

Mikro-RNS-expresszió vizsgálata adenoid cysticus emlő- és nyálmirigy-carcinomákban

Kiss Orsolya dr.¹ ■ Tőkés Anna-Mária dr.³
Spisák Sándor dr.² ■ Szilágyi Anna dr.⁴ ■ Lippai Norbert dr.⁵
Szász A. Marcell dr.¹ ■ Kulka Janina dr.¹

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,

¹II. Patológiai Intézet, ²II. Belgyógyászati Klinika, Budapest

³Magyar Tudományos Akadémia–Semmelweis Egyetem, Daganatprogresszió Kutatócsoport, Budapest

⁴Szent György Kórház, Székesfehérvár, ⁵Jász-Nagykun-Szolnok Megyei Hetényi Géza Kórház, Szolnok

Bevezetés: Az adenoid cysticus carcinoma a nyálmirigyeket érintő rosszindulatú daganat, ritkán azonban az emlő mirigyeiből is kiindulhat. A nyálmirigyből kiinduló forma nagyon agresszív kimenetelt mutat, az emlőmirigy adenoid cysticus tumora azonban általában igen kedvező prognózissal bír. **Célkitűzés:** A szerzők célul tűzték ki az emlőmirigyből és nyálmirigyből kiinduló adenoid cysticus carcinoma esetek miRNS-mintázatának összehasonlítását. **Módszer:** Két-két, emlőből és nyálmirigyből származó adenoid cysticus carcinoma és egy-egy normális emlő- és nyálmirigyszövetet vizsgáltak. A miRNS-profil Affymetrix® Gene Chip segítségével határozták meg. **Eredmények:** Egyes miRNS-ek expressziója emlő- és nyálmirigy-eredetű tumorokban eltért a normális kontrolljukhoz képest: a let-7b expressziója a nyálmirigy-eredetű tumorokban fokozott, míg emlőmirigyből származó adenoid cysticus carcinoma szövetekben csökkent volt, a miR-24 expressziója pedig ezzel ellentétesen változott: emlőeredetű adenoid cysticus carcinoma szövetekben emelkedést mutatott, míg a nyálmirigy tumoraiban csökkent mértékben expresszáldott. A miR-181a-2* kizárólag a nyálmirigy-eredetű adenoid cysticus carcinoma esetekben volt detektálható. **Következtetések:** A gének poszttranszkripcionális szabályozása révén egyes miRNS-ek eltérő expressziója részleges magyarázatot adhat a két szerv adenoid cysticus tumorainak eltérő klinikai lefolyására. *Orv. Hetil., 2013, 154, 963–968.*

Kulcsszavak: adenoid cysticus carcinoma, mikro-RNS, emlő, nyálmirigy

MicroRNA-profiling in breast- and salivary gland-derived adenoid cystic carcinomas

Introduction: Adenoid cystic carcinoma is a salivary gland-derived malignant tumor, but rarely it can originate from the breast, too. The salivary gland-derived form shows a very aggressive clinical outcome, while adenoid cystic carcinoma of the breast has mostly a very good prognosis. **Aim:** The aim of the authors was to compare the miRNA-expression profile of breast- and salivary gland-derived cases. **Method:** The miRNA-profiles of two salivary gland derived and two breast-derived adenoid cystic carcinoma tissues as well as one normal breast and one salivary gland tissues were analysed using the Affymetrix® Gene Chip. **Results:** The expression of some miRNAs differed in the tumor tissues compared to their controls: the let-7b was overexpressed in salivary gland-derived adenoid cystic carcinoma, while decreased in breast-derived adenoid cystic carcinoma. In addition, the miR-24 was decreased in salivary gland-derived but overexpressed in breast-derived adenoid cystic carcinomas. The miR-181a-2* was only detected in salivary gland-derived adenoid cystic carcinomas. **Conclusions:** Through post-transcriptional regulation of the genes, the diverse expression of some miRNAs may partially explain the diverse clinical outcome of salivary gland-derived and breast-derived adenoid cystic carcinomas. *Orv. Hetil., 2013, 154, 963–968.*

Keywords: adenoid cystic carcinoma, micro-RNA, breast, salivary gland

(Beérkezett: 2013. április 9.; elfogadva: 2013. május 16.)

A „Dr. Fehér János Emlékére Alapítvány”-pályázat díjával kitüntetett dolgozat.

Rövidítések

ACC = adenoid cysticus carcinoma; bACC = (breast-derived ACC) emlőmirigy-eredetű ACC; ER = (estrogen receptor) ösztrogénreceptor; miRNA = (microRNA) mikro-RNS; PgR = progesteronreceptor; sACC = (salivary gland-derived ACC) nyálmirigy-eredetű ACC

Hasonlóan a nyálmirigyekhez, az emlő is tubuloacinaris mirigyekből felépülő külső elválasztású mirigyként funkcionál, amely lehetővé teszi, hogy egyes nyálmirigyszerű daganatos elváltozások az emlőben is előforduljanak. Az emlő „nyálmirigy jellegű” tumorai az összes rosszindulatú emlődaganatnak csupán mintegy 2%-át teszik ki [1], mégis számos daganatféléseget sorolhatunk ebbe a csoportba. Ezek az elváltozások nemcsak morfológiailag, hanem klinikai lefolyásukat tekintve is eltérnek egymástól: míg a malignus myoepithelioma a csoport egyik rossz prognózisú képviselője, az emlő adenoid cysticus carcinómája (breast-derived adenoid cystic carcinoma – bACC) egy igen kedvező klinikai lefolyást mutató daganattípus. Az adenoid cysticus carcinoma (ACC) elsőként *Robin* és *Labouldene* által került felismerésre 1853-ban, a daganat leírása azonban *Billroth* nevéhez fűződik, aki a bőrben talált elváltozást akkor cylindromának nevezte el. A bőr cylindromájával azonos szövettani kép azonban számos más szervben is megjelenhet, így előfordul kis és nagy nyálmirigyekben, a hallójáratban, a nyelvben, a nyelöcsőben, a méhnyakban, a könnymirigyben, a dűlmirigyben, a hüvelyben, illetve az emlőben is. Az ACC különlegessége, hogy ugyan az egyes szervekben szövettani megjelenését tekintve azonos, kiindulási szervtől függően eltérő klinikai lefolyást képviselhet: míg bACC esetében nagyon kedvező klinikai kimenetel jellemző (a tízéves túlélési arány közel 90%-os [2]), a nyálmirigyből kiinduló forma (salivary gland-derived adenoid cystic carcinoma – sACC) esetében a betegek átlagos tízéves túlélési aránya csupán 50% körüli [3]. Különbség mutatkozik az adenoid cysticus carcinoma két szervben való előfordulásának gyakorisága között is: az ACC a rosszindulatú nyálmirigydaganatok mintegy negyedet teszi ki [4] (a kis nyálmirigyek esetében a leggyakrabban előforduló rosszindulatú daganattípus [5]), ezzel szemben az emlőből kiinduló ACC-k az összes rosszindulatú emlődaganatnak pusztán 0,1%-át jelentik [6]. Az eltérő lokalizációkból kiinduló ACC kezelhetősége között is jelentős különbség van: míg az sACC egy lokálisan agresszív tumor, amely az esetek többségében a gondos, komplex kezelési eljárások (sebészi, kemo- és sugárterápia) ellenére is többszörösen recidivál, a bACC a megfelelő kezelési procedúra alkalmazása mellett az esetek többségében teljesen gyógyítható és ritkán recidivál, illetve nyirokcsomó- és távoli áttéteket is ritkán képez [7].

A rosszindulatú emlődaganatok diagnosztikája az elmúlt években a hagyományos, szövettani osztályozáson

felül egy újabb, molekuláris csoportosítással is kiegészült. A beosztás alapját az adja, hogy génexpressziós vizsgálatok alapján a rosszindulatú emlődaganatok alcsoportokat képeznek [8]. A *Perou* által alkotott új osztályozás a daganatok génexpressziós profilja alapján öt nagyobb csoportot különít el (luminal A, luminal B, Her2-pozitív, tripla negatív, normal-like tumorok), s ezek a csoportok viszonylag jól megfigyelhetők az immunhisztokémiai fenotípusnak [9, 10]. A rosszindulatú emlődaganatok molekuláris klasszifikációjának egyik előnye, hogy általa előre jobban megbecsülhető a betegség kimenetele: míg a luminalis A csoportba sorolt daganatok közé általában a legjobb prognózisú esetek tartoznak, a Her2+ és tripla negatív csoport tagjai a legkedvezőtlenebb klinikai lefolyást képviselik [11]. Molekuláris mintázata alapján az emlőből kiinduló ACC bár a rosszindulatú emlődaganatok legkedvezőtlenebb prognózissal bíró molekuláris alcsoportjába, a tripla negatív emlőtumorok közé tartozik [8, 11] – morfológiailag (fenotípusosan) és molekulárisan (genotípusosan) is nagyon agresszív lefolyást sejtet –, klinikai lefolyását tekintve mégis az egyik legkedvezőbb klinikai kimenetelt képviselő elváltozásnak számít. Az emlőből kiinduló ACC-s esetek kedvező prognózisuk miatt nem csak az emlő rosszindulatú daganatai közül tűnnek ki: a nyálmirigyből kiinduló megfelelőjükhöz képest is sokkal kedvezőbb klinikai kimenetellel bírnak. Mivel a két szervből kiinduló ACC közti különbséget szövettani szinten semmi sem jelzi, feltehetően molekuláris szinten kell választ találnunk a két daganat prognózisbeli különbségének okára. Az elmúlt évtizedek során számos kutatás irányult ezeknek a molekuláris jellegzetességeknek a feltárására, amelyek között többnyire olyan molekuláris eltéréseket sikerült azonosítani, amelyek mindkét daganatra jellemzőek. Emellett ugyan kis számban azonosítottak már olyan molekuláris eltéréseket is, amelyek csak az emlőből, illetve csak a nyálmirigyekből kiinduló ACC-tumorokra jellemzőek, ezek egyike sem ad teljes körű magyarázatot a két szervből kiinduló ACC-k eltérő klinikai lefolyására. A génszintű eltérések mellett feltételezhetően összetett epigenetikai hatások is részt vesznek a daganatok viselkedésének irányításában, amelyek bonyolult hálózatok révén szabályozzák a daganatos sejtek fehérjeszintézisét.

Az elmúlt évtizedek egyik legjelentősebb felfedezését a mikro-RNS-ek (miRNS) jelentették, amelyek poszttranszkripcionális szabályozás révén befolyásolni képesek a gének működését. A '90-es évekig „hulladék RNS-ként” emlegetett molekulák a bázispárosodás elveinek megfelelően kapcsolódni tudnak a szabályozandó gének mRNS-eihez, amely során gátolják azok transzlációját, illetve indukálják degradációját [12]. Ezek a rövid (19–22 nukleotid hosszúságú) egyszálú RNS-ből álló molekulák a bázispárosodás szabályainak megfelelően több génhez is kötődhetnek, egy miRNS akár több száz gén szabályozására is képes lehet, míg egy gént akár több

miRNS is regulálhat. A miRNS-ek hatása a legtöbb esetben gátló: működésük következtében a transláció nem megy végbe, tehát az mRNA-ból kevesebb fehérje képződik. A miRNS-ek szövetspecifikusak, tehát minden szövet egy rá jellemző miRNS-mintázattal rendelkezik, amely gyakorlatilag ujjlenyomatként szolgál az adott szövet felismerése során [13]. Mivel a miRNS-ek rendkívüli szerepet töltenek be a szövetek elváltozásainak kialakulásában, szerepük a rosszindulatú daganatok kialakulásában és terjedésében is jelentős. A rosszindulatú daganatok molekuláris vizsgálata során a génszintű és fehérjeszintű feltérképezés mellett azok epigenetikai módosulásait is figyelembe kell vennünk ahhoz, hogy az adott daganatban zajló folyamatokat teljes mértékben megérthessük.

Kutatásunk célja emlőből, illetve nyálmirigyekből kiinduló ACC-daganatok miRNS-profiljának meghatározása volt. Mivel a miRNS-ek poszttranszkripcionális szinten szabályozhatják a gének működését, a miRNS-profilokban mutatkozó eltérések, feltételezéseink szerint, a későbbiekben esetlegesen hozzájárulhatnak az eltérő lokalizációból kiinduló ACC-esetek eltérő klinikai viselkedésének megértéséhez.

Módszer

Eseteinket a Semmelweis Egyetem II. Patológiai Intézetének adatbázisából azonosítottuk. Az emlőből kiinduló ACC-eseteket a székesfehérvári Szent György Kórházból, illetve a Jász-Nagykun-Szolnok Megyei Hetényi Géza Kórházból küldték el számunkra konzultációs célból. Vizsgálatunkhoz két, nyálmirigyből származó adenoid cysticus carcinoma esetet (salivary gland-derived ACC – sACC), illetve két, emlőből származó ACC-esetet (breast-derived ACC – bACC) azonosítottunk. Minden tumoros mintánk nőbetegekből származott, a nyálmirigyből származó ACC-eseteink egyike sinus maxillaris eredetű volt, a másik a glandula submandibularisból indult ki. Kontrollként egészséges nyálmirigyből, illetve egészséges emlőből származó szöveteket alkalmaztunk (egy-egy eset). Az eseteinkből származó formalin-fixált paraffinba ágyazott (formalin-fixed paraffin embedded – FFPE) szöveti blokkokból 10-10 darab 5 µm vastag natív metszetet készítettünk, amelyeket a HE-festett metszetek alapján makrodisszekáltunk, lehetővé téve ezáltal, hogy csak a reprezentatív területekről származó szövetminták kerüljenek további feldolgozásra. A szükséges makrodisszekálást követően eseteinkből RNS-t izoláltunk (Qiagen RNeasy mini kit; Qiagen, Hilden, Németország), majd minőség-ellenőrzést követően (Agilent Bioanalyzer Pico6000 chip kit; Agilent, Palo Alto, CA, Amerikai Egyesült Államok) meghatároztuk az izolált RNS mennyiségét (Qubit fluorometric RNA assay; Life Technologies, Gand Island, NY, Amerikai Egyesült Államok). Mintáinkat biotinnal jelöltük a Genisphere HSP labeling kit (Genisphere, Hatfield, PA, Amerikai Egyesült Államok) segítségével, amelyhez min-

tánként 1 µg RNS-t használtunk fel a gyártó utasításainak megfelelően. A megjelölt RNS-t egy olyan vizsgálati felszínnel hibridizáltattuk (Affymetrix miRNA arrays; Affymetrix, Santa Clara, CA, Amerikai Egyesült Államok), amely az összes eddig ismert humán miRNS komplementerét tartalmazta. A hibridizáció mértéke korrelált a mintáinkban lévő miRNS expressziójának mértékével. Biotinnal jelölt mintáink streptavidin-phycoerythrin komplexszel való jelölése révén a hibridizáció mértékét a minták fotointenzitásának mérésével tudtuk meghatározni. A mennyiségi kiértékelést egy szoftver segítségével végeztük (miRNA QC Tool software; Affymetrix, Santa Clara, CA, Amerikai Egyesült Államok). Eredményeink alapján a legjelentősebb eltérést mutató miRNS-ek esetében egy integrált, online elérhető adatbázis (miRecords) segítségével meghatároztuk azok lehetséges célgénjeit. A miRecords egy olyan adatbázis, amely 11 adatbázis integrált eredményeit tartalmazza (DIANA-microT, MicroInspector, miRanda, MirTarget2, miTarget, NBmiRTar, PicTar, PITA, RNA22, RNAhybrid és TargetScan/TargetScanS) és lehetővé teszi a miRNS-ek már validált célgénjeinek azonosítását is.

Eredmények

Az Affymetrix chip segítségével vizsgálható humán miRNS-ek közül egyes miRNS-ek expressziója mind az emlő-, mind a nyálmirigy-eredetű tumorokban eltért normálkontrolljukhoz képest. A let-7b expressziója nyálmirigy-eredetű szövetekben normális szöveti kontrolljaikhoz viszonyítva fokozódott, míg ugyanennek a miRNS-nek a szintje emlőeredetű tumoros esetekben csökkent az egészséges kontrollokhoz képest. A miR-24 expressziójának mértéke ezzel éppen ellentétesen változott: sACC-esetekben a normálkontroll szövetekhez képest csökkent az expressziója, míg az emlőből származó tumoros mintákban a miR-24 szintje fokozódott. Egy miRNS expresszióját kizárólag a nyálmirigy-eredetű ACC-esetekben tudtuk detektálni: a miR-181a-2* sem az emlőből származó tumoros szövetekben, sem a normálkontroll szövetekben (sem emlő-, sem nyálmirigyszövetben) nem expresszáldott. A let-7b, a miR-24 és a miR-181a-2* miRNS-ek célgénjeinek azonosítását a miRecords adatbázis alapján végeztük. Ennek az elemzésnek az eredményei azt mutatják, hogy a let-7b szabályozószerepét validálási vizsgálatok hét gén esetében is igazolták, amelyek a LIN28 (lin-28 homolog A), a CDK6 (cyclin-dependent kinase 6), a CCND1 (cyclin D1), a CDC25A (cell division cycle 25A), a BCL7A (B-cell CLL/lymphoma 7A), a HMGA2 (high mobility group AT-hook 2) és a KRT (keratin) gének.

Ugyancsak a miRecords alapján történt elemzés szerint a miR-24 is számos gén szabályozásában vehet részt. Ezek közé a gének közé sorolható a NOTCH1 (Notch homolog 1), a MAPK14 (mitogen-activated

protein kinase 14), a CDK4 (cyclin-dependent kinase 4), a CDKN2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A), az ACVR1B (activin A receptor, type IB), a DHFR (dihydrofolate reductase), az AURKB (aurora kinase B), a MYC (v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog), a CCNA2 (cyclin A2), a CDC2 (cell division cycle 2), az MKK4 (MAP kinase kinase 4), az E2F2 (E2F transcription factor 2), a FEN1 (flap structure-specific endonuclease 1) és a BRCA1 (breast cancer 1). A miR-181a-2* feltételezhető célgénjei között a BCL2 (B-cell CLL/lymphoma 2), a PLAG1 (leiomorphic adenoma gene 1), a HOXA11 (homeobox A11), a CDKN1B (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B/p27), az ESR1 (estrogen receptor 1), az NLK (nemo-like kinase), a CDX2 (caudal type homeobox 2), illetve a GATA6 (GATA binding protein 6) szerepelnek.

Megbeszélés

Az adenoid cysticus carcinoma egy olyan malignus tumor, amely az emlőből és a nyálmirigyekből is kiindulhat. A két szervből kiinduló forma ugyan szövet-tanilag teljesen azonos, előfordulásának gyakorisága és klinikai lefolyása eredettől függően jelentős eltéréseket mutat. A két szerv eltérő klinikai kimenetelére feltételezhetően molekuláris eltérések adhatnak választ, így számos korábbi tanulmány vizsgálta már a bACC és az sACC-tumorkok molekuláris jellegzetességei közötti különbségeket. Az adenoid cysticus carcinomákban előforduló legjellegzetesebb molekuláris eltérés egy transzlokáció, amely mind az emlőből, mind a nyálmirigyekből kiinduló tumorkok egy részében azonosítható. A 6-os és a 9-es kromoszóma közötti transzlokáció – t(6;9)(q22–23;p23–24) – a MYB és az NFIB gének közötti fúzió kialakulásához vezethet, amely szintén egyedi az ACC-daganatok körében [14]. A Myb transzkripció faktort kódoló MYB gén fokozott expressziója ismert jelenség rosszindulatú emlődaganatokban, ahol feltehetően hozzájárul a daganatos kolóniák kialakulásához is [15]. A MYB/NFIB fúziós gén jelenléte ACC-tumorkok esetében igazoltan nagyobb arányban figyelhető meg hasonló differenciáltságú tripla negatív emlőtumorkokhoz képest, és ezekben a tumorkokban a MYB gén expressziója is nagyobb mértékű a többi tripla negatív daganathoz viszonyítva [16]. Ugyanezen adatok alapján feltételezhető, hogy a fokozott MYB-expressziót a fúziós gén megléte okozza, ennek létrejöttében azonban valószínűleg egyéb mechanizmusok is szerepet játszhatnak: nem minden olyan ACC-daganatban található meg az említett fúziós gén, amelyben fokozott MYB-expresszió figyelhető meg. Mivel a MYB gén a differenciálódás és az apoptózis gátlása révén védő szerepet tölt be rosszindulatú emlődaganatokban [17], fokozott expressziója részben hozzájárulhat a daganat kedvező prognózisához is, míg például a tripla negatív tumorkok kedvezőtlen lefolyását talán részben éppen a MYB gén csökkent expressziója okozza. Elképzelhető,

hogy a MYB gén csökkent expressziójának oka epigenetikai hatásoknak tudható be, így a gén szabályozásának további vizsgálata akár terápiás célpontot is jelenthet a jövőben a kedvezőtlen prognózist képviselő emlődaganatok kezelése során. Az említett transzlokáció túl a c-KIT onkogén fokozott expressziója is előfordulhat mind bACC-, mind sACC-tumorkokban, ahogyan néhány kromoszómaszintű eltérés is: funkcióvesztés a 6q locuson, funkciónyerés a 14-es és a 16-os kromoszóma hosszú karján, illetve a 20-as kromoszóma rövid és hosszú karján [18]. A CCND1, a cortactin, az MDM2 és a pAKT onkogének fokozott expressziója eddig csupán nyálmirigy-eredetű ACC-esetekben került leírásra, míg a PTEN és a PIK3CA gének mutációi csak emlőtumor-eredetű bACC-esetekben igazolódtak [18]. Mivel ezek a gének nagyon fontos szerepet töltenek be a sejtciklus, az apoptózis és a sejtek migrációjának szabályozásában, illetve található közöttük ismert tumorszuppresszor (PTEN), illetve onkogén (PIK3CA) is, további vizsgálatuk adenoid cysticus carcinoma esetekben elengedhetetlen a daganatok viselkedésbeli különbségeinek magyarázatához.

A miRNS-profil minden szövetnek egyedi tulajdonsága, amely a szövetet érő hatásokra módosulhat: akár egy átmeneti gyulladás vagy sérülés, akár rosszindulatú folyamatok következtében is megváltozhat a szövetek miRNS-expressziós profilja, amely „patológiás ujjlenyomatként” egyedi jellemzőjét alkotja az adott elváltozásnak. A miRNS-ek expressziós mintázat vizsgálatával tehát a szövetek pillanatfelvételét készíthetjük el. A génexpresszió szabályozása révén a miRNS-ek már az egyedfejlődés kezdetétől fogva részt vesznek az életani folyamatok szabályozásában, biztosítva ezzel a gének működésének összehangoltságát, a megfelelő fehérjeexpressziós mintázat kialakulását [19]. Az anyagcsere-folyamatok szabályozásában betöltött szerepük révén egyes miRNS-ek megváltozott expressziója figyelhető meg cukorbetegségben [20, 21], illetve a zsírcsere zavaraiiban is [22]. Normálistól eltérő expressziójuk atherosclerosisban és szívizominfarktus lezajlását követően is megfigyelhető [23, 24], ahogyan feltételezhetően minden humán betegségben kimutatható az adott kórfolyamatokra jellemző speciális miRNS-mintázat. A miRNS-ek szerepe napjainkban talán leginkább a daganatpatológiában kap a legtöbb figyelmet, hiszen ezek a kis molekulák a gének poszt-transzkripcionális szabályozása révén hozzájárulnak a daganatos szövet kialakulásához, növekedéséhez és továbbterjedéséhez is, így egyes esetekben akár biomarkerként is felhasználhatóak lehetnek [25, 26]. Klinikai alkalmazásuk reményében a miRNS-ek szintjét manapság már szinte kivétel nélkül minden daganattípusban kiterjedten vizsgálják: tüdődaganatokban [27, 28], emlőtumorkokban [29, 30], a vastagbél, a prosztatata és a máj rosszindulatú [31, 32, 33] elváltozásaiban, de ritkábban előforduló tumorkok esetében is, így agyda-

ganatokban [34] vagy a mellékvesekéregből kiinduló rosszindulatú folyamatokban is [35].

Kutatásunk során ACC-esetek poszttranszkripcionális szintű jellegzetességeit vizsgáltuk: emlőből és nyálmirigyekből származó ACC-esetek és normális emlő-, illetve nyálmirigyszövetek miRNS-profilját határoztuk meg, amely alapján a szövetek poszttranszkripcionális jellegzetességeit szeretnénk volna meghatározni. Eredményeink alapján a vizsgált emlő-, illetve nyálmirigy-eredetű ACC-esetek között vannak poszttranszkripcionális szintű eltérések. Három miRNS expressziója speciális eloszlást mutatott a vizsgált szövetekben: a let-7b expressziója sACC-esetekben fokozott volt, míg bACC-esetekben csökkenést mutatott egészséges nyálmirigykontrolljukhoz képest, míg a miR-24 szintje ezzel ellentétesen változott. Egy miRNS expressziója (miR-181a-2*) kizárólag a nyálmirigy-eredetű tumorokban volt megfigyelhető. A felsorolt három miRNS fontos célgének szabályozásában vehet részt: célgénjeik között találhatunk a sejtciklusban szerepet játszó géneket, illetve az apoptózis folyamatában részt vevő elemeket is. A CDK4, a CDK6, a CCNA1, a CCND1, a CDC25A, a CDKN1B és a CDKN2A szabályozása révén a let-7b, a miR-24, illetve a miR-181a-2* fontos szerepet tölthetnek be a sejtciklus szabályozásában, míg a BCL7A és a BCL2 poszttranszkripcionális regulációja révén a let-7b és a miR-181a-2* az apoptotikus folyamatokat szabályozhatják a vizsgált szövetekben. A fent említett három miRNS által szabályozott gének között találhatunk továbbá hormonreceptort kódoló gént is: az ESRI szabályozása révén a miR-181a-2* érintett lehet a nyálmirigy-eredetű ACC-tumorok ösztrogénreceptor-szintjének szabályozásában. A miR-24 által szabályozott gének között azonosítottunk egy ismert transzkripciósfaktort is: az E2F2-t. A fent említett miRNS-ek szabályozó szerepét magasabb esetszámon is igazolva a nyálmirigy- és emlőmirigy-eredetű ACC-esetek pontosabb molekuláris megértése válna lehetővé.

Következtetések

Kutatásunk első lépéseként kis esetszámon elvégzett vizsgálatunkban emlőből és a nyálmirigyekből kiinduló adenoid cysticus carcinomák olyan molekuláris vizsgálatát végeztük el, amelyről tudomásunk szerint eddig még nem számolt be az irodalom. Eredményeink alapján a két szervből kiinduló daganat miRNS-profilja normális szöveti kontrolljaikhoz viszonyítva számos ponton eltérést mutat. Vizsgálatunk során három olyan miRNS-t azonosítottunk, amelyek a vizsgált mintákban mutatkozó speciális megoszlásuk alapján szerepet tölthetnek be az emlő-, illetve a nyálmirigy-eredetű adenoid cysticus carcinoma esetek eltérő klinikai lefolyásában. Mivel ezen miRNS-ek célgénjei között kulcsfontosságú sejten belüli folyamatokat szabályozó gének is szerepelnek, vizsgálatunk eredményeit magasabb esetszámon is igazolni szeretnénk. Eredményeink magasabb

esetszámon, illetve fehérjeszinten való igazolásával, eredményeink szerint, azonosítani tudunk majd olyan géneket, amelyek a szövetek eltérő miRNS-profiljának köszönhetően az emlő-, illetve a nyálmirigy-eredetű ACC-tumorokban változó módon szabályozottak. Az emlőből és a nyálmirigyekből kiinduló ACC-esetek poszttranszkripcionális szabályozásában igazolódott különbségek részleges magyarázatul szolgálhatnak ezen tumorok eltérő klinikai viselkedésére.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkhoz nyújtott segítségért köszönetünket fejezzük ki *Azumab Erzsébetnek* a metszetek készítéséért. A munka elkészítését a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0013 és a TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0001 kutatási pályázatok fedezték. Etikai engedély: TUKEB 101/2012.

Irodalom

- [1] Reyes, C., Jorda, M., Gomez-Fernandez, C.: Salivary gland-like tumors of the breast express basal-type immunohistochemical markers. Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol., 2012 Aug 29. [Epub ahead of print] Doi: 10.1097/PAI.0b013e31826a277e
- [2] Ghabach, B., Anderson, W. F., Curtis, R. E., et al.: Adenoid cystic carcinoma of the breast in the United States (1977 to 2006): a population-based cohort study. Breast Cancer Res., 2010, 12, R54.
- [3] Ciccolallo, L., Licitra, L., Cantú, G., et al.: Survival from salivary glands adenoid cystic carcinoma in European populations. Oral Oncol., 2009, 45, 669–674.
- [4] Bjørndal, K., Krogdahl, A., Therkildsen, M. H., et al.: Salivary gland carcinoma in Denmark 1990–2005: a national study of incidence, site and histology. Results of the Danish Head and Neck Cancer Group (DAHANCA). Oral Oncol., 2011, 47, 677–682.
- [5] Moskaluk, C. A.: Adenoid cystic carcinoma: clinical and molecular features. Head Neck Pathol., 2013, 7, 17–22
- [6] Glazebrook, K. N., Reynolds, C., Smith, R. L., et al.: Adenoid cystic carcinoma of the breast. AJR Am. J. Roentgenol., 2010, 194, 1391–1396.
- [7] Boujelbene, N., Khabir, A., Jeanneret Sozzi, W., et al.: Clinical review – breast adenoid cystic carcinoma. Breast, 2012, 21, 124–127.
- [8] Perou, C. M., Sørlie, T., Eisen, M. B., et al.: Molecular portraits of human breast tumours. Nature, 2010, 406, 747–752.
- [9] Goldhirsch, A., Wood, W. C., Coates, A. S., et al.: Strategies for subtypes – dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. Ann. Oncol., 2011, 22, 1736–1747.
- [10] Penault-Llorca, F., André, F., Sagan, C., et al.: Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. J. Clin. Oncol., 2009, 27, 2809–2815.
- [11] Sørlie, T., Perou, C. M., Tibshirani, R., et al.: Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 2001, 98, 10869–10874.
- [12] Bartel, D. P.: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell, 2004, 116, 281–297.
- [13] Babak, T., Zhang, W., Morris, Q., et al.: Probing microRNAs with microarrays: tissue specificity and functional inference. RNA, 2004, 10, 1813–1819.
- [14] Persson, M., Andrén, Y., Mark, J., et al.: Recurrent fusion of MYB and NFIB transcription factor genes in carcinomas of the breast

- and head and neck. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009, 106, 18740–18744.
- [15] Miao, R. Y., Drabsch, Y., Cross, R. S., et al.: MYB is essential for mammary tumorigenesis. Cancer Res., 2011, 71, 7029–7037.
- [16] Mitani, Y., Li, J., Rao, P. H., et al.: Comprehensive analysis of the MYB-NFIB gene fusion in salivary adenoid cystic carcinoma: Incidence, variability, and clinicopathologic significance. Clin. Cancer Res., 2010, 16, 4722–4731.
- [17] Pastoloro, G., Hanna, W., Zbieranowski, I., et al.: Proliferative activity and p53 expression in adenoid cystic carcinoma of the breast. Mod. Pathol., 1996, 9, 215–219.
- [18] Marchiò, C., Weigelt, B., Reis-Filho, J. S.: Adenoid cystic carcinomas of the breast and salivary glands (or ‘The strange case of Dr Jekyll and Mr Hyde’ of exocrine gland carcinomas). J. Clin. Pathol., 2010, 63, 220–228.
- [19] Houbaviy, H. B., Murray, M. F., Sharp, P. A.: Embryonic stem cell-specific microRNAs. Dev. Cell, 2003, 5, 351–358.
- [20] Park, S. Y., Jeong, H. J., Yang, W. M., et al.: Implications of microRNAs in the pathogenesis of diabetes. Arch. Pharm. Res., 2013, 36, 154–166.
- [21] Kornfeld, J. W., Baitzel, C., Könnner, A. C., et al.: Obesity-induced overexpression of miR-802 impairs glucose metabolism through silencing of Hnf1b. Nature, 2013, 494, 111–115.
- [22] Vickers, K. C., Sethupathy, P., Baran-Gale, J., et al.: Complexity of microRNA function and the role of isomiRs in lipid homeostasis. J. Lipid Res., 2013, 54, 1182–1191.
- [23] Madrigal-Matute, J., Rotllan, N., Aranda, J. F., et al.: MicroRNAs and atherosclerosis. Curr. Atheroscler. Rep., 2013, 15, 322.
- [24] Fiedler, J., Thum, T.: MicroRNAs in myocardial infarction. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2013, 33, 201–205.
- [25] Tömböl, Z., Szabó, P., Rácz, K., et al.: Relevance of microRNAs in neoplastic diseases. [MicroRNS-ek jelentősége daganatokban.] Orv. Hetil., 2007, 148, 1135–1141.
- [26] Krutovskikh, V. A., Herceg, Z.: Oncogenic microRNAs (oncomiRs) as a new class of cancer biomarkers. Bioessays, 2010, 32, 894–904.
- [27] Zheng, D., Haddadin, S., Wang, Y., et al.: Plasma microRNAs as novel biomarkers for early detection of lung cancer. Int. J. Clin. Exp. Pathol., 2011, 4, 575–586.
- [28] Lee, J. H., Voortman, J., Dingemans, A. M., et al.: MicroRNA expression and clinical outcome of small cell lung cancer. PLoS One, 2011, 6, e21300.
- [29] Kim, S. J., Shin, J. Y., Lee, K. D., et al.: MicroRNA let-7a suppresses breast cancer cell migration and invasion through downregulation of C-C chemokine receptor type 7. Breast Cancer Res., 2012, 14, R14.
- [30] Song, B., Wang, C., Liu, J., et al.: MicroRNA-21 regulates breast cancer invasion partly by targeting tissue inhibitor of metalloproteinase 3 expression. J. Exp. Clin. Cancer Res., 2010, 29, 29.
- [31] Schee, K., Fodstad, Ø., Flatmark, K.: MicroRNAs as biomarkers in colorectal cancer. Am. J. Pathol., 2010, 177, 1592–1599.
- [32] Fang, Y. X., Gao, W. Q.: Roles of microRNAs during prostatic tumorigenesis and tumor progression. Oncogene, 2013 Mar 4. [Epub ahead of print] Doi: 10.1038/onc.2013.54.
- [33] Lendvai, G., Kiss, A., Kovalszky, I., et al.: MicroRNAs in hepatocarcinogenesis. [MikroRNS-ek a hepatocarcinogenesisben.] Orv. Hetil., 2012, 153, 978–989.
- [34] Zhao, S., Deng, Y., Liu, Y., et al.: MicroRNA-153 is tumor suppressive in glioblastoma stem cells. Mol. Biol. Rep., 2013, 40, 2789–2798.
- [35] Zsippai, A., Szabó, D. R., Szabó, P. M., et al.: mRNA and microRNA expression patterns in adrenocortical cancer. Am. J. Cancer Res., 2011, 1, 618–628.

(Kulka Janina dr.,
Budapest, Üllői út 93., 1091
e-mail: kj@korb2.sote.hu)

Tisztelt Szerzőink, Olvasóink!

Az Orvosi Hetilapban megjelenő/megjelent közlemények elérhetőségére több lehetőség kínálkozik.

Rendelhető különnyomat, melynek áráról bővebben a www.akkrt.hu honlapon (kiadványok, folyóirat, különnyomat menüpontok alatt) vagy Szerkesztőségünkben tájékozódhatnak.

A közlemények megvásárolhatók pdf-formátumban is, illetve igényelhető Optional Open Article (OOpenArt).

Adott díj ellenében az online közlemények bárki számára hozzáférhetők honlapunkon (a közlemények külön linket kapnak, így más oldalról is linkelhetővé válnak).

Bővebb információ a hirdetes@akkrt.hu címen vagy különnyomat rendelése esetén a Szerkesztőségtől kérhető.