

Monika Kosacka, Renata Jankowska

Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc Akademii Medycznej we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. med. Renata Jankowska

Prognostyczne znaczenie stopnia ekspresji cytokeratyny 19 w niedrobnokomórkowym raku płuca

The prognostic value of cytokeratin 19 expression in non-small cell lung cancer

Projekt sfinansowany z grantu uczelnianego nr 378

Abstract

Introduction: Cytokeratins are important part of cytoskeleton. Cytokeratin 19 (CK 19) belongs to type I cytokeratins. Lung cancer is currently most frequently diagnosed neoplasm in males in many developed countries and in Poland. The prognosis in lung cancer remains unfavourable.

The aim of this study was to evaluate the prognostic value of cytokeratin 19 expression in non-small cell lung cancer.

Material and methods: We examined the degree of cytokeratin 19 expression in 94 patients with non-small cell lung cancer, who had undergone surgery. The group consisted of 64 men and 30 women. The mean age was $59,12 \pm 8,61$ years. Histological diagnosis was squamous cell carcinoma in 59 patients, adenocarcinoma in 26 patients, large cell carcinoma in 5 patients and non-small cell lung cancer without determination of the subtype in 4 patients.

Cytokeratin 19 expression was examined immunohistochemically with Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19 Clone BA 17 DAKO M 0772. All patients were observed for 24 months. 45 patients (48%) survived, 49 died.

Results: In all examined tumors we observed positive cytoplasmatic staining of cytokeratin 19. In 41 cases (44%) it was weak staining (CK 1), in 35 (37%) medium (CK 2) and in 18 (19%) strong one (CK 3). We demonstrated higher expression of cytokeratin 19 in these patients, who survived 2 years ($p = 0,003$). We also observed relationship between higher expression of CK 19 and survival in patients with squamous cell cancer, but there was no correlation with survival in patients with adenocarcinoma.

Conclusions: Our results suggest that the degree of cytokeratin 19 expression could be a new prognostic factor in non-small cell lung cancer. Cytokeratin 19 expression has prognostic value in patients with squamous cell lung cancer but not in patients with adenocarcinoma.

Key words: cytokeratin 19, non small cell lung cancer, prognostic factor

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 317–323

Streszczenie

Wstęp: Cytokeratyny wchodzą w skład cytoszkieletu komórki. Cytokeratyna 19 (CK 19) należy do cytokeratyn typu I – kwaśnych. W większości wysoko uprzemysłowionych krajów świata, w tym w Polsce, rak płuca jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym u mężczyzn. Rokowanie w raku płuca jest wciąż niekorzystne, 5 lat przeżywa zaledwie 5–10% chorych. Celem pracy była ocena znaczenia prognostycznego stopnia ekspresji CK 19 w niedrobnokomórkowym raku płuca.

Materiał i metody: Do badania włączono 94 chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP), u których przeprowadzono zabieg operacyjny; w badanej grupie było 64 mężczyzn i 30 kobiet.

Średnia wieku chorych wyniosła $59,12 \pm 8,61$ roku. W badanej grupie znalazło się 59 chorych na raka płaskonabłonkowego, 26 na gruczolakoraka, 5 na raka wielkomórkowego i 4 chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca bez określenia dokładnie podtypu histologicznego. Wszyscy chorzy zostali poddani 2-letniej obserwacji po zabiegu. Dwa lata przeżyło 45 osób (48%), zmarło 49 chorych.

Adres do korespondencji: Monika Kosacka, Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc Akademii Medycznej we Wrocławiu, ul. Grabiszyńska 105, 53–439 Wrocław, tel.: (071) 334 95 59, faks: (071) 334 95 96, e-mail: mika113@tlen.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 30.03.2007 r.
Copyright © 2007 Via Medica
ISSN 0867–7077

Badania immunohistochemiczne wykonywano w materiale tkankowym guza z użyciem przeciwciała Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19 Clone BA 17 DAKO M 0772.

Wyniki: We wszystkich przypadkach stwierdzono dodatnią cytoplazmatyczną ekspresję CK 19. W 41 (44%) preparatach wykryto słabą (CK 1), w 35 (37%) średnią (CK 2), a w 18 (19%) intensywną (CK 3) ekspresję CK 19. Wykazano wyższą ekspresję CK 19 w grupie chorych, którzy przeżyli 2 lata ($p = 0,003$) oraz wykazano, że związek ten jest lepiej wyrażony w płaskonabłonkowym raku płuca.

Wnioski: Stopień ekspresji CK 19 może być nowym czynnikiem prognostycznym w niedrobnokomórkowym raku płuca, zwłaszcza w raku płaskonabłonkowym.

Słowa kluczowe: cytokeratyna 19, niedrobnokomórkowy rak płuca, czynnik prognostyczny

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 317–323

Wstęp

Cytokeratyny (CK) wchodzą w skład cytoszkieletu, czyli wewnątrzkomórkowego systemu zapewniającego kształt komórki, jej wewnętrzną architekturę i ruch. Są nazywane także tonofilamentami lub tonofibrilami i zalicza się je do filamentów pośrednich [1].

Zbudowane są z domeny centralnej α -helikalnej i obszarów N- i C-końcowych, które bywają określane mianem „głowy” i „ogona”. Pojedyncza cząsteczka przybiera kształt pałeczki. Cząsteczki mają tendencję do łączenia się. Najpierw tworzą dimery, a następnie kolejne struktury aż do lino- podobnych filamentów pośrednich o średnicy 7–11 nm [2].

Dotychczas zidentyfikowano 20 cytokeratyn o masie od 40 do 70 kilodaltonów (kDa). Wyróżnia się 2 podtypy: cytokeratyny klasy I (kwaśne) — mniejsze, o masie 40–56 kDa, do których zalicza się CK 9–20 i cytokeratyny klasy II (obojętne i zasadowe) — większe, o masie 53–67 kDa, do których należą CK 1–8 [3].

Cytokeratyna 19 (CK 19), o najmniejszej masie molekularnej 40 kDa, zaliczana jest do cytokeratyn typu I — kwaśnego. Złożona jest z 400 aminokwasów [4]. Ma wyjątkowo krótką domenę C-końcową (tzw. ogon), dlatego niektórzy określają ją mianem „cytokeratyny bezogonowej” [5]. Ludzki gen dla CK 19 (KRT 19) jest zlokalizowany na chromosomie 17 q 21–22 [6, 7].

Cytokeratyny stanowią najbardziej stabilny element cytoszkieletu, dlatego spotyka się je w komórkach o dużej wytrzymałości, na przykład w nabłonku [2].

Cytokeratyna 19 występuje w wielu typach nabłonka jedno- i wielowarstwowego [2]. Nie stwierdzono oczywistego związku między występowaniem CK 19 a strukturą lub funkcją komórki. Jednak wyniki wielu badań wskazują, że CK 19 może wchodzić w skład cytoszkieletu progenitorowych komórek skóry [5] i powinna być traktowana jako biochemiczny marker komórek macierzystych skóry [8].

Cytokeratyna 19 odgrywa interesującą rolę w tworzeniu heterodimerów. Nie ma stałego partnera (cytokeratyny klasy II), z którym się łączy, ale często jest znajdowana w komórkach wraz z CK 8. *In vitro* łatwo tworzy połączenie z różnymi zasadowymi cytokeratynami, ale połączenia te są niestabilne [5, 9]. Stasiak i wsp. [6] sugerują, że może ona pełnić funkcję „uniwersalnej” cytokeratyny w procesie różnicowania i tworzyć dimery z dowolnymi keratynami klasy II.

Ekspresję CK 19 stwierdzono w prawidłowych komórkach drzewa oskrzelowego i pęcherzyków płucnych oraz w komórkach raka płuca. W raku płaskonabłonkowym i gruczolakoraku uwidoczniło największą ekspresję, natomiast w raku drobnokomórkowym — najsłabszą [10].

Paine i wsp. [11] wykazali w mięszu płuca ekspresję CK w pneumocytach typu II, z których w trakcie różnicowania powstają pneumocyty typu I.

W większości krajów wysoko uprzemysłowionych, w tym także w Polsce, rak płuca jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym u mężczyzn, a drugim po raku gruczołu piersiowego u kobiet. Rokowanie w raku płuca jest niekorzystne: 5 lat przeżywa około 5–10% chorych [12–14].

U około 30% osób z rakiem niedrobnokomórkowym płuca (NDRP) stwierdza się chorobę na tyle ograniczoną, że możliwe jest radykalne leczenie operacyjne. Pacjenci ci mają największą szansę na wieloletnie przeżycie. Jednak zdaniem części badaczy 5 lat przeżywa tylko 25–45% chorych leczonych operacyjnie. Najczęstszą przyczyną zgonu w tej grupie chorych są odległe zmiany przerzutowe.

Do wznowy procesu nowotworowego dochodzi u dużego odsetka (nawet 50%) operowanych chorych [15]. Niezmiernie istotne jest zatem wyłonienie grupy pacjentów szczególnie zagrożonych nawrotem choroby nowotworowej. O skali zainteresowania czynnikami prognostycznymi w raku płuca świadczy przegląd piśmiennictwa dokonany w czasopiśmie „Chest” w 2002 roku — przeanalizowano wówczas doniesienia z 10 poprzedzających lat. Znalezione 887 prac poświęconych tej tematyce i zidentyfikowano w sumie 169 czynników prognostycznych [16].

Celem pracy była ocena znaczenia prognostycznego stopnia ekspresji CK 19 w NDRP.

Materiał i metody

Do badania włączono 94 pacjentów operowanych z powodu NDRP w Dolnośląskim Centrum Chorób Płuc w okresie od 1998 do 2004 roku.

Średnia wieku w badanej grupie wyniosła $59,12 \pm 8,61$ roku. W badanej grupie znalazło się 64 mężczyzn i 30 kobiet. Przeważali chorzy na raka płaskonabłonkowego (59 osób), u 26 chorych rozpoznano gruczolakoraka, u 5 raka wielkokomórkowego, a u 4 chorych raka niedrobnokomórkowego bez określenia dokładnie podtypu histologicznego.

W badanej grupie znalazło się 29 pacjentów w stadium I, 19 w stadium II, 38 w stadium III (w tym 31 IIIA i 7 IIIB) i 8 w stadium IV. Pacjenci w stadiach zaawansowania IIIB i IV byli poddani głównie zabiegom diagnostycznym, a u 6 zabieg torakochirurgiczny był poprzedzony usunięciem przerzutów z centralnego układu nerwowego. Wszyscy chorzy byli w dobrym stopniu sprawności (0–1 wg skali Zubroda). U 42 osób zastosowano leczenie cytostatykami, w tym u 24 była to chemioterapia neoadjuwantowa. Dwudziestu pięciu chorych zostało także poddanych radioterapii po zabiegu.

W badanej grupie analizowano przeżycie w przedziale 2-letnim po zabiegu operacyjnym. Średni czas przeżycia wyniósł $19,01 \pm 7,94$ miesiąca. Dwa lata przeżyło 45 osób, co stanowi 48% ogółu badanych. W grupie osób, które przeżyły 2 lata, znalazło się 19 chorych w I stadium zaawansowania, 9 w II, 14 w III i 3 w IV. Natomiast nie przeżyło 2 lat 10 chorych w I stadium, 10 w II, 24 w III i 5 w IV. Spośród 45 chorych, którzy przeżyli 2 lata, u 9 chorych rozpoznano wznowę procesu nowotworowego. U 2 pacjentów stwierdzono przerzuty do drugiego płuca, u 3 do węzłów chłonnych nadobojczykowych, u 3 przerzuty do kości, a u 1 do wątroby. W chwili zakończenia obserwacji 4 pacjentów było w trakcie chemioterapii.

Badania immunohistochemiczne wykonywano na materiale tkankowym guza uzyskanym w trakcie zabiegu operacyjnego. Wykorzystano materiał utrwalony w parafinie. Skrawki parafinowe grubości $4 \mu\text{m}$ umieszczano na szkiełkach silanizowanych (DAKO® nr kat. S 3003), następnie odparafinowano w ksylenie i przeprowadzono przez szereg alkoholowy o malejących stężeniach aż do wody. Do oznaczeń użyto przeciwciała Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19 Clone BA 17 DAKO M 0772 w rozcieńczeniu 1/50. Preparaty obejrzano pod mikroskopem optycznym. Akumulację CK obserwowano w cytoplazmie komórek. Na

podstawie doświadczeń własnych i doniesień innych autorów za wynik dodatni uznano obecność ponad 20% zabarwionych komórek nowotworowych w preparacie. Stopień nasilenia reakcji barwnej oceniano ogólnie przyjętą metodą półilościową: reakcja słaba + (CK 1), reakcja wyraźna ++ (CK 2), reakcja bardzo wyraźna +++ (CK 3).

Analizowano zależność między stopniem ekspresji CK 19 a:

- typem histologicznym guza,
- stopniem zaawansowania nowotworu oraz
- prawdopodobieństwem przeżycia 24 miesięcy.

Analizę statystyczną przy porównywaniu badanych grup przeprowadzono, wykorzystując program komputerowy CSS Statistica for Windows, wersja 6.0 (Stat-Soft Inc., Tulsa). Stosowano między innymi następujące testy: χ^2 (najbardziej rozpowszechniony test istotności dla zmiennych jakościowych), test Coxa-Mantela do określania prawdopodobieństwa przeżycia w skumulowanej proporcji przeżywających liczonej metodą Kaplana-Meiera oraz zastosowano statystykę opisową do opisu poszczególnych grup z użyciem między innymi średniej i odchylenia standardowego.

Za znaczące uznawano różnice między grupami, gdy prawdopodobieństwo wynosiło $p < 0,05$.

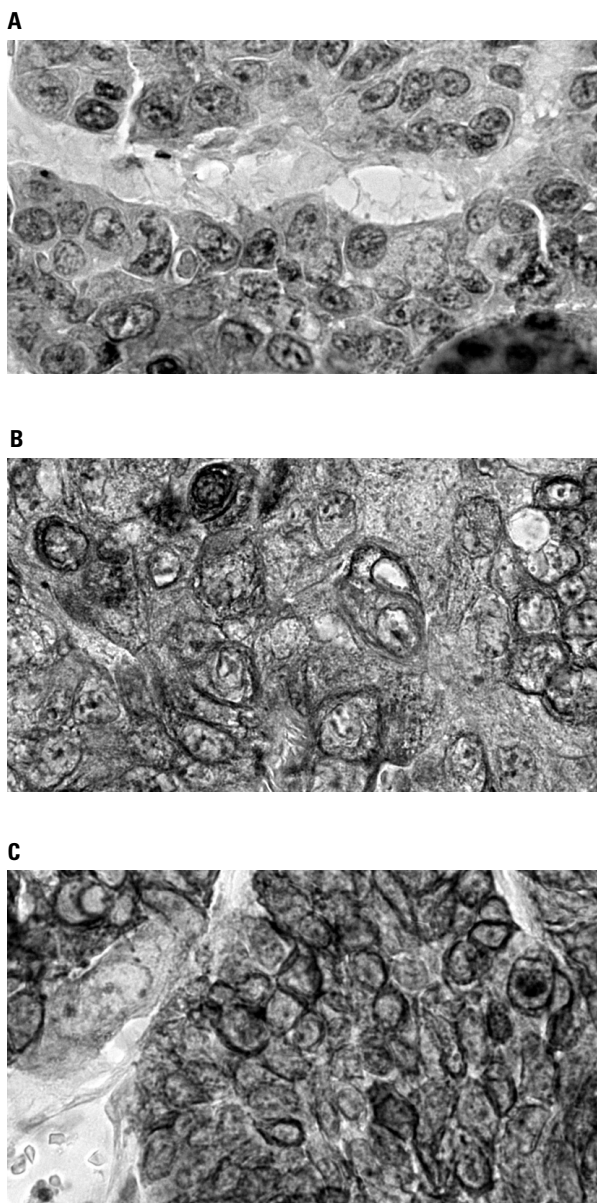
Wyniki

We wszystkich przypadkach stwierdzono dodatnią cytoplazmatyczną ekspresję CK 19. W 41 preparatach (44%) oceniono ekspresję na (CK 1), w 35 (37%) na (CK 2), a w 18 (19%) na (CK 3). Na rycinie 1 przedstawiono zdjęcia preparatów histologicznych przedstawiające różny stopień ekspresji CK 19 w tkance guza.

Stopień ekspresji CK 19 w zależności od stopnia zaawansowania przedstawiono w tabeli 1. Bardzo wyraźną ekspresję (CK 3) stwierdzano częściej u chorych z niższym stadium zaawansowania (I stopień — 24%, II stopień — 21%) niż u chorych z wyższym stadium zaawansowania (III stopień — 16%, IV stopień — 13%), jednak analiza statystyczna nie potwierdziła, aby były to różnice znamienne statystycznie ($p = 0,41$).

U 30 pacjentów oceniono stopień ekspresji CK 19 zarówno w tkance guza, jak i w materiale przerzutowym z węzłów chłonnych. We wszystkich przypadkach obserwowano taki sam stopień ekspresji w obu preparatach.

Stopień ekspresji CK 19 w zależności od typu histologicznego raka płuca przedstawiono w tabeli 2. Nie wykazano znamienych różnic statystycznych między rakiem płaskonabłonkowym a gruczolakorakiem w zakresie ekspresji CK 19.



Rycina 1A. Ekspresja cytokeratyny 19 na +; **B.** Ekspresja cytokeratyny 19 na ++; **C.** Ekspresja cytokeratyny 19 na +++

Figure 1A. Cytokeratin 19 expression +; **B.** Cytokeratin 19 expression ++; **C.** Cytokeratin 19 expression +++

Analizowano wartość rokowniczą ekspresji CK 19 w całej grupie chorych na NDRP oraz w grupach chorych na raka płaskonabłonkowego i gruczolaka (tab. 3). U chorych na raka niedrobnokomórkowego bardzo wyraźną ekspresję CK 19 notowano znamienne częściej w grupie pacjentów, którzy przeżyli 24 miesiące niż w grupie pacjentów, którzy zmarli w czasie 2-letniej obserwacji (CK 3 odpowiednio 29% i 10%). Zjawisko to zilustrowano na rycinie 2A. Podobnie w grupie chorych na raka płaskonabłonkowego rokowanie było istotnie lepsze w grupie chorych z CK 3 w porównaniu z CK 1 i CK 2 (ryc. 2B). Natomiast u chorych na gruczolaka nie wykazano takiej zależności.

Omówienie

O wyborze tematu pracy zadecydowały przede wszystkim duża częstość występowania raka płuca i złe rokowanie w przypadku tego nowotworu [12–14]. Skłania to do podejmowania prób lepszego zrozumienia molekularnych mechanizmów karcinogenezy i poszukiwania czynników prognostycznych.

Potencjał tkwiący w badaniach immunohistochemicznych dostrzeżono już dawno. Podejmuje się próby oznaczania wielu różnych czynników, w tym głównie onkoprotein, w materiale tkankowym guza [17].

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono, że wyższy stopień ekspresji CK 19 koreluje z lepszym rokowaniem w NDRP. Zauważono, że przy porównaniu 2 najczęstszych typów histologicznych zależność ta jest wyrażona tylko w raku płaskonabłonkowym, nie stwierdza się jej natomiast w gruczolaku. Jednak nie w pełni równomierny udział chorych z różnymi stadiami zaawansowania raka w obu grupach osłabia obserwowane znaczenie rokownicze ekspresji CK 19. Wśród chorych, którzy przeżyli 24 miesiące, przeważali pacjenci w I i II stopniu zaawansowania; 65% chorych w I stopniu zaawansowania przeżyło 24 miesiące.

Tabela 1. Ekspresja cytokeratyny 19 w tkankach w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu u 94 chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca

Table 1. Cytokeratin 19 expression in tissues according to the stage in 94 patients with non-small cell lung cancer

Stopień zaawansowania Stage	Liczba chorych Number of patients	Ekspresja cytokeratyny 19 Cytokeratin 19 expression			Przedział ufności (p) Confidence interval (p)
		CK 1 (%)	CK 2 (%)	CK 3 (%)	
I	29	13 (45)	9 (31)	7 (24)	0,41
II	19	9 (47)	6 (32)	4 (21)	0,41
III	38	16 (42)	16 (42)	6 (16)	0,41
IV	8	3 (37)	4 (50)	1 (13)	0,41
Ogółem/Total	94	41 (44)	35 (37)	18 (19)	0,41

Tabela 2. Ekspresja cytokeratyny 19 w tkankach w zależności od typu histopatologicznego u 85 chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca**Table 2. Cytokeratin 19 expression in tissues according to histological type in 85 patients with non-small cell lung cancer**

Typ histologiczny <i>Histological type</i>	Liczba chorych <i>Number of patients</i>	Ekspresja cytokeratyny 19 <i>Cytokeratin 19 expression</i>			Przedział ufności (p) <i>Confidence interval (p)</i>
		CK 1 (%)	CK 2 (%)	CK 3 (%)	
Rak płaskonabłonkowy/ <i>Squamous cell lung cancer</i>	59	23 (39)	26 (44)	10 (17)	0,61
Gruczolakorak/ <i>Adenocarcinoma</i>	26	11 (42)	9 (35)	6 (23)	0,61
Ogółem/ <i>Total</i>	85	34 (40)	35 (41)	16 (19)	0,61

Tabela 3. Przeżycie w czasie 24-miesięcznej obserwacji w zależności od ekspresji cytokeratyny 19 w tkankach oraz typu histologicznego**Table 3. The survival in 24 months observation according to the cytokeratin 19 expression and histological type**

Badana grupa <i>Examined group</i>	Ekspresja CK 19 <i>Cytokeratin 19 expression</i>	Liczba (odsetek przeżywających) <i>Number (the percentage of survivals)</i>		Przedział ufności (p) <i>Confidence interval (p)</i>	
		< 24miesiący/ <i>< 24 months</i>	> 24miesiący/ <i>> 24 months</i>	χ^2	Cox-Mantel
NDRP/Non-small cell lung cancer					
	CK 1	26 (53)	15 (33)	0,18	—
	CK 2	18 (37)	17 (38)	0,18	—
	CK 3	5 (10)	13 (29)	0,18	—
	CK 3	5 (10)	13 (29)	0,02	0,003
	CK 1 i CK 2	44 (90)	32 (71)	0,02	0,003
	CK 2 i CK 3	23 (47)	30 (67)	0,05	0,03
	CK 1	26 (53)	15 (33)	0,05	0,03
Rak płaskonabłonkowy/Squamous cell lung cancer					
	CK 1	9 (31)	13 (43)	0,17	—
	CK 2	17 (59)	9 (30)	0,17	—
	CK 3	3 (10)	8 (27)	0,17	—
	CK 3	3 (10)	8 (27)	0,1	0,027
	CK 1 i CK 2	26 (90)	22 (73)	0,1	—
	CK 2 i CK 3	20 (69)	17 (57)	0,18	0,12
	CK 1	9 (31)	13 (43)	0,18	—
Gruczolakorak/Adenocarcinoma					
	CK 1	5 (38)	6 (46)	0,64	—
	CK 2	4 (31)	5 (38)	0,64	—
	CK 3	4 (31)	2 (15)	0,64	—
	CK 3	4 (31)	2 (15)	0,35	0,34
	CK 1 i CK 2	9 (69)	11 (85)	0,35	0,34
	CK 2 i CK 3	8 (62)	7 (54)	0,69	0,72
	CK 1	5 (38)	6 (46)	0,69	0,72

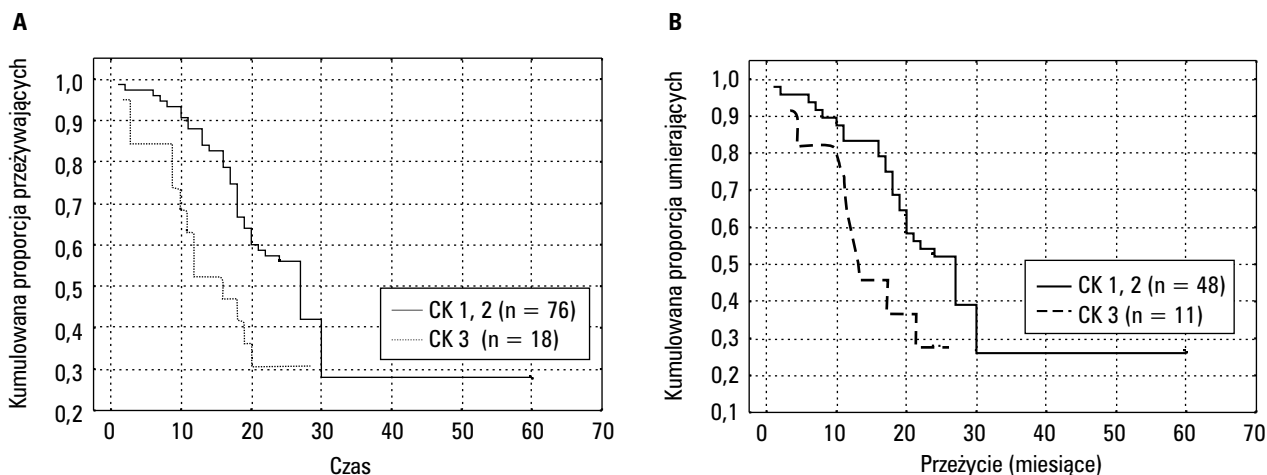
NDRP (*non-small cell lung cancer*) — niedrobnokomórkowy rak płuca

W całej grupie 45 chorych, którzy przeżyli 2 lata, przeważali pacjenci z chorobą w mniej zaawansowanych stadiach (62% — I + II).

W piśmiennictwie pojawiają się również doniesienia o różnicach w ekspresji CK, w tym CK 19, w zależności od lokalizacji centralnej bądź obwo-

dowej guza [18], ale nie było to analizowane w niniejszej pracy. Mimo tych ograniczeń należy rozważyć ekspresję CK 19 jako nowy potencjalny czynnik prognostyczny, który wymaga dalszych badań.

Z uwagi na to, że ekspresja CK 19 jest typowa dla komórek nowotworowych wywodzących się



Rycina 2. Skumulowana proporcja przeżywających uwzględniająca nasilenie ekspresji CK 19 według Kaplana-Meiera. **A.** W całej grupie z rakiem niedrobnokomórkowym (pacjenci z ekspresją CK 19 3 vs. CK 19 1, 2); **B.** W grupie chorych z rakiem płaskonabłonkowym (pacjenci z ekspresją CK 19 1, 2 vs. CK 19 3)

Figure 2. Cumulative proportion of survival according to CK 19 expression Kaplan-Meier. **A.** In all patients with non-small cell lung cancer (patients with CK 19 expression 3 vs. CK 19 1, 2); **B.** In patients with squamous cell lung cancer (patients with CK 19 expression 1, 2 vs. CK 19 3)

z mięszu płuca nie poświęcano dotychczas wiele uwagi porównywaniu stopnia ekspresji tej CK. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono publikacji, w której analizowano by znaczenie prognostyczne stopnia ekspresji CK 19 w raku płuca. Natomiast w przypadku innych nowotworów spotyka się sprzeczne doniesienia.

Wiadomo, że w dojrzałych hepatocytach nie stwierdza się ekspresji CK 19. Ekspresję CK 19 obserwuje się natomiast w komórkach nabłonka przewodów żółciowych i w nowotworach wywodzących się z nich, dlatego proponowano, aby wykorzystać to zjawisko do różnicowania nowotworów o różnym pochodzeniu [19]. Okazało się jednak, że w części komórek raka wątroby także można stwierdzić ekspresję CK 19 [19, 20].

Badacze chińscy stwierdzili — zarówno na podstawie badania linii komórkowych raka wątroby, jak i na podstawie analizy materiału tkankowego 102 pacjentów — że nadekspresja CK 19 w komórkach raka wątroby koreluje z większym potencjałem przerzutowym tego nowotworu [20].

Wu i wsp. [21] wykazali, że ekspresja CK 19 w raku wątroby wiąże się z niższym stopniem zróżnicowania, wyższym stopniem ekspresji Ki-67, al-faproteiny i p-53.

Ram Prasad i wsp. [22] stwierdzili, że w zdrowym nabłonku jamy ustnej ekspresja CK 19 występuje tylko w komórkach podstawnych. W przypadku dysplazji pojawia się ekspresja w kolejnych warstwach nabłonka, a w raku jamy ustnej wyższa ekspresja CK 19 koreluje z niższym stopniem zróżnicowania.

W raku płaskonabłonkowym głowy i szyi Crowe i wsp. [23] zaobserwowali odwrotne zjawisko. W prawidłowym i dysplastycznym nabłonku stwierdza się ekspresję CK 19, natomiast linie komórkowe raka pozbawione tej ekspresji cechowały się zdecydowanie większą inwazyjnością.

Także w przypadku raka prostaty stopień ekspresji kilku CK (CK 8, CK 18 i CK 19) był znacząco obniżony na liniach komórek o niskim stopniu zróżnicowania [24].

W raku gruczołu piersiowego stwierdzono, że linie komórkowe przerzutowe wyizolowane ze szpiku charakteryzują się niższą ekspresją CK 19, CK 18 i CK 8. Wykazano także, że niższy poziom ekspresji powyższych CK koreluje z niskim stopniem zróżnicowania i wysokim indeksem mitotycznym. W związku z tym zasugerowano, że zmiany w ekspresji wybranych CK w tkance guza pierwotnego mogą być wykorzystywane do oceny jego potencjału przerzutowego [25].

Natomiast w przypadku raka płuca podejmuje się próby oceny znaczenia prognostycznego innych CK. Wykazano, że stwierdzenie ekspresji CK 5/6 w płynie opłucnowym koreluje z wyraźnie dłuższym przeżyciem [26].

Niejasny pozostaje mechanizm, jak i czy CK 19 wpływa na rokowanie i dlatego w nowotworach wywodzących się z różnych tkanek odgrywa zupełnie odmienną rolę.

Prawdopodobnie może tu mieć znaczenie wpływ na zdolność tworzenia przerzutów. Zwrócono bowiem uwagę na związek CK 19 z oddziaływaniami międzykomórkowymi. Dobashi i wsp. [27] stwierdzili, że rekombinowana CK 19 może się wiązać silnie z laminą,

ważnym składnikiem błony podstawnej, i wyzwalając reakcję immunologiczną uszkadzającą tę istotną barierę, a Crowe i wsp. [24], w trakcie badania linii komórkowych raka płaskonabłonkowego głowy i szyi, zauważyli, że w przypadku komórek z ekspresją CK 19 zdecydowanie mniej z nich miało zdolność przechodzenia przez błonę podstawną.

Wnioski

1. Ekspresja cytokeratyny 19 (CK 19) może być korzystnym czynnikiem prognostycznym w niedrobnokomórkowym raku płuca (NDRP). U chorych, którzy przeżyli ponad 24 miesiące, istotnie częściej wykazano nasiloną (+ + +) ekspresję cytokeratyny 19 (w tej grupie było więcej chorych w stadium I i II).
2. Związek ekspresji cytokeratyny 19 z rokowaniem jest wyrażony jedynie w płaskonabłonkowym raku płuca, nie stwierdza się go natomiast w gruczolakoraku.

Piśmiennictwo

1. Luczak E., Faber M., Chciałowski A. CYFRA 21-1 — nowy marker raka płuca. *Pneum. Alergol. Pol.* 1996; 64: 96–101.
2. Moll R., Franke WW. Intermediate filaments and their interaction with membranes the desmosome — cytokeratin filament complex and epithelial differentiation. *Pathol. Res. Pract.* 1982; 175: 146–161.
3. Quilan R.A., Schiller D.L., Hatzfeld M. i wsp. Patterns of expression and organisation of cytokeratin intermediate filaments. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1985; 455: 282–306.
4. Sanchez-Carbayo M., Espasa A., Chinchila V. i wsp. New electrochemiluminescent immunoassay for the detection of CYFRA 21-1: Analytical evaluation and clinical diagnostic performance in urine samples of patients with bladder cancer. *Clin. Chem.* 1999; 45: 1944–1953.
5. Fradette J., Germain L., Seshaiiah P., Coulombe P. The type I keratin 19 posses distinct and context dependent assembly properties. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 35 176–35 184.
6. Stasiak P.C., Purkis PE., Leigh I.M., Lane E.B. Keratin 19: predicted amino acid sequence and broad tissue distribution suggest it evolved from keratinocyte keratins. *J. Invest. Dermatol.* 1989; 92: 707–716.
7. Bader B.L., Jahn L., Franke W.W. Low level expression of cytokeratin 8,18 and in vascular smooth muscle cells of human umbilical cord and in cultured cell derived therefrom, with an analysis of the chromosomal locus containing the cytokeratin 19 gene. *J. Cell. Biol.* 1988; 47: 300–319.
8. Michel M., Torok N., Godbout MJ. i wsp. Keratin 19 as a biochemical marker of skin stem cells in vivo and in vitro: keratin 19 expressing cells are differentially localized in function of anatomic sites, and their number varies with donor age and culture stage. *J. Cell. Sci.* 1996; 109: 1017–1028.
9. F.H. Brembeck, Rustgi A.K. The tissue — dependent keratin 19 gene is regulated by GKL/KLF4 and Sp1. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 28230–28239.
10. Chyczewska E., Nikliński J., Chyczewska E., Laudański J., Furman M. Immunohistochemical analysis of tissue localization of cytokeratin 19 in lung cancer. *Rocz. Akad. Med. Białyst.* 1997; 42: 162–172.
11. Paine R., Gaposchkin D., Kelly C., Wilcoxon S.E. Regulation of cytokeratin expression in rat lung alveolar epithelial cells in vitro. *Am. J. Physiol.* 1995; 269: L536–L544.
12. Grzelewska-Rzymowska I., Kordek R., Tymińska K., Kusińska R. *Epidemiologia raka płuca* W: Grzelewska-Rzymowska I. (red.). Rak płuca. Wydawnictwo Sesja, Łódź 2003: 17–31.
13. Skuladottir H., Olsen J.H. *Epidemiology of lung cancer*. W: Spiro S.G. (red.). Lung Cancer. ERS Journals Ltd, Sheffield 2001: 1–12.
14. Alberg A., Samet J. *Epidemiology of lung cancer*. *Chest* 2003; 123: 21–49.
15. Moldvay J., Scheid Ph., Wild P. i wsp. Predictive survival markers in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6: 1125–1134.
16. Brundage M.D., Davies D., Mackillop W. Prognostic factors in non-small cell lung cancer. A decade of progress. *Chest* 2002; 122: 1037–1057.
17. Ruay-Sheng L., Wang J.S., Hsu H.K., Chang H.C., Chin-Hsun L. Prognostic evaluation of the expression of p-53 and bcl-2 oncoproteins in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2002; 32: 393–397.
18. Saijo T., Ishii G., Nagai K. i wsp. Differences in clinicopathological and biological features between central-type and peripheral-type squamous cell carcinoma of lung. *Lung Cancer* 2006; 52: 37–45.
19. Fei Wu, Nishioka M., Fujita J. i wsp. Expression of cytokeratin 19 in human hepatocellular carcinoma cell lines. *Int. J. Oncol.* 2002; 20: 31–37.
20. Ding S.J., Li Y., Tan X.Y. i wsp. From proteomic analysis to clinical significance: overexpression of cytokeratin 19 correlates with hepatocellular carcinoma metastasis. *Moll. Cell. Proteomics* 2004; 3: 73–81.
21. Wu P.C., Fang J.W., Lau V.K., Lai C.L., Lo C.K., Lau J.Y. Classification of hepatocellular carcinoma according to hepatocellular and biliary differentiation markers. Clinical and biological implications. *Am. J. Pathol.* 1996; 149: 1167–1175.
22. Ram Prasad V.V., Nirmala N.R., Kotian M.S. Immunohistochemical evaluation of expression of cytokeratin 19 in different histological grades of leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Indian. J. Dent. Res.* 2005; 16: 6–11.
23. Crowe D.L., Milo G.E., Shuler C.F. Keratin 19 downregulation by oral squamous cell carcinoma lines increases invasive potential. *J. Dent. Res.* 1999; 78: 1256–1263.
24. Alberti I., Barboro P., Barbesino M. i wsp. Changes in the expression of cytokeratins and nuclear matrix proteins are correlated with the level of differentiation in human prostate cancer. *J. Cell Biochem.* 2000; 79: 471–485.
25. Willipinski-Stapelfeldt B., Riethdorf S., Assman V. i wsp. Changes in cytoskeletal protein composition indicative of an epithelial-mesenchymal transition in human micrometastatic and primary breast cancer cells. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 8006–8014.
26. Dejmek J.S., Dejmek A. The reactivity to CK 5/6 antibody in tumor cells from non-small cell lung cancers shed into pleural effusions predicts survival. *Oncol. Rep.* 2006; 15: 583–587.
27. Dobashi N., Fujita J., Murota M. i wsp. Binding of recombinant human cytokeratin 19 to laminin: a possible role in interaction between intermediate filament derived from epithel cells and extracellular matrixes. *Cell Structure Function* 2000; 25: 171–175.