

И.Л. Вовчук*Одесский национальный университет
им. И.И. Мечникова,
Одесса, Украина*

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАТЕПСИНА И ЕГО ЭНДОГЕННЫХ ИНГИБИТОРОВ ПРИ ОПУХОЛЕВОЙ ПАТОЛОГИИ

Ключевые слова:*злокачественные новообразования, катепсин В, ингибиторы цистеиновых протеиназ, протеолиз, прогностическое значение.*

Резюме. *Обобщены данные литературы относительно роли в патогенезе злокачественных новообразований катепсина В, уровень активности которого повышен в тканях различных форм рака человека. Показано, что соотношение катепсина В и его эндогенных ингибиторов имеет важное значение в прогнозе безрецидивности и общей выживаемости пациентов, а также может быть использовано в диагностике и в антираковой терапии.*

Лизосомальные цистеиновые протеиназы (ЛЦП) играют важную роль в клеточном метаболизме, иммуногенезе, развитии атеросклероза, в патогенезе различных заболеваний, в том числе и злокачественных новообразований (ЗН) [1, 2]. При многих формах рака происходят нарушения в системе клеточного протеолиза, которые проявляются в повышении активности ЛЦП как в сыворотке крови, так и в ткани опухоли [2–5]. Среди ЛЦП пристального внимания заслуживают катепсины (Кат). Высокие уровни Кат и снижение содержания их эндогенных ингибиторов отмечали в ЗН молочной железы, желудка и предстательной железы, эти ферменты были предложены в качестве биологических маркеров ЗН и как прогностические маркеры болезни.

Роль Кат В при инвазии и метастазировании ЗН.

Гипотеза о том, что цистеиновый Кат В участвует в опухолевой инвазии и метастазировании нашла свое подтверждение в исследованиях влияния его ингибиторов на инвазивные свойства и метастатическую активность опухолевых клеток (ОК) молочной (линия MCF-10A) [6] и предстательной железы (линия PC3 и DU145). Применение ингибиторов Кат предотвращало инвазию и метастазирование. Это свидетельствует, что ОК синтезируют набор Кат, которые участвуют в прогрессировании различных этапов опухолевого процесса, а также о том, что Кат могут быть потенциальной мишенью при противоопухолевой терапии [7].

Ферментативная активность Кат регулируется на посттрансляционном уровне с помощью изменения локализации ферментов, процессинга, изменения рН и взаимодействием этих ферментов с их эндогенными ингибиторами [8, 9]. Состав ферментов в нормальных клетках и ОК отличается как количественно, так и качественно (изоферментный состав), что связано с перераспределением генной экспрессии. Изменения уровня ЛЦП, нарушения их процессинга и клеточной локализации выявлены в опухолевых тканях при различных формах рака человека [1, 10]. Результаты клинических исследований соотношения цистеиновых Кат и их эндогенных ингибиторов в ЗН молочной железы, легкого, мозга, голо-

вы и шеи, в асцитной жидкости при раке яичника, в меланоме и колоректальной карциноме свидетельствуют, что этот показатель является важным в прогнозе безрецидивной общей выживаемости, а также может быть использован в диагностике и в антираковой терапии [8, 10, 11]. На основании результатов этих исследований была выдвинута гипотеза, что дисбаланс между Кат и цистатинами — эндогенными ингибиторами ЛЦП ассоциирован с метастатическим фенотипом ОК [1, 8, 10, 11].

Экспрессия Кат В, выявленная в первичных опухолях и особенно при предраковых процессах, изменение клеточной локализации фермента при увеличении инвазивных свойств опухоли, предполагает его проапоптогенные свойства. Фермент участвует в регуляции апоптоза через сложную систему взаимодействий с TNF-альфа, бикунинном и TSRC1. Так, было установлено, что апоптоз клеток рака яичника OV-90, вызванный TNF, является Кат В-зависимым. Повышение содержания бикунина подавляет вызванный TNF апоптоз этих клеток, а повышение содержания специфического белка TSRC1, наоборот, — стимулирует этот процесс [12]. Активность Кат В регулируется на различных уровнях: регуляции экспрессии генов, транскрипции, путем повышения его стабильности и сродства к субстрату [8, 13, 14]. Фермент синтезируется в виде профермента и с помощью рецептора (маннозо-6-фосфат) транспортируется в лизосомы [14], где происходит его активация [14]. ОК содержат как профермент, так и 2 формы активного фермента. ПроКат В связывается с поверхностью клетки через p11 легкой цепи тетрамера аннексина II, локализованного в липидной фракции ОК. Наличие в этом слое аналогично связанных сериновых протеиназ и металлопротеиназ матрикса, по-видимому, обеспечивает каскадный механизм активации фермента, с одной стороны, и участие Кат В в активации других ферментов — с другой [14].

Кат В может способствовать распространению ОК, так как способен, в зависимости от места локализации, разрушать не только внутриклеточный, но и экстрацеллюлярный матрикс (ЭЦМ): появление

его на поверхности клеток может быть причиной изменений конформации мембранных белков и белков ЭЦМ, повышения скорости их расщепления. Это было показано, в частности, в экспериментах на клеточных линиях рака молочной железы BT20 и BT549 [15]. Кат В также может способствовать прогрессированию опухолевого процесса косвенно, через активацию латентных протеаз или деградацию их белковых ингибиторов [8, 16].

Уровень активности Кат В повышен в ОК карцином молочной железы [2, 17–19], при раке желудка (в особенности при наличии метастазов) [20, 21], аденокарциноме поджелудочной железы [22, 23], в прогрессирующих агрессивных менингиомах человека [24–26], в ЗН предстательной железы [27], мочевого пузыря, а также в низкодифференцированной клеточной культуре карциномы мочевого пузыря J82, [28, 29], в колоректальных карциномах [20, 30–35] и аденокарциномах [33, 36], в различных типах опухолей легкого [37, 38], в карциноме яичника [39], меланоме [34], в саркоме мягких тканей [40], в глиобластомах и анапластической астроцитоме [41].

На клеточных линиях A-549 [42] и BEAS-2B [9] рака легкого было показано, что ни один из исследованных интерлейкинов (ИЛ-1, -6, -10) не оказывал влияния на уровень Кат В, а ТВР бета-1 снижал уровень мРНК этого фермента [42]. Поскольку антагонистические молекулы — ЛЦП и их эндогенные ингибиторы по-разному регулируются в гистологически различных типах опухолей легкого, возможно, дисбаланс между ними играет значительную роль в прогрессировании определенных типов опухолей [37].

Как правило, высокий уровень Кат отрицательно коррелирует с уровнем их эндогенных ингибиторов. Так, низкий уровень ингибитора Кат В — стефина В выявлен в клетках рака молочной железы [18]. Однако более высокий по сравнению с немалигнизированной тканью уровень стефина А и стефина В отмечали в ткани карциномы яичника, [43], в меланоме и колоректальном раке [34], а стефина А — в карциноме легкого [38]. В асцитной жидкости пациенток с карциномой яичника выявлено высокое содержание ингибиторов ЛЦП: цистатина С, стефинов А и В, которые не отличались по своим физико-химическим и биохимическим свойствам от ингибиторов этого семейства, выделенных из других биологических жидкостей и тканей человека [44].

Роль ЛЦП на разных этапах патогенеза ЗН остается пока недостаточно освещенной, но для Кат В достоверно установлено повышение его активности при озлокачествлении аденом (доброкачественные опухоли) в карциномы или аденокарциномы [20, 22, 23, 31–33], при озлокачествлении менингиом человека [24, 25]. Самый высокий уровень активности ЛЦП установлен на начальных стадиях развития опухоли, например колоректальной карциномы [32, 33]. Установлено также, что при карциноме яичника [39] и карциноме желудка [20] высокий уровень Кат В положительно коррелировал со стадией болезни.

Показано также, что активность Кат В значительно выше в пограничной, а не в собственно опухолевой ткани, что и обуславливает инвазию ОК [16]. Однако другими исследователями не установлено достоверных отличий в уровне Кат В между опухолевой и граничащей с нею тканью [30]. Возможно спорность в этом вопросе обусловлена различными методическими подходами исследователей: использованием одними авторами иммуногистохимического метода, другими — более чувствительного — ПЦР-анализа.

Показана зависимость содержания и активности Кат В от степени дифференцировки ОК при карциномах молочной железы женщин [17, 46], раке желудка [21], колоректальной карциноме [31, 33].

Многие авторы предполагают связь между метастатическим потенциалом ОК и высокой активностью ЛЦП. Так, было установлено более высокое содержание Кат В в опухолях желудка с метастазированием в лимфатические узлы, чем в опухолях без метастазов [20, 21]. Выявлен высокий уровень Кат В [2, 18, 47] в цитозоле ОК рака молочной железы, рака яичника [48], который положительно коррелировал с метастазированием в лимфатические узлы. В исследованиях ЗН предстательной железы показано, что высокая активность Кат В положительно коррелировала с высоким метастатическим потенциалом ОК и могла быть снижена (в эксперименте) введением цистатинов — ингибиторов ЛЦП [27].

Многие исследователи отмечают, что высокие уровни ЛЦП на фоне низкого уровня их эндогенных ингибиторов являются плохим прогностическим фактором. Например, высокое содержание Кат В [19, 47] в цитозоле ОК карцином молочной железы [17, 19, 46], аденокарцином поджелудочной железы [22, 23], карцином яичника [39, 48], колоректальных карцином [32] отрицательно коррелировало с безрецидивной и общей выживаемостью пациентов. Низкий уровень ингибитора Кат В (стефина В) в клетках рака молочной железы был ассоциирован с непродолжительным безрецидивным периодом [18, 49]. Высокие уровни Кат В положительно коррелировали с плохим прогнозом, более коротким безрецидивным периодом и низкой выживаемостью пациентов с меланомой или колоректальным раком [34].

Что касается возрастных аспектов рассматриваемой проблемы, то только в единичных исследованиях было показано, что значимой корреляции между возрастом, менопаузальным статусом женщин и активностью Кат В в цитозоле клеток ЗН молочной железы не установлено [19, 47]. В 2002 г. Fan и соавторы синтезировали высокоэффективное антитело, содержащее ингибитор Кат В и в эксперименте *in vitro* доказали его регуляторное влияние на активность Кат В в клетках опухоли яичника китайского хомячка [45], что открывает перспективы энзимотерапии при опухолевом росте.

Таким образом, можно сделать вывод, что высокий уровень активности Кат В положительно коррелирует с озлокачиванием опухолей, инвазивностью (агрессивностью) ЗН, метастатическим потенциалом клеток ЗН различного типа и локализации, плохим прогнозом течения болезни; отрицательно — с длительностью безрецидивного периода заболевания, что может быть использовано как в диагностике, так и для прогнозирования течения болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дилакян ЭА. Цистеиновые протеиназы при неопластической трансформации. *Вопр мед хим* 2000; **46** (5): 490–1.
2. Olszewska D, Drewa T, Makarewicz R, *et al.* Significance of cathepsin B and D in physiologic and pathologic processes. *Pol Merkurys Lek* 2001; **10** (55): 65–70.
3. Оглоблина ОГ, Арефьева ТИ. Роль протеолитических ферментов и их ингибиторов в инвазии злокачественных опухолей. *Биохимия* 1989; **59** (3): 340–52.
4. Сологуб ЛП, Пашковська ІС, Антопяк ГЛ. Протеази клітин та їх функція. Київ: Наукова думка, 1992. 195 с.
5. Buhling F, Gerber A, Hackel C, *et al.* Expression of cathepsin K in lung epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; **20** (4): 612–9.
6. Premzl A, Puizdar V, Zavasnik-Bergant V, *et al.* Invasion of ras-transformed breast epithelial cells depends on the proteolytic activity of cysteine and aspartic proteinases. *Biol Chem* 2001; **382** (5): 853–7.
7. Nomura T, Katunuma N. Involvement of cathepsins in the invasion, metastasis and proliferation of cancer cells. *J Med Invest* 2005; **52** (1–2): 1–9.
8. Sloane BF, Moin K, Krepela E, *et al.* Cathepsin B and its endogenous inhibitors: the role in tumor malignancy. *Cancer Metastas Rev* 1990; **9** (4): 333–52.
9. Gerber A, Welte T, Ansoorge S, *et al.* Expression of cathepsins B and L in human lung epithelial cells is regulated by cytokines. *Adv Exp Med Biol* 2000; **477**: 287–2.
10. Kos J, Lah TT. Cysteine proteinases and their endogenous inhibitors: target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer (review). *Oncol Rep* 1998; **5** (6): 1349–61.
11. Lah TT, Kos J. Cysteine proteinases in cancer progression and their clinical relevance for prognosis. *Biol Chem* 1998; **379** (2): 125–30.
12. Talieri M, Papadopoulou S, Scorilas A, *et al.* Cathepsin B and cathepsin D expression in the progression of colorectal adenoma to carcinoma. *Cancer Lett* 2004; **8** (205): 97–106.
13. Podgorski I, Sloane BF. Cathepsin B and its role(s) in cancer progression. *Biochem Soc Symp* 2003; **70**: 263–76.
14. Roshy S, Sloane BF, Moin K. Pericellular cathepsin B and malignant progression. *Cancer Metastas Rev* 2003; **22** (2–3): 271–86.
15. Sameni M, Moin K, Sloane BF. Imaging proteolysis by living human breast cancer cells. *Neoplasia* 2000; **2** (6): 496–4.
16. Yan S, Sloane BF. Molecular regulation of human cathepsin B: implication in pathologies. *Biol Chem* 2003; **384** (6): 845–54.
17. Lah TT, Cercek M, Blejec A, *et al.* Cathepsin B, a prognostic indicator in lymph node-negative breast carcinoma patients: comparison with cathepsin D, cathepsin L, and other clinical indicators. *Clin Cancer Res* 2000; **6** (2): 578–84.
18. Levicar N, Kos J, Blejec A, *et al.* Comparison of potential biological markers cathepsin B, cathepsin L, stefin A and stefin B with urokinase and plasminogen activator inhibitor-1 and clinicopathological data of breast carcinoma patients. *Cancer Detect Prev* 2002; **26** (1): 42–9.
19. Thomssen C, Schmitt M, Goretzki L, *et al.* Prognostic value of the cysteine proteases cathepsins B and cathepsin L in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 1995; **1** (7): 741–6.
20. Khan A, Krishna M, Baker SP, *et al.* Cathepsin B expression and its correlation with tumor-associated laminin and tumor progression in gastric cancer. *Arch Pathol Lab Med* 1998; **122** (2): 172–7.
21. Bhuvaramurthy V, Schroeder J, Kristiansen G, *et al.* Differential gene expression of urokinase-type plasminogen activator and its receptor in human renal cell carcinoma. *Oncol Rep* 2005; **14** (3): 777–2.
22. Niederegthmann M, Hildenbrand R, Wolf G, *et al.* Angiogenesis and cathepsin expression are prognostic factors in pancreatic adenocarcinoma after curative resection. *Int J Pancreatol* 2000; **28** (1): 31–9.
23. Niederegthmann M, Wostbrock B, Sturm JW, *et al.* Prognostic impact of cysteine proteases cathepsin B and cathepsin L in pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas* 2004; **29** (3): 204–11.
24. Trinkaus M, Vranic A, Dolenc V, *et al.* Cathepsins B and L and their inhibitors stefin B and cystatin C as markers for malignant progression of benign meningiomas. *Int J Biol Markers* 2005; **20** (1): 50–9.
25. Strojnik T, Zidanik B, Kos J, *et al.* Cathepsins B and L are markers for clinically invasive types of meningiomas. *Neurosurgery* 2001; **48** (3): 598–5.
26. Levicar N, Strojnik T, Kos J, *et al.* Lysosomal enzymes, cathepsins in brain tumour invasion. *J Neurooncol* 2002; **58** (1): 21–32.
27. Colella R, Casey SF. Decreased activity of cathepsins L + B and decreased invasive ability of PC3 prostate cancer cells. *Biotech Histochem* 2003; **78** (2): 101–8.
28. Staack A, Koenig F, Danilchenko D, *et al.* Cathepsins B, H, and L activities in urine of patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2002; **59** (2): 308–12.
29. Staack A, Tolic D, Kristiansen G, *et al.* Expression of cathepsins B, H, and L and their inhibitors as markers of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2004; **63** (6): 1089–94.
30. Guzinska-Ustymowicz K, Zalewski B, Kasacka I, *et al.* Activity of cathepsin B and D in colorectal cancer: relationships with tumour budding. *Anticancer Res* 2004; **24** (5): 2847–51.
31. Talieri M, Papadopoulou S, Scorilas A, *et al.* Cathepsin B and cathepsin D expression in the progression of colorectal adenoma to carcinoma. *Cancer Lett* 2004; **8** (205): 97–6.
32. Campo E, Munoz J, Miquel R, *et al.* Cathepsin B expression in colorectal carcinomas correlates with tumor progression and shortened patient survival. *Am J Pathol* 1994; **145** (2): 301–9.
33. Hazen LG, Bleeker FE, Lauritzen B, *et al.* Comparative localization of cathepsin B protein and activity in colorectal cancer. *J Histochem Cytochem* 2000; **48** (10): 1421–30.
34. Kos J, Werle B, Lah T, *et al.* Cysteine proteinases and their inhibitors in extracellular fluids: markers for diagnosis and prognosis in cancer. *Int J Biol Markers* 2000; **15** (1): 84–9.
35. Sheahan K, Shuja S, Murnane MJ. Cysteine protease activities and tumor development in human colorectal carcinoma. *Cancer Res* 1989; **49** (14): 3809–14.
36. Satoh Y, Higashi T, Nouse K, *et al.* Cathepsin B in the growth of colorectal cancer: increased activity of cathepsin B in human colorectal cancer. *Acta Med Okayama* 1996; **50** (6): 305–11.
37. Heidtmann HH, Salge U, Abrahamson M, *et al.* Cathepsin B and cysteine proteinase inhibitors in human lung cancer cell lines. *Clin Exp Metastasis* 1997; **15** (4): 368–81.
38. Krepela E, Prochazka J, Karova B, *et al.* Cysteine proteases and cysteine protease inhibitors in non-small cell lung cancer. *Neoplasma* 1998; **45** (5): 310–8.
39. Scorilas A, Fotiou S, Tsiambas E, *et al.* Determination of cathepsin B expression may offer additional prognostic information for ovarian cancer patients. *Biol Chem* 2002; **383** (7–8): 1297–303.
40. Wurl P, Taubert H, Meye A, *et al.* Immunohistochemical and clinical evaluation of cathepsin expression in soft tissue sarcomas. *Virchows Arch* 1997; **430** (3): 221–5.
41. Sivaparvathi M, Sawaya R, Wang SW, *et al.* Overexpression and localization of cathepsin B during the progression of human gliomas. *Clin Exp Metastasis* 1995; **13** (1): 49–6.

42. Park DW, Ryu HS, Choi DS, *et al.* Localization of matrix metalloproteinases on endometrial cancer cell invasion *in vitro*. *Gynecol Oncol* 2001; **82** (3): 442–9.

43. Kastelic L, Turk B, Kopitar-Jerala N, *et al.* Stefin B, the major low molecular weight inhibitor in ovarian carcinoma. *Cancer Lett* 1994; **82** (1): 81–8.

44. Kalman J, Kitajka K, Pakaski M, *et al.* Gene expression profile analysis of lymphocytes from Alzheimer's patients. *Psychiatr Genet* 2005; **15** (1): 1–6.

45. Fan X, Kopitar-Jerala N, Premzl A, *et al.* Molecular cloning and chimerisation of an inhibitory anti-cathepsin B anti-body and its expression in Chinese hamster ovary cells. *Biol Chem* 2002; **383** (11): 1817–20.

46. Lah TT, Kalman E, Najjar D, *et al.* Cells producing cathepsins D, B, and L in human breast carcinoma and their association with prognosis. *Hum Pathol* 2000; **31** (2): 149–60.

47. Foekens JA, Kos J, Peters HA, *et al.* Prognostic significance of cathepsins B and L in primary human breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; **16** (3): 1013–21.

48. Козырева ЕА, Жордания КИ, Бассалык ЛС и др. Прогностическое значение определения катепсина В в злокачественных опухолях яичников. *Вопр мед химии* 1994; **40** (1): 26–9.

49. Harbeck N, Alt U, Berger U, *et al.* Prognostic impact of proteolytic factors (urokinase-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 1, and cathepsins B, D, and L) in primary breast cancer reflects effects of adjuvant systemic therapy. *Clin Cancer Res* 2001; **7** (9): 2757–64.

PROGNOSTIC VALUE OF DETERMINATION OF CATHEPSIN AND ITS ENDOGENOUS INHIBITORS IN CANCER

I.L. Vovchuk

Summary. *In a review these literatures are generalized in relation to the role of cathepsin B in pathogeny of oncoprocess, the level of activity of which is increased in tumour tissues different forms of human. It was discovered that correlation of cathepsin B and his endogenous inhibitors has an important value in the prognosis of term without relapses illness and survivability of patients, and also it can be used in diagnostics and in antitumor therapy.*

Key Words: malignant neoplasms, cathepsin B, inhibitors of cysteine proteinase, proteolysis, prognostic value.

Адрес для переписки:

Вовчук И.Л.
65858, Одесса, пер. Шампанский, 2
Одесский национальный университет
им. И.И. Мечникова,
E-mail: irvov@ukr.net, irvov@mail.ru