

Magdalena Bryś, Magdalena Nawrot, Wanda M. Krajewska

STRUKTURA I FUNKCJA RECEPTORA CZYNNIKA WZROSTU NASKÓRKA

Praca zawiera aktualny stan wiedzy na temat struktury i funkcji receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR) i jego udziału w nowotworzeniu. Wykazano, że EGFR zaangażowany jest w proces transformacji nowotworowej licznych komórek i tkanek człowieka. Zmieniony poziom komórkowy tego receptora obserwuje się, między innymi, w raku sutka, prostaty i jelita grubego. Zwykle nadekspresja tego białka wiąże się z niepomyślnym rokowaniem. W niektórych nowotworach stwierdza się także ekspresję zmienionego strukturalnie EGFR, wykazującego delecję w obrębie domeny zewnątrzkomórkowej. Korelacja między ekspresją tego białka, stopniem inwazyjności nowotworu oraz wrażliwością na leki dostarcza przesłanek do stosowania terapii polegającej na regulowaniu aktywności tego receptora.

WSTĘP

Białkowe czynniki wzrostu są jednym z głównych regulatorów procesu proliferacji komórki. Za ich pośrednictwem dokonuje się endokrynną i parakrynną regulacją wzrostu i różnicowania komórek prawidłowych. Zaburzenia tej regulacji prowadzą do pojawienia się komórek patologicznych. Podstawą działania czynników wzrostu na komórki docelowe jest obecność na ich powierzchni receptorów mogących rozpoznać i wiązać określony czynnik [38, 39, 44].

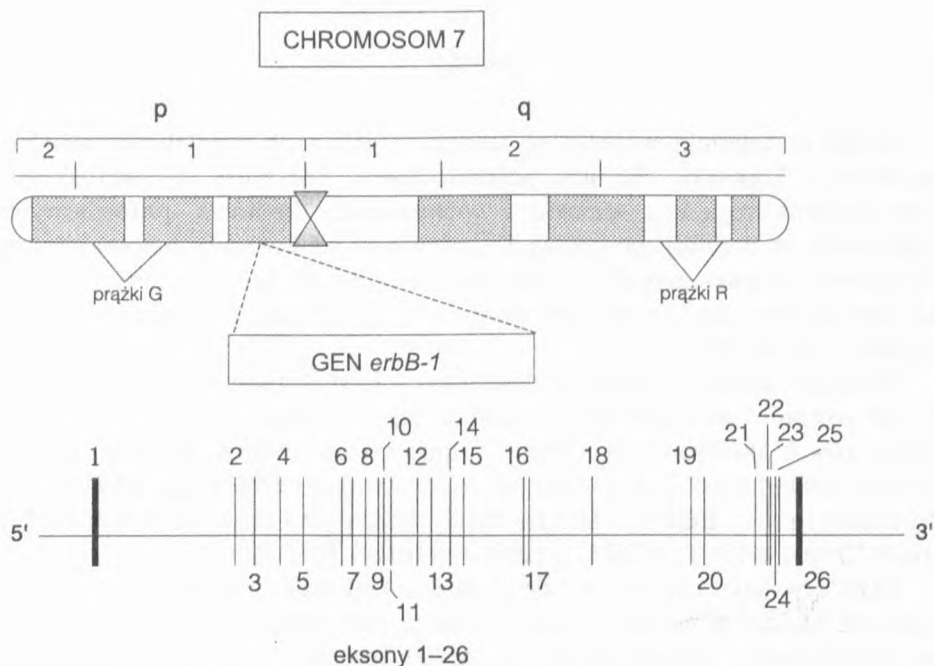
Receptor czynnika wzrostu naskórka – EGFR (ang. *epidermal growth factor receptor*) jest białkowym produktem onkogenu *erbB-1* i należy do receptorów błonowych o aktywności kinazy tyrozynowej RTK (ang. *receptor tyrosine kinase*) klasy I. Reprezentuje on tzw. rodzinę *erbB* (ang. *erbB-family*), do której oprócz EGFR (HER1/*erbB-1*) należą trzy inne receptory: *erbB-2* (HER2/*neu*), *erbB-3* (HER3) i *erbB-4* (HER4) [23, 34, 41, 46].

EGFR wykrywany jest w wielu typach komórek i tkanek, z wyjątkiem komórek biorących udział w krwiotworzeniu. Aktywacja tego białka następuje po przyłączeniu specyficznych dla niego ligandów, co w konsekwencji

prowadzi do stymulacji procesu proliferacji komórek [20, 38, 39]. Obecnie przypuszcza się, że EGFR oraz wiążące się z nim czynniki wzrostu wpływają na proces transformacji nowotworowej [1–3, 15, 17, 21, 35]. Coraz większe znaczenie przypisuje się wykorzystaniu receptora EGF w terapii przeciwnowotworowej.

GEN RECEPTORA CZYNNIKA WZROSTU NASKÓRKA

Gen kodujący EGFR o całkowitej długości ok. 100 kpz zlokalizowany jest na chromosomie 7(7p12–14) i składa się z 26 eksonów (rys.1) [14]. Najlepiej zbadany obszar genu to sekwencja ekson 1/intron 1 o długości 2,8 kpz. Wyznaczenie tej sekwencji pozwoliło na określenie siedmiu potencjalnych miejsc wiążących czynnik transkrypcyjny Sp1. Wykazano, że dla uzyskania przez promotor genu *erbB-1* maksymalnej aktywacji koniecznym jest związanie czynnika Sp1 w pięciu miejscach o następującej lokalizacji: 644–649; 808–813; 1216–1221; 1248–1251; 1286–1291. Określono także położenie innych regionów regulatorowych, w tym bogatych w pary TC. Znajdują się one w pozycjach 731–748; 752–766; 778–793; 797–813 [13].



Rys. 1. Lokalizacja i struktura genu *erbB-1* (wg [14], zmienione)

Haley i Waterfield [14] wykazali, iż poziom transkrypcji eksonu 1 jest, w przybliżeniu, osiem razy wyższy niż eksonów 2–26. Wyniki badań wskazują jednoznacznie na istnienie częściowego bloku transkrypcji między eksonem 1 i 2. Być może blok ten jest punktem, w którym synteza mRNA receptora EGFR jest kontrolowana. W obrębie tego regionu zidentyfikowano dwie sekwencje poli(T) rozpoczynające się w pozycjach 2040 (TTCTCTTTATTTT) i 2490 (TTTTGTTTGTT), związane prawdopodobnie z wyżej wspomnianą przedwczesną terminacją transkrypcji, jak również miejsca wiążące czynniki jądrowe zaangażowane w terminację transkrypcji [22, 27]. Po stronie 5' pierwszej sekwencji poli(T) zlokalizowano ponadto motyw o strukturze „szpilki do włosów”. Sekwencja ta – GTCTCTgccgaAGAGAC – jest homologiczna z sygnałem terminacji dla RNA polimerazy II [22]. Począwszy od pozycji 1266 obserwuje się w tym regionie genu dla EGFR obszar z naprzemiennie występującymi nukleotydami purynowymi i pirymidynowymi, co pozwala wnioskować o obecności struktury Z-DNA [14].

Badania prowadzone przez Ishii i wsp. [19] na komórkach naskórza linii A431 przyczyniły się do stwierdzenia, iż w genie *erbB-1* region promotora obejmujący sekwencję od -540 do -1 oraz nieulegający translacji region 5' genu są bogate w dinukleotydy CpG. Pierwszy z wymienionych obszarów zawiera aż 88% nukleotydów G i C w stosunku do wszystkich nukleotydów tego regionu. W obrębie promotora nie występują sekwencje TATA oraz CAAT. W regionie tym zidentyfikowano natomiast pięć powtórzeń sekwencji CCGCCC (pozycje -453, -293, -216, -144 i -109) oraz cztery powtórzenia sekwencji (TCC)TCCTCCTCC (pozycje -367, -347, -324, -305) odnajdywanych odpowiednio we wczesnym promotorze wirusa SV40 oraz regionie promotorowym genu $\alpha 2(I)$ kolagenu kurcząt i myszy. Potencjalne miejsca w obrębie promotora wiążące czynnik transkrypcyjny Sp1 określono w pozycjach -457-(-440), -365-(-286), -214-(-200) oraz -110-(-84). Ponadto w regionie promotora genu dla EGFR scharakteryzowano osiem miejsc wiążących prawdopodobnie inne czynniki jądrowe. Są to pozycje -457-(-440), -417-(-402), 305-(-286), -214-(-200), -185-(-170), -139-(-126), -110-(-84), -39-(-23) [21]. Stwierdzono także, że obszar promotora genu dla EGFR znajduje się blisko jednego z dwóch miejsc wrażliwych na działanie DNA-azy I. Drugie z tych miejsc zlokalizowane jest w intronie 1 w rejonie odległym o 2 kpz od końca 3' eksonu 1. Wielokrotne występowanie w genie *erbB-1* regionów bogatych w parę CpG oraz miejsc wiążących czynnik transkrypcyjny Sp1 uważa się za charakterystyczne dla genów metabolizmu podstawowego [5].

Maekawa i wsp. [27] oznaczyli dwa miejsca wzmacniające aktywność promotora genu *erbB-1* w komórkach HeLa znajdujące się po stronie 5' i 3' promotora. Pierwszy wzmacniacz transkrypcji zlokalizowany jest w regionie 1172–852 pz powyżej miejsca startu transkrypcji RNA, natomiast drugi o długości 530 pz mieści się w pierwszym intronie ok. 2000 pz poniżej

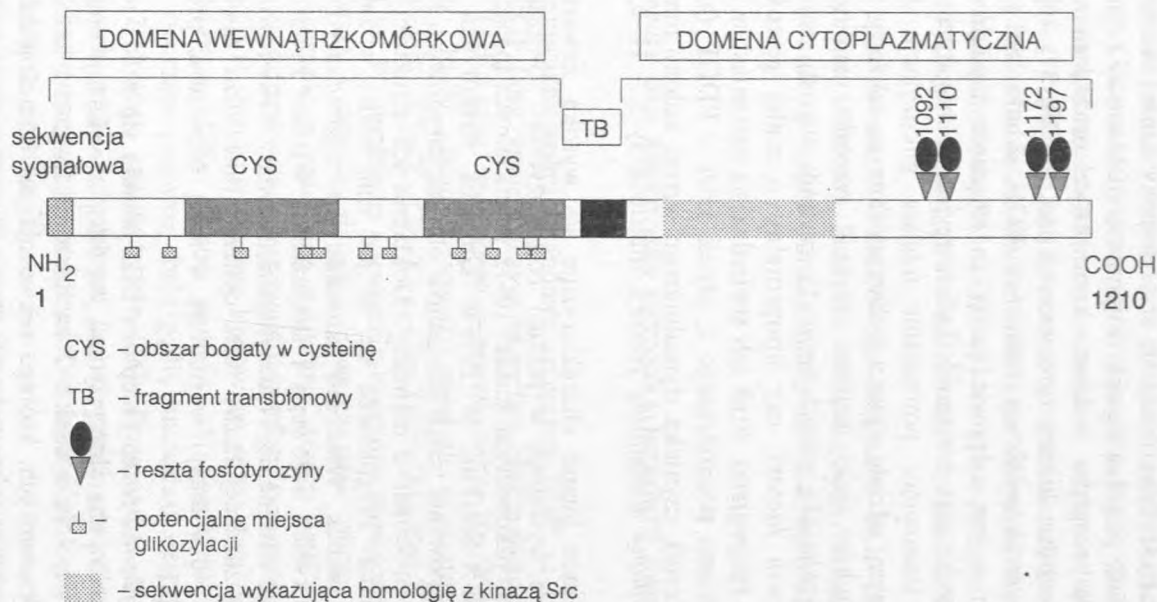
miejsca startu transkrypcji. Wzmacniacz zlokalizowany przed promotorem funkcjonuje tylko w obecności drugiego wzmacniacza zlokalizowanego po stronie 3' promotora. W obrębie obu wzmacniaczy stwierdzono występowanie sekwencji homologicznych z wirusowymi i komórkowymi sekwencjami wzmacniającymi. Region istotny dla aktywności wzmacniacza usytuowanego poniżej promotora posiada 10 miejsc wiążących czynniki jądrowe [27].

Zauważa się podobieństwo promotora genu *erbB-1* do promotora genu reduktazy hydroksymetyloglutarylo-CoA i wczesnego promotora wirusa SV40. Wczesny promotor wirusa SV40 w odległości 80 pz przed miejscem startu transkrypcji RNA ma region bogaty w pary CpG, które są nieodzowne dla tego procesu i zawiera sześć kopii sekwencji CCGCCC. Gen reduktazy hydroksymetyloglutarylo-CoA nie zawiera typowej sekwencji TATA i ma pięć miejsc inicjacji transkrypcji. Region otaczający ten gen od końca 5' jest bogaty w pary CpG (65%) i ma trzy powtórzone sekwencje CCGCCC [19].

W laboratorium Ullricha i wsp. [41] przeprowadzone były badania nad mRNA receptora EGF izolowanym z komórek łożyska człowieka oraz ludzkich komórek naskórza linii A431. Badania wykazały obecność w obu typach komórek dwóch transkryptów o długości 5,8 kpz i 10,5 kpz. Dodatkowo zaobserwowano mRNA o wielkości 2,8 kpz, który ulegał specyficznej stukrotnej nadekspresji w komórkach naskórza linii A431. Podobne wyniki badań pozwoliły Xu i wsp. [45] wysunąć przypuszczenie, iż w komórkach naskórza mRNA o wielkości 5,6 kpz i 11,0 kpz powstaje w wyniku transkrypcji prawidłowego genu receptora EGF, natomiast mRNA o długości 2,9 kpz powstaje w przypadku translokacji genu w obrębie chromosomu 7. Najprawdopodobniej mRNA o długości 2,9 kpz powstaje po rozerwaniu genu, co powoduje zmiany w obrębie miejsca startu, miejsca stop lub we wzorach składania RNA [45].

STRUKTURA RECEPTORA CZYNNIKA WZROSTU NASKÓRKA

Receptor czynnika wzrostu naskórka EGF jest glikoproteiną błonową o m.c. 134 291, którą stanowi 1210 reszt aminokwasowych. Sekwencja tego białka ustalona została na podstawie cDNA dla EGFR komórek naskórza linii A431 oraz komórek łożyska [26, 37, 41]. Komórki linii A431 stanowią bardzo dogodny materiał do badań nad receptorem EGF, gdyż stwierdza się w nich, w stosunku do komórek innych typów, ok. 10–50-krotnie wyższy poziom omawianego białka, co tłumaczy się jako wynik translokacji w obrębie chromosomu 7. Odpowiedź mitogenna tych komórek nie koreluje jednak ze wzrostem zdolności wiązania EGF.



Rys. 2. Schemat struktury receptora EGF (wg [29], zmieniane)

O ile niskie stężenie EGF stymuluje proliferację, to w stężeniu mitogennym dla większości rodzajów komórek EGF hamuje proliferację komórek naskórza linii A431 [41].

W strukturze EGFR wyróżnia się trzy domeny funkcjonalne: zewnątrzkomórkową domenę wiążącą ligand, fragment transbłonowy odpowiedzialny za umiejscowienie receptora w błonie komórkowej oraz domenę cytoplazmatyczną o aktywności kinazy tyrozynowej (rys. 2) [29, 37, 41].

Domena zewnątrzkomórkowa receptora EGF składa się z 621 reszt aminokwasowych i jest odpowiedzialna za wiązanie ligandów. Charakterystyczną jej cechą jest obecność dwóch regionów bogatych w cysteinę oraz sekwencje stanowiące potencjalne miejsca glikozylacji. Analogiczne regiony o znacznym udziale cysteiny obserwowane są także w receptorach dla takich czynników, jak: insulina, czynnik wzrostu insulinopodobny-1 – IGF-1 (ang. *insulin-like growth factor-1*), czynnik wzrostu nerwu – NGF (ang. *nerve growth factor*), czy lipoproteiny o małej gęstości – LDL (ang. *low-density lipoprotein*). Brak ich stwierdza się natomiast w receptorach dla czynnika wzrostu pochodzącego z płytek krwi – PDGF (ang. *platelet derived growth factor*), czynnika stymulującego wzrost kolonii makrofagów-1 – CSF-1 (ang. *colony stimulating factor*), interleukiny-2 – IL-2, czy transferyny [4].

Domena wiążąca ligand charakteryzuje się wysoką zawartością węglowodanów, które występują w postaci N-glikozydowo związanych oligosacharydów. Zidentyfikowanych zostało 10–12 potencjalnych miejsc glikozylacji o sekwencji Asn-X-Ser/Thr. W EGFR komórek naskórza linii A431 stwierdzono występowanie trzech łańcuchów oligosacharydowych składających się w znacznym procencie z mannozy. Dokładna ich struktura nie została dotychczas poznana. Przypuszcza się, że jest ona różna w zależności od typu komórek i tkanek. Wiadomo natomiast, że oligosacharydy te cechuje niska zawartość kwasu sialowego i stosunkowo wysoka zawartość fukozy oraz występowanie terminalnej N-acetylogalaktozaminy. Stwierdzono ponadto, że występowanie znacznej liczby reszt cysteiny oraz duża zawartość węglowodanów (ok. 40% masy) warunkują wysoką odporność proteolityczną receptora EGF [4].

Domena cytoplazmatyczna receptora EGF składa się z 542 reszt aminokwasowych. Jej cechą charakterystyczną jest fakt, iż wykazuje ona aktywność kinazy tyrozynowej. Na rysunku 2 zaznaczono fragment zawierający ok. 250 reszt aminokwasowych, którego sekwencja jest homologiczna z innymi białkami rodziny kinaz tyrozynowych oraz z kinazą niereceptorową będącą produktem genu *src* wirusa mięsaka Rousa i jednocześnie pierwowzorem tych sekwencji [4].

Głównym aminokwasem w regionie o aktywności kinazy tyrozynowej jest lizyna w pozycji 721 wiążąca się poprzez mostek solny z atomem tlenu

przy reszcie fosforanowej β cząsteczki ATP. W miejscu oddalonym o 25 reszt aminokwasowych od lizyny 721 w kierunku N-końca znajduje się sekwencja Gly-X-Gly-X-X-Gly (reszty aminokwasowe 695–700), która jest obszarem wysoce konserwatywnym w białkach oddziałujących z kwasami nukleinowymi. Glicyna 695 oraz sekwencja Gly-X-Gly-X-X-Gly są prawdopodobnie zaangażowane w rozpoznawanie, odpowiednio, atomów C2 i N1 adeniny z cząsteczki ATP oraz we właściwe ułożenie przestrzenne rybozy i reszt fosforanowych. Stwierdzono także obecność sekwencji Asp-Phe-Gly (reszty aminokwasowe 831–833), wysoce konserwatywnej w przypadku kinaz białkowych, związanej prawdopodobnie również z oddziaływaniem z ATP [4].

Znaczna część obszaru C-końcowego receptora EGF zawiera sekwencje nie spotykane w innych kinazach tyrozynowych. Ponadto w regionie tym zlokalizowane są ważne funkcjonalnie miejsca autofosforylacji receptora [4].

LIGANDY DLA RECEPTORA CZYNNIKA WZROSTU NASKÓRKA

Dwoma najważniejszymi ligandami receptora EGF są czynnik wzrostu naskórka – EGF (ang. *epidermal growth factor*) oraz transformujący czynnik wzrostu α – TGF α (ang. *transforming growth factor α*). Wspólną ich cechą jest obecność 36–37 aminokwasowego modułu o następującej sekwencji aminokwasów: Cys-X₇-Cys-X_{2–3}-Gly-X-Cys-X₁₀-Cys-X-Cys-X₃-Tyr-X-Gly-X-Arg-Cys. W obrębie tej sekwencji utworzone są wiązania disiarczkowe między pierwszą i trzecią, drugą i czwartą oraz piątą i szóstą resztą cysteiny, co warunkuje powstanie struktury „trzech pętli” (ang. *three-loop structure*) i w konsekwencji zapewnia wysokie powinowactwo wiązania ligandów z EGFR. Struktura ta jest kodowana przez dwa oddzielne eksony genów dla EGF i TGF α . Ekson w końcu 5' każdego z genów koduje aminokwasy tworzące pierwsze dwie pętle, natomiast ekson zlokalizowany przy końcu 3' koduje trzecią pętlę [24]. Przypuszcza się, że obecność struktury „trzech pętli” zabezpiecza ligand przed proteolizą. Hipoteza ta powstała na bazie znacznego podobieństwa ligandów EGFR do hirudyny będącej inhibitorem proteaz [8].

Poza EGF i TGF α znane są cztery inne komórkowe ligandy dla EGFR. Są to amfiregulina, EGF wiążący heparynę – HB-EGF (ang. *heparin-binding EGF*), betacellulina – BTC (ang. *betacellulin*), epiregulina – EP 1 (ang. *epiregulin*) oraz, prawdopodobnie, czynnik wzrostu wywodzący się z nerwiaka osłonkowego (ang. *Schwannoma-derived growth factor*) [24].

Oprócz wyżej opisanych komórkowych ligandów EGFR znane są także ligandy wirusowe. Jednym z nich jest czynnik wzrostu wywodzący się z wirusa ospy bydłowej – VGF (ang. *vaccinia virus growth factor*). Podobnie inne wirusy, np. wirus śluzaka czy włókniaka Shopa, także kodują białkowe ligandy dla EGFR [24].

Na uwagę zasługuje fakt, że sekwencje aminokwasowe EGF, TGF α i VGF wykazują zaledwie 22% homologii. Niemniej łączą się one z receptorem EGF prawie z identycznym powinowactwem i wywołują podobną sekwencję zdarzeń w komórkach docelowych. Wzmoczona proliferacja jest głównym rodzajem odpowiedzi komórek zarówno w układzie *in vivo*, jak i *in vitro* na przyłączenie każdego z trzech omawianych czynników do receptora EGF. Ligandy te są produktami różnych genów, których ekspresja pozostaje także odmienna. Gen człowieka kodujący EGF zlokalizowany jest na chromosomie 4, natomiast locus genu TGF- α mieści się na chromosomie 2. Trzeci z omawianych ligandów VGF kodowany jest przez gen będący integralną częścią genomu wirusa ospy bydłowej [4].

Ligandy EGFR ze względu na różny skład aminokwasowy mają różne punkty izoelektryczne: dla EGF pI wynosi 4,6; dla TGF α 6,8; dla HB-EGF 7,2–7,8, a dla amfireguliny ok. 7,8. Prawdopodobnie właściwości te warunkują zdolność ligandów do łączenia się z receptorem w różnych mikrośrodkach spotykanych np. w ogniskach nowotworowych [8].

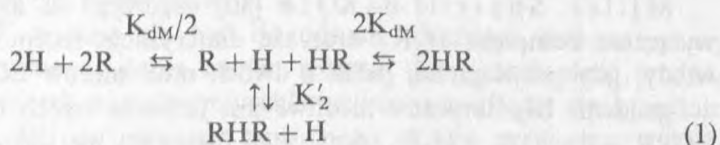
Amfiregulina, HB-EGF i BTC mają, w porównaniu z EGF, przedłużony koniec N, który nadaje im szczególne właściwości w oddziaływaniu z komórkami docelowymi. Wysoce zasadowy N-koniec amfireguliny i HB-EGF umożliwia tym czynnikom wzrostu łączenie się z heparyną czy proteoglikanami związanymi z siarczanem heparanu – HSPG (ang. *heparan sulphate proteoglycans*) występującymi na powierzchni komórki. Oddziaływania te zwiększają powinowactwo ligandów do EGFR. Betacellulina ma natomiast stosunkowo obojętny koniec N, który bierze udział w oddziaływaniach ze składnikami powierzchni komórki [8].

PRZYŁĄCZANIE LIGANDÓW DO RECEPTORA EGF

Istnieje obecnie kilka teorii dotyczących mechanizmu indukowanej przez ligand dimeryzacji receptorów EGF umożliwiających interakcje między domenami cytoplazmatycznymi sąsiadujących receptorów i aktywację kinaz tyrozynowych będących integralną częścią receptorów. Najczęściej rozpatrywane jest zjawisko homodimeryzacji. Niemniej istnieją przesłanki, iż heterodimeryzacja EGFR z innym receptorem o aktywności kinazy tyrozynowej

zbliżonym strukturalnie lub receptorem cytokin jest również możliwa i może mieć istotne znaczenie w przekazywaniu sygnału. Stwierdzono, iż EGFR może tworzyć, mający zdolność przekazywania sygnału, heterodimer z receptorem erbB-3. Na uwagę zasługuje fakt, że ostatnie z wymienionych białek w formie homodimerycznej sygnału nie przekazuje [16].

Mimo iż dokładny mechanizm oddziaływania EGF z receptorem EGF nie został określony, istnieją hipotetyczne modele próbujące przybliżyć to zjawisko. Pierwszy z nich zaproponowany przez Cunninghama i wsp. [7] oraz de Vos i wsp. [9] zakłada tworzenie przez dwie cząsteczki receptora EGF asymetrycznego kompleksu z jedną cząsteczką ligandu (równanie 1).



gdzie:

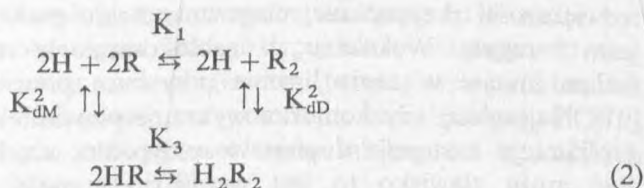
R – monomer receptora EGF,

H – EGF,

K_{dM} – stała dysocjacji EGF od miejsc wiążących w monomerze EGFR,

K'_2 – stała dysocjacji dla dimeru.

Następny model oddziaływania EGF z receptorem bazuje na istnieniu w równowadze zarówno mono-, jak i dimerycznych form EGFR wiążących ligand (równanie 2) [48].

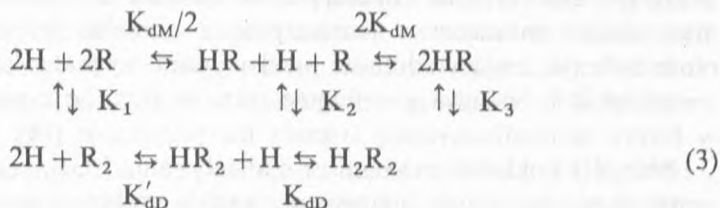


gdzie:

K_1 i K_3 – stałe dysocjacji dla dimeru, odpowiednio z nie związanym i związanym ligandem,

K_{dD}^2 – stała dysocjacji EGF od miejsc wiążących w dimerze EGFR.

Miller Sherrill i Kyte [30], na podstawie uzyskanych danych eksperymentalnych, zaproponowali kolejny schemat reakcji receptora EGF z czynnikiem wzrostu naskórka (równanie 3).



gdzie:

K_2 – stała dysocjacji dla dimeru częściowo związanego z ligandem.

Miller Sherrill i Kyte [30] sugerują, że aktywną formą jest wyłącznie kompleks H_2R_2 oraz, że dimeryzacja receptora zachodzi tylko wtedy, gdy przynajmniej jeden z dwóch monomerów EGFR jest związany z ligandem. Hipotetycznie możliwe jest istnienie trzech form dimerycznych EGFR – R_2 , HR_2 i H_2R_2 , przy czym forma R_2 nie występuje w znaczącym stężeniu, a forma HR_2 nie wykazuje aktywności kinazy tyrozynowej. Aktywność enzymatyczną obserwuje się jedynie w przypadku kompleksu H_2R_2 .

UDZIAŁ RECEPTORA CZYNNIKA WZROSTU NASKÓRKA W PROCESIE TRANSFORMACJI NOWOTWOROWEJ

Obecność receptora EGF stwierdza się prawie we wszystkich typach komórek prawidłowych oraz w wielu komórkach zmienionych nowotworowo. Podczas transformacji nowotworowej poziom EGFR w komórce, w większości przypadków, ulega znacznemu podwyższeniu, jakkolwiek nie jest to regułą. Wykazano, iż zablokowanie w receptorze EGF przeciwciałami miejsc wiązania liganda przywraca prawidłowe tempo proliferacji [31]. Najczęściej gdy komórka wykazuje prawidłowy poziom EGFR, hiperprolifracja następuje dopiero w przypadku ciągłej ekspozycji na ligand. Być może zjawisko to jest wczesnym etapem procesu karcynogenezy, a hiperprolifracja jest indukowana na drodze autokrynnnej [8]. Stwierdzono, że w zaawansowanych stadiach nowotworów gruczołu krokowego komórki nabłonkowe wydzielają ligandy dla EGFR, szczególnie EGF, $TGF\alpha$ i amfireguliny, które działają autokrynnie na komórki macierzyste. Natomiast komórki zrębu prawidłowego i łagodnego rozrostu stercza wydzielają analogiczne ligandy, które działają parakrynnie na komórki nabłonkowe [6].

Z obserwacji klinicznych wynika, że komórki nowotworów sutka wykazujące zwiększoną ekspresję EGFR często charakteryzują się zwiększoną

ruchliwością. Zjawisko to może być również spowodowane efektem, jaki EGFR wywiera na adhezję komórkową [8].

Ekspresja EGFR jest w większości nowotworów pozytywnie skorelowana ze słabym zróżnicowaniem komórek. W nowotworach sutka zwiększoną ekspresję omawianego białka obserwuje się w stadiach znacznie zaawansowanych [15, 18, 36]. Wyniki badań nad poziomem ekspresji receptora EGF w nowotworach prostaty i jelita grubego nie pozwalają jednak na jednoznaczne scharakteryzowanie tego zjawiska. Z uwagi na rozbieżność wyników uzyskiwanych przez różne zespoły badawcze nie można ustalić korelacji między poziomem EGFR w wymienionych nowotworach i stadium zaawansowania samego nowotworu [2, 6, 11, 35].

Receptor EGF wydaje się być dogodnym obiektem terapeutycznej interwencji. Selektywne działanie na ten receptor jest jednak dość trudne, gdyż większość komórek nowotworowych wydziela prawidłowy strukturalnie receptor EGF [8]. W nowotworach centralnego układu nerwowego takich jak glejaki, gwiaździaki czy rdzeniaki oraz w nowotworach sutka, jajników i płuc zidentyfikowano występowanie zmutowanej formy EGFR [10, 12, 25, 32, 33, 42]. Mutacja dotyczy najczęściej delecji eksonów 2–7 genu *erbB-1*, co prowadzi do powstania receptora, określanego jako Δ EGFR, de 2–7 EGFR lub EGFRrIII, pozbawionego 276 reszt aminokwasowych w domenie zewnątrzkomórkowej [10, 28, 40, 43]. Yamazaki i wsp. [47] stwierdzili także, w dwóch liniach komórkowych GL-3 i GL-5 wyprowadzonych z glejaków wielopostaciowych człowieka, obecność zmutowanego EGFR będącego wynikiem delecji odcinka o długości 801 pz między 1 i 6 intronem genu *erbB-1*.

Prowadzone są liczne badania nad wykorzystaniem receptora EGF oraz jego ligandów jako docelowych punktów terapii przeciwnowotworowej. Obecny na powierzchni komórki nowotworowej receptor EGF może być potencjalnym miejscem przyłączania różnego typu leków działających miejscowo. Ponadto trwają prace nad obniżeniem tempa wzrostu komórek nowotworowych poprzez blokowanie, za pomocą przeciwciał anti-EGFR, miejsc wiążących ligand oraz nad zastosowaniem inhibitorów blokujących aktywność kinazową receptora EGF [8].

Receptor EGF wydaje się być bardzo użytecznym elementem w szeroko rozumianej terapii przeciwnowotworowej. Możliwość kontrolowania i regulowania jego aktywności stwarza znaczne perspektywy w leczeniu, m. in., raka sutka, prostaty, jelita grubego i pęcherza moczowego [8].

LITERATURA

- [1] Bae V. L., Jackson-Cook C. K., Brothman A. R., Maygarden S. J., Ware, J. L. (1994), *Int. J. Cancer*, **58**, 721-729.
- [2] Borlinghaus P., Wieser S., Lamerz R. (1993), *Clin. Investig.*, **71**, 903-907.
- [3] Brass A. L., Barnard J., Patai B. L., Salvi D., Rukstalis D. B. (1995), *Cancer Res.*, **55**, 3197-3203.
- [4] Carpenter G. (1987), *Annu. Rev. Biochem.*, **56**, 881-914.
- [5] Clark A. J. L., Ishii S., Richert N., Merlino G. T., Pastan I. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 8374-8378.
- [6] Culig Z., Hobisch A., Cronauer M. V., Radmayr C., Hittmair A., Zhang J., Thurnher M., Bartsch G., Klocker H. (1996), *Prostate*, **28**, 392-405.
- [7] Cunningham B. C., Ultsch M., De Vos A. M., Mulkerrin M. G., Clauser K. R., Wells J. A. (1991), *Science*, **254**, 821-825.
- [8] Davies D. E., Chamberlin S. G. (1996), *Biochem. Pharmacol.*, **51**, 1101-1110.
- [9] de Vos A. M., Ultsch M., Kossiakof A. A. (1992), *Science*, **255**, 306-312.
- [10] Ekstrand A. J., Sugawa N., James C. D., Collins V. P. (1992), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 4309-4313.
- [11] Galandiuk S., Miseljc S., Yang A. R., Early M., McCoy M. D., Witliff J. L. (1993), *Arch. Surg.*, **128**, 637-642.
- [12] Garcia de Palazzo I. E., Adams G. P., Sundareshan P., Wong A. J., Testa J. R., Bigner D. D., Weiner L. M. (1993), *Cancer Res.*, **53**, 3217-3220.
- [13] GenBank, Internet.
- [14] Haley J. D., Waterfield M. D. (1991), *J. Biol. Chem.* **266**, 1746-1753.
- [15] Heffelfinger S. C., Lower E. E., Miller M. A., Fenoglio-Preiser C. M. (1996), *Am. J. Clin. Oncol.*, **19**, 552-557.
- [16] Heldin C.-H., Östman A. (1996), *Cytokine & Growth Factor Review.*, **7**, 3-10.
- [17] Ilio K. Y., Sensibar J. A., Lee Ch. (1995), *J. Androl.* **16**, 482-490.
- [18] Ioachim E., Kamina S., Athanassiadou S., Agnantis N. J. (1996), *Anticancer Res.*, **16**, 3141-3147.
- [19] Ishii S., Xu Y.-H., Stratton R. H., Roe B. A., Merlino G. T., Pastan I. (1985), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 4920-4924.
- [20] Iwamura M., di Sant'agnese P. A., Wu G., Benning C. M., Cockett A. T., Gershagen S. (1994), *Urology*, **43**, 838-843.
- [21] Johnson A. C., Ishii S., Jinno Y., Pastan I., Merlino G. T. (1988), *J. Biol. Chem.*, **263**, 5693-5699.
- [22] Kessler M., Ben-Asher E., Aloni Y. (1989), *J. Biol. Chem.*, **264**, 9785-9790.
- [23] Kraus M. H., Issing W., Miki T., Popescu N. C., Aaronson S. A. (1989), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 9193-9197.
- [24] Lee D. C., Fenton S. E., Berkowitz E. A., Hissong M. A. (1995), *Pharmacol. Rev.*, **47**, 5185.
- [25] Liberman T. A., Nusbaum H. R., Razon N., Kris R., Lax I., Soreq H., Whittle N., Waterfield M. D., Ullrich A., Schlessinger J. (1985), *Nature*, **313**, 144-147.
- [26] Lin C. R., Chen W. S., Kruiger W., Stolarsky L. S., Weber W., Evans R. M., Verma I. M., Gill G. N., Rosenfeld M. G. (1984), *Science*, **224**, 843-848.
- [27] Maekawa T., Imamoto F., Merlino G. T., Pastan I., Ishii S. (1989), *J. Biol. Chem.*, **264**, 5488-5494.

- [28] Malden L. T., Novak U., Kaye A. H., Burges A. W. (1988), *Cancer Res.*, **48**, 2711-2714.
- [29] Margolis B. L., Lax I., Kris R., Dombalagian M., Honegger A. M., Howk R., Givol D., Ullrich A., Schlessinger J. (1989), *J. Biol. Chem.*, **264**, 10667-10671.
- [30] Miller Sherrill J., Kyte L. (1996), *Biochemistry*, **35**, 5705-5718.
- [31] Modjtahedi H., Styles J., Dean C. (1993), *Int. J. Oncol.*, **3**, 237-243.
- [32] Moscatello D. K., Holgado-Madruga M., Godwin A. K., Ramirez G., Gunn G., Zoltick P. W., Biegel J. A., Hayes R. I., Wong A. J. (1995), *Cancer Res.*, **55**, 5536-5539.
- [33] Moscatello D. K., Montgomery R., Sundareshan P., McDanel H., Wong M. Y., Wong A. J. (1996), *Oncogene*, **13**, 85-96.
- [34] Plowman G. D., Culouscou J. M., Whitney G. S., Green J. M., Carlton G. W., Foy L., Neubauer M. G., Shoyab M. (1993), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 1746-1750.
- [35] Porschen R., Classen S., Kahle Y., Borchard F. (1993), *Int. J. Cancer*, **54**, 189-193.
- [36] Robertson K. W., Reeves J. R., Smith G., Keith W. N., Ozanne B. W., Cooke T. G., Stanton P. D. (1996), *Cancer Res.*, **15**, 3823-3830.
- [37] Simmen F. A., Gope M. L., Schulz T. Z., Wright D. A., Carpenter G., O'Malley B. W. (1984), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **124**, 125-132.
- [38] Steiner M. S. (1995), *J. Urol.*, **153**, 1085-1096.
- [39] Steiner M. S. (1995), *Eur. Urol.*, **27**, 9.
- [40] Sugawa N., Ekstrand A. J., James C. D., Collins V. P. (1990), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 8602-8606.
- [41] Ullrich A., Coussens L., Hayflick J. S., Dull T. J., Gray A., Tam A. W., Yarden J. L. Y., Libermann T. A., Schlessinger J., Downward J., Mayes E. L. V., Whittle N., Waterfield M. D., Seeburg P. H. (1984), *Nature*, **309**, 418-425.
- [42] Wong A. J., Bigner S. H., Bigner D. D., Kinzler K. W., Hamilton S. R., Vogelstein B. (1987), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 6899-6903.
- [43] Wong A. J., Ruppert J. M., Bigner S. H., Grzeschik C. H., Humphrey P. A., Bigner D. S., Vogelstein B. (1992), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 2965-2969.
- [44] Xie H., Turner T., Wang M. H., Singh R. K., Siegal G. P., Wells, A. (1995), *Clin. Exp. Metastasis*, **13**, 407-419.
- [45] Xu Y.-H., Ishii S., Clark A. J. L., Sullivan M., Wilson R. K., Ma D. P., Roe B. A., Merlino G. T., Pastan I. (1984), *Nature*, **309**, 806-810.
- [46] Yamamoto T., Ikawa S., Akiyama T., Semba K., Nomura N., Miyajima N., Saito T., Toyashima K. (1986), *Nature*, **319**, 230-234.
- [47] Yamazaki H., Ohba Y., Tamaoki N., Shibuya M. (1990), *Jpn J. Cancer Res.*, **81**, 773-779.
- [48] Yarden Y., Schlessinger J. (1987), *Biochemistry*, **26**, 1443-1451.

Magdalena Bryś, Magdalena Nawrot, Wanda M. Krajewska

STRUCTURE AND FUNCTION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR

This review presents the contemporary knowledge on the epidermal growth factor receptor (EGFR) structure and function, and participation in neoplastic transformation. The EGFR has been implicated in the pathogenesis of multiple human cells and tissues. Altered levels of the receptor have been found in, among others, breast, prostate, and colon carcinomas. Usually, overexpression of EGFR appears to confer a worse prognosis. Also some tumours types expressed structurally altered EGFR with deletion in extracellular domain. The correlation of EGFR expression with invasive or disseminated tumours and the connection with drug insensitivity provide ready justification for therapeutic intervention aimed at modulating the activity of this receptor.