

Molekulová patológia karcinómu prostaty (1. časť)

doc. MUDr. Karol Kajo, PhD.¹, MUDr. Katarína Machálek¹, Mgr. Petra Tilandyová², RNDr. Zora Lasabová, PhD.², MUDr. Roman Tomaškin³

¹ Ústav patologickej anatómie JLF UK a MFN v Martine

² Ústav molekulárnej biológie JLF UK a MFN v Martine

³ Urologická klinika JLF UK a FN v Martine

Karcinóm prostaty (KP) je značne heterogénne onkologické ochorenie vyznačujúce sa komplexnou etiopatogenezou, v ktorej dôležitú úlohu zohrávajú familiárne, hormonálne a diétne faktory a vplyvy prostredia. Na vzniku a progresii KP sa zúčastňujú početné genetické a epigenetické alterácie, ktoré modifikujú jeho morfológický obraz a ovplyvňujú aj jeho biologické správanie. V evolučnej línii KP sú premalígne lézie typu proliferatívnej zápalovej atrofie a prostatickej intraepitelovej neoplázie, ďalej lokalizované formy KP s indolentným priebehom, ako aj agresívne pokročilé nádory so vzdialenými metastázami. Základnou podstatou tejto evolučnej línie je vznik KP ako hormónovo závislého ochorenia a jeho prechod do nádoru, ktorého rast je nezávislý na androgénoch a vyžadujúceho iné terapeutické prístupy. V súčasnosti sa predpokladá, že evolúcia KP neprebíha v jednej línii, ale že existujú minimálne tri úrovne vývinu KP s rozdielnymi genetickými, resp. epigenetickými zmenami a rôznym biologickým správaním. Preto poznanie molekulovej podstaty KP je nevyhnutnou podmienkou pre pochopenie jeho biológie a predikcie prognózy, ako aj hľadania účinnej terapie.

Kľúčové slová: prostata, karcinóm, molekulový, gén.

Molecular pathology of prostate carcinoma (part 1)

Prostate carcinoma (PC) is a heterogeneous malignant disease with complex etiopathogenesis, in which the hereditary, hormonal, diet and environmental factors play an important role. Initiation and progression of this disease are associated with numerous genetic and epigenetic alterations, which not only modify its morphological image, but affect its biological behaviour. In the evolution of PC there are premalignant lesions such as proliferative inflammatory atrophy and prostatic intraepithelial neoplasia, furthermore localized carcinomas with indolent duration as well as aggressive advanced forms with distant metastases. The transition from hormone dependent carcinoma to the androgen resistant cancer form with different therapeutic approaches is basic essence of this evolution line. Nowadays, there are at least three developmental levels of PC with different genetic and epigenetic alterations and biological behaviour. Therefore, knowledge of molecular basis of PC is essential for comprehension of its biology and prediction prognosis as well as search for effective therapy.

Key words: prostate, carcinoma, molecular, gene.

Onkológia (Bratisl.), 2009; roč. 4 (3): 178–180

Úvod

Karcinóm prostaty (KP) je vo vyspelých krajinách najčastejšou malignitou v mužskej populácii a je na druhom mieste v úmrtnosti na zhubné nádory (1, 2, 3, 4, 5). Na Slovensku bolo v roku 2003 diagnostikovaných 1 130 prípadov KP a v incidencii bol tento nádor na 4. mieste po zhubných nádoroch kolorekta, pľúc a priedušiek a kože (6). Závažnosť problematiky KP však nespočíva len v jeho nepriaznivej epidemiologickej situácii, ale najmä v značnej variabilite etiopatogenetických činiteľov a z toho vyplývajúcej sťaženej predpovede prognózy alebo liečebnej odpovede.

Všeobecná etiopatogenéza karcinómu prostaty

Z hľadiska etiopatogenézy je KP značne heterogénne a zložité onkologické ochorenie, ktorého príčiny nie sú zatiaľ úplne jasné, avšak pri jeho vzniku a progresii sa predpokladá účasť

hereditárnych a diétnych faktorov a účinkov prostredia (4). Keďže prostata je hormonálne senzitívny orgán, androgény a rastové faktory budú zohrávať dôležitú úlohu nielen v jej diferenciácii a funkcii, ale aj v procese karcinogenézy. KP zvyčajne začína ako androgén-dependentný tumor, ktorý progreduje do karcinómu, ktorého rast je nezávislý na hormónoch. Táto skutočnosť je veľmi dôležitá, pretože takmer všetky úmrtia sú spôsobené práve nádormi s klonmi buniek, ktoré sú nezávislé na androgénoch a sú refraktérne na liečbu konvenčnými terapeutickými schémami (5). Celkovo je proces karcinogenézy v prostate dlhodobý a predpokladá sa, že trvá 20 – 30 rokov (7).

Základným mechanizmom všeobecnej tumorigenézy je akumulácia genetických a epigenetických zmien, ktoré rezultujú do inaktívácie nádorových supresorových génov a kontrolných génov, ako aj do aktivácie onkogénov. Následne dochádza ku genetickej nestabilite, ktorá napo-

máha nádorovej progresii (4, 5). Aj v prostate sú základom celej podstaty karcinogenézy vrodené aj somatické genetické alterácie, ktoré zahŕňajú dereguláciu onkogénov, nádorových supresorových génov a génov potláčajúcich metastázovanie a umožňujú spomínanú progresiu z lokalizovaných androgén-dependentných foriem KP do generalizovaného KP (5). Dochádza k aktivácii viacerých kaskád zahŕňajúcich androgénový receptor (AR), estrogénový receptor (ER), receptor epidermálneho rastového faktoru (EGFR), HER-2/neu a Wtn/ β -katenínovú signálnu cestu. Na druhej strane znížená regulácia viacerých článkov zahrnutých v apoptotických kaskádach, napr. ceramidov a kaspáz v kombinácii so zvýšenou expresiou antiapoptotických faktorov, ako napr. BCL-2, vedú k zvýšenému prežívaniu nádorových epitelových buniek (3). Preto poznanie týchto faktorov a mechanizmov a tiež „načasovanosť“ ich účinku a pôsobenia sú potrebné pre pochopenie procesu karcinogenézy.

Bunková podstata karcinómu prostaty

KP vznikajú z progenitorových buniek, ktoré sú reaktivované cestou embryonálnej aktivácie onkogénov a vyznačujú sa stratou funkcie nádorových supresorových génov, čím dochádza k nadmernému deleniu a zvýšenému prežívaniu (7). V prostate sú prítomné tri druhy diferencovaných epitelových buniek. Vnútrotnú vrstvu prostatických žliaz tvoria sekrečné (luminálne) bunky, ktoré nasadajú na vrstvu bazálnych buniek nachádzajúcich sa v kontakte s bazálnou membránou. Na molekulovej úrovni sú luminálne bunky charakterizované expresiou AR, cytokeratínov typu 8 a 18, prostatického špecifického antigénu (PSA) a povrchovým markerom CD57. Naproti tomu bazálne bunky exprimujú cytokeratíny typu 5 a 14, CD44, p63, BCL-2 a neproduktujú prostatické sekrečné proteíny (8, 9). Tretím typom buniek sú neuroendokrinné elementy, ktoré sú lokalizované v žliazkach alebo vývodoch periférnej a prechodnej zóny prostaty a vykazujú zmiešanú epitelovú, nervovú a endokrinnú charakteristiku, napr. expresiu neuroendokrinných markerov (chromogranín a a synaptofyzín) a podobne ako bazálne bunky nie sú závislé na androgénoch (10).

V prostate, podobne ako v iných orgánoch, napr. v prsníku, sa nachádzajú kmeňové bunky, ktoré sú schopné následnej diferenciácie do vyššie uvedených bunkových typov (11). Časť z nich by mohla predstavovať progenitorové bunky KP, ktoré budú aktivované rôznymi signálnymi kaskádami rastových faktorov. Tieto bunky sa nachádzajú v kontakte s bazálnou membránou a predstavujú približne 1 – 2 % všetkých bazálnych buniek. Dajú sa dokázať pomocou identifikácie špecifických markerov, napr. $\alpha 2 \beta 1^{(H)}$ – integrínu, CD133, antigénu kmeňových buniek – 1 (Sca-1), antigénu prostatických kmeňových buniek – PSCA (9) a cytokeratínu 6a. Prostatické dospelé kmeňové bunky majú podobné charakteristiky ako bazálne bunky, taktiež nie sú závislé na androgénoch a vykazujú značnú expresiu cytokeratínov typu 5 a 14, ako aj p63, BCL-2 a telomerázy (3). Pri stimule, napr. traume, môžu dospelé kmeňové bunky nahradiť bazálne bunky alebo prejsť do prechodných buniek, ktoré sa následne môžu diferencovať do neuroendokrinných alebo sekrečných epitelových buniek. Pri iniciácii KP môžu byť prekursorové lézie navodené deregulovanými mitogénnymi signálnymi kaskádami v bazálnych multipotentných kmeňových bunkách a/alebo v prechodných bunkách. Preto môže vzniknúť značne heterogénna bunková populácia s aberantnými diferenciá-

ciami, nekontrolovaným delením a poklesom apoptotickej aktivity. Maligná konverzia je teda spôsobená funkčnými zmenami, pri ktorých AR aktivujú nové genomické (transkripčné) aj negenomické signálne cesty, ktoré nie sú funkčné v normálnych epitelových bunkách prostaty (9). V tejto súvislosti aj konverzia androgénov do estrogénov v prostatickom kompartmente môže byť včasnou etapou v etiopatogenéze KP. Vplyvom 17β - estradiolu sa môže navodiť nadmerná regulácia expresie katalytickej podjednotky ľudskej telomerázy, ktorá je spojená s nelimitovanou bunkovou proliferáciou. Taktiež aktivácia niektorých ďalších vývojových signálnych ciest, napr. Wnt/ β - katenínovej a EGFR kaskády, a inaktivácia transformujúceho rastového faktoru – β (TGF β) v dospelých prostatických kmeňových bunkách predstavuje potenciálne udalosti v iniciácii do KP (3).

Takže aktiváciou androgénov, estrogénov a spustením rôznych signálnych kaskád rastových faktorov môže dôjsť k vytvoreniu generácie heterogénnej populácie karcinómových progenitorových buniek, ktoré vykazujú nekontrolované delenie a zmenenú diferenciáciu. Tieto karcinómové progenitorové bunky môžu indukovať tvorbu prekursorových lézií a následne viesť k rozvoju KP.

Morfologický model evolúcie karcinómu prostaty

Je známe, že KP vzniká na podklade progresie z premaligných lézií, ktoré môžu byť navodené poškodením tkaniva prostaty, napr. chronickým zápalom (3). Karcinogenéza teda predstavuje dlhodobý viacúrovňový proces, v priebehu ktorého sa v bunkách kumulujú genetické zmeny a nastáva genetická nestabilita. Výsledkom týchto genetických a epigenetických zmien je narušenie rovnováhy medzi bunkovou proliferáciou, apoptózou, diferenciáciou, starutím a mechanizmami kontrolujúcimi tieto bunkové procesy, čím dochádza k postupnej neoplastickej transformácii buniek. Bunky vykazujú rôzne fenotypové charakteristiky, na základe ktorých je možné diagnostikovať určité štádiá procesu tumorigenézy.

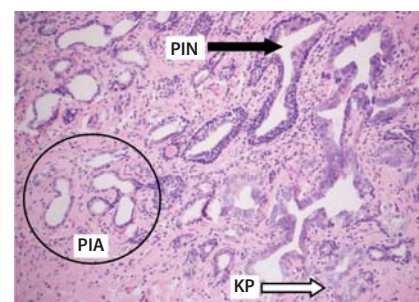
Z morfologického hľadiska je najznámejším prekursorom KP prostatická intraepitelová neoplázia (PIN). Táto je definovaná ako neoplastická transformácia sekrečného epitelu vystielajúceho prostatické vývody a acíny a je limitovaná bazálnou membránou (12). V súčasnosti sa za jej predstupeň považuje proliferatívna zápalová atrofia (PIA). Už dávnejšie boli známe ložiská epitelovej atrofie v prostate, ako aj koncept vývinu KP z atro-

fie. Fokálna forma epitelovej atrofie je prítomná na periférii prostaty a je odlišná od difúznej atrofie, ktorá je známa pri androgénovej deprivácii. Epitelová atrofia býva spojená s akútnym alebo chronickým zápalom a môže vykazovať morfológické prechody do high-grade PIN. Zaujímavým je fakt, že práve v okrskoch atrofie epitel vykazuje zvýšenú proliferatívnu aktivitu (4).

V PIA je zvýšená hladina glutatión s - transferázy P-1 (GSTP-1), ktorej expresia sa objavuje nielen v bazálnych ale aj v luminálnych bunkách. GSTP-1 pôsobí antioxidantne, detoxikuje karcinogény, a tak chráni bunku pred poškodením genómu. Pre epitelové bunky, ktoré vykazujú molekulové známky stresu, je príznačná vysoká hladina GSTP-1 a cyklooxygenázy-2 – COX2. Niektoré bunky v PIA a vo väčšine high-grade PIN strácajú expresiu GSTP-1 mechanizmom hypermetylácie DNA promótoru, a tým sa stávajú zraniteľné na zápalové oxidanty, ktoré navodia neoplastickú transformáciu do high-grade PIN a KP (13).

Ukázalo sa, že luminálne bunky v PIA predstavujú formu prechodných epitelových buniek, teda podobných tým, v ktorých sa iniciuje proces neoplastickej transformácie v prostate. Z týchto poznatkov vyplýva, že PIA spolu s high-grade PIN môžu predstavovať štádiá v procese progresie do KP. Svedčí pre to aj fakt, že PIA je najčastejšie lokalizovaná v periférnej zóne prostatickej žľazy, nepodstupuje involúciu a je proliferatívne aktívna. Zároveň v nej boli nájdené niektoré chromozomálne alterácie, ktoré sa vyskytujú v high-grade PIN a KP, napríklad strata 8p22 chromozómu a získanie centroméry 8. chromozómu (pozri ďalej) a bola v nej zaznamenaná zvýšená aktivita telomerázy (13). Preto PIA buď priamo alebo cez medzistupeň PIN môže progredovať do KP. Podporuje to aj skutočnosť, že všetky tri lézie sa často nachádzajú v tesnom kontakte (obrázok 1) (4).

Obrázok 1. Súčasný výskyt štruktúr karcinómu prostaty (KP) s prekursorovými léziami typu proliferatívnej zápalovej atrofie (PIA) a prostatickej intraepitelovej neoplázie (PIN) v jednom zornom poli (farbenie HE; zväčšenie 400x).



Zápal a jeho účasť v genéze karcinómu prostaty

Je známe, že chronická infekcia a zápal v niektorých orgánoch (žalúdok, pečeň, hrubé črevo, žľazové cesty, močový mechúr, pankreas, pľúca a pažerák) môžu spôsobovať zhubné nádorové ochorenia. Taktiež v prostate sa chronický zápal uplatňuje v karcinogénze KP, pričom ide o značne komplexný proces zahŕňajúci prirodzené aj adaptačné mechanizmy (obrázok 2) (4, 14). Príčinou zápalu môžu byť infekcie (napr. sexuálne prenosné činitele), bunkové poškodenie (reflux moču, prostatické konkrementy), hormonálne vplyvy, diétne faktory (nadmerná konzumácia mäsa). Tieto činitele spôsobujú poškodenie epitelu, čo vedie k zníženej tolerancii k normálnym prostatickým antigénom a k možnej následnej autoimúnnej reakcii. V procese zápalu sú z aktivovaných fagocytujúcich zápalových buniek a imunitného systému uvoľňované vysoko reaktívne chemické substancie, napríklad superoxydy (peroxid vodíka a oxid dusíka). Tieto látky spôsobujú oxidačné a dusičné poškodenie DNA v epitelových bunkách, alebo reagujú s ostatnými zložkami buniek, napr. fosfolipidmi a spôsobujú uvoľňovanie voľných radikálov. Poškodené bunky musia byť nahradené progenitorovými a/alebo kmeňovými bunkami. Dochádza tak k zvýšenej syntéze DNA, pri-

čom v kontexte s pôsobiacimi škodlivinami narastá riziko vzniku mutácií. Zápalové bunky uvoľňujú cytokíny stimulujúce proliferáciu epitelových buniek a angiogézu. Tým, že zápalové bunky migrujú cez extracelulárnu matrix a vylučujú proteolytické enzýmy, napomáhajú neoplasticky transformovaným epitelovým bunkám invadovať do strómy a ciev a šíriť sa krvným či lymfatickým systémom (4, 14).

Morfologickým korelátom je už spomínaná PIA, v ktorej nastáva progresia bunkového cyklu vplyvom zníženej hladiny proteínov p27, NKX3.1 a PTEN v lumenálnych bunkách v dôsledku potlačenej expresie príslušných génov a tiež dochádza k indukcií génov odpovedajúcich na stres, napr. GSTP-1, GSTA-1 a COX2 (4).

Cestou metylácie promotóra GSTP-1 v časti buniek sa ďalej uľahčuje oxidačne navodené skrátenie teloméru. Bunky prenášajú metylované GSTP-1 alely a skracujú sa im teloméry, čím sa vytvára predpoklad ich dysfunkcie. Krátke teloméry obchádzajú kontrolné body starnutia bunky, čím sa uľahčuje a navodzuje genetická instabilita a akumulujú sa genetické zmeny (napr. strata heterozygotnosti – LOH na 8p21, 6q alebo získania genetickej informácie na 8p24, 17q). Kontinuálna proliferácia geneticky nestabilných lumenálnych buniek a ďalšie hromadenie genetických zmien, napr. fúzia

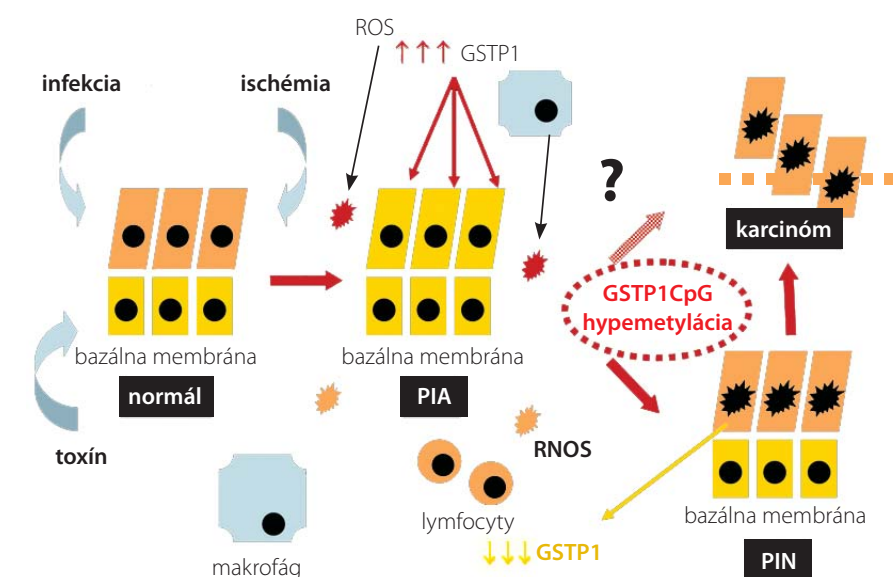
niektorých génov ako TMPRSS2-ETS, vedú k predpokladu invazívneho KP (4).

Hereditárne faktory

Na základe niektorých epidemiologických charakteristík môže byť KP rozdelený na hereditárny a sporadický typ. Napriek tomu, že hereditárny vplyv je pri KP všeobecne známy a pozitívna rodinná anamnéza sa považuje za jeden z najdôležitejších rizikových faktorov, doteraz neboli dokázané vysoko penetrantné gény (1, 4, 5, 15), ktoré by sa zúčastňovali na vzniku nádorov prostaty tak, ako je to napríklad pri karcinóme prsníka. Predpokladá sa, že hereditárne faktory sa zúčastňujú na vzniku a vývoji približne 5 – 10 % KP (7, 8) a klinicky sa tieto nádory vyskytujú v mladších vekových skupinách ako sporadické formy KP. V súčasnosti je známych viac ako 10 génov, ktorých alterácie sú spojené so vznikom a progresiou familiárneho KP, z ktorých sa za hlavné považujú HPC2/ELAC2, RNASEL a MSR1 (13).

HPC2/ELAC2 je lokalizovaný na 17p chromozóme a jeho nadmerná expresia je spojená so zvýšeným rizikom KP. Ďalší gén, RNASEL sa nachádza na 1q23-25 chromozóme a kóduje ribonukleázu, ktorá pôsobí v interferóme indukovanej degradácii RNA a vykazuje antivírusové a proapoptotické aktivity (5, 13, 14). Mutácie tohto génu sa vyskytujú vo familiárnych aj sporadických KP (15) a sú spojené so zníženou enzýmovou aktivitou ribonukleázy a s vyšším rizikom vzniku KP. Tretím génom je MSR1 nachádzajúci sa na 8p22 chromozóme a kódujúci makrofágovo-špecifický receptor, ktorý je schopný naviazať rôzne ligandy, napr. bakteriálne lipopolysacharidy. Jeho aktivita je spojená s eradikáciou patogénov (14). RNASEL aj MSR1 sa podieľajú na odpovedi voči infekčným činiteľom, preto akákoľvek ich zmena znižuje schopnosť eradikácie infekcie a vedie k chronickému zápalu (16). Riziko vzniku a progresie KP teda pri týchto hereditárnych vplyvoch narastá, len ak budú v koincidencii s ďalšími genetickými a diétnymi činiteľmi, resp. faktormi prostredia. Z ostatných génov spojených so zvýšeným familiárnym rizikom KP sú SRD5A2 (kóduje izoenzym 5-reduktázy) a CYP17 (cytochróm P450c17) (5, 15).

Obrázok 2. Zápal a jeho účasť na karcinogénze karcinómu prostaty.



Poškodenie epitelu vedie k hromadeniu zápalových a makrofagických buniek, ktoré vylučujú oxidy (ROS) alebo dusičnaté látky (RNOS). Tieto ďalej poškadzujú bunky, dochádza k oxidatívne stresu a narušeniu DNA. Za normálnych stavov len bazálne bunky produkujú glutatión S-transferázu-1 (GSTP-1), ktorá slúži ako detoxikátor karcinogénov. Pri chronickom poškodení aj lumenálne bunky začnú produkovať GSTP-1 (zobrazenie žltým sfarbením cytoplazmy) v lézii označovanej ako proliferatívna zápalová atrofia (PIA). Ak však nastane hypermetylácia promotóra GSTP-1, bunky podliehajú neoplastickej transformácii, a tak sa môže cez medzistupeň intraepitelovej neoplázie (PIN) vyvinúť invazívny karcinóm. Voľne upravené podľa Palapattu et al, 2004.

Pokračovanie v nasledujúcom čísle.

doc. MUDr. Karol Kajo, PhD.

Ústav patologickej anatómie JLF UK a MFN
Kollárova 2, 036 01 Martin
karol.kajo@post.sk

