

Czy powinniśmy rozpocząć rutynową ocenę ekspresji białka PTEN u chorych na raka piersi?

Janusz Piekarski

W 2004 i w 2005 roku opublikowano wyniki badań wskazujące, że na skuteczność leczenia trastuzumabem i tamoksifenem chorych na raka piersi, ma wpływ ekspresja białka PTEN. Zaobserwowano, że chore, których raki piersi wykazują obniżoną ekspresję białka PTEN, znacząco gorzej odpowiadają na leczenie trastuzumabem niż kobiety, u których ekspresja białka PTEN w raku piersi nie była obniżona. Podobnie, zaobserwowano silny związek między obniżeniem ekspresji białka PTEN a gorszymi wynikami leczenia tamoksifenem u chorych, których raki wykazywały ekspresję receptora estrogenowego alfa. Białko PTEN zasługuje na uwagę przede wszystkim jako negatywny regulator szlaku PI(3)K/Akt, wykorzystywanego przez wiele onkogenów. Z tego powodu, podejmowanie dalszych badań nad tym białkiem wydaje się ze wszelkich miar uzasadnione.

Should we begin to assess the expression of PTEN protein in each patient with breast cancer?

In 2004 and 2005, two studies were published describing the correlation between PTEN protein expression and the efficacy of treatment with trastuzumab or tamoxifen. It has been found that patients with PTEN-deficient breast cancers had a poorer response to trastuzumab-based therapy, as compared to patients with normal expression of PTEN protein. Similarly, the survival of patients with PTEN-deficient/ER-alfa-positive breast cancers, treated with tamoxifen, was significantly worse than the survival of ER-alfa-positive breast cancer patients with normal expression of PTEN protein in cancer cells. It is important that PTEN protein acts as a negative regulator of the PI(3)K/Akt pathway, utilised by many oncogens. Therefore, further studies on this protein are warranted.

Słowa kluczowe: PTEN, rak piersi, immunohistochemia

Key words: PTEN, breast cancer, immunohistochemistry

Gen i białko PTEN

Gen PTEN (*Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosome Ten*) został po raz pierwszy zidentyfikowany i opisany przez Li, Yen, Liaw, Podsypania i wsp. w 1997 roku. Jest to gen supresorowy, położony na chromosomie 10q23 [1]. Gen *PTEN* koduje białko złożone z 403 aminokwasów [1], wykazujące podwójną aktywność fosfatazy białkowej i fosfatazy lipidowej [2-8].

Część białka o aktywności fosfatazy lipidowej to lipidowa fosfataza fosfatydyloinozytolu-3 powodująca defosforylację trójfosforanu fosfatydyloinozytolu (PIP₃), podstawowego produktu kinazy fosfoinozytolu 3' (PI(3)K) działającego aktywująco na białkową kinazę B (PKB/Akt) błony komórkowej. Na tej drodze, gen *PTEN* działa hamująco na szlak PI(3)K przewodzenia sygnałów, prowadząc do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1, a następnie do śmierci komórki na drodze apoptozy [2, 9-

-11]. Co ważne, działanie genu *PTEN*, polegające na antagonizowaniu działania kinazy fosfoinozytolu 3', hamuje działanie wielu onkoprotein wywierających swój wpływ właśnie przez tę kinazę [12]. Na tej drodze gen *PTEN* antagonizuje m.in. działanie receptora HER-2. Aktywność fosfatazy białkowej prowadzi do hamowania FAK (*focal adhesion kinase*) odpowiedzialnej za adhezję komórkową i zdolność migracji komórek [5, 8, 13]. Podsumowując, działanie genu *PTEN* w komórkach raka piersi wpływa hamująco na zdolność przylegania i migracji komórek oraz prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1 i do śmierci komórki na drodze apoptozy.

Mutacje konstytutywne genu *PTEN* są przyczyną bardzo rzadko występujących zespołów chorobowych: m.in. zespołu Cowden'a [14-16] i zespołu Bannayan-Zonana [17]. Bardziej znany jest zespół Cowden'a. Jest to zespół autosomalny dominujący, opisany w 1962 roku przez Lloyd'a i Denis'a, charakteryzujący się m.in. występowaniem potworniaków, oraz predysponujący do występowania raka piersi i raka tarczycy [18]. Ryzyko zachorowania na raka piersi u chorych z zespołem Cowden'a sięga 50% [14,19, 20]. Jednakże, ze względu na rzadkość wystę-

powania mutacji konstytutywnych genu *PTEN*, mutacje te bardzo rzadko stanowią przyczynę zachorowań na dziedzicznego raka piersi [19, 21]. Pierwotny opis zespołu Cowden'a obejmował również „występowanie obustronnego młodzieńczego przerostu piersi i...wczesnej degeneracji złośliwej” [18]. Współczesne badania potwierdziły, że gen *PTEN* ma podstawowe znaczenie dla prawidłowego rozwoju tkanki gruczołowej piersi oraz dla prawidłowych przemian tej tkanki w trakcie cyklu miesięcznego [22].

Mutacje genu *PTEN* opisano w nowotworach wywodzących się z tkanki nabłonkowej (raki endometrium, raki gruczołu krokowego, raki płuca, raki piersi, raki żołądka), z komórek nerwowych (*glioblastoma*), krwiotwórczych (szpiczak) i neuroendokrynnych (rak tarczycy, czerniak) [23, 24]. Badania wykazały, że gen *PTEN* należy do najczęściej uszkodzonych genów supresorowych od czasu identyfikacji genu *TP53* [1, 14, 19, 25]. Jednakże, w sporadycznym raku piersi mutacje samego genu *PTEN* występują rzadko. Odsetek przypadków raka piersi, w których stwierdzono mutacje genu *PTEN* waha się od 0% do 12% [23, 26-32]. O wiele częściej, bo w 9-40% dochodzi do utraty heterozygotyczności (LOH – *loss of heterozygosity*) w obrębie chromosomu 10q23 [25, 27, 28, 30-36].

Pierwszą immunohistochemiczną ocenę ekspresji białka *PTEN* u chorych na raka piersi przeprowadzili Perren i wsp. w 1999 roku [31]. Stwierdzili brak ekspresji tego białka w 15% przypadków raka piersi. W kolejnych 18% przypadków ekspresję białka *PTEN* wykryto w mniej niż 50% komórek raka. W pozostałych 77% przypadków, ekspresję białka *PTEN* stwierdzono w ponad 50% komórek raka [31]. Bose i wsp. [37] stwierdzili obniżoną ekspresję białka *PTEN* (brak lub słabą ekspresję: <50% komórek) w 38% naciekających raków piersi i w 11% raków *in situ*. W przypadkach charakteryzujących się bardzo silną ekspresją, odczyn barwny stwierdzono w obrębie cytoplazmy i w obrębie jąder komórkowych; w przypadkach charakteryzujących się słabszą ekspresją odczyn barwny stwierdzano tylko w obrębie cytoplazmy komórkowej [37]. Dalsze badania immunohistochemiczne wykazały, że obniżenie ekspresji (w tym brak ekspresji) białka *PTEN* wykrywa się w 27% do 48% przypadków raka piersi [37-43]. Wydaje się, że w przypadkach, w których nie wykrywa się mutacji genu *PTEN*, a obserwuje się spadek ekspresji białka, odpowiedzialne są za nią mechanizmy epigenetyczne [22, 44].

Obniżenie ekspresji białka *PTEN* a cechy patologiczno-kliniczne raka piersi

Liczba przeprowadzonych badań nad białkiem *PTEN* w raku piersi jest względnie mała, dlatego też przedstawione wyniki mają charakter wczesny i z pewnością wymagają potwierdzenia w dalszych badaniach. Dotychczasowe wyniki pozwalają jednak wyciągnąć ostrożny wniosek, że obniżenie ekspresji białka *PTEN* w raku piersi pozostaje w związku z występowaniem cech wskazujących na gorsze rokowanie.

Przed wszystkim, zaobserwowano silny związek między obniżeniem ekspresji białka *PTEN* a występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych pachowych [38-41]. Stwierdzono występowanie związku między obniżeniem ekspresji białka *PTEN* a aneuploidią [37] i stopniem złośliwości histologicznej raka [38], choć nie wszyscy potwierdzają istnienie takich związków korelacji [39, 40].

Zmniejszenie ekspresji białka *PTEN* pozostaje w związku z obniżeniem ekspresji receptora estrogenowego [31, 39, 41, 42]. Zaobserwowano również występowanie związku między obniżeniem ekspresji białka *PTEN* i obniżeniem ekspresji receptora progesteronowego [31]. Związku między zmniejszeniem ekspresji białka *PTEN* a obniżeniem ekspresji receptora estrogenowego ani zmniejszeniem ekspresji białka *PTEN* a obniżeniem ekspresji receptora progesteronowego nie zaobserwowali Bose i wsp. [37]. W tym przypadku przyczyną braku związku statystycznego może być mała liczba badanych raków [34]. Trudniej podważyć wyniki badań przeprowadzonych przez Depowski i wsp, którzy przeanalizowali 151 raków piersi i stwierdzili związek obniżenia ekspresji białka *PTEN* z obniżeniem ekspresji receptora estrogenowego, natomiast nie stwierdzili takiego związku z obniżeniem ekspresji receptora progesteronowego [39]. Dotychczas opublikowano tylko jedną pracę, w której autorzy opisali występowanie dodatniego związku między obniżeniem ekspresji białka *PTEN* a obecnością ekspresji receptora estrogenowego [45]. Jednakże, autorzy analizowali ekspresję białka *PTEN* wykorzystując metodę *western blotting*. Zastosowanie różnych metod badawczych może być przyczyną opisanych rozbieżności.

Autorzy zwracają uwagę na występowanie związku między obniżeniem ekspresji białka *PTEN* a występowaniem wznów i przerzutów odległych [38, 41]. Lin i wsp. [41] stwierdzili, że przeżycia bez choroby były znacząco lepsze u chorych, u których ekspresję białka *PTEN* stwierdzono w co najmniej 50% komórek raka niż u chorych, u których ekspresja występowała w mniejszym odsetku komórek. Obserwacje te potwierdzili Shoman i wsp. w 2005 roku [46]. Zaobserwowano również występowanie związku między obniżeniem ekspresji białka *PTEN* a gorszymi przeżyciami całkowitymi [39]. Lee i wsp. potwierdzili wartość rokowniczą obniżenia ekspresji białka *PTEN* również w analizie wieloczynnikowej [38]. Jednakże, nie wszyscy autorzy są zgodni co do wpływu ekspresji białka *PTEN* na rokowanie. Wartości rokowniczej obniżenia ekspresji białka *PTEN* nie udało się potwierdzić w badaniach Shi i wsp. oraz Panigrahi i wsp. [42, 47].

Białko *PTEN*, a skuteczność leczenia przeciwnowotworowego

W 2004 i w 2005 roku ukazały się wyniki badań poświęconych ekspresji białka *PTEN* i jego wpływu na skuteczność leczenia trastuzumabem [48] i tamoksifenem [46]. Przed wszystkim, badania nad białkiem *PTEN* pozwoliły na poznanie mechanizmu przeciwnowotworowego działania trastuzumabu. Nagata i wsp. [48] wykazali, że trastu-

zumab, łącząc się z receptorem HER2, najpierw i przede wszystkim, aktywuje działanie białka PTEN. Dopiero później, w drugiej kolejności, trastuzumab hamuje działanie receptora HER2. Działanie przeciwnowotworowe trastuzumabu wywierane poprzez białko PTEN jest niezależne od jego działania na drodze hamowania czynności receptora HER2. Aktywacja białka PTEN przez trastuzumab prowadzi do zahamowania przewodzenia sygnałów na szlaku PI(3)K, co jak wcześniej wykazano, prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1, a następnie do śmierci komórki na drodze apoptozy [2, 9-11]. Nagata i wsp. [48] wykazali również, że brak ekspresji białka PTEN, a co za tym idzie brak możliwości zadziałania trastuzumabu poprzez to białko, jest przyczyną odporności HER2-dodatnich komórek raka piersi na trastuzumab. To zaskakujące spostrzeżenie autorzy potwierdzili nie tylko w badaniach laboratoryjnych na liniach komórkowych raka piersi, ale również w badaniu przeprowadzonym z udziałem chorych na raka piersi. Badanie przeprowadzono na małej grupie 39 chorych (HER2/FISH/+/- i/lub HER2 /3+/- w ocenie immunohistochemicznej), którym podawano trastuzumab i taksan. W tej grupie chorych stwierdzono, że chore, których raki piersi wykazywały brak białka PTEN, znacząco gorzej odpowiadały na leczenie trastuzumabem i taksanem niż chore, u których białko PTEN występowało. Zaobserwowana różnica była istotna statystycznie ($p=0,004$). Autorzy podsumowali, że ekspresja białka PTEN jest czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na trastuzumab u chorych, których rak piersi wykazuje ekspresję receptora HER2. Komentarz do przedstawionych badań zamieszczono w listopadzie 2004 roku w *New England Journal of Medicine*. Pandolfi [49] stwierdził, że w świetle przedstawionych dowodów naukowych stanęliśmy przez koniecznością badania poziomu ekspresji białka PTEN w rakach piersi. Jednocześnie zasugerował, że działając przy pomocy leków zwiększających ekspresję białka PTEN lub inhibitorów szlaku PI(3)K-Akt (rapamycyna) można będzie prawdopodobnie przełamać odporność raka piersi na trastuzumab.

Podobnie jak w przypadku trastuzumabu, zaobserwowano silny związek między upośledzeniem ekspresji białka PTEN w raku piersi a mniejszą skutecznością leczenia tamoksifenem. Shoman i wsp. [46] przeprowadzili immunohistochemiczną ocenę ekspresji białka PTEN w grupie 100 chorych na raka piersi leczonych tamoksifenem oraz przeprowadzili analizę związku obecności ekspresji tego białka z czasem przeżycia. Autorzy wykazali, że obniżenie ekspresji białka PTEN było związane z krótszym czasem przeżycia bez nawrotu choroby. Wśród chorych na raka piersi w I stopniu zaawansowania, stwierdzono także związek między obniżeniem ekspresji białka PTEN i krótszym czasem przeżycia całkowitego.

Podsumowanie

Badania nad białkiem PTEN stanowią kolejny element układanki, jaką jest biologia raka piersi. Białko PTEN zasługuje na uwagę przede wszystkim jako negatywny regulator szlaku PI(3)K/Akt, wykorzystywanego przez wie-

le onkogenów. Z tego powodu, podejmowanie dalszych badań nad tym białkiem wydaje się ze wszech miar uzasadnione.

Dr n. med. Janusz Piekarski

Klinika Chirurgii Onkologicznej UM w Łodzi
ul. Paderewskiego 4, 93-509 Łódź
januszpiekar@poczta.onet.pl

Piśmiennictwo

- Li J, Yen C, Liaw D i wsp. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast and prostate cancer. *Science* 1997; 275: 1943-47.
- Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem* 1998; 273: 13375-8.
- Davies MA, Lu Y, Sano T i wsp. Adenoviral transgene expression of MMAC/PTEN in human glioma cells inhibits Akt activation and induces anoikis. *Cancer Res* 1998; 58: 5285-90.
- Stambolic V, Suzuki A, de la Pompa JL i wsp. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. *Cell* 1998; 95: 29-39.
- Myers MP, Tonks NK. PTEN: sometimes taking it off can be better than putting it on. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 1234-38.
- Myers MP, Pass I, Batty IH i wsp. The lipid phosphatase activity of PTEN is critical for its tumor suppressor function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13513-18.
- Lee JO, Yang H, Georgescu MM i wsp. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. *Cell* 1999; 99: 323-34.
- Tamura M, Gu J, Matsumoto K i wsp. Inhibition of cell migration, spreading, and focal adhesions by tumor suppressor PTEN. *Science* 1998; 280: 1614-17.
- Weng L, Smith WM, Dahia PLM i wsp. PTEN suppresses breast cancer cell growth by phosphatase activity-dependent G1 arrest followed by cell death. *Cancer Res* 1999; 59: 5808-14.
- Lu Y, Lin YZ, LaPushin R i wsp. The PTEN/MMAC1/TEP tumor suppressor gene decreases cell growth and induces apoptosis and anoikis in breast cancer cells. *Oncogene* 1999; 18: 7034-45.
- Ghosh AK, Grigorieva I, Steele R i wsp. PTEN transcriptionally modulates c-myc gene expression in human breast carcinoma cells and is involved in cell growth regulation. *Gene* 1999; 235: 85-91.
- Hunter T. A thousand and one protein kinases. *Cell* 1987; 50: 823-9.
- Tamura M, Gu J, Takino T i wsp. Tumor suppressor PTEN inhibition of cell invasion, migration, and growth: differential involvement of local adhesion kinase and p130cas. *Cancer Res* 1999; 59: 442-9.
- Liaw D, Marsh DJ, Li J i wsp. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nat Genet* 1997; 16: 64-7.
- Eng C, Parsons R. Cowden syndrome. In: B. Vogelstein and K. W. Kinzler (eds.). *The genetics basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 1998; 519-26.
- Eng C. Genetics of Cowden syndrome: through the looking glass of oncology. *Int J Oncol* 1998; 12: 701-10.
- Marsh DJ, Dahia PLM, Zheng Z i wsp. Germline mutations in PTEN are present in Bannayan-Zonana syndrome. *Nat Genet* 1997; 16: 333-34.
- Lloyd KM, Dennis M. Cowden's disease: a possible new symptom complex with multiple system involvement. *Ann Intern Med* 1962; 58: 136-142.
- Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL i wsp. Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 507-15.
- Eng C, Peacocke M. PTEN and inherited hamartoma-cancer syndromes [letter]. *Nat Genet* 1998; 19: 223.
- Lauge A, Lefebvre C, Laurent-Puig P i wsp. No evidence for germline PTEN mutations in families with breast and brain tumours. *Int J Cancer* 1999; 84: 216-9.

22. Li G, Robinson GW, Lesche R i wsp. Conditional loss of PTEN leads to precocious development and neoplasia in the mammary gland. *Development* 2002; 129: 4159-70.
23. Dahia PL. PTEN, a unique tumor suppressor gene. *Endocr Relat Cancer* 2000; 7: 115-29.
24. Simpson L, Parsons R. PTEN: life as a tumor suppressor. *Exp Cell Res* 2001; 264: 29-41.
25. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA i wsp. MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 1997; 15: 356-62.
26. Chen S, Yu S, Tsai M i wsp. Mutation analysis of the putative tumor suppression gene PTEN/MMAC1 in sporadic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 55: 85-9.
27. Rhei B, Kang L, Bogomolny F i wsp. Mutation analysis of the putative tumor suppressor gene PTEN/MMAC1 in primary breast carcinomas. *Cancer Res* 1997; 3657-9.
28. Freihoff D, Kempe A, Beste B i wsp. Exclusion of a major role for the PTEN tumour-suppressor gene in breast carcinomas. *Br J Cancer* 1999; 79: 754-8.
29. Ueda K, Nishijima M, Inui H i wsp. Infrequent mutations in the PTEN/MMAC1 gene among primary breast cancers. *Jpn J Cancer Res* 1998; 89: 17-21.
30. Feilottter HE, Coulon V, McVeigh JL i wsp. Analysis of the 10q23 chromosomal region and the PTEN gene in human sporadic breast carcinoma. *Br J Cancer* 1999; 79: 718-23.
31. Perren A, Weng LP, Boag AH i wsp. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. *Am J Pathol* 1999; 155: 1253-60.
32. Bose S, Wang SI, Terry MB i wsp. Allelic loss of chromosome 10q23 is associated with invasion in breast carcinomas. *Oncogene* 1998; 17: 123-7.
33. Singh B, Ittman MM, Krolewski JJ. Sporadic breast cancers exhibit loss of heterozygosity on chromosome segment 10q23 close to the Cowden disease locus. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 21: 166-71.
34. Devilee P, van Vliet M, van Sloun P i wsp. Allelotype of human breast carcinoma: A second major site for loss of heterozygosity is on chromosome 6q. *Oncogene* 1991; 6: 1705-11.
35. Sato T, Tanigami A, Yamakawa K i wsp. Allelotype of breast cancer: cumulative allele losses promote tumor progression in primary breast cancer. *Cancer Res* 1990; 50: 7184-9.
36. Garcia JM, Silva JM, Dominguez G i wsp. Allelic loss of the PTEN region (10q23) in breast carcinomas of poor pathophenotype. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 57: 237-43.
37. Bose S, Crane A, Hibshoosh H i wsp. Reduced expression of PTEN correlates with Breast Cancer Progression. *Hum Pathol* 2002; 33: 405-9.
38. Lee JS, Kim HS, Kim YB i wsp. Reduced PTEN expression is associated with poor outcome and angiogenesis in invasive ductal carcinoma of the breast. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004; 12: 205-10.
39. Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. *Mod Pathol* 2001; 14: 672-6.
40. Chung MJ, Jung SH, Lee BJ i wsp. Inactivation of the PTEN gene protein product is associated with the invasiveness and metastasis, but not angiogenesis, of breast cancer. *Pathol Int* 2004; 54: 10-5.
41. Lin Q, Zhuang YZ, Xu DP i wsp. Expression of PTEN protein and its correlation with p27kip1 and cyclin D1 expression in primary breast cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2003; 25: 246-9.
42. Shi W, Zhang X, Pintilie M i wsp. Disregulated PTEN-PKB and negative receptor status in human breast cancer. *Int J Cancer* 2003; 104: 195-203.
43. Torres J, Navarro S, Rogla I i wsp. Heterogeneous lack of expression of the tumour suppressor PTEN protein in human neoplastic tissues. *Eur J Cancer* 2001; 37: 114-21.
44. Khan S, Kumagai E, Vora J i wsp. PTEN promoter is methylated in a proportion of invasive breast cancers. *Int J Cancer* 2004; 112: 407-10.
45. Kappes H, Goemann C, Bamberger AM i wsp. PTEN expression in breast and endometrial cancer: correlation with steroid hormone receptor status. *Pathobiology* 2001; 69: 136-42.
46. Shoman N, Klassen S, McFadden A i wsp. Reduced PTEN expression predicts in patients with breast carcinoma treated by tamoxifen. *Mod Pathol* 2005; 18: 250-9.
47. Panigrahi AR, Pinder SE, Chan SY i wsp. The role of PTEN and its signaling pathways, including AKT, in breast cancer; an assessment of relationships with other prognostic factors and with outcome. *J Pathol* 2004; 204: 93-100.
48. Nagata Y, Lan KH, Zhou X i wsp. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell* 2004; 6: 117-27.
49. Pandolfi PP. Breast Cancer – Loss of PTEN predicts resistance to treatment. *NEJM* 2004; 351: 2337-8.

Otrzymano: 4 maja 2005 r.

Przyjęto do druku: 4 sierpnia 2005 r.