

BIĄŁKA REGULUJĄCE PROCES ADHEZJI KOMÓRKOWEJ W NOWOTWORACH TARCZYCY*

PROTEINS REGULATING THE CELL ADHESION MECHANISM IN THYROID NEOPLASMS

Zuzanna GAJ, Anna LIPIŃSKA

Katedra Cytobiochemii, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie: Obecnie wiadomo, że nieprawidłowa adhezja komórkowa jest jednym z głównych mechanizmów odpowiedzialnych za progresję nowotworową. W większości raków tarczycy obserwuje się powstawanie przerzutów co może świadczyć o zaburzeniach tego procesu. W artykule opisano białka zaangażowane w regulację adhezji komórkowej w nowotworach tarczycy.

Słowa kluczowe: nowotwory tarczycy, kadheryny, kateniny, integryny, glikoproteina CD44, dysadheryna.

Summary: Now, it is known that aberrant cell adhesion is one of the main mechanism involved in tumor progression. Formation of metastases in majority of thyroid carcinomas evidenced the disturbance in this process. In this review, the proteins playing role in regulation of cell adhesion in thyroid neoplasms are described.

Key words: thyroid tumors, cadherins, catenins, integrins, glycoprotein CD44, dysadherin.

Wykaz stosowanych skrótów: **APC** (*adenomatous polyposis coli*) – produkt genu brodawczakowatości jelita grubego; **CAM** (*cell adhesion molecule*) – cząsteczka odpowiedzialna za adhezję komórek (=kadheryna); **CD44** (*cluster of differentiation*) – antygenowy kompleks różnicowania; **cdc42** (*cell division control/cycle*) – białko kontroli cyklu podziału komórkowego; **CDH** (*cadherin*) – kadheryna; **CK1** (*casein kinase 1*) – kinaza kazeinowa 1; **c-myc** (*myelocytomatosis*) – białko kodowane przez protoonkogen *myc* będący homologiem wirusowego onkogenu zidentyfikowanego w wirusie białaczki ptaków; **CpG** – odcinki DNA zawierające cytydynę i guanozynę; **CSF-1** (*colony stimulating factor 1*) – czynnik stymulujący wzrost kolonii; **EGF** (*epidermal growth factor*) – czynnik wzrostu naskórka; **ErbB2** (*erythroblastosis*) – protoonkogen *erbB* będący homologiem wirusowego onkogenu zidentyfikowanego w wirusie erytroblastozy ptaków; **FAK** (*focal adhesion kinase*) – kinaza FAK; **Grb-2** (*growth factor receptor bound protein 2*) – białko uczestniczące w transdukcji sygnału ze zaktywowanego receptora błonowego; **HGF** (*hepatocyte growth factor*) – czynnik wzrostu hepatocytów; **GSK-3β** (*glycogen synthase kinase*) – kinaza syntazy glikogenu; **HNF-4** (*hepatocyte nuclear factor 4*) – białko jądrowe

* Praca wykonana w ramach grantu 505/446/u Uniwersytetu Łódzkiego.

hepatocytów; **MAPK** (*mitogen-activated protein kinase*) – kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny; **MAPKK** (*mitogen-activated protein kinase kinase*) – kinaza kinazy białkowej aktywowanej przez mitogeny; **MDR1** (*multi-drug resistance gene 1*) – gen oporności wielolekowej; **MMP** (*matrix metalloproteinases*) – macierzowe metaloproteinazy; **PDGF** (*platelet derived growth factor*) – płytkowy czynnik wzrostu; **PI3K** (*phosphatidylinositol-3-kinase*) – kinaza fosfatydyloinozytolu; **PKC** (*protein kinase C*) – kinaza białkowa C; **Raf** – kinaza serynowo-treoninowa należąca do MAPKKK/MKKK; **Ras** (*rat sarcoma*) – małe białko G kodowane przez protoonkogen *ras* będący homologiem wirusowego onkogenu zidentyfikowanego w wirusie mięsaka myszy; **Rb** (*retinoblastoma*) – gen supresorowy warunkujący powstawanie siatkówczaka; **RTKs** (*receptor tyrosine kinases*) – receptorowe kinazy tyrozynowe; **SOS** (*son of sevenless protein*) – białko wymiany nukleotydów guaninowych GDP → GTP; **Src** (*sarcoma*) – protoonkogen *src* będący homologiem wirusowego onkogenu wirusa mięsaka Rousa; **Src** (*Src tyrosine kinase*) – niereceptorowa kinaza tyrozynowa Src; **TBP** (*TATA box binding protein*) – białko wiążące się z sekwencją TATA; **TGFα** (*transforming growth factor α*) – transformujący czynnik wzrostu α.

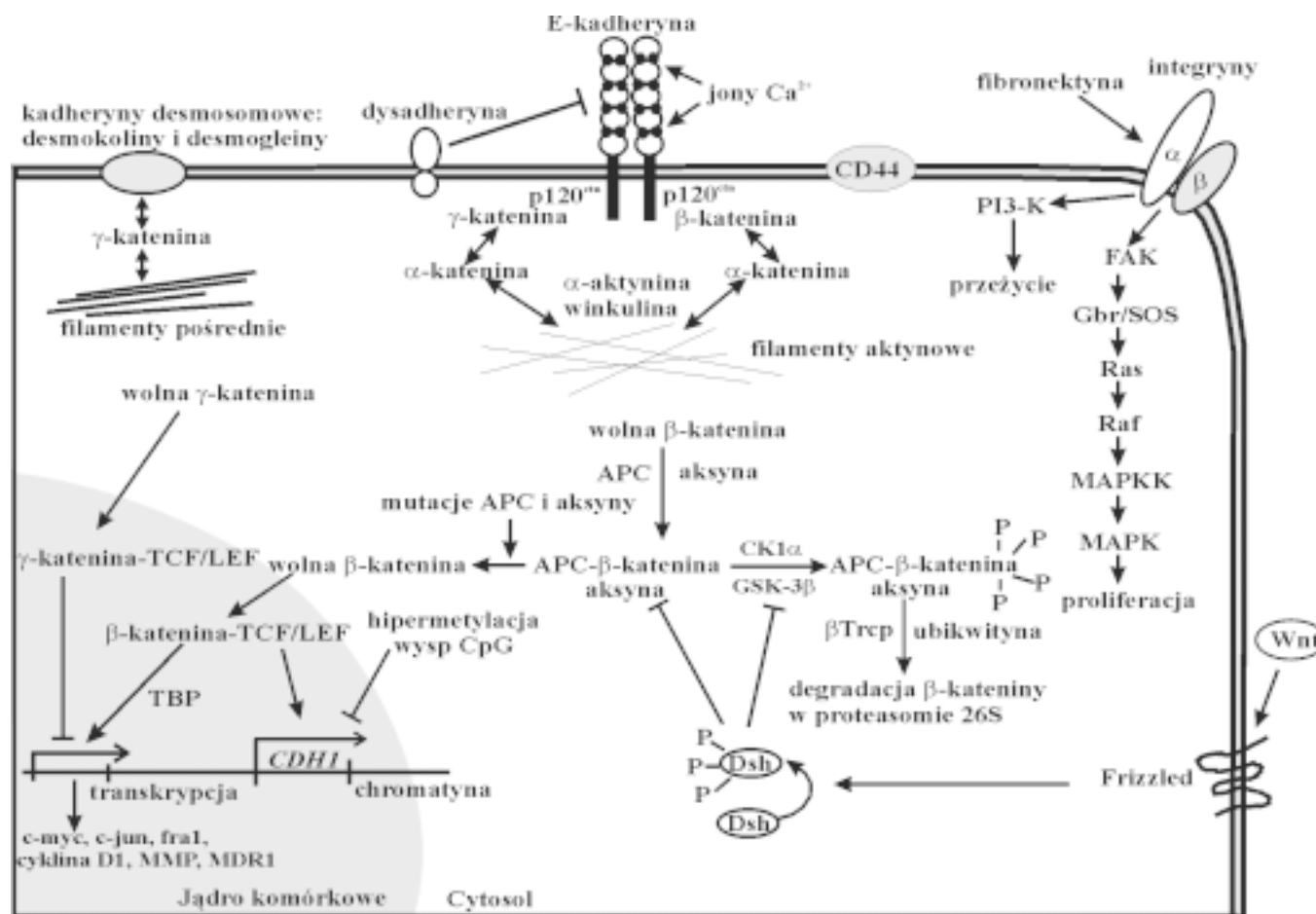
1. WSTĘP

Obecnie powszechnie wiadomo, że większość nowotworów człowieka (80–90%) pochodzi z tkanki nabłonkowej [30]. W prawidłowej tkance epitelialnej komórki są ciasno upakowane i dzięki procesowi adhezji są one połączone silnymi oddziaływaniami międzykomórkowymi. Pierwszym etapem progresji nowotworowej jest uzyskanie przez komórki nowotworowe zdolności do migracji z pierwotnego ogniska, co może nastąpić tylko wtedy, gdy proces adhezji ulegnie zaburzeniu. Przyczynia się to do zwiększonej proliferacji i migracji komórek nowotworowych, prowadząc do inwazji na otaczające tkanki i powstania przerzutów w węzłach chłonnych i innych narządach. W procesie transformacji nowotworowej zaangażowanych jest m.in. wiele białek regulujących proces adhezji. Podczas przejścia od prawidłowego do zmienionego nowotworowo tyreocytu ekspresja niektórych z tych białek jest hamowana, podczas gdy innych znacznie podwyższona [18].

W artykule omówiono główne białka regulujące proces adhezji, tj. kadheryny tworzące kompleks z rodziną cytoplazmatycznych białek zwanych kateninami, integryny, białka CD44 oraz niedawno odkryte białko – dysadherynę w nowotworach tarczycy na tle badań tych białek w innych nowotworach (ryc.1).

2. KADHERYNY

Zidentyfikowane ponad 20 lat temu kadheryny są uniwersalnymi glikoproteinami transbłonowymi. Niemniej poszczególne białka tej rodziny charakteryzują się wysoką specyficznością tkankową. Podzielono je na pięć grup, tj. kadheryny klasyczne typu I (E-, P-, M-, N-, i R-kadheryny) i II (m.in. VE-, K- i OB-kadheryny), kadheryny desmosomalne (desmogleiny i desmokoliny) oraz słabo poznane protokadheryny i tzw. kadheryny pozostałe [59, 61].



RYCINA. 1. Schemat przedstawiający główne białka zaangażowane w regulowanie procesu adhezji oraz ich udział w transdukcji sygnału, proliferacji i przeżywalności tyreocytów (na podstawie [6, 41, 47, 56, 59] zmodyfikowany) – opis w tekście

2.1. E-kadheryna

E-kadheryna jest najlepiej poznany przedstawicielem klasycznych kadheryn. Jest ona znana jako uwomorulina (ponieważ w rozwoju zarodkowym pojawia się w stadium moruli), jak również: CDH1, L-CAM, cell-CAM120/80, Arc-1 [59]. Białko to ulega ekspresji we wszystkich komórkach epitelialnych i oprócz uczestniczenia w zależnej od jonów Ca^{2+} adhezji, bierze udział w indukowaniu i utrzymywaniu polaryzacji i właściwego fenotypu tych komórek. E-kadheryna człowieka jest kodowana przez gen *CDH1* zlokalizowany na chromosomie 16q22.1 [6, 61]. Po obróbce potranslacyjnej polegającej na odcięciu peptydu sygnałowego i propeptydu z 135 kDa prekursora powstaje dojrzałe białko (m. cz. 120 kDa), które podlega fosforylacji i glikozylacji [59]. E-kadheryna składa się z konserwatywnej dla wszystkich klasycznych kadheryn domeny C-końcowej, krótkiego odcinka trans-błonowego i zewnątrzkomórkowej domeny aminoterminalnej, uczestniczącej w zależnej od jonów Ca^{2+} homofilowej adhezji międzykomórkowej. Domenę N-końcową stanowi pięć tandemowo ułożonych subdomen (C1–C5), pomiędzy którymi znajdują się miejsca wiążące jony wapnia. Subdomena C1 E-kadheryny (najbardziej zewnętrzna) zawiera sekwencję HAV (histydyna-alanina-walina), dzięki której powstają stabilne dimery, które wchodząc w interakcje z analogicznymi dimerami na sąsiednich komórkach tworzą strukturę przy-pominającą zamek błyskawiczny [6, 33, 37]. Domena C-końcowa odpowiada za wiązanie się E-kadheryny z wewnątrzkomórkowym kompleksem zawierającym α -, β -, i γ -katieniny, co umożliwia jej łączenie się z cytoszkieletem komórkowym [6, 22, 59]. Czwarta katenina – p120^{cas} wiąże się tylko z E-kadheryną i nie wchodzi w interakcje z pozostałymi kateninami [6].

Często obserwowana w wielu typach nowotworów człowieka utrata ekspresji E-kadheryny jest skorelowana z utratą epitelialnego fenotypu, wzrostem inwazyjności komórek nowotworowych i pogorszeniem prognozowania [56, 61]. Cerrato i wsp. [14] przy pomocy technik immunohistochemicznych wykazali obniżenie ekspresji E-kadheryny w 53,3% przypadków raka brodawkowatego i w 71,4% raka pęcherzykowego tarczycy. Stwierdzili także, że obniżenie ekspresji tego białka koreluje z występowaniem odległych przerzutów. Obniżenie ekspresji i przemieszczenie E-kadheryny do cytoplazmy wykazano w rzadkiej, wysoce inwazyjnej odmianie raka brodawkowatego DSV (ang. *diffuse sclerosing variant*) [62]. Redukcja ekspresji E-kadheryny może być także odpowiedzialna za progresję szeroko inwazyjnego raka pęcherzykowego tarczycy [45]. Zaobserwowany w powyższych badaniach spadek ekspresji E-kadheryny w dobrze zróżnicowanych rakach tarczycy pozostaje w zgodzie z wynikami wcześniejszych analiz [9, 65, 80]. W liniach komórek raka anaplastycznego tarczycy (HTh7, C643 i HTh74) Husmark i wsp. [40] zaobserwowali brak syntezy E-kadheryny, z wyjątkiem słabej jej ekspresji w linii SW1736. Wysoka ekspresja E-kadheryny w gruczolakach pęcherzykowych i jej stopniowa redukcja w rakach zróżnicowanych aż do całkowitej nieobecności w raku anaplastycznym może sugerować, że obniżenie syntezy E-kadheryny prowadzi do nabycia bardziej złośliwego fenotypu raka tarczycy [9]. Uważa się więc, że między ekspresją E-kadheryny a progresją nowotworu tarczycy i procesem przerzutowania istnieje odwrotna korelacja, co wykazano także w szeregu innych nowotworów człowieka, m.in. w raku płuc [17], wątroby [60], prostaty [84] i jajników [27].

W ciągu ostatnich lat poznano wiele mechanizmów, które mogą być przyczyną zaburzenia ekspresji E-kadheryny. Należą do nich mutacje genu *CDH1*, hipermetylacja wysp CpG w obrębie promotora *CDH1*, zaburzenia w działaniu czynników transkrypcyjnych, nieprawidłowa fosforylacja składników kompleksu E-kadheryna-kateniny, a także ich lokalizacja w komórce [6, 11, 22, 71]. Mutacje w genie *CDH1* E-kadheryny to raczej wyjątek niż reguła. Obserwowane są one głównie w rozlanym raku żołądka, zrazikowym raku piersi oraz w raku jajników i endometrium; są to najczęściej mutacje punktowe, delecje i przesunięcia ramki odczytu [6, 33]. W rakach tarczycy obserwuje się je bardzo rzadko, zwykle w rakach niezróżnicowanych [62]. W prawidłowych komórkach wyspy CpG nie podlegają metylacji. Natomiast jest ona obserwowana w komórkach wielu nowotworów [16, 30, 71]. Metylacja wysp CpG zmienia strukturę chromatyny czyniąc ją niedostępną dla polimerazy RNA klasy II i czynników transkrypcyjnych, co w konsekwencji prowadzi do zablokowania ekspresji genów [22]. Graff i wsp. [30] zaobserwowali, że w 4 z 5 linii komórkowych raków tarczycy, w których nie stwierdzono ekspresji E-kadheryny, wyspy CpG w regionie promotora były silnie zmetylowane. Natomiast w 8 liniach z potwierdzoną ekspresją E-kadheryny nie ulegały one metylacji. Autorzy stwierdzili także brak metylacji wysp CpG w prawidłowej tkance tarczycy i w 80% gruczolaków, natomiast ujawnili ją w 11% przypadków raków pęcherzykowych, 40% – raków z komórek Hürthla, 83% – raków brodawkowatych i w 21% – raków słabo zróżnicowanych i niezróżnicowanych. Husmark i wsp. [40] zaobserwowali, że zastosowanie czynnika demetylującego AzaC (5-aza-2-deoksy-cytydyny) powoduje zwiększenie ekspresji E-kadheryny w linii SW1736 komórek raka anaplastycznego. Wpływ metylacji regionu promotora w genie *CDH1* na obniżenie ekspresji E-kadheryny stwierdzono także w innych nowotworach, m.in. raku skóry [16] i przelyku [69]. Ostatnie badania dowodzą, że stopień metylacji wysp CpG i w konsekwencji poziom ekspresji E-kadheryny może znacząco się zmieniać w zależności od mikrośrodowiska nowotworu. Sugeruje się, że zwiększona metylacja jest wymagana w początkowym stadium inwazji, kiedy komórki odrywają się od pierwotnego guza. Natomiast później komórki nowotworowe częściowo cofają metylację wysp CpG w promotorze genu *CDH1* i przywracają ekspresję E-kadheryny, aby umożliwić sobie przeżycie w nowym ognisku nowotworowym [31].

Innym mechanizmem prowadzącym do obniżenia poziomu E-kadheryny jest aktywacja ekspresji represorów transkrypcji, takich jak Snail lub Slug, które mogą wchodzić w interakcję z sekwencjami E-box w proksymalnym regionie promotora jej genu. Transfekcja cDNA Snail do melanocytów, w których nie stwierdzono jego ekspresji, wywoływała znaczące obniżenie syntezy E-kadheryny. Transfekcja plazmidu zawierającego antysensową sekwencję Snail do linii komórkowych czerniaka powodowała reekspresję E-kadheryny na poziomie mRNA, jak i białka [58]. Stwierdzono, że Slug powoduje zablokowanie ekspresji E-kadheryny w liniach komórek raka jelita grubego [20]. Do innych czynników transkrypcyjnych mogących regulować syntezę E-kadheryny należą: Rb, c-myc, HNF-4, PAX 2, E12/E47 czy SIP1 [19, 56].

Proces adhezji mogą regulować również zmiany w stopniu ufosforylowania składników kompleksu E-kadheryna-kateniny przeprowadzane przez białkowe kinazy tyrozynowe i serynowo-treoninowe oraz fosfatazy A i C. Obniżenie adhezji komórkowej

indukowane przez czynniki wzrostu, takie jak: EGF, TGF α , HGF, PDGF, CSF-1, jest najprawdopodobniej spowodowane fosforylacją reszt tyrozyny kompleksu E-kadheryny-kateniny i jego rozpadem [56]. Uważa się, że onkogeny, takie jak *Src* i *ErbB2*, także odgrywają rolę w rozpadzie kompleksu, ponieważ zwiększają wrażliwość komórek na działanie czynników wzrostu [6]. Na stabilność kompleksu mają także wpływ małe białka Rho o właściwościach GTPaz, które są m.in. zaangażowane w regulację cytoszkieletu komórkowego. Białka tej rodziny: Rac i Cdc42 aktywowane przez PI3K stabilizują kompleks białek adhezyjnych poprzez wiązanie czynnika IQGAP1. Białko to ma zdolność przyłączania się do β -kateniny i E-kadheryny, co powoduje oddysocjowanie α -kateniny od kompleksu i jego rozpad [6, 18].

E-kadheryna pełni istotną rolę w utrzymaniu tkankowej integralności. Może być ona uznana za białko supresorowe, ponieważ wiążąc β -kateninę w rejonie błony komórkowej uniemożliwia jej translokację do jądra i promowanie proliferacji komórek [3, 47, 70]. Regulacja ekspresji E-kadheryny jest procesem bardzo złożonym, którego zaburzenie w połączeniu z rozregulowaniem innych mechanizmów komórkowych prowadzi do nieuchronnej progresji nowotworowej. Dokładne poznanie roli E-kadheryny i szlaków regulujących jej ekspresję może przyczynić się do powstania nowych, skutecznych terapii antynowotworowych.

2.2. N-kadheryna

N-kadheryna (m.cz. 135 kDa) znana jako białko CDH2, A-CAM oraz N-Cal-Cam jest kodowana przez gen *CDH2* zlokalizowany na chromosomie 18q12.1 [40, 59, 61]. Ulega ona ekspresji w tkankach pochodzenia neuroektodermalnego i mezodermalnego [57]. Jej ekspresja jest niezbędna dla prawidłowego rozwoju mięśnia sercowego [61]. Chociaż większość badań wskazuje, że N-kadheryna nie występuje w komórkach epitelialnych, wysoki jej poziom wykryto w liniach komórkowych nowotworów tarczycy [40], pęcherza [61] oraz prostaty [76]. Husmark i wsp. [40], stwierdzili ekspresję N-kadheryny w czterech liniach ludzkich komórek raka anaplastycznego tarczycy nie wykazujących obecności E-kadheryny. Podczas immunoprecypitacji strącała się ona łącznie z β -kateniną, co świadczyło o tworzeniu przez te białka funkcjonalnego kompleksu. W prawidłowej embrionalnej, jak i w dojrzałej tkance gruczołu tarczowego stwierdzono brak ekspresji N-kadheryny [25, 40, 62]. Nabycie przez komórki zdolności do ekspresji N-kadheryny prowadzi do przybrania fenotypu o zwiększonej ruchliwości i zdolności do inwazji, co potwierdzono badając słabo inwazyjne linie komórek MCF-7 raka piersi [35]. Ponadto wykazano, że transfekcja cDNA N-kadheryny do prawidłowych komórek nabłonka rogowaciejącego powodowała obniżenie ekspresji E- i P-kadheryny, a także nabywanie przez te komórki fenotypu zbliżonego do fibroblastów. Natomiast wprowadzenie cDNA w orientacji antysensowej przywracało komórkom prawidłowy fenotyp epitelialny i zwiększało ekspresję E- i P-kadheryny [44]. W komórkach linii HA-376 raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, w których stwierdzono wysoką ekspresję N-kadheryny oraz silną metylację promotora genu E-kadheryny zaobserwowano, że po zastosowaniu czynnika demetylującego AzaC poziom ekspresji E-kadheryny zaczął rosnąć, natomiast N-kadheryny spadać [15]. N-kadheryna pozwala

nie tylko na odłączenie komórek nowotworowych od masy guza pierwotnego, ale także nadaje im zdolność do adhezji z innymi komórkami zawierającymi N-kadherynę, np. miofibroblastami lub komórkami endotelium. Takie interakcje mogą chronić komórki nowotworowe podczas procesu inwazji [35, 77]. Ponieważ N-kadheryna ma zdolność do nasilania migracji komórek i przerzutowania, a jej zwiększony poziom jest skorelowany z rosnącą inwazyjnością, może być uważana za jeden z czynników promujących progresję nowotworu ze zmiany łagodnej do formy inwazyjnej [12].

3. KATENINY

Obecnie, do katenin zalicza się cztery białka, tj. α -, β -, γ -kateninę oraz białko p120^{ctn}. Kateniny biorą udział w adhezji poprzez tworzenie kompleksów z kadherynami; wchodzą także w skład desmosomu [6, 56, 59, 77].

3.1. α -katেনিনa

α -katেনিনa to jedno z cytoplazmatycznych białek bezpośrednio odpowiedzialnych za adhezję międzykomórkową. Dotychczas zidentyfikowano trzy homologiczne ludzkie α -katেনiny: α -E-kateninę o m.c. 102 kDa występującą w tkance nabłonkowej (kodowaną przez gen *CTNNA1* znajdujący się na chromosomie 5q31), α -N-kateninę o m.c. 104 kDa zlokalizowaną tylko w komórkach nerwowych (kodowaną przez gen *2p11.1-p12*) oraz α -T-kateninę występującą jedynie w komórkach mięśnia sercowego [6, 56, 59, 77, 78]. α -katেনিনa wiąże się z E-kadheryną poprzez β - lub γ -katেনinę i tworzy albo bezpośrednio stabilne połączenie z filamentami aktynowymi albo poprzez α -aktyninę lub winkulinę, warunkując prawidłową adhezję [7, 13, 59, 61, 78].

Przeprowadzone przez Böhma i wsp. [8] badania immunohistochemiczne ekspresji α -katেনiny wykazały obniżenie poziomu tego białka w ok. 40% przypadków raka brodawkowatego i w 52% – raka pęcherzykowego tarczycy. Stwierdzili oni także, korelację między obniżeniem ekspresji α -katেনiny a zaawansowaniem wieku pacjentów, występowaniem przerzutów do okolicznych węzłów chłonnych i ryzykiem wystąpienia nawrotów nowotworu. Obniżenie ekspresji α -katেনiny ujawniono także w niektórych przypadkach rzadkiej odmiany raka brodawkowatego DSV [62]. Brak ekspresji α -katেনiny w obszarze połączeń międzykomórkowych stwierdzono w linii TK6 komórek raka tarczycy szczura [13]. Obniżoną ekspresję α -katেনiny wykryto również w raku płuc, przełyku, prostaty i piersi [61].

Mechanizm obniżenia ekspresji α -katেনiny w rakach tarczycy nie został na razie wyjaśniony. W komórkach syngnetowych raka żołądka stwierdzono delecję w genie α -katেনiny (*CTNNA1*) w regionie odpowiadającym za wiązanie się z β -katেনiną. Kompleks złożony z E-kadheryny i β -katেনiny, ale bez α -katেনiny nie jest w stanie utworzyć stabilnego połączenia z filamentami aktynowymi oraz połączeń międzykomórkowych [19]. Takie słabo połączone między sobą komórki mogą łatwo odrywać się od pierwotnego ogniska nowotworu i tworzyć przerzuty. O tym jak ważna w procesie

adhezji jest rola α -kateniny, świadczy fakt, że komórki pozbawione tego białka nie są zdolne do utworzenia stabilnych połączeń międzykomórkowych mimo wysokiej ekspresji E-kadheryny i β -kateniny [72].

3.2. β -katenina

β -katenina – 781-aminokwasowe białko o m.cz. ok. 92 kDa jest kodowane przez gen *CTNNB1* znajdujący się na chromosomie 3p21. W cząsteczce β -kateniny zwraca uwagę obecność 12- lub 13-krotnie powtórnego 42-aminokwasowego motywu (ang. *arm repeat*) w domenie centralnej. Jest ona odpowiedzialna za wiązanie E-kadheryny, białka APC (ang. *adenomatous polyposis coli*), konduktyny, TCF/LEF (ang. *T cell factor/lymphoid enhancer factor*) i receptora dla czynnika wzrostu EGF. Podobną domenę mają inne białka rodziny Armadillo (γ -katenina i p120^{cas}). W domenie N-terminalnej znajduje się 32-aminokwasowy region odpowiedzialny za wiązanie α -kateniny [6, 28, 59, 61, 77]. β -katenina pełni w komórce podwójną rolę. Białko to nie tylko uczestniczy w procesie adhezji komórkowej, jak początkowo sądzono, ale działa także jako czynnik transkrypcyjny będąc koaktywatorem czynnika TCF/LEF wchodzącego w skład szlaku transdukcji sygnału Wnt (ang. *wingless type*). Pozwala jej to pełnić aktywną rolę w kontroli ekspresji genów, a pośrednio wpływać na proliferację komórek i progresję nowotworową [19].

Immunohistochemiczne badania ekspresji β -kateniny w obszarze połączeń międzykomórkowych wykazały jej obniżenie w raku brodawkowatym i pęcherzykowym tarczycy, a brak – w raku anaplastycznym [14]. Stwierdzono także istnienie korelacji między redukcją ekspresji β -kateniny a występowaniem odległych przerzutów i progresywną utratą stopnia zróżnicowania nowotworu [8, 14]. Garcia-Rostan i wsp. [28] zaobserwowali brak ekspresji β -kateniny w 41,6% przypadków raka anaplastycznego, a w kolejnych 41,6% – jej nieprawidłową jądrową lokalizację. Wykazali także obecność mutacji w eksonie 3. genu *CTNNB1* (co może być markerem raków anaplastycznych tarczycy) [29]. Ishigaki i wsp. [43] stosując technikę immunocytochemiczną stwierdzili zmienioną lokalizację β -kateniny we wszystkich badanych liniach komórkowych raków tarczycy. W liniach NPA (raka brodawkowatego), ARO, FRO (raka anaplastycznego) i WRO (raka pęcherzykowego) ujawnili jej lokalizację w cytoplazmie, natomiast w linii TPC-1 (raka brodawkowatego) – w jądrze komórkowym. Wysoki poziom β -kateniny w liniach NPA i TPC1 korelował z nadekspresją w tych liniach komórkowych cykliny D1 i białka c-myc. Analizując 132 preparaty nowotworów tarczycy Ishigaki i wsp. [43] ujawnili cytoplazmatyczną lokalizację β -kateniny w 9% przypadków gruczolaków, 25% raków pęcherzykowych oraz w 67% raków brodawkowatych, w których stwierdzono także nadekspresję cykliny D1. Należy nadmienić, że wysoką ekspresję cykliny D1, głównego regulatora komórkowej proliferacji, ujawniono także w raku anaplastycznym tarczycy [55, 81, 82]. Ze względu na jej brak w tkance prawidłowej, cyklina D1 może uchodzić za negatywny czynnik prognostyczny nowotworów tarczycy [50].

Sugeruje się, że β -katenina jest nie tylko uczestnikiem procesu adhezyjnego, ale także odgrywa główną rolę w szlaku transdukcji sygnału Wnt, który jest odpowiedzialny

za zwiększoną proliferację komórek i prawdopodobnie bierze udział w promocji nowotworowej. Aktywacja szlaku Wnt rozpoczyna się przyłączeniem białka Wnt do transbłonowego receptora Frizzled, co umożliwia fosforylację cytosolowego białka Dishevelled (Dsh). Aktywne białko Dsh inaktywuje działanie serynowo/treoninowej kinazy syntazy glikogenu GSK-3 β (ang. *glycogen synthase kinase*). Prawdopodobnie Dsh wchodzi także w interakcję z aksyną, co prowadzi do rozpadu kompleksu APC, GSK-3 β , aksyny, β -kateniny, a następnie degradacji aksyny i akumulacji β -kateniny w cytoplazmie [85]. W rezultacie stężenie wolnej β -kateniny w cytoplazmie rośnie i ulega ona translokacji do jądra komórkowego, gdzie wiąże się z czynnikami transkrypcyjnymi TCF/LEF. Jądrowa β -katenina połączona z TCF/LEF poprzez pontynę 52 łączy się z białkami TBP (ang. *TATA box binding protein*), co aktywuje transkrypcję m.in. *c-myc*, *c-jun*, *fra-1* oraz innych genów kodujących białka uczestniczące w progresji nowotworowej: cyklinę D1, macierzowe metaloproteinazy MMP (m.in. matrylizyna), białko oporności wielolekowej produkt genu *MDR 1* (ang. *multi-drug resistance gene 1*) [19, 56, 77]. Kompleks β -katenina-TCF/LEF może także wiązać się z promotorem E-kadheryny, co wskazuje, że pełni rolę w regulowaniu jej transkrypcji [7, 39]. W liniach komórkowych ARO (raka anaplastycznego) i WRO (raka pęcherzykowego) tarczycy człowieka stwierdzono ekspresję genów kodujących białka z rodziny Wnt, Frizzled oraz Dishevelled, co świadczy że elementy szlaku Wnt ulegają ekspresji w tych komórkach i że może on być w nich funkcjonalnie aktywny [36]. Gdy szlak Wnt jest nieaktywny, uwolniona z kompleksu adhezyjnego β -katenina jest wiązana przez wielobiałkowy kompleks tworzony przez: białko APC, GSK-3 β , serynowo/treoninową fosfatazę 2A i białko adaptorowe aksynę lub konduktynę. Kompleks ten umożliwia fosforylację β -kateniny przez GSK-3 β na resztach seryny i treoniny. Proces inicjuje kinaza kazeinowa CK1 α fosforylując Ser 45., co umożliwia dalszą fosforylację Ser 33. i 37. oraz Thr 41. przez GSK-3 β . Ufosforylowana β -katenina jest rozpoznawana przez białko β Trcp (komponent kompleksu ligazy), która powoduje jej ubikwitynację i wyznacza do degradacji w proteasomie 26S [10, 19, 47, 56]. Punktowe mutacje polegające na zamianie reszt seryny i treoniny na inne nieulegające fosforylacji powodują, że β -katenina staje się stabilna, nie ulega degradacji i akumuluje się w cytoplazmie i jądrze komórkowym [23, 49, 85]. Stwierdzono to m.in. w raku anaplastycznym tarczycy [28]. Mutacje genu *APC* także mogą zwiększać ilość β -kateniny w cytoplazmie. Stwierdzono je m.in. w linii ARO komórek raka anaplastycznego [43], natomiast brak takich mutacji zaobserwowano w gruczolakach i dobrze zróżnicowanych rakach tarczycy [53].

Badania immunohistochemiczne wykazały zmiany w ekspresji β -kateniny, ale także jej nieprawidłową lokalizację w cytoplazmie i jądrze komórkowym w wielu innych typach nowotworów m.in. raku wątroby [60], płuc [17], szyjki macicy [68], jajników [27], żołądka [54] oraz w czerniaku [48], a także w innych rakach skóry [24]. β -katenina jest przykładem białka w którym mutacje lub nieprawidłowa akumulacja może prowadzić do nieoczekiwanych konsekwencji niezwiązanych z jego fizjologiczną funkcją [52].

3.3. γ -katenina

γ -katenina (m.cz. 83 kDa) jest kodowana przez gen znajdujący się na długim ramieniu chromosomu 17 (17q21). Początkowo zidentyfikowano ją jako składnik płytki desmosomu, stąd synonim plakoglobina (ang. *plakoglobin*) [6, 59, 61]. γ -katenina wchodzi w skład kompleksu z E-kadheryną i α -kateniną, ale także tworzy płytkę desmosomu, stabilizując połączenia między desmosomalnymi kadherynami (desmogleiną i desmokolina) a filamentami pośrednimi [14, 59, 85]. γ -katenina pełni istotną rolę w rozwoju, ponieważ myszy pozbawione genu γ -kateniny giną w stadium embrionalnym, przypuszczalnie na skutek zakłócenia prawidłowej struktury mięśnia sercowego [85]. Funkcja γ -kateniny nadal nie jest dokładnie wyjaśniona, ale najprawdopodobniej działa ona antagonistycznie do β -kateniny. Badając rolę γ -kateniny w keratynocytach stwierdzono, że w wyniku fosforylacji reszt tyrozynowych może ona odłączać się od kompleksu białek adhezyjnych. Wolna γ -katenina znajdująca się w cytoplazmie może podobnie jak β -katenina ulegać translokacji do jądra i tworzyć kompleks z TCF/LEF. Utworzony kompleks jest transkrypcyjnie nieaktywny i nie może aktywować docelowych genów związanych z proliferacją komórki [38]. Być może konkurencja w wiązaniu TCF/LEF między β -kateniną i plakoglobiną jest jednym z mechanizmów wykorzystywanych przez komórki do powstrzymania proliferacji komórek, które z jakiegoś powodu utraciły zdolność do adhezji. W ten sposób γ -katenina może działać jako białko supresorowe, blokujące proliferację komórek nowotworowych.

Cerrato i wsp. [14] badając immunohistochemicznie zmiany ekspresji γ -kateniny zaobserwowali jej redukcję w 86,6% przypadków raka brodawkowego i w 85,7% raka pęcherzykowego. Natomiast Böhm i wsp. [8] stwierdzili redukcję poziomu γ -kateniny w 54% przypadków raka brodawkowego i 68% – raka pęcherzykowego oraz zaobserwowali, że była ona skorelowana z wielkością guza i obecnością odległych przerzutów. Obniżenie ekspresji γ -kateniny stwierdzono również w rzadkich odmianach raka brodawkowego: DSV [62] i MECT (ang. *mucoepidermoid carcinoma of the thyroid*) [63]. Sugeruje się, że obniżenie poziomu syntezy γ -kateniny w liniach komórek raka anaplastycznego SW1736 oraz C643 może być wywołane hipermetylacją rejonu promotorowego genu, ponieważ jej ekspresja wzrastała po zastosowaniu czynnika demetylującego DNA – AzaC [40]. Brak ekspresji γ -kateniny stwierdzono w liniach komórkowych pochodzących z pierwotnego raka tarczycy szczura (TK6) i jego przerzutów do płuc (MPTK6) [13]. Mutacje w genie γ -kateniny zaobserwowano dotychczas tylko w liniach komórek raka żołądka [85]. Transfekcja cDNA γ -kateniny do komórek raka anaplastycznego powoduje odwrócenie procesu nowotworowego niezależnie od ekspresji kadheryn [40]. Ostatnio pojawiły się dowody, że γ -katenina może także promować proces nowotworowy. Jej nadekspresja w ludzkim raku języka powoduje niekontrolowany wzrost tych komórek i zablokowanie procesu apoptozy, ponieważ plakoglobina ma zdolność indukowania antyapoptotycznego białka Bcl-2 [34].

3.4. Białko p120^{ctn}

Białko p120^{ctn} zaliczane do katenin (poprzednio nazywane p120^{cas}) jest cytosolowym białkiem o m.cz. 90–120 kDa (w zależności od izoformy), kodowanym przez gen

CTNND1 ulokowany na chromosomie 11q11 w bezpośrednim sąsiedztwie centromeru [6, 59, 61, 77]. Początkowo identyfikowano je jako substrat dla niereceptorowej kinazy tyrozynowej Src i receptorowych kinaz tyrozynowych dla czynników wzrostu (RTKs). Białko p120^{ctn} może się wiązać z E-, N-, P- i VE-kadheryną, natomiast nie wchodzi w interakcje z innymi kateninami [59, 61]. Rola p120^{ctn} nadal jest dyskusyjna; część badań wskazuje, że jego funkcja może zależeć od izoformy, w jakiej występuje, a także od potranskrypcyjnych lub potranslacyjnych modyfikacji [6]. Prawdopodobnie bierze udział w regulacji funkcji kompleksu E-kadheryna-kateniny [56].

Badanie ekspresji p120^{ctn} w liniach komórkowych raka anaplastycznego tarczycy (SW1736, C643, HTh7 i HTh74) wykazało jej obniżenie w porównaniu z kontrolą, zwłaszcza w linii HTh7, mającej także najniższy lub zerowy poziom γ -kateniny i cytokeratyn [40]. Białko p120^{ctn} prawidłowych tyreocytów ujawnia się na elektroferogramie jako pojedynczy prążek o m.cz. ok. 100 kDa. W przypadku linii komórek raka anaplastycznego tarczycy to pasmo znacznie maleje, a pojawia się dodatkowy prążek odpowiadający izoformie o m.cz. ok. 115 kDa. Ponieważ dwie izoformy tego białka zaobserwowano tylko w komórkach nowotworowych, pojawienie się izoformy o m.cz. 115 kDa może mieć wpływ na funkcjonowanie E-kadheryny, a przez to na proces adhezji [40]. Często obserwowanym zaburzeniem związanym z kateniną p120^{ctn} jest jej zwiększona obecność w cytoplazmie komórek nowotworowych, a obniżenie poziomu w strefie połączeń międzykomórkowych. Ujawniono, że białko p120^{ctn} także może być obecne w jądrze komórkowym podobnie jak inne białka rodziny Armadillo i nie ulega degradacji przez kompleks APC/GSK-3 β [77]. Uwolnione z kompleksu adhezyjnego białko p120^{ctn} może być fosforylowane i podobnie jak β -katenina brać udział w szlaku przekazywania sygnałów niezależnie od swojej roli w adhezji komórkowej [61]. Białko to po translokacji do jądra komórkowego wiąże się z czynnikiem transkrypcyjnym Kaiso; funkcjonalne znaczenie tej interakcji pozostaje na razie nieznane [56].

4. INTEGRYNY

Adhezja komórek do matriks zewnątrzkomórkowej reguluje proliferację, migrację i przeżycie szeregu typów komórek. Receptorami adhezyjnymi błony komórkowej są integryny, które stanowią rodzinę transbłonowych glikoprotein. Strukturalnie, integryny są heterodimerami składającymi się z niekowalencyjnie połączonych podjednostek α i β (łańcuch α m.cz. 140–210 kDa, łańcuch β – 90–120 kDa) [11, 21, 46]. Każda z nich poza domeną transbłonową zawiera dużą domenę zewnątrzkomórkową i mniejszą cytoplazmatyczną. Wyjątek stanowi podjednostka β 4, której domena cytoplazmatyczna jest odmienna zarówno w wielkości (około 1000 aminokwasów), jak i strukturze w porównaniu z innymi podjednostkami integryn [51]. Miejsce wiązania ligandów stanowią sekwencje domen zewnętrznych obu podjednostek, natomiast domeny cytoplazmatyczne łączą się z cytoszkieletem. Wewnątrzkomórkowa domena podjednostki β może wchodzić

w interakcje z płytką adhezyjną (ang. *focal adhesion plaque*), która jest miejscem oddziaływania z filamentami aktynowymi i zawiera lub wchodzi w interakcję z szeregiem kinaz białkowych, takich jak FAK, Src i PKC [11].

Zidentyfikowano wiele rodzajów podjednostek α i β i stwierdzono, że mogą one występować w różnych połączeniach, w wyniku czego tworzą znaczną liczbę heterodimerów (dotychczas opisano 18 podjednostek α i 9 podjednostek β , które tworzą co najmniej 24 heterodimery) [11]. Integryny regulują szlaki sygnalizacyjne, które kontrolują wzrost i przeżycie komórek tarczycy. Badania proliferacji tyreocytów wykazały, że aktywacja integryn przez przyłączenie fibronektyny indukuje fosforylację adhezyjnej kinazy tyrozynowej FAK, co z kolei prowadzi do tworzenia kompleksu FAK/Grb-2/SOS. Szlak inicjowany przez FAK jest kontynuowany przez Ras, Raf-MAPKK i ostatecznie MAPK [41]. Hamowanie aktywności Ras i MAPK zatrzymuje wzrost komórek, ale nie indukuje apoptozy. Aktywacja integryn przez adhezję do fibronektyny także indukuje fosfatydyloinozytolo-3 kinazę – enzym, który odgrywa kluczową rolę w zależnym od integryn przeżyciu komórek tarczycy. Zahamowanie aktywności tego enzymu prowadzi komórki tarczycy na drogę apoptozy [41].

W prawidłowym gruczole tarczowym prawie we wszystkich komórkach pęcherzykowych, podobnie jak w innych komórkach epitelialnych, ekspresji ulega integryna $\alpha 3 \beta 1$ [21, 79]. Vitale i wsp. [79] stwierdzili, że w wolu guzkowatym – łagodnej wieloogniskowej hiperplazji – koegzystują dwie morfologicznie odróżnialne subpopulacje komórek pęcherzykowych różniących się ekspresją integryn. W dominującej subpopulacji tyreocytów ekspresji ulega tylko podjednostka $\beta 1$ asocjująca z $\alpha 3$, podczas gdy w małej subpopulacji liczącej 10–60% tyreocytów ekspresji ulegają podjednostki $\beta 1$, $\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$ i $\alpha 6$. Podczas procesu transformacji nowotworowej często obserwuje się znaczące zmiany w ekspresji poszczególnych integryn na powierzchni komórek nowotworowych. Dahlman i wsp. [21] ujawnili w preparatach ze zmian łagodnych i złośliwych tarczycy ekspresję podjednostek $\alpha 6$ i $\beta 4$. Podjednostka $\beta 4$ asocjuje z podjednostką $\alpha 6$ tworząc heterodimer $\alpha 6 \beta 4$ będący receptorem dla lamininy. Dowodem przemawiającym na korzyść hipotezy, że ekspresja integryny $\alpha 6 \beta 4$ jest charakterystyczna dla raków i może być związana z ich agresywnością i przeżyciem pacjenta jest stwierdzenie jej ekspresji w raku piersi [1], pęcherza [32], płuc [26], żołądka [75]. Kitajiri i wsp. [46] stwierdzili podwyższoną ekspresję podjednostki $\beta 4$ integryny w rakach brodawkowatych tarczycy, w grupie pacjentów z dużymi przerzutami do węzłów chłonnych w porównaniu z grupą bez lub z małymi przerzutami. Wyniki te wskazują na korelację między ekspresją podjednostki integryny $\beta 4$ w rakach brodawkowatych a wielkością przerzutu, co sugeruje jej rolę w rozwoju metastaz. Badanie poziomu ekspresji integryny $\alpha 6 \beta 4$ może więc być przydatnym wskaźnikiem pozwalającym ocenić potencjalną inwazyjność tego nowotworu. Ważnym osiągnięciem zespołu Westermarcka [21] było stwierdzenie ekspresji podjednostki $\alpha 2$ i nadekspresji integryny $\alpha 2 \beta 1$ jedynie w raku anaplastycznym tarczycy. Dla uwiarygodnienia wyników w analizie immunohistochemicznej wykorzystano dwa różne przeciwciała monoklonalne przeciwko podjednostce $\alpha 2$ integryny.

W świetle przedstawionych danych rzeczową wydaje się sugestia, że zmiany ekspresji integryn i zaburzenie przekazu sygnału wiążą się z nabyciem przez zmienione nowotworowo tyreocyty właściwości do proliferacji i inwazji.

5. GLIKOPROTEINA CD44

Białka CD44 (ang. *cluster of differentiation*) tworzą polimorficzną rodzinę powierzchniowych glikoprotein, które grają rolę w regulacji szeregu procesów fizjologicznych i patofizjologicznych. Uczestniczą one w interakcji komórka – komórka, komórka – matriks zewnątrzkomórkowa, w migracji komórek, w aktywacji limfocytów, w reakcjach zapalnych, we wzroście i progresji nowotworów. Ludzkie białko CD44 jest kodowane przez gen ulokowany na chromosomie 11 (11p13). Gen *CD44* zawiera 10 eksonów standardowych (ang. *standard*; s) i 10 zmiennych (ang. *variable*; v). Eksony standardowe (1–5 i 16–20) po złożeniu i translacji dostarczają standardowej izoformy CD44s. Natomiast w wyniku alternatywnego składowania eksonów zmiennych powstaje szereg izoform tego białka (CD44v). Antygen CD44 jest powierzchniowym receptorem dla kwasu hialuronowego [2, 4, 5, 73].

W prawidłowych nieproliferujących tyreocytach fizjologicznej ekspresji ulega forma CD44s [2, 4, 5]. Ujawniono, że zmiennymi eksonami obecnymi w transkryptach CD44v w wielu nowotworach są eksony: 7 (v2), 8 (v3) i 11 (v6) [83]. Aogi i wsp. [2] stwierdzili obecność transkryptu CD44v2 (z eksonem 7) w 75% preparatów raka tarczycy, ale również w 29% preparatów zmian łagodnych. Transkrypt CD44v6 (z eksonem 11) był obecny w 83% przypadków raków, a także w 35% zmian łagodnych. Ekson 8 był obecny w transkryptach (CD44v3) otrzymanych z najwyższej liczby przypadków nowotworów złośliwych (92%), ale również z najwyższej liczby preparatów zmian łagodnych (59%). Badania Aogi i wsp. [2] wykazały, że całkowita ekspresja CD44v znacznie wzrastała w rakach tarczycy, bowiem 73% preparatów raków tarczycy (poza rdzeniastym) zawierało transkrypty ze wszystkimi 3 zmiennymi eksonami. Natomiast tylko w 24% preparatów zmian łagodnych stwierdzono występowanie transkryptów CD44v2, CD44v3 i CD44v6. Ujawniony przez Aogi i wsp. [2] wzrost ekspresji CD44v w rakach tarczycy pozostaje w zgodzie z wynikami wcześniejszych badań [74]. Bartolazzi i wsp. [5] techniką immunohistochemiczną z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych testowali ekspresję CD44v6 w 618 preparatach zmian patologicznych tarczycy. W 75 zanalizowanych preparatach tkanki prawidłowej tarczycy nie stwierdzono ekspresji CD44v6. Natomiast ekspresję tej izoformy ujawniono w przypadku 81,4% preparatów nowotworów złośliwych tarczycy o różnym typie histologicznym i stopniu zróżnicowania (poza rakami rdzeniastymi). Izofорма CD44v6 była wykrywana w około 50% raków niezróżnicowanych i w 43% preparatów gruczolaka pęcherzykowego [5].

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że żadna z izoform CD44 nie może być uznawana jako sugerowany marker raków tarczycy, lecz jedynie znacznik deregulacji proliferacji tyreocytów [5].

6. DYSADHERYNA

W 2002 r. w laboratorium Hirohashi zidentyfikowano i scharakteryzowano „anty-adhezyjną cząsteczkę” będącą transbłonową glikoproteiną i nazwano ją dysadheryną (ang. *dysadherin*) [42]. Wykryto ją w komórkach szeregu nowotworów, tj. raka piersi, płuc, żołądka, jelita grubego, pęcherza, mózgu i przelyku przy użyciu monoklonalnego przeciwciała NCC-3G10. Ekspresję dysadheryny stwierdzono natomiast w ograniczonej liczbie komórek prawidłowych – limfocytach, komórkach endotelialnych i komórkach warstwy podstawnej nabłonka rogowaciejącego [42]. Wydedukowana z cDNA 178-aminokwasowa sekwencja dysadheryny obejmuje dwa regiony hydrofobowe odpowiadające peptydowi sygnałowemu i domenę transbłonowej, domenę zewnątrzkomórkową bogatą w serynę, treoninę i prolinę, która jest miejscem O-glikozylacji oraz krótki region cytoplazmatyczny zawierający dodatnio naładowane reszty aminokwasów. Masa cząsteczkowa dysadheryny waha się w granicach 50–55 kDa (różnice wynikają z odmiennego poziomu O-glikozylacji). Transfekcja cDNA dysadheryny do linii komórek PLC/PRF5 raka wątroby spowodowała obniżenie adhezji komórka – komórka. Ponadto w transfekowanych komórkach stwierdzono znaczne obniżenie poziomu E-kadheryny, odwrotnie proporcjonalnie do ekspresji dysadheryny. Okazało się, że transfekcja cDNA dysadheryny indukowała obniżenie poziomu białka i osłabienie adhezyjnej funkcji E-kadheryny pozostając bez wpływu na ekspresję jej mRNA. Te dane sugerują, że dysadheryna odgrywa rolę w potranskrypcyjnej regulacji E-kadheryny. Obecnie mechanizm regulacyjny modyfikujący funkcję E-kadheryny nie jest poznany, ale przypuszcza się, że może w nim grać rolę znaczna glikozylacja dysadheryny i interakcja z aktyną [42]. W dalszych badaniach zespół Hirohashi stosując nowe przeciwciało monoklonalne przeciwko dysadherynie NCC-M53 stwierdził w przewodowym gruczołoraku trzustki ścisłą korelację między wzrostem ekspresji dysadheryny a występowaniem przerzutów i wielkością guza [67]. Otrzymane wyniki pozwoliły autorom wnioskować, że ekspresja dysadheryny wydaje się odzwierciedlać agresywność raka i może być pozytywnym znacznikiem złej prognozy w tym typie nowotworu [67]. Do podobnych wniosków doszli Shimada i wsp. [66] po analizie ekspresji dysadheryny w raku żołądka. Ten sam zespół przeprowadził po raz pierwszy immunohistochemiczne badania ekspresji dysadheryny w rakach tarczycy [64]. Stwierdzili oni jej ekspresję w 76% preparatów raka brodawkowatego oraz w 100% preparatów raka anaplastycznego. Natomiast nie ujawniono jej ekspresji w żadnym z preparatów raka pęcherzykowego oraz w prawidłowych tyreocytach. Ekspresja dysadheryny okazała się znacznie wyższa w raku anaplastycznym niż brodawkowatym. Ponadto stwierdzono istnienie znacznej korelacji między ekspresją dysadheryny a wielkością nowotworu, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i przerzutów odległych, a także śmiertelnością z powodu raka tarczycy. Tak jak we wcześniejszych badaniach, w rakach tarczycy zaobserwowano znaczną negatywną korelację między ekspresją dysadheryny i E-kadheryny [64].

Otrzymane wyniki zaprezentowanych badań upoważniają do stwierdzenia, że ekspresja dysadheryny może być uznana za biologiczny wskaźnik agresywności raków, dający złe prognozy w ich terapii [37].

7. PODSUMOWANIE

Adhezja komórkowa to bardzo złożony proces regulowany przez wiele grup białek, których rola w dużym stopniu wymaga jeszcze poznania. Ponieważ wiele z tych białek wchodzi w interakcje z różnymi czynnikami zewnątrzkomórkowymi i składnikami szlaków transdukcji sygnału, a także same biorą udział w procesie przekazywania sygnału, zaburzenia w ich ekspresji mogą być kluczowym elementem w procesie inwazji nowotworowej. Można mieć nadzieję, że prowadzone obecnie badania pozwolą w przyszłości na pełne poznanie roli białek regulujących adhezję komórkową, a to pozwoli na opracowanie bardziej skutecznych terapii antynowotworowych.

LITERATURA

- [1] ABDEL-GHANY M, CHENG HC, ELBLE RC, PAULI BU. The breast cancer beta 4 integrin and endothelial human CLCA2 mediate lung metastasis. *J Biol Chem* 2001; **276**: 25438–25446.
- [2] AOGI K, KITAHARA K, URQUIDI V, TARIN D, GOODISON S. Comparison of telomerase and CD44 expression as diagnostic tumor markers in lesions of the thyroid. *Clin Cancer Res* 1999; **5**: 2790–2797.
- [3] APLIN AE. Cell adhesion molecule regulation of nucleocytoplasmic trafficking. *FEBS Lett* 2003; **534**: 11–14.
- [4] BARTOLAZZI A. Improving accuracy of cytology for nodular thyroid lesions. *Lancet* 2000; **355**: 1661–1662.
- [5] BARTOLAZZI A, GASBARRI A, PAPOTTI M, BUSSOLATI G, LUCANTE T, KHAN A, INOHARA H, MARANDINO F, ORLANDI F, NARDI F, VECCHIONE A, TECCE R, LARSSON O; THYROID CANCER STUDY GROUP. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet* 2001; **357**: 1644–1650.
- [6] BEAVON IRG. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis: structure, function and regulation. *Eur J Cancer* 2000; **36**: 1607–1620.
- [7] BEN-ZE'EV A. Cytoskeletal and adhesion proteins as tumor suppressors. *Curr Opin Cell Biol* 1997; **9**: 99–108.
- [8] BÖHM J, NISKANEN L, KIRALY K, KELLOKOSKI J, ESKELINEN M, HOLLMER S, ALHAVA E, KOSMA VM. Expression and prognostic value of alpha-, beta-, and gamma-catenins in differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85**: 4806–4811.
- [9] BRABANT G, HOANG-VU C, CETIN Y, DRALLE H, SCHEUMANN G, MÖLNE J, HANSSON G, JANSSON S, ERICSON LE, NILSSON M. E-cadherin: a differentiation marker in thyroid malignancies. *Cancer Res* 1993; **53**: 4987–4993.
- [10] BREMNES RM, VEEVE R, HIRSCH FR, FRANKLIN WA. The E-cadherin cell-cell adhesion complex and lung cancer invasion, metastasis, and prognosis. *Lung Cancer* 2002; **36**: 115–124.
- [11] CAIRNS RA, KHOKHA R, HILL RP. Molecular mechanisms of tumor invasion and metastasis: an integrated view. *Curr Mol Med* 2003; **3**: 659–671.
- [12] CAVALLARO U, SCHAFFHAUSER B, CHRISTOFORI G. Cadherins and the tumour progression: is it all in a switch? *Cancer Lett* 2002; **176**: 123–128.
- [13] CELETTI A, GARBI C, CONSALES C, CERRATO A, GRECO D, MELE E, NITSCH L, GRIECO M. Analysis of cadherin/catenin complexes in transformed thyroid epithelial cells: modulation by beta 1 integrin subunit. *Eur J Cell Biol* 2000; **79**: 583–593.
- [14] CERRATO A, FULCINITI F, AVALLONE A, BENINCASA G, PALOMBINI L, GRIECO M. Beta- and gamma-catenin expression in thyroid carcinomas. *J Pathol* 1998; **185**: 267–272.
- [15] CHEN Q, LIPKINA G, SONG Q, KRAMER RH. Promoter methylation regulates cadherin switching in squamous cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **315**: 850–856.

- [16] CHILES MC, AI L, ZUO C, FAN CY, SMOLLER BR. E-cadherin promoter hypermethylation in preneoplastic and neoplastic skin lesions. *Mod Pathol* 2003; **16**: 1014–1018.
- [17] CHOI YS, SHIM YM, KIM SH, SON DS, LEE HS, KIM GY, HAN J, KIM J. Prognostic significance of E-cadherin and beta-catenin in resected stage I non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003; **24**: 441–449.
- [18] CHRISTOFORI G, SEMB H. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci* 1999; **24**: 73–76.
- [19] CONACCI-SORRELL M, ZHURINSKY J, BEN-ZE'EV A. The cadherin-catenin adhesion system in signaling and cancer. *J Clin Invest* 2002; **109**: 987–991.
- [20] CONACCI-SORRELL M, SIMCHA I, BEN-YEDIDIA T, BLECHMAN J, SAVAGNER P, BEN-ZE'EV A. Autoregulation of E-cadherin expression by cadherin-cadherin interactions: the roles of beta-catenin signaling, Slug, and MAPK. *J Cell Biol* 2003; **163**: 847–857.
- [21] DAHLMAN T, GRIMELIUS L, WALLIN G, RUBIN K, WESTERMARK K. Integrins in thyroid tissue: upregulation of alpha2beta1 in anaplastic thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol* 1998; **138**: 104–112.
- [22] DI CROCE L, PELICCI PG. Tumour-associated hypermethylation: silencing E-cadherin expression enhances invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 2003; **39**: 413–414.
- [23] DIHLMANN S, KLEIN S, DOEBERITZ MVK. Reduction of beta-catenin/T-cell transcription factor signaling by aspirin and indomethacin is caused by an increased stabilization of phosphorylated beta-catenin. *Mol Cancer Ther* 2003; **2**: 509–516.
- [24] EL-BAHRAWY M, EL-MASRY N, ALISON M, POULSOM R, FALLOWFIELD M. Expression of beta-catenin in basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2003; **148**: 964–970.
- [25] FAGMAN H, GRÄNDE M, EDSBAGGE J, SEMB H, NILSSON M. Expression of classical cadherins in thyroid development: maintenance of an epithelial phenotype throughout organogenesis. *Endocrinology* 2003; **144**: 3618–3624.
- [26] FALCIONI R, CIMINO L, GENTILESCI MP, D'AGNANO I, ZUPI G, KENNEL SJ, SACCHI A. Expression of beta 1, beta 3, beta 4, and beta 5 integrins by human lung carcinoma cells of different histotypes. *Exp Cell Res* 1994; **210**: 113–122.
- [27] FALEIRO-RODRIGUES C, MACEDO-PINTO I, PEREIRA D, FERREIRA VM, LOPES CS. Association of E-cadherin and beta-catenin immunoeexpression with clinicopathologic features in primary ovarian carcinomas. *Hum Pathol* 2004; **35**: 663–669.
- [28] GARCIA-ROSTAN G, TALLINI G, HERRERO A, D'AQUILA TG, CARCANGIU ML, RIMM DL. Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. *Cancer Res* 1999; **59**: 1811–1815.
- [29] GARCIA-ROSTAN G, CAMP RL, HERRERO A, CARCANGIU ML, RIMM DL, TALLINI G. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *Am J Pathol* 2001; **158**: 987–996.
- [30] GRAFF JR, GREENBERG VE, HERMAN JG, WESTRA WH, BOGHAERT ER, AIN KB, SAJI M, ZEIGER MA, ZIMMER SG, BAYLIN SB. Distinct patterns of E-cadherin CpG island methylation in papillary, follicular, Hurthle's cell, and poorly differentiated human thyroid carcinoma. *Cancer Res* 1998; **58**: 2063–2066.
- [31] GRAFF JR, GABRIELSON E, FUJII H, BAYLIN SB, HERMAN JG. Methylation patterns of the E-cadherin 5' CpG island are unstable and reflect the dynamic, heterogeneous loss of E-cadherin expression during metastatic progression. *J Biol Chem* 2000; **275**: 2727–2732.
- [32] GROSSMAN HB, LEE C, BROMBERG J, LIEBERT M. Expression of the alpha6beta4 integrin provides prognostic information in bladder cancer. *Oncol Rep* 2000; **7**: 13–16.
- [33] GUILFORD P. E-cadherin downregulation in cancer: fuel on the fire? *Mol Med Today* 1999; **5**: 172–177.
- [34] HAKIMELAH S, PARKER HR, GILCHRIST AJ, BARRY M, LI Z, BLEACKLEY RC, PASDAR M. Plakoglobin regulates the expression of the anti-apoptotic protein BCL-2. *J Biol Chem* 2000; **275**: 10905–10911.
- [35] HAZAN RB, PHILLIPS GR, QIAO RF, NORTON L, AARONSON SA. Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion, and metastasis. *J Cell Biol* 2000; **148**: 779–790.
- [36] HELMBRECHT K, KISPERT A, VON WASIELEWSKI R, BRABANT G. Identification of a Wnt/beta-catenin signaling pathway in human thyroid cells. *Endocrinology* 2001; **142**: 5261–5266.
- [37] HIROHASHI S, KANAI Y. Cell adhesion system and human cancer morphogenesis. *Cancer Sci* 2003; **94**: 575–581.

- [38] HU P, BERKOWITZ P, O'KEEFE EJ, RUBENSTEIN DS. Keratinocyte adherens junctions initiate nuclear signaling by translocation of plakoglobin from the membrane to the nucleus. *J Invest Dermatol* 2003; **121**: 242–251.
- [39] HUBER O, BIERKAMP C, KEMLER R. Cadherins and catenins in development. *Curr Opin Cell Biol* 1996; **8**: 685–691.
- [40] HUSMARK J, HELDIN NE, NILSSON M. N-cadherin-mediated adhesion and aberrant catenin expression in anaplastic thyroid-carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 1999; **83**: 692–699.
- [41] ILLARIO M, AMIDEO V, CASAMASSIMA A, ANDREUCCI M, DI MATOLA T, MIELE C, ROSSI G, FENZI G, VITALE M. Integrin-dependent cell growth and survival are mediated by different signals in thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 260–269.
- [42] INO Y, GOTOH M, SAKAMOTO M, TSUKAGOSHI K, HIROHASHI S. Dysadherin, a cancer-associated cell membrane glycoprotein, down-regulates E-cadherin and promotes metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 365–370.
- [43] ISHIGAKI K, NAMBA H, NAKASHIMA M, NAKAYAMA T, MITSUTAKE N, HAYASHI T, MAEDA S, ICHINOSE M, KANEMATSU T, YAMASHITA S. Aberrant localization of beta-catenin correlates with overexpression of its target gene in human papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 3433–3440.
- [44] ISLAM S, CAREY TE, WOLF GT, WHEELLOCK MJ, JOHNSON KR. Expression of N-cadherin by human squamous carcinoma cells induces a scattered fibroblastic phenotype with disrupted cell–cell adhesion. *J Cell Biol* 1996; **135**: 1643–1654.
- [45] KATO N, TSUCHIYA T, TAMURA G, MOTOYAMA T. E-cadherin expression in follicular carcinoma of the thyroid. *Pathol Int* 2002; **52**: 13–18.
- [46] KITAJIRI S, HOSAKA N, HIRAUMI H, HIROSE T, IKEHARA S. Increased expression of integrin beta-4 in papillary thyroid carcinoma with gross lymph node metastasis. *Pathol Int* 2002; **52**: 438–441.
- [47] MACLEOD K. Tumor suppressor genes. *Curr Opin Genet Dev* 2000; **10**: 81–93.
- [48] MAELANDSMO GM, HOLM R, NESLAND JM, FODSTAD Ø, FLØRENES VA. Reduced beta-catenin expression in the cytoplasm of advanced-stage superficial spreading malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 2003; **9**: 3383–3388.
- [49] MARIN O, BUSTOS VH, CESARO L, MEGGIO F, PAGANO MA, ANTONELLI M, ALLENDE CC, PINNA LA, ALLENDE JE. A noncanonical sequence phosphorylated by casein kinase 1 in beta-catenin may play a role in casein kinase 1 targeting of important signaling proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 10193–10200.
- [50] MEIRMANOV SK, NAKASHIMA M, TAKAMURA N, ITO M, PROUGLO YV, YAMASHITA S, SEKINE I. Involvement of Wnt pathway in thyroid cancer around Semipalatinsk Nuclear Test Site. *International Congress Series* 2003; **1258**: 177–183.
- [51] MERCURIO AM, RABINOVITZ I. Towards a mechanistic understanding of tumor invasion—lessons from the alpha6beta 4 integrin. *Semin Cancer Biol* 2001; **11**: 129–141.
- [52] MITTAL K. The 9 lives of beta-catenin. *Hum Pathol* 2004; **35**: 647–648.
- [53] MIYAKE N, MAETA H, HORIE S, KITAMURA Y, NANBA E, KOBAYASHI K, TERADA T. Absence of mutations in the beta-catenin and adenomatous polyposis coli genes in papillary and follicular thyroid carcinomas. *Pathol Int* 2001; **51**: 680–685.
- [54] MIYAZAWA K, IWAYA K, KURODA M, HARADA M, SERIZAWA H, KOYANAGI Y, SATO Y, MIZOKAMI Y, MATSUOKA T, MUKAI K. Nuclear accumulation of beta-catenin in intestinal-type gastric carcinoma: correlation with early tumor invasion. *Virchows Arch* 2000; **437**: 508–513.
- [55] MORETTI F, NANNI S, PONTECORVI A. Molecular pathogenesis of thyroid nodules and cancer. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2000; **14**: 517–539.
- [56] NOLLET F, BERX G, VAN ROY F. The role of the E-cadherin/catenin adhesion complex in the development and progression of cancer. *Mol Cell Biol Res Commun*. 1999; **2**: 77–85.
- [57] OKEGAWA T, PONG RC, LI Y, HSIEH JT. The role of cell adhesion molecule in cancer progression and its application in cancer therapy. *Acta Biochim Pol* 2004; **51**: 445–457.
- [58] POSER I, DOMINGUEZ D, DE HERREROS AG, VARNAI A, BUETTNER R, BOSSERHOFF AK. Loss of E-cadherin expression in melanoma cells involves up-regulation of the transcriptional repressor Snail. *J Biol Chem* 2001; **276**: 24661–24666.
- [59] PÖTTER E, BERGWITZ C, BRABANT G. The cadherin-catenin system: implications for growth and differentiation of endocrine tissues. *Endocr Rev* 1999; **20**: 207–239.

- [60] PRANGE W, BREUHAHN K, FISCHER F, ZILKENS C, PIETSCH T, PETMECKY K, EILERS R, DIENES HP, SCHIRMACHER P. Beta-catenin accumulation in the progression of human hepatocarcinogenesis correlates with loss of E-cadherin and accumulation of p53, but not with expression of conventional WNT-1 target genes. *J Pathol* 2003; **201**: 250–259.
- [61] RAMBURAN A, GOVENDER D. Cadherins and catenins in pathology. *Curr Diagnost Pathol* 2002; **8**: 305–317.
- [62] ROCHA AS, SOARES P, SERUCA R, MAXIMO V, MATIAS-GUIU X, CAMESELLE-TEIJEIRO J, SOBRINHO-SIMÕES M. Abnormalities of the E-cadherin/catenin adhesion complex in classical papillary thyroid carcinoma and in its diffuse sclerosing variant. *J Pathol* 2001; **194**: 358–366.
- [63] ROCHA AS, SOARES P, MACHADO JC, MAXIMO V, FONSECA E, FRANSSILA K, SOBRINHO-SIMÕES M. Mucoepidermoid carcinoma of the thyroid: a tumour histotype characterised by P-cadherin neoexpression and marked abnormalities of E-cadherin/catenins complex. *Virchows Arch* 2002; **440**: 498–504.
- [64] SATO H, INO Y, MIURA A, ABE Y, SAKAI H, ITO K, HIROHASHI S. Dysadherin: expression and clinical significance in thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 4407–4412.
- [65] SCHEUMMAN GFW, HOANG-VU C, CETIN Y, GIMM O, BEHRENDTS J, VON WASIELEWSKI R, GEORGII A, BIRCHMEIER W, VON ZUR MÜHLEN A, DRALLE H, BRABANT G. Clinical significance of E-cadherin as a prognostic marker in thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; **80**: 2168–2172.
- [66] SHIMADA Y, YAMASAKI S, HASHIMOTO Y, ITO T, KAWAMURA J, SOMA T, INO Y, NAKANISHI Y, SAKAMOTO M, HIROHASHI S, IMAMURA M. Clinical significance of dysadherin expression in gastric cancer patients. *Clin Cancer Res* 2004; **10**: 2818–2823.
- [67] SHIMAMURA T, SAKAMOTO M, INO Y, SATO Y, SHIMADA K, KOSUGE T, SEKIHARA H, HIROHASHI S. Dysadherin overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma reflects tumor aggressiveness: relationship to E-cadherin expression. *J Clin Oncol* 2003; **21**: 659–667.
- [68] SHINOHARA A, YOKOYAMA Y, WAN X, TAKAHASHI Y, MORI Y, TAKAMI T, SHIMOKAWA K, TAMAYA T. Cytoplasmic/nuclear expression without mutation of exon 3 of the beta-catenin gene is frequent in the development of the neoplasm of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2001; **82**: 450–455.
- [69] SI HX, TSAO SW, LAM KY, SRIVASTAVA G, LIU Y, WONG YC, SHEN ZY, CHEUNG ALM. E-cadherin expression is commonly downregulated by CpG island hypermethylation in esophageal carcinoma cells. *Cancer Lett* 2001; **173**: 71–78.
- [70] STOCKINGER A, EGER A, WOLF J, BEUG H, FOISNER R. E-cadherin regulates cell growth by modulating proliferation-dependent beta-catenin transcriptional activity. *J Cell Biol* 2001; **154**: 1185–1196.
- [71] STRATHDEE G. Epigenetic versus genetic alterations in the inactivation of E-cadherin. *Semin Cancer Biol* 2002; **12**: 373–379.
- [72] SUNDFELDT K. Cell–cell adhesion in the normal ovary and ovarian tumors of epithelial origin; an exception to the rule. *Mol Cell Endocrinol* 2003; **202**: 89–96.
- [73] SZYMCZYK P, KILIAŃSKA ZM. Antygen CD44: czy występowanie jego izoform może mieć znaczenie w diagnostyce nowotworów jelita grubego? *Post Biochem* 1999; **45**: 249–260.
- [74] TAKANO T, SUMIZAKI H, NAKANO K, MATSUZUKA F, KUMA K, AMINO N. Increased expression of CD44 variants in differentiated thyroid cancers. *Jpn J Cancer Res* 1996; **87**: 1245–1250.
- [75] TANI T, KARTTUNEN T, KIVILUOTO T, KIVILAAKSO E, BURGESSON RE, SIPPONEN P, VIRTANEN I. Alpha 6 beta 4 integrin and newly deposited laminin-1 and laminin-5 form the adhesion mechanism of gastric carcinoma. Continuous expression of laminins but not that of collagen VII is preserved in invasive parts of the carcinomas: implications for acquisition of the invading phenotype. *Am J Pathol* 1996; **149**: 781–793.
- [76] TOMITA K, VAN BOKHOVEN A, VAN LEENDERS GJLH, RUIJTER ETG, JANSEN CFJ, BUSSEMAKERS MJG, SCHALKEN JA. Cadherin switching in human prostate cancer progression. *Cancer Res* 2000; **60**: 3650–3654.
- [77] VAN AKEN E, DE WEVER O, CORREIA DA ROCHA AS, MAREEL M. Defective E-cadherin/catenin complexes in human cancer. *Virchows Arch* 2001; **439**: 725–751.
- [78] VANPOUCKE G, NOLLET F, TEJPAR S, CASSIMAN JJ, VAN ROY F. The human alphaE-catenin gene *CTNNA1*: mutational analysis and rare occurrence of a truncated splice variant. *Biochim Biophys Acta* 2002; **1574**: 262–268.
- [79] VITALE M, DE RIU S, FENZI GF, CASAMASSIMA A, SALZANO S, MÜELLER F, MARZANO LA, ROSSI G. Expression of integrins of the beta1 family in thyroid cells from patients with Graves' disease *in vivo* and *in vitro*. *Biochimie* 1999; **81**: 477–484.

- [80] VON WASIELEWSKI R, RHEIN A, WERNER M, SCHEUMANN GFW, DRALLE H, PÖTTER E, BRABANT G, GEORGII A. Immunohistochemical detection of E-cadherin in differentiated thyroid carcinomas correlates with clinical outcome. *Cancer Res* 1997; **57**: 2501–2507.
- [81] WANG S, WUU J, SAVAS L, PATWARDHAN N, KHAN A. The role of cell cycle regulatory proteins, cyclin D1, cyclin E, and p27 in thyroid carcinogenesis. *Hum Pathol* 1998; **29**: 1304–1309.
- [82] WANG S, LLOYD RV, HUTZLER MJ, SAFRAN MS, PATWARDHAN NA, KHAN A. The role of cell cycle regulatory protein, cyclin D1, in the progression of thyroid cancer. *Mod Pathol* 2000; **13**: 882–887.
- [83] WOODMAN AC, SUGIYAMA M, YOSHIDA K, SUGINO T, BORGIA A, GOODISON S, MATSUMURA Y, TARIN D. Analysis of anomalous CD44 gene expression in human breast, bladder, and colon cancer and correlation of observed mRNA and protein isoforms. *Am J Pathol* 1996; **149**: 1519–1530.
- [84] WU TT, HSU YS, WANG JS, LEE YH, HUANG JK. The role of p53, bcl-2 and E-cadherin expression in predicting biochemical relapse for organ confined prostate cancer in Taiwan. *J Urol* 2003; **170**: 78–81.
- [85] ZHURINSKY J, SHTUTMAN M, BEN-ZE'EV A. Plakoglobin and beta-catenin: protein interactions, regulation and biological roles. *J Cell Sci* 2000; **113**: 3127–3139.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 27.12.2004 r.

Przyjęto: 26.01.2005 r.

Katedra Cytobiochemii, Uniwersytet Łódzki,

S. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

e-mail: annal@biol.uni.lodz.pl