

Запорізька медична академія
післядипломної освіти,
Запоріжжя, Україна

Ключові слова: злоякісні новоутворення, пухлинні клітини, глікопротеїни, вуглеводи, лектини, адгезія, інвазія.

ЗАСТОСУВАННЯ ЛЕКТИНІВ В ОНКОЛОГІЇ

Резюме. Узагальнено літературні дані щодо застосування лектинів в онкології для діагностики та лікування пацієнтів із злоякісними новоутвореннями.

В останній час лектин-вуглеводні взаємодії стали об'єктом інтенсивного дослідження та широкого впровадження в різних областях біологічних і медичних досліджень. Виявлено значну кількість глікопротеїнів, які є біомаркерами багатьох захворювань [18]. Встановлено, що гліколіпіди є важливими компонентами плазмолем; при взаємодії між собою, ліпідами, білками вони формують гетерогенні області з різними біологічними властивостями [25]. Глибокі зміни клітинного глікозилювання є ознакою злоякісної трансформації клітин [9, 11, 15]. Теоретичні дослідження в області глікобіології створили передумови для практичного застосування їх результатів в онкології.

Лектини та діагностика раку. Важливим напрямком використання лектинів в онкології є діагностика злоякісних новоутворень. Зокрема, вивчена діагностична цінність галектину-3 в диференціальній діагностиці доброякісних і злоякісних пухлин щитовидної залози. Загальна чутливість тесту досягає 78%, специфічність — 93% [2].

З'явилися повідомлення про можливість оцінки за допомогою лектинів біомаркерів пухлинних клітин (ПК) і стромі, до складу яких входять вуглеводні детермінанти [33].

Відомо, що основним маркером раку передміхурової залози є простатспецифічний антиген (PSA). Тест оцінки сироваткового PSA важливий для ранньої діагностики та скринінгу цього захворювання. Однак кількісне визначення PSA не показує чіткої відмінності між хворими з доброякісною гіпертрофією передміхурової залози та осіб з раком. Оцінка вуглеводного компонента PSA дозволяє підвищити ефективність (специфічність) діагностики раку передміхурової залози. Встановлено, що до складу PSA входить глікопротеїн, що містить близько 8% N-гліканів. У хворих на рак передміхурової залози вміст N-гліканів в PSA вище порівняно з тканиною гіпертрофічної передміхурової залози. Аналіз структурних вуглеводів PSA рідини з передміхурової залози показав наявність сілової кислоти з 2—3 і 2—6 зв'язками галактози. Було вивчено кілька різних лектинів з метою вдосконалення системи аналізу для диференційної діагностики раку і доброякісних пухлин зазначеної локалізації [4].

Окремі дослідження вказують на можливість використання лектинів для оцінки біологічних

особливостей (ступеня злоякісності) ПК. Зокрема, продемонстровано зв'язок між злоякісною трансформацією клітин і рівнем галектину-1 й -7. Галектин-1-позитивні клітини значно частіше виявляли в карциномах гортаноглотки і гортані порівняно з нормальним епітелієм цих відділів дихальної системи і осередками його дисплазії. Галектин-7 був більш експресований при дисплазії порівняно з нормою і карциномами. Пухлинна прогресія від вираженої дисплазії до раку прямо корелювала із переміщенням галектину-1 від ядра до цитоплазми. Підвищена експресія галектину-7 при слабкій і вираженій дисплазії супроводжувалася його транслокацією (порівняно з відділами нормального епітелію) з цитоплазми до ядра [28, 29].

Лектини дозволяють також прогнозувати здатність ПК до метастазування. Досліджена роль β -1,6-розгалужених олігосахаридів, які пов'язують з міграцією ПК, у метастазуванні раку молочної залози (РМЗ). При фарбуванні лектином — селективним маркером β -1,6-розгалужених олігосахаридів — метастази забарвлювалися більш інтенсивно, ніж первинна пухлина. Збільшення вмісту цих вуглеводів у пухлині пов'язують з несприятливим прогнозом і метастазами в регіональні лімфовузли [10].

Перспективним напрямком використання лектинів в онкології є можливість прогнозування перебігу захворювання. Встановлено, що з несприятливим прогнозом пов'язано визначення рецепторів до лектину НРА (аглютиніну виноградної равлика): у хворих на РМЗ експресія цих рецепторів корелювала з агресивним перебігом раку, зниженням рівня загальної та безрецидивної виживаності [6]. На несприятливий прогноз у хворих на РМЗ вказує також зниження вмісту β -N-ацетилгалактозаміну в глікопротеїні мембран ПК [15]. У хворих на рак товстої кишки, рак гортані і гортаноглотки встановлено зв'язок між несприятливим прогнозом і експресією галектину-1. Відзначено також, що із несприятливим прогнозом пов'язано виявлення галектину-1 у стромі пухлини [21].

Існують повідомлення про застосування лектинів для прогнозування чутливості пухлини до методів лікування. Доведено, зокрема, що прогностичне значення має імуногістохімічне визначення рецепторів до галектину-7, важливе для виділення групи хворих зі злоякісними пухлинами верхніх відділів

дихальної системи, яким показано агресивне лікування з призначенням після операції хіміотерапії та променевої терапії [28].

Терапевтичні аспекти застосування лектинів і блокторів їх рецепторів. В останні роки відзначається тенденція до використання даних стосовно лектин-вуглеводних взаємодій при розробці нових методів лікування хворих зі злоякісними новоутвореннями. Так, була виявлена зворотна кореляційна залежність між вмістом галектину-9 і розвитком метастазів у пацієнтів з меланою і РМЗ. Це спонукало до детального вивчення в ході експерименту здатності галектину-9 гальмувати метастазування. При внутрішньовенному введенні галектину-9 відзначено зменшення кількості метастазів модельних пухлин в легені. Встановлено, що галектин-9 знижує утворення гіалуронової кислоти, молекул клітинної адгезії, що перешкоджає адгезії ПК до ендотелію судин і позаклітинного матриксу і є важливим механізмом здатності галектину-9 гальмувати метастазування [1].

З галектином-1 зв'язують інвазію і утворення метастазів. Збільшення інвазії пов'язане з дерегулюючим впливом галектину-1 на експресію матричних металопротейназ та з реорганізацією цитоскелету ПК (зокрема, виявлено зміну вмісту актину в клітинах карциноми легені). Тому галектин-1 є не тільки маркером прогнозу, а й може мати терапевтичне значення [21].

Показано, що використання лектину Е-РНА підвищує чутливість ПК до вінбластину; такий ефект безпосередньо пов'язаний з активністю Р-глікопротеїну [24].

Водночас, незважаючи на отримані позитивні результати використання окремих лектинів з терапевтичною метою, існує й інша думка. Вивчено ефективність застосування лектину омели у хворих на рак сечового міхура. Пацієнти дослідної групи отримали лектин омели (підшкірно) потягом 2 тиж після трансуретральної резекції. Було показано, що підшкірне застосування лектину омели у якості допоміжного лікування після трансуретральної резекції не впливає на час першого рецидиву і їх загальну кількість [8].

Перспективний напрямок використання досягнень глікобіології в онкології пов'язаний зі здатністю природних або синтезованих вуглеводів конкурентно блокувати рецептори до лектинів [22]. Так, виявлено, що блокування специфічних до галектину-3 вуглеводів синтетичними пептидами суттєво зменшує метастазування. Синтетичні вуглеводи блокували взаємодії галектину-3 та антигену Томсона — Феєрбаха (ТФАг), в наслідок чого істотно гальмувалася гетеротипічна адгезія клітин у хворих на РМЗ до ендотеліальних клітин в умовах кровотоку, а також гомотипічна агрегація ПК [14]. В якості інгібіторів галектину-1 і -3 були використані структурні аналоги дисахариду метил- β -лактозаміну, а також деякі інші олігосахариди. Галектин-інгібітори можуть представляти нові терапевтичні агенти, що вплива-

ють на виникнення новоутворень, знижують здатність ПК метастазувати за рахунок впливу на гомотипічну агрегацію клітин та процеси апоптозу [12].

Системна терапія дисахаридами β -О-ацетилюваного GlcNAc β 1, 3Gal β -O-naphthalenemethanol (AcGnG-NM) істотно гальмувала спонтанне поширення клітин раку легені. Для профілактики гематогенного поширення ПК, покритих Р-селектином, запропонована цільова глікозид-терапія [1].

Модуляція клітинних молекул адгезії грає ключову роль в метастазуванні меланою: метастатичний фенотип пов'язаний з молекулою клітинної адгезії L1 [31]. Олігосахариди N-ацетиллактозамін і α -галактоза знижують метастатичний потенціал клітин меланою [9].

Вуглевод α -GalNAc був синтезований і випробуваний в клітинних лініях раку товстої кишки людини; його використання призвело до змін у глікозилюванні, проліферації і рівні апоптозу клітин [23]. Отримано гангліозид GM3, який є модулятором проліферації ПК і може бути використаний в терапії хворих зі злоякісними пухлинами товстої кишки [11].

Щорічно з'являються публікації про застосування лектинів в онкології з метою модуляції імунної відповіді. У зв'язку з цим слід підкреслити значення галектинів. Було відзначено, що галектин-2 може застосовуватися для лікування запальних процесів опосередкованих активованими CD8⁺ Т-лімфоцитами [19]. Відомо, що імунна відповідь пов'язана з присутністю (1,3)-галактози (Gal) в клітинах. Це пояснює модуляцію активності вакцин лектинами у хворих на меланому, клітини якої містять галактозу [26]. Вакцини для лікування пацієнтів з меланою, як правило, покращують за допомогою галектинів. Запропоновано концепцію створення протипухлинних вакцин, яка ґрунтується на врахуванні особливостей глікозилювання клітин меланою. При використанні таких вакцин застосовуються вже існуючі антитіла до пухлинних антигенів; активація комплекменту призводить до накопичення і дозрівання клітин, що мають антигени, до складу яких входить галактоза; посилюється фагоцитоз, опосередкований Fc-рецептором [26].

Існує ціла низка інших оригінальних розробок вказаного напрямку. Запропоновано сенсibiliзацію Т-клітин дренажних лімфатичних вузлів за допомогою L-селектину [5]. Для створення протипухлинних вакцин використовуються лектини, *Griffonia simplicifolia* і аглютинін зародків пшениці, які є посередниками апоптозу ПК [3]. Для імунотерапії хворих на аденокарциному молочної залози застосовують інтерлейкін-2, ефект якого оптимізується введенням лектину омели [34]. Блокування галектином-9 рецепторів лімфоцитів підвищує клінічну ефективність імунотерапії у хворих на рак носоглотки [16]. Виділено лектиноподібний рецептор CLEC-1 С-типу, який являє собою новий терапевтичний засіб для модуляції імунної відповіді при трансплантації, аутоімунних захворюваннях або раку [32].

Глікозилювання може бути використане при розробці рекомбінантних протипухлинних препаратів. Отримано антитіло MFESP1, яке специфічно зв'язує рецептори, що містять манозу (MR) [17]. І фазу клінічних випробовувань у пацієнтів із солідними пухлинами проходить авісцимін (рекомбінантний препарат природного лектину омели) [30].

Гіперекспресія рецепторів до лектинів в злоякісних клітинах може бути використана для доставки до пухлини завантажених ліпосом за допомогою вуглеводних лігандів (векторів). Ліпосома несе якір глікокон'югатів на полімерній матриці, що дозволяє зв'язуватися зі злоякісними клітинами людини більш ефективно. Будучи завантаженими мелфаланом, ці ліпосоми проявляють високу цитотоксичну активність [35].

Наявність лектинів і вуглеводів у харчових продуктах сприяла розробці дієтичних заходів з метою профілактики та лікування хворих на рак. Було вивчено вплив лектинів, що містилися в продуктах харчування, на диференціацію, адгезію і проліферацію клітин колоректального раку. Доведено, що ці лектини можуть сповільнювати прогресування раку товстої кишки [13]. Також встановлено, що рецептори до лектинів арахісу можуть виступати в якості промоторів пухлини. Збільшення їх кількості при взаємодії з відповідними лектинами їжі стимулює клітинну проліферацію, застосування галактози, що конкурентно зв'язується з рецепторами лектинів, перешкоджає цьому ефекту [27]. Тому галактоза, яку містять рослинні волокна фруктів та овочів, може запобігати розвитку раку [7, 20].

Таким чином, глікобіологія в останній час стає новою перспективною галуззю в онкології. Результати сучасних досліджень істотно збільшили підґрунтя для застосування відомостей про лектин-вуглеводні взаємодії в діагностиці і лікуванні хворих зі злоякісними пухлинами.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Atsuya Nobumoto, Keiko Nagahara, Souichi Oomizu, et al.** Galectin-9 suppresses tumor metastasis by blocking adhesion to endothelium and extracellular matrices. *Glycobiology* 2008; **18** (9): 735–44.
2. **Bartolazzi A, Orlandi F, Saggiato E, Volante M.** Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study. *Lancet Oncol* 2008; **9**: 543–9.
3. **Behjatolah Monzavi-Karbassi, Cecile Artaud, Fariba Jousheghany, et al.** Reduction of Spontaneous Metastases through Induction of Carbohydrate Cross-Reactive Apoptotic Antibodies. *J Immunol* 2005; **174**: 7057–65.
4. **Chikara Ohyama, Masahiro Hosono, Kazuo Nitta, et al.** Carbohydrate structure and differential binding of prostate specific antigen to *Maackia amurensis* lectin between prostate cancer and benign prostate hypertrophy. *Glycobiology* 2004; **14** (8): 671–9.
5. **Chin CS, Miller CHT, Graham L, et al.** Bryostatin 1/ionomycin (B/I) ex vivo stimulation preferentially activates L-selectinlow tumor-sensitized lymphocytes. *Int Immunol* 2004; **16** (9): 1283–94.
6. **Dwek MV, Ross HA, Streets AJ, et al.** Helix pomatia agglutinin lectin-binding oligosaccharides of aggressive breast cancer. *Int J Cancer* 2001; **95** (2): 79–85.

7. **Evans RC, Fear S, Ashby D, et al.** Diet and colorectal cancer: an investigation of the lectin/galactose hypothesis. *Gastroenterology* 2002; **122** (7): 1784–92.

8. **Goebell PJ, Otto T, Suhr J, Rubben H.** Evaluation of an unconventional treatment modality with mistletoe lectin to prevent recurrence of superficial bladder cancer: a randomized phase II trial. *J Urol* 2002; **168** (1): 72–5.

9. **Gorelik E, Xu F, Henion T, et al.** Reduction of metastatic properties of B16 melanoma cells expressing terminal fucose(alpha)1-2-galactose after alpha1,2-fucosyltransferase cDNA transfection. *Cancer Res* 1997; **57** (2): 332–6.

10. **Handerson T, Camp R, Harigopal M, et al.** Beta1,6-branched oligosaccharides are increased in lymph node metastases and predict poor outcome in breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; **11** (8): 2969–73.

11. **Hee-Jung Choi, Tae-Wook Chung, Sung-Koo Kang, et al.** Ganglioside GM3 modulates tumor suppressor PTEN-mediated cell cycle progression—transcriptional induction of p21WAF1 and p27kip1 by inhibition of PI-3K/AKT pathway. *Glycobiology* 2006; **16** (7): 573–83.

12. **Iurisci I, Cumashi A, Sherman AA.** Synthetic Inhibitors of Galectin-1 and -3 Selectively Modulate Homotypic Cell Aggregation and Tumor Cell Apoptosis. *Anticancer Res* 2009; **29** (1):1403–10.

13. **Jordinson M, El-Hariry I, Calnan D, et al.** Vicia faba agglutinin, the lectin present in broad beans, stimulates differentiation of undifferentiated colon cancer cells. *Gut* 1999; **44** (5): 709–14.

14. **Jun Zou, Glinsky VV, Landon LA, et al.** Peptides specific to the galectin-3 carbohydrate recognition domain inhibit metastasis-associated cancer cell adhesion. *Carcinogenesis* 2005; **26** (2): 309–18.

15. **Kitamura N, Guo S, Sato T, et al.** Prognostic significance of reduced expression of beta-N-acetylgalactosaminylated N-linked oligosaccharides in human breast cancer. *Int J Cancer* 2003; **105** (4): 533–41.

16. **Klibi J, Niki T, Riedel A, et al.** Blood diffusion and Th1-suppressive effects of galectin-9—containing exosomes released by Epstein-Barr virus—infected nasopharyngeal carcinoma cells. *Blood* 2009; **113** (9): 1957–66.

17. **Kogelberg H, Tolner B, Sharma SK, et al.** Clearance mechanism of a mannosylated antibody — enzyme fusion protein used in experimental cancer therapy. *Glycobiology* 2007; **17** (1): 36–45.

18. **Kuno A.** Focused Differential Glycan Analysis with the Platform Antibody-assisted Lectin Profiling for Glycan-related Biomarker Verification. *Mol Cell Proteomics* 2009; **8**: 99–108.

19. **Loser K, Sturm A, Voskor M.** Galectin-2 Suppresses Contact Allergy by Inducing Apoptosis in Activated CD8⁺ T Cells. *J Immunol* 2009; **182**: 5419–29.

20. **Marini F, Studeny M, Andreeff M.** Mesenchymal Stem Cells: Potential Precursors for Tumor Stroma and Targeted-Delivery Vehicles for Anticancer Agents. *J Nat Cancer Inst* 2005; **97** (7): 541–2.

21. **Ming-Heng Wu, Tse-Ming Hong, Hui-Wen Cheng, et al.** Galectin-1-Mediated Tumor Invasion and Metastasis, Up-Regulated Matrix Metalloproteinase Expression, and Reorganized Actin Cytoskeletons. *Mol Cancer Res* 2009; **7** (3): 311–8.

22. **Moiseeva EV, Rapoport EM, Bovin NV, et al.** Galectins as markers of aggressiveness of mouse mammary carcinoma: towards a lectin target therapy of human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2005; **91** (3): 227–41.

23. **Patsos G, Hebbe-Viton V, Robbe-Masselot C, et al.** O-Glycan inhibitors generate aryl-glycans, induce apoptosis and lead to growth inhibition in colorectal cancer cell lines. *Glycobiology* 2009; **19** (4): 382–98.

24. **Rebbaa A, Chou PM, Vucic I, et al.** Expression of bisecting GlcNAc in pediatric brain tumors and its association with tumor cell response to vinblastine. *Clin Cancer Res* 1999; **5** (11): 3661–8.

25. **Rinaldi S, Brennan KM, Goodyear CS, O'Leary C.** Analysis of lectin binding to glycolipid complexes using combinatorial glycoarrays. *Glycobiology* 2009; **19** (7): 789–96.

26. Rossi GR, Mautino MR, Unfer RC, *et al.* Effective Treatment of Preexisting Melanoma with Whole Cell Vaccines Expressing $\alpha(1,3)$ -Galactosyl Epitopes. *Cancer Res* 2005; **65**: 10555–61.

27. Ryder SD, Smith JA, Rhodes JM. Peanut Lectin: A Mitogen for Normal Human Colonic Epithelium and Human HT29 Colorectal Cancer Cells. *J Natl Cancer Inst* 1992; **84**: 1410–6.

28. Saussez S, Cucu D-R, Decaestecker Ch, *et al.* Galectin 7 (p53-Induced Gene 1): A New Prognostic Predictor of Recurrence and Survival in Stage IV Hypopharyngeal Cancer. *Ann Surg Oncol* 2006; **13**: 999–1009.

29. Saussez S, Decaestecker C, Lorfèvre F, *et al.* Increased expression and altered intracellular distribution of adhesion/growth-regulatory lectins galectins-1 and -7 during tumour progression in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. *Histopathology* 2008; **52** (4): 483–93.

30. Schöffski P, Breidenbach I, Krauter J, *et al.* Weekly 24 h infusion of aviscumine (rViscumin): A phase I study in patients with solid tumours. *Eur J Cancer* 2005; **41** (10): 1431–8.

31. Thies A, Schachner M, Moll I, *et al.* Overexpression of the cell adhesion molecule L1 is associated with metastasis in cutaneous malignant melanoma. *Eur J Cancer* 2002; **38** (13): 1708–16.

32. Thebault P, Lhermite N, Tilly G, *et al.* The C-Type Lectin-Like Receptor CLEC-1, Expressed by Myeloid Cells and Endothelial Cells, Is Up-Regulated by Immunoregulatory Mediators and Moderates T Cell Activation. *J Immunol* 2009; **183**: 3099–108.

33. Tingting Yue, Irwin J Goldstein, Michael A. Hollingsworth The Prevalence and Nature of Glycan Alterations on Specific Proteins

in Pancreatic Cancer Patients Revealed Using Antibody-Lectin Sandwich Arrays. *Mol Cell Proteomics* 2009; **8** (7): 1697–707.

34. Timoshenko AV, Lan Y, Gabius HJ, Lala PK. Immunotherapy of C3H/HeJ mammary adenocarcinoma with interleukin-2, mistletoe lectin or their combination. effects on tumour growth, capillary leakage and nitric oxide (NO) production. *Eur J Cancer* 2001; **37** (15): 1910–20.

35. Vodovozova EL, Moiseeva EV, Grechko GK, *et al.* Antitumour activity of cytotoxic liposomes equipped with selectin ligand SiaLe(X), in a mouse mammary adenocarcinoma model. *Eur J Cancer* 2000; **36** (7): 942–9.

APPLICATION OF LECTINS IN ONCOLOGY

S.M. Pashchenko

Summary. *The data of literature about application of lectins in oncology for diagnosis and treatment of patients are analyzed.*

Key Words: cancer, tumor cells, glycoproteids, carbohydrates, lectins, adhesion, invasion.

Адреса для листування:

Пашенко С.М.

69096, Запоріжжя, бульв. Вінтера, 20,

Запорізька медична академія післядипломної освіти, кафедра онкології

E-mail: zponco@mail.ru