

Dr. Tímár József

Országos Onkológiai Intézet, Tumor Progressziós Osztály
Budapest

Az oesophagus rák progressziója**TNM problémák**

A neoadjuváns kemo-(radioterápia) az oesophagus rák sebészi kezelésének is egyre gyakoribb alternatívája, ugyanakkor a jelenlegi TNM rendszer szerepe ezzel kapcsolatban vita tárgya. Két érdekes tanulmány született ezzel kapcsolatban, részben kissé eltérő következtetésekkel. Swisher és mtsai 2007-ben (1) több mint 500 oesophagus rákos beteg adatát elemezte, ahol az egyik csoport neoadjuváns terápiában részesült. Az analízisben elemezték a reziduális tumor szerepét a prognózisban ($P_0=0\%$, $P_1<50\%$, $P_2>50\%$). A neoadjuváns kezelés után (5FU, CPD és Taxan) a pTNM-specifikus túlélés hasonló volt a két csoportban, bár a downstaging bekövetkezett. A 3 éves túlélés elemzése azt mutatta, hogy a reziduális tumor aránya (pP) pontosabban jelezte a túlélést, mint a pTNM ($P_0=74\%$, $P_1=54\%$, $P_2=24\%$). A másik vizsgálatban 226 beteg adatát elemezték neoadjuváns kemo-radioterápia után. Az egyik problémának azt találták, hogy a teljes túlélést az AJCC stádiumok nem pontosan prognosztizálják: nincsen eltérés a 0-IIA, a IIB-III és a IVA-IVB stádiumok között. A patológiai komplett remisszió kialakulása egyértelmű kedvező prognosztikus faktornak bizonyult a bármilyen reziduális betegséghez képest. Ugyanakkor a pN és pM státusz mind az AJCC stádiumhoz képest, mind pedig a pCR-hez képest erősebb prediktornak bizonyult (2).

Globális génexpresszió

Kan és mtsai vizsgálatai alapján (3) egy meglehetősen egyszerű génexpressziós mintázat körvonalazódott, amely a rossz prognózist mutató oesophagus rákokat jellemezte. A megfigyelt fokozottan expresszálandó gének között a sejtproliferáció szempontjából markernek tekinthető PCNA, a retinoid X-receptor- α , a c-MET onkogén, a sejtproliferáció, illetve a sejtciklus szabályozásában szerepet játszó ciklin A2, a hámsejtek növekedését stimuláló inzulin-szerű növekedési faktor ILGF-1 receptora, a bázikus FGF és a CD31-es ér-antigén volt kimutatható. Ezek az ún. globális expressziós mintázat vizsgálatok egész odáig fejlődtek, Kán és mtsai vizsgálatai alapján (4), hogy ún. neurális network segítségével az expressziós profilok alapján próbálják megjósolni a nyirokcsomó áttétképző képességét az oesophagus rákoknak, ill. a betegek túlélését, és ennek révén sikerült egy 60 génből álló mintázattal 100%-os szenzitivitással, de csak 67%-os specificitással megjósolni a primer tumor alapján a daganat nyirokcsomó áttétképző képességét.

A mikroRNS-ek új génexpressziót szabályozó endogén molekulák, melyek tényleges biológiai jelentőségét még nem ismerjük. 31 oesophagus rákban analizálták diagnosztikus és prognosztikus szerepüket (435 db különböző miRNS). Guo és mtsai 2007-ben (5) azt találták, hogy miRNS expressziós mintázattal a daganatot 94-98%-os valószínűséggel tudták diagnosztizálni egy 7 db-ból álló miRNS mintázattal, amit egy külön 24 mintás kohorsz is ellenőriztek. A továbbiakban a prognosztikus mintázatot elemezve azt találták, hogy két egymáshoz igen közel álló miRNS alacsony expressziója (hsa-miR-103/107) szignifikánsan megnyúlt túlélést jelez az 52 beteg elemzésekor. A bioinformatikai elemzés szerint ezen miRNS cél-génjei között egy transzkripció faktor (TAF5), az AXIN2 jelátviteli fehérje (wnt útvonal), a TGF β R3 membrán-receptor, az YWHAH tumor szuppresszor és a CAPZA2 motilitási molekulák szerepelhetnek...

EGFR-HER2

Sunpaweravong vizsgálatai 55 oesophagus laphámrákos beteg anyagán az EGF receptor és a HER2, ill. a cyclin-D1 gén expressziós szintjeit nézte FISH, illetve immunhisztokémia segítségével (6). Megállapították, hogy az oesophagus laphámrákjainak 15%-ban az EGFR gén amplifikációja mutatható ki,

és 36%-ban polisomia van. E kettő eredményeként immunhisztokémiailag a tumorok közel 50%-ában találtak emelkedett receptor expressziót. A HER2 expresszió fokozódása génszinten nem volt megfigyelhető, és protein szinten is 10% alatt fordult elő. Ezzel szemben a ciklin D1 amplifikáció igen gyakori jelenség az oesophagus laphámrákban, közel 40% volt, és ez összefüggött a tumorok több mint felében fokozott protein szintű expresszióval is. A túlélési analízis azt mutatta, hogy az EGF receptor és/vagy a ciklin D1 gén ill. protein státusz nem függött össze a betegek túlélésével ezen vizsgálatban.

Egy másik vizsgálat (7), több mint 100 oesophagus rákot vizsgált, az EGF receptor mellett a HER2, c-kit és a VEGF, valamint a p53 proteint is analizálta immunhisztokémiával. A vizsgálat legérdekesebb része tulajdonképpen az EGF receptorra vonatkozik, amit a DAKO PharmDX kitjével vizsgált. A tumorokat akkor tekintették pozitívnak, ha a tumorsejtek több mint 10%-a mutatott membrán jelölést, azonban megfigyelték, hogy a tumorok egy része diffúzan jelölődik, másik részük mozaikszerűen. Maga az EGF receptor expresszió nem mutatott összefüggést a betegek túlélésével, azonban összefüggést mutatott a vaszkuláris invázió gyakoriságával. Az ún. diffúz EGF receptor expresszió, összefüggött a gyakoribb lokális recidívával és a csökkent teljes túléléssel. Véleményem szerint ez az első olyan vizsgálat, amelyben az EGF receptor expressziós mintázata és a beteg túlélése között egyértelmű összefüggést talált. Egy másik vizsgálat (8) 110 oesophagus rákot vizsgált, itt is immunhisztokémiával elemezték az EGF receptor expressziót. Az ő vizsgálatukban az erős EGFR expresszió, az a bizonyos +++pozitivitás, összefüggött a nyirokcsomó áttétek kialakulásának gyakoriságával, és a patológiai stádiummal és a lecsökkent túléléssel, mint ahogy azt az előbbi vizsgálat is bemutatta.

A legtöbb karcinómában már pontos ismeretekkel rendelkezünk az EGFR receptor-család expressziójára vonatkozóan és egyes daganatokban ezek képezik az új molekulárisan célzott terápiák alapját. Az EGFR az oesophagus rákok mindkét szövettani variánsában kifejeződik, míg a HER2-re nézve csak az adenokarcinómákban van bizonyíték (9). Ugyanakkor talán még nagyobb a jelentősége annak, hogy az EGFR gének aberránsak-e: a Her-2 amplifikációt hasonlóan az emlőrákokhoz megfigyelték adenokarcinómában, míg az EGFR gén tirozin kináz mutációját (768 codon, exon 20) laphámrákban észlelték. Ezen leegyszerűsített kép alapján az EGFR-t célzó kezeléseket (Gefitinib, Erlotinib vagy Cetuximab) elsősorban a laphámrákok esetében, míg a HER2 elleni kezeléseket (Herceptin vagy Lapatinib) az adenokarcinómában volna célszerű tesztelni. A HER géncsaládnak két másik tagja is van, a kináznélküli HER3 és a kinázaktivitású HER4. Ezek közül oesophagus laphámrákban a HER4-et vizsgálták a HER2/3-hoz képest. Megállapították, hogy elsősorban a differenciált rákokban van jelen és expressziója a HER-2 és HER-3-al is kapcsolódik. Ugyanakkor, a HER4 membrán expresszió a kedvezőbb prognózis, míg a HER4 magi kifejeződése kedvezőtlenebb prognózissal függött össze (10). Ezek az adatok arra hívják fel a figyelmet, hogy a HER család expressziója bonyolult kölcsönhatásban van egymással és egy-egy tagjának izolált vizsgálata nem valószínű, hogy megfelelő információt jelent önmagában.

Prognosztikus markerek

Egy 65 betegből álló oesophagus rákos minta genetikai vizsgálata derített arra is fényt, hogy a TGF- β citokin vagy növekedési faktor család egyik tagja az aktivin- β szerepet játszhat az oesophagus rákok biológiai viselkedésének meghatározásában is. Különböző biológiai, molekuláris biológiai vizsgálatok révén arra szereztek adatokat, hogy ezt az egyik sejtadhéziós molekula az N-cadherin expressziójának fokozása révén éri el, és ezen megfigyelést a 65 betegből álló mintán is tesztelték, ahol az N-cadherin expresszió fokozódását egyértelmű kapcsolatba lehetett hozni a T, ill. N-stádiumokkal és a betegek rosszabb 5 éves túlélésével. Az N-cadherinről annyit kell tudni, hogy a hámszerű daganatokban epiteliális cadherin expresszálódik és a malignus transzformáció során ennek az expressziója lecsökkent és gyakorlatilag a sejtek sejtadhéziós molekula nélkül maradnának, ha nem expresszálnának más típust és több daganat esetében ez az N-cadherin, azonban ez úgy látszik a sejtadhézió mellett a sejtek motilitását, primer tumorból való leválását elősegítő képességekkel ruházza fel a daganatokat (11).

Az oesophagus ráksejtek proliferáció szabályozási hibáinak, vizsgálata során adatok merültek fel arra, hogy a retinoblastoma gén által szabályozott útvonal, ami az E2F1 transzkripciós faktor akti-

válását, szabályozását végzi, érintett lehet az oesophagus rákokban is és ezért vizsgálták ezt a faktort, ill. annak expresszióját 43 tumorból álló oesophagus rákos mintán immunhisztokémia segítségével és ezzel párhuzamosan meghatározták a mitotikus indexet, ill. az apoptotikus indexet is, miután ez a rendszer ezen kétféle képességet szabályozó hatással is bír. A vizsgálatok alapján arra a következtetésre jutottak, hogy az E2F1 expresszió mértéke a mitotikus index-szel mutat összefüggést és nem az apoptotikus index-szel és mind a mitotikus index magas volta, mind pedig az E2F1 transzkripciós faktor fokozott expressziója lerövidült betegség-mentes vagy kiújulás-mentes túléléssel mutatott egyértelmű összefüggést (12).

Egy másik hasonló vizsgálatban, amit Mega és mtsai (13) végeztek az E2F1 transzkripciós faktort a ciklin-D1 sejtciklust szabályozó génnel párhuzamba állítva vizsgálta egy 122 betegből álló nagy klinikai mintán, és ez esetben is immunhisztokémiát használtak. Vizsgálataik alapján az E2F1 és ciklin-D negatív daganatok, amelyek ezen populáció 25%-át képezték, csökkent progressziós képességű betegcsoportot vagy daganatcsoportot jelölt ki, alacsonyabb TN stádiummal, ill. hosszabb 5 éves túléléssel mutatott korrelációt. Azaz, a vizsgálat konklúziója az E2F1 ciklin-D1 expressziója a rossz prognózis markere az oesophagus rákokban.

Chang és mtsai számos klasszikus progresszióval kapcsolatos gén párhuzamos vizsgálatát végezték immunhisztokémiával, ún. szöveti microarray segítségével. (118 esetet vizsgáltak). Vizsgálták a karcinogenezissel kapcsolatba hozható markereket, másrészt pedig progressziós markereket. A progresszió sebességével a BCL2 anti-apoptotikus gén protein expressziós szintje mutatott egyértelmű összefüggést. Az összes többi vizsgált marker, közöttük az apoptózis szabályozásban résztvevő kaspáz-3, a TRAIL, VHL, az E-cadherin és az EGF receptor csak a malignus transzformációval mutatott összefüggést (14).

Zhou és mtsai egy nagyon nagy klinikai anyagon globális génexpressziós vizsgálatot közel 600 rákkal kapcsolatos gént vizsgált, és analizálták a dysplasia, a malignus transzformációval, ill. a progresszióval kapcsolatos géneket. 100 gént azonosítottak, amely a malignus transzformációval mutatott kapcsolatot, azonban 100 gén közül csak kettő volt olyan, amely expressziója összefüggést mutatott az oesophagus rák progressziójával, invazivitásával. Ezek között az ROCK-gént azonosították, amely a sejtmotilitás egyik fontos szabályozó génje, míg a másik a JNK-2 proliferáció szabályozó gén volt (15). Ezzel egyrészt azt igazolták, hogy az oesophagus rákok esetében a proliferációs készség fontos prognosztikus tényező, másrészt pedig a sejtmotilitást szabályozó mechanizmusok is alapvető szerepet játszhatnak az inváziós készség meghatározásában.

Az matrix fehérjék jelenléte a tumorokban fontos szereplő, sokszor jelzője lehet a daganat invázióinak. Ezen matrix fehérjék közül az elmúlt időszakban fokozott figyelem kíséri a lamininnak egyik fragmentjét a laminin 5 gamma-2 fragmentumot, amely nagyon fontos sejtmotilitást stimuláló faktor. 110 oesophagealis rákos beteg immunhisztokémiai mintáján vizsgálták ezen matrix fehérje fragmentnek az expresszióját, és megállapították, hogy megjelenése az invázió mélységével, a nyirokcsomó áttétek jelenlétével, a patológiai stádiummal, és a csökkent 5 éves túléléssel mutatott összefüggést, és megerősíti azt a korábbi más daganatokon tett megfigyelést, hogy igen fontos progressziós markernek tekinthető (8).

Nagyon fontos volna az, ha rendelkeznének olyan szérumból markerekkel, amelyek az oesophagus rák progresszióját jellemzik. Két ilyen vizsgálatról szeretnék említést tenni. Az egyik Shimada munkacsoportja végezte (16), akik az OPN nevű matrix fehérjének a keringésben való megjelenését detektálták, immunoassay (Ria) módszerrel és ezt összehasonlították a Cyfra-21-el és a CEA szintekkel. Megállapították, hogy az oesophagus rákok CEA szintje nem prognosztikai tényező, míg a OPN magas szintje a nyirokcsomó metasztázisok gyakoriságával egyértelmű összefüggést mutatott, valamint korrelált a Cyfra-21 szintekkel is, amely a tumor inváziós mélységével, a teljes túléléssel áll kapcsolatban, ezért azt javasolják, hogy az OPN és a Cyfra21 meghatározása szérumból párhuzamosan történjen az oesophagus rákos betegek esetében.

Korábban megfigyeltek egy gént, mely expressziója csökkent volt az oesophagus rákokban (ECRG4), melynek expresszióját 63 daganatban analizáltak mRNS szinten, ahol a korábbiakhoz

hasonlóan szignifikánsan csökkent expressziót észleltek. Ami ennél talán még fontosabb, hogy az alacsony ECRG4 expresszió független kedvezőtlen prognosztikus tényezőnek bizonyult a túlélés szempontjából, ami felveti metasztázis szuppresszor szerepét (17).

Korábbi vizsgálatok felvetették, hogy egy kálium-csatorna specifikusan oesophagus rákban fejeződik ki (hERG1). Ezt elemezték 77 daganatban mRNS és fehérje szinten. Az hERG1 expresszió incidenciája oesophagus rákban 77.9%-os volt protein szinten és ez nem függött a klinikopatológiai paraméterektől. Az ERG1+ tumorok teljes túlélése kedvezőtlenebb volt mint a negatívaké (30 vs 56 hónap) (18).

A különböző daganatok karcinogenezisében a peroxidoknak és a peroxidáz enzimeknek szerepe lehet. Irodalmi utalások vannak arra nézve, hogy a peroxiredoxinok expressziója kedvezőtlen prognosztikus tényező volna egyes daganatokban. A jelen vizsgálatban 114 oesophagus rákban elemezték a PRDX1 expresszióját immunhisztokémiával és 3 intenzitási grádust alkottak ahol a negatív/gyenge az esetek 20%, közepes 44% és erős 36%-ban fordult elő. A PRDX1 elvesztése/csökkent expressziója összefüggött a T és N stádiummal. Az alacsony PRDX1 expressziót mutató daganatok esetében a teljes túlélés szignifikáns csökkenését észlelték (19).

Szexhormonreceptorok

Ismert tény, hogy az oesophagus rákok előfordulása sokkal gyakoribb férfiakban mint nőkben és a kialakuló rákok prognózisa is kedvezőbb, ami felvette a hormonreceptor rendszer szerepét. Fejnyaki laphámrákban hazai szerzők közölték és igazolták az autentikus ERalfa, ERbeta és PgR expressziót mRNS és fehérje szinten és igazolták negatív prognosztikus szerepét (20). 73 oesophagealis laphámrákban vizsgálták meg az ERa és ERb fehérje expresszióját. Az oesophagealis hámban alig fordult elő ERa+ hámsejt, míg a laphámrákok 64,4%-a volt pozitív és ez férfi nemmel kapcsolódott. Az ERa+ rákok esetében magasabb volt a limfatikus invázió gyakorisága és a nyirokcsomó érintettség, ami miatt szignifikánsan kedvezőtlenebb volt az 5 éves túlélés (23 vs 68,6%). ERb+-ás a rákok 28,8%-ban volt észlelhető. Ebben az esetben is az ERb+ daganatok túlélése szignifikánsan rosszabb volt mint az ERb-aké. A két ER receptor expressziója inverz korellációt mutatott és leggyakrabban ERa+/ERb- fenotípusú volt, mely esetében bizonyult a legkedvezőtlenebb a prognózis. Érdekes és figyelemre méltó, hogy nem kissejtes tüdőrákban, ott elsősorban adenokarcinómában, míg vastagbélrákban és prosztatarákban is expresszálódik az ER és kimutatható az endokrin milieu biológiai hatása daganatokra. Ezek az adatok mind egy irányba mutatva felvetik a lehetőségét ER moduláns terápiák vizsgálatára az oesophagus laphámrákjaiban (21).

Angiogenezis

Ren és mtsai különböző angiogén citokinek szérumszintjét vizsgálták, ezek között a HGF, az IL8 és a VEGF szerepeltek (22). 141 beteg esetében tesztelték a szérumban ezeket a citokineket és összehasonlították a klasszikus klinikopatológiai paraméterekkel. Megállapították, hogy az oesophagus rákos betegekben magas HGF szinteket lehet detektálni, és ez összefüggést mutat az IL8 és VEGF emelkedett szintjével is. A magas HGF szint az előrehaladottabb stádiummal, a nyirokcsomó áttétekkel, ill. a lecsökkent túléléssel mutatott összefüggést. Felhívom a figyelmet, hogy az egyik globális gén expressziós vizsgálatban is azt találták, hogy a progrediáló oesophagus rákokban a HGF receptora a c-met onkogén fokozott expressziója figyelhető meg. Úgy néz ki tehát, hogy egy ún. parakrin vagy autokrin szabályozási kör alakulhat ki az oesophagus rák sejtjeiben is, ezen onkogén fokozott működése vonatkozásában. Másrészt nagyon fontos megfigyelés, hogy az angiogenezisben és a sejt mortalitásban meghatározó parakrin faktorok közül a HGF és IL8 fokozott expressziója mutatható ki oesophagus rákban. A magas VEGF szint felveti annak lehetőségét, hogy az angiogenetikus készség fontos prognosztikus tényező lehet az oesophagus rákok esetében is, amire nézve számos más vizsgálatot is idézek.

Nagy tanulmányok alapján az oesophagus rákban a meghatározó angiogenetikus citokin a VEGF angiogén faktor, de a timidin foszforiláz (TP) is hasonló jelentőségű és prognosztikus erejű angiogén faktor, és a magas VEGF szint nemcsak a daganatok érendzítésével, hanem rossz prognózisával

is társul. Ugyanez az összefüggés kimutatható a TP esetében is. Néhány vizsgálat azonban már utal arra, hogy, ahol specifikusan a nyirokereket stimuláló VEGF-c szintjét vizsgálták és tesztelték, azt állapították meg, hogy az oesophagealis nyálkahártya malignus transzformációja során egyre nő az expressziója a daganatsejteken ennek a citokinnek és ez mutat szoros korrelációt a megváltozó vaszkulaturával is. Hogy milyen gének játszhatnak a háttérben szerepet arra nézve sok érdekes vizsgálat van. Az egyik mindenképpen genetikai meghatározó tényező, a p53 gén mutációja, amely más daganatok esetében is a malignus transzformáció és az angiogén fenotípus kialakításában fontos szerepet játszik, és úgy néz ki, hogy az oesophagus rákban is hasonló szereppel bír. Ismert a cyclooxygenáz-2 fokozott expressziója oesophagus rákban és úgy néz ki, hogy ez a genotípus fokozott angiogén fenotípussal is társul, és a p53 mutáció és a COX2 fokozott expressziója is egymással mutat összefüggést (23). Hogy az angiogén fenotípus kialakulásához milyen mechanizmusok vezethetnek, többféle teória van, az egyik alapvető jelenség a hypoxia, ill. a hypoxiát érzékelő szabályozórendszer hibája, vagy szabályos működése. Az oesophagus rákban úgy néz ki, hogy nincs genetikai károsodás a hypoxia érzékelő rendszerben a HIF1, ill. HIF2 rendszer szabályosan működik, tehát egyre nagyobb és rosszul oxigenizált tumorban kialakuló hypoxia HIF1 és HIF2 fokozott expresszióját indukálja, így az oesophagus rákban több mint felében lehet kimutatni HIF1 expressziót és 10-15%-ban HIF2 expressziót, amely aztán ahhoz vezet, hogy a fokozott VEGF expresszió alakuljon ki (24).

Számos vizsgálat mutatott arra, hogy az oesophagus rákban a daganatszövetben a kisérdenzitás (MVD) fontos prognosztikus tényező és összefüggést mutat az invázió mélységével, mármint az oesophagus nyálkahártyában, a tumor méretével, és a stádiummal (24-27). Érdekes módon a megemelkedett érdenzitás vagy a magas érdenzitású tumorok esetében a nyirokcsomó áttétek gyakorisága is nagyobb, ami egyfajta ellenmondás volna, hiszen az oesophagus rákban a nyirokereken keresztül történik. Nehezen érthető, hogy a vérerdenzitás hogyan függ ezzel össze? Ennek egy racionális magyarázata lehet, hogy a használt markerek nem tudnak különbséget tenni a nyirok és vérerek között, ill. nem tettek különbséget a nyirokereken és vérerek között, tehát az érdenzítésben feltehetően a nagy nyirokér denzitás játssza a döntő szerepet, és ennek lehet prognosztikus szerepe.

Egy másik vizsgálatban Kimura 81 oesophagus rákos mintát vizsgált, ahol a kisérdenzitást, a p53 expressziót, az apoptotikus képességet és a hypoxiát, ill. a HIF1alfa expressziót hasonlította össze, és megállapította, hogy a tumorok nagy részében, több mint 60%-ban p53 fokozott expressziójú, azaz mutáció következett be (27). Ez azonban nem mutatott összefüggést a HIF1alfa, tehát a hypoxia faktor, ill. a VEGF expresszióval és egyáltalán nem mutatott összefüggést az apoptotikus készséggel, ami azt mutatja, hogy az angiogenetikus képesség kialakulása a p53 mutációtól függetlenül valósul meg.

Egy másik nagy vizsgálatban Matsuyama 215 oesophagus rákos betegben vizsgálták a HIF1a protein expresszióját és vizsgálták a p53, ill. a VEGF proteinnel való kapcsolatát. 95%-ában a tumorokban HIF1a proteint tudtak kimutatni elsősorban a sejtmagban, de a citoplazmában is. A HIF1a-át fokozottan expresszáló tumorokban egyértelműen megemelkedett VEGF protein expressziót is találtak és a betegségmentes túléléssel a HIF1a pozitivitás egyértelmű kapcsolatot mutatott, azonban a teljes túlélést már nem befolyásolta (26).

Egy következő vizsgálatban 100 oesophagealis rákot vizsgáltak, ahol a kisérdenzitást, az apoptotikus indexet és a COX2 expressziót tanulmányozták és próbálták meghatározni ezek esetleges összefüggéseit, ill. progressziós jelentőségét. Megállapították, hogy a magas kisérdenzitás és az alacsony apoptotikus index elsősorban a COX2-t fokozottan expresszáló tumorokra jellemző. Megállapították, hogy a COX2-t fokozottan expresszáló daganatok esetében a nyirokcsomó metasztázisok fellépte is gyakoribb és az apoptotikus index alacsony. Tehát ezen vizsgálat konklúziója az volt, hogy a COX2 expresszió az angiogenetikus fenotípusnak és a limfatikus áttétképződésnek egy érzékeny prediktora oesophagus rákban (23).

Az angiogenetikus képesség kialakulásában a vaszkuláris növekedési faktorok játszanak jelentős szerepet, azonban annak számos fajtája van. Vannak olyanok, amelyek csak vérerek képzését végzik, ez a VEGF-A, míg mások a nyirokérvézésben játszanak szerepet, mint a VEGF-C és D variáns, ezeket

vizsgálták oesophagus rákos betegekben. Kleespies arra a következtetésre jut az irodalom elemzése után, hogy a VEGF-C expressziós szintje a daganatban megfigyelt limfatikus invázióval és a nyirokcsomó metasztázisok felléptével mutat egyértelmű összefüggést, és megállapítják azt is, hogy ez a limfangiogenetikus fenotípus az oesophagealis adenocarcinómáknak is jellemzője (28). Az angiogenetikus vérérképző VEGF expressziós szint úgy néz talán kisebb szerepet játszik az oesophagealis laphámrákok progressziójában, mint az adenocarcinómák progressziójában.

Az angiogén fenotípus kialakulásában egyesek felvetették korábban az ETS1 transzkripciós faktor szerepét. Mukherjee és munkatársai 55 oesophagus rákos beteg esetében vizsgálták ennek a faktornak az expresszióját, valamint a VEGF angiogén faktort, ill. a kísérendzítást és ennek összefüggéseit az oesophagealis rák progressziójában (29). Az ereket CD31 markerrel vizsgálták, amely a nyirok- és vérereket nem különíti el egymástól. Az oesophagealis rákok 70-80%-ában, ETS1 és VEGF pozitivitást észleltek. Ebben a vizsgálatban is a VEGF pozitivitása a nyirokcsomó áttétek előfordulási gyakoriságával mutat összefüggést. A csökkent betegségmentes túléléssel, nyirokcsomó áttétekkel a VEGF és ETS1 együttes expresszió mutatott szoros összefüggést. Tehát ez a vizsgálat is erősíti azt, hogy az oesophagealis rákok esetében a lokális érdenzítés nagy valószínűséggel nyirokér denzitást jelent, és rossz prognózis markere. Hogy a VEGF nem az egyetlen angiogén faktor az oesophagus rák esetében, azt Nakamura és mtsai vizsgálatai igazolják, akik más angiogén citokineket is tanulmányoztak, a bázikus FGF-t ill. a PD-ECGF-et, ezeket 80 oesophagus rákos beteg esetében terápia előtt, ill. után, vizsgálták és meghatározták a kísérendzítást is (30).

Tumor gazda kölcsönhatás

Hogy immunológiai mechanizmusok is szerepet játszhatnak az oesophagus rákok progressziójában, azt Kato és mtsai igazolták (31). Egy rák antigént az RCAS1-t vizsgáltak 114 betegből álló klinikai immunhisztokémiai minta segítségével és ezzel párhuzamosan a tumort infiltráló CD8 limfocitákat is meghatározták, ill. a tumor mitotikus aktivitását Ki67-es marker segítségével. A 114 tumornak több mint 30%-a intenzíven expresszálta azt a bizonyos RCAS1 rákantigént. Azt figyelték meg, hogy az RCAS1 fokozottan expresszáló oesophagus rákokban a nyirokcsomó státusz és a patológiai státusz magasabb, ill. pozitív nyirokcsomó valószínűbb, és az 5 éves túlélés szempontjából az RCAS1 negatív tumorok mutatnak előnyt. Ezen esetekben a CD8 pozitív citotoxikus T sejtek infiltrációja is erősebb a tumorokban. Mindezen vizsgálatok arra mutatnak, hogy a lokális antitumorális immunválasz intenzitása is fontos tényező lehet, és pld. RCAS1 daganat antigén egy fontos mediátora lehet az immunreakciónak.

Genomikai vizsgálatok kimutatták, hogy a testis-specifikus fehérje a lymphocyte-antigen-6-complexK (LY6K) gyakran megjelenik NSCLC-ben és az oesophagus laphámrákjában. 265 laphámrákban analizálták immunhisztokémiával a LY6K fehérjét, és kimutatták, hogy ezen "tumorantigén" megjelenése kedvezőtlen prognózishoz kapcsolódik (32). ELISA módszert kifejlesztve a szérumban mérték szintjét és az oesophagus rákosok 32,1%-ban észlelték, míg nem-rákosokban csak 4%-ban. Amennyiben a CYFRA21-1-el kombinálták a szérumban vizsgálatot a rákosok 52%-ban észleltek pozitivitást. A daganatokat infiltráló sejtek denzitásának és összetételének többféle tumor esetében prognosztikus értéke van. 137 oesophagealis laphámrákban vizsgálták a makrofágok és a CD3+ T sejtek szerepét. Megállapították, hogy a rákokban a makrofág-denzitás nő, míg a CD3zeta/epsilon arány csökken (szuppresszor T sejtek). A magas makrofág denzitás és alacsony CD3Z/E arány gyakoribb nyirokcsomó érintettséggel és kedvezőtlenebb túléléssel járt (33). Sokan keresik a limfatikus áttétképzésért felelős faktorokat oesophagus rákban. Egy munkacsoport a midkine multifunkciós citokin szerepét elemezte és mellékesen a nyirokérképző VEGF-C-t is mérte. Megállapították, hogy a szérumban MDK szint emelkedett oesophagus laphámrákban és jó összefüggést mutat a nyirokcsomó érintettséggel, valamint a VEGF-C szinttel is (34).

Prediktív tényezők-farmakogenomika

Az oesophagus rákok kemoterápiája egy kevésbé sikeres területe a klinikai onkológiának. A globális génexpressziós profil vizsgálatok most már a terápiás érzékenység/érzékletlenség genetikai hátterére is kiterjednek. Kihara és mtsai (35) vizsgálták 20 oesophagealis rákban azt a génexpressziós profilt, ami

cisplatin ill. az 5-FU érzékenységet ill. rezisztenciát meghatározhatja. 52 gént találtak, amely összefüggést mutatott a kemoszenzitivitással. Ezen gének között néhány sejtciklust szabályozó gén, a KIP2 ciklin dependens kináz inhibitor, a DPD-asszociált protein, amely az 5-FU lebontó enzimét szabályozza, is szerepeltek. A genetikai palettán egy heparanszulfát proteoglikán (GPC1) fokozott expressziója is kimutatható volt. Emellett a glutation S-transzferáz és az ornitin dekarboxiláz is része volt a profilnak. Meglepő módon az MHC1 expresszió a tumorban a kemoszenzitivitás egy fontos tényezője volt, és hogy az immunszenzitivitásnak szerepe lehet ebben, azt az is igazolja, hogy a MAGE5- rákantigén expressziója is korrelációt mutatott a kemoszenzitivitással (35). Ezen chip vizsgálatok arra utalnak, hogy izgalmas biológiai mechanizmusok mellett esetleg immunológiai mechanizmusok is szerepet játszhatnak az oesophagus rákok terápia érzékenységeiben, és felvetődik annak a lehetősége, hogy ilyen típusú genetikai vizsgálatokat célszerű elvégezni az oesophagus rákokban. Ezen vizsgálat gyengesége az volt, hogy a cisplatin és 5-FU kezelésben részesültek a betegek, ezért nehéz volt elválasztani a kétféle terápiás szerrel való érzékenységet meghatározó géneket, úgyhogy egy másik vizsgálatban Toshimicu és mtsai cisplatin rezisztens és szenzitív sejtvonalakat hasonlítottak össze és így próbálták meghatározni a cisplatin rezisztenciájában szerepet játszó géneket (36). A cisplatin rezisztens sejtekre egy MAP-kináz szabályozó kináz, a HSP70 és az MDR családba tartozó TAP protein csökkent expressziója volt jellemző, míg a fokozottan expresszáldó gének között a citokrom-C-t az MHC1-et és a TGFbeta-át figyelték meg. Nagyon érdekes, hogy a cisplatin rezisztens oesophagus rák sejtvonalban fokozott tubulin expresszió volt, ami fölveti annak lehetőségét, hogy a cisplatin rezisztens tumorok taxánokra érzékenyek lehetnek.

Az oesophagealis rákok gyógyszerrezisztenciája komoly klinikai probléma, melynek hátterében rezisztencia-gének expressziója állhat. 100 laphámrákban elemezték az ABCG2 rezisztencia gén RNS és protein szintű expresszióját. Ez a gén az őssejtek jellemző markere is egyben. Az ABCG2 61%-ban expresszáldott oesophagus laphámrákban, individuálisan igen széles skálán. Az ABCG2+ kedvezőtlenebb túléléssel járt és multivariáns analízisben is megőrizte prediktív erejét (37). Hasonlóan érdekes kérdés az oesophagus laphámrák radioszenzitivitásának problémája. Egyes daganatokban a RUNX3 daganatszuppresszorként szolgál mely a TGFb-mediált apoptózisban tölt be szerepet. 62 oesophagealis laphámrákban elemezték a RUNX3 expressziót a neoadjuváns basugárzás előtt és operációkor. (T3T4 daganatok). A sejtmagi RUNX3 pozitivitás radioszenzitivitással és kedvezőbb túléléssel járt, míg a citoplazmatikus vagy negatívitiás radiorezisztenciához vezetett (38)

Egy vizsgálat (39) az EGFR, ill. HER2, mRNS szintű expresszióját vizsgálta, oesophagus rákos betegekben és próbálta a kemo- és radioterápiával adott válasszal korreláltatni. A vizsgálatához kvantitatív PCR módszert használtak, és normál oesophageális hám EGFR, ill. HER2 szintjére normalizálták az adatokat. Vizsgálataik szerint az EGFR receptor expresszió RNS szintje nem függött össze a kemo-radioterápiára adott válasszal. Vizsgálatukban a HER2 pozitív tumorok, amelyek kevesebb, mint 10%-a a nyelőcső rákoknak, meglehetősen rosszul reagált a neoadjuváns radio- kemoterápiára.

A neoadjuváns kemo-radioterápiát az EGFR expresszió is befolyásolhatja. Ezt elemezték 62 beteg esetében akik 5FU/CPD+RTX kezelésben részesültek. A kiinduló biopsziában elemezték az EGFR, VEGF, ciklinD1 ki67 expressziót immunhisztokémiával. Megállapították, hogy csak az EGFR expressziónak van prediktív jelentősége: mivel a pozitív daganatok jobban reagáltak, gyakoribb volt a CR kialakulása (amit endoszkóppal értékelték) (40).

Irodalom:

1. Swisher SG, Hofstetter W, Wu TT, et al: Proposed revision of the esophageal cancer staging system to accommodate pathologic response (pP) following preoperative chemoradiation (CRT). *Ann Surg* 241:810-820, 2005
2. Rizk NP, Venkatraman E, Bains MS, et al: American Joint Committee on cancer staging system does not accurately predict survival in patients receiving multimodality therapy for esophageal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 25:507-512, 2007

3. Kan T, Shimada Y, Sato F, et al: Prediction of lymph node metastasis with use of artificial neural network based on gene expression profiles in esophageal squamous cell carcinoma. *Am Surg Oncol* 11:1070-1078, 2004
4. Kan T, Shimada Y, Sato F, et al: Gene expression profiling in human esophageal cancers using cDNA microarray. *Biochem Biophys Res Commun* 286:792-801, 2001
5. Guo Y, Chen Z, Zhang L, et al: Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 68:26-34, 2008
6. Sunpaweravong P, Sunpaweravong S, Puttawibul P, et al: Epidermal growth factor receptor and cyclin D1 are independently amplified and overexpressed in esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 131:111-119, 2005
7. Gibault L, Metges J-P, Conan-Charlet V, et al: Diffuse EGFR staining is associated with reduced overall survival in locally advanced oesophageal squamous cell cancer. *Br J Cancer* 93:107-115, 2005
8. Fukai Y, Masuda N, Kato H, et al: Correlation between laminin-5 gamma2 chain and epidermal growth factor receptor expression in esophageal squamous cell carcinomas. *Oncology* 69:71-80, 2005
9. Ekmar S, Bergqvist M, Heldin CH, Lennartsson J.: Activation of growth factor receptors in esophageal cancer – Implications for therapy. *The Oncologist* 12:1165-1177, 2007
10. Xu S, Kitayama J, Yamashita H, et al: Nuclear translocation of HER-4/c-erbB-4 is significantly correlated with prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 97:44-50, 2007
11. Yoshinaga K, Inoue H, Utsunomiya T, et al: N-cadherin is regulated by activin A and associated with tumor aggressiveness in esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res* 10:5702-5707, 2004
12. Yamazaki K, Masegawa M, Ohaka I, et al: Increased E2F-2 expression via tumour cell proliferation and decreased apoptosis are correlated with adverse prognosis in patients with squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J Clin Pathol* 58:904-910
13. Mega S, Miyamoto M, Ebihara Y, et al: Cyclin D1, E2F1 expression levels are associated with characteristics and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 18:109-113, 2005
14. Chang MS, Lee HS, Lee BL, et al: Differential protein expression between esophageal squamous cell carcinoma and dysplasia, and prognostic significance of protein markers. *Pathol Res Pract* 201:417-425, 2005
15. Zhou J, Zhao LQ, Xiong MM et al: Gene expression profiles at different stages of human esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 9:9-15, 2005.
16. Shimada Y, Watanabe G, Kawamura J, et al: Clinical significance of osteopontin in esophageal squamous cell carcinoma: comparison with common tumor markers. *Oncology* 68:285-292, 2005
17. Mori Y, Ishiguro H, Kuwabara Y, et al: Expression of ECRG4 is an independent prognostic factor for poor survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 18:981-985, 2007
18. Ding XW, Luo HS, Luo B, et al: Overexpression of hERG1 in resected esophageal squamous cell carcinomas: A marker for poor prognosis. *J Surg Oncol* 97:57-62, 2007
19. Hoshino I, Matsubara H, Akutsu Y, et al: Tumor suppressor Prdx1 is a prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma patients. *Oncol Rep* 18:867-871, 2007
20. Lukits J, Remenár É, Rásó E, et al: Molecular identification, expression and prognostic role of estrogen- and progesterone receptors in head and neck cancer. *Int J Oncol* 30:155-160, 2007
21. Nozoe T, Oyama T, Takenoyama M, et al: Significance of immunohistochemical expression of estrogen receptor a and b in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Clin Cancer Res* 13:4046, 2007
22. Ren Y, Cao B, Law S, et al: Hepatocyte growth factor promotes cancer cell migration and angiogenic

- factors expression: a prognostic marker of human esophageal squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 11:6190-6197, 2005
23. *Kase S, Osaki M, Honjo S, et al:* Expression of cyclo-oxygenase-2 is correlated with high intratumoral microvessel density and low apoptotic index in human esophageal squamous cell carcinomas. *Virchows Arch* 442:129-135, 2003
 24. *Kumagai Y, Masakazu T, Inoue H.:* Dynamism of tumour vasculature in the early phase of cancer progression: outcomes from oesophageal cancer research. *Lancet Oncol* 3:604-610, 2002
 25. *Kimura S, Kitadai Y, Kuwai T, et al:* Expression of p53 protein in esophageal squamous cell carcinoma: relation to hypoxia-inducible factor-1 alpha, angiogenesis and apoptosis. *Pathobiology* 72:179-185, 2005
 26. *Matsuyama T, Nakanishi K, Hayashi T, et al:* Expression of hypoxia-inducible factor-1a in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 96:176-182, 2005
 27. *Kimura S, Kitadai Y, Kuwai T, et al:* Expression of p53 protein in esophageal squamous cell carcinoma: relation to hypoxia-inducible factor-1 alpha, angiogenesis and apoptosis. *Pathobiology* 72:179-185, 2005
 28. *Kleespies A, Bruns CJ, Januch KW.:* Clinical significance of VEGF-A, -C and -D expression in esophageal malignancies. *Onkologie* 28:281-288, 2005
 29. *Mukherjee T, Kumar A, Mathur M, et al:* Ets-1 and VEGF expression correlates with tumor angiogenesis, lymph node metastasis, and patient survival in esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 129:430-436, 2003
 30. *Nakamura T, Ozawa S, Kitagawa Y, et al:* Expression of basic fibroblast growth factor is associated with a good outcome in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *Oncol Rep* 14:617-623, 2005
 31. *Kato H, Nakajima M, Masuda N, Faried A, Sohda M, Fukai Y, Miyazaki T, Fukuchi M, Tsukada K, Kuwano H.:* Expression of RCAS1 in esophageal squamous cell carcinoma is associated with a poor prognosis. *J Surg Oncol* 90:89-94, 2005
 32. *Ishikawa N, Takano A, Yasui W, et al:* Cancer-testis antigen lymphocyte antigen 6 complex locus K is a serologic biomarker and a therapeutic target for lung and esophageal carcinoma. *Cancer Res* 67:11601-11611, 2007
 33. *Guo SJ, Lin DM, Li J, et al:* Tumor-associated macrophages and CD3-zeta expression of tumor-infiltrating lymphocytes in human esophageal squamous-cell carcinoma. *Dis Esophagus* 20:107-116, 2007
 34. *Krzystek-Korpacz M, Matusiewicz M, Diakowska D, et al:* Serum midkine depends on lymph node involvement and correlates with circulating VEGF-C in oesophageal squamous cell carcinoma. *Biomarkers* 12:304-413, 2007
 35. *Kihara C, Tsunoda T, Tanaka T, et al:* Prediction of sensitivity of esophageal tumors to adjuvant chemotherapy by cDNA microarray analysis of gene-expression profiles. *Cancer Res* 61:6474-6479, 2001
 36. *Toshimitsu H, Hashimoto K, Tangoku A, et al:* Molecular signature linked to acquired resistance to cisplatin in esophageal cancer cells. *Cancer Letters* 211:69-78, 2004
 37. *Tsunoda S, Okumura T, Ito T, et al:* ABCG2 expression is an independent unfavorable prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 71:251-258, 2006
 38. *Sakakura C, Miyagawa K, Fukuda KI, et al:* Frequent silencing of RUNX3 in esophageal squamous cell carcinoma is associated with radioresistance and poor prognosis. *Oncogene* 26:5927-5938, 2007
 39. *Miyazono F, Metzger R, Wernecke-Eberz U, et al:* Quantitative c-erbB-2 but not c-erbB-1 mRNA expression is a promising marker to predict minor histopathologic response to neoadjuvant radiochemotherapy in oesophageal cancer. *Br J Cancer* 91:666-672, 2004

40. *Gotoh M, Takiuchi H, Kawabe S, et al:* Epidermal growth factor receptor is a possible predictor of sensitivity to chemoradiotherapy in the primary lesion of esophageal squamous cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 37:652-657, 2007