

NOTCH signalinio kelio ir ginekologinių piktybinių navikų sąsaja

Nadežda Lachej¹,

Daiva Dabkevičienė²,

Aušra Sasnauskienė²,

Rūta Marija Trimonytė²,

Daiva Kanopienė³,

Birutė Kazbarienė⁴,

Janina Didžiapetrienė⁴

¹ Nacionalinis vėžio institutas,
Chemoterapijos skyrius

² Vilniaus universitetas,
Gamtos mokslų fakultetas,
Biochemijos ir molekulinės biologijos katedra

³ Nacionalinis vėžio institutas,
Konsultacinė poliklinika

⁴ Nacionalinis vėžio institutas,
Mokslinių tyrimų centras

Įvadas. Organizmo ląstelėse vykstančius procesus kontroliuoja įvairūs signaliniai keliai. Vienas iš jų yra NOTCH signalinis kelias. Nustatyta, kad dalinis NOTCH funkcijos praradimas arba nenormalus NOTCH signalo aktyvinimas susijęs su įvairiais žmogaus vystymosi sutrikimais ir ligomis.

Medžiaga ir metodika. Pagrindinis informacijos šaltinis ieškant duomenų – *PubMed* duomenų bazė.

Rezultatai. Straipsnyje nagrinėjama onkologinių ligų bei NOTCH signalinio kelio dalyvių sąsaja. NOTCH signalas, vystantis vėžiui, gali veikti dvejopai: kaip onkogenas ir kaip naviko augimo slopiklis. Tikslus tokio poveikio mechanizmas dar nėra žinomas. NOTCH signalinio kelio tyrimai svarbūs siekiant atrasti naujus vėžio gydymo būdus, farmakologiniais ir genetiniais metodais valdant NOTCH signalinį kelią. Šioje apžvalgoje daugiausia dėmesio skiriama ginekologiniams piktybiniams navikams, ypač gimdos kūno vėžiui.

Išvados. Pastarųjų metų mokslinių tyrimų duomenys rodo, kad NOTCH signalinis kelias yra neabejotinai svarbus formuojantis gimdos kūno vėžiui, todėl jo komponentai gali būti potencialūs prognoziniai biožymenys ir molekuliniai terapiniai taikiniai. Siekiant patikslinti NOTCH signalinio kelio dalyvių reikšmę bei jų sąveiką su kitų signalinių kelių dalyviais, kurie taip pat gali būti svarbūs formuojantis ir progresuojant gimdos kūno vėžiui, reikalingi tolesni šios srities moksliniai tyrimai.

Raktažodžiai: NOTCH signalinis kelias, onkoginekologinės ligos

ĮVADAS

Procesus, kai iš vienos ląstelės susidaro daugialštis organizmas, reguliuoja darni genų veikla, kurią kontroliuoja įvairūs signaliniai keliai. Vienas svarbus, nulemiantis ląstelės likimą, yra NOTCH signalinis

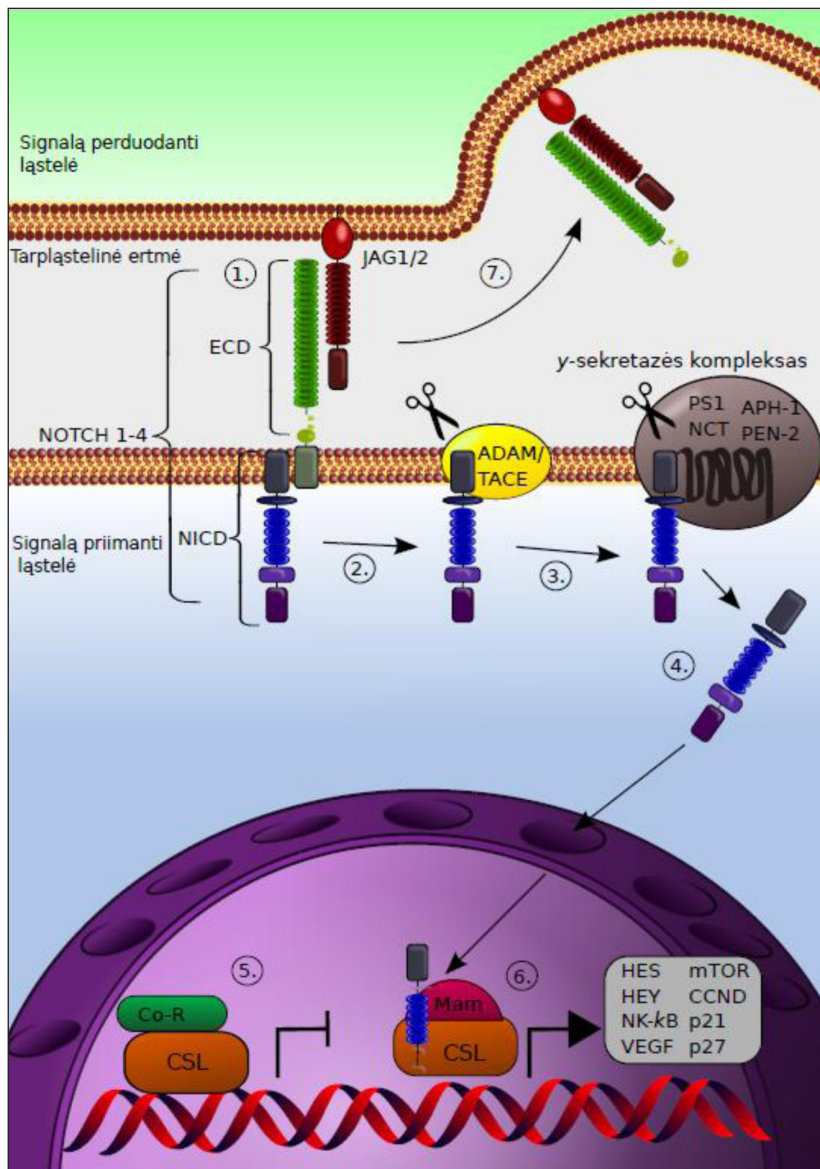
kelias; signalo perdavimas šiuo keliu būdingas evoliuciškai skirtingiems organizmams – nuo jūrų ežio iki žmogaus. Signalas, perduodamas per NOTCH signalinio kelio receptorių ir veikdamas kartu su įvairiais ląstelės komponentais, daro įtaką ląstelės diferenciacijos, proliferacijos ir apoptozės procesams (1–3).

Pirmą kartą geną, koduojantį NOTCH signalinio kelio receptorių, paminėjo T. H. Morganas beveik prieš 100 metų darbe „Geno teorija“. Jis kryžminimo būdu išvedė mutantines „NOTCH“ museles su

grioveliais (angl. *notches*) sparnų kraštuose (4). Šį fenotipą lemia dalinis NOTCH receptorių funkcijos praradimas. NOTCH signalo svarba ląstelės vystymosi procesui tirta įvairiuose modeliniuose organizmuose, pavyzdžiui, kirmėlėse, muselėse, pelėse (1, 3, 5).

Kiekvienas signalinis kelias turi savo „šerdi“, kurią sudaro baltymai, reikalingi signalui perduoti. Šiame procese taip pat dalyvauja ir daugybė pagalbinių baltymų, kurie daro įtaką signalo perdavimui. Pastaraisiais metais atliekami genetiniai ir molekuliniai tyrimai leido atpažinti kai kuriuos baltymus, dalyvaujančius perduodant ir reguliuojant NOTCH signalą. Nors daugelio naujai identifikuotų baltymų funkcijos NOTCH signaliniame kelyje nėra pakankamai aiškios, galima išskirti baltymus, kurie sudaro šio signalinio kelio pagrindą – tai receptorių ir ligandų. NOTCH receptorių yra transmembrani-

nis baltymas, kuris dalyvauja greta esančių ląstelių tarpusavio sąveikoje priimdamas signalą ir toliau perduodamas jį į branduolį. NOTCH receptorių sudarytas iš užląstelinio domeno (angl. *extracellular domain* – ECD) ir viduląstelinio domeno (angl. *NOTCH intracellular domain* – NICD). Nustatyta, kad žinduoliai turi keturis NOTCH receptorių (NOTCH1-4). NOTCH ligandas taip pat yra transmembraniškas baltymas, dalyvaujantis ląstelių sąveikoje ir siunčiantis signalą receptoriui. NOTCH ligando užląstelinis domenas sudarytas iš tam tikro skaičiaus į epidermio augimo veiksnį panašių pasikartojimų ir iš daug cisteino turinčio N-galinio domeno. Žinduoliai turi penkis NOTCH ligandus – DLL1, DLL3, DLL4 (angl. *Delta-like ligands*) ir JAG1, JAG2 ligandus (angl. *Jagged*) (2, 3, 6–8). NOTCH signalo perdavimo schema pavaizduota paveiksle.



Pav. NOTCH signalo perdavimo mechanizmas

Signalas inicijuojamas, kai jį perduodančios ląstelės membranoje esantis JAG1/2 (arba DLL1–3) ligandas prisijungia prie užląstelinio NOTCH receptoriaus domeno (1). Metaloproteazės ADAM (angl. *A Disintegrin And Metalloprotease* – dizintegrinas ir metaloproteazė) ir TACE (angl. *Tumor Necrosis Factor α -converting enzyme* – naviko nekrozės veiksnio alfa konvertuojantis fermentas) bei gama sekretazės kompleksas atskelia viduląstelinį domeną (angl. *NICD*). Kai NOTCH signalo nėra, transkripcijos veiksnys sudaro kompleksą su korepresoriumi (angl. *Corepressor* – Co-R) ir blokuoja NOTCH taikinių transkripciją (5). NICD patenka į branduolį, kur pakeičia Co-R ir kartu su DNR prijungiančiu baltymu CSL ir koaktyvintoju *Mam* sudaro transkripciją aktyvinantį kompleksą (6). Signalu perdavimo metu nuo NICD atskeltas užląstelinis domenas endocituojamas kartu su signalą perduodančios ląstelės ligandu (7).

Nustatyta, kad dalinis NOTCH funkcijos praradimas arba nenormalus NOTCH signalo aktyvinimas susijęs su įvairiais žmogaus vystymosi sutrikimais ir ligomis. Iš jų paminėtina autosominiu dominantiniu būdu paveldima liga – *Alagille* sindromas. Manoma, kad šį sindromą sukelia NOTCH signalinio kelio ligandą JAG1 koduojančio geno mutacijos. *Alagille* sindromo metu sutrinka daugelio žmogaus organų vystymasis, pvz., kepenų, skeleto, širdies ir akių. Ligos požymiai pasireiškia kūdikystėje ir ankstyvoje vaikystėje. Dėl kepenų pažeidimo dažniausi *Alagille* sindromo požymiai yra gelta, niežėjimas ir cholesterolio sankaupos odoje. Kita žinoma liga – slankstelių ir šonkaulių dizostozė: mutacijos DLL3 ligande sukelia šonkaulių suaugimą ir liliputiškumą. Mutacijos užląsteliniam NOTCH3 domene sukelia genetinį sutrikimą – CADASIL sindromą (angl. *Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy* – smegenų autosominiu dominantiniu būdu paveldima arteriopatija, kuriai būdinga subkortikaliniai infarktai ir leukoencefalopatija). Šis sindromas pasireiškia silpnaprotyste, migrena ir išemijos priepuoliais. Manoma, kad mutacijos NOTCH4 receptoriuje susijusios su šizofrenija (9, 10).

MEDŽIAGA IR METODIKA

Rašydami šį straipsnį naudojome *Pubmed* duomenų bazę, reikšminiai paieškos žodžiai buvo:

NOTCH signaling pathway, cancer, gynecologic malignancies.

REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Straipsnio tikslas – apžvelgti onkologinių ligų ir NOTCH signalinio kelio dalyvių sąsają, daugiau dėmesio skiriant būtent ginekologiniams piktybišiams navikams.

NOTCH signalinio kelio vaidmuo onkologijoje

NOTCH signalinio kelio sutrikimai pasireiškia ir formuojantis kai kurioms žmogaus onkologinėms ligoms. Yra duomenų, kad T ląstelių limfoblastinę leukemiją sukelia translokacijos ir kitos mutacijos NOTCH1 receptoriuje, dėl ko susidaro NOTCH1 receptorius be didžiosios dalies užląstelinio domeno, vyksta nuo ligando nepriklausantis receptoriaus aktyvėjimas ir padaugėja viduląstelinio domeno (NICD). Todėl nuolat aktyvinamas NOTCH signalinis kelias (11–13). Su NOTCH receptorių, ligandų ir genų taikinių raiškos pokyčiais susijusios ir kitos žmogaus onkologinės ligos. Reikia pažymėti, kad NOTCH signalas, vystantis vėžiui, gali veikti dvejopai: kaip onkogenas (pvz., priešinės liaukos vėžio, kepenų ląstelių karcinomos, neuroendokrininių navikų atvejais) ir kaip naviko augimo slopiklis (pvz., esant inkstų ląstelių karcinomai, galvos ir kaklo plokščialąstelinei karcinomai, neuroblastomai ir kt.) (12).

NOTCH signalinis kelias glaudžiai susijęs su kitais onkogeniniais signaliniais keliais – mTOR, Rras, Wnt, NF- κ B, EGFR ir kt. Nuo signalinių kelių sąsajos gali priklausyti vėžio eigos agresyvumas (14). Pažymėtina, kad NOTCH signalinis kelias taip pat gali turėti įtakos ieškant būdų nugalėti atsparumą vaistams (15). Taigi, valdant NOTCH signalinį kelią farmakologiniais ir genetiniais metodais, siekiama sukurti naujas vėžio gydymo strategijas.

NOTCH signalinio kelio vaidmuo formuojantis ginekologiniams navikams

Iki šiol NOTCH signalinio kelio vaidmuo formuojantis ginekologiniams navikams nėra visiškai aiškus. NOTCH signalinio kelio onkogeninis ir naviką slopinantis poveikis priklauso nuo vėžio lokalizacijos, jo histologinės formos bei kai kuriais atvejais net nuo ligos stadijos. NOTCH baltymo raiškos padidėjimas lemia ląstelių diferenciacijos

praradimą, dėl to jos piktybėja. Esant ankstyvajai gimdos kaklelio vėžio stadijai, daugumos piktybinių navikų atvejais nustatyta padidėjusi NOTCH1 ir NOTCH2 baltymo raiška gimdos kaklelio navikuose, o esant vėlyvajai ligos stadijai – NOTCH1 baltymo raiška sumažėjusi (16–18). Sergant gimdos kaklelio vėžiu yra suaktyvėjusi JAG2 mRNR ir padidėjusi JAG1 raiška (19). Viename iš tyrimų nustatyta, kad esant didesnei NOTCH1 ir JAG1 baltymų raiškai bendrasis pacienčių išgyvenamumas yra blogesnis, palyginti su išgyvenamumu tų pacienčių, kurių navike minėtų komponentų raiška mažesnė (20). Kituose tyrimuose konstatuota padidėjusi NOTCH3 baltymo raiška invazinės gimdos kaklelio karcinomos atveju, palyginti su NOTCH3 raiška esant ikivėžiniams gimdos kaklelio pakitimams bei jo raiška normaliam gimdos kaklelio audinyje. Sergančiųjų invazine gimdos kaklelio karcinoma pacienčių, kurių navikuose nustatyta padidėjusi NOTCH3 baltymo raiška, bendroji išgyvenimo trukmė buvo trumpesnė nei tų, kurių navikuose NOTCH3 baltymo raiška nenustatyta (21). Taigi NOTCH1, NOTCH3 ir JAG1 gali būti prognoziniai biožymenys gimdos kaklelio vėžio atveju.

Kiaušidžių epiteliniuose navikuose taip pat nustatyta padidėjusi NOTCH1 receptoriaus raiška. M. Wangas ir kt., ištyrę NOTCH1 baltymo raišką kiaušidžių vėžio atveju, nustatė šios raiškos sąsają su naviko diferenciacijos laipsniu ir ligos stadija pagal FIGO (angl. *The International Federation of Gynecology and Obstetrics* – Tarptautinė ginekologų ir akušerių federacija): kuo mažiau diferencijuotas kiaušidžių navikas ir kuo vėlesnė ligos stadija, tuo didesnė NOTCH1 baltymo raiška (22). Sergant kiaušidžių vėžiu taip pat yra padidėjusi NOTCH3 baltymo raiška, palyginti su jo raiška normaliam kiaušidžių audinyje. Didesnė NOTCH3 baltymo ir jo ligandų JAG1 ir JAG2 raiška susijusi su vėlesne kiaušidžių vėžio stadija, jo išplitimu į limfmazgius ir tolimųjų metastazių buvimu. Be to, padidėjusi NOTCH3 baltymo raiška koreliuoja su blogesniu pacientų išgyvenamumu ir tai galbūt susiję su navikų atsparumu chemoterapijai. Taigi kiaušidžių vėžio atveju prognozinais žymenimis galėtų būti NOTCH1, NOTCH3 baltymai bei JAG1 ir JAG2 ligandai (23, 24).

Kadangi tyrimai, kuriais analizuojama sąsaja tarp gimdos kūno vėžio ir NOTCH signalinio kelio komponentų, atliekami mūsų Nacionalinia-

me vėžio institute bendradarbiaujant su Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakulteto mokslininkais, todėl NOTCH signalinio kelio vaidmenį formuojantis gimdos kūno vėžiui išskyrėme į atskirą skyrių, pateikdami ir savo gautus preliminarūs duomenis.

NOTCH signalinio kelio vaidmuo formuojantis gimdos kūno vėžiui

Gimdos kūno vėžys proliferacijos fazėje – ginekologijoje labiausiai paplitęs piktybinis navikas išsivysčiusiose Europos ir Šiaurės Amerikos šalyse. Lietuvoje per metus diagnozuojama apie 600 gimdos vėžio atvejų. Ligos atkryčiai bei metastazavimas lemia blogą prognozę, o nepageidaujamas šiuolaikinių citostatinių preparatų poveikis organizmui dažnai tampa gydymo nutraukimo priežastimi. Minėti veiksniai paaiškina, kodėl pastaraisiais metais daug dėmesio skiriama molekuliniais genetiniams tyrimams siekiant išsiaiškinti, kokie genetiniai sutrikimai turi įtakos gimdos kūno vėžiui atsirasti, formotis ir progresuoti. Remiantis gautais rezultatais mėginama pasiūlyti naujas gimdos kūno vėžio gydymo strategijas. Tikėtina, kad taikinių terapijos vaistiniai preparatai turėtų specifiskai veikti kancerogenezės mechanizmus, nes pasižymi mažesniu toksiškumu. Taip atsirastų naujos perspektyvos individualizuoti gydymą ir pagerinti atsaką į gydymą bei išgyvenamumo duomenis esant ligos atkryčiui.

Siekiant nustatyti taikinių terapijos veiksmingumą gimdos kūno vėžio atvejais, šiuo metu atliekami taikinių terapijos preparatų klinikiniai tyrimai. Paminėtini multikinazių slopikliai, EGFR (angl. *Epidermal Growth Factor Receptor* – epidermio augimo veiksnio receptorių), HER2 (angl. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* – žmogaus epiderminio augimo veiksnio receptorių 2) slopikliai, m-TOR (angl. *Mammalian Target of Rapamycin* – žinduolių rapamicino taikinio) ir kiti (25). Neabejotinai įtakos gimdos kūno vėžiui formotis kartu su kitais signaliniais keliais (pvz., PI3K/PTEN/AKT/mTOR, EGFR/HER2) turi ir NOTCH signalinis kelias (26).

Siekiant geriau suprasti NOTCH signalinio kelio reikšmę formuojantis gimdos kūno vėžiui, svarbu žinoti, kokia jo reikšmė sveikame endometriume. Subrendusių moterų endometriume cikliškai vyksta gerai koordinuojami ir kontroliuojami proliferacijos ir diferenciacijos procesai. Veikiant

hormonams estrogenams, endometriumo ląstelės intensyviai proliferuoja (ši stadija – proliferacija). Po to eina sekrecijos stadija, kai ląstelės nustoja proliferuoti, tačiau prasideda diferenciacija. Prasidėjus menopauzei, nebevyksta endometriumo proliferacija ir diferenciacija, sumažėja liaukinio audinio ir suplonėja gleivinės sluoksnis (27). Nustatyta, kad endometriumo ląstelėse vyksta intensyvi NOTCH signalinio kelio receptorių ir ligandų raiška. Šis kelias, manoma, svarbus endometriumo kaitos procesams, o menopauziniame endometriume NOTCH signalinio kelio baltymų kiekis sumažėja (28).

Apie NOTCH signalinio kelio vaidmenį kancerogenezeje literatūroje paskelbti duomenys gana fragmentiški ir prieštaringi. Nustatyta, kad NOTCH4 baltymas dalyvauja endometriumo kaitos procesuose ir yra svarbus kancerogenezei (29). NOTCH1 ir JAG1 baltymų kiekis didesnis sekrecijos nei proliferacijos stadijoje, o NOTCH4 baltymo – priešingai. Todėl manoma, kad NOTCH1 ir JAG1 gali būti svarbūs ląstelių diferenciacijai, o NOTCH4 – proliferacijai. Vėžinėse ląstelėse nustatytas NOTCH1 baltymo raiškos padidėjimas bei NOTCH4 ir JAG1 baltymų raiškos sumažėjimas (30). Kitų autorių duomenimis, NOTCH1, NOTCH3, DLL4 ir JAG1 baltymų kiekiai yra vienodi tiek sekretuojančiame, tiek proliferuojančiame sveikame endometriume, todėl jie nėra svarbūs ląstelių proliferacijai ir diferenciacijai. Vėžinėse endometriumo ląstelėse nustatytas padidėjęs šių baltymų kiekis (31).

L. Cobellis ir kt. (30) atliko tyrimą, kurio vienas iš tikslų buvo ištirti NOTCH1, NOTCH4 ir JAG1 baltymų raišką ir lokalizaciją normaliaame ($n = 60$: 20 endometriumo mėginių proliferacijos fazėje, 20 – endometriumo sekrecijos fazėje, 20 – endometriumo menopauzės laikotarpiu) bei patologiniame ($n = 60$: 20 mėginių esant hiperplazijai, 20 – polipų pomenopauzės laikotarpiu ir 20 – esant karcinomai) endometriume. Tyrimo metodai – imunohistocheminiai. Fiziologiniame endometriume rasta didėjanti NOTCH1 bei JAG1 baltymų raiška pradedant nuo proliferacijos ir baigiant sekrecijos fazę, o NOTCH4 raiška atitinkamai buvo mažėjanti. Menopauzės metu visų trijų tirtų komponentų raiška buvo sumažėjusi. Reikia pažymėti, kad karcinomos mėginiuose NOTCH1 baltymo raiška buvo vidutinė stromos ir silpnė liaukiniame audinyje. NOTCH4 baltymo raiš-

kos karcinomos mėginiuose beveik nenustatyta, o JAG1 raiška buvo maža. Autorių nuomone, NOTCH4 daugiau susijęs su proliferacijos kontrole, o NOTCH1, matyt, dalyvauja programuojant ląstelių diferenciaciją. Šie tyrimo rezultatai leidžia teigti, kad NOTCH4 ir JAG1 galėtų veikti kaip navikus slopinantys baltymai endometriume, nes jų raiška sumažėjusi hiperplazijos ir karcinomos atveju.

Y. Mitsuhashi ir kt. (31) tyrinėjo NOTCH signalinio kelio komponentų raiškos reikšmę endometriumo karcinomoje. NOTCH1 ir NOTCH3 receptorių, NOTCH ligandų JAG1 ir DLL4 raiška tirta imunohistocheminiais metodais 37 normalaus ir 76 navikinio audinio mėginiuose. Imunohistocheminio nusidažymo intensyvumas vertintas naudojant teigiamumo indeksą (angl. *positivity index – PI*). NOTCH1, NOTCH3, JAG1 ir DLL4 teigiamumo indeksai buvo daug didesni endometriumo karcinomos mėginiuose nei sveikame endometriume. Autorių nuomone, NOTCH1–JAG1 ašis gali skatinti endometriumo karcinomos invazines savybes.

J. W. Groenewegas ir bendraautoriai (32) analizavo NOTCH1 baltymo raišką gimdos kūno serozinėse karcinomose ir nustatė jos padidėjimą 58 % mėginių. Apibendrinti minėtų autorių duomenys pateikti lentelėje.

Mūsų su bendraautoriais atliktų tyrimų, kuriuose nagrinėta gimdos kūno vėžio bei NOTCH signalinio kelio sąsaja, duomenys paskelbti dviejose publikacijose (33, 34). Tyrimams naudoti 50 pacienčių mėginiai (tirtas kiekvienos pacientės navikinis ir sveikas endometriumo audinys), gauti operacijos metu pašalinus gimdą. Šie tyrimai atlikti taikant kiekybinę polimerazės grandininę reakciją (PGR). 50 pacienčių mėginiuose NOTCH signalinio kelio ligandų (JAG1, JAG2, DLL1), receptorių (NOTCH1-4) ir taikinių (HES1, HEY1) raiška įvertinta naudojant TaqMan zondus. 10 pacienčių mėginiuose NOTCH signalinio kelio ir su juo susijusių baltymų raiškos pokyčiai nustatyti naudojant PGR gardeles (84 genai). 22 pacienčių mėginiuose baltymų NOTCH1, NOTCH3, NOTCH4 ir JAG2 raiška įvertinta atlikus *Western blot* analizę. Nustatyta, kad NOTCH signalinio kelio dalyvių (NOTCH1-4, JAG1, JAG2 ir DLL1) iRNR kiekis vėžinėse ląstelėse sumažėjo, palyginti su atitinkamais kiekiais tos pačios pacientės sveikame audinyje, bei NOTCH1, NOTCH4, DLL1 ir HEY1

Lentelė. NOTCH signalinio kelio ir gimdos kūno vėžio sąsajos tyrimų duomenys

Literatūros šaltinis	Tirta medžiaga	Tirti NOTCH signalinio kelio dalyviai	Tyrimo metodas	Rezultatai
Cobellis L. ir bendr., 2008 (30)	60 normalaus ir 60 patologinio (iš jų 20 karcinomos) endometriumo mėginių	NOTCH1, NOTCH4, JAG1 baltymų raiška		Padidėjusi NOTCH1 ir sumažėjusi NOTCH4 ir JAG1 raiška endometriumo karcinomos mėginiuose
Mitsuhashi Y. ir bendr., 2012 (31)	37 normalaus endometriumo mėginiai ir 76 endometriumo naviko audinio mėginiai	NOTCH1 ir NOTCH3 receptorių, NOTCH ligandų (JAG1, DLL4) raiška	Imunohistocheminiai metodai	Visų tirtų receptorių ir ligandų raiška buvo didesnė endometriumo karcinomos mėginiuose, palyginti su raiška normalaus endometriumo mėginiuose
Groeneweg J. W. ir bendr., 2014 (32)	45 gimdos serozinės karcinomos mėginiai	NOTCH1 baltymo raiška		Didelė NOTCH1 baltymo raiška nustatyta 58 % gimdos serozinės karcinomos mėginių

raiška IB stadijos adenokarcinomos atveju buvo reikšmingai mažesnė nei IA stadijos adenokarcinomos audiniuose. Tai rodo, kad NOTCH signalinis kelias yra svarbus kancerogenezei, o itin sumažėjusi NOTCH4 raiška leidžia daryti prielaidą, kad šis genas gali būti mutavęs endometrioidinės adenokarcinomos ląstelėse. Kitoje tyrimo dalyje ištirta 22 pacienčių mėginiai *Western blot* analizės metodu. Nustatyta, kad NOTCH4 receptoriaus raiška buvo 1,7 kartus mažesnė esant endometriumo I stadijos naviko audinio mėginyje nei tos pačios pacientės sveiko gimdos kūno audinio mėginyje ($p = 0,04$). JAG2 ligando lygis aptiktas 2,5 karto reikšmingai sumažėjęs IB stadijos endometriumo adenokarcinomos mėginiuose ($p = 0,01$). NOTCH1 ir NOTCH3 receptorių kiekis I stadijos endometriumo adenokarcinomos ir sveiko endometriumo mėginiuose nesiskyrė. Taigi sumažėjęs iRNR, NOTCH4 bei JAG2 baltymo kiekis rodo, kad NOTCH signalinis kelias turi daugiau navikus slopinantį nei onkogeninį poveikį žmogaus endometriumo vėžio atveju.

Klinikinė NOTCH signalinio kelio reikšmė esant gimdos kūno vėžiui

Vietišškai išplitusiam endometriumo vėžiui daugumos pacienčių prognozė yra gera, tačiau jei liga progresuoja, pacienčių išgyvenimo trukmė mažėja ir siekia vidutiniškai 7–12 mėn. neatsižvelgiant į skiriamą gydymą (35, 36). Šiuo metu galimybės numatyti, kurios pacientės yra didelės atkryčio rizikos grupėje ir kurios iš jų ligos atsakas į gydymą

bus geriausias nėra pakankamos (37, 38). Biožymenys, galintys būti objektyvūs normalių biologinių ir patogenezinių procesų arba farmakologinio atsako į gydymą indikatoriai, gali padėti įvertinti kiekvieną individualų atvejį kompleksiskai bei priimti sprendimą parenkant gydymą (39). Klinikijoje naudojami tokie prognoziniai veiksniai kaip stadija pagal FIGO, naviko histologinis potipis ir diferenciacijos laipsnis. Jie naudojami sprendžiant dėl adjuvantinio gydymo pobūdžio bei būtinumo, tačiau tikslų jų reikšmę išgyvenamumui nėra aiški. Žinoma, kad iki 20 % mažos rizikos (pagal minėtus veiksnius) navikų recidyvuoja, ir apie pusę pacienčių, kurioms nustatyti didelės rizikos navikai, pasveiksta (37, 38). Reikalingi kiti papildomi biožymenys, galintys padėti ne tik atrinkti pacientės, kurioms reikėtų intensyvesnio gydymo nei šiuo metu standartiškai skiriamas, bet ir leisti išvengti pernelyg intensyvaus gydymo tokioms pacientėms, kurioms ligos recidyvo rizika yra minimali, tuo labiau kad sergančiųjų gimdos kūno vėžiu populiacija dažnai yra vyresnio amžiaus moterys, sergančios gretutinėmis ligomis (40, 41). Kita vertus, biožymenys galėtų padėti parinkti sisteminį gydymą ir įvertinti toksinio poveikio riziką. Vieni iš tokių prognozinų ir predikcinių biožymenų gimdos kūno vėžio atveju galėtų būti NOTCH signalinio kelio komponentai.

Jau minėtame Y. Mitsuhashi ir kt. tyrime (31) autoriai taip pat nustatė NOTCH receptorių raiškos sąsają su klinikinėmis pataloginėmis charakteristikomis. Didelė NOTCH1 raiška buvo reikšmingai

susijusi su vėlesne ligos stadija pagal FIGO, metastazių kiaušidėse buvimu, miometriumo ir limfovaskuline invazija. Priešingai, didesnis NOTCH3 receptoriaus lygis nebuvo susijęs su minėtais parametrais. Be to, pacienčių, kurių mėginiuose aptikta didesnė NOTCH1 ir JAG1 raiška, prognozė buvo blogesnė nei tų, kurių karcinomose rasta didesnė NOTCH1 arba JAG1 raiška atskirai, bei moterų, kurių mėginiuose buvo maža NOTCH1 ir JAG1 raiška susumavus kartu. Šio tyrimo metu vieno iš preparatų, slopinančių NOTCH signalinio kelio aktyvumą, gama sekretazės slopiklio DAPT (angl. *N-[N-(3,5-Difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester*) poveikis ląstelių proliferacijai, invazijai ir judrumui įvertintas naudojant endometriumo vėžio ląstelių linijas. Nustatyta, kad šis preparatas slopino endometriumo karcinomos ląstelių linijos KLE invaziškumą.

J. W. Groenewegas ir bendraautorai tyrime (32) atskleidė, kad gama sekretazės slopiklių indukuotas NOTCH signalinio kelio slopinimas paskatino ląstelių kiekio sumažėjimą *in vitro* bei serozinio gimdos kūno naviko augimo sumažėjimą tyrimui panaudojus ksenograftų modelius. Šis tyrimas dar kartą patvirtina, kad NOTCH signalinis kelias gali būti potencialus gydymo taikinytis, tačiau reikalingi tolesni tyrimai.

Anksčiau aprašytame mūsų tyrime (33, 34) buvo tirta NOTCH signalinio kelio dalyvių raiškos pokyčio vėžinėse ląstelėse koreliacija su tokiais klinikinėmis patologinėmis charakteristikomis kaip pacienčių amžius, kūno masės indeksas ir naviko diferenciacijos laipsnis. Koreliacijos tarp iRNR pokyčių ir amžiaus bei kūno masės indekso aptikta nebuvo. Nustatyta atvirkštinė koreliacija tarp I stadijos adenokarcinomos diferenciacijos laipsnio (G) ir NOTCH4 ($p = 0,059$), JAG1 ($p = 0,064$), JAG2 ($p = 0,082$) bei HES1 ($p = 0,007$) iRNR pokyčių, t. y. kuo G reikšmė didesnė (diferenciacija mažesnė), tuo mažesnė NOTCH4, JAG1, JAG2 ir HES1 genų raiška. Šie rezultatai patvirtina prielaidą, kad NOTCH signalinis kelias yra svarbus ląstelių diferenciacijai ir dalyvauja kancerogenezeje – NOTCH kelio dalyvių raiškos sumažėjimas palankus kancerogenezei.

IŠVADOS

Apibendrinus apžvelgtų tyrimų duomenis galima teigti, kad NOTCH signalinis kelias neabejotinai svarbus formuojantis gimdos kūno vėžiui, o jo

komponentai gali būti potencialūs prognoziniai biožymenys ir molekuliniai terapiniai taikiniai. Reikalingi tolesni šios srities moksliniai tyrimai siekiant patikslinti NOTCH signalinio kelio dalyvių reikšmę ir jų sąveiką su kitų signalinių kelių dalyviais, turinčiais įtakos formuojantis bei progresuojant gimdos kūno vėžiui.

Gauta 2017 01 12

Priimta 2017 03 14

Literatūra

1. Lake RJ. NOTCH signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science*. 1999; 284: 770–6.
2. Gordon WR, Arnett KL, Blacklow SC. The molecular logic of NOTCH signaling – a structural and biochemical perspective. *Journal of Cell Science*. 2008; 121: 3109–19.
3. Kopan R, Lagans XG. The canonical NOTCH signaling pathway: unfolding the activation mechanism. *Cell*. 2009; 137: 216–33.
4. Morgan TH. The theory of the gene. *Am Nat*. 1917; 51: 513–44.
5. Lai EC. NOTCH signaling: control of cell communication and cell fate. *Development*. 2004; 131: 965–73.
6. Bray SJ. NOTCH signaling: a simple pathway becomes complex. *Nature Rev Mol Cell Biol*. 2006; 7: 678–89.
7. Fiuza UM, Arias AM. Cell and molecular biology of NOTCH. *Journal of Endocrinology*. 2007; 94: 459–74.
8. Ranganathan P, Weaver KL, Capobianco AJ. NOTCH signaling in solid tumours: a little bit of everything but not all the time. *Nat Rev Cancer*. 2011; 11(5): 338–51.
9. Louvi A, Artavanis-Tsakonas S. NOTCH signaling in vertebrate neural development. *Nat Rev Neurosci*. 2006; 7(2): 93–102.
10. Andersson ER, Sandberg R, Lendahl U. NOTCH signaling: simplicity in design, versatility in function. *Development*. 2011; 138: 3593–612.
11. Allenspach EJ, Maillard I, Asterz JC, Pear W. NOTCH signaling in cancer. *Cancer Biology and Therapy*. 2002; 1(5): 466–76.

12. Leong KG, Karsan A. Recent insights into the role of NOTCH signaling in tumorigenesis. *Blood*. 2006; 107: 2223–33.
13. Sjolund J, Manetopoulos Ch, Stockhausen MT, Axelson H. The NOTCH pathway in cancer: Differentiation gone awry. *European Journal of Cancer*. 2005; 41: 2620–9.
14. Wang Z, Li Y, Banerjee S, Sarkar FH. Exploitation of the NOTCH signaling pathway as a novel target for cancer therapy. *Anticancer Res*. 2008; 28(6A): 3621–30.
15. Wang Z, Li Y, Ahmad A, Azmi AS, Banerjee S, Kong D, et al. Targeting NOTCH signaling pathway to overcome drug resistance for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1806(2): 258–67.
16. Zagouras P, Stifani S, Blaumueller CM, Carcangiu ML, Artavanis-Tsakonas S. Alterations in NOTCH signaling in neoplastic lesions of the human cervix. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92: 6414–8.
17. Talora C, Sgroi DC, Crum CP, Dotto GP. Specific down-regulation of NOTCH1 signaling in cervical cancer cells is required for sustained HPV-E6/E7 expression and late steps of malignant transformation. *Genes Dev*. 2002; 16: 2252–63.
18. Franko-Tobin LG, Mackey LV, Huang W, Song X, Jin B, Luo J, et al. NOTCH1-mediated tumor suppression in cervical cancer with the involvement of SST signaling and its application in enhanced SSTR-targeted therapeutics. *Oncologist*. 2012; 17: 220–32.
19. Gray GE, Mann RS, Mitsiadis E, Henrique D, Carcangiu ML, Banks A, et al. Human ligands of the NOTCH receptor. *Am J Pathol*. 1999; 154: 785–94.
20. Yousif NG, Sadiq AM, Yousif MG, Al-Mudhafar RH, Al-Baghdadi JJ, Hadi N. NOTCH1 ligand signaling pathway activated in cervical cancer: poor prognosis with high-level JAG1/NOTCH1. *Arch Gynecol Obstet*. 2015; 292(4): 899–904.
21. Yeasmin Sh, Nakayama K, Rahman MT, Rahman M, Ishikawa M, Iida K, et al. Expression of nuclear NOTCH3 in cervical squamous cell carcinomas and its association with adverse clinical outcomes. *Gynecologic Oncology*. 2010; 117: 409–16.
22. Wang M, Wang J, Wang L, Wu L, Xin X. NOTCH1 expression correlates with tumor differentiation status in ovarian carcinoma. *Med Oncol*. 2010; 27(4): 1329–35.
23. Jung SG, Kwon YD, Song JA, Back MJ, Lee SY, Lee C, et al. Prognostic significance of NOTCH3 gene expression in ovarian serous carcinoma. *Cancer Sci*. 2010; 101(9): 1977–83.
24. Groeneweg JW, Foster R, Growdon WB, Verheijen RHM, Rueda BR. NOTCH signaling in serous ovarian cancer. *J Ovarian Res*. 2014; 7: 95.
25. Silva JL, Paulino E, Dias MF, Melo AC. Endometrial cancer: redefining the molecular-targeted approach. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015; 76(1): 1–11.
26. Dong P, Kaneuchi M, Konno Y, Watari H, Sudo S, Sakuragi N. Emerging therapeutic biomarkers in endometrial cancer. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 130362.
27. Di Cristofano A, Ellenson LH. Endometrial carcinoma. *Annu Rev Pathol*. 2007; 2: 57–85.
28. Mikhailik A, Mazella J, Liang S, Tseng L. NOTCH ligand-dependent gene expression in human endometrial stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 388: 479–82.
29. Suzuki T, Aoki D, Susumu N, Udagawa Y, Nozawa S. Imbalanced expression of TAN-1 and human NOTCH4 in endometrial cancers. *Int J Oncol*. 2000; 17: 1131–9.
30. Cobellis L, Caprio F, Trabucco E, Mastrogiacomo A, Coppola G, Manente L, et al. The pattern of expression of NOTCH protein members in normal and pathological endometrium. *J Anat*. 2008; 213: 464–72.
31. Mitsushashi Y, Horiuchi A, Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Shiozawa T. Prognostic significance of NOTCH signalling molecules and their involvement in the invasiveness of endometrial carcinoma cells. *Histopathology*. 2012; 60: 826–37.
32. Groeneweg JW, Hall TR, Zhang L, Kim M, Byron VF, Tambouret R, et al. Inhibition of gamma-secretase activity impedes uterine serous carcinoma growth in a human xenograft model. *Gynecol Oncol*. 2014; 133(3): 607–15.
33. Jonusiene V, Sasnauskiene A, Lachej N, Kanopiene D, Dabkeviciene D, Sasnauskiene S, et al. Down-regulated expression of NOTCH

- signaling molecules in human endometrial cancer. *Med Oncol*. 2013; 30(1): 438.
34. Sasnauskienė A, Jonušienė V, Krikštaponienė A, Butkytė S, Dabkevičienė D, Kanopienė D, et al. NOTCH1, NOTCH3, NOTCH4, and JAG2 protein levels in human endometrial cancer. *Medicina (Kaunas)*. 2014; 50(1): 14–8.
 35. Oza AM, Elit L, Tsao MS, Kamel-Reid S, Biagi J, Provencher DM, et al. Phase II study of temsirolimus in women with recurrent or metastatic endometrial cancer: a trial of the NCIC Clinical Trials Group. *J Clin Oncol*. 2011; 29(24): 3278–85.
 36. Salvesen HB, Haldorsen IS, Trovik J. Markers for individualised therapy in endometrial carcinoma. *Lancet Oncol*. 2012; 13(8): e353–61.
 37. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983; 15(1): 10–7.
 38. Dedes KJ, Wetterskog D, Ashworth A, Kaye SB, Reis-Filho JS. Emerging therapeutic targets in endometrial cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011; 8(5): 261–71.
 39. Biomarkers Definitions Working G. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 69(3): 89–95.
 40. Duong LM, Wilson RJ, Ajani UA, Singh SD, Ehemann CR. Trends in endometrial cancer incidence rates in the United States, 1999–2006. *J Womens Health*. 2011; 20(8): 1157–63.
 41. Trovik J, Mauland KK, Werner HM, Wik E, Helland H, Salvesen HB. Improved survival related to changes in endometrial cancer treatment, a 30-year population-based perspective. *Gynecol Oncol*. 2012; 125(2): 381–7.

Nadežda Lachej, Daiva Dabkevičienė, Aušra Sasnauskienė, Rūta Marija Trimonytė, Daiva Kanopienė, Birutė Kazbarienė, Janina Didžiapetrienė

THE ASSOCIATION BETWEEN THE NOTCH SIGNALING PATHWAY AND GYNAECOLOGICAL MALIGNANCIES

Summary

Background. The body's cell behaviour is controlled by various signalling pathways, one of which is NOTCH. It has been found that a partial loss of the NOTCH function or abnormal strengthening of NOTCH signalling are related to various human diseases and developmental disorders.

Materials and methods. PubMed was the main source of information for this paper.

Results. The paper overviews the association between oncologic diseases and the participants of the NOTCH signalling pathway. In cancerogenesis, the NOTCH signalling pathway can act as a tumour suppressor or an oncogene. The mechanisms of such an effect are yet unknown. The NOTCH signalling pathway is an object of active research because its modulation by pharmacological and genetic approaches could be helpful in discovering new treatment methods of tumours. In this review more attention is paid to gynaecological malignancies, especially to uterine cancer.

Conclusions. The findings of recently published studies show that the NOTCH signalling pathway is definitely important for the development of uterine cancer, therefore its components can be potential prognostic biomarkers and molecular therapeutic targets. However, further studies in this field are needed in order to clarify the role of the components of the NOTCH signalling pathway and their interaction with participants of other signalling pathways, which can be important in the development and progression of uterine cancer as well.

Keywords: NOTCH signalling pathway, cancer, gynaecological malignancies