryc. 1).

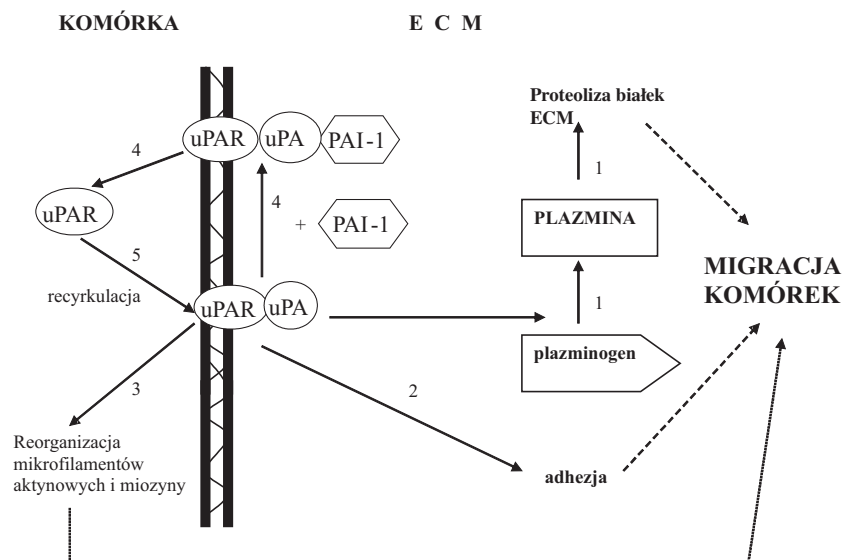
### Rola systemu aktywacji plazminogenu we wroście guza, inwazji i tworzeniu przerzutów

Obecność elementów systemu aktywacji plazminogenu w komórkach raka sugeruje ich funkcję w migracji i inwazji komórek nowotworowych.

Aktywatory plazminogenu uwolnione z komórek nowotworowych katalizują proteolityczną konwersję nieaktywnego plazminogenu do aktywnej proteiny plazminy, która następnie katalizuje degradację białek błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej (ECM) i tym samym ułatwia inwazję komórek nowotworowych do otaczających tkanek.

Kompleks uPA-uPAR może aktywować wewnątrzkomórkową kaskadę przenoszenia sygnałów, bez wytwarzania plazminy. Proces ten zostaje zainicjowany przez przyłączenie uPA do uPAR, co aktywuje kaskadę kinaz i czynniki transkrypcyjne, które z kolei poprzez aktywację syntezy odpowiednich białek mogą wpływać na strukturę cytoszkieletu, adhezję komórek i ich migrację [1, 3, 8, 9].

Obecność składników systemu aktywacji plazminogenu w fibroblastach podścieliska sugeruje ich rolę w desmoplazji, czyli stymulacji proliferacji fibroblastów i syntezy białek ECM i przebudowie podścieliska, a ich obecność



**Ryc. 1.** Przyłączenie pro-uPA do jego receptora uPAR powoduje aktywację pro-uPA do uPA. Kompleks uPA-uPAR powoduje (1) przejście plazminogenu w aktywną plazminę, która proteolizuje białka ECM; (2) moduluje funkcję cząsteczek odpowiedzialnych za adhezję komórek, umożliwiając im wiązanie się z niektórymi składnikami ECM; (3) aktywuje procesy wewnątrzkomórkowe mające wpływ na reorganizację mikrofilamentów aktywnych i miozyny. Wszystkie te trzy procesy umożliwiają migrację komórek. W przypadku komórek nowotworowych prowadzi to do naciekania podścieliska i umożliwia przerzutowanie. Przyłączenie PAI-1 do kompleksu uPA-uPAR powoduje inaktywację kompleksu i prowadzi do jego internalizacji (4). Cząsteczka uPAR może podlegać recyrkulacji i powracać do błony komórkowej (5)

**Figure 1.** Binding of pro-uPA to its receptor, uPAR, results in activation of pro-uPA to uPA. The uPA-uPAR complex induces (1) transformation of plasminogen into active plasmin, which causes proteolysis of ECM proteins; (2) modulates function of molecules responsible for cell adhesion, permitting them to bind to selected components of ECM; (3) activates intracellular processes which affect rearrangement of actin and myosin microfilaments. All the three processes make cell migration possible. In cases of tumour cells this leads to infiltration of the sublayer and allows for development of metastases. Binding of PAI-1 to the uPA-uPAR complex results in inactivation of the complex and leads to its internalization (4). uPAR molecule may undergo recycling and may return to cell membrane (5)

w komórkach śródbłonna – rolę w angiogenezie [1, 3, 4, 10].

### **Ekspresja elementów systemu aktywacji plazminogenu w guzie nowotworowym a rokowanie**

Ekspresja uPA, PAI-1 i uPAR w nowotworach złośliwych u człowieka jest znacząco wyższa niż w odpowiadających im tkankach prawidłowych [8, 9, 20], jednak ich ekspresja w określonym typie guza różni się znacząco u poszczególnych pacjentów.

U chorych z wysoką ekspresją uPA w komórkach guza stwierdzono krótszy czas wolny od wznowy i krótszy całkowity czas przeżycia w porównaniu z chorymi, u których ta ekspresja była niska. Niekorzystna rokowniczo wydaje się być również wysoka ekspresja PAI-1 i uPAR [1, 11]. Odwrotnie, ekspresja tPA korelowała z dobrym rokowaniem.

Wysoki poziom ekspresji uPA obserwowano zarówno w ludzkich guzach, jak i liniach komórkowych z raków pęcherza, piersi [8], płuca [12], stercza [13], jelita grubego [15-17] i jajnika [18, 19] oraz w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi [14, 20].

Badania immunohistochemiczne i metodą hybrydyzacji *in situ* tkanki raka piersi wykazały, że uPA, uPAR, PAI-1 i PAI-2 wykazują ekspresję zarówno w komórkach guza, jak i komórkach gospodarza, np. w fibroblastach, komórkach śródbłonna, mięśni gładkich, myoepithelialnych, komórkach nabłonka i fagocytach [8, 21].

Pedersen i wsp. [22, 23] analizowali materiał pochodzący od 342 chorych na raka piersi, badając całkowitą ilość uPA, PAI-1 i kompleksu uPA-PAI-1 w guzie, używając testu ELISA. Średni czas obserwacji chorych wyniósł 67 miesięcy. Stwierdzono, że poziom kompleksu uPA-PAI-1 był istotnie wyższy u chorych z ujemnymi węzłami chłonnymi, niż z węzłami pozytywnymi ( $p < 0,0001$ ) oraz był wyższy w guzach małych ( $p < 0,0001$ ) i w tych o niskim stopniu anaplazji ( $p = 0,002$ ) (zakres wartości 0,22-5,3 ng/mg białka; mediana 0,75 ng/mg białka). Odwrotnie, całkowity poziom uPA i PAI-1 były wyższe w guzach dużych, o wysokim stopniu anaplazji, podczas gdy nie stwierdzono znaczącego związku między stanem węzłów chłonnych a poziomem uPA i PAI-1. Całkowity poziom uPA w guzie znacząco wpływał na czas wolny od wznowy i całkowity czas przeżycia; wyższy poziom ( $> 5,2$  ng/mg białka) związany był z krótszym przeżyciem. Wyższy poziom PAI-1 ( $> 2,3$  ng/mg białka) był czynnikiem predykcji

nym krótszego czasu wolnego od wznowy i całkowitego czasu przeżycia ( $p < 0,0001$  dla obu). Odwrotnie, wyższy poziom kompleksu uPA-PAI-1 ( $> 1,34$  ng/mg białka) oznaczał dłuższy czas wolny od wznowy i dłuższy całkowity czas przeżycia. W wieloczynnikowej analizie Coxa, która objęła również klasyczne czynniki prognostyczne, jedyne niezależnymi i znaczącymi czynnikami predykcyjnymi dla przeżycia okazały się całkowity poziom PAI-1 i stan węzłów chłonnych dla czasu przeżycia wolnego od wznowy i całkowitego czasu przeżycia oraz stan receptorów steroidowych dla całkowitego czasu przeżycia. Wysoki poziom PAI-1 był silnie związany zarówno z krótkim czasem wolnym od wznowy, jak i krótkim przeżyciem całkowitym. Silne znaczenie prognostyczne PAI-1 zostało też potwierdzone w podgrupie chorych z ujemnymi węzłami chłonnymi. Obserwacja taka może mieć związek z hipotezą o ochronnej roli, jaką pełni PAI-1 w stosunku do nowotworzonych naczyń, co ma główne znaczenie dla dalszej ekspansji guza. W przeciwieństwie do poziomu PAI-1 i uPA, wysoki poziom kompleksu uPA-PAI-1 ( $> 1,34$  ng/mg białka) związany był z korzystną prognozą. Te obserwacje są spójne z hipotezą, że regulacja aktywności uPA poprzez tworzenie kompleksów z PAI-1 w guzie może ograniczać zdolność guza do inwazji i przerzutowania [22].

Odmienne wyniki uzyskali jednak Manders i wsp. [24], którzy zbadali ekspresję kompleksu uPA-PAI-1 (zakres wartości: 0,00-2,14 ng/mg białka; mediana 0,046 ng/mg białka) u 576 pacjentek z rakiem piersi i ujemnymi węzłami chłonnymi nie poddanych uzupełniającemu leczeniu systemowemu. Stwierdzono, że wyższa ekspresja kompleksu uPA-PAI-1 korelowała z krótszym przeżyciem w analizie wieloczynnikowej.

Foekens i wsp. [21] włączyli do badania 2780 chorych z pierwotnym inwazyjnym rakiem piersi. Średni czas obserwacji wyniósł 88 miesięcy. Zbadano poziom uPA, uPAR, PAI-1 i PAI-2 w guzach piersi i ich związek z czasem wolnym od wznowy i całkowitym czasem przeżycia. Poziom antygenów określany był za pomocą testu ELISA w cytozolu pozostałym po oznaczaniu receptorów steroidowych tkanek pierwotnego operacyjnego raka piersi. W badaniu wykazano, że wysoka ekspresja uPA ( $> 1,21$  ng/mg białka), uPAR ( $> 1,13$  ng/mg białka) i PAI-1 ( $> 45,28$  ng/mg białka) w guzie związana była ze złą prognozą odnośnie czasu wolnego od wznowy i całkowitego czasu przeżycia; natomiast ekspresja PAI-2 ( $> 4,05$  ng/mg białka) była czynnikiem korzystnym prognostycznie. PAI-1 wydaje się być drugim, po stanie węzłów chłonnych, najsilniejszym czynnikiem prognostycznym, ważniejszym od tak uznanych czynników, jak np. wielkość guza. Natomiast ekspresja PAI-2 nie okazała się mieć związku z prognozą w analizie wieloczynnikowej. Ekspresja wszystkich 4 parametrów była wyższa w guzach ER- i PgR-ujemnych w porównaniu z guzami z pozytywnymi receptorami hormonalnymi (ujemna korelacja z ER i PgR) [21].

Dublin i wsp. [25] zbadali immunohistochemicznie 3 składniki systemu aktywacji plazminogenu: uPA, uPAR i PAI-1 w 142 przypadkach raka piersi. Średni czas obserwacji chorych wynosił 6,5 roku. Badano ekspresję tych

białek zarówno w komórkach guza, jak i fibroblastach podścieliska. Ekspresję oceniano jako: silną (intensywne barwienie się komórek widoczne pod małym powiększeniem w mikroskopie), słabą (widoczne barwienie się niektórych komórek pod dużym powiększeniem) oraz brak ekspresji (gdy nie stwierdzano barwienia się komórek). Silna ekspresja uPA w każdym typie komórek była znacząco związana z wysokim stopniem złośliwości guza (odpowiednio  $p = 0,013$  i  $0,008$ ) i była częstsza w rakach inwazyjnych niż w *in situ* (78% versus 28%) ( $p < 0,0001$ ). Nie stwierdzono różnicy znamiennej statystycznie w ekspresji uPA dla 2 typów raków inwazyjnych (przewodowy i zrakowy) ani w komórkach guza, ani w fibroblastach. Ekspresja uPAR w komórkach guza i w fibroblastach nie była związana ani ze stopniem złośliwości guza, ani z jego typem. Nie było znaczącej różnicy w ekspresji uPAR między komórkami guza w raku inwazyjnym i *in situ*. Ekspresja uPAR w fibroblastach była zależna tylko od obecności inwazji ( $p < 0,0001$ ). Silna ekspresja PAI-1 w obu typach komórek widoczna była w guzach o dużej złośliwości (komórki guza 57%,  $p = 0,012$ ; fibroblasty 27%,  $p < 0,001$ ). Ekspresja w fibroblastach uPA i uPAR była pozytywnie związana z wielkością guza. Nie stwierdzono żadnej korelacji między badanymi białkami a stanem węzłów chłonnych. Wyniki tego badania sugerują, że silna ekspresja uPA, uPAR i PAI-1 w fibroblastach ma większy wpływ na kliniczne zachowanie raka piersi niż ich ekspresja w komórkach guza [25].

Dotychczasowe badania wykazały więc, że podwyższony poziom uPA, uPAR i PAI-1 jest związany z agresywnym zachowaniem guzów piersi i złym rokowaniem. Jednakże nie jest jasne czy poziom tych białek w podścielisku, czy też w samych komórkach raka, ma większy wpływ na rokowanie.

Wartość prognostyczna uPA i PAI-1 w raku piersi badana była w prospektywnym wielośrodkowym badaniu randomizowanym, które objęło 556 chorych na raka piersi z ujemnymi węzłami chłonnymi [26, 27]. W badaniu tym, chore z niską ekspresją uPA ( $< 3$  ng/mg białka) i PAI-1 ( $< 14$  ng/mg białka) były poddane obserwacji i nie otrzymały adiuwantowej chemioterapii. Natomiast chore z wysoką ekspresją uPA ( $> 3$  ng/mg białka) i /lub PAI-1 ( $> 14$  ng/mg białka) były randomizowane do grupy, która otrzymała chemioterapię (CMF) lub do grupy poddanej obserwacji. Po 32 miesiącach obserwacji, u pacjentek z niską ekspresją uPA/PAI-1 stwierdzono 2,83 razy niższe ryzyko rozwoju wznowy choroby, niż u chorych z wysoką ekspresją obu białek. W związku z tym chore z niską ekspresją uPA/PAI-1 stanowią podgrupę chorych, które mogłyby nie otrzymać, stosowanej obecnie standardowo, uzupełniającej chemioterapii.

Podobne wyniki uzyskano w przeprowadzonej przez EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) analizie obejmującej 8 377 chorych na raka piersi z 18 różnych ośrodków klinicznych. uPA i PAI-1 stanowią najsilniejszy czynnik prognostyczny u chorych z ujemnymi węzłami chłonnymi [26, 28, 29].

Corte i wsp. [30] zbadali natomiast ekspresję tPA w cytoplazmie komórek guza u 800 chorych na raka pier-

si. Stwierdzono, że ekspresja tPA była znacząco niższa w guzach dużych, nisko zróżnicowanych, z ujemnymi receptorami ER i PgR. Niska ekspresja tPA (<4 ng/mg białka) związana była ze skróceniem czasu wolnego od wznowy i całkowitego czasu przeżycia ale tylko w podgrupie chorych z ujemnymi węzłami chłonnymi.

Guyton i wsp [31] oznaczyli immunohistochemicznie ekspresję uPA i uPAR w 10 preparatach z prawidłowej tkanki piersi, 10 z hyperplazją przewodową i w preparatach od 70 chorych z DCIS (rak przewodowy *in situ*). Stopień nasilenia ekspresji oceniano na podstawie intensywności reakcji barwnej przy użyciu komputerowej analizy obrazu. Obecność uPA i uPAR w elementach przewodowych zdrowego gruczołu piersiowego potwierdziło barwienie preparatów ze zdrowej tkanki. Jednak ich ekspresja była niska, podobnie jak ekspresja obu tych elementów systemu aktywacji plazminogenu w tkankach z hyperplazją przewodową. Natomiast tkanki DCIS wykazały heterogenność w ekspresji uPA i uPAR. Stwierdzono, że wysoka ekspresja uPAR korelowała z większą częstością wznów w porównaniu z chorymi, u których stwierdzono wysoką ekspresję uPA (54% *versus* 32%). Wyniki pozwoliły autorom na oszacowanie względnego ryzyka powstania wznowy, sugerując że chore z wysoką ekspresją uPAR mają ponad 2 razy większe prawdopodobieństwo nawrotu choroby. Chore z comedo DCIS i z wysoką ekspresją uPAR mają 3 razy większe prawdopodobieństwo rozwoju wznowy. Autorzy badania wysnuli wniosek, że immunohistochemiczne badanie ekspresji uPAR w DCIS, samodzielnie lub w połączeniu z uPA, może stanowić nowy prognostyczny wskaźnik wznowy raka piersi, gdyż znacząco koreluje z nawrotem choroby [31].

Składniki systemu aktywacji plazminogenu mogą mieć w raku piersi nie tylko wartość prognostyczną, ale i predykcyjną, czyli określać zdolność odpowiedzi na określone leczenie. Foekens i wsp. [26, 32] w badaniu obejmującym 235 pacjentek ze wznową raka piersi wykazali, że kobiety z niską ekspresją uPA w komórkach guza, lepiej odpowiadają na leczenie tamoxifenem niż chore z wysoką ekspresją. Wartość predykcyjna uPA była niezależna od stanu receptorów estrogenowych i progesteronowych. Oporność na leczenie hormonalne I rzutu stwierdzono również u chorych z zaawansowanym rakiem piersi i wysokim poziomem uPAR, PAI-1 i kompleksu uPA-PAI-1 [33, 34]. Natomiast wysoka ekspresja uPA i PAI-1 korelowała z lepszą odpowiedzią na chemioterapię [11, 26, 28, 35, 36].

Romer i wsp. [37] metodą hybrydyzacji *in situ* zbadali ekspresję uPA i jego receptora w histologicznych preparatach raka płaskonabłonkowego i podstawnocomórkowego skóry. mRNA, zarówno dla uPA, jak i uPAR, występował we wszystkich przypadkach raka płaskonabłonkowego, ale nie został wykryty w komórkach raka podstawnocomórkowego. Rak płaskonabłonkowy skóry jest z reguły dobrze zróżnicowanym nowotworem, z inwazyjnym naciekającym wzrostem i dużą zdolnością do dawania przerzutów. Rak podstawnocomórkowy skóry wykazuje tendencję do drążącego wzrostu, ale bez dawania przerzutów. Ta różnica w agresywności obu nowotworów

może mieć związek ze zdolnością komórek raka płaskonabłonkowego do wywoływania pozakomórkowej proteolizy przez aktywację plazminogenu poprzez uPA [37].

W literaturze znaleźć można też doniesienia na temat zwiększonej ekspresji uPA w rakach gruczołowych jelita grubego. Podczas gdy zdrowa tkanka jelita wykazuje niską aktywność uPA (mediana 0,1 ng/mg białka) i wysoką tPA (mediana 6,8 ng/mg białka), guzy jelita grubego wykazują wysoką aktywność uPA (mediana 1,6 ng/mg białka) i niską tPA (mediana 3,4 ng/mg białka) [15]. Rodzaj komórek wytwarzających uPA w rakach jelita grubego jest kontrowersyjny. Kilka badań z użyciem technik immunohistochemicznych sugerowało, że za produkcję uPA odpowiedzialne są komórki podścieliska guza. Jednak badanie kontrolowane z użyciem 3 różnych przeciwciał wykazało, że uPA jest wytwarzane przez nowotworowe komórki nabłonkowe. Potwierdziły to badania metodą hybrydyzacji *in situ* [16, 17].

Podwyższony poziom uPA wydaje się być negatywnym czynnikiem rokowniczym w rakach jelita grubego. Herszenyi [38] wykazał 62% 5-letnie przeżycie u chorych z poziomem uPA w guzie <2,77 ng/mg w porównaniu z 25% 5-letnim przeżyciem u chorych z poziomem uPA >2,77 ng/mg (p=0,006). Suzuki [39] wykazał, że ekspresja uPAR zwiększa się w czasie przemiany z gruczolaka do inwazyjnego raka jelita grubego. Ekspresja uPAR została stwierdzona w 30% gruczolaków i 85% raków przy użyciu hybrydyzacji *in situ*. Ekspresja uPAR była też znacząco wyższa w stopniu B i C wg Dukes 'a w porównaniu ze stopniem Dukes A. Wyniki te sugerują rolę uPAR w progresji normalnego nabłonka jelita grubego w kierunku raka. Również ekspresja PAI-1 i PAI-2 zwiększa się przy transformacji normalnego nabłonka jelitowego. Sier [40] wykazał 10-krotny wzrost ekspresji PAI-1 i 2-do3-krotny PAI-2 między normalnym nabłonkiem jelita a rakiem jelita grubego. Kilka badań wykazało też wyższą ekspresję PAI-1, ale nie PAI-2, związaną z większymi guzami i gorszą prognozą u chorych na raka jelita grubego. Herszenyi [38] stwierdził, że u pacjentów z poziomem PAI-1 <3,10 ng/mg 3-letnie przeżycie wyniosło 75% w porównaniu z 12% u chorych z poziomem PAI-1 >3,10 ng/mg (p=0,006) [16].

## Podsumowanie

Hipoteza, że system aktywacji plazminogenu odgrywa ważną rolę w inwazji guza nowotworowego i tworzeniu przerzutów, znalazła potwierdzenie w wielu badaniach. Obecnie uważa się, że system działa w sposób znacznie bardziej skomplikowany niż pierwotnie zakładano. Wyniki badań sugerują, że oprócz funkcji zależnych od plazminy (tj. degradacji białek błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej, co ułatwia inwazję komórek nowotworowych do otaczających tkanek) system pełni też funkcje niezależne od plazminy. Do funkcji tych należą m.in.: inicjowanie przez połączenie uPA z uPAR kaskady wewnątrzkomórkowego przenoszenia sygnałów oraz działanie uPAR jako receptora witronektyny i regulatora funkcji integryn.

System aktywacji plazminogenu uczestniczy też w przebudowie tkanek otaczających guz nowotworowy. Przykładami takich procesów są angiogeneza i desmoplazja, które mimo że obejmują migrację i inwazję komórek nienowotworowych, mają istotny wpływ na wzrost guza i jego inwazję.

Jak wskazuje wiele badań, ekspresja niektórych składników systemu aktywacji plazminogenu może być czynnikiem prognostycznym w różnych typach nowotworów. Świadomość tego faktu może okazać się pomocna w określeniu wskazań do leczenia uzupełniającego oraz wyłonieniu chorych kwalifikujących się do ewentualnej terapii celowanej. Jednak niezbędne są dalsze badania w celu określenia związku systemu aktywacji plazminogenu z biologią nowotworów oraz oszacowania klinicznych korzyści wynikających z oznaczania ekspresji poszczególnych jego składników.

**Lek. Elżbieta Jakubiszyn**

53-644 Wrocław, ul. Zachodnia 14/9

e-mail: elzbieta.jak@wp.pl

## Piśmiennictwo

- Andreasen PA, Egelund R, Petersen HH. The plasminogen activation system in tumor growth, invasion, and metastasis. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 25-40.
- Blasi F, Vassalli JD, Dano K. Urokinase-type plasminogen activator: proenzyme, receptor, and inhibitor. *J Cell Biol* 1987; 104: 801-4.
- Irigoyen JP, Munoz-Canoves P, Montero L i wsp. The plasminogen activator system: biology and regulation. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56: 104-32.
- Blasi F. uPA, uPAR, PAI-1: key intersection of proteolytic, adhesive and chemotactic highways? *Immunol Today* 1997; 18: 415-17.
- Hildenbrand R, Leitz M, Magdolen V i wsp. Validation of immunolocalization of the urokinase receptor expression in ductal carcinoma in situ of the breast: comparison with detection by non-isotopic in-situ hybridization. *Histopathology* 2000; 36: 499-504.
- Hildenbrand R, Glienke W, Magdolen V i wsp. Urokinase receptor localization in breast cancer and benign lesions assessed by in situ hybridization and immunohistochemistry. *Histochem Cell Biol* 1998; 110: 27-32.
- Jensen P, Lavker RM. Urokinase is a positive regulator of epidermal proliferation in vivo. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 240-44.
- Chazaud B, Ricoux R, Christov C i wsp. Promigratory effect of plasminogen activator inhibitor-1 on invasive breast cancer cell populations. *Am J Pathol* 2002; 160: 237-46.
- Ghisso JAA, Alonso DF, Farrias EF i wsp. Deregulation of the signaling pathways controlling urokinase production. *Eur J Biochem* 1999; 263: 295-304.
- Deng A, Curriden SA, Wang S i wsp. Is plasminogen activator inhibitor-1 the molecular switch that governs urokinase receptor-mediated cell adhesion and release? *J Cell Biol* 1996; 134: 1563-71.
- Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *The Oncologist* 2004; 9: 606-16.
- He CH, He P, Liu LP i wsp. Analysis of expressions of components in the plasminogen activator system in high- and low-metastatic human lung cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 180-86.
- Gavrilov D, Kenzior O, Evans M i wsp. Expression of urokinase plasminogen activator and receptor in conjunction with the ets family and AP-1 complex transcription factors in high grade prostate cancers. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1033-40.
- Hundsdoerfer B, Zeilhofer HF, Bock KP i wsp. Comparison of urokinase-type plasminogen activators (uPA) and plasminogen activator inhibitors (PAI-1) in primary resection of oral squamous cell carcinoma. *Mund Kiefer Gesichtsschir* 2004; 8: 180-90.
- Baker EA, Leaper DJ. The plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in colorectal cancer: relationship to tumour pathology. *Eur J Cancer* 2003; 39: 981-88.
- Berger DH. Plasmin/Plasminogen System in Colorectal Cancer. *World J Surg* 2002; 26: 767-71.
- Harvey SR, Sait SNJ, Yan XU i wsp. Demonstration of urokinase expression in cancer cells of colon adenocarcinomas by immunohistochemistry and in situ hybridization. *AJP* 1999; 155: 1115-20.
- O'Toole S, McGuinness E, Sheppard B i wsp. Plasminogen activators and inhibitors in ovarian adenocarcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 1999; 9: 61-66.
- Tecimer C, Doering DL, Goldsmith LJ i wsp. Clinical relevance of urokinase-type plasminogen activator, its receptor and inhibitor type 1 in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10: 372-81.
- Strojan P, Budihna M, Smid L i wsp. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor Type 1 (PAI-1) in tissue and serum of head and neck squamous cell carcinoma patients. *Eur J Cancer* 1998; 34: 1193-97.
- Foekens JA, Peters HA, Look MP i wsp. The Urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients. *Cancer Res* 2000; 60: 636-43.
- Pedersen AN, Christensen IJ, Stephens RW i wsp. The Complex between urokinase and its Type-1 inhibitor in primary breast cancer: relation to survival. *Cancer Res* 2000; 60: 6927-34.
- Pedersen AN, Mouridsen HT, Tenney DY i wsp. Immunoassays of urokinase (uPA) and its type-1 inhibitor (PAI-1) in detergent extracts of breast cancer tissue. *Eur J Cancer* 2003; 39: 899-908.
- Manders P, Tjan-Heijnen VC, Span PN i wsp. Complex of urokinase-type plasminogen activator with its type 1 inhibitor predicts poor outcome in 576 patients with lymph node-negative breast carcinoma. *Cancer* 2004; 101: 486-94.
- Dublin E, Hanby A, Patel N K i wsp. Immunohistochemical expression of uPA, uPAR, and PAI-1 in breast carcinoma. *Am J Pathol* 2000; 157: 1219-27.
- Duffy MJ, Duggan C. The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tumour markers for the individualised management of patients with cancer. *Clinical Biochem* 2004; 37: 541-48.
- Janicke F i wsp. For the German Chemo N0 Study Group. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 913-20.
- Harbeck N, Kates RE, Gauger K i wsp. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor PAI-1: novel tumor-derived factors with a high prognostic and predictive impact in breast cancer. *Thromb Haemost* 2004; 91: 450-56.
- Look MP, van Putten WL, Duffy MJ i wsp. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 116-28.
- Corte MD, Verez P, Rodriguez JC i wsp. Tissue-type plasminogen activator (tPA) in breast cancer: relationship with clinicopathological parameters and prognostic significance. *BREA* 2005; 90: 33-40.
- Guyton DP, Evans DM, Sloan-Stakleff KD. Urokinase plasminogen activator receptor (uPAR): a potential indicator of invasion for in situ breast cancer. *The Breast Journal* 2000; 6: 130-36.
- Foekens JA, Look MP, Peters HA i wsp. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor PAI-1: predictors of poor response to tamoxifen therapy in recurrent breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 751-56.
- Manders P, Tjan-Heijnen VC, Span PN i wsp. The complex between urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its type-1 inhibitor independently predicts response to first-line endocrine therapy in advanced breast carcinoma. *Thromb Haemost* 2004; 91: 514-521.
- Meijer-Van Gelder ME, Peters HA, Look MP. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) system in advanced breast cancer: associations with response to tamoxifen therapy. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2003; 44: 751 abstract no 5377.
- Harbeck N, Kates RE, Look MP, Meijer-Van Gelder M, Klijn JGM, Kruger A. Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (N=3424). *Cancer Res* 2002; 62: 4617-22.
- Harbeck N, Kates RE, Schmitt M. Clinical relevance of invasion factors urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 for individualised therapy in primary breast cancer is greatest when used in combination. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1000-07.
- Romer J, Pyke CH, Lund LR i wsp. Cancer cell expression of urokinase-type plasminogen activator receptor mRNA in squamous cell carcinomas of the skin. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 353-58.

38. Herszenyi L, Plebani M, Carraro P. The role of cysteine and serineproteases in colorectal carcinoma. *Cancer* 1999; 86: 1135-42.
39. Suzuki S, Hayashi Y, Wang Y. Urokinase type plasminogen activator receptor expression in colorectal neoplasms. *Gut* 1998; 43: 798-805.
40. Sier CF, Verspaget HW, Griffioen G. Imbalance of plasminogen activators and their inhibitors in human colorectal neoplasia: implications of urokinase in colorectal carcinogenesis. *Gastroenterology* 1991; 101: 1522-28.

*Otrzymano: 23 listopada 2005 r.*

*Przyjęto do druku: 12 lutego 2006 r.*