

Received: 2010.01.04
Accepted: 2010.02.15
Published: 2010.03.10

Zmiany ekspresji antygenów grupowych układu Lewis w komórkach nowotworowych

Alterations of Lewis histo-blood group antigen expression in cancer cells

Radosław Kaczmarek^{1,2}

¹ Zakład Immunochemii, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

² Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego

Streszczenie

Transformacji nowotworowej różnych tkanek towarzyszą zaburzenia glikozylacji białek i lipidów, obejmujące zmiany ekspresji antygenów układu grupowego Lewis. W komórkach, które ulegają transformacji nowotworowej zachodzą zmiany ekspresji jednej, bądź kilku z tych oligosacharydowych struktur. Są one następstwem zmian w ekspresji swoistych glikozylotransferaz. W przypadku niektórych nowotworów, zwiększona synteza antygenów typu Lewis może być istotnym wskaźnikiem prognostycznym. Nadekspresja antygenów Lewis^y, Lewis^b oraz innych struktur α 1,2-fukozylowanych wiąże się z podwyższoną zdolnością do przerzutowania i opornością komórek raka okrężnicy na leczenie. Wykazano, że wysoka ekspresja glikotopów Lewis^y i Lewis^b w komórkach raka piersi towarzyszy nowotworom o dużej inwazyjności i złych rokowaniach. W przypadku nowotworów piersi obserwuje się też podwyższoną syntezę antygeny Lewis^x, natomiast nadekspresja oligosacharydu Lewis^a pojawia się w stanach poprzedzających nowotwory żołądka. Podwyższona ekspresja antygeny sjało Lewis^a związana jest ze zdolnością do przerzutowania komórek nowotworowych trzustki i okrężnicy oraz z obniżoną przeżywalnością pacjentów. Podobną zależność zaobserwowano dla glikotopu sjało Lewis^x i nowotworów płuc, prostaty, pęcherza moczowego, żołądka, piersi, nerki i wątroby. Niektóre antygeny typu Lewis są ligandami swoistych receptorów i cząsteczek adhezyjnych. Na przykład oligosacharyd Lewis^x jest rozpoznawany przez receptor zmiatający SRCL z grupy receptorów wrodzonej odporności, a sjałowane antygeny typu Lewis są ligandami selektyn E i P, które są głównymi cząsteczkami w procesie adhezji leukocytów do śródbłonna. Kolejne badania wskazują potencjalne zastosowania terapeutyczne, związane z nadekspresją antygenów typu Lewis.

Słowa kluczowe:

układ grupowy Lewis • antygeny grupowe Lewis • kancerogeneza • fukozylotransferazy

Summary

Carcinogenesis in various tissues is accompanied by alterations in protein and lipid glycosylation, such as changes in the expressions of Lewis histo-blood group antigens. Neoplastic transformation is often followed by changes in expression of one or more of these oligosaccharides in a pattern that is typical for the tissue. These alterations correlate with changes in the expressions of specific glycosyltransferases. Overexpression of Lewis antigens in some types of cancer might be a significant prognostic factor. Upregulation of Lewis^y, Lewis^b, and other α 1,2-fucosylated oligosaccharides is linked to an increased tendency to metastasis and resistance to treatment. For example, invasive breast cancer of poor prognosis reveals high expression levels of Lewis^y and Lewis^b. Lewis^x is also overexpressed in breast cancer cells. Overexpression of Lewis^a also occurs in precancerous states of stomach tissue. Upregulation of sialyl Lewis^a correlates with the

metastatic potential of colon and pancreatic malignancies and inversely with survival rate of patients. A similar relation was observed between sialyl Lewis^x overexpression and malignancies of the lungs, prostate, urinary bladder, stomach, breast, kidney, and liver. Some of the Lewis antigens are ligands of specific receptors and adhesion molecules. For example, Lewis^x is recognized by scavenger receptor C-type lectin (SRCL), which belongs to the group of innate immunity receptors. Sialyl Lewis^a and sialyl Lewis^x specifically interact with E- and P-selectins, which are key molecules in leukocyte rolling process. Ongoing research shows an increasing number of potential therapeutic applications related to the upregulation of Lewis antigens.

Key words: Lewis blood group system • Lewis histo-blood group antigens • carcinogenesis • fucosyltransferases

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=906528>

Word count: 4908

Tables: 1

Figures: 5

References: 92

Adres autora: Radosław Kaczmarek, Zakład Immunochemii Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: radoslaw.kaczmarek@tlen.pl

Wykaz skrótów: **C2-0-sLe^x** – oligosacharyd sjało Lewis^x połączony z O-glikanowym rdzeniem typu II; **CN2GnT1** – β-1,6-N-acetyloglukozaminylotransferaza biorąca udział w syntezie O-glikanowego rdzenia typu II; **GLUT-1** – białko błonowe transportujące glukozę; **HTLV-1** – ludzki wirus T-limfotropowy; **PSGL-1** – glikoproteinowy ligand 1 selektyny P; **RNAi** – interferencja RNA; **SRCL** – zmiatający receptor z domeną lektynową typu C.

WSTĘP

Zmiany ekspresji antygenów grupowych układu Lewis towarzyszą wielu fizjologicznym oraz patologicznym procesom w organizmie człowieka. Wyjaśnienie molekularnych podstaw tych zjawisk może wskazywać potencjalny kierunek poszukiwań skutecznej terapii niektórych chorób. Szczególnie interesujące są zmiany ekspresji antygenów grupowych typu Lewis towarzyszące transformacji nowotworowej i progresji różnych typów nowotworów. Celem niniejszej pracy jest przegląd i przybliżenie tych zagadnień.

DEFINICJA LUDZKICH UKŁADÓW GRUPOWYCH KRWI

Układ Lewis jest układem grupowym krwi (nr 007, symbol LE na liście ISBT¹). Według definicji układ grupowy krwi obejmuje antygen bądź grupę antygenów, których ekspresja zależy od jednego, dwóch lub też kilku genów homologicznych, blisko ze sobą związanych, między którymi nieczęsto, bądź też w ogóle nie zachodzi rekombinacja. Struktury antygenów grupowych tworzą białka, wielocukry i lipidy [26].

CHARAKTERYSTYKA ANTYPENÓW GRUPOWYCH UKŁADU LEWIS

Znanych jest sześć struktur oligosacharydowych zaliczanych do antygenów typu Lewis. Prekursor syntezy antygenów Lewis^x, sjało Lewis^x i Lewis^y charakteryzuje się wiązaniem β1,4-glikozydowym między rdzeniową galaktozą

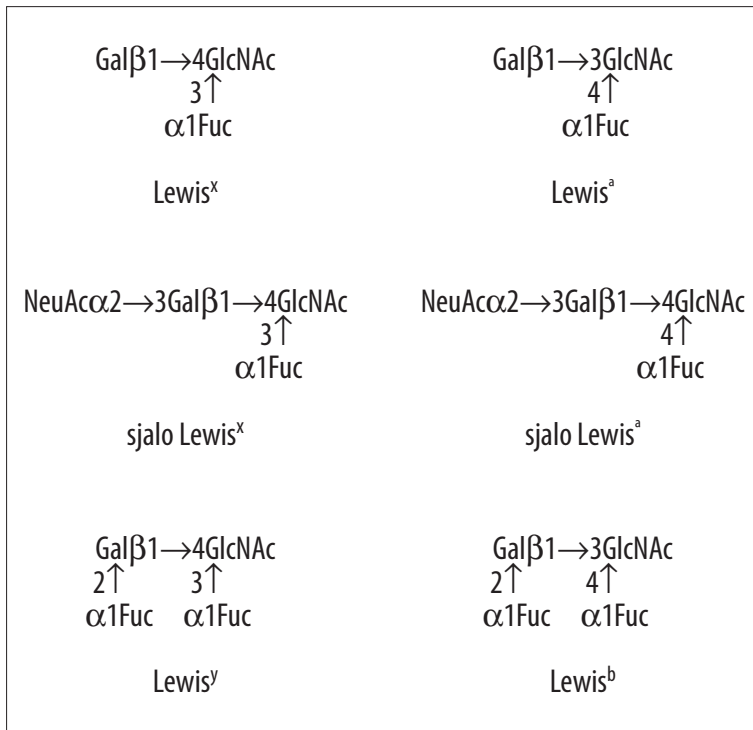
(Gal) i N-acetyloglukozoaminą (GlcNAc). Taki układ cząsteczek stanowi laktozoaminowy rdzeń typu II. Jeżeli w tym miejscu występuje wiązanie β1,3-glikozydowe, to taki układ cząsteczek stanowi laktozoaminowy rdzeń typu I. Występuje on w antygenach Lewis^a, sjało Lewis^a i Lewis^b. Dołączenie cząsteczki fukozy w przypadku struktur sjało Lewis^x i sjało Lewis^a poprzedzone jest przyłączeniem kwasu sjałowego z utworzeniem wiązania α2,3-glikozydowego. Jeżeli fukozyllacja zachodzi wcześniej, to do takiego oligosacharydu kwas sjałowy nie może być już przyłączony. Budowę poszczególnych antygenów typu Lewis przedstawia rycina 1.

Stałym składnikiem wszystkich antygenów typu Lewis jest reszta L-fukozy. L-fukoza (6-deoksy-β-L-galaktoza) jest monosacharydem zaliczanym do metylopentoz. Jako jedyny cukier we wszystkich glikokoniuagatach występuje w konfiguracji L.

Synteza antygenów układu Lewis występujących na erytrocytach uwarunkowana jest ekspresją genu *Le* (*FUT3*), który znajduje się na 19 chromosomie. Allel *Le* koduje fukozylotransferazę Fuc-TIII biorącą udział w biosyntezie wszystkich antygenów typu Lewis. Allel *le* jest niemy – nie koduje białka o aktywności glikozylotransferazowej. Funkcja enzymu o aktywności fukozylotransferazowej polega na przeniesieniu cząsteczki fukozy z aktywnego donora (GDP-fukozy) na odpowiednią resztę cukrową wchodzącą w skład substratu prekursorowego

¹ The International Society of Blood Transfusion.





Ryc. 1. Budowa antygenów typu Lewis. NeuAc – kwas N-acetyloneuraminowy (kwas sjałowy); Gal – galaktoza; GlcNAc – N-acetyloglukozoamina; Fuc – fukoza (wg [71])

z wytworzeniem wiązania α -glikozydowego. Istnieje wiele innych fukozylotransferaz katalizujących biosyntezę antygenów typu Lewis (tabela 1). Na przykład synteza antygenów Lewis^b i Lewis^y uwarunkowana jest aktywnością enzymu Fuc-T(Se), kodowanego przez gen *FUT2*. Enzym katalizuje przyłączenie cząsteczki fukozy do odpowiedniego substratu prekursorowego przez wiązanie α 1,2-glikozydowe do galaktozy. Następnie Fuc-TIII przyłącza kolejną cząsteczkę fukozy do N-acetyloglukozoaminy z utworzeniem wiązania α 1,4 lub α 1,3, przy czym dołączenie fukozy z utworzonym wiązaniem α 1,4 powoduje powstanie antygeny Lewis^b, natomiast dołączenie fukozy z utworzonym wiązaniem α 1,3 powoduje powstanie antygeny Lewis^y [6,71].

Antygeny sjalo Lewis^x i sjalo Lewis^a przypominają budową glikotopy Lewis^x i Lewis^a, jednak w odróżnieniu od nich zawierają kwas sjałowy przyłączony wiązaniem α 2,3-glikozydowym do końcowej galaktozy łańcucha prekursorowego. Synteza antygeny sjalo Lewis^a zachodzi w wyniku działania sjalotransferaz ST3Gal-I, ST3Gal-II i w największym stopniu ST3Gal-III, które katalizują przyłączenie kwasu sjałowego do łańcucha prekursorowego typu I. Antygen sjalo Lewis^x powstaje z udziałem sjalotransferaz ST3Gal-IV i ST3Gal-VI, które katalizują sjalilację łańcucha prekursorowego typu II [55,73].

KIERUNKI I EFEKTY ZMIAN EKSPRESJI ANTYGENÓW TYPU LEWIS TOWARZYSZĄCE KANCEROGENEZIE

Zmiany ekspresji glikotopów typu Lewis często towarzyszą transformacji nowotworowej różnych tkanek. Zmiany te mogą mieć charakter obniżenia, bądź zwiększenia syntezy danych glikokonjugatów. Rodzaj nietypowo syntetyzowanych cząsteczek jest zależny od rodzaju tkanki, w której zaszła kancerogeneza [71].

EKSPRESJA ANTYGENÓW LEWIS^y ORAZ LEWIS^b W PRAWIDŁOWYCH KOMÓRKACH I TKANKACH

Intensywna synteza struktur Lewis^y zachodzi podczas embriogenezy. U dorosłych ludzi antygeny te są syntetyzowane jedynie przez granulocyty i komórki nabłonka [15]. Antygeny Lewis^b występują na powierzchni erytrocytów w wyniku adsorpcji z osocza oraz w wydzielinach osób o genotypie *Se/Se* lub *Se/se*, czyli u tzw. „wydzielaczy”. Gen *Se* jest odpowiedzialny za syntezę enzymu Fuc-TIII, który przyłącza cząsteczkę fukozy preferencyjnie do prekursora typu I [26,80]. Enzym ten aktywny jest głównie w tkankach nabłonkowych i decyduje o obecności antygeny H w ślinie i innych płynach ustrojowych [79]. Zwiększoną ekspresję α 1,2-fukozylowanych oligosacharydów obserwuje się w nowotworach wywodzących się z komórek nabłonkowych, w tym w raku piersi, jajnika, trzustki, prostaty, okrężnicy i płuc [32,54].

EKSPRESJA STRUKTUR α 1,2-FUKOZYLOWANYCH W RAKU OKRĘŻNICY

W komórkach raka okrężnicy stwierdzono nadekspresję struktur Lewis^y, Lewis^b oraz oligosacharydu zwanego antygenem H. Oligosacharyd ten pozbawiony jest reszty fukozy przyłączonej w pozycji α 1,3 bądź α 1,4 do N-acetyloglukozoaminy, zawiera natomiast fukozę przyłączoną w pozycji α 1,2 do końcowej galaktozy [89]. W komórkach tego nowotworu zaobserwowano ponadto podwyższone stężenie fukozylotransferaz Fuc-TI i Fuc-T-IV [74], a także Fuc-TIII [64].

Labarrière i wsp. zaobserwowali dodatnią korelację między nadekspresją struktur α 1,2-fukozylowanych a zdolnością do tworzenia guza, a także zależność między nadekspresją struktur α 1,2-fukozylowanych a aktywnością

Tabela 1. Geny kodujące enzymy o aktywności fukozylotransferazowej, ich nazwy i cząsteczki, w których syntezie biorą udział. Fuc – fukoza; Gal – galaktoza; GlcNAc – N-acetyloglukozamina; Ser – seryna; Thr – treonina; EGF – czynnik wzrostu naskórka; TSP – trombospodyna [71]

Gen kodujący fukozylotransferazę	Symbol w bazie danych Ensemble	Nazwa	Struktura cukrowa
FUT1	ENSG00000174951	α 2fukozylotransferaza Fuc-TI lub Fuc-T(H)	antygen H, typ II- Fuc1,2Gal1,4GlcNAc-R
FUT2	ENSG00000176920	α 2fukozylotransferaza Fuc-TII lub Fuc-T(Se)	antygen H, typ I- Fuc1,2Gal1,3GlcNAc-R
FUT3	ENSG00000171124	α 3/4fukozylotransferaza Fuc-TIII, fukozylotransferaza antygenów Lewis	odpowiedzialna za przyłączenie fukozy wiązaniem 1,3 lub 1,4 do oligosacharydów w strukturach Lewis; bierze udział w syntezie: Lewis ^a , sjalo Lewis ^a , Lewis ^b , Lewis ^x , sjalo Lewis ^a , Lewis ^y
FUT4	ENSG00000196371	α 3fukozylotransferaza Fuc-TIV	odpowiedzialna za końcową reakcję biosyntezy ligandów selektywn, polegającej na przyłączeniu fukozy do sjalowanych prekursorów; katalizuje syntezę Lewis ^y , Lewis ^x
FUT5	ENSG00000130383	α 3fukozylotransferaza Fuc-TV	odpowiedzialna za syntezę Lewis ^a , sjalo Lewis ^x
FUT6	ENSG00000156413	α 3fukozylotransferaza Fuc-TVI	odpowiedzialna za syntezę Lewis ^x , sjalo Lewis ^x
FUT7	ENSG00000180549	α 3fukozylotransferaza Fuc-TVII	odpowiedzialna za końcową reakcję biosyntezy ligandów selektywn, polegającej na przyłączeniu fukozy do sjalowanych prekursorów; bierze udział w syntezie sjalo Lewis ^a
FUT8	ENSG00000033170	α 6fukozylotransferaza Fuc-TVIII	odpowiedzialna za przyłączenie fukozy rdzeniowej wiązaniem 1,6w N-glikanach
FUT9	ENSG00000172461	α 3fukozylotransferaza Fuc-TIX	odpowiedzialna za syntezę Lewis ^y i Lewis ^x
FUT10	ENSG00000172728	Przypuszczalnie 3fukozylotransferaza Fuc-TX	nieznana
FUT11	ENSG00000196968	Przypuszczalnie 3fukozylotransferaza Fuc-TXI	nieznana
POFUT1	ENSG00000101346	O-fukozylotransferaza polipeptydu	przyłączenie Fuc do Ser i/lub Thr bezpośrednio w łańcuchu polipeptydowym na domenach EGF
POFUT2	ENSG00000186866	O-fukozylotransferaza polipeptydu	przyłączenie Fuc do Ser i/lub Thr bezpośrednio w łańcuchu polipeptydowym na domenach TSP

α 1,2-fukozylotransferazową [53]. Natomiast Goupille i wsp. wykazali, że komórki szerszej linii raka okrężnicy o naturalnie małej aktywności α 1,2-fukozylotransferazowej i znikomej zdolności do tworzenia guza transfekowane cDNA kodującym Fuc-TI charakteryzują się zwiększoną przeżywalnością i zdolnością do tworzenia guza. Ponadto u wszystkich szczurów, którym przeszczepiono takie komórki nowotworowe powstają przerzuty, których brak w grupie kontrolnej [27].

W kolejnych badaniach stwierdzono dodatnią korelację między intensywnością syntezy struktur α 1,2-fukozylowanych,

a opornością na indukcję apoptozy i terapię przeciwnowotworową. Ci sami autorzy zasugerowali również, że nadekspresja struktur α 1,2-fukozylowanych może być mechanizmem, za pomocą którego nowotwór unika odpowiedzi odpornościowej [28].

Obecność antygenów α 1,2-fukozylowanych stwierdzono na glikoproteinie CD44, która występuje na powierzchni limfocytów, fibroblastów i komórek nabłonkowych, biorąc udział w procesie aktywacji limfocytów, adhezji międzykomórkowej i oddziaływaniach między komórką a macierzą zewnątrzkomórkową. Glikoproteina ta, będąca receptorem

kwasy hialuronowe, może również zapobiegać apoptozie [4,53,90]. Ponieważ wykazano, że we wczesnych etapach apoptozy dochodzi do proteolizy CD44 [29], prawdopodobna rola podwyższonego poziomu fukozytacji w komórkach raka okrężnicy polega na ochronie białka CD44 przed działaniem enzymów proteolitycznych. Inna hipoteza zakłada, że fukozytacja może wzmacniać adhezję międzykomórkową, spowalniając proces poprzedzający apoptozę, a polegający na odłączeniu komórki od komórek sąsiadujących, bądź błony podstawnej [28]. Natomiast związek między małą skłonnością komórek nowotworowych z nadekspresją antygenów α 1,2-fukozylowanych do apoptozy, a ich zdolnością do unikania odpowiedzi odpornościowej może wynikać z tego, iż ciała apoptotyczne są silnie immunogenne [9]. Z kolei według tej hipotezy komórki o małej ekspresji tych glikotopów ulegają apoptozie, a powstające w jej wyniku ciała apoptotyczne stymulują odpowiedź odpornościową, co prowadzi w konsekwencji do eliminacji guza nowotworowego.

EKSPRESJA ANTYPENÓW LEWIS^y I LEWIS^b W INNYCH NOWOTWORACH

Zmiany ekspresji glikotopów Lewis^y i Lewis^b zaobserwowano również w komórkach raka piersi, zależnie od stadium zaawansowania choroby nowotworowej. Wykazano, że istnieje związek między poziomem ekspresji oraz odsetkiem komórek charakteryzujących się ekspresją obu antygenów, a inwazyjnością nowotworu. Ponadto stwierdzono, że duży odsetek komórek o stwierdzonej ekspresji struktur Lewis^y i Lewis^b towarzyszy przypadkom o złym rokowaniu. W grupie pacjentów bez przerzutów do węzłów chłonnych, u których komórki nowotworowe charakteryzowały się niewielką ekspresją glikotopów Lewis^y i Lewis^b, zaobserwowano wyższą przeżywalność [54].

Ekspresja mRNA dla *FUT4* i *FUT9* oraz kodowanych przez te geny fukozylotransferaz zachodzi w komórkach linii surowiczego i endometrialnego raka jajnika. Zaobserwowano również ekspresję antygenów Lewis^y na powierzchni tych komórek nowotworowych. Obecność mRNA dla *FUT4* wykazano przede wszystkim w komórkach guzów o wysokim stopniu zaawansowania [18]. Ekspresję antygenów Lewis^y zaobserwowano ponadto zarówno w komórkach guzów pierwotnych, jak i w przerzutach do sieci, błony surowiczej macicy, jelita, pęcherza moczowego i otrzewnej ściennej w obrębie jamy miednicy [12].

Zmiany ekspresji antygenów α 1,2-fukozylowanych (zwłaszcza Lewis^y) zaobserwowano także w komórkach raka płuc, jednak znaczenie tych zmian jest mniej poznane niż w wyżej omówionych przypadkach. Wyniki badań Miyake i wsp. sugerowały, iż ekspresja antygenów H, Lewis^y i Lewis^b w komórkach raka płuc związana jest ze złym rokowaniem i zmniejszoną przeżywalnością [61]. Wykazano również, że w grupie pacjentów z nowotworem płuc wykazującym wysoki poziom ekspresji struktury Lewis^y komórki rakowe wykazują większą inwazyjność. Nie stwierdzono natomiast różnic w przeżywalności między grupą pacjentów chorych na raka, którego komórki wykazują ekspresję Lewis^y, a grupą pacjentów, których komórki nie wykazują ekspresji tego oligosacharydu [67].

Kawai i wsp. stwierdzili, że nie ma istotnej statystycznie zależności między przeżywalnością pacjentów po resekcjach guzów nowotworowych, a ekspresją antygenów Lewis^y [40]. Takie same wyniki uzyskali Mehdi i wsp.

Okazało się jednak, że istnieje związek między ekspresją antygenów Lewis^y a aneuploidią, która jest markerem złośliwości nowotworu [39,60]. Prawdopodobną przyczyną tych różnic w liczbie grup pacjentów objętych badaniami oraz wykorzystanie do badań przeciwciał o różnych swoistościach [60].

W komórkach raka prostaty wykazano zwiększoną ekspresję antygenów α 1,2-fukozylowanych. Nadekspresja glikotopu Lewis^y częściej dotyczy nowotworów złośliwych niż nowotworów niezłośliwych [56]. Zwiększona synteza tego typu struktur może być związana z nadekspresją α 1,2-fukozylotransferaz oraz Fuc-III [10].

W liniach komórek raka trzustki oraz w tkankach zmienionych nowotworowo pobranych od pacjentów stwierdzono zmniejszoną ekspresję antygenów Lewis^y oraz Lewis^b [58,73]. Oprócz tego zaobserwowano spadek aktywności α 1,2-fukozylotransferaz. Zmianom tym towarzyszył wzrost ekspresji glikotopów sjało Lewis^x oraz sjało Lewis^a [58].

Zwiększona synteza glikotopu sjało Lewis^a jest charakterystyczna dla komórek raka trzustki o skłonności do przerzutowania [43]. Co ciekawe, zmniejszonej syntezy antygenów Lewis^y i Lewis^b oraz obniżonej aktywności α 1,2-fukozylotransferazowej nie towarzyszą zmiany ekspresji mRNA *FUT1* i *FUT2* [58]. W badaniach linii komórkowych raka jajnika, okrężnicy, żołądka oraz ostrej białaczki szpikowej wykazano, że istnieje kilka postaci transkryptyu genu *FUT1*, ponieważ jego ekspresja regulowana jest przez dwa różne promotory, decydujące o miejscu syntezy enzymu Fuc-TI. W dodatku w obrębie regionu 5'-niekodującego tego genu zachodzi alternatywny splajsing. Natomiast w mRNA *FUT2* stwierdzono obecność dużej pętli w regionie 3'-niekodującym, która może wpływać na stabilność transkryptyu i w ten sposób regulować ekspresję [47,48].

W celu oceny roli antygenów α 1,2-fukozylowanych w zdolności komórek nowotworowych, z charakterystycznym wzorem ekspresji α 1,2-fukozylotransferaz i sjałowanych oligosacharydów typu Lewis, do tworzenia przerzutów, dokonano transfekcji komórek raka trzustki za pomocą cDNA dla *FUT1*. Doświadczenie dotyczyło komórek charakteryzujących się wysoką ekspresją sjałowanych antygenów typu Lewis, dużą zdolnością do przerzutowania, małą aktywnością α 1,2-fukozylotransferaz i małą ekspresją oligosacharydów zawierających α 1,2-fukozę. W transfekowanych komórkach wzrosła ekspresja α 1,2-fukozylowanych glikotopów oraz aktywność α 1,2-fukozylotransferazy. Zaobserwowano przede wszystkim wzrost ekspresji antygenów Lewis^y, co potwierdza preferencyjne przyłączanie fukozy przez enzym Fuc-TI do substratu prekursorowego typu II. Powyższym zmianom towarzyszył spadek ekspresji antygenów sjało Lewis^x i sjało Lewis^a. Eksperyment z wykorzystaniem myszy bezgranicznych, którym przeszczepiono komórki raka trzustki transfekowane cDNA dla *FUT1*, wykazał mniejszą zdolność do przerzutowania tych komórek w porównaniu z grupą kontrolną, której podano komórki raka trzustki, transfekowane samym wektorem. Obserwowane efekty są prawdopodobnie skutkiem konkurencji α 1,2-fukozylotransferazy i α 2,3-sjałotransferazy o ten sam akceptor, ponieważ żaden substrat prekursorowy nie może być jednocześnie α 2,3-sjałowany i α 1,2-fukozylowany.

Hipoteza ta wyjaśnia, dlaczego nabycie zdolności do przerzutów przez komórki raka trzustki, związane z nadekspresją struktur typu sjalo Lewis, poprzedzone jest spadkiem aktywności $\alpha 1,2$ -fukozylotransferaz [3].

EKSPRESJA ANTYGENÓW LEWIS^x ORAZ LEWIS^a

Oligosacharyd Lewis^x występuje na powierzchni komórek embrionalnych, gdzie odgrywa ważną rolę w ich wzajemnej adhezji. Co ciekawe, adhezja komórek embrionalnych z udziałem cząsteczek Lewis^x prawdopodobnie odbywa się według mechanizmu wzajemnego rozpoznawania tych struktur (oddziaływania między oligosacharydami Lewis^x znajdującymi się na sąsiednich komórkach) [30]. Wykazano również obecność tej struktury na powierzchni granulocytów [15]. Antygen Lewis^a występuje głównie na powierzchni erytrocytów w wyniku adsorpcji z osocza u osób o genotypie *se/se*, czyli tzw. „niewydzielaczy”. Genotyp ten występuje, gdy oba allele *FUT2* są niefunkcjonalne, w wyniku czego nie dochodzi do ekspresji prawidłowej $\alpha 1,2$ -fukozylotransferazy. Najczęściej niefunkcjonalny allel genu *FUT2* powstaje w następstwie mutacji nonsensownej G428A, której efektem jest powstanie przedwczesnego kodonu stop [26,80].

Zmiany ekspresji antygenów Lewis^x oraz Lewis^a zaobserwowano w komórkach nabłonkowych śluzówki żołądka w stanach poprzedzających transformację nowotworową tych komórek, takich jak metaplaszja jelitowa [83]. Kim i wsp. wykazali, że transformacji nowotworowej komórek błony śluzowej żołądka towarzyszy obniżona ekspresja antygeny Lewis^a [42]. Ponadto u osób z rakiem żołądka zaobserwowano częstsze występowanie fenotypu erytrocytów Le(a-b-) w porównaniu z osobami zdrowymi, mimo to wykazano podobną częstość występowania alleli *le* i *Le* u ludzi zdrowych i u pacjentów z rakiem żołądka. Zatem autorzy zaproponowali, że różnice częstości występowania fenotypu erytrocytów Le(a-b-), a także różnice poziomu ekspresji antygeny Lewis^a między ludźmi zdrowymi a pacjentami z rakiem żołądka nie są wynikiem zmian genetycznych. Dodają przy tym, że prawdopodobną przyczyną obniżenia ekspresji antygeny Lewis^a jest wzmożona aktywność sjalotransferaz towarzysząca transformacji nowotworowej komórek błony śluzowej żołądka [42]. Z kolei Serpa i wsp. wykazali, że ekspresja antygeny Lewis^a w komórkach raka żołądka zależy od ekspresji genu *FUT3*, a ponadto stwierdzili, że regulacja ekspresji tego genu odbywa się poprzez metylację promotora [76].

W komórkach raka przełyku obniżeniu ulega ekspresja antygeny Lewis^x. Zmiana ta dotyczy jednak tylko transformacji nowotworowej poprzedzonej wystąpieniem tak zwanego przełyku Barretta. W ten sposób określa się metaplastyczne zmiany nabłonka przełyku występujące u osób cierpiących na przewlekłą chorobę refluksową. W nowotworach przełyku o innej etiologii nie stwierdza się różnic w ekspresji antygeny Lewis^x w porównaniu z prawidłowym nabłonkiem [17].

W przypadku komórek nabłonka przejściowego pęcherza moczowego ulegających transformacji nowotworowej dochodzi z kolei do indukcji ekspresji antygeny Lewis^x. Glikotop ten jest bowiem nieobecny w prawidłowych komórkach nabłonkowych, bądź ulega ekspresji na niskim

poziomie [77]. Synteza tej struktury odbywa się bez względu na to, czy osoba jest „wydzielaczem”, a także bez względu na stopień zaawansowania zmian nowotworowych [51]. Stwierdzono, że w większości przypadków nowotworów płuc występuje zwiększona ekspresja antygeny Lewis^x. Wzrost ekspresji tego glikotopu jest skorelowany ze wzrostem ekspresji jego sjalowanej postaci [13,22].

Zwiększoną ekspresję antygeny Lewis^x zaobserwowano również w rakach piersi. Wykorzystując komórki śródbłoka ludzkiej żyły pępowinowej aktywowane lipopolisacharydem wykazano, że glikotop ten, podobnie jak sjalowane antygeny typu Lewis, może uczestniczyć w procesach adhezji komórek nowotworowych do śródbłoka naczyń krwionośnych. Odbywa się to prawdopodobnie za pośrednictwem receptora zmiatającego SRCL [16]. Receptory zmiatające należą do grupy receptorów wrodzonej odporności [7], przy czym SRCL reprezentuje klasę receptorów zmiatających typu A. Spośród innych receptorów tej klasy wyróżnia się budową, ponieważ oprócz domeny wiążącej utlenione lipoproteiny ma też domenę lektynową typu C [19]. Nadekspresja antygeny Lewis^x występuje również w komórkach raka jajnika. Stwierdzono wyższy stopień fukozylacji haptoglobiny z płynów wysiękowych pacjentek z rakiem jajnika w przebiegu wodobrzusza, w porównaniu z haptoglobina z surowicy osób zdrowych. Za pomocą swoistych lektyn stwierdzono, że większy stopień fukozylacji wynika ze wzrostu ekspresji antygeny Lewis^x [20,71].

EKSPRESJA ANTYGENÓW SJALO LEWIS^x I SJALO LEWIS^a

W przebiegu rozwoju płodowego antygen sjalo Lewis^a występuje w wielu tkankach, takich jak krtań, tchawica, oskrzela, spojówki, gruczoły łzowe i ślinowe, a także woreczek i przewod żółciowy [70,85]. U ludzi dorosłych antygen sjalo Lewis^a obecny jest w prawidłowych tkankach w niewielkich ilościach, a jego występowanie ogranicza się do nabłonka przewodów trzustkowych [31,85], małych wątrobowych przewodów żółciowych, nabłonka woreczka żółciowego, gruczołu krokowego, gruczołów oskrzelowych oraz macicy [1,2,85]. Antygen sjalo Lewis^x występuje w niektórych prawidłowych komórkach nabłonka oskrzelików płucnych, nabłonka woreczka żółciowego oraz przewodu trzustkowego [78,85], a także w bliższych kanalikach nerkowych oraz na powierzchni granulocytów [23,85]. Antygen sjalo Lewis^x ulega ponadto ekspresji podczas aktywacji limfocytów T [11].

EKSPRESJA ANTYGENY SJALO LEWIS^a W RAKU OKRĘŻNICY I W RAKU TRZUSTKI

Podwyższona ekspresja antygeny sjalo Lewis^a występuje w komórkach raka okrężnicy. U pacjentów z rakiem okrężnicy z wysokim poziomem ekspresji tego antygeny obserwuje się mniejszą przeżywalność. Wykazano też, że nawroty po terapii przeciwnowotworowej pojawiają się u większego odsetka takich pacjentów w porównaniu z chorymi o niskim poziomie ekspresji struktury sjalo Lewis^a. Zwiększonej ekspresji antygeny sjalo Lewis^a w komórkach raka okrężnicy towarzyszy także większa zdolność do przerzutowania [59,86].

Wykazano, że poziom ekspresji antygeny sjalo Lewis^a nie zależy od wieku, płci, miejsca wystąpienia guza pierwotnego

ani jego cech histologicznych [59]. Istnieje natomiast zależność między poziomem ekspresji glikotopu sjało Lewis^a a genotypem w *locus FUT3* i *FUT2*. Kodowana przez gen *FUT3* fukozylotransferaza jest jedynym enzymem o aktywności α 1,4-fukozylotransferazowej, a zatem jedyną fukozylotransferazą, która katalizuje przyłączenie fukozy do łańcucha prekursorowego typu I. Dlatego też komórki osób o fenotypie Le(a-b-) nie są zdolne do syntezy antygeny sjało Lewis^a. Natomiast osoby, u których dochodzi do ekspresji prawidłowej fukozylotransferazy kodowanej przez gen *FUT2* [„wydzielacze” o fenotypie Le(a-b+)], charakteryzują się niższym poziomem ekspresji tego antygeny niż osoby o fenotypie Le(a+b-), ponieważ enzym Fuc-TII konkuruje z α 2,3-sjalotransferazami o ten sam substrat [37,55]. Petretti i wsp. nie zaobserwowali zależności między poziomem ekspresji antygeny sjało Lewis^a a poziomem ekspresji mRNA *FUT3*. Zatem za zwiększoną ekspresję tego glikotopu w komórkach raka okrężnicy może odpowiadać podwyższona aktywność α 2,3-sjalotransferaz katalizujących przyłączanie kwasu sjałowego do łańcucha prekursorowego typu I [37,74]. Aczkolwiek Dąbrowska i wsp. stwierdziła, że ilość syntetyzowanego antygeny sjało Lewis^a zależy od poziomu ekspresji genu *FUT3* [14]. Niewykluczone, że za zwiększoną ekspresję tego glikotopu w raku okrężnicy odpowiadają oba mechanizmy.

Nadekspresję antygeny sjało Lewis^a stwierdzono także w komórkach raka trzustki. Wykazano, że podwyższona ekspresja tego glikotopu koreluje ze zdolnością nowotworu do tworzenia przerzutów [3,86]. Nie stwierdzono jednak zależności między poziomem ekspresji struktury sjało Lewis^a a poziomem ekspresji mRNA dla *FUT3* oraz aktywności enzymatyczną kodowanej przez ten gen fukozylotransferazy Fuc-TIII [37,58,88]. Podobnie jak w przypadku raka okrężnicy, za zwiększoną ekspresję oligosacharydu sjało Lewis^a w komórkach raka trzustki odpowiada prawdopodobnie podwyższona aktywność α 2,3-sjalotransferaz [73]. Nadekspresji antygeny sjało Lewis^a towarzyszy też zmniejszenie ekspresji niesjałowanych antygenów typu Lewis. Szczegóły tego zjawiska omówiono w części: „Ekspresja antygenów Lewis^a i Lewis^b w innych nowotworach”.

EKSPRESJA ANTYGENY SJAŁO LEWIS^x W INNYCH NOWOTWORACH

Nadekspresję antygeny sjało Lewis^x wykazano w komórkach raków płuc [22]. Stwierdzono, że zwiększonej syntezy tego glikotopu w komórkach nowotworowych towarzyszy również jego podwyższone stężenie w surowicy pacjentów. Nie zaobserwowano różnic w stężeniu antygeny sjało Lewis^x w surowicy pacjentów w zależności od wieku, płci, rozmiaru guza oraz jego cech histologicznych. Wykazano natomiast, że występuje mniejsza przeżywalność pacjentów po resekcji guza, którego komórki charakteryzowały się wysoką ekspresją antygeny sjało Lewis^x. Stwierdzono ponadto, że duże stężenie struktury sjało Lewis^x w surowicy wiąże się z niekorzystnym rokowaniem i skłonnością komórek nowotworowych do przerzutowania do węzłów chłonnych [62], a także, że nadekspresja antygeny sjało Lewis^x zwiększa zdolności komórek raka płuc do tworzenia przerzutów [57]. Stwierdzono przy tym zwiększony poziom mRNA dla *FUT3*, *FUT5*, *FUT6* i *FUT7*, kodujących fukozylotransferazy biorące udział w syntezie sjało Lewis^x. Zaobserwowano również podwyższoną ilość transkryptu

w przypadku genu *FUT4*. Kodowana przez ten gen fukozylotransferaza słabo oddziałuje ze sjałowymi oligosacharydami, jednakże przy odpowiednio wysokim poziomie ekspresji prawdopodobnie może katalizować syntezę antygeny sjało Lewis^x [66]. Wykazano ponadto, że nadekspresja *FUT4* i *FUT7* w komórkach raka płuc wiąże się ze złym rokowaniem [66].

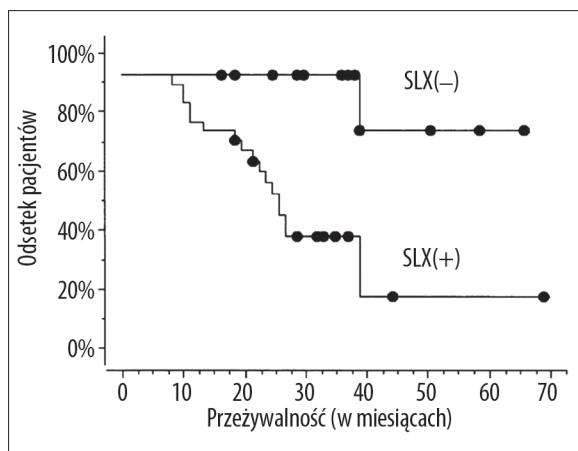
Zwiększoną ekspresję antygeny sjało Lewis^x stwierdzono również w komórkach raka prostaty. Nadekspresja tego glikotopu jest związana ze złym rokowaniem i opornością nowotworu na terapię chirurgiczną i hormonalną [34]. Podwyższona ekspresja antygeny sjało Lewis^x w raku prostaty spowodowana jest nadekspresją fukozylotransferaz kodowanych przez geny *FUT3*, *FUT6* i *FUT7*. Wykazano, że ekspresja tych białek oraz antygeny sjało Lewis^x ma związek z adhezją komórek raka prostaty do komórek śródbłonna. Podwyższona aktywność enzymu Fuc-TVII w największym stopniu zwiększa zdolności komórek raka prostaty do przerzutowania do szpiku kostnego [5].

Eksperymenty prowadzone na linii komórkowej ludzkiego raka prostaty o niewielkiej ekspresji struktury sjało Lewis^x pozwoliły na stwierdzenie, że za nadekspresję antygeny sjało Lewis^x w tych komórkach przynajmniej częściowo odpowiada fukozylotransferaza Fuc-TIII. Komórki transfekowane cDNA dla *FUT3* charakteryzują się podwyższoną syntezą antygeny sjało Lewis^x. Wprowadzenie takich komórek do prostaty myszy bezgranicznych powoduje powstanie dużych guzów nowotworowych, natomiast ich preinkubacja z przeciwciałem rozpoznającym glikotop sjało Lewis^x, bądź preinkubacja z oligosacharydem sjało Lewis^x (lub też z medium zawierającym peptyd naśladujący ligand selektywny) pozbawia te komórki tumorogenności [33].

Ekspresja antygeny sjało Lewis^x występuje w inwazyjnym raku pęcherza moczowego, natomiast w brodawkzaku tego narządu nie stwierdzono ekspresji tego glikotopu. Rak inwazyjny zdolny jest do naciekania mięśniówki pęcherza moczowego i przerzutowania za pośrednictwem naczyń krwionośnych i limfatycznych. Stwierdzono korelację między ekspresją antygeny sjało Lewis^x a występowaniem przerzutów, w tym także do węzłów chłonnych. Przeżywalność osób z rakiem o dużej ekspresji glikotopu sjało Lewis^x, w porównaniu z pacjentami z małą ekspresją tego antygeny, jest niższa (ryc. 2). Nadekspresji struktury sjało Lewis^x towarzyszy podwyższona ilość transkryptów genów *FUT6* i *FUT7* [65].

U pacjentów z rakiem żołądka charakteryzującym się wysokim stopniem zróżnicowania zaobserwowano, że ekspresja antygeny sjało Lewis^x występuje częściej niż u osób z nowotworem o niskim stopniu zróżnicowania. Ponadto przerzuty do węzłów chłonnych oraz do wątroby występują częściej u pacjentów z rakiem, którego komórki wykazują ekspresję struktury sjało Lewis^x [25]. W raku żołądka wykazano podwyższony poziom transkryptów genów kodujących fukozylotransferazę Fuc-TIV i sjalotransferazę ST3Gal-IV, natomiast w jego zaawansowanym stadium obserwuje się obniżenie ekspresji mRNA *FUT3* [74].

W komórkach raka piersi wykazano podwyższoną ekspresję antygeny sjało Lewis^x w porównaniu z prawidłową

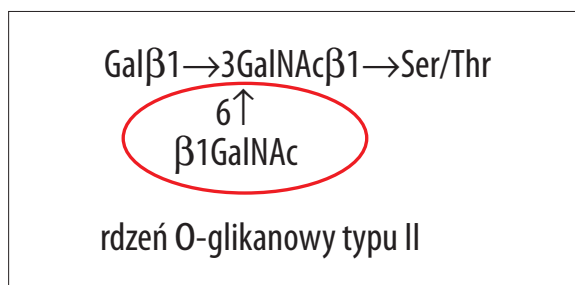


Ryc. 2. Porównanie przeżywalności pacjentów z rakiem pęcherza moczowego, którego komórki wykazywały wysoką ekspresję antygeny sjało Lewis^x (SLX(+)) i pacjentów chorych na ten nowotwór, którego komórki wykazywały niską ekspresję tego glikotopu (SLX(-)) (wg [65])

tkanką. Podwyższona ekspresja tego glikotopu koreluje ze złym rokowaniem [35,63], a podwyższone stężenie antygeny sjało Lewis^x w surowicy obserwuje się u pacjentów, u których doszło do powstania przerzutów [52].

W rakach nerki również stwierdzono zwiększoną ekspresję antygeny sjało Lewis^x [49,84]. Istnieje zależność między poziomem ekspresji tego oligosacharydu a tumorigennością, zdolnością do przerzutowania i skłonnością do wznowy. Zaobserwowano też, że przeżywalność pacjentów z rakiem nerki o dużej ekspresji antygeny sjało Lewis^x leczonych cymetydyną jest wyższa niż osób nieotrzymujących tego leku. Może to być spowodowane zdolnością cymetydyny do obniżania ekspresji selektyny E na komórkach śródbłonna [84].

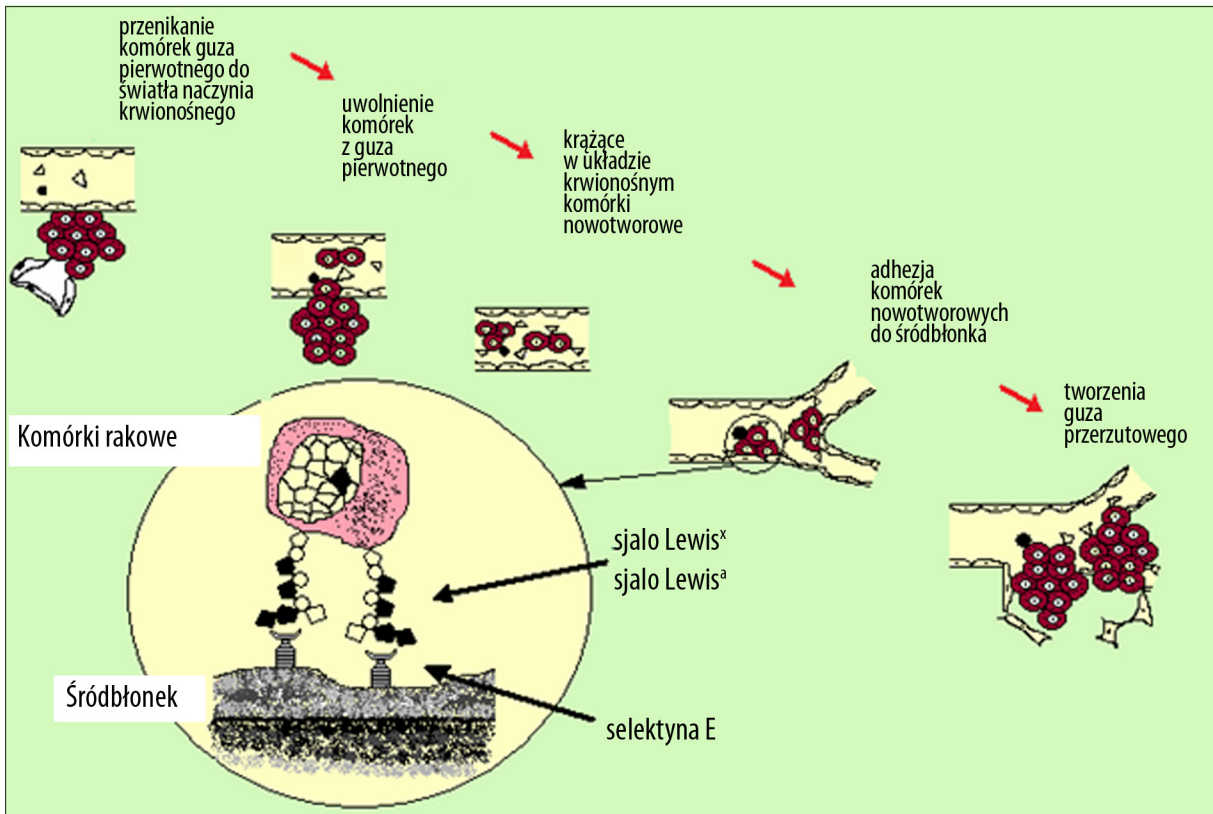
Nadekspresję antygeny sjało Lewis^x zaobserwowano także w komórkach raka wątroby, zależnie od stopnia jego zróżnicowania. W prawidłowych hepatocytach nie dochodzi do ekspresji tego glikotopu, natomiast ekspresja struktury sjało Lewis^x towarzyszy także innym patologicznym zmianom w wątrobie, takim jak przewlekłe zapalenie czy marskość. Obecność antygeny sjało Lewis^x na komórkach wątrobiała występuje przy wysokim stopniu zróżnicowania nowotworu. W komórkach guzów o umiarkowanym i znikomym stopniu zróżnicowania ekspresja struktury sjało Lewis^x występuje w cytoplazmie [21,69]. Zaobserwowano ponadto, że nowotwór może być szczególnie inwazyjny, kiedy sjało Lewis^x jest częścią O-glikanowego rdzenia typu 2 (C2-O-sLe^x), ze względu na najsilniejsze wiązanie takiego wariantu oligosacharydu do selektyn. W rdzeniu O-glikanu typu drugiego, do N-acetyloglukozoaminy połączonej wiązaniem O-glikozydowym z seryną bądź treoniną przyłączona jest kolejna N-acetyloglukozoamina za pomocą wiązania β1,6-glikozydowego. Reakcję przyłączania drugiej N-acetyloglukozoaminy katalizuje enzym CN2GnT1. Zaobserwowano, że ekspresja tego enzymu w komórkach nowotworowych koreluje z inwazyjnością i zdolnością przerzutowania nowotworu. C2-O-sLe^x może mieć znaczenie prognostyczne pod kątem zdolności nowotworu do przerzutowania [81].



Ryc. 3. Struktura O-glikanowego rdzenia typu II. Zaznaczono połączenie między monosacharydami, którego utworzenie katalizuje enzym CN2GnT1 (wg [81])

ROLA ANTYGENÓW SJAŁO LEWIS^x I SJAŁO LEWIS^a W PROGRESJI NOWOTWORU

Wielokrotnie stwierdzano, że nadekspresji antygenów sjało Lewis^x i sjało Lewis^a w komórkach nowotworowych wywodzących się z różnych tkanek, towarzyszy większa zdolność do tworzenia przerzutów. Wykazano, że u podstaw tej zależności leżą oddziaływania oligosacharydów sjało Lewis^x lub sjało Lewis^a, obecnych na powierzchni komórek nowotworowych, z selektynami P lub E, występującymi na powierzchni komórek śródbłonna naczyń krwionośnych [45,57,65,68]. Selektyny to integralne białka błonowe z rodziny cząsteczek adhezyjnych. Wyróżnia się trzy rodzaje tych białek: selektyny E, L i P. Ekspresja selektyny E ogranicza się do komórek śródbłonna, selektyna P występuje na powierzchni komórek śródbłonna i trombocytów, a selektyna L obecna jest wyłącznie na powierzchni leukocytów. Wszystkie rodzaje selektyn zdolne są do wiązania złożonych struktur cukrowych, a ich ligandy występują na powierzchni komórek fagocytycznych oraz limfocytów T. Selektyny obecne na komórkach śródbłonna ulegają ekspresji pod wpływem odpowiednich cytokin, takich jak interleukina 1, czy też czynnik martwicy nowotworu, a także pod wpływem bakteryjnych lipopolisacharydów. Oddziaływania selektyn z ich ligandami leżą u podstaw procesu toczenia się leukocytów po śródbłonku. Odgrywają zatem główną rolę w kierowaniu leukocytów do miejsc objętych stanem zapalnym [38,85]. Wykazano, że oligosacharyd sjało Lewis^x ulega ekspresji w granulocytach i jest ligandem selektyny E. Wiązanie granulocytów do selektyny E jest hamowane przez przeciwciało rozpoznające antygen sjało Lewis^x lub przez glikoproteiny zawierające oligosacharyd sjało Lewis^x [87]. Zaobserwowano, że adhezja do śródbłonna komórek linii raka płuc, które wykazują nadekspresję antygeny sjało Lewis^x, odbywa się za pośrednictwem oddziaływań glikotopu sjało Lewis^x z selektyną E. Komórki nowotworowe o dużej ekspresji oligosacharydu sjało Lewis^x wiążą się do komórek śródbłonna ludzkiej żyły pępowinowej aktywowanych przez interleukinę 1, natomiast przeciwciało rozpoznające selektynę E lub przeciwciało rozpoznające antygen sjało Lewis^x hamuje wiązanie komórek tej linii. Podobny efekt występuje po preinkubacji komórek nowotworowych z neuraminidazą. Wstrzyknięcie myszom bezgrasiczym komórek tej linii powoduje powstanie dużych guzów i przerzutów. Komórki raka płuc o małej ekspresji struktury sjało Lewis^x mają znikomą zdolność do wiązania do śródbłonna. Nie istnieją również w przypadku tych komórek różnice w zdolności do adhezji w zależności od preinkubacji komórek



Ryc. 4. Schemat kaskady przerzutowania nowotworu. Proces rozpoczyna się od przeniknięcia komórek guza pierwotnego przez ścianę naczyń krwionośnych do jego światła. Komórki nowotworowe wędrują w krwiobiegu oddziałując z różnymi komórkami krwi np. leukocytami i trombocytami. Dochodzi ostatecznie do adhezji komórek nowotworowych do śródbłonnka. Na tym etapie rolę odgrywają oddziaływania struktur sjała Lewis^x i sjała Lewis^a z selektyną E (wg [37])

śródbłonek z przeciwciałem rozpoznającym selektynę E. U myszy bezgrasiczych, którym wstrzyknięto komórki tej linii powstają niewielkie, samoistnie ustępujące guzy niezdolne do tworzenia przerzutów [57]. Yuan i wsp. wykazali, że komórki linii raka piersi traktowane L-fukozydazą mają obniżoną zdolność adhezji do komórek śródbłonnka ludzkiej żyły pępowinowej (HUVEC) w warunkach statycznych, a także że mają one obniżoną zdolność toczenia się po śródbłonce oraz po powierzchni opłaszczony selektynami E i P w warunkach przepływu [91].

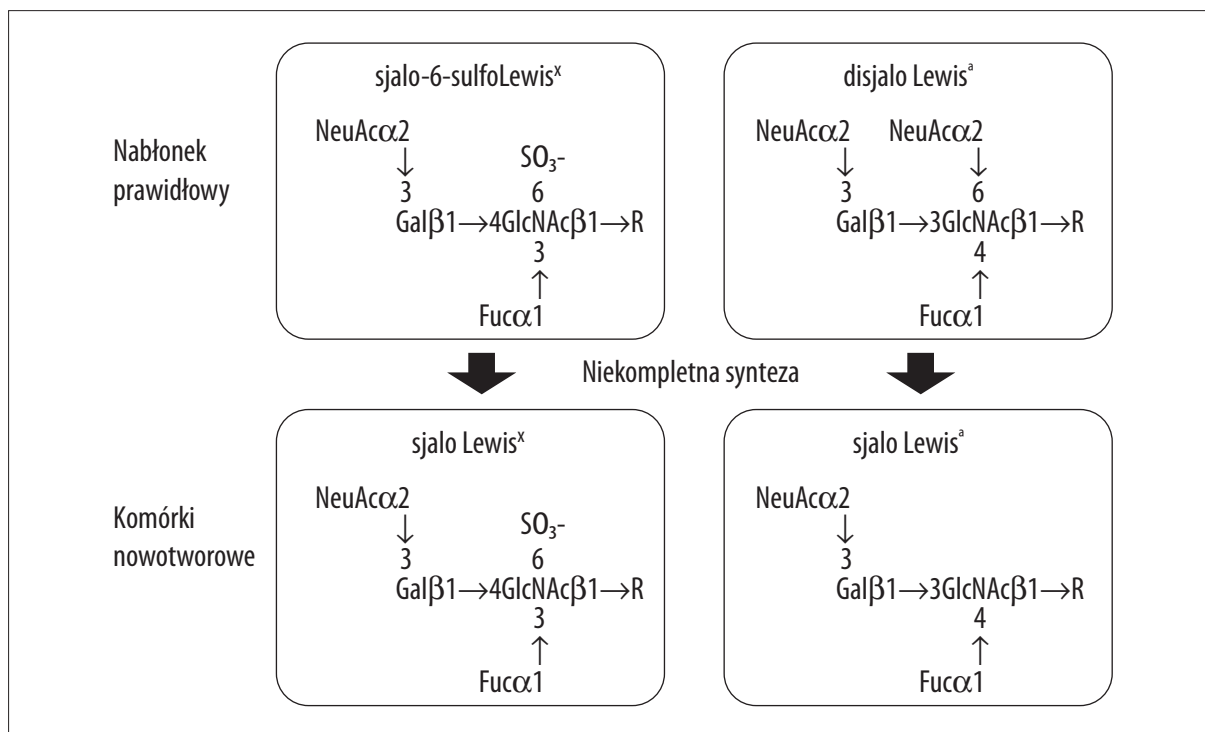
Wykazano, że oligosacharyd sjała Lewis^a również może służyć jako ligand selektyny E. Zaobserwowano, że komórki linii niektórych nowotworów, które nie syntetyzują struktur sjała Lewis^x mogą mimo to wiązać się do komórek śródbłonnka aktywowanych interleukiną 1, natomiast preinkubacja komórek nowotworowych z przeciwciałem rozpoznającym antygen sjała Lewis^a powoduje hamowanie wiązania. Taki sam efekt obserwuje się po preinkubacji komórek śródbłonnka z oczyszczonymi glikolipidami zawierającymi glikotop sjała Lewis^a bądź sjała Lewis^x [35]. Kłopotki i wsp. transfekowali komórki linii raka okrężnicy o dużej ekspresji antygeny sjała Lewis^a za pomocą cDNA *FUT3* w orientacji antysensownej. Transfekowane komórki nowotworowe utraciły zdolność syntezy antygeny sjała Lewis^a oraz zdolność do wiązania selektyny E [45].

Receptorem antygenów sjała Lewis^x i sjała Lewis^a może być także selektyna P, pod warunkiem, że oligosacharydy

te są częścią glikoproteiny PSGL-1. Jednakże glikoproteina ta rzadko ulega ekspresji w komórkach nowotworowych, dlatego też rola selektyny P w adhezji komórek nowotworowych o dużej ekspresji antygenów sjała Lewis^x lub sjała Lewis^a do śródbłonnka jest mniejsza niż oddziaływania tych oligosacharydów z selektyną E [35,37]. Antygeny sjała Lewis^x i sjała Lewis^a prawdopodobnie odgrywają rolę również w procesie angiogenezy. Komórki śródbłonnka w obecności komórek nowotworowych o dużej ekspresji struktur sjała Lewis^x i sjała Lewis^a tworzą w obrębie guza rurkowane, usieciowane struktury przypominające sieć naczyń krwionośnych. Przeciwciała rozpoznające glikotop sjała Lewis^x, przeciwciała rozpoznające antygen sjała Lewis^a, a także przeciwciała rozpoznające integrynę $\beta 1$ hamują oddziaływanie komórek nowotworowych z komórkami śródbłonnka zarówno *in vitro*, jak również *in vivo* [37,82].

REGULACJA EKSPRESJI SJALA LEWIS^x I SJALA LEWIS^a

Wyróżnia się dwa mechanizmy, według których dochodzi do zmian ekspresji antygenów sjała Lewis^x i sjała Lewis^a. Jeden mechanizm polega na niekompletnej syntezie oligosacharydów występujących na powierzchni prawidłowych komórek. Na przykład w prawidłowych komórkach nabłonka jelitowego syntetyzowane są oligosacharydy sjała 6-sulfo Lewis^x oraz disjała Lewis^a. W komórkach nowotworowych obserwuje się obniżenie ekspresji tych cząsteczek, czemu towarzyszy podwyższona ekspresja struktur sjała Lewis^x i sjała Lewis^a. Wykazano, że przyczyną tych zjawisk



Ryc. 5. Schemat ilustrujący jeden z mechanizmów indukcji ekspresji antygenów sjalo Lewis^x lub sjalo Lewis^a w komórkach nowotworowych. Jest to mechanizm niekompletnej syntezy. W prawidłowych komórkach nabłonkowych syntetyzowane są struktury sjalo-6-sulfo Lewis^x lub disjalo Lewis^a. W komórkach nowotworowych ekspresja tych oligosacharydów ulega zmniejszeniu i dochodzi do nagromadzenia antygenów sjalo Lewis^x lub sjalo Lewis^a. NeuAc – kwas sjałowy; Gal – galaktoza; GlcNAc – N-acetyloglukozoamina; Fuc – fukoza (wg [36])

jest wyciszenie genu kodującego 6-sulfotransferazę, która przenosi resztę siarczanową na N-acetyloglukozoaminę, oraz genu kodującego α 2,6-sjalotransferazę. Wyciszenie genu kodującego 6-sulfotransferazę powoduje podwyższenie ekspresji antygeny sjalo Lewis^x, natomiast wyciszenie genu kodującego α 2,6-sjalotransferazę jest przyczyną podwyższonej ekspresji struktury sjalo Lewis^a (ryc. 5) [36].

Drugim mechanizmem kryjącym się za zjawiskiem nadekspresji antygenów sjalo Lewis^x i sjalo Lewis^a jest tak zwana neosynteza. Według tego mechanizmu nadekspresja określonych oligosacharydów wynika z indukcji, bądź podwyższenia ekspresji glikozylotransferaz katalizujących poszczególne etapy syntezy. W różnych rodzajach nowotworów obserwuje się podwyższenie ekspresji N-acetyloglukozaminylotransferaz, sjalotransferaz oraz fukozylotransferaz biorących udział w syntezie antygenów sjalo Lewis^x i sjalo Lewis^a. Wiadomo, że geny *FUTVII* i *FUTIV* są dynamicznie regulowane na poziomie transkrypcji [36]. Znane jest zjawisko podwyższonej ekspresji genu *FUTVII* pod wpływem białka Tax, kodowanego przez gen pX wirusa *HTLV-1*. Wirus ten powoduje rzadki, agresywny rodzaj białaczki. Białko Tax rozpoznaje sekwencje wiążące czynniki transkrypcyjne w regionie promotorowym genu *FUTVII*, co powoduje nagromadzenie mRNA *FUTVII* i wzrost ekspresji antygeny sjalo Lewis^x w limfocytach T. Limfocyty T osób chorych na białaczkę wywołaną wirusem *HTLV-1* mają w związku z tym patologicznie zwiększoną zdolność penetracji tkanek [37]. Wyniki analiz promotorów genów poszczególnych fukozylotransferaz sugerują, że regulacja ekspresji tych genów jest swoista i zachodzi odmiennie dla każdego genu z osobna. W promotorze genu

FUT3 zidentyfikowano sekwencje wzmacniające, które wiążą czynnik transkrypcyjny z grupy AP-1. Nie stwierdzono homologii sekwencji regionu promotorowego genu *FUT3* z sekwencjami genów *FUTV* i *FUTVI* [14].

Otwarte pozostaje pytanie o nadrzędną przyczynę zmian ekspresji antygenów sjalo Lewis^a i sjalo Lewis^x (a także enzymów biorących udział w ich syntezie) w procesie transformacji nowotworowej. Jedną z hipotez sugeruje, że mamy tu do czynienia z tak zwanym efektem Warburga, to znaczy zahamowaniem metabolizmu tlenowego w komórkach nowotworowych i wzmocnieniem beztlenowego procesu glikolizy. Zjawisko to indukowane jest hipoksją. Towarzyszy mu wzrost ekspresji transporterów cukrów, w tym GLUT-1, enzymów glikolitycznych, a także indukcja transkrypcji wielu genów kodujących glikozylotransferazy związane z syntezą glikotopów typu sjalo Lewis. Wykazano, że GLUT-1 oprócz glukozy transportuje także galaktozę w komórkach nabłonkowych. Stwierdzono, że pod wpływem hipoksji dochodzi do podwyższenia ekspresji antygenów sjalo Lewis^a i sjalo Lewis^x w komórkach raka okrężnicy, co powoduje zwiększoną zdolność wiązania tych komórek do selektyny E. Zaobserwowano również wzrost ekspresji GLUT-1, transportera UDP-galaktozy, fukozylotransferazy Fuc-TVII, a także sjalotransferazy ST3Gal-I pod wpływem hipoksji. W zjawiska te zaangażowane są tak zwane czynniki transkrypcyjne indukowane hipoksją [36,50].

PODSUMOWANIE

Dotychczasowa wiedza na temat zmian ekspresji antygenów typu Lewis, towarzyszących kancerogenezie, wskazuje

obiecujące kierunki poszukiwań nowych skutecznych terapii przeciwnowotworowych, jest również pomocna w diagnostyce chorób nowotworowych. Od wielu lat rutynowo oznacza się w surowicach pacjentów stężenia struktur pokrewnych antygenom sjalo Lewis^x i sjalo Lewis^a [46,71]. Wykazano, że przeciwciała monoklonalne rozpoznające antygeny sjalo Lewis^a i sjalo Lewis^x zapobiegają przerzutom u myszy bezgranicznych obciążonych ludzkim rakiem trzustki lub żołądka [37]. Opisano możliwości blokowania selektyny E za pomocą glikomimetyków naśladujących swoją strukturą oligosacharyd sjalo Lewis^x, wykazujących przy tym o kilka rzędów wyższe powinowactwo do selektyny E [55]. Można ponadto ograniczyć ekspresję antygenów typu sjalo Lewis poprzez wprowadzenie konkurencyjnych substratów dla enzymów katalizujących syntezę tych struktur [24]. Możliwości wykorzystania przeciwciał monoklonalnych w terapii są szczególnie opisywane także w przypadku antygeny Lewis^y. Stwierdzono, że przeciwciała monoklonalne rozpoznające antygen Lewis^y sprzężone z antybiotykami powstrzymują wzrost guza u myszy bezgranicznych z przeszczepionym ludzkim rakiem żołądka, okrężnicy lub prostaty [8]. Wykazano, że przeciwciała monoklonalne rozpoznające glikotop Lewis^y mogą też być pomocne w radioimmunoterapii raka piersi [41], a także w terapiach opartych na blokowaniu receptorów czynników wzrostu [44]. Antygen

Lewis^x może być natomiast ważnym markerem pozwalającym rozróżnić gruczolakoraka płuca od międzybłonniaka [13], a także raka nerki od międzybłonniaka [72]. Istotnym narzędziem diagnostycznym mogą się okazać rekombinowane białka rozpoznające określone struktury cukrowe, takie jak GalMBP. GalMBP to surowicze białko wiążące mannozę, zmodyfikowane w kierunku preferencyjnego rozpoznawania glikanów zawierających galaktozę jako terminalny monosacharyd. Wykazano, że może ono wiązać glikany towarzyszące nowotworzeniu: antygen T oraz Lewis^x. Tego typu białka mogą zastąpić trudniejsze do uzyskania w wystarczającej ilości endogenne receptory tych cząsteczek, na przykład receptor zmiatający SRCL wiążący Lewis^x [75]. Prawdopodobnie duży potencjał terapeutyczny tkwi w wyciszaniu genów kodujących fukozylotransferazy za pomocą technik RNAi. Wyciszenie za pomocą tej techniki genów *FUT1* i *FUT4* hamuje wzrost guza raka naskórkowego u myszy bezgranicznych [92]. Mimo dotychczasowych dokonań, wykorzystanie zmian w ekspresji antygenów typu Lewis w terapii przeciwnowotworowej pozostaje ciągle sprawą otwartą.

PODZIĘKOWANIA

Autor dziękuje Panu Docentowi Marcinowi Czerwińskiemu za przeczytanie manuskryptu i cenne uwagi.

PIŚMIENICTWO

- Arends J.W., Verstynen C., Bosman F.T., Hilgers J., Steplewski Z.: Distribution of monoclonal antibody-defined monosialoganglioside in normal and cancerous human tissues: an immunoperoxidase study. *Hybridoma*, 1983; 2: 219–229
- Atkinson B.F., Ernst C.S., Herlyn M., Steplewski Z., Sears H.F., Koprowski H.: Gastrointestinal cancer-associated antigen in immunoperoxidase assay. *Cancer Res.*, 1982; 42: 4820–4823
- Aubert M., Panicot L., Crotte C., Gibier P., Lombardo D., Sadoulet M.O., Mas E.: Restoration of $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase activity decreases adhesive and metastatic properties of human pancreatic cancer cells. *Cancer Res.*, 2000; 60: 1449–1456
- Ayrolid E., Cannarile L., Migliorati G., Bartoli A., Nicoletti I., Riccardi C.: CD44 (Pgp-1) inhibits CD3 and dexamethasone-induced apoptosis. *Blood*, 1995; 86: 2672–2678
- Barthel S.R., Wiese G.K., Cho J., Opperman M.J., Hays D.L., Siddiqui J., Pienta K.J., Furie B., Dimitroff C.J.: Alpha 1,3 fucosyltransferases are master regulators of prostate cancer cell trafficking. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 19491–19496
- Becker D.J., Lowe J.B.: Fucose: biosynthesis and biological function in mammals. *Glycobiology*, 2003; 13: 41R–53R
- Błach-Olszewska Z.: Mechanizmy kontroli odporności wrodzonej. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 201–208
- Boghaert E.R., Sridharan L., Armellino D.C., Khandke K.M., DiJoseph J.F., Kunz A., Dougher M.M., Jiang F., Kalyandrug L.B., Hamann P.R., Frost P., Damle N.K.: Antibody-targeted chemotherapy with the calicheamicin conjugate hu3S193-N-acetyl gamma calicheamicin dimethyl hydrazide targets Lewis^y and eliminate Lewis^y-positive human carcinoma cells and xenografts. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 4538–4549
- Boisteau O., Gautier F., Cordel S., Henry F., Harb J., Douillard J.Y., Vallette F.M., Meflah K., Grégoire M.: Apoptosis induced by sodium butyrate treatment increases immunogenicity of a rat colon tumor cell line. *Apoptosis*, 1997; 2: 403–412
- Chandrasekan E.V., Chawda R., Locke R.D., Piskorz C.F., Matta K.L.: Biosynthesis of the carbohydrate antigenic determinants, Globo H, blood group H, and Lewis b: a role for prostate cancer cell $\alpha(1,2)$ -L-fucosyltransferase. *Glycobiology*, 2002; 12: 153–162
- Chen G.Y., Osada H., Santamaria-Babi L.F., Kannagi R.: Interaction of GATA-3/T-bet transcription factors regulates expression of sialyl Lewis X homing receptors on Th1/Th2 lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 16894–16899
- Chhieng D.C., Rodriguez-Burford C., Talley L.I., Svinglin H., Stockard C.R., Kleinberg M.J., Barnes M.N., Partridge E.E., Khazaeli M.B., Grizzle W.E.: Expression of CEA, Tag-72, and Lewis-Y antigen in primary and metastatic lesions of ovarian carcinoma. *Hum. Pathol.*, 2003; 34: 1016–1021
- Comin C.E., Novelli L., Boddi V., Paglierani M., Dini S.: Calretinin, thrombomodulin, CEA, and CD15: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating pleural epithelial mesothelioma from peripheral pulmonary adenocarcinoma. *Hum. Pathol.*, 2001; 32: 529–536
- Dąbrowska A., Baczyńska D., Widerak K., Laskowska A., Ugorski M.: Promoter analysis of the human $\alpha(1,3/4)$ -fucosyltransferase gene (*FUT III*). *Biochim. Biophys. Acta*, 2005; 1731: 66–73
- Detke M., Pálfi G., Loibner H.: Activation-dependent expression of the blood group-related Lewis Y antigen on peripheral blood granulocytes. *J. Leukoc. Biol.*, 2000; 68: 511–514
- Elola M.T., Capurro M.I., Barrio M.M., Coombs P.J., Taylor M.E., Drickamer K., Mordoh J.: Lewis x antigen mediates adhesion of human breast carcinoma cells to activated endothelium: possible involvement of the endothelial scavenger receptor C-type lectin. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2007; 101: 161–174
- Engel U., McCombs R., Stranahan P., Pettijohn D., Hage E.: Decrease in Lewisx expression in esophageal adenocarcinomas arising in Barrett's Epithelium. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1997; 6: 245–248
- Escrevente C., Machado E., Brito C., Reis C.A., Stoeck A., Runz S., Marmè A., Altevogt P., Costa J.: Different expression levels of $\alpha(3/4)$ fucosyltransferases and Lewis determinants in ovarian carcinoma tissues and cell lines. *Int. J. Oncol.*, 2006; 29: 557–566
- Feinberg H., Taylor M.E., Weis W.I.: Scavenger receptor C-type lectin binds to the leukocyte cell surface glycan Lewis(x) by a novel mechanism. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 17250–17258
- Ferens-Sieczkowska M., Kossowska B.: Haptoglobin fucosylation in ascites fluids of ovarian cancer patients. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2004; 13: 581–587
- Fujiwara Y., Shimada M., Takenaka K., Kajiyama K., Shirabe K., Sugimachi K.: The Sialyl Lewis X expression in hepatocarcinogenesis: potential predictor for the emergence of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*, 2002; 49: 213–217
- Fukushima K.: Expression of Lewisx, sialylated Lewisx, Lewisia, and sialylated Lewisia antigens in human lung carcinoma. *Tohoku J. Exp. Med.*, 1991; 163: 17–30

- [23] Fukushima K., Hirota M., Terasaki P. I., Wakisaka A., Togashi H., Chia D., Suyama N., Fukushi Y., Nudelman E., Hakomori S.: Characterization of sialosylated Lewis^x as a new tumor-associated antigen. *Cancer Res.*, 1984; 44: 5279–5285
- [24] Fuster M.M., Esko J.D.: The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. *Nature*, 2005; 5: 526–542
- [25] Futamura N., Nakamura S., Tatematsu M., Yamamura Y., Kannagi R., Hirose H.: Clinicopathologic significance of sialyl Lex expression in advanced gastric carcinoma. *Br. J. Cancer*, 2000; 83: 1681–1687
- [26] Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W.: *Immunologia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2008
- [27] Goupille C., Hallouin F., Meflah K., Le Pendu J.: Increase of rat colon carcinoma cells tumorigenicity by $\alpha(1-2)$ fucosyltransferase gene transfection. *Glycobiology*, 1997; 7: 221–229
- [28] Goupille C., Marionneau S., Bureau V., Hallouin F., Meichenin M., Rocher J., Le Pendu J.: $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase increases resistance to apoptosis of rat colon carcinoma cells. *Glycobiology*, 2000; 10: 375–382
- [29] Güntherth A.R., Sträter J., von Reyher U., Henne C., Joos S., Koretz K., Moldenhauer G., Krammer P.H., Möller P.: Early detachment of colon carcinoma cells during CD95(APO-1/Fas)-mediated apoptosis I. De-adhesion from hyaluronate by shedding of CD44. *J. Cell Biol.*, 1996; 134: 1089–1096
- [30] Handa K., Takatani-Nakase T., Larue L., Stemmler M.P., Kemler R., Hakomori S.I.: Le(x) glycan mediates homotypic adhesion of embryonal cells independently from E-cadherin: a preliminary note. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007; 358: 247–252
- [31] Hansson G.C., Karlsson K.A., Larson G., McKibbin J.M., Błaszczyk M., Herlyn M., Stepleski Z., Koprowski H.: Mouse monoclonal antibodies against human cancer cell lines with specificities for blood group and related antigens. *J. Biol. Chem.*, 1983; 258: 4091–4097
- [32] Hellström I., Garrigues H.J., Garrigues U., Hellström K.E.: Highly tumor-reactive, internalizing, mouse monoclonal antibodies to Ley-related cell surface antigens. *Cancer Res.*, 1990; 50: 2183–2190
- [33] Inaba Y., Ohyama C., Kato T., Satoh M., Saito H., Hagiwara S., Takahashi T., Endoh M., Fukuda M.N., Arai Y., Fukuda M.: Gene transfer of alpha 1,3-fucosyltransferase increases tumor growth of the PC-3 human prostate cancer cell line through enhanced adhesion to prostatic stromal cells. *Int. J. Cancer*, 2003; 107: 949–957
- [34] Jørgensen T., Berner A., Kaalhus O., Tveter K.J., Danielsen H.E., Bryne M.: Up-regulation of the oligosaccharide sialyl Lewis^x: a new prognostic parameter in metastatic prostate cancer. *Cancer Res.*, 1995; 55: 1817–1819
- [35] Kannagi R.: Carbohydrate-mediated cell adhesion involved in hematogenous metastasis of cancer. *Glycoconj. J.*, 1997; 14: 577–584
- [36] Kannagi R.: Molecular mechanism for cancer-associated induction of sialyl Lewis X and sialyl Lewis A expression-The Warburg effect revisited. *Glycoconj. J.*, 2004; 20: 353–364
- [37] Kannagi R., Izawa M., Koike T., Miyazaki K., Kimura N.: Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis. *Cancer Sci.*, 2004; 95: 377–384
- [38] Kansas G.S.: Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood*, 1996; 88: 3259–3287
- [39] Kasprzyk M., Dyszkiewicz W., Piwkowski C., Gąsiorowski L., Kaczmarek E.: Prognostic value of DNA ploidy: 5-year follow-up of patients with resectable squamous cell carcinoma (SCC) of the lung. *Lung cancer*, 2006; 51: 201–206
- [40] Kawai T., Suzuki M., Kase K., Ozeki Y.: Expression of carbohydrate antigens in human pulmonary adenocarcinoma. *Cancer*, 1993; 72: 1581–1587
- [41] Kelly M.P., Lee F.T., Smyth F.E., Brechbiel M.W., Scott A.M.: Enhanced efficacy of 90Y-radiolabeled anti-Lewis Y humanized monoclonal antibody hu3S193 and Paclitaxel combined-modality radioimmunotherapy in breast cancer model. *J. Nucl. Med.*, 2006; 47: 716–725
- [42] Kim M.J., Kim H.S., Song K.S., Noh S.H., Kim H., Paik Y.K., Kim H.O.: Altered expression of Lewis antigen on tissue and erythrocytes in gastric cancer patients. *Yonsei Med. J.*, 2002; 43: 427–434
- [43] Kishimoto T., Ishikura H., Kimura C., Takahashi T., Kato H., Yoshiki T.: Phenotypes correlating to metastatic properties of pancreas adenocarcinoma *in vivo*: the importance of surface sialyl Lewis(a) antigen. *Int. J. Cancer*, 1996; 69: 290–294
- [44] Klinger M., Farhan H., Just H., Drobný H., Himmler G., Loibner H., Mudde G. C., Freissmuth M., Sexl V.: Antibodies directed against Lewis-Y antigen inhibit signaling of Lewis-Y modified ErbB receptors. *Cancer Res.*, 2004; 64: 1087–1093
- [45] Kłopocki A.G., Laskowska A., Antoniewicz-Papis J., Duk M., Lisowska E., Ugoriski M.: Role of sialosyl Lewis^x in adhesion of colon cancer cells. The antisense RNA approach. *Eur. J. Biochem.*, 1998; 253: 309–318
- [46] Kobata A., Amano J.: Altered glycosylation of proteins produced by malignant cells, and application for the diagnosis and immunotherapy of tumours. *Immunol. Cell Biol.*, 2005; 83: 429–439
- [47] Koda Y., Soejima M., Kimura H.: Structure and expression of H-type GDP-L-fucose:beta-D-galactoside 2-alpha-L-fucosyltransferase gene (FUT1). Two transcription start sites and alternative splicing generate several forms of FUT1 mRNA. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 7501–7505
- [48] Koda Y., Soejima M., Wang B., Kimura H.: Structure and expression of the gene encoding secretor-type galactoside 2-alpha-L-fucosyltransferase (FUT2). *Eur. J. Biochem.*, 1997; 246: 750–755
- [49] Koga H., Naito S., Nakashima M., Hasegawa S., Watanabe T., Kumazawa J.: A flow cytometric analysis of the expression of adhesion molecules on human renal cell carcinoma cells with different metastatic potentials. *Eur. Urol.*, 1997; 31: 86–91
- [50] Koike T., Kimura N., Miyazaki K., Yabuta T., Kumamoto K., Takenoshita S., Chen J., Kobayashi M., Hosokawa M., Taniguchi A., Kojima T., Ishida N., Kawakita M., Yamamoto H., Takematsu H., Suzuki A., Kozutsumi Y., Kannagi R.: Hypoxia induces adhesion molecules on cancer cells: A missing link between Warburg effect and induction of selectin-ligand carbohydrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 8132–8137
- [51] Konety B.R.: Molecular markers in bladder cancer: a critical appraisal. *Urol. Oncol.*, 2006; 24: 326–337
- [52] Kurebayashi J., Nomura T., Hirono M., Okubo S., Udagawa K., Shiiki S., Ikeda M., Nakashima K., Tanaka K., Sonoo H.: Combined measurement of serum sialyl Lewis X with serum CA15-3 in breast cancer patients. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 2006; 36: 150–153
- [53] Labarrière N., Piau J.P., Otry C., Denis M., Lustenberger P., Meflah K., Le Pendu J.: H blood group antigen carried by CD44V modulates tumorigenicity of rat colon carcinoma cells. *Cancer Res.*, 1994; 54: 6275–6281
- [54] Madjz Z., Parsons T., Watson N.F., Spendlove I., Ellis I., Durrant L.G.: High expression of Lewisy/b antigens is associated with decreased survival in lymph node negative breast carcinoma. *Breast Cancer Res.*, 2005; 7: R780–R787
- [55] Magnani J.L.: The discovery, biology, and drug development of sialyl Lea and sialyl Lex. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2004; 426: 122–131
- [56] Mariano A., Di Carlo A., Santonastaso C., Oliva A., D'Armiento M., Macchia V.: Expression of Lewis carbohydrate antigens and chromogranin A in human prostatic cancer. *Int. J. Oncol.*, 2000; 17: 167–171
- [57] Martín-Statué M., Marrugat R., Cancelas J.A., Blanco J.: Enhanced expression of $\alpha(1,3)$ -fucosyltransferase genes correlates with E-selectin-mediated adhesion and metastatic potential of human lung adenocarcinoma cells. *Cancer Res.*, 1998; 58: 1544–1550
- [58] Mas E., Pasqualini E., Caillol N., El Battari A., Crotte C., Lombardo D., Sadoulet M.O.: Fucosyltransferase activities in human pancreatic tissue: comparative study between cancer tissues and established tumoral cell lines. *Glycobiology*, 1998; 8: 605–613
- [59] Matsui T., Kojima H., Suzuki H., Hamajima H., Nakazato H., Ito K., Nakao A., Sakamoto J.: Sialyl Lewis^x expression as a predictor of the prognosis of colon carcinoma patients in a prospective randomized clinical trial. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 2004; 34: 588–593
- [60] Mehdi S.A., Tatum A.H., Newman N.B., Imperato A., Daucher J., Kohman L.J., Graziano S.L.: Prognostic significance of Lewis y antigen in resected stage I and II non-small cell lung cancer. *Chest*, 1998; 114: 1309–1315
- [61] Miyake M., Taki T., Hitomi S., Hakomori S.: Correlation of expression of H/Le(y)/Le(b) antigens with survival in patients with carcinoma of the lung. *N. Eng. J. Med.*, 1992; 327: 14–18
- [62] Mizuguchi S., Inoue K., Iwata T., Nishida T., Izumi N., Tsukioka T., Nishiyama N., Uenishi T., Suehiro S.: High serum concentrations of sialyl Lewis^x predict multilevel N2 disease in non-small-cell lung cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 2006; 13: 1010–1018
- [63] Narita T., Funahashi H., Satoh Y., Watanabe T., Sakamoto J., Takagi H.: Association of expression of blood group-related carbohydrate antigens with prognosis in breast cancer. *Cancer*, 1993; 71: 3044–3053
- [64] Nishihara S., Hiraga T., Ikehara Y., Kudo T., Iwasaki H., Morozumi K., Akamatsu S., Tachikawa T., Narimatsu H.: Molecular mechanisms of expression of Lewis b antigen and other Type I Lewis antigens in human colorectal cancer. *Glycobiology*, 1999; 6: 607–616

- [65] Numahata K., Satoh M., Handa K., Saito S., Ohyama C., Ito A., Takahashi T., Hoshi S., Orikasa S., Hakomori S.: Sialosyl-Lex expression defines invasive and metastatic properties of bladder carcinoma. *Cancer*, 2002; 94: 673–685
- [66] Ogawa J., Inoue H., Koide S.: Expression of α -1,3-fucosyltransferase type IV and VII genes is related to poor prognosis in lung cancer. *Cancer Res.*, 1996; 56: 325–329
- [67] Ogawa J., Sano A., Inoue H., Koide S.: Expression of Lewis-related antigen and prognosis in stage I non-small cell lung cancer. *Ann. Thorac. Surg.*, 1995; 59: 412–415
- [68] Ohyama C., Tsuboi S., Fukuda M.: Dual roles of sialyl Lewis X oligosaccharides in tumor metastasis and rejection by natural killer cells. *EMBO J.*, 1999; 18: 1516–1525
- [69] Okada Y., Jin-no K., Ikeda H., Sakai N., Sotozono M., Yonei T., Nakanishi S., Moriwaki S., Tsuji T.: Changes in the expression of sialyl-Lewis^x, a hepatic necroinflammation-associated carbohydrate neoantigen, in human hepatocellular carcinomas. *Cancer*, 1994; 73: 1811–1816
- [70] Olding L.B., Thurin J., Svalander C., Koprowski H.: Expression of gastrointestinal carcinoma-associated antigen (GICA) detected in human fetal tissues by monoclonal antibody NS-19-9. *Int. J. Cancer*, 1984; 34: 187–192
- [71] Orczyk-Pawliłowicz M.: Znaczenie fukozytacji glikokoniugatów w zdrowiu i chorobie. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 240–252
- [72] Ordóñez N.G.: The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between mesothelioma and renal cell carcinoma: a comparative study. *Hum. Pathol.*, 2004; 35: 697–710
- [73] Peracaula R., Tabarés G., López-Ferrer A., Brossmer R., de Bolós C., de Llorens R.: Role of sialyltransferases involved in the biosynthesis of Lewis antigens in human pancreatic tumour cells. *Glycoconj. J.*, 2005; 22: 135–144
- [74] Petretti T., Kemner W., Schulze B., Schlag M.: Altered mRNA expression of glycosyltransferases in human colorectal carcinomas and liver metastases. *Gut*, 2000; 46: 359–366
- [75] Powlesland A.S., Hitchen P.G., Parry S., Graham S.A., Barrio M.M., Elola M.T., Mordoh J., Dell A., Drickamer K., Taylor M.E.: Targeted glycoproteomic identification of cancer cell glycosylation. *Glycobiology*, 2009; 19: 899–909
- [76] Serpa J., Mesquita P., Mendes N., Oliveira C., Almeida R., Santos-Silva F., Reis C.A., Le Pendu J., David L.: Expression of Lea in gastric cancer cell lines depends on FUT3 expression regulated by promoter methylation. *Cancer Lett.*, 2006; 242: 191–197
- [77] Sheinfeld J., Reuter V.E., Sarkis A.S., Cordon-Cardo C.: Blood group antigens in normal and neoplastic urothelium. *J. Cell. Biochem. Suppl.*, 1992; 161: 50–55
- [78] Shitara K., Hanai N., Yoshida H.: Distribution of lung adenocarcinoma-associated antigens in human tissues and sera defined by monoclonal antibodies KM-52 and KM-93. *Cancer Res.*, 1987; 47: 1267–1272
- [79] Smolarek D., Krop-Wątołek A., Waśniowska K., Czerwiński M.: Molekularne podstawy układu grupowego ABO. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 4–17
- [80] Soejima M., Koda Y.: Molecular mechanisms of Lewis antigen expression. *Legal Medicine*, 2005; 7: 266–269
- [81] St Hill C.A., Farooqui M., Mitcheltree G., Gulbahce H.E., Jessurun J., Cao Q., Walcheck B.: The high affinity selectin glycan ligand C2-O-sLex and mRNA transcripts of the core 2 β 1,6-N-acetylglucosaminyltransferase (C2GnT1) gene are highly expressed in human colorectal adenocarcinomas. *BMC Cancer*. 2009; 9: 79
- [82] Tei K., Kawakami-Kimura N., Taguchi O., Kumamoto K., Higashiyama S., Taniguchi N., Toda K., Kawata R., Hisa Y., Kannagi R.: Roles of cell adhesion molecules in tumor angiogenesis induced by cotransplantation of cancer and endothelial cells to nude rats. *Cancer Res.*, 2002; 62: 6289–6296
- [83] Tornado J., Plummer M., Vivas J., Garay J., Lopez G., Peraza S., Carillo E., Oliver W., Muñoz N.: Lewis antigen alterations in a population at high risk of stomach cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2000; 9: 671–674
- [84] Tozawa K., Okamoto T., Kawai N., Hashimoto Y., Hayashi Y., Kohri K.: Positive correlation between sialyl Lewis X expression and pathologic findings in renal cell carcinoma. *Kidney Int.*, 2005; 67: 1391–1396
- [85] Ugorski M., Kłopotki A.G.: Udział antygenów sjalo-Lea i sjaloLex w adhezji i progresywnym wzroście nowotworowym. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1996; 50: 209–231
- [86] Ugorski M., Laskowska A.: Sialyl Lewisa: a tumor-associated carbohydrate antigen involved in adhesion and metastatic potential of cancer cells. *Acta Biochim. Pol.*, 2002; 49: 303–311
- [87] Walz G., Aruffo A., Kolanus W., Bevilacqua M., Seed B.: Recognition by ELAM-1 of the sialyl-Lex determinant on myeloid and tumor cells. *Science*, 1990; 250: 1132–1135
- [88] Yago K., Zenita K., Ginya H., Sawada M., Ohmori K., Okuma M., Kannagi R., Lowe J. B.: Expression of α -(1,3)-fucosyltransferases which synthesize sialyl Lex and sialyl Lea, the carbohydrate ligands for E- and P-selectins, in human malignant cell lines. *Cancer Res.*, 1993; 53: 5559–5565
- [89] Yazawa S., Nishimura T., Ide M., Asao T., Okamura A., Tanaka S., Takai I., Yagihashi Y., Saniabadi A.R., Kochibe N.: Tumor-related expression of α 1,2fucosylated antigens on colorectal carcinoma cells and its suppression by cell-mediated priming using sugar acceptors for α 1,2fucosyltransferase. *Glycobiology*, 2002; 12: 545–553
- [90] Yu Q., Toole B.P., Stamenkovic I.: Induction of apoptosis of metastatic mammary carcinoma cells *in vivo* by disruption of tumor cell surface CD44 function. *J. Exp. Med.*, 1997; 186: 1985–1996
- [91] Yuan K., Kucic D., Singh R.K., Listinsky C.M., Listinsky J.J., Siegal G.P.: Alterations in human breast cancer adhesion-motility in response to changes in cell surface glycoproteins displaying alpha-L-fucose moieties. *Int. J. Oncol.*, 2008; 32: 797–807
- [92] Zhang Z., Sun P., Liu J., Fu L., Yan J., Liu Y., Yu L., Wang X., Yan Q.: Suppression of FUT1/FUT4 expression by siRNA inhibits tumor growth. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008; 1783: 287–296

Autor deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.