

MAŁGORZATA BALIŃSKA, DOROTA JANISZEWSKA
*Zakład Biochemii Komórki,
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Pasteura 3, 02-093 Warszawa
E-mail: mlb@nencki.gov.pl*

ROLA JONÓW WAPNIA W KOMÓRCIE NOWOTWOROWEJ

WSTĘP

Badania ostatnich kilkudziesięciu lat wykazały kluczową rolę wapnia, tego najpowszechniej występującego kationu w organizmie ssaków, zarówno jako pierwotnego, jak i wtórnego przekaźnika informacji w komórce (BARAŃSKA 1993, 1997). Zastanawiające jest z kolei, że wiedza na temat regulacji stężenia jonów wapnia w komórce, prowadzącej do przekazania informacji od receptora zewnątrzkomórkowego do jądra komórkowego i wpływającej na regulację poszczególnych etapów cyklu komórkowego (WHITAKER i PATEL 1990), jest w tak niewielkim stopniu w chwili obecnej powiązana z

wiedzą na temat procesów nowotworzenia i zdolności komórek nowotworowych do tworzenia metastaz (proces przerzutowania). Wiadomo przecież, że wapń odgrywa również rolę w ontogenezie i śmierci komórek, zarówno apoptotycznej, jak i nekrotycznej (VETULANI 1995, SIKORA 1995, MCCONKEY i ORRENIUS 1996), a więc zaburzenia kontroli cyklu komórkowego poprzez zmiany wywołane różnicami stężenia jonów wapnia mogą być kluczowe dla transformacji nowotworowej komórek, a także w procesach jej zapobiegania (WHITAKER i PATEL 1990, GRZELAKOWSKA-SZTABERT 1996)

A WAPNIA W PROCESIE TRANSFORMACJI NOWOTWOROWEJ

Proces nowotworowy polega na dziedzicznie utrwalonej zmianie charakteru komórki somatycznej, w wyniku czego komórka nie podlega mechanizmom prawidłowego wzrostu i różnicowania. Od ostatnich kilkunastu lat doskonale wiadomo, że istnieją dwa zasadnicze punkty „decyzyjne” kontroli cyklu komórkowego. Pierwszy to nadchodząca z zewnątrz „decyzja” wejścia jądra w cykl podziałowy, czyli mitozę. Następną, już „wewnętrzna decyzja”, powodująca wejście komórki w fazę cytokinezy czyli ostatecznego podziału na dwie potomne komórki. Faza pomiędzy jednym, a drugim podziałem komórki to interfaza, w której można wyróżnić dwa dodatkowe punkty kontrolne: pierwszy — przejście z fazy G₁ do fazy S (syntetycznej), drugi — z późnej fazy G₂ do fazy M czyli fazy prowadzącej do ostatecznego podziału jądra komórkowego. Oprócz głównych czynników krytycznych dla tych „punktów kontrolnych”, takich jak cykliny i kinazy

serynowo-treoninowe cyklino-zależne (cdk) (GRZELAKOWSKA-SZTABERT 1996), również niezwykle regularnie następuje wzrost wewnątrzjądrowego stężenia wapnia, co zostało niezwykle dokładnie opisane w ciągu ostatnich kilku lat (WHITAKER i PATEL 1990, WHITFIELD i współaut. 1995, BARAŃSKA 1997). Stąd też nasuwają się pierwsze jeszcze nieśmiałe sugestie, że wapń i oscylacyjne zmiany jego wewnątrzjądrowego stężenia, podobnie jak zaburzenia stężenia cyklin i związanych z nim kinaz cdk mogą wywoływać zmiany prowadzące do transformacji nowotworowej komórki. Pewne sugestie na ten temat wysunięto już w roku 1991 (MOTOKURA i współaut. 1991). Autorzy ci sugerowali, że zmiany poprzez przemieszczenie się genu cykliny D₁ w pobliże regulatorowej części genu kodującego hormon przytarczyc (paratyroidynę) powodują zmniejszenie jądrowego stężenia jonów wapnia, co może prowadzić w efekcie do powstania gruczola-

ków przytarczyc. Wydaje się jednak, że jest to proces bardzo złożony, a stężenie jonów wapnia może odgrywać pewną rolę w tym procesie, choć zapewne nie zasadniczą. W innych doświadczeniach z zastosowaniem wewnątrzkomórkowego monitorowania stężenia jonów wapnia stwierdzono, że w komórkach melanomy zwiększenie stężenia Ca^{2+} pobudza komórki nowotworowe do przejścia z fazy G_1 do fazy S, prowadząc do dalszych szybkich podziałów komórek (w układzie eksperymentalnym obserwowano dwa podziały). Zjawiska tego nie obserwowano w komórkach układu kontrolnego (NILIUS i współaut. 1993). Badacze jednak obawiają się, że jest to zjawisko odosobnione i dotyczy tylko komórek melanomy. Z kolei zastosowanie w tych samych komórkach inhibitorów kanałów wapniowych prowadziło do zahamowania proliferacji komórek, mimo dostarczenia do pożywki odpowiednich czynników wzrostu (LEPPLE-WIENHUES i współaut. 1996), co wyraźnie pokazuje rolę wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia w regulacji proliferacji komórek nowotworowych, związanej w tym przypadku z depolaryzacją błony komórkowej.

Na obecnym etapie badań, gdzie bardzo trudno jest obserwować w sposób długotrwały oscylacje wapniowe w czasie podziałów komórki, a tym bardziej w procesie transformacji nowotworowej, bardzo dobre wyniki daje zastosowanie blokerów kanałów wapniowych. Badania prowadzone w Stanach Zjednoczonych na dużej grupie pacjentów (ponad 800 osób), którym przez cztery lata podawano w celach leczniczych blokery kanałów wapniowych (weraipamil, nifedipinę, diltiazem) wykazały, że u około 10–30% pacjentów (w zależności od zastosowanego leku) wzrastała zachorowalność na nowotwory płuc, układu moczowego, prostaty i jelita grubego. Badania te prowadzone na losowo wybranej grupie pacjentów zdają się potwierdzać, że zmniejszenie wewnątrzkomórkowego lub jądrowego stężenia jonów wapnia

może prowadzić do transformacji nowotworowej (PAHOR i współaut. 1996).

Jedynym jak dotąd, jak się wydaje, udowodnionym przykładem transformacji nowotworowej zależnej od stężenia jonów wapnia jest powstawanie nowotworu jelita grubego (WHITFIELD i współaut. 1995), w wyniku małej dostępności jonów wapnia w kryptach jelita grubego, prowadzącej do transformacji nowotworowej. Zmniejszenie ilości jonów wapnia może być wywołane przez:

(i) czysto mechaniczne zmniejszenie ilości jonów i brak wysycenia receptorów wapniowych;

(ii) poprzez zniszczenie receptorów wierzchniej warstwy jelita przez uwalniane do światła jelita dihydroksypochodne kwasów żółciowych, dające w ten sposób sygnał do zwiększonej proliferacji i transformacji komórek w krypte jelita,

(iii) może też być spowodowane brakiem receptorów wapniowych na powierzchni komórek jelitowych. Pewne elementy tej hipotezy, związane ze zwiększeniem liczby komórek, które uległy transformacji w korelacji ze zmniejszeniem ilości receptorów wapniowych, zostały udowodnione, natomiast przyczyny tego zjawiska są przedmiotem intensywnych badań.

Wydaje się, że wewnątrzjądrowe stężenie jonów wapnia, które w komórce waha się od 0,01 do 1 μM , w zależności od typu komórek, ma niezwykle ważne znaczenie w regulacji cyklu podziału komórek. Zmniejszenie stężenia tego jonu, niezależnie od przyczyn zjawiska, powoduje zaburzenia cyklu komórkowego, prowadzące często do transformacji nowotworowej. Zmniejszenie wewnątrzjądrowego stężenia jonów wapnia może wynikać z dostępności jonów dla kanałów, a także rozregulowania całej kaskady zdarzeń prowadzących do uwalniania wapnia z wewnątrzkomórkowych magazynów (BARAŃSKA 1992, 1993, 1997, VETULANI 1995, WIKTOREK i współaut. 1995).

ROLA BIAŁEK WIĄŻĄCYCH WAPŃ GRUPY S-100 W TRANSFORMACJI NOWOTWOROWEJ

Ostatnio ogromne zainteresowanie w regulacji cyklu komórkowego, a szczególnie w procesie transformacji nowotworowej, budzą białka wiążące wapń, należące do rodziny S-100. Espresja tych białek jest różna w różnych nowotworach, tak że w niektórych przypadkach służą jako markery nowotworowe. W szybko rosnących nowotworach ich poziom jest kilkunastokrotnie wy-

ższy niż w komórkach prawidłowych. Ich dokładna rola nie jest jeszcze poznana, choć wydaje się, że mogą one odgrywać znaczną rolę w zaburzeniach podziałów komórkowych, bowiem zmutowane białka wiążące wapń grupy S-100, wiążąc silnie Ca^{2+} , zmniejszają ilość jonów wapnia dostępnych dla jądra komórkowego (ILG i współaut. 1996, FILIPEK i współaut. 1996)

ROLA JONÓW WAPNIA W INWAZYJNOŚCI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Inwazja komórek nowotworowych, prowadząca do powstawania przerzutów jest związana ze zmniejszeniem adhezynności komórek i zaburzeniami kontaktów międzykomórkowych (GRĘBECKA 1995). Białka odpowiedzialne za kontakt pomiędzy komórkami są to białka wiążące wapń, należące do grupy kadheryn (TAKEICHI 1990). E-Kadheryny, powiązane z cyto-

szkieletem komórki, wiążą sąsiednią komórkę poprzez jej E-kadherynę i jony wapnia (MAREEL i współaut. 1994). Mutacje w tym białku, polegające na osłabieniu wiązania jonów wapnia i rozluźnieniu kontaktów międzykomórkowych, umożliwiają zwiększenie inwazyjności nowotworów, a w warunkach *in vivo* przyspieszają wręcz śmierć organizmu (BIECHMEIER 1995)

UWAGI KOŃCOWE

Jak widać rola wapnia jest niezwykle ważna w procesie podziału komórek, a zaburzenia delikatnej równowagi jonów wapnia w komórce mogą prowadzić do diametralnie różnych efektów. I tak zmniejszenie stężenia jonów wapnia jest nie tylko sygnałem do transformacji nowotworowej, ale także do apoptozy (SIKORA 1995, 1996). Ponadto w procesie apoptozy zasadniczą rolę ogrywają dwie klasy enzymów zależnych od jonów wapnia — proteazy i endonukleazy (MCCONKEY i ORRENIUS 1996). Home-

ostaza wapniowa może być więc jednym z najważniejszych czynników utrzymujących komórki w stanie prawidłowej proliferacji, a jej zaburzenia prowadzić mogą do dramatycznych zmian stanowiących o fizjologicznym losie komórki. Tytuł jednej z prac dotyczącej opisywanych zjawisk — *Calcium — cell cycle regulator, differentiator, killer, chemopreventor, and maybe, tumor promoter* (WHITFIELD i współaut. 1995) — świadczy o złożoności regulacji wapniowej.

THE ROLE OF CALCIUM IONS IN CANCER CELLS

S u m m a r y

The role of calcium in neoplastic transformation, and cancer cell migration is discussed. Ca^{2+} and Ca^{2+} -binding protein are involved in the cell cycle. A decrease in nuclear calcium concentration stimulates proliferation of cells, which can initiate neoplastic transformation. The muta-

tions of E-cadherin protein involved in cell-cell adhesion, resulting in destruction of the calcium-binding sites in this protein play a major role in cancer cell migration and in development of cancer. Perturbation of calcium concentration in the cells is related to changes in cell proliferation.

LITERATURA

- BARAŃSKA J., 1992. *Rozpad fosfolipidów a przekazywanie informacji w komórce*. Monografie Biochemiczne, Polskie Towarzystwo Biochemiczne, wyd. II.
- BARAŃSKA J., 1993. Ca^{2+} jako wtórny przekaźnik informacji. *Kosmos* 42, 557–564.
- BARAŃSKA J., 1997. *Wapń jako pierwotny i wtórny przekaźnik informacji. Udział Ca^{2+} w cyklu komórkowym, sekrecji i adhezji*. *Kosmos* 46, 33–44.
- BIECHMEIER W., 1995. *E-cadherin as a tumor (invasion) suppressor gene*. *BioEssays* 17, 97–99.
- FILIPEK A., WOJDA U., LEŚNIAK W., KUŹNICKI J., 1996. *Kalkylina — białko wiążące wapń z rodziny S-100*. *Post. Biochem.* 42, 213–217.
- GRĘBECKA L., 1995. *Migracja komórek nowotworowych w organizmie*. *Kosmos* 44, 405–436.
- GRZELAKOWSKA-SZTABERT B., 1996. *Cykliny fazy G_1 cyklu komórkowego, ich funkcje i udział w nowotworzeniu*. *Post. Biochem.* 42, 108–113.
- ILG E.C., SCHIAFER B. W., HEIZMANN C.W., 1996. *Expression pattern of S-100 calcium-binding proteins in human tumors*. *Int. J. Cancer* 68,325–332.
- LEPPLE-WIENHUES A., BERWECK S., BOHMIG M., LEO C. P., MEYLING B., GRABE C., WIEDERHOLT M., 1996. *K⁺ Channels and intracellular calcium signal in human melanoma cell proliferation*. *J. Membrane Biol.* 151, 149–157.
- MAREEL M., BRACKE M., VAN ROY F., 1994. *Invasion promoter versus invasion suppressor molecules: paradigm of E-cadherin*. *Mol. Biol. Rep.* 19, 45–67.
- MCCONKEY D.J., ORRENIUS S., 1996. *The role of calcium in the regulation of apoptosis*. *J. Leucoc. Biol.*, 59, 775–783
- MOTOKURA T., BLOOM T., KIM H. G., JUPPNER H., RUDERMAN J. V., KRONENBERG H. M., ARNOLD A., 1991. *A novel cyclin encoded by a bc/1-linked candidate oncogene*. *Nature* 350, 512–515
- NILIUS B., SCHWARZ G., DROOGMANS G., 1993. *Control of intracellular calcium by membrane potential in human melanoma cells*. *Am. J. Physiol.* 265, L501–L510.
- PAHOR M., GURALNIK J. M., SALIVE M. E., CORTI M. C., CARBONIN P., HAVLIK R.J., 1996. *Do calcium channel blockers increase the risk of cancer*. *Am. J. Hypertension* 9, 695–699.
- SIKORA E., 1995. *Przekazywanie sygnałów wywołujących śmierć komórki [W:] Molekularne mechanizmy przekazywania sygnałów w komórce*, KONARSKA L. (red.), PWN, Warszawa, str. 218–226.

- SIKORA E., 1996. *Cykl komórkowy i apoptoza: śmierć starej komórki*. Post. Biochem. 42, 108-113.
- TAKEICHI M., 1990. *Cadherins: a molecular family important in selective cell-cell adhesion*. Annw. Rev. Biochem. 59, 237-252.
- VETULANI J., 1995. *Wapń jako wtórny prekaźnik informacji*. [W:] *Molekularne mechanizmy przekazywania sygnałów w komórce*, KONARSKA L. (red.), PWN, Warszawa, str.154-177.
- WHITAKER M., PATEL R., 1990. *Calcium and cell cycle control*. Development 108, 525-542.
- WHITFIELD J. F., BIRD R. P., CHAKRAVARTHY B. R., ISAACS R. J., MORLEY P., 1995. *Calcium — cell cycle regulator, differentiator, killer, chemopreventor, and maybe, tumor promoter*. J. Cell. Biochem. 22, 74-91.
- WIKTOREK M., ROJEK A., CZARNY M., BARAŃSKA J., 1995. *Rola cyklu inozytowego w przekazywaniu informacji w jądrze*. Post. Biochem. 41, 67-72.