

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Magdalena Bodnar

Zastosowanie wybranych markerów białkowych
do oceny zdolności do tworzenia przerzutów
w rakach płaskonabłonkowych krtani

Poznań 2019

Tytuł angielski

The application of selected protein markers in evaluation of metastases formation in laryngeal squamous cell carcinoma

Recenzje wydawnicze

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

prof. dr hab. Krzysztof Szyfter

Korekta wydawnicza

Joanna Szelałowska

Skład i łamanie

Martyna Lutomska

Projekt okładki

Bartłomiej Wąsiel

© Copyright by Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
Poznań 2019

ISBN 978-83-7597-366-2

WYDAWNICTWO NAUKOWE UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

ul. Bukowska 70, 60-812 Poznań

www.wydawnictwo.ump.edu.pl

Ark. wyd. 9,5. Ark. druk. 10,1.

Format B5. Zam. 68/2019.

Oddano do druku w marcu 2019.

Spis treści

Wykaz stosowanych skrótów	5
1. Wstęp	7
1.1. Zmiany tendencji epidemiologii raków płaskonabłonkowych obszaru głowy i szyi	7
1.2. Zmiany tendencji epidemiologii raków płaskonabłonkowych krtani	9
1.3. Etiologiczne profile kancerogenezy raków płaskonabłonkowych krtani	9
1.3.1. Czynniki środowiskowe — tytoń, alkohol — klasyczny mechanizm kancerogenezy	10
1.3.2. Wirus brodawczaka ludzkiego — alternatywny mechanizm kancerogenezy	12
1.3.3. Uwarunkowania genetyczne LSCC	14
1.3.4. Zmiany epigenetyczne	20
1.4. Tumor heterogeneity	21
1.5. Szlak SDF1-L/CXCR w LSCC	22
1.6. Udział białek szoku cieplnego w progresji nowotworowej LSCC	23
1.6.1. HSP27	24
1.6.2. HSP60	24
1.6.3. HSP70	24
1.6.4. HSP90	25
1.7. Czynniki transkrypcyjny NF- κ B w LSCC	25
2. Cel pracy	26
3. Materiał i Metody	27
3.1. Materiał	27
3.2. Metody	28
3.2.1. Konstrukcja mikromacierzy tkankowych (ang. <i>tissue microarray</i> , TMA)	28
3.2.2. Reakcja immunohistochemiczna	28
3.2.3. Morfometryczna analiza ekspresji oznaczanych białek	31
3.2.4. Oznaczenie statusu DNA-HPV (HPV16, HPV18)	32
3.2.5. Metody statystyczne	34
3.2.6. Hierarchiczna analiza skupień	34

4. Wyniki	35
4.1. Analiza różnic ekspresji oznaczanych białek pod względem potencjału metastatycznego w szlaku SDF1-L/CXCR — NF-κB	35
4.2. Analiza różnic ekspresji oznaczanych białek pod względem potencjału metastatycznego w szlaku białek szoku cieplnego	41
4.1.3. Analiza wzajemnych korelacji ekspresji oznaczanych białek względem wzajemnych szlaków sygnałowych (SDF1-L/CXCR – NF-κB – HSPs)	48
4.2. Analiza różnic ekspresji oznaczanych białek pod względem potencjału metastatycznego względem statusu białka p16Ink4a	50
4.2.1. Ocena statusu białka p16Ink4a oraz statusu DNA HPV	50
4.3. Analiza różnic ekspresji białek w szlaku SDF1-L/CXCR – NF-κB pod względem potencjału metastatycznego względem statusu białka p16Ink4a	51
4.4. Analiza różnic ekspresji białek w szlaku HSPs pod względem potencjału metastatycznego względem statusu białka p16Ink4a	56
5. Dyskusja	62
5.1. Znaczenie infekcji wirusów HR HPV w LSCC	63
5.1.1. Znaczenie oceny statusu ekspresji białka p16Ink4a w LSCC	65
5.1.2. Znaczenie nadekspresji p16Ink4a w LSCC HPV(+)	66
5.1.3. Znaczenie nadekspresji p16Ink4a w LSCC HPV(-)	67
5.1.4. Znaczenie spadku ekspresji białka p16Ink4a	68
5.2. Znaczenie szlaku SDF1-L/CXCR w tworzeniu przerzutów w LSCC	69
5.3. Znaczenie szlaku SDF1-L/CXCR względem statusu ekspresji białka p16Ink4a a tworzeniem przerzutów w LSCC.	72
5.4. Znaczenie ekspresji białek szoku cieplnego w procesie tworzenia przerzutów	74
5.5. Znaczenie ekspresji białek szoku cieplnego względem statusu ekspresji białka p16Ink4a a stopniem zajęcia węzłów chłonnych w LSCC	80
5.6. Znaczenie wzajemnych korelacji NF-κB a szlakiem SDF1-L/CXCR i HSPs	82
5.7. Wpływ wzajemnych korelacji szlaków SDF/CXCR i HSPs na progresję nowotworową	83
6. Podsumowanie	86
7. Wnioski	91
8. Piśmiennictwo	93
9. Streszczenie	109
10. Abstract	113

Wykaz stosowanych skrótów

- AJCC . . . ang. *American Joint Committee on Cancer* — Amerykański Wspólny Komitet ds. Raka
- AKT . . . ang. *Serine/Threonine Kinase Akt* — serynowo-treoninowa kinaza białkowa Akt
- BSA . . . ang. *bovine serum albumin* — roztwór albuminy surowicy bydłowej
- CCND1 . . . ang. *cyclin D1* — cyklina D1
- CCNL1 . . . ang. *cyclin L1* — cyklina L1
- CDK1 . . . ang. *cyclin-dependent kinase 1* — cyklino-zależna kinaza 1
- CDKN2A . . . ang. *cyclin-dependent kinase inhibitor 2A* — gen supresorowy, inhibitor kinazy cyklino-zależnej 2a
- CXCR4 . . . ang. *chemokine CXC motif receptor 4* — receptor 4 chemokin z motywem CXC
- CXCR7 . . . ang. *chemokine CXC motif receptor 7* — receptor 7 chemokin z motywem CXC
- DAB . . . ang. *3,3'-diaminobenzidine* — 3,3'-diaminobenzydyna
- EGFR . . . ang. *epidermal growth factor receptor* — receptor naskórkowego czynnika wzrostu
- EMT . . . ang. *epithelial-mesenchymal transition* — przejście epithelialno-mesenchymalne
- FADD . . . ang. *fas associated via death domain-containing protein* — związane z fas białko adaptorowe z domeną śmierci
- HER2 . . . ang. *human epidermal growth factor receptor 2* — receptor 2 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu
- HER3 . . . ang. *human epidermal growth factor receptor 3* — receptor 3 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu
- HNC . . . ang. *head and neck cancer* — nowotwory obszaru głowy i szyi
- HNSCC . . . ang. *head and neck squamous cell carcinoma* — raki płaskonabłonkowe obszaru głowy i szyi
- HPV . . . ang. *human papilloma virus* — wirus brodawczaka ludzkiego
- HRAS . . . ang. *Hras proto-oncogene* — Hras protoonkogen
- HR HPV . . . ang. *high risk human papilloma virus* — wysokoonkogeny typ wirusa brodawczaka ludzkiego
- HSF1 . . . ang. *heat shock factor 1* — czynnik szoku cieplnego 1
- HSP . . . ang. *heat shock proteins* — białka szoku cieplnego
- ITH . . . ang. *intra-tumor heterogeneity* — wewnętrzna heterogenność guza

- IUAC** . . . ang. *International Union Against Cancer* — Międzynarodowa Unia Walki z Rakiem
- JAK** . . . ang. *Janus kinase* — kinaza Janusa
- LOH** . . . ang. *loss of heterozygosity* — utrata heterozygotyczności
- LR HPV** . . . ang. *low risk human papilloma virus* — niskoonkogenny typ wirusa brodawczaka ludzkiego
- LSCC** . . . ang. *laryngeal squamous cell carcinoma* — rak płaskonabłonkowy krtani
- MAPK** . . . ang. *mitogen-activated protein kinase* — kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny
- NF- κ B** . . . ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* — jądrowy czynnik transkrypcyjny - κ B
- OSCC** . . . ang. *oral squamous cell carcinoma* — rak płaskonabłonkowy jamy ustnej
- PARP** . . . ang. *poly(adp-ribose) polymerase* — polimeraza poli(adp-rybozy)
- PAH** . . . ang. *polycyclic aromatic hydrocarbons* — policykliczne węglowodory aromatyczne
- PBS** . . . ang. *phosphate buffered saline* — izotoniczny roztwór chlorku sodu buforowany fosforanami
- PI3K** . . . ang. *phosphatidylinositol- 3-kinase* — kinaza 3-fosfatydyloinozytolu
- PIK3CA** . . . ang. *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha* — domena kinazowa 3 kinazy fosfatydyloinozytolu
- PTEN** . . . ang. *phosphatase and tensin homolog* — homolog fosfatazy i tensyny
- PTK2** . . . ang. *protein tyrosine kinase 2* — białko kinazy tyrozynowej 2
- pRB** . . . ang.: *retinoblastoma protein* — białko Retinoblastoma
- Ras** . . . ang. *rat sarkoma proteins* — rodzina białek ras o aktywności GTP-azy, produkt protonogenu RAS
- RASSF1A** . . . ang. *ras association domain family member 1* — białko zawierające domenę wiążącą ras 1a
- RBI** . . . ang. *retinoblastoma 1 gene* — gen Retinoblastomy
- RP** . . . ang. *respiratory papillomatosis* — brodawczaki krtani
- SCC** . . . ang. *squamous cell carcinoma* — rak płaskonabłonkowy
- SDF1-L** . . . ang. *stromal derived factor 1* — czynnik pochodzenia zrębowego 1
- sHSPs** . . . ang. *small heat shock proteins* — małowczątkowe białka szoku cieplnego
- STAT** . . . ang. *signal transducer and activator of transcription* — białka przekazujące sygnał i aktywujące transkrypcję
- TMA** . . . ang. *tissue microarray* — mikromacierz tkankowa
- TNM** . . . ang. *T-tumor, N-node, M-metastasis; staging system* — T-miejscowy zasięg guza, N-stopień zaawansowania węzłowego, M-przerzuty odległe — system klasyfikacji zaawansowania choroby nowotworowej
- TP53** . . . ang. *tumor suppressor gene 53* — gen supresorowy 53
- WHO** . . . ang. *World Health Organization* — Światowa Organizacja Zdrowia