

Polimorfizm genu śródbłonkowo-naczyniowego czynnika wzrostu a podatność na raka podstawnocomórkowego skóry – badanie pilotażowe

Polymorphism of the vascular endothelial growth factor gene and susceptibility to basal cell carcinoma – preliminary study

Michał Sobjanek¹, Monika Zabłotna¹, Igor Michajłowski¹, Marek Urban¹, Bogusław Nedoszytko¹, Wioletta Mędrzycka-Dąbrowska², Adam Włodarkiewicz³, Jadwiga Roszkiewicz¹

¹Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Jadwiga Roszkiewicz

²Zakład Pielęgniarstwa Ogólnego Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Zakładu: dr n. med. Andrzej Chamienia

³Katedra i Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej i Stomatologicznej Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Adam Włodarkiewicz

Post Dermatol Alergol 2009; XXVI, 2: 71–73

Streszczenie

Wprowadzenie: Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular-endothelial growth factor* – VEGF) jest kluczowym czynnikiem zaangażowanym w neoangiogenezę. Opisano wiele polimorfizmów genu VEGF. Sugeruje się, że polimorfizm –1154G/A ma wpływ na poziom ekspresji cytokiny.

Cel: Celem badań było określenie związku między polimorfizmem –1154G/A promotora genu VEGF a występowaniem raków skóry.

Materiał i metody: Badano 100 osób z rakiem podstawnocomórkowym (*basal cell carcinoma* – BCC) i 240 osoby zdrowe. Polimorfizm –1154G/A promotora genu VEGF z DNA oznaczano metodą allelospecyficjnej reakcji cyklicznej polimerazy (ARMS-PCR). Wyniki analizowano statystycznie za pomocą testu χ^2 z poprawką Yatesa.

Wyniki: W grupie badanej statystycznie rzadziej w porównaniu z grupą kontrolną obserwowano genotyp AA (3 vs 16,2%, $p = 0,0014$). W grupie chorych znamienne rzadziej występował ponadto allel A (30,5 vs 40%, $p = 0,0246$).

Wnioski: Prezentowane wyniki sugerują rolę polimorfizmu –1154G/A promotora genu VEGF w etiopatogenezie BCC.

Słowa kluczowe: VEGF, polimorfizm, rak podstawnocomórkowy.

Abstract

Introduction: The vascular endothelial growth factor (VEGF) is involved in pathologic angiogenesis in several neoplasms. Several functional single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the promoter region have been described. It has been suggested that -1154G/A polymorphism is associated with VEGF expression.

Aim: The aim of our study was to evaluate the connection between -1154G/A VEGF gene polymorphism and BCC susceptibility.

Material and methods: We analyzed 100 patients with BCC and 240 healthy controls. The -1154G/A polymorphism in the promoter region of the VEGF gene was analyzed by amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction. The result was evaluated by the χ^2 test with Yates correction.

Results: We have found that AA genotype frequency was significantly decreased among patients with BCC in comparison with control subjects (3 vs. 16.2%, $p = 0.0014$). We also found that VEGF-1154 A allele frequency was significantly decreased among patients with BCC in comparison with control subjects (30.5 vs. 40.0%, $p = 0.0246$).

Adres do korespondencji: dr n. med. Michał Sobjanek, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku, ul. Dębinki 7, 80-952 Gdańsk, tel. +48 58 349 25 80, e-mail: sobjanek@wp.pl

Conclusions: This is the first report concerning VEGF gene polymorphism and BCC. Presented data suggest that the SNP at position -1154 of the promoter region of the VEGF gene may play a role in pathogenesis of BCC.

Key words: VEGF, gene polymorphism, basal cell carcinoma.

Wprowadzenie

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) jest kluczowym czynnikiem mitogennym dla komórek śródbłonka naczyń tętniczych, żylnych i limfatycznych. Bierze udział w fizjologicznej i patologicznej angiogenezie. Wykazano, że cytokina ta wpływa na rozwój naczyń krwionośnych w obrębie guzów nowotworowych, tym samym warunkując ich wzrost i tworzenie przerzutów [1–3]. Zwiększoną ekspresję VEGF obserwowano m.in. w nowotworach jelita grubego, trzustki, płuc, sutka, nerki i hematologicznych. Stwierdzono ponadto, że poziom ekspresji cytokiny może mieć znaczenie prognostyczne [3–9].

Gen dla VEGF lokalizuje się na chromosomie 6 w prążku 12 i zawiera 8 egzonów oraz 7 intronów. Jest wysoce polimorficzny. Dotychczas opisano ponad 20 polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (*single nucleotide polymorphism* – SNP) genu VEGF [10, 11].

Polimorfizm –1154G/A promotora genu jest niezwykle interesujący ze względu na jego związek z syntezą VEGF. Stwierdzono, że warianty polimorficzne GG i GA korelują z wyższym poziomem ekspresji [10–12].

Patogeneza raka podstawnokomórkowego (*basal cell carcinoma* – BCC), najczęstszego nowotworu populacji kaukaskiej, wciąż nie jest w pełni poznana [13]. Przebieg kliniczny BCC jest często trudny do przewidzenia. Obok wolno rosnących, nienaciekających guzów obserwuje się nowotwory o dużym tempie wzrostu, znacznym potencjale destrukcji otaczających tkanek i z tendencją do wznów miejscowych. Cały czas trwają poszukiwania molekularnych markerów warunkujących stopień złośliwości miejscowej nowotworu.

Tab. 1. Częstość występowania genotypów i alleli –1154G/A VEGF w grupie osób z nowotworami skóry i w grupie kontrolnej

Genotyp	Chorzy na nowotwory skóry (n = 100)	Grupa kontrolna (n = 240)
GG	42 (42%)	87 (36,3%)
GA	55 (55%)	114 (47,5%)
AA	3 (3%)*	39 (16,2%)
Allel	n = 200	n = 480
G	139 (69,5%)	288 (60%)
A	61 (30,5%)**	192 (40%)

* χ^2 (z poprawką Yatesa) = 10,255, $p = 0,014$

** χ^2 (z poprawką Yatesa) = 5,055, $p = 0,0246$

Cel

Celem badań było określenie związku między polimorfizmem –1154G/A promotora genu VEGF a występowaniem BCC.

Materiał i metody

Badana grupa obejmowała 100 chorych z potwierdzonym histopatologicznie BCC oraz 240 osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną. Genomowy DNA izolowano z krwi obwodowej. Polimorfizm –1154G/A w regionie promotora genu VEGF badano z wykorzystaniem metody allelospecyficznej reakcji cyklicznej polimerazy (ARMS-PCR) opisanej w pracy McCarrona [14]. Wyniki analizowano statystycznie za pomocą testu χ^2 z poprawką Yatesa.

Wyniki

W badanej grupie statystycznie rzadziej w porównaniu z grupą kontrolną obserwowano genotyp AA (3 vs 16,2%, $p = 0,0014$). W grupie chorych zamiennie rzadziej występował ponadto allel A (30,5 vs 40%, $p = 0,0246$). Szczegółowy rozkład poszczególnych genotypów i alleli przedstawiono w tab. 1.

Omówienie wyników

Etiopatogeneza BCC jest złożona i nie w pełni poznana. Niepodeważalną rolę w rozwoju nowotworu odgrywa promieniowanie ultrafioletowe. Podkreśla się wpływ immunosupresji. Wykazano, że rozpoznanie BCC zwiększa ryzyko późniejszego rozwoju kolejnego ogniska nowotworowego [13]. Metaanaliza przeprowadzona na podstawie 7 badań wykazała 10-krotnie większe prawdopodobieństwo ponownego zachorowania na BCC w ciągu 3 lat od postawienia pierwszej diagnozy. Dodatni wywiad rodzinny jest kolejnym niezależnym czynnikiem ryzyka BCC [15]. Przedstawione fakty sugerują pośrednio udział czynników genetycznych w etiopatogenezie BCC. Mimo że genetyczne podłoże nowotworu sugerowane jest od dawna, nadal niewiele wiadomo o konkretnych genach związanych z etiopatogenezą BCC. Lear i wsp. wykazali związek między polimorfizmem genu S-transferazy glutationowej (GSTMA, GSTM3, GTT) oraz cytochromu P-450 (CYP1A1) a występowaniem nowotworu [16, 17].

Już na początku XX w. zauważono, że wzrost nowotworu wiąże się ze zwiększeniem liczby naczyń krwionośnych w obrębie guza, natomiast dopiero w 1989 r. wyizolowano białko o właściwościach mitogennych dla komórek śródbłonka – VEGF. Od tej pory badano ekspresję VEGF

oraz warianty polimorficzne genu w chorobach zapalnych i nowotworowych [1, 18].

W piśmiennictwie światowym odnaleźć można jedynie jedno doniesienie dotyczące związku polimorfizmu genu VEGF i nowotworów skóry. Howell i wsp. [19] badali polimorfizmy –2578, –1154, +405 oraz +936 genu VEGF u osób z czerniakiem skóry. Wykazano, że warianty –1154 korelowały ze stopniem zaawansowania guza. Chorzy z genotypem AA, warunkującym niższą ekspresję VEGF, statystycznie częściej prezentowali mniejszą (wg Breslowa) grubość nacieku czerniaka w porównaniu z pacjentami z genotypem GG (odpowiedzialnym za wyższą ekspresję VEGF). Sugeruje to, że u chorych z genotypem warunkującym niższą ekspresję VEGF wzrost guza jest wolniejszy.

Co ciekawe, w prezentowanych wynikach wśród chorych z BCC statystycznie rzadziej obserwowano genotyp AA związany z niższą ekspresją VEGF, możliwe, że z mniejszą podatnością lub wolniejszym wzrostem nowotworu. Hipotezy te wymagają weryfikacji naukowej.

Zaprezentowane wstępne wyniki pierwszych w świecie badań polimorfizmu genu VEGF u chorych na BCC w sposób jednoznaczny sugerują związki między polimorfizmem –1154G/A promotora genu VEGF a BCC. Dalszym celem badań będzie określenie klinicznego i prognostycznego znaczenia polimorfizmu.

Piśmiennictwo

1. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-76.
2. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med* 2005; 9: 777-94.
3. Brown LF, Berse B, Jackam RW, et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 1995; 26: 86-91.
4. Brown LF, Guidi AJ, Schnitt SJ, et al. Vascular stroma formation in carcinoma in situ, invasive carcinoma and metastatic carcinoma of the breast. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1041-56.
5. de Vita F, Orditura M, Lieto E, et al. Elevated perioperative serum vascular endothelial growth factor levels in patients with colon carcinoma. *Cancer* 2004; 100: 270-8.
6. Guidi AJ, Abu-Jawdeh G, Berse B, et al. Vascular permeability factor (vascular endothelial factor) expression and angiogenesis in cervical neoplasia. *J Nat Cancer Inst* 1995; 87: 1237-45.
7. Shariat SF, Anwuri VA, Lamb DJ, et al. Association of preoperative plasma levels of vascular endothelial growth factor and soluble vascular cell adhesion molecule-1 with lymph node status and biochemical progression after radical prostatectomy. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1655-63.
8. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR correlates with vascularity, metastasis and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 3964-8.
9. Thielemann A, Kopczyński Z, Grodecka-Gazdecka S, et al. Ocena stężenia naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF) u chorych na raka gruczołu piersiowego. *Diagn Lab* 2005; 41: 154-64.
10. Shahbazi M, Fryer AA, Pravica V, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 260-4.
11. Goebel S, Huang M, Davis WC, et al. VEGF-A stimulation of leukocyte adhesion to colonic microvascular endothelium: implications for inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G648-54.
12. Barleon B, Sozzani S, Zhou D, et al. Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood* 1996; 87: 3336-43.
13. Roewert-Huber J, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, et al. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2007; 157 Suppl 2: 47-51.
14. McCarron SL, Edwards S, Evans PR, et al. Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 3369-72.
15. Lovatt TJ, Lear JT, Bastrilles J, et al. Associations between UVR exposure and basal cell carcinoma site and histology. *Cancer Lett* 2004; 216: 191-7.
16. Lear JT, Smith AG, Strange RC, Fryer AA. Detoxifying enzyme genotypes and susceptibility to cutaneous malignancy. *Br J Dermatol* 2000; 142: 8-15.
17. Lear JT, Smith AG, Bowers B, et al. Truncal tumor site is associated with high risk of multiple basal cell carcinoma and is influenced by glutathione S-transferase, GSTT1, and cytochrome P450, CYP1A1 genotypes, and their interaction. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 519-22.
18. Ferrante M, Pierik M, Henckaerts L, et al. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 870-8.
19. Howell WM, Bateman AC, Turner SJ, et al. Influence of vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms on tumour development in cutaneous malignant melanoma. *Genes Immun* 2002; 3: 229-32.