

RAK GRUCZOŁU KROKOWEGO W BADANIACH *IN VITRO*: CHARAKTERYSTYKA LINII KOMÓRKOWYCH PC3, DU145 I LNCaP*

IN VITRO STUDIES ON PROSTATE CANCER: CHARACTERISTICS
OF PC3, DU145 AND LNCaP CELL LINES

Anna STACHURSKA, Michał WRONKA, Hanna M. KOWALCZYŃSKA

Zakład Biofizyki
Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Streszczenie: W krajach wysoko rozwiniętych rak stercza jest drugą po raku płuc najczęstszą przyczyną śmierci mężczyzn. Wczesne wykrycie tego nowotworu pozwala na skuteczną terapię, jednak u chorych ze stwierdzonymi przerzutami szanse na wyleczenie znacznie maleją. Kluczowe w leczeniu raka gruczołu krokowego jest zapobieganie przerzutom, dlatego w wielu laboratoriach prowadzone są badania modelowych linii komórkowych, mające wyjaśnić molekularne mechanizmy powstawania przerzutów. Pomimo bardzo wielu artykułów w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, w piśmiennictwie polskim prace przeglądowe poświęcone tej tematyce są nieliczne. Celem niniejszego artykułu jest zaprezentowanie aktualnego stanu wiedzy z zakresu badań *in vitro* nad rakiem stercza. Zebrano wyniki doświadczeń przeprowadzonych na klasycznych liniach komórkowych: PC3, DU145 i LNCaP wyizolowanych, odpowiednio, z przerzutów do kości, mózgu i węzłów chłonnych. Opisano morfologię komórek i przypuszczalny mechanizm powstawania przerzutów. Omówiono cząsteczki adhezyjne i niektóre antygeny biorące udział w adhezji. Przedstawiono wyniki dotyczące zarówno mechanizmów hormonalnej regulacji wzrostu oraz migracji komórek, jak i unikania przez nie apoptozy.

Słowa kluczowe: rak stercza, DU145, PC3, LNCaP, adhezja komórek, cząsteczki adhezyjne, przerzuty nowotworowe.

Summary: Prostate cancer is the second most common malignancy in men worldwide. Early diagnosis of the disease makes the therapy possible however patients with metastasis have a much lower recovery chance. *In vitro* studies carried out worldwide in the last decade, have raised hopes of solving the problem of the molecular mechanism of metastases, but despite many experiments some aspects of the metastasis process still remain unclear. In this review we present recent information on the prostate cancer cell lines PC3, DU145 and LNCaP, derived from bone, brain, and lymph node metastases, respectively. The

*Praca finansowana z grantu CMKP NR 501-2-1-23-26/05.

characterization of membrane receptors, including cell adhesion molecules is described. We also demonstrate the putative mechanisms of migration, apoptosis and hormonal growth regulation of the above-mentioned cells.

Key words: prostate cancer, DU145, PC3, LNCaP, cell adhesion, cell adhesion molecules, cancer metastasis.

WSTĘP

Gruczoł krokowy (stercz, prostata) jest narządem, który w męskiej populacji często ulega procesom chorobowym. Podczas gdy u młodych mężczyzn schorzeniem dominującym stercza jest zapalenie gruczołu krokowego (*prostatitis*), to u osób starszych (po 40 roku życia) częściej występuje łagodny rozrost stercza (BPH, ang. *benign prostate hyperplasia*) i nowotwór złośliwy gruczołu krokowego (PCa, ang. *prostate cancer*) [37,38,65]. Należy zaznaczyć, że żadne z tych schorzeń nie wyklucza jednoczesnego wystąpienia drugiego.

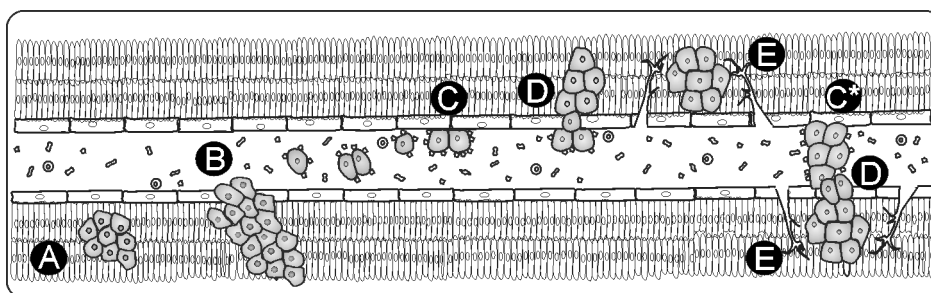
Przebieg procesu nowotworzenia w raku stercza jest trudny do przewidzenia. Zazwyczaj choroba rozpoczyna się od pojedynczego ogniska zlokalizowanego w zewnętrznej części gruczołu. W takiej postaci nie daje objawów i nazywa się stadium ograniczonym do narządu. Po pewnym czasie nowotwór rozrasta się, nacieka stercz i tkanki okołosterczowe, przechodząc w stan określany mianem raka miejscowo zaawansowanego. W tym czasie chory zaczyna odczuwać dolegliwości podobne do takich jak w łagodnym przerostie gruczołu krokowego, tj. częstomocz, parcia naglące i trudności w oddawaniu moczu. Z czasem komórki raka stercza mogą naciekać okoliczne tkanki, przemieszczać się drogą naczyń krwionośnych i limfatycznych do innych miejsc organizmu i tworzyć tam przerzuty. Wykazano, że wtórne ogniska przerzutowe są najczęstszą przyczyną zgonu pacjentów cierpiących na raka gruczołu krokowego [54].

W krajach wysoko rozwiniętych rak stercza jest najczęściej stwierdzanym nowotworem złośliwym. Według danych American Cancer Society, w 2004 roku rozpoznano w USA 230 000 nowych przypadków raka gruczołu krokowego; okazało się, że nowotwór ten był przyczyną śmierci ponad 30 000 mężczyzn, co klasyfikuje go na drugim po raku płuc miejscu pod względem śmiertelności [33]. Wczesne wykrycie tego nowotworu pozwala na skuteczną terapię, jednak u chorych ze stwierdzonymi przerzutami szanse na wyleczenie znacznie maleją.

Celem tego artykułu jest przedstawienie aktualnego stanu badań *in vitro* nad rakiem stercza oraz charakterystyka trzech klasycznych linii komórkowych PC3, DU145 i LNCaP, wykorzystywanych przez ostatnie trzy dekady w tych badaniach.

MECHANIZM POWSTAWANIA PRZERZUTÓW NOWOTWOROWYCH

Powstawanie przerzutów jest procesem wieloetapowym, w którym właściwości adhezywne oraz zdolność komórek nowotworowych do aktywnego ruchu są ważnymi



RYCINA 1. Schemat powstawania przerzutów nowotworowych (objaśnienia w tekście)

czynnikami determinującymi ich inwazyjność. Badania *in vitro* nad szczurzymi liniami komórkowymi raka stercza różniącymi się inwazyjnością przeprowadzone przez zespół Korohody i Madei pokazały, że oddziaływania homotypowe między komórkami nowotworowymi oraz oddziaływania heterotypowe między komórkami nowotworowymi a prawidłowymi powodują wzrost średniej prędkości migracji komórek raka [41,43].

Opierając się na wynikach badań klinicznych i doświadczalnych można przyjąć, że mechanizm powstawania przerzutów jest podobny w przypadku różnych nowotworów. Początkowo rozwijający się nowotwór nie nacieka sąsiadujących tkanek (stadium przedinwazyjne) (ryc. 1 A). Tworzenie przerzutów zapoczątkowuje inwazja sąsiednich tkanek, co jest związane z zanikiem połączeń między komórkami guza. Komórki rozpoczynają aktywną migrację przechodząc przez błonę podstawną, po czym przedostają się do naczyń krwionośnych lub limfatycznych (intrawazacja) (ryc. 1 B). Uwolnione z guza komórki są przenoszone biernie przez krew do odległych miejsc w organizmie, gdzie adherują specyficznie do komórek śródbłonna naczyń (ryc. 1 C) lub zostają mechanicznie zatrzymane w naczyniach włosowatych, gdzie mogą tworzyć zatory (ryc. 1 C*). W miejscu zatrzymania dochodzi do adhezji między komórkami nowotworowymi a komórkami śródbłonna, następnie komórki rakowe przemieszczają się między komórkami śródbłonna i wydostają się z naczynia (ekstrawazacja) (ryc. 1 D). Pod wpływem wielu czynników obecnych w miejscu, do którego przedostały się komórki, zaczynają one proliferować i tworzyć wtórne ogniska nowotworowe [52,66], a w guzach o średnicy większej niż 0,2 cm dochodzi do procesu angiogenezy, co pozwala na dalszy rozrost tkanki nowotworowej [19] (ryc. 1 E).

Molekularny mechanizm tłumaczący, dlaczego rak gruczołu krokowego daje przerzuty w określone miejsca organizmu, nie został dotąd wyjaśniony. Powszechnie znana i akceptowana jest teoria „ziarna i gleby” (ang. „Seed and Soil”). Według niej komórki nowotworowe (nasiona) krążą w organizmie, zakotwiczą się i namnażają tam, gdzie znajdą najlepsze warunki do wzrostu (gleba) [47]. W zaawansowanym stadium choroby przerzuty rozwijają się głównie w kościach, ale także w węzłach chłonnych, mózgu, wątrobie i płucach. Wśród pacjentów, którzy umarli z powodu raka stercza, stwierdzono obecność przerzutów do kości aż u 90% chorych [48].

LINIE KOMÓRKOWE RAKA GRUCZOŁU KROKOWEGO

Badania *in vitro* nad liniami komórkowymi pochodzącymi z raka stercza trwają już od dwóch dziesięcioleci i są źródłem wiedzy na temat patogenezы tego nowotworu. Opisano kilkaset linii komórkowych wyprowadzonych z guza pierwotnego oraz z przerzutów [57]. Szczególnie intensywnie badane są trzy niżej wymienione linie komórkowe pochodzenia nabłonkowego, wyizolowane z najczęstszych miejsc przerzutów:

PC3 – linia po raz pierwszy opisana przez Kaighna [34]. Komórki tej linii wywodzą się z przerzutów do kości i charakteryzują się dużą inwazyjnością (stadium IV) [67];

DU145 – linia pochodząca z przerzutów do mózgu wyizolowana przez Stone'a [59]. Komórki tej linii charakteryzują się stosunkowo małą inwazyjnością w porównaniu z komórkami PC3 (stadium II) [57,67];

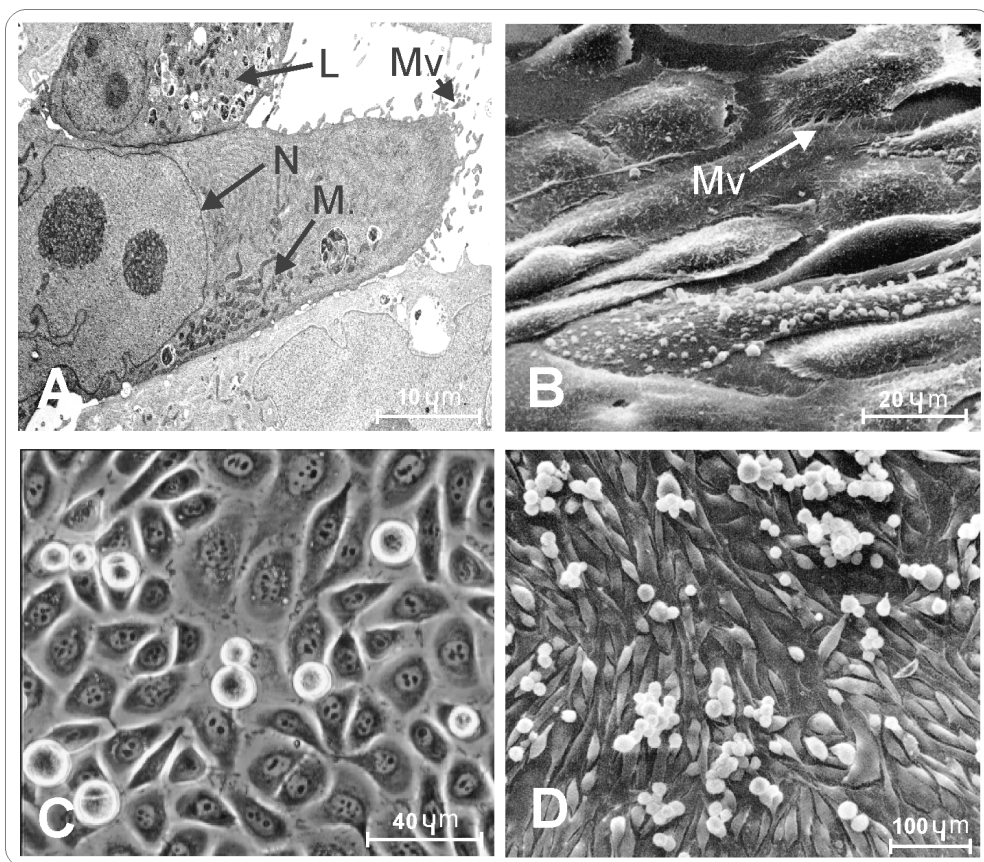
LNCaP – linia komórek wyizolowanych po raz pierwszy przez Horoszewicza z przerzutów raka gruczołu krokowego do nadobojczykowego węzła chłonnego [27]. W badaniach *in vitro* charakteryzują się one stosunkowo powolnym wzrostem [67].

Komórki tych linii różnią się zarówno stopniem inwazyjności, jak i wrażliwością na leczenie hormonalne (PC-3, DU-145-linie niewrażliwe na terapię hormonalną, linia LNCaP-wrażliwa) i wydają się być dobrym modelem do badań *in vitro* nad rakiem stercza.

MORFOLOGIA KOMÓREK PC3, DU145 I LNCaP

Komórki opisywanych linii wykazują morfologię charakterystyczną dla komórek nowotworowych pochodzenia nabłonkowego, o czym świadczy ekspresja specyficznych cytokeratyn 8 i 18, brak desminy i czynnika VIII [67]. Morfologię komórek raka stercza przedstawiono na przykładzie komórek PC3 (ryc. 2). Wspólną cechą nowotworowych linii raka gruczołu krokowego jest obecność w komórkach anormalnych jąder, jąderek oraz mitochondriów. W cytoplazmie zwraca uwagę obecność ziarnistości i ciał tłuszczowych oraz duża liczba lizosomów i mitochondriów (ryc. 2 A), co świadczy o intensywnym metabolizmie typowym dla komórek nowotworowych. Na zdjęciach z mikroskopu elektronowego widoczne są liczne charakterystyczne mikrowypustki (ryc. 2 A,B). W hodowlach *in vitro* komórki PC3, DU145 i LNCaP wykazują brak inhibicji kontaktowej, co prowadzi do wielowarstwowego wzrostu (ryc. 2 C,D). Wynika to przede wszystkim z różnic w budowie błony komórek prawidłowych i nowotworowych (np. odmienna glikozylacja białek i lipidów).

Stwierdzono, że w procesie powstawania przerzutów nowotworowych kluczową rolę odgrywają oddziaływania między komórkami nowotworowymi, między komórkami nowotworowymi a komórkami prawidłowymi oraz między komórkami nowotworowymi a macierzą zewnątrzkomórkową [42,68]. Oddziaływania te prowadzą do adhezji komórek, a receptory błonowe w nich uczestniczące zidentyfikowano zarówno na powierzchni komórek normalnych, jak i nowotworowo zmienionych.



RYCINA 2. Morfologia komórek raka stercza (linia PC3). Obraz otrzymany z zastosowaniem mikroskopii elektronowej (A), widoczne organelle komórkowe (N – jądro, M – mitochondria, L – lizosomy, Mv – mikrowypustki); obraz otrzymany z zastosowaniem mikroskopii skaningowej (B), widoczne mikrowypustki komórek (Mv); obraz otrzymany z zastosowaniem metody kontrastu fazowego (C); obraz otrzymany z zastosowaniem mikroskopii skaningowej (D). Mikrofotografie A, B, D zmodyfikowane wg [34] i C wg A. Stachurska [nieopublikowane]

RECEPTORY KOMÓREK RAKA GRUCZOŁU KROKOWEGO

Cząsteczki adhezyjne

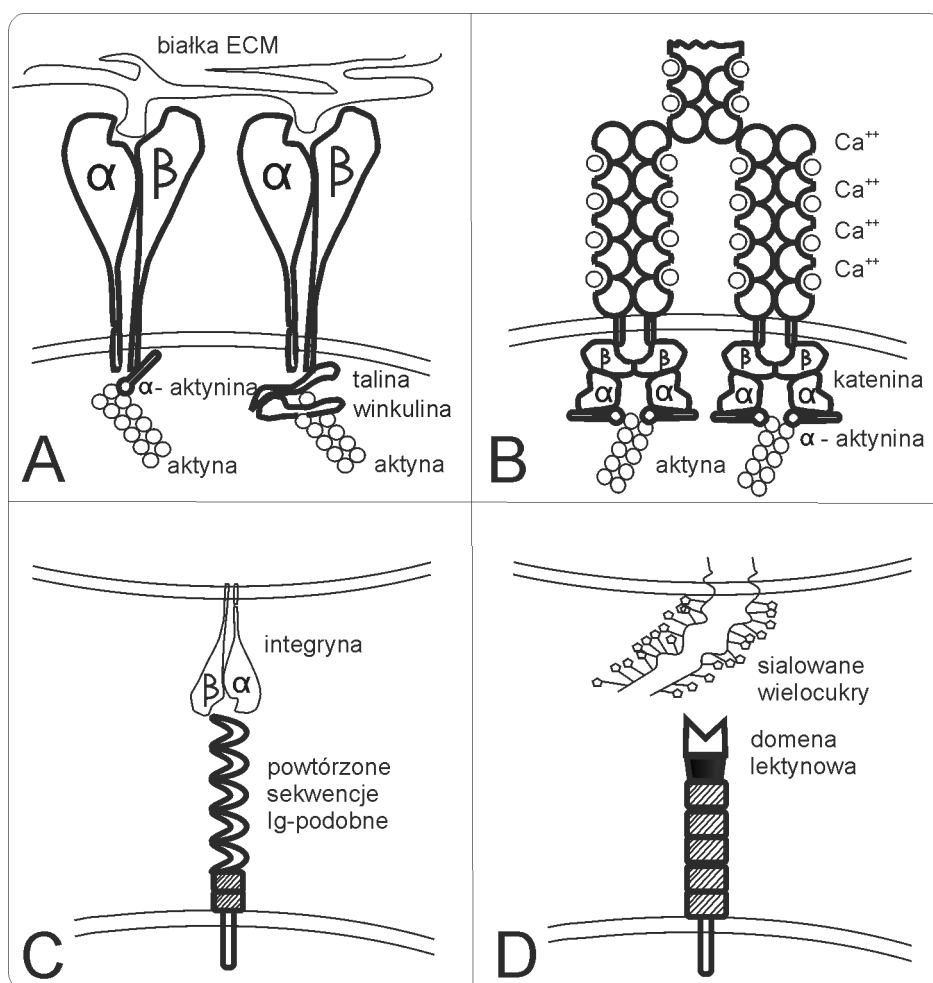
Na każdym etapie procesu powstawania przerzutów raka stercza istotną rolę odgrywają cząsteczki adhezyjne (CAM, ang. *cell adhesion molecules*). Na powierzchni komórek PC3, DU145 i LNCaP zidentyfikowano wiele typów CAM (tab. 1) należących do rodzin integryn, kadheryn i białek typu immunoglobulin. Rozmieszczenie i aktywność wyżej wymienionych cząsteczek decydują o procesie adhezji. Na żadnej z opisywanych linii komórkowych nie stwierdzono obecności selektyn.

Integryny – zbudowane są z dwóch połączonych niekowalencyjnie podjednostek α i β . W każdej z nich znajdują się trzy domeny: duża zewnątrzkomórkowa (aminotermini-

TABELA 1. Występowanie cząsteczek adhezyjnych na powierzchni komórek raka stercza linii PC3, DU145 i LNCaP [3,4,7,10,13,20,30,36,45,50,56,58,62–65,70]

Cząsteczki adhezyjne	Ligandy	Komórki raka stercza		
		PC3	DU145	LNCaP
Integryny				
$\alpha_{IIb}\beta_3$	fibronektyna, fibrynogen, trombospondyna, witronektyna	+	+	brak danych-
$\alpha_v\beta_1$	fibronektyna, osteopontyna	+	+	—
$\alpha_v\beta_3$	fibronektyna, fibrynogen, kolagen , laminina, osteonektyna, osteopontyna, trombospondyna witronektyna	+	+	+
$\alpha_v\beta_5$	osteonektyna, osteopontyna, witronektyna	+	—	—
$\alpha_2\beta_1$	kolagen, laminina	+	+	+
$\alpha_3\beta_1$	epiligryna, fibronektyna, inwazyjna, kolagen, laminina	+	+	+
$\alpha_5\beta_1$	fibronektyna, inwazyjna	+	+	+
$\alpha_6\beta_4$	laminina, osteopontyna, witronektyna	+	+	+
Kadheryny				
E-Kadheryny	adhezja homotypowa	+	+	+
N-Kadheryny	adhezja heterotypowa	+	—	—
P-Kadheryny	adhezja heterotypowa	+	+	—
Białka z rodziny immunoglobulin				
ALCAM	CD6, adhezja homotypowa	—	+	+
ICAM-1	LFA-1, MAC 1	+	+	—
Selektyny	-	—	—	—

nalna), transbłonowa i mała wewnątrzkomórkowa (karboksyterminalna) [1,30]. Część zewnątrzkomórkowa może wiązać się z białkami macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM, ang. *extracellular matrix*) i białkami błony podstawnej (fibronektyną, witronektyną, trombospondyną, lamininą i kolagenem) oraz z receptorami komórek śródbłoka – VCAM (ang. *vascular cell adhesion molecules*). Część wewnątrzkomórkowa wiąże się z cytoszkieletem aktynowym komórki przez białka pośredniczące, takie jak: talina, winkulina i α -aktynina (ryc. 3 A). Wyjątek stanowi integryna $\alpha_6\beta_4$ wiążąca się do filamentów pośrednich, której obecność stwierdzono w hemidesmosomach [20,58]. W wyniku interakcji domeny aminoterminalnej z określonym ligandem dochodzi do grupowania się i zwiększonej aktywności receptorów integrynowych. Następuje reorganizacja cytoszkieletu, komórka zmienia kształt i rozpląszcza się (ang. *spreading*). W efekcie dochodzi do utworzenia włókien naprężeniowych oraz kontaktów zogniskowanych [55]. W doświadczeniach polegających na usunięciu wewnątrzkomórkowej



RYCINA 3. Schemat budowy cząsteczek adhezyjnych: integryny (A), kadheryny (B), białka z rodziny immunoglobulin (C), selektyny (D)

domeny integryn wykazano, że w komórkach nowotworowych, podobnie jak w normalnych, dochodzi do interakcji integryny z ligandem, nie zachodzi jednak dalsza część kaskady sygnałowej prowadzącej do powstania kontaktów zogniskowanych [2]. Integryny oprócz udziału w adhezji, funkcjonują jak klasyczny receptor błonowy i w sposób aktywny przekazują sygnał do wnętrza komórki [18,45]. Wtórnymi przekazywaczami sygnału integrynowego są cytoplazmatyczne kinazy MAPK (ang. *mitogen-activated protein kinase*) i FAK (ang. *focal adhesion kinase*). W niezmienionych nowotworowo komórkach aktywność tych kinaz decyduje o prawidłowym przebiegu kluczowych procesów, takich jak: migracja, różnicowanie i apoptoza. Komórki raka stercza wykazują zwiększoną aktywność MAPK i FAK, co powoduje zahamowanie procesu apoptozy i wzrost zdolności do migracji [20].

Kadheryny – są to transbłonowe glikoproteiny, których funkcja zależy od jonów Ca^{+2} . Ich domeny zewnątrzkomórkowe odpowiadają za homotypowe oddziaływania z kadherynami powierzchni innych komórek. Po wewnętrznej stronie błony komórkowej kadheryny oddziałują z cytoszkieletem przez białka – kateniny (ryc. 3 B). E-kadheryny odgrywają istotną rolę w początkowych etapach powstawania przerzutu, gdyż odpowiedzialne są za oddziaływania adhezyjne między komórkami nowotworowymi guza pierwotnego [42,63]; wysoka ekspresja E-kadheryn zapobiega odrywaniu się komórek [60]. Pokazano, że w komórkach raka stercza spadek ekspresji E-kadheryny i wzrost ekspresji N-kadheryn wiąże się ze zwiększoną zdolnością do tworzenia przerzutów [7,63]. Do zwiększenia inwazyjności komórek raka gruczołu krokowego mogą prowadzić także zaburzenia w funkcjonowaniu białek, takich jak kateniny [29,45].

Białka z rodziny immunoglobulin – zalicza się do nich cząsteczki adhezyjne, takie jak: ALCAM (ang. *activated leukocyte cell adhesion molecule*) i ICAM-1 (ang. *intercellular adhesion molecules*), które w swojej budowie zawierają domenę Ig-podobną (ryc. 3 C). W komórkach linii DU145 i LNCaP cząsteczki ALCAM znaleziono w miejscach kontaktów komórek guza, gdzie odpowiadają one za homo- i heterotypowe oddziaływania adhezyjne. Komórki linii PC3, które charakteryzuje brak funkcjonalnej α -kateniny, syntetyzują białko ALCAM w cytoplazmie, jednak nie jest ono transportowane na powierzchnię błony komórkowej. Stwierdzono, że aktywność ALCAM jest warunkowana przez obecność w komórkach funkcjonalnych kompleksów E-kadheryn z α -kateninami. W doświadczeniach, polegających na transfekcji komórek PC3 prawidłowym genem α -kateniny, wykazano, że dochodzi do formowania kompleksów E-kadheryn z α -kateninami i transportu ALCAM do miejsc kontaktu komórka-komórka. Ponieważ zaobserwowano, że spadek ekspresji ALCAM na powierzchni komórek wiąże się ze wzrostem inwazyjności nowotworu, cząsteczka ta jest dobrym wskaźnikiem zaawansowania choroby u pacjentów [62]. Zarówno na komórkach PC3, jak i DU145 wykazano obecność ICAM-1, natomiast cząsteczki tej nie mają komórki LNCaP. Ponieważ ligandem ICAM-1 jest receptor LFA (ang. *lymphocyte function associated*) obecny na powierzchni limfocytów, istnieje przypuszczenie, że brak ICAM-1 chroni komórki LNCaP przed cytotoksycznym działaniem komórek odpornościowych obecnych w węzłach chłonnych.

Selektyny – należą do glikoprotein, zawierających domenę lektynową, rozpoznającą reszty węglowodanowe na powierzchni komórek (ryc. 3 D). Na komórkach raka stercza nie stwierdzono obecności selektyn [50], wykazano natomiast obecność sialowanych glikoprotein, zawierających antygen Lewisa (SLeX, ang. *sialyl Lewis X*) i będących ligandami dla selektyn. Oddziaływanie sialowanych glikoprotein komórek raka stercza z E-selektynami komórek śródbłonna, powoduje chwilowe zatrzymanie i słabą adhezję komórek nowotworowych [14,15]. Dzięki inicjującemu oddziaływaniu selektyn i sialowanych glikoprotein, w kolejnych etapach tworzenia przerzutu możliwa jest silna adhezja poprzez inne cząsteczki adhezyjne i ekstrawazacja komórek nowotworowych [46].

Receptory hormonów płciowych

Gruczoł krokowy podlega ścisłej regulacji hormonalnej. Stymulowane przez przysadkę komórki Leydiga znajdujące się w jądrach wydzielają testosteron, który przedostaje się do nabłonka gruczołowego stercza, przekształcając się w aktywny dihydrotestosteron (DHT, ang. *dihydrotestosterone*). Działając przez receptor dla androgenów (AR, ang. *androgen receptor*) DHT wpływa na syntezę białek indukując odpowiedź komórek nabłonkowych. Receptor AR jest jednym z czynników transkrypcyjnych, który po związaniu liganda stymuluje ekspresję genów odpowiedzialnych za rozwój i proliferację komórek [16].

W początkowych stadiach raka gruczołu krokowego, kiedy komórki wykazują mały stopień zróżnicowania, rozwój nowotworu uzależniony jest od obecności hormonów płciowych. W późniejszych stadiach komórki stają się androgeno-niezależne [17,32].

Opisywane linie komórkowe wykazują różną wrażliwość na wymienione hormony. Jedynie komórki LNCaP mają funkcjonalne receptory androgenów. Na skutek punktowej mutacji w genie receptora jego aktywność w komórkach nowotworowych jest dużo wyższa niż w prawidłowych. W komórkach linii DU145 wykryto wysoką ekspresję nieaktywnego receptora AR, co jest najprawdopodobniej spowodowane zmianą w obrębie domeny wiążącej, która uniemożliwia połączenie z ligandem. Natomiast komórki linii PC3 wykazują znikomą ekspresję prawidłowego receptora AR, dlatego testosteron nie ma wpływu na ich wzrost [67].

Synergistycznie z androgenami na funkcjonowanie gruczołu krokowego mają wpływ także estrogeny (estron i 17- β -estradiol), które regulują wzrost i różnicowanie komórek [16]. Pomimo to, że w badaniach *in vitro* wykazano hamujący wpływ estradiolu na wzrost komórek PC3, to zarówno w cytoplazmie komórek tej linii, jak i DU145 i LNCaP nie stwierdzono obecności receptora ER (ang. *Estrogen receptor*) [26]. Wyniki prac poświęconych obecności receptora w komórkach raka stercza są jednak często sprzeczne, a zagadnienie to wymaga dalszych badań [26, 28, 40].

Receptory czynników wzrostu

TGF- β – spośród pięciu opisanych klas transformującego czynnika wzrostu (TGF, ang. *transforming growth factor*), w komórkach raka stercza PC3 i DU145 znaleziono receptory dla TGF- β 1. Badania *in vitro* wykazały, że TGF- β 1 nie ma wpływu na wzrost androgeno-zależnej linii komórek LNCaP, natomiast w stopniu zależnym od dawki hamuje on rozwój komórek PC3 i DU145 [8,67]. Komórki tych dwóch linii mają także zdolność do syntezy i wydzielania aktywnej formy TGF- β 1 [5,12].

EGF i TGF- α – oba czynniki działają poprzez receptor nabłonkowego czynnika wzrostu (EGF, ang. *epidermal growth factor*), który zidentyfikowano na powierzchni komórek linii PC3, DU145, LNCaP. Wykazano, że komórki te mają zdolność do endogennej syntezy EGF i TGF- α [67], i że oba te czynniki po związaniu z receptorem EGF stymulują wzrost komórek. W przypadku androgeno-zależnej linii LNCaP, uwrażliwienie komórek na autokrynne czynniki wzrostowe możliwe jest dopiero po stymulacji hormonami płciowymi, gdyż dochodzi wówczas do zwiększenia ekspresji receptora [4,8].

IGF – spośród dwóch typów receptorów wiążących insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF, ang. *insulin-like growth factor*), w regulację proliferacji komórek gruczołu krokowego zaangażowany jest receptor wiążący prawie wyłącznie IGF-I. Wykazano, że IGF-I stymuluje proliferację komórek PC3 i DU145, natomiast nie zaobserwowano stymulacji w przypadku komórek LNCaP [67].

FGF – komórki raka stercza linii PC3 i DU145 syntetyzują endogenne czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, ang. *fibroblast growth factor*). Na ich powierzchni obecny jest receptor dla tej cząsteczki. Okazało się, że tylko komórki linii DU145 odpowiadają na FGF intensywniejszą proliferacją, natomiast w hodowlach PC3 czynnik ten nie wywołuje takiego efektu [4,67]. Aktywacja receptora dla czynnika FGF (FGFR1) jest istotna we wczesnym stadium nowotworzenia [39]. Stymulacja komórek poprzez FGF powoduje aktywację czynnika wzrostu śródbłónka naczyń (VEGF, ang. *vascular endothelium growth factor*) indukującego angiogenezę [21].

ADHEZJA I MIGRACJA KOMÓREK RAKA GRUCZOŁU KROKOWEGO

W procesie powstawania przerzutów komórki raka stercza migrują z ogniska pierwotnego do kości, węzłów chłonnych, płuc, wątroby i mózgu. Zbadano, że u większości pacjentów głównym miejscem inwazji nowotworowej jest mikrośrodowisko szpiku [36]. Molekularne i komórkowe mechanizmy procesu nowotworzenia nie są dobrze poznane. Podczas rozrostu guza pierwotnego w komórkach położonych w strefie brzegowej dochodzi do zmniejszenia ekspresji E-kadheryn i wzrostu ekspresji N-kadheryn [51,61]. Prowadzi to do zmniejszenia oddziaływania pomiędzy komórkami nowotworowymi i zwiększenia oddziaływania komórek nowotworowych z komórkami otaczającej je mezenchymy, co powoduje odrywanie pojedynczych komórek od guza pierwotnego. W kolejnym etapie powstawania przerzutu istotną rolę odgrywa trombina, która przedostaje się do tkanki otaczającej nowotwór na skutek zjawiska opisanego jako „przeciekanie” śródbłónka [9]. Zarówno na komórkach raka gruczołu krokowego, jak i śródbłónka wykazano obecność receptora trombiny (PAR, ang. *platelet activated receptor*). Aktywacja PAR na powierzchni komórek raka stercza powoduje wzrost adhezji do białek macierzy oraz wydzielanie metaloproteinaz (MMP, ang. *matrix metalloproteinases*), kolagenazy, stromalizyny, gelatynazy [9]. Enzymy te trawią ECM oraz błonę podstawną, co pozwala na migrację komórek nowotworowych do światła naczyń krwionośnych lub limfatycznych. Aktywacja białka PAR na powierzchni komórek nowotworowych powoduje również wzrost ekspresji integryn, takich jak: $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ i $\alpha_v\beta_3$. Integryny te zidentyfikowano także na powierzchni płytek krwi. Ligandami $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ oraz $\alpha_v\beta_3$ są białka odpowiedzialne za krzepnięcie krwi (fibryna, fibrynogen) [6,64]. Białka te pośredniczą w oddziaływaniu komórek nowotworowych z płytkami krwi, co prowadzi do powstawania heterogennych, wielokomórkowych agregatów. Utworzenie agregatów umożliwia komórkom nowotworowym przeżycie, gdyż chroni je przed odpowiedzią

immunologiczną oraz działaniem sił fizycznych powodowanych przez warunki hydrodynamiczne panujące w układzie krążenia [6]. Podczas procesu nowotworowego w organizmie rozwija się ogólnoustrojowy stan zapalny. Efektem tego jest wzrost stężenia cytokin prozapalnych w krwi obwodowej. Wykazano, że cząsteczki, takie jak: TNF- α stymulują komórki śródbłónka naczyń do zwiększonej ekspresji E-selektyn i cząsteczek VCAM [12]. Na powierzchni komórek raka gruczołu krokowego ligandami E-selektyn śródbłónka są glikoproteiny, takie jak: PSGL-1 (ang. *P-selectin glycoprotein ligand-1*), zawierające antygen SLeX [15]. Dzięki oddziaływaniom E-selektyn i sialowanych glikoprotein może dojść do „toczenia się” (*rolling*) komórek nowotworowych po warstwie komórek śródbłónka [14]. W wyniku zbliżenia komórek nowotworowych do komórek śródbłónka na odległość około 20 nm może dojść do początkowo słabych (*docking*), a następnie silnych oddziaływań adhezyjnych (*locking*) [46]. W pierwszym etapie adhezji (*docking*) istotną rolę odgrywa oddziaływanie domeny węglowodanowej antygeny Thomsena-Friedenreicha komórek raka stercza z galektyną-3 komórek śródbłónka [23]. Dalszy etap tworzenia silnej adhezji obejmuje oddziaływanie integryn komórek nowotworowych z VCAM komórek śródbłónka. Następnie komórki nowotworowe przemieszczają się między komórkami śródbłónka, adherują do białek ECM i migrują do miejsc, gdzie mogą utworzyć wtórne ognisko [52].

Pod wpływem czynników chemotaktycznych zaadherowane komórki nowotworowe mogą rozpocząć migrację do kości, a wzmożona aktywność PAR i MMPs umożliwia przechodzenie komórek nowotworowych przez śródbłonek [9]. Do rozwoju guza wtórnego przyczyniają się także komórki obecne w mikrośrodowisku kości (osteoblasty i osteoklasty). Dostarczają one komórkom nowotworowym niezbędnych czynników angiogennych, adhezyjnych i wzrostowych [31,69].

Przy tworzeniu przerzutów do kości, w przypadku silnej adhezji komórek raka gruczołu krokowego do śródbłónka naczyń odbywającej się z udziałem integryn, podkreśla się znaczenie dimerów zawierających podjednostki β_1 [12,14,20,56]. Duża liczba cząstek TGF- β w kostnej ECM stymuluje komórki raka stercza do ekspresji integryny $\alpha_2\beta_1$ (receptor kolagenu I). W efekcie komórki nowotworowe adherują do macierzy szpiku, utworzonej głównie z kolagenu I i osteopontyny. Rozwój komórek nowotworowych w kości wymaga aktywności osteoblastów i osteoklastów. Osteoblasty wydzielają szereg czynników wzrostowych (bFGF, PDGF, EGF, IGF I, IGF II, BMPs, TGF α), które bez osteolitycznej aktywności osteoklastów byłyby niedostępne dla komórek nowotworowych. Aktywacja osteoklastów przez komórki PCa powoduje bowiem resorpcję kości i uwalnianie czynników wzrostu, stymulujących podziały komórek nowotworowych i tworzenie przerzutów w kości [36].

Szczególną rolę w powstawaniu przerzutów raka gruczołu krokowego do kości przypisuje się integrynom $\alpha_v\beta_3$, które pośredniczą w adhezji i migracji komórek PC3 oddziałując z osteopontyną i witronektyną [9,13,44,70]. Integryny $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$ oraz $\alpha_v\beta_1$ są istotnymi receptorami pośredniczącymi w oddziaływaniu komórek PC3 z fibronektyną [3,20]. Porównując oddziaływanie komórek PC3 z fibronektyną, lamininą, kolagenem i transferyną, zaobserwowano największe powinowactwo tych komórek do lamininy, natomiast nie zaobserwowano adhezji do transferyny [10,11].

ZABURZENIA APOPTOZY KOMÓREK PC3, DU145 I LNCaP

Programowana śmierć komórek prawidłowych obejmuje szereg przemian biochemicznych (aktywacja kaspaz, wydzielanie cytochromu c, pojawienie się fosfatydyloseryny na powierzchni komórki) oraz morfologicznych (obkurczanie komórki, kondensacja chromatyny i rozpad jądra). Apoptoza może być zapoczątkowana przez czynniki fizjologiczne, takie jak: hormony, cytokiny, wirusy, niefizjologiczne czynniki chemiczne (cytostatyki, wolne rodniki tlenowe) oraz czynniki fizyczne (promieniowanie UV i jonizujące) [53].

W początkowym etapie programowanej śmierci, w zależności od rodzaju bodźca i typu komórki, aktywowane są odpowiednie drogi sygnałowe: zewnątrzkomórkowa, indukowana przez ligand Fas oraz wewnątrzkomórkowa kaskada sygnałowa indukowana przez czynniki fizyczne powodujące wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{2+} . Te szlaki przekazywania sygnału prowadzą do aktywacji efektorowych kaspaz, fragmentacji DNA i śmierci komórki. Nieprawidłowo funkcjonujące szlaki apoptozy w komórkach mogą powodować transformację nowotworową. Badania ostatnich lat skoncentrowane na zrozumieniu molekularnych podstaw apoptozy mogą przyczynić się do zastosowania właściwej terapii nowotworów [35,53].

Linie komórkowe raka stercza, których wzrost nie zależy od hormonów płciowych (PC3 i DU145), wykształciły szereg mechanizmów uniemożliwiających prawidłowy przebieg apoptozy. Zaburzenia te związane są m.in. z nadekspresją białek antyapoptotycznych Bcl_{xl} oraz Bcl-2 (ang. *B-cell leukemia/lymphoma*) [48]. Wymienione proteiny hamują apoptozę indukowaną przez wydzielanie wewnątrzkomórkowego Ca^{2+} z ER oraz blokują uwalnianie cytochromu c i czynnika AIF (ang. *apoptosis inducing factor*) do cytoplazmy. W efekcie prowadzi to do inaktywacji kaspazy 3 i 9 oraz do braku degradacji lamininy. W komórkach raka stercza niewrażliwych na terapię hormonalną stwierdzono też zwiększoną ekspresję kinazy IKK (ang. *IκB kinase*), wpływającej na wzrost aktywności czynnika transkrypcyjnego NF-κB (ang. *nuclear factor κB*) [22]. Czynnikiem ten jest regulatorem funkcji wielu białek przeżycia, takich jak: TRAF-1, TRAF-2 (ang. *TNF-R-associated factor*), Bcl-2, czy IAP (ang. *inhibitory apoptosis protein*). Oprócz funkcji antyapoptotycznych wpływa on także na proces angiogenezy i na inwazję komórek nowotworowych, powodując wzrost transkrypcji genów IL-8, VEGF oraz metaloproteinaz [24]. Z progresją nowotworową związany jest także wzrost aktywności kinazy Akt hamującej apoptozę poprzez inaktywację białek Bad (ang. *Bcl-2 antagonist of cell death*) i kaspazy 9. Podwyższony poziom mRNA białka Akt obserwuje się w komórkach PC3 i DU145. Aktywacja drogi sygnałowej prowadzącej poprzez kinazy PI3K (ang. *phosphatidylinositol 3-kinase*) i Akt prowadzi do inaktywacji genów w receptorach AR [24].

Zahamowanie apoptozy w komórkach raka gruczołu krokowego może być również związane z inaktywacją czynników supresorowych: PTEN, p53, Bin1 oraz PAR4. Jednym z wiodących regulatorów cyklu komórkowego, apoptozy i różnicowania jest p53, którego brak lub mutacje prowadzą w komórkach PC3 i DU145 do nadmiernej proliferacji oraz hormonooporności [49]. Czynnikiem ten powoduje wzrost aktywności

genów p21/WAF 1, bax fas/apo1, co prowadzi do zahamowania apoptozy [25]. W komórkach PC3 i DU145 obserwuje się też zredukowaną ekspresję supresora Bin 1, który hamuje transformację nowotworową poprzez oddziaływania z czynnikiem c-myc. Bin 1 wpływa na apoptozę niezależną od kaspaz, tj. na obkurczanie komórki, wakuolizację cytoplazmy i degradację DNA. Jest on również induktorem śmierci komórek nowotworowych, w których amplifikowany jest czynnik c-myc [24].

W przypadku komórek LNCaP, których wzrost zależy od hormonów płciowych, ogólny mechanizm apoptozy jest podobny, zaobserwowano jednak pewne różnice dotyczące początkowego etapu procesu [48].

Na przebieg apoptozy w komórkach raka stercza ma także wpływ czynnik wzrostu TGF- β 1. Hamuje on wzrost komórek nowotworowych głównie pochodzenia nabłonkowego poprzez wpływ na poziom inhibitorów cyklin p15, p21 oraz p27. Komórki raka gruczołu krokowego (PC3, DU145) unikają apoptozy indukowanej przez TGF- β 1 poprzez utratę funkcjonalnych receptorów dla tego czynnika [5].

PODSUMOWANIE

Na podstawie prac omówionych w tym artykule można stwierdzić, że wyniki badań *in vitro*, przeprowadzanych przez ostatnie lata nad rakiem stercza, w znacznym stopniu przybliżają nas do poznania molekularnego mechanizmu powstawania przerzutów. Jednak liczne aspekty tego procesu pozostają niewyjaśnione i wymagają dalszych badań.

LITERATURA

- [1] ALBELDA S. Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumor progression and metastasis. *Lab Invest* 1993; **68**: 4–17.
- [2] ALBERTS B, BRAY D, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WATSON JD. Cells junctions, cell adhesion, and the extracellular matrix. *Molecular biology of the cell*. New York, London: Garland 1994: 995–999.
- [3] ALBRECHT M, RENNEBERG M, WENNEMUTH G, MOSCHER O, JANSEN M, AUMULLER G, KONRAD L. Fibronectin in human prostatic cells *in vivo* and *in vitro*: expression, distribution, and pathological significance. *Histochem Cell Biol* 1999; **112**: 51–61.
- [4] ANGELUCCI A, FESTUCCIA C, GRAVINA GL, MUZZI P, BONGHI L, VICENTINI C, BOLOGNA M. Osteopontin enhances the cell proliferation induced by the Epidermal Growth Factor in human prostate cancer cells. *Prostate* 2004; **59**: 157–166.
- [5] BARRACK ER. TGF- β in prostate cancer: a growth inhibitor that can enhance tumorigenicity. *Prostate* 1997; **30**: 61–70.
- [6] BIGGERSTAFF JP, SETH N, AMIRKHOSRAVI A, AMAYA M, FAOGARTY S, MEYER TV, SIDDIQUI F, FRANCIS JL. Soluble fibrin augments platelet/tumor cell adherence *in vitro* and *in vivo*, and enhances experimental metastasis. *Clin Exp Metastasis* 1999; **17**: 723–730.
- [7] BUSSEMAKERS MJG, van BOKHOVEN A, TOMITA K, JANSEN CFJ, SCHALKEN JA. Complex cadherin expression in human prostate cancer cells. *Int J Cancer* 2000; **85**: 446–450.
- [8] CONNOLLY JM, ROSE DP. Autocrine regulation of DU145 human prostate cancer cell growth by epidermal growth factor-related polypeptides. *Prostate* 1991; **19**: 173–180.
- [9] COOPER CR, CHAY CH, GENDERNALIK JD, LEE HL, BHATIA J, TAICHMAN RS, McCAULEY LK, KELLER ET, PIENIA JK. Stromal factors involved in prostate carcinoma metastasis to bone. *Cancer* 2003; **97**: 739–747.

- [10] COOPER CR, PIENIA KJ. Cell adhesion and chemotaxis in prostate cancer metastasis to bone: a minireview. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2000; **3**: 6–12.
- [11] COOPER CR, McLEAN L, WALSH M, TAYLOR J, HAYASAKA S, BHATIA J, PIENIA KJ. Preferential adhesion of prostate cancer cells to bone is mediated by binding to bone marrow endothelial cells as compared to extracellular matrix components *in vitro*. *Clin Cancer Res* 2000; **6**: 4839–4847.
- [12] COOPER CR, BHATIA J, MUENCHEN HJ, McLEAN L, HAYASAKA S, TAYLOR J, PONCZA PJ, PIENIA JK. The regulation of prostate cancer cell adhesion to human bone marrow endothelial cell monolayers by androgen dihydrotestosterone and cytokines. *Clin Exp Metastasis* 2002; **19**: 25–33.
- [13] DE S, CHEN J, NARIZHEVA NV, HESTON W, BRAINARD J, SAGE EH, BYZOVA TV. Molecular pathway for cancer metastasis to bone. *J Biol Chem* 2003; **278**: 39044–39050.
- [14] DIMITROFF CJ, LECHPAMMER M, LONG-WOODWARD DL, KUTOK JL. Rolling of human bone-metastatic prostate tumor cells on human bone marrow endothelium under shear flow is mediated by E-selectin. *Cancer Res* 2004; **64**: 5261–5269.
- [15] DIMITROFF CJ, DESCHENY L, TRUILO N, KIM R, NGUYEN V, HUANG W, PIENIA K J, KUTOK JL, RUBIN MA. Identification of leukocyte E-selectin ligands, P-selectin glycoprotein ligand-1 and E-selectin ligand-1, on human metastatic prostate tumor cells. *Cancer Res* 2005; **65**: 5750–5760.
- [16] DOROBK W. Zagadnienia endokrynologiczne. W: Choroby gruczołu krokowego. Borkowski A, Borówka A (red.) PZWL Warszawa: 1997: 35–40.
- [17] EDWARDS J, BARTLETT JMS. The androgen receptor and signal-transduction pathways in hormone-refractory prostate cancer. Part 1: modifications to the androgen receptor. *BJU Int* 2005; **95**: 1320–1326.
- [18] FELDING-HABERMANN B. Integrin adhesion receptors in tumor metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2003; **20**: 203–213.
- [19] FOLKMAN J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990; **82**: 4–6.
- [20] FORNARO M, MANES T, LANGUINO LR. Integrins and prostate cancer metastases. *Cancer Metastasis Rev* 2001; **20**: 321–331.
- [21] FREEMAN KW, GANGULA RD, WELM BE, OZEN M, FOSTER BA, ROSEN JM, ITTMAN M, GREENBER NM, SPENCER DM. Conditional activation of Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR) 1, but not FGFR2, in prostate cancer cells leads to increased osteopontin induction, extracellular signal-regulated kinase activation, and *in vivo* proliferation. *Cancer Res* 2003; **63**: 6237–6243.
- [22] GASPARIAN AV, YAO YJ, KOWALCZYK D, LYAKH L, KARSELADZE A, SLAGA TJ, BUDUNOVA I. The role of IKK in constitutive activation of NF- κ B transcription factor in prostate carcinoma cells. *J Cell Sci* 2002; **115**: 141–151.
- [23] GLINSKY VV, GLINSKY GV, RITTENHOUSE-OLSON K, HUFLEJT F E, GLINSKII OV, DEUTSCHER VL, QUINN TP. The role of Thomsen-Friedenreich antigen in adhesion of human breast and prostate cancer cells to the endothelium. *Cancer Res* 2001; **61**: 4851–4857.
- [24] GURUMURTHY S, VASUDEVAN K M, RANGNEKAR VM. Regulation of apoptosis in prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2001; **20**: 225–243.
- [25] HARA I, MIYAKE H, HARE S, ARAKAWA S, KAMIDONO S. Differential involvement of the Fas receptor/ligand system in p53-dependent apoptosis in human prostate cancer cells. *Prostate* 2000; **45**: 341–349.
- [26] HOBISCH A, HITTMAIR A, DAXENBICHLER G, WILLE S, RADMAYR C, HOBISCH-HAGEN P, BARTSCH G, KLOCKER H, CULIG Z. Metastatic lesions from prostate cancer do not express oestrogen and progesterone receptors. *J Pathol* 1997; **182**: 356–361.
- [27] HOROSZEWICZ JS, LEONG SS, CHU TM, WAJSMAN ZL, FRIEDMAN M, PAPSIDERO L, KIM U, CHAI LS, KAKATI S, ARYA S K, SANDBERG AA. The LNCaP cell line a new model for studies on human prostatic carcinoma. *Prog Clin Biol Res* 1980; **37**: 115–132.
- [28] HORVATH LG, HENSCHALL SM, LEE C-S, HEAD DR, QUINN DI, MAKELA S, DELPRADO W, GOLOVSKY D, BRENNER PC, O'NEILL G, KOONER R, STRICKER P D, GRYGIEL JJ, GUSTAFSSON JA, SUTHERLAND RL. Frequent loss of estrogen receptor- β in prostate cancer. *Cancer Res* 2001; **61**: 5331–5335.
- [29] HORVATH LG, HENSCHALL SM, LEE C-S, KENCH JG, GOLOVSKY D, BRENNER PC, O'NEILL G, KOONER R, STRICKER PD, GRYGIEL JJ, SUTHERLAND RL. Lower levels of nuclear β -catenin predict for a poorer prognosis in localized prostate cancer. *Int J Cancer* 2005; **113**: 415–422.

- [30] HYNES RO. Integrins: versatility, modulation and cell adhesion. *Cell* 1992; **69**: 11–25.
- [31] JACOB K, WEBBER M, BENAYAHU D, KLEINMAN HK. Osteonectin promotes prostate cancer cell migration and invasion. *Cancer Res* 1999; **59**: 4453–4457.
- [32] JAVIDAN J, DEITICH AD, Shi X-B, de VERE WHITE RW. The androgen receptor and mechanisms for androgen independence in prostate cancer. *Cancer Invest* 2005; **23**: 520–528.
- [33] JEMAL A, TIWARI RC, MURRAY T, GHAFOR A, SAMUEL SA, WARD E, FEUER EJ, THUN MJ. Cancer Statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004; **54**: 8–29.
- [34] KAIGHN ME, NARAYAN S, OHNUKI Y, LECHNER JF, JONES LW. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC3). *Investig Urol* 1979; **17**: 16–23.
- [35] KAWIAK J. Czy biologia molekularna może być pomocna w pracy lekarza urologa? W: Borówka A. Wykłady z urologii. Warszawa: Polskie Towarzystwo Urologiczne 2001: 123–125.
- [36] KELLER ET, ZHANG J, COOPER CR, SMITH PC, McCAULEY LK. Prostate carcinoma skeletal metastases: cross-talk between tumor and bone. *Cancer Metastasis Rev* 2001; **20**: 333–349.
- [37] KONIG JE, SENEGE T, ALLHOFF EP, KONIG W. Analysis of the inflammatory network in benign prostate hyperplasia and prostate cancer. *Prostate* 2003; **58**: 121–129.
- [38] KRIEGER JN, ROSS SO, RILEY DE. Chronic prostatitis: epidemiology and role of infection. *Urology* 2002; **60**(6A): 8–12.
- [39] KWABI-ADDU B, OZEN M, ITTMAN M. The role of fibroblast growth factors and their receptors in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2004; **11**: 709–724.
- [40] LAU K-M, LASPINA M, LONG J, HO S-M. Expression of estrogen receptor (ER)- α and ER- β in normal and malignant prostatic epithelial cells: regulation by methylation and involvement in growth regulation. *Cancer Res* 2000; **60**: 3175–3182.
- [41] MADEJA Z, MIĘKUS J, SROKA J, DJAMGOZ MBA, KOROHODA W. Homotypic cell-cell contacts stimulate the motile activity of rat prostate cancer cells. *BJU Int* 2001; **88**: 776–786.
- [42] MEYER T, HART IR. Mechanism of tumour metastasis. *Eur J Cancer* 1998; **34**: 214–221.
- [43] MIĘKUS K, CZERNIK M, SROKA J, CZYŻ J, MADEJA Z. Contact stimulation of prostate cancer cell migration: the role of gap junctional coupling and migration stimulated by heterotypic cell-to-cell contacts in determination of the metastatic phenotype of Dunning rat prostate cancer cells. *Biol Cell* 2005; **97**: 893–903.
- [44] MURPHY-ULLRICH JE. The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state? *J Clin Invest* 2001; **107**: 785–790.
- [45] OKEGAWA T, LI Y, PONG RC, HSIEH JT. Cell adhesion proteins as tumor suppressors. *J Urol* 2002; **167**: 1836–1843.
- [46] ORR FW, WANG HH, LAFRENIE RM, SCHERBARTH S, NANCE DM. Interactions between cancer cells and the endothelium in metastasis. *J Pathol* 2000; **190**: 310–329.
- [47] PAGET S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet* 1889; **1**: 571–573. zob. WEISS L. Patterns of metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2000; **19**: 281–301.
- [48] PINSKI J, DORFF TB. Prostate cancer metastases to bone: pathophysiology, pain management and the promise of targeted therapy. *Eur J Cancer* 2005; **41**: 932–940.
- [49] QUINN DI, HENSHALL SM, SUTHERLAND RL. Molecular markers of prostate cancer outcome. *Eur J Cancer* 2005; **41**: 858–887.
- [50] ROKHLIN OW, COHEN MB. Expression of cellular adhesion molecules on human prostate tumor cell lines. *Prostate* 1995; **26**: 205–212.
- [51] ROMANOV VI, WHYARD T, ADLER HL, WALTZER WC, ZUCKER S. Prostate cancer cell adhesion to bone marrow endothelium: The role of prostate-specific antigen. *Cancer Res* 2004; **64**: 2083–2089.
- [52] SAIKI J. Cell adhesion molecules and cancer metastasis. *Jpn J Pharmacol* 1997; **75**: 215–242.
- [53] SAMSEL L, ZAIDEL G, DRUMGOOLE HM, JELOVAC D, DRACHENBERG C, RHEEJ G, BRODIE MH, BIELAWSKA A, SMYTH MJ. The ceramide analog, B13 induces apoptosis in prostate cancer cell lines and inhibits tumor growth in prostate cancer xenografts. *Prostate* 2004; **58**: 382–393.
- [54] SCHWARTZ K, DESCHERE B, XU J. Screening for prostate cancer: Who and how often? *J Fam Pract* 2005; **54**: 586–596.
- [55] SCHWARTZ MA, GINSBERG MH. Networks and crosstalk: integrin signaling spreads. *Nat Cell Biol* 2002; **4**: 1465–1476.
- [56] SCOTT LJ, CLARKE NW, GEORGE NJ, SHANKS JH, TESTA NG, LANG SH. Interactions of human prostatic epithelial cells with bone marrow endothelium: binding and invasion. *Br J Cancer* 2001; **84**: 1417–1423.

- [57] SOBEL RE, SADAR MD. Cell lines used in prostate cancer research: a compendium of old and new lines – Part 1. *J Urol* 2005; **173**: 342–359.
- [58] STEWART DA, COOPER CR, SIKES RA. Changes in extracellular matrix (ECM) and ECM-associated proteins in the metastatic progression of prostate cancer. *Rep Biol Endocrinol* 2004; **2**: 2–15.
- [59] STONE KR, MICKEY DD, WUNDERLI H, MICKEY GH, PAULSON DF. Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU145). *Int J Cancer* 1978; **21**: 274–281.
- [60] TAKEICHI M. Cadherin Cell Adhesion Receptors as a Morphogenetic Regulator. *Science* 1991; **251**: 1451–1455.
- [61] 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.
- [62] TOMITA K, van BOKHOVEN A, JANSEN CFJ, BUSSEMAKERS MJG, SCHALKEN JA. Coordinate recruitment of E-cadherin and ALCAM to cell–cell contacts by α -catenin. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; **267**: 870–874.
- [63] TRAN NL, NAGLE RB, CRESS AE, HEIMARK RL. N-Cadherin expression in human prostate carcinoma cell lines. *Am J Pathol* 1999; **155**: 787–798.
- [64] TRIKHA M, RASO E, CAI Y, FAZAKAS Z, PAKU S, PORTER AT, TIMAR J, HONN KV. Role of $\alpha_{\text{v}}\beta_3$ integrin in prostate cancer metastasis. *Prostate* 1998; **35**: 185–192.
- [65] UNTERGASSER G, MADERSBACHER S, BERGER P. Benign prostatic hyperplasia: age related tissue-remodeling. *Exp Geront* 2005; **40**: 121–128.
- [66] WANG X, FERREIRA AM, SHAO Q, LAIRD DW, SANDIG M. β_3 integrins facilitate matrix interactions during transendothelial migration of PC3 prostate tumor cells. *Prostate* 2005; **63**: 65–80.
- [67] WEBBER MM, BELLO D, QUADER S. Immortalized epithelial cell lines: characteristics and applications Part 2. Tumorigenic Cell Lines. *Prostate* 1997; **30**: 58–64.
- [68] YAMAGUCHI H, WYCKOFF J, CONDEELIS J. Cell migration in tumors. *Curr Opin Cell Biol* 2005; **17**: 559–564.
- [69] YONEDA T. Cellular and molecular mechanisms of breast and prostate cancer metastasis to bone. *Eur J Cancer* 1998; **34**: 240–245.
- [70] ZHENG DQ, WOODARD AS, TALLINI G, LANGUINO LR. Substrate Specificity of $\alpha_v\beta_3$ Integrin – mediated cell migration and Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT Pathway activation. *J Biol Chem* 2000; **275**: 24565–24574.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 02.02. 2006 r.

Przyjęto: 07.04. 2006 r.

ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa.

e-mail: hmkowal@cmkp.edu.pl

biofmat@cmkp.edu.pl