

RECEPTORY PRO EPIDERMÁLNÍ RŮSTOVÉ FAKTORY A JEJICH VÝZNAM PRO MALIGNÍ TRANSFORMACI SOLIDNÍCH NÁDORŮ

Ivo Überall, Zdeněk Kolář

Ústav patologie a Laboratoř molekulární patologie LF UP v Olomouci

Receptory pro epidermální růstové faktory (c-erbB/HER) zahrnují receptor pro epidermální růstový faktor (c-erbB-1/EGFR/HER-1) a tři další homologa; c-erbB-2-4/HER-2-4. Tento receptorový systém hraje zásadní roli v regulaci apoptózy, migrace, invazivity a metastázování, proliferace, adhezivity a diferenciaci buněk. Změny exprese těchto receptorů jsou spojeny se špatnou prognózou četných nádorů. Z důvodu pochopení jejich významu v nádorové biologii a pro využití těchto receptorů jako míst cíleného terapeutického zásahu probíhá v současné době jejich intenzivní výzkum. V klinické praxi se začíná využívat řada specifických i nespecifických inhibitorů.

Klíčová slova: receptory c-erbB, nádory, cílená terapie.

THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR FAMILY AND HER IMPLICATION IN MALIGNANT TRANSFORMATION OF SOLID TUMORS

The epidermal growth factor receptor (c-erbB/HER) system comprises the epidermal growth factor receptor (c-erbB-1/EGFR/HER-1) and three other homologues c-erbB-2-4/HER-2-4. This receptor system plays a critical role in apoptosis, migration, cell invasivity and metastasis, proliferation, adhesion and differentiation of the cells. Changes of status of these receptors has been associated with poor prognosis in cancer of numerous tumors. Recently, these receptors have been intensely studied to understand their importance in cancer biology and as therapeutic targets, and many specific and non-specific c-erbB inhibitors are developed for use.

Key words: c-erbB receptors, cancers, target therapy.

Klin Farmakol Farm 2006; 20: 190–196

1. Úvod

Buňky tkání jsou vystavovány rozličným vlivům vnějšího prostředí. Je velmi důležité, jak tyto extracelulární signály působí na buněčnou a tkáňovou homeostázu. Klíčovou roli pro udržení homeostázy vnitřního prostředí buňky hrají receptory lokalizované v buněčné membráně, které jsou prvním místem styku extracelulárních faktorů s buněčným povrchem. Jednou z mnoha skupin těchto receptorů jsou receptory c-erbB/HER. Jedná se o transmembránové receptory s kinázovou aktivitou, na jejichž extracelulární doménu se váží peptidové růstové faktory. Vazbou růstového faktoru dochází k oligomerizaci receptorů, a tím k jejich aktivaci. Aktivované receptory iniciují intracelulární signální kaskády, které ve svém důsledku mohou ústít v nekontrolovanou proliferaci a posléze v získání schopnosti invazivního růstu, metastázování a indukci angiogeneze. Z tohoto pohledu je velmi důležité studium této signální kaskády.

2. Růstové faktory rodiny receptorů c-erbB/HER

Aberantní aktivace c-erbB receptorů může být způsobena zvýšenou produkcí růstových faktorů, zvýšenou syntézou receptorů (overexpresí), zmnožením genů pro tyto receptory (amplifikací) a mutacemi těchto genů, které vedou k syntéze abnormálních c-erbB receptorů, popř. může docházet k různým kom-

binacím těchto aktivátorů. Na maligní transformaci se nepodílí pouze aberantní exprese receptorů, ale také aberantní exprese růstových faktorů, které se více nebo méně specificky váží k jednotlivým typům c-erbB receptorů. Všechny růstové faktory vázající tyto receptory jsou podle současných poznatků polypeptidy. Nejvýznamnější vlastností růstových faktorů je jejich schopnost indukovat mitotické dělení buněk. Jejich účinky v procesech buněčné homeostázy jsou však mnohem širší. Růstové faktory jsou nutné k diferenciaci buněk a k udržení jejich diferencovaného stavu v systémech in vitro. Ovlivňují také řadu dalších buněčných funkcí, mohou kvalitativně i kvantitativně ovlivňovat sekreci buněk, mají vliv na chemotaxi a výživu cílových tkání, byly také popsány i vasokonstriktorní účinky růstových faktorů. V tabulce 1 jsou uvedeny základní typy růstových faktorů a jejich receptorů. EGF (epidermal growth factor) je peptid sestávající z 53 aminokyselin, jehož kódující sekvence jsou lokalizovány na chromozomu 4q25 (1). EGF je exprimován v řadě tkání, zejména v buňkách epitelu gastrointestinálního a vylučovacího traktu (2). TGF α (transforming growth factor α) je polypeptid tvořený 50 aminokyselinami, který je z 30 – 40% homologní s EGF. Geny pro TGF α jsou lokalizovány na chromozomu 2p11-13 (3). Zvýšená syntéza a sekrece TGF α byla pozorována jak během normální embryogeneze tak i u normálních tkání dospělých, zejména v regenerujících nebo kmenových popu-

lacích epitelových buněk (4). AMR (amfirogulin), je polypeptid složený z 78 nebo 84 aminokyselin. Geny pro AMR jsou lokalizovány na chromozomu 4q13-21 (5). AMR byl popsán jako polyfunkční růstový modulator, mající schopnost inhibice některých lidských nádorů a stimulace proliferace lidských fibroblastů, keratinocytů, ovariálních a mamárních epitelových buněk a některých dalších typů nádorových buněk (6). HB-EGF (heparin-binding EGF) je protein, který se podobně jako AMR vyskytuje v mnoha formách. Experimentálně i klinicky je významný fakt, že pre-HB-EGF prekurzor sestávající z 208 aminokyselin může fungovat jako receptor pro bakteriální difterický toxin (7). Geny pro HB-EGF jsou lokalizovány na chromozomu 5q23 (8). HB-EGF je významným mitogenem pro buňky hladké svaloviny. HRG α (heregulin) je růstový faktor, jehož geny jsou lokalizovány na chromozomu 8p12-21. Tento protein podporuje fosforylaci tyrozinu c-erbB-2 a c-erbB-4 u některých lidských mamárních buněčných linií. Účinek tohoto růstového faktoru je závislý na jeho koncentraci, přičemž může mamární buňky k proliferaci buď stimulovat nebo inhibovat (9).

BTC (betacellulin) a CR-1 jsou jedny z nedávno objevených růstových faktorů. BTC je peptid tvořený z 80 aminokyselin, který funguje jako mitogen u myších fibroblastů a podobně jako HB-EGF pro buňky hladké svaloviny. Vykazuje afinitu k EGFR. U myší byla vysoká úroveň exprese BTC zjištěna v ledvi-

nách a játrech, méně v plicích, srdci, střevě a děloze. Geny pro CR-1 jsou lokalizovány na chromozomu 3p21.3 a jsou exprimovány v teratokarcinomech. Informace o vazebné specifitě CR-1 k jednotlivým typům c-erbB receptorů jsou zatím kusé. U myši je 17 aminokyselinová signální sekvence CR-1 exprimována ve slezině, srdci, plicích a mozku. (10).

3. Charakteristika receptorů c-erbB/HER

EGFR (c-erbB-1/HER-1) byl identifikován pomocí inzerční mutagenese retrovirů. Bylo prokázáno, že u kuřat infikovaných virem ptačí leukózy (ALV), se může část retroviru DNA vázat do blízkosti onkogenu. Výsledkem inzerce retroviru DNA byla mutantní alela c-erbB, která vede k fenotypovému projevu ptačí erytroblastózy. Geny pro EGFR jsou lokalizovány na chromozomu 17p13-12 (11). Základní struktura tohoto proteinu je tvořena 621 aminokyselinovou extracelulární doménou, která je často glykosylována a obsahuje ligand vazebnou oblast, hydrofobní transmembránovou oblast (23 aminokyseliny) a cytoplazmatickou doménu (542 aminokyseliny), která obsahuje vývojově vysoce konzervativní tyrozinovou kinázu (12).

Receptor c-erbB-2 (HER-2) je protein, který byl poprvé identifikován a klonován z mamárních a žaludečních karcinomů (13). V tyrozinkinázové cytoplazmatické doméně byla nalezena 82 % homologie s EGFR (14). Receptor c-erbB-2 patří do skupiny tzv. „orphan“ receptorů, u kterých není znám přirozený ligand. Jeho onkogenní potenciál se zvyšuje dimerizací s ostatními členy rodiny c-erbB (15).

Třetím členem rodiny receptorů c-erbB/HER je c-erbB-3 (HER-3), jehož gen je lokalizován na chromozomu 12q13 (16). Tento gen byl klonován z mamárních a kožních karcinomů. Ligand vazebná doména vykazuje 40 % homologii s EGFR a c-erbB-2, zatímco intracelulární doména je z 60 % homologní s EGFR a c-erbB-2 (10).

Jako poslední byl identifikován receptor c-erbB-4. Jeho extracelulární doména je velmi podobná extracelulární doméně c-erbB-3, což se projevuje afinitou ke stejnému ligandu, kterým je HRG. Naproti tomu cytoplazmatická doména vykazuje 70 % homologii s EGFR a c-erbB-2 (10).

4. Signalizace zprostředkovaná receptory c-erbB/HER

Vlastní signální kaskáda začíná vazbou ligandu a dimerizací receptorů. K vazbě ligandu dochází na vysoce afinní extracelulární doméně, která obsahuje tři disulfidové vazebné smyčky, popř. další vazebné motivy (imunoglobulinová vazebná místa, heparin vazebná místa nebo glykosylována místa). Přítomností těchto dalších vazebných motivů v extracelulární doméně jsou determinovány vztahy

Tabulka 1. Deregulace ErbB receptorů a jejich ligandů u nádorů (68)

Molekula	Typ deregulace	Typ nádoru	Poznámka
Ligand			
TGF α	Nadměrná exprese	Prostata	Je exprimován v časných fázích androgen-dependentních a pokročilých fázích androgen-independentních nádorů prostaty
	Nadměrná exprese	Slinivka břišní	Koreluje s velikostí nádoru a snižuje dobu přežívání pacientů
	Nadměrná exprese	Plice, vaječníky, tlusté střevo	Koreluje se špatnou prognózou, pokud je ko-exprimován c-erbB-1
NRG1	Nadměrná exprese	Mamární adenokarcinom	
Receptor			
c-erbB-1	Nadměrná exprese	Hlava a krk, mamma, močový měchýř, prostata, ledviny, velkobuněčné karcinomy plic	Významný indikátor relapsu operabilních prsních nádorů, může sloužit jako prognostický faktor pro karcinomy močového měchýře, prostaty a velkobuněčných karcinomů plic
	Nadměrná exprese a amplifikace	Gliomy	Amplifikace u 40 % gliomů, nadměrná exprese koreluje s vysokým gradingem a sníženým přežíváním pacientů
	Mutace	Gliomy, vaječníky, plíce, mamma	Delece části extracelulární domény vede ke konstitutivní aktivaci receptorů
c-erbB-2	Nadměrná exprese	Mamma, plíce, slinivka, tlusté střevo, jícen, endometrium, čípek děložní	Vyskytuje se u 15–30 % invazivních ductálních karcinomů mammy. Zvýšená exprese koreluje s velikostí tumoru, invazivitou, vysokým gradingem, proliferací, aneuploidií a nedostatkem receptorů pro steroidní hormony
c-erbB-3	Expres	Mamma, tlusté střevo, žaludek, prostata	Ko-exprese s c-erbB-1 a c-erbB-2 u mamárních karcinomů zpřesňuje prognózu
	Nadměrná exprese	Dlaždicové karcinomy dutiny ústní	Koreluje s metastázováním do uzlin a sníženým přežíváním pacientů
c-erbB-4	Snížená exprese	Mamma, prostata	Koreluje s diferencovaným fenotypem
	Expres	Meduloblastom	Ko-exprese s c-erbB-2 má prognostický význam

k dalším signálním drahám, např. drahám zprostředkovaným G-proteiny nebo steroidními hormony.

Přestože k aktivaci receptorů c-erbB vedou jak homodimerizace, tak i heterodimerizace, jsou více mitogenní a účinnější heterodimery. Heterodimerizované receptory poskytují vyšší množství fosfotyrozinových zbytků pro vazebné partnery. Vazba ligandu indukuje receptorovou homo- nebo heterodimerizaci rozšířením dimerizační smyčky, která se vnořuje mezi jednotlivé dimerizační partnery. To vede k zvýšení tyrozin kinázové aktivity a fosforylaci specifických tyrozinových zbytků (pY) uvnitř c-terminální části receptoru c-erbB. Signalizační efekty obsahující vazebná místa pro fosforylované peptidy (SH2 nebo PTB domény) jsou navázány na aktivované receptory a aktivují různé signální dráhy, jako např. Ras-MAPK, PI3K-Akt, PLC-PKC a STAT dráhu. Tyto dráhy následně ústí v buněčnou proliferaci a ovlivňují migraci a přežívání buněk (17).

5. Úloha receptorů c-erbB/HER a jejich ligandů při vzniku a vývoji nádorů

Role receptorů HER/c-erbB a jejich ligandů v patogenezi lidských nádorů je předmětem řady studií,

kteří dokládají zpravidla zvýšenou expresi těchto proteinů u většiny solidních neoplasií. Karcinomy zpravidla zvýšeně exprimují EGFR a c-erbB-3 (karcinomy plic, tlustého střeva a mléčné žlázy). Receptor c-erbB-2 je exprimován u 30 % primárních karcinomů mammy, c-erbB-4 je exprimován u 50 % karcinomů mammy (18). Rovněž byla pozorována vysoká exprese c-erbB-4 u 22 % kolorektálních karcinomů (19).

Možnost využití stupně exprese c-erbB receptorů jako prognostického a prediktivního znaku se ukázalo poměrně obtížné. V současné době je publikována řada prací snažících se o zařazení receptorů c-erbB do spektra prognostických a prediktivních faktorů, nicméně histologická diverzifikace karcinomů zatím nedovoluje najít obecně platný úzus pro určení predikce a prognózy karcinomů na tomto základě.

Prognostický význam EGFR a c-erbB-2 byl sledován v celé řadě prací. Ačkoli exprese těchto proteinů byla často popsána ve spojení s horší prognózou, využití stupně exprese těchto receptorů pro predikci výsledku terapie jednotlivých pacientů nebylo prokázáno. Některé klinické studie naznačují, že EGFR může být významným nezávislým prognostickým faktorem u nádorů mammy, zatímco u ostatních typů

karcinomů se tyto vztahy nepotvrdily (20). Statut c-erbB receptorů a jeho využití jako prognostického a prediktivního znaku musí být zasazen do kontextu klinických, laboratorních, genetických a molekulárně-biologických údajů, které mohou být v případě tak diverzifikovaného systému jako jsou epitelové nádory značně obtížné.

Významným faktorem v nádorové patogenezi je ko-exprese jednotlivých typů receptorů c-erbB, která je spojena s nejagresivnějším fenotypem a špatnou prognózou. DiGiovanna et al. (21) uvádí, že 15 % invazivních mamárních karcinomů exprimuje EGFR a 87 % těchto tumorů rovněž ko-exprimuje c-erbB-2. Z výsledků dále vyplynulo, že s kratší dobou přežití pacientů jsou spojeny zvýšené exprese fosforylované (aktivované) c-erbB-2 nebo ko-exprese EGFR a c-erbB-2 (22).

Amplifikace genu pro EGFR byla prokázána u různých typů tumorů a je obvykle spojena s jeho nadměrnou expresí, nicméně zvýšená exprese EGFR při absenci amplifikace genu byla také popsána (10, 22). U glioblastoma multiforme (GBM), byla amplifikace genu prokázána u 37–58 % tumorů (23). V nedávné době bylo prokázáno, že u GBM se vyskytuje mutovaná forma EGFR (EGFRvIII), která má deletovanou část extracelulární domény, což se projevuje nezávislostí na aktivaci ligandem. Tyto formy EGFR mutací tvoří až 50 % veškerých genetických změn u GBM (24). Některé studie naznačují, že zvýšená exprese EGFRvIII a amplifikace genu pro EGFR je u pacientů s GBM indikátorem špatné prognózy. Exprese EGFRvIII byla také prokázána u karcinomů mléčné žlázy, ovaria a plic (25). V poslední

době byla také prokázána přítomnost mutací a amplifikací genu pro intracelulární doménu EGFR. Tyto typy mutací se vyskytují zejména u nemalobuněčných karcinomů plic (NSCLC). Je zajímavé, že se tento typ mutovaných forem EGFR vyskytuje zejména u Asiátů. Mutace genu pro EGFR byly u Asiátů prokázány rovněž u kolorektálních karcinomů (26).

Nadměrná exprese c-erbB-2 bývá často spojována s amplifikací genu, ačkoli byla také pozorována nadměrná exprese bez amplifikace genu. Geny pro c-erbB-2 nejsou v nádorech často mutovány. Podobně jako pro EGFR byly také zaznamenány mutace genu v oblasti kódující intracelulární doménu. Tento typ mutací se častěji vyskytoval u pacientů s adenokarcinomem plic, u žen a u nekuřáků. V některých případech byly současně prokázány mutace EGFR (22).

6. Exprese proteinů c-erbB/HER v jednotlivých typech nádorů

6.1 Karcinomy gastrointestinálního traktu

6.1.1 Karcinomy jícnu

Karcinomy jícnu patří mezi nádory gastrointestinálního traktu vyznačující se nejvyšší letalitou. Incidence karcinomu jícnu je vyšší u mužů než u žen. Pětileté přežití je jen u 20 % pacientů. U 88 % karcinomů jícnu byla zaznamenána zvýšená exprese EGFR a TGF α , zatímco exprese c-erbB-2 byla zaznamenána jen u části těchto případů (27).

6.1.2 Karcinomy žaludku

V Evropě a Severní Americe má incidence karcinomů žaludku klesající tendenci, zatímco v Japonsku a zemích Dálného Východu incidence těchto

typů nádorů neklesá. Histologické typy karcinomů žaludku zahrnují převážně různé varianty adenokarcinomů. Karcinomy žaludku jsou tvořeny dvěma typy, a to: intestinálním typem a difúzním typem. Intestinální typ karcinomu vykazuje lepší prognózu, zatímco difúzní typ karcinomu žaludku, který se vyvíjí bez prekancerózních změn, vykazuje prognózu výrazně horší. Pro zpřesnění prognózy jsou využívány nové genetické znaky. Současné studie se snaží prokázat, že stanovení amplifikace genu pro receptory c-erbB a jejich nadměrná exprese mohou být vhodným nástrojem pro predikci a prognózu karcinomů žaludku. Mnoho prací v posledním desetiletí jasně ukázalo, že za vývoj a progresi nádorů žaludku jsou zodpovědné četné genetické změny (22). Bylo prokázáno, že na vývoji intestinálních a difúzních typů karcinomů žaludku se podílí rozdílné mechanismy. Jedním z těchto mechanismů jsou změny v expresi receptorů c-erbB a jejich ligandů, a to především EGFR a c-erbB-2, které jsou u karcinomů žaludku často nadměrně exprimovány z důvodu genové amplifikace. Přestože studie zabývající se využitím receptorů c-erbB jako prognostických markerů nejsou jednotné, zdá se, že c-erbB-2, jehož nadměrná exprese byla detegována pouze u intestinálních typů karcinomů žaludku, může sloužit jako prognostický faktor pro odhad invazivity tumoru a potenciální metastázování do lymfatických uzlin (28). Nadměrná exprese EGF, TGF α a EGFR koreluje se stupněm malignity a indikuje u pacientů s karcinomem žaludku špatnou prognózu. Podíl ostatních typů receptorů c-erbB na vzniku a progresi karcinomů žaludku nebyl v současné době

Tabulka 2. Cílená terapeutika proti receptorům ErbB v klinickém využití (69)

Látka	Typ	Cíl působení	Výrobce	Použití
Trastuzumab (Herceptin)	mAb	c-erbB-2	Genentech/Roche	Mamární nádory nadměrně exprimující c-erbB-2
Pertuzumab (Omnitarg)	mAb	c-erbB-2	Genentech	Fáze II u nádorů vaječníků, mammy, prostaty a velkobuněčných karcinomů plic, blokuje dimerizační receptory
Cetuximab (Erbix)	mAb	c-erbB-1	ImClone/merck KgaA Bristol-Myers Squibb	Kolorektální karcinomy, nádory slinivky, hlavy a krku a velkobuněčných karcinomů plic
Matuzumab	mAb	c-erbB-1	Merck KGaA	Fáze II pro velkobuněčné karcinomy plic, gynekologické nádory, nádory slinivky a jícnu
Panitumumab	mAb	c-erbB-1	Abgenix	Kolorektální karcinomy, nádory ledvin a velkobuněčných karcinomů plic
Genfitinib (Iressa)	ITK	c-erbB-1	AstraZeneca	Velkobuněčné karcinomy plic, nádory hlavy a krku a mammy, gastrointestinální nádory
Erlotinib (Tarceva)	ITK	c-erbB-1	Genentech/OSI Pharmaceutical	Velkobuněčné karcinomy plic, mnoho typů nádorů
Lapatinib	ITK	c-erbB-1/c-erbB-2	GlaxoSmithKline	Nádory mammy u pacientů, kteří jsou refrakterní na trastuzumab a chemoterapii
AEE-788	ITK	c-erbB-1/c-erbB2/VEGFR	Novartis	Fáze I
CI-1033	Irreverzibilní ITK	c-erbB-1/c-erbB-2	Pfizer	Fáze II u nádorů mammy a velkobuněčných karcinomů plic
EKB-569	Irreverzibilní ITK	c-erbB-1/c-erbB-2	Wyeth-Ayerst	Fáze II u velkobuněčných karcinomů plic
EXEL 7647/EXEL 0999	TKI	c-erbB-1/c-erbB2/VEGFR	EXELIXIS	Fáze I

ITK, inhibitor tyrozin kináz, mAb, monoklonální protilátka. S výjimkou Cetuximabu (Erbixu), který je chimerickou mAb, jsou všechny ostatní humanizované, VEGFR, receptor pro vaskularizační endotelální růstový faktor.

jednoznačně prokázán, ale pravděpodobně má na tyto procesy podstatný vliv stav receptoru c-erbB-3, jehož cytoplazmatická a membránová pozitivita byla detegována u 72 % difuzních a 86 % intestinálních typů karcinomů žaludku (10).

6.1.3 Karcinomy tlustého střeva a konečníku

Kolorektální karcinomy představují 75 % všech karcinomů zažívacího traktu. Jedná se o jeden z nejčastějších typů rakoviny, jehož incidence je obzvláště vysoká v naší republice, ale i jiných zemích Evropy a Severní Ameriky. Histologické typy zahrnují různé varianty adenokarcinomu. Jsou popisovány dvě základní skupiny tohoto karcinomu, podle toho, zda se jedná o nádor sporadický nebo hereditární. U velké části těchto nádorů byla zaznamenána koexprese EGFR, EGF a TGF α . Nadměrná exprese EGFR, EGF a TGF α (29) představuje u buněk kolorektálních karcinomů jeden z mechanismů maligní transformace. Nadměrná exprese c-erbB-2 byla zjištěna u 11–20 % kolorektálních nádorů, avšak důkazy o amplifikaci genu pro c-erbB-2 nebyly zatím přesvědčivé (10).

6.1.4 Karcinomy slinivky břišní

Karcinomy pankreatu patří k nádorům s velmi špatnou prognózou. Hlavním důvodem je fakt, že vzhledem k její anatomické lokalizaci je diagnóza stanovena většinou pozdě, takže nádory již nejsou většinou resekabilní. Z toho důvodu by bylo nalezení vhodných markerů umožňujících včasnou diagnózu přínosem. Expres EGFR, EGF a TGF α byla více zaznamenána v duktálních buňkách pankreatického karcinomu v porovnání s buňkami acinárními. EGFR byly exprimovány u 43 %, těchto tumorů. V karcinomech pankreatu byla prokázána vyšší exprese rovněž dalších členů rodiny c-erbB, (c-erbB-2 a c-erbB-3), a to bez amplifikace jejich genů (10).

6.1.5 Karcinomy jater

Hepatocelulární karcinomy (HCC) jsou v celosvětovém měřítku jedním z často se vyskytujících typů karcinomů. V rozvojových zemích, v Japonsku a jižní Africe je jeho incidence vyšší než 20/100 000 obyvatel, v západní Evropě a v USA představuje jen asi 5 případů na 100 000 obyvatel. Významnými faktory podílejícími se na vzniku HCC jsou cirhotické procesy, chronická hepatitida B a C, alkoholismus a obezita. U HCC hraje EGFR významnou roli. HCC vykazují zvýšenou expresi EGFR (30). U hůře diferencovaných HCC byla prokázána zvýšená exprese EGFR, která korelovala s časným stadiem vývoje tumoru a výskytem extrahepatálních metastáz (31). Premaligní jaterní uzliny vykazují nadměrnou expresi EGFR, zatímco pokročilejší

stadia a diferencované HCC jsou charakteristické nižší expresí EGFR (32). Zvýšená exprese proteinu c-erbB-2 je u pacientů s pokročilým HCC vzácná, proto stupeň amplifikace genu a nadměrná exprese tohoto proteinu nepatří u karcinomů jater k prognostickým faktorům.

6.2 Karcinomy plic

Plicní karcinomy jsou u nás nejčastější příčinou smrti v důsledku nádorových onemocnění u mužů starších 35 let, a druhou příčinou u žen mezi 35 a 74 lety. Histologicky jsou nádory plic děleny na dlaždicobuněčné karcinomy, adenokarcinomy, velkobuněčné karcinomy a malobuněčné karcinomy (SCLC). První tři typy jsou souhrnně označovány jako nemalobuněčné plicní karcinomy (NSCLC) a tvoří 75 % karcinomů plic, pětileté přežití je pouze u 15 % pacientů. SCLC tvoří 25 % všech karcinomů plic a pětileté přežití je pouze u 5 % pacientů. EGFR je exprimován jak ve zdravých plicích, tak v nádorech. Pozitivita EGFR byla popsána v buňkách kartáčkového lemu bronchiálního epitelu, ale ne v bronchiálních žlázách (33). EGFR je nadměrně exprimován u 40–80 % primárních NSCLC a u některých typů buněčných linií NSCLC (34). EGFR je exprimován ve všech histotypech plicních karcinomů, ale dlaždicobuněčné typy vykazují vyšší míru exprese, než ostatní typy NSCLC. Nadměrná exprese EGFR bývá u dlaždicobuněčných karcinomů někdy spojena s amplifikací genu a může být využita jako prognostický faktor. U NSCLC byla rovněž popsána mutovaná forma receptoru EGFR postrádající část extracelulární domény (EGFRvIII) (35). U NSCLC byla také popsána exprese c-erbB-2. Výsledky týkající se exprese c-erbB-2 u dlaždicobuněčných karcinomů jsou rozporuplné. Některé studie popisují zvýšenou expresi c-erbB-2 u 35 % dlaždicobuněčných karcinomů (36, 37), jiné studie udávají, že úroveň exprese c-erbB-2 je stejná, jak v těchto tumorech, tak v normálních plicích (38, 39). Naopak u adenokarcinomů je stupeň exprese c-erbB-2 považován za prognostický faktor (37). Je ovšem potvrzen fakt, že nadměrná exprese tohoto proteinu u NSCLC buněčných linií odvozených z neléčených pacientů je spojena s lékovou rezistencí (39). Zvýšená exprese c-erbB-3 je u pacientů s NSCLC prediktor pooperačního relapsu tumoru (40).

6.3 Karcinomy urogenitálního traktu

6.3.1 Karcinomy ledvin

Karcinomy ledvin tvoří přibližně 3 % všech malignit. EGFR je běžně exprimován ve zdravých ledvinách. Vyšší exprese tohoto proteinu byla zaznamenána u 50–90 % karcinomů ledvin (41). Nadměrná exprese EGFR je spojena s amplifikací genů a přestavami chromozomů (42). Nebyla ovšem popsána

korelace mezi nadměrnou expresí EGFR a pokročilostí tumoru. Role c-erbB-2 u karcinomů ledvin je velmi sporná. Byly podány důkazy, že ve zdravých ledvinách je paradoxně vyšší exprese c-erbB-2 než u karcinomů ledvin (43).

6.3.2 Karcinomy močového měchýře

Tyto karcinomy tvoří 2 % všech malignit. 90 % tumorů močového měchýře tvoří uroteliální karcinomy, 2–8 % dlaždicobuněčné karcinomy a 2 % jsou adenokarcinomy. EGFR je silněji exprimován v maligním epitelu močového měchýře. Expres EGFR je zvýšena v časných stádiích uroteliální karcinogeneze. Expres EGFR byla silnější u invazivních tumorů ve srovnání s tumory neinvazivními. Více diferencované tumory exprimovaly vyšší hladiny EGFR než méně diferencované. U tumorů nadměrně exprimujících EGFR nebyla potvrzena amplifikace genu (44). Protein c-erbB-2 je nadměrně exprimován u 40–70 % uroteliálních karcinomů. Stupeň exprese c-erbB-2 rovněž koreluje s histologickým gradingem tumoru. Tumory s vyšším stupněm malignity vykazovaly vysokou frekvenci zvýšené exprese c-erbB-2 ve srovnání s tumory středně diferencovanými (45). Amplifikace genu byla také častější u nádorů vyšších stupňů malignity (grade 2 a 3). Zvýšená exprese c-erbB-2 byla spojena se špatnou prognózou (46).

6.3.3 Karcinomy vaječníků

Karcinom ovaríí je v současnosti nejproblematičtější nádorové onemocnění ženského genitálního systému. Podstatou problému je nemožnost včasné diagnostiky. Incidence ovariálního karcinomu se pohybuje kolem 22/100 000 žen. Ovariální karcinom se vyskytuje ve všech věkových skupinách v závislosti na histotypu. Některé epidemiologické studie udávají vyšší výskyt v industrializovaných zemích a u žen, které trpí ovariálními poruchami. Každá gravidita snižuje riziko vzniku ovariálního karcinomu o 10 %. Rovněž kojení a podvázání vaječníků snižují riziko vzniku onemocnění. Riziko vzniku ovariálního karcinomu u žen užívajících hormonální antikoncepci po dobu 2 let je sniženo o 20 % a po pěti letech užívání až o 60 %. Familiární výskyt tvoří asi 5–10 % všech ovariálních karcinomů.

Normální ovaria exprimují nízkou hladinu EGFR. Přítomnost EGFR byla detegována u 31 % normálních ovariálních tkání. Nadměrná exprese EGFR se vyskytuje u 35–70 % primárních ovariálních karcinomů (47). Zvýšená exprese EGFR je spojena s vyšší agresivitou tumoru a jeho metastázováním. Nebyla popsána korelace mezi stupněm exprese EGFR a histologickým typem ovariálního karcinomu (48). Úroveň exprese EGFR může sloužit jako prognostický faktor, protože pacientky s vyšší expresí EGFR jsou citlivější k chemoterapeutickým

zásahům. Rovněž protein c-erbB-2 je ve velmi malé míře exprimován v normálních ovariích (49). Velmi významná je vysoká korelace mezi amplifikací genu, nadměrnou expresí a přežíváním pacientek s ovariálním karcinomem. Pacientky vykazující vysokou amplifikaci genu pro c-erbB-2 nebo vysokou úroveň exprese c-erbB-2 měly kratší přežití (48). Dále pacientky s nadměrně exprimovaným c-erbB-2 odpovídaly později na primární terapii a vykazovaly vysoký podíl pooperačních komplikací. (50).

6.3.4 Karcinomy endometria a děložního krčku

Genetické změny provázející vývoj karcinomu endometria zahrnují mutace ras, které se vyskytují u 64 % primárních tumorů. Jasně důkazy pro význam amplifikace EGFR a e-erbB-2 nebyly přesvědčivé. Někteří autoři uvádějí zvýšenou expresi těchto proteinů, ale ani výsledky těchto analýz nejsou přesvědčivé. Zvýšená exprese c-erbB-2 byla popsána u 48 % endometriálních karcinomů (51). Některé studie popisují korelaci mezi zvýšenou expresí c-erbB-2 a metastázováním, kratším přežíváním a invazivitou (52). Jiné studie však význam nadměrné exprese c-erbB-2 nepotvrzují (53).

Karcinom děložního krčku představuje v celosvětovém měřítku druhý nejčastější zhoubný nádor u žen. Na etiologii tohoto typu nádoru se uplatňuje infekce lidskými typy papilomavirů (HPV), které jsou nejčastěji přenášeny pohlavním stykem. Nejčastějším histologickým typem je dlaždicobuněčný karcinom, který představuje až 85 % případů, podstatně menší skupinu tvoří adenokarcinomy. Incidence nádoru je v ČR mnohem vyšší než v jiných rozvinutých zemích. Snížená exprese EGFR a zvýšená exprese c-erbB-2 koreluje se zlepšeným přežíváním pacientů. Zvýšená exprese EGFR koreluje s výskytem dlaždicobuněčného karcinomu, zatímco zvýšená exprese c-erbB-2 koreluje s výskytem adenokarcinomu (54).

6.3.5 Karcinomy prostaty

Karcinomy prostaty patří v rozvinutých zemích k nejčastějším nádorům mužské populace.

EGFR je exprimován v normálním epitelu prostatických žláz, stejně jako v buňkách hyperplastických žlázek a nádorů. Role EGFR v normálních buňkách je stále neznámá, nicméně se zdá, že vzhledem k jeho expresi v bazálních buňkách napomáhá udržování integrity epitelu. Význam exprese EGFR u prostatických karcinomů není zatím příliš objasněn. Bylo dokázáno, že EGFR je nadměrně exprimován nejen u karcinomů, ale i v případě benigní prostatické hyperplasie (55). Prokázala se ko-exprese EGFR a TGF α (56). Mnoho úsilí bylo věnováno zkoumání vztahu mezi EGFR, jeho ligandy a androgeny. Některé studie popisovaly u karcinomů

prostaty nadměrnou expresi c-erbB-2 (57), zatímco jiné nadměrnou expresi c-erbB-2 neprokázaly (58, 59). Rovněž nebyla přesvědčivě prokázána korelace mezi nadměrnou expresí c-erbB-2, pokročilostí tumoru, histologickým gradingem a prognózou. Amplifikace c-erbB-2 nebyla u karcinomu prostaty prokázána, popř. byla zjištěna jen ve velmi malém počtu případů (60, 58).

6.4 Karcinomy mléčné žlázy

Karcinomy mléčné žlázy jsou nejčastější malignitou ženské populace a podílí se přibližně na 20 % úmrtí žen způsobených zhoubnými nádory. Předpokládá se, že 90 % karcinomů mléčné žlázy vzniká z buněk lokalizovaných v terminální duktulo-lobulární oblasti na základě existující premaligní léze.

Expres EGFR byla imunohistochemicky prokázána v lobulárních, duktálních a myoepiteliálních buňkách. Kromě toho je EGFR exprimován v některých typech mamárních buněčných linií a u 48 % mamárních karcinomů. Protein c-erbB-2 v nádorech může být aktivován mutací v transmembránovém regionu nebo může být nadměrně exprimován. Nadměrná exprese proteinu c-erbB-2 byla zjištěna u 25–30 % invazivních a metastázujících karcinomů mammy a amplifikace jeho genu ve 20 % invazivních duktálních karcinomů mammy. Nadměrná exprese c-erbB-2 je spojena s vysokým gradingem a rozsahem duktálních karcinomů in situ. (61). Pozitivita c-erbB-2 v duktálních karcinomech je spojena s vyšším invazivním potenciálem a schopností metastázovat. Nadměrná exprese c-erbB-2 je spojena s vnímavostí k chemoterapii a rezistencí k antiektrogenové terapii. Amplifikace/nadměrná exprese genu pro c-erbB-2 je nezávislým prognostickým a prediktivním markerem pro léčbu Herceptinem®. U karcinomů mammy byla rovněž zaznamenána vyšší exprese c-erbB-3, která korelovala s vyšším stupněm metastázování do lymfatických uzlin (63). Nadměrná exprese c-erbB-4 byla zaznamenána jen in vitro (63).

6.5 Karcinomy hlavy a krku

Karcinomy hlavy a krku (HNSCC) zahrnují především karcinomy dutiny ústní, karcinomy laryngu a karcinomy faryngu. Značná část těchto tumorů jsou dlaždicobuněčné karcinomy (SCC). Signifikantně vyšší hladina EGFR byla pozorována u larygeálních karcinomů ve srovnání s dysplastickými tkáněmi nebo normální laryngeální sliznicí (64). V patogenezi HNSCC je významný zejména EGFR. Jeho zvýšená exprese byla zaznamenána u 38–47 % HNSCC (65). Hladina EGFR se zvyšuje v pokročilejších stádiích tumorů a u tumorů špatně diferencovaných. Výrazné změny v expresi EGFR byly pozorovány ve fázi přechodu z dysplazie do stadia karcinomů. Ve srovnání

s karcinomy faryngu a dutiny ústní byla pozorována u laryngeálních tumorů nižší exprese EGFR. U HNSCC byla prokázána exprese ostatních členů rodiny c-erbB, a to c-erbB-2 (3–29 %), e-erbB-3 (21 %), c-erbB-4 (26 %). EGFR, c-erbB-2 a c-erbB-4 byly nadměrně exprimovány u invazivních stejně jako v in situ karcinomech, zatímco c-erbB-3 pouze u invazivních karcinomů (66).

6.6 Nádory mozku

6.6.1 Gliomy a astrocytomy

Astrocytární nádory patří mezi nejčastější mozkové nádory dospělého věku a představují až 50 % intrakraniálních malignit. V normálních astrocytech se v malé míře exprimují jak EGFR, tak i EGF a TGF α . Astrocyty, ependymální buňky a rozličné typy neuronů exprimují EGFR, kdežto normální gliální buňky jsou pro EGFR expresi negativní (67). Expres EGFR v gliomech koreluje se stupněm diferenciace tumoru. Nadměrná exprese EGFR byla pozorována u 40–50 % GBM (glioblastoma multiforme) a jen u 10 % anaplastických astrocytomů. U GBM souvisí nadměrná exprese EGFR s amplifikací příslušného genu. U 17 % GBM byla identifikována exprese deletované formy genu pro EGFR (EGFRvIII typ). Na rozdíl od zvýšené exprese c-erbB-2, která byla u meduloblastomů velmi častá, byla amplifikace EGFR pozorována v malé míře. Předpokládá se, že tento nález souvisí s jejich vysokou proliferací aktivitou (10).

6.6.2 Meningiomy

Meningiomy jsou od mezenchymu odvozené nádory, které tvoří druhý nejčastější typ primárních intrakraniálních tumorů. V tomto typu nádorů byla potvrzena zvýšená exprese EGFR, která však nebyla spojena s amplifikací genu (10).

6.7 Karcinomy štítné žlázy

U některých typů karcinomů štítné žlázy byla zaznamenána vyšší exprese EGFR, c-erbB-2 a TGF α . Pozitivita EGFR byla detegována u více než 90 % papilárních karcinomů a u 25 % folikulárních karcinomů. Expres EGFR u karcinomů štítné žlázy je spojena s výskytem vysoce maligních tumorů a zvýšeným rizikem relapsu. Zvýšená exprese EGFR není způsobena amplifikací genu. Expres c-erbB-2 byla nalezena u 70–80 % papilárních karcinomů (10).

7. Závěr a klinické důsledky

Byly podány četné důkazy, že buňky karcinomů, sarkomů a lymfoidních tumorů mohou produkovat růstové faktory, cytokiny a lymfokiny, které se mohou podílet na regulaci růstu, angiogeneze a metastázování tumoru, a tím mohou přispívat k roz-

voji onemocnění a ke vzniku lékové rezistence. To má význam pro řadu typů tumorů, které produkují množství peptidových mitogenů, jako jsou např. EGF, TGF α , amfiredulin (AMR) a CR-1. Efekt těchto růstových faktorů v kombinaci s expresí receptorů pro tyto mitogeny, jako je např. EGFR, c-erbB-2, c-erbB-3, popř. c-erbB-4 výrazným podílem přispívá k proliferaci nádorových buněk. Zvýšená syntéza růstových faktorů jako je EGF, TGF α a CR-1 a jejich receptorů jako je EGFR nebo c-erbB-2 může iniciovat maligní transformaci epitelových buněk in vitro a in vivo. Naopak zeslabení jejich aktivity nebo inhibice jejich exprese v buňkách karcinomů působením protilátek anti-EGFR nebo anti-c-erbB-2, popř. použitím antisens expresních vektorů mRNA nebo antisens oligonukleotidů, může výrazně potlačit proliferaci nádorových buněk in vitro a v určitých případech i in vivo tumorogenezi. Exprese TGF α , AMR, HRG α , EGFR a c-erbB-2 může být modulována jinými cytokiny a růstovými faktory, steroidními hormony, retinoidy, antiestrogeny, antiprogestiny a některými dalšími onkogeny. Tento fakt často přispívá k diverzitě signálních intracelulárních drah a tím k selhání následné cílené chemoterapie. Ve vývoji některých typů nádorů byla popsána zvýšená exprese některých růstových faktorů jako jsou TGF α a CR-1 a receptorů jako EGFR a c-erbB-2, vyskytující se v časných fázích vývoje premalignaních lézí jako papilomy v kůži, intestinální metaplasie v žaludku, adenomy tlustého střeva a štítné žlázy, játra indikovaná na HVB, atypické duktální hyperplasie nebo duktálních karcinomy in situ mammy, dysplasie epitelu močového měchýře nebo HPV pozitivní kondylomata a dysplasie děložního krčku. Tyto nálezy ukazují, že průkaz těchto znaků může sloužit jako marker maligní transformace. Produkce těchto proteinů okolními stromálními buňkami může ovlivňovat růst tumoru přes parakrinní interakce a iniciaci neovaskularizace. Zvýšená exprese těchto proteinů v buňkách primárních tumorů může urychlovat jejich invazivitu a migraci nádorových buněk a může usnadňovat následnou kolonizaci různých orgánů maligními buňkami.

Rozdíly v expresi těchto růstových faktorů a jejich receptorů v určitých typech karcinomů ukazují, že mohou být využity jako nové diagnostické a prognostické nádorové znaky, které mohou být potenciálním cílem pro selektivní terapii. V praxi se tento typ cílené terapie již využívá v případech c-erbB-1 nebo c-erbB-2, kdy do terapeutického arzenálu chemoterapeutik byly zařazeny humanizované monoklonální protilátky proti těmto proteinům. Zvýšené hladiny růstových faktorů, jako je TGF α nebo EGF v moči a v serózním výpotku melanomů prsu, tlustého střeva, mozku, močového měchýře, plic a jater nádorů pacientů naznačují, že tyto proteiny mohou

být rovněž využity v časně diagnostice a při stanovení prognózy, stejně jako při monitorování průběhu onemocnění po terapeutickém zásahu. V terapii nádorů exprimujících receptory c-erbB se uplatňuje několik základních přístupů. Prvním přístupem je použití monoklonálních protilátek, které se specificky váží na extracelulární domény nadměrně exprimovaných receptorů c-erbB, a tím brání jejich aktivaci. Z nejpoužívanějších monoklonálních protilátek jsou to např. Herceptin® (trastuzumab), který je využíván k léčbě pokročilých karcinomů mammy s a Erbitux® (cetuximab) určený zejména k terapii karcinomů hlavy a krku, plic a tlustého střeva s nadměrně exprimovaným EGFR. Kombinace obou protilátek byla navržena pro terapii karcinomu ovaríí. Druhým přístupem je použití konjugátů imunotoxinů a konjugátů ligandů s toxinem. Při tomto přístupu se využívá navázaných zkrácených forem exotoxinu *Pseudomonas* a jiných buněčných toxinů na protilátky nebo růstové faktory (především NRG, EGF a TGF α). Tyto konjugáty pak

vstupují do buňky přes receptory zprostředkovanou endocytózu a způsobují inhibici proteosyntézy. Třetím terapeutickým principem je použití tzv. antisens oligonukleotidů, které interagují s mRNA, a tím blokují translaci specifických celulárních proteinů. Posledním a často využívaným přístupem v terapii nádorů založené na c-erbB je použití nízkomolekulárních inhibitorů tyrozinkináz. V tabulce 2 jsou uvedena významná terapeutika s cíleným účinkem proti rodině receptorů c-erbB.

Práce byla podpořena grantem MSM 619 895 9216.

Ing. Ivo Überall, Ph.D.

Ústav patologie a Laboratoř molekulární patologie
LF UP v Olomouci
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
e-mail: I.Uberall@seznam.cz

Literatura

1. Carpenter G. EGF: new trick for an old growth factor. *Curr Opin Cell Biol*, 1993; 5: 261–264.
2. Kajikawa K, Yasui W, Sumiyoshi H et al. Expression of epidermal growth factor in human tissues: immunohistochemical and biochemical analysis. *Virch Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1991; 418: 27–32.
3. Derynck R. The physiology of transforming growth factor- α . *Adv Cancer Res*, 1992; 58: 27–52.
4. Yasui W, Zhong-Qiang J, Kuniyasu H et al. Expression of transforming growth factor alpha in human tissues: immunohistochemical study and Northern blot analysis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1992; 421: 513–519.
5. Plowman GD, Green JM, McDonald VL et al. The amphiregulin gene encodes a novel epidermal growth factor-related protein with tumor-inhibitory activity. *Mol Cell Biol*, 1990; 10: 1969–1981.
6. Kenney N, Johnson G, Selvam MP. Transforming growth factor α (TGF α) and amphiregulin (AR) as autocrine growth factor in nontransformed, immortalized 184AN4 human mammary epithelial cells. *Mol Biol Differ*, 1993; 1: 163–184.
7. Naglich JG, Metherall JE, Russel DW, Eidels L. Expression cloning of diphtheria toxin receptor: identity with a heparin-binding EGF-like growth factor precursor. *Cell*, 1992; 69: 1051–1061.
8. Fen Z, Dhadly MS, Yoshizumi M. Structural organization and chromosomal assignment of the gene encoding the human heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor/diphtheria toxin receptor. *Biochemistry*, 1993; 32: 7932–7938.
9. Peles E, Ben-Levy R, Tzahar E, Liu N, Wen D, Yarden Y. Cell-type specific interaction of Neu differentiation factor (NDF/heretulin) with Neu/HER2 suggest complex ligand receptor relationships. *EMBO*, 1993; 12: 961–971.
10. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev in Oncol/Hemat*, 1995; 19: 183–232.
11. Xu Y-H, Richert N, Ito S, Merlino GT, Pastan I. Characterization of epidermal growth factor receptor in malignant and normal cell lines. *Proc Natl Acad Sci*, 1984; 81: 7308–7312.
12. Khazale K, Schirmacher V, Lichtner RB. EGF receptor in neoplasia a metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 1993; 12: 255–274.
13. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with Neu oncogene. *Science*, 1985; 230: 1132–1139.
14. Prigent SA, Lemoine NR. The type I (EGFR-related) family of growth factor receptors and their ligands. *Prog Growth Factor Res*, 1992; 4: 1–24.
15. Graus-Porta D, Beerly R, Daly JM, Hynes NE. ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. *EMBO J*, 1997; 16: 1647–1655.
16. Prigent SA, Lemoine NR, Hughes CM, Plowman GD, Selden C, Gullick WJ. Expression of the c-erbB-3 protein in normal adult and fetal tissues. *Oncogene*, 1992; 7: 1273–1278.
17. Marmor MD, Skaria BK, Yarden Y. Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. *Int J Rad Oncol Biol Phys*, 2004; 58: 903–913.
18. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Peish CE, Bell JA et al. Expression and co-expression of the members of the epidermal growth factor (EGFR) family in invasive breast carcinoma. *Br J Cancer*, 2004; 91: 1532–1542.
19. Lee JC, Wang ST, Chow NH, Yang HB. Investigation of the prognostic value of coexpressed erbB family members for the survival of colorectal cancer patients after curative surgery. *Eur J Cancer*, 2002; 38: 1065–1071.
20. Klijn JG, Berns PM, Schmitz PI, Foekens JA. The clinical significance of epidermal growth factor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocr Rev*, 1992; 13: 3–17.
21. DiGiovanna MP, Stern DF, Edgerton SM, Whalen SG, Moore D, Thor AD. Relationship of epidermal growth factor receptor expression to ErbB-2 signaling activity and prognosis in breast cancer patients. *J Clin Oncol*, 2005; 23: 1152–1160.
22. Normanno N, De Luca A, Bianco C, Strizzi L et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene*, 2006; 366, 2–16.
23. Wilkstrand CJ, Reist CJ, Archer GE, Zalutsky MR, Bigner DD. The class III variant of the epidermal growth factor receptor (EGFRvIII): characterization and utilization as an immunotherapeutic target. *J Neurovirology*, 1998; 4: 148–158.
24. Kuan CT, Wikstrand CJ, Bigner DD. EGFR mutant receptor vIII as a molecular target in cancer therapy. *Endocr Relat Cancer*, 2001; 8: 83–96.
25. Pedersen MW, Meltorn M, Damstrup L, Poulsen HS. The type III epidermal growth factor receptor mutation. Biological significance and potential target for anticancer therapy. *Ann Oncol*, 2001; 12: 745–760.

26. Nagahara H et al. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor in colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2005; 11: 1368–1371.
27. Kameda T, Yasui W, Yoshida K et al. Expression of ERBB2 in human gastric carcinomas: relationships between p185ERBB2 expression and the gene amplification. *Cancer Res*, 1990; 50: 8002–8009.
28. Uchino S, Tsuda H, Maruyama K, Kinoshita T, Sasako M, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S. Overexpression c-erbB-2 protein in gastric cancer. Its correlation with long-term survival of patients. *Cancer*, 1993; 72: 3179–3184.
29. Messa C, Russo F, Caruso MG, Di Leo A. EGF, TGF- α and EGF-R in Human Colorectal Adenocarcinoma. *Acta Oncologica*, 1998; 37: 285–289.
30. Daveau M, Scotte M., Francois A, Coulouarn C et al. Hepatocyte growth factor, transforming growth factor α , and their receptor as combined markers of prognosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog*, 2003; 36: 130–141.
31. Zhao YN, Cao J, Wu FX, Ou C et al. Expression and significance of EGF mRNA and EGFR mRNA in hepatocellular carcinoma. *Ai Zheng*, 2004; 23: 762–766.
32. De Cicco LA, Kong J, Ringer DP. Carcinogen-induced in liver epidermal growth factor receptor distribution during the promotion stage of hepatocarcinogenesis in rat. *Cancer Lett*, 1997; 111: 145–156.
33. Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, Sugimachi K. Immunohistochemical evidence of autocrine growth factor in adenocarcinomas of the human lung. *Cancer Res*, 1990; 50: 7077–7080.
34. Veale D, Kerr N, Gibson GJ, Kelly PJ, Harris AL. The relationship of quantitative epidermal growth factor receptor expression in non-small cell lung cancer to long term survival. *Br J Cancer*, 1993; 68: 162–165.
35. Garcia de Pallazo IE, Adams GP, Sundaresan P et al. Expression of mutated epidermal growth factor receptor by non-small cell lung carcinoma. *Cancer Res*, 1993; 53: 3217–3220.
36. Volm M, Efferth T, Mattern J. Oncoprotein (c-myc, c-erbB-1, c-erbB-2, c-fos) and suppressor gene product (p53) expression in squamous cell carcinomas of the lung: clinical and biological correlations. *Anticancer Res*, 1992; 12: 11–20.
37. Kern JA, Schwartz DA, Nordberg JE et al. p185neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. *Cancer Res*, 1990; 50: 5184–5191.
38. Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, Sugimachi K. Prognostic value of c-erbB-2 protein expression in human lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer*, 1991; 27: 1372–1375.
39. Tsai C-M, Chang K-T, Perng R-P et al. Correlation of intrinsic chemoresistance of non-small-cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. *J Natl Cancer Inst*, 1993; 85: 897–901.
40. Lai SL, Perng RP, Hwang J. p53 gene status modulates the chemosensitivity of nonsmall cell lung cancer cells. *J Biomed Sci*, 2000; 7: 64–70.
41. Volm M, Kästel M, Mattern J, Efferth T. Expression of resistance factors (P-glycoprotein, glutathione S-transferase- π , and topoisomerase II) and their interrelationships to proto-oncogene products in renal cell carcinoma. *Cancer*, 1993; 71: 3981–3987.
42. Gomella LG, Anglard P, Sargent ER, Robertson CN, Kasid A, Linehan WM. Epidermal growth factor receptor gene analysis in renal cell carcinoma. *J Urol*, 1989; 143: 191–193.
43. Weider U, Peter S, Strohmeyer T, Hussnätter R, Ackermann R, Sies H. Inverse relationship of epidermal growth factor receptor and HER2/neu gene expression in human renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 1990; 50: 4504–4505.
44. Berger MS, Greenfield C, Gullick WJ et al. Evaluation of epidermal growth factor receptor in bladder tumors. *Br J Cancer*, 1987; 56: 533–537.
45. Coombs LM, Pigott DA, Sweeney E et al. Amplification and over-expression of c-erbB-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Br J Cancer*, 1991; 63: 601–608.
46. Moriyama M, Akiyama T, Yamamoto T et al. Expression of c-erbB-2 gene product in urinary bladder cancer. *J Urol*, 1991; 145: 423–427.
47. Owens OJ, Stewart C, Leake RE, McNicol AM. A comparison of biochemical and immunohistochemical assessment of EGFR expression in ovarian cancer. *Anticancer Res*, 1992; 12: 1455–1458.
48. Henzen-Logmans SC, van der Burg MEL, Foekens JA et al. Occurrence of epidermal growth factor receptors in benign and malignant ovarian tumors and normal ovarian tissues: an immunohistochemical study. *J Canc Res Clin Oncol*, 1992; 118: 303–307.
49. Mileo AM, Fanuele M, Battaglia F et al. Preliminary evaluation of HER-2/neu oncogene and epidermal growth factor receptor expression in normal and neoplastic human ovaries. *Int J Biol Markers*, 1992; 7: 47–51.
50. Berchuck A, Kamel A, Whitaker et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*, 1990; 50: 4087–4091.
51. Rolitsky CD, Theil KS, McGaughey VR, Copeland LJ et al. HER-2/neu amplification and overexpression in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*, 1999; 18: 138–143.
52. Berchuck A, Rodrigues G, Kinney RB, Soper JT et al. Overexpression of HER-2/neu in endometrial cancer is associated with advanced stage disease. 1991; 164: 15–21.
53. Gassel AM, Backe J, Krebs S, Schon S et al. Endometrial carcinoma: immunohistochemically detected proliferation index is a prognosticator of long term outcome. *J Clin Pathol*, 1998; 51: 25–29.
54. Lee MCh, Shrieve DC, Zempolich KA, Lee RJ et al. Correlation between human epidermal growth factor receptor family (EGFR, HER2, HER3, HER4), phosphorylated Akt (P-Akt), and clinical outcomes after radiation therapy in carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol*, 2005; 99: 415–421.
55. Kumar VL, Majumder P, Gujral S, Kumar V. Comparative analysis of epidermal growth factor receptor mRNA levels in normal, benign, hyperplastic and carcinomatous prostate. *Cancer Lett*, 1998; 134: 177–180.
56. Cohen DW, Simak J, Fair WR, Melamed J, Scher HI, Cordon-Cero C. Expression of transforming growth factor- α and the epidermal growth factor receptor in human prostate tissues. *J Urol* 1994; 152: 2120–2124.
57. Signoretti S, Montironi R, Manola J, Altissimi A et al. HER-2-neu expression and progression toward androgen independence in human prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2000; 92: 1918–1925.
58. Reese DM, Small EJ, Magrane G, Waldman FM et al. HER2 protein expression and gene amplification in androgen-independent prostate cancer. *Am J Clin Pathol*, 2001; 116: 234–239.
59. Savinainen KJ, Saramaki OR, Linja MJ, Bratt O, Tammela TL et al. Expression and gene copy number analysis of ERBB2 oncogene in prostate cancer. *Am J Pathol*, 2002; 160: 339–345.
60. Fournier G, Latil A, Amet Y, Abalain JH et al. Gene amplification in advanced – stage human prostate cancer. *Urol Res*, 1995; 343–347.
61. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA et al. Studies of the HER2/neu protooncogenes in human breast and ovarian cancer. *Science*, 1989; 244: 707–712.
62. Lemoine NR, Barnes DM, Hollywood DP et al. Expression of the ERBB3 gene product in breast cancer. *Br J Cancer*, 1992; 66: 1116–1121.
63. Plowman GD, Culouscou JM, Whitney GS et al. Ligand specific activation of HER4/p180erbB4, a fourth member of the epidermal growth family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; 90: 1746–1750.
64. Christensen ME, Therkildsen MH, Hansen BL, Albeck H, Hansen GN, Bretlau P. Epidermal growth factor receptor expression on oral mucosa dysplastic epithelia and squamous cell carcinomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 1992; 249: 243–247.
65. Ongkeko WM, Altuna X, Weisman RA et al. Expression of protein tyrosine kinases in head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 2005; 124: 71–76.
66. Kalayankrishna S, Grandis JR. Epidermal Growth Factor Receptor Biology in Head and Neck Cancer. *J of Clin Oncol*, 2006; 24: 2666–2672.
67. Torp SH, Helseth E, Dalen A, Unsgaard G. Epidermal growth factor receptor expression in human gliomas. *Cancer Immunol Immunother*. 1991; 33: 61–64.
68. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signaling network. *Nat Rev*, 2001; 2: 127–137.
69. Hynes NE, Lane H. ErbB receptors and cancer: The complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer*, 2005; 5: 341–354.