

Received: 13.04.2018
Accepted: 29.10.2018
Published: 09.01.2019

Nowe oblicze mucyny MUC1 w progresji nowotworowej – rola podjednostki MUC1-C

The other face of MUC1 protein in cancer progression – the role of MUC1-C subunit

Alicja M. Kmieciak¹, Piotr Dzięgiel^{1,3}, Maciej Ugorski^{2,4}

¹Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra Morfologii i Embriologii Człowieka, Zakład Histologii i Embriologii, Wrocław

²Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej

³Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu, Katedra Kosmetologii, Zakład Biologii Człowieka

⁴Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda, Zakład Immunochemii, Laboratorium Glikobiologii, Wrocław

Streszczenie

Mucyna MUC1 jest glikoproteina, której obecność stwierdza się w prawidłowych nabłonkach wielu narządów, m.in. płuc, przewodów trzustki, jajników, czy gruczołu piersiowego. Jej ekspresja wzrasta drastycznie w komórkach nowotworowych. Mucyna MUC1 jest integralnym białkiem błonowym zbudowanym z domeny cytoplazmatycznej, transbłonowej oraz zewnątrzkomórkowej. W tej ostatniej, w pobliżu błony komórkowej, znajduje się miejsce proteolitycznego rozszczepienia, które dzieli mucynę MUC1 na dwie połączone ze sobą niekowalencyjnie podjednostki: MUC1-N obejmującą domenę zewnątrzkomórkową i MUC1-C, w skład której wchodzi fragment domeny zewnątrzkomórkowej, domeny transbłonowej i cytoplazmatycznej. W prawidłowych komórkach nabłonka ekspresję MUC1 stwierdza się tylko na apikalnej powierzchni komórki, natomiast podczas transformacji nowotworowej dochodzi do depolaryzacji ekspresji podjednostki MUC1-C, czemu towarzyszy odłączenie podjednostki MUC1-N z powierzchni komórki. MUC1-C oddziałuje z receptorami o aktywności kinazy tyrozynowej, przyczyniając się do aktywacji ścieżek sygnałowych sprzyjających progresji nowotworu. Może również ulec internalizacji do wnętrza komórki, skąd jest transportowana do jądra komórkowego lub mitochondriów. W jądrze komórkowym MUC1-C tworzy kompleksy z wieloma czynnikami transkrypcyjnymi, takimi jak np. NF-κB czy STAT1/3, w ten sposób wpływając na regulację ekspresji białek związanych z proliferacją, czy zmienionym metabolizmem komórek nowotworowych. Podjednostka MUC1-C jest także zdolna do oddziaływania z białkami błony mitochondrialnej, co zapobiega utracie potencjału błonowego i przyczynia się do wzrostu oporności komórek nowotworowych na apoptozę. Tak więc, badania powyższe wskazują, że podjednostka MUC1-C definiuje mucynę MUC1 jako onkoproteinę, czyniąc ją jednocześnie obiecującym celem terapii przeciwnowotworowej. Tym właśnie zagadnieniom poświęcony jest niniejszy artykuł.

Słowa kluczowe:

MUC1 • podjednostka MUC1-C • progresja nowotworowa • szlaki przekazywania sygnału • cele terapii przeciwnowotworowych

Summary

MUC1 is high-molecular-weight glycoprotein which is widely expressed on epithelial cell layers of various organs and is aberrantly overexpressed in most human carcinomas such as breast, ovarian or colon cancer. MUC1 contains three domains: short cytoplasmic and transmembrane domains, and a long extracellular domain. The protein is translated as a single polypeptide that undergoes auto-cleavage into two subunits: MUC1-N and MUC1-C, that form a stable noncovalent complex at the cell membrane. In normal epithelial cells, MUC1 expression is restricted to the apical side of the cells. During cancer transformation there is a loss of cell polarity and MUC1-C is found over the entire cell surface while MUC1-N is shed from the surface of carcinoma cells. As the result of depolarization, MUC1-C interacts with receptor tyrosine kinases (RTKs), such as EGFR and activates intracellular pathways which are important for cancer progression. Overexpression of MUC1 is also associated with the accumulation of MUC1-C in the cytoplasm and targeting of this subunit to the nucleus or mitochondria. Nuclear localization of MUC1-C is associated with activation of gene families involved in oncogenesis or cancer metabolism. Other results have shown that MUC1-C localizes to the mitochondrial outer membrane, where it blocks stress induced apoptosis. Recent studies have been directed at the MUC1-C subunit which reminds to be attractive target for the development of anti-cancer agents. In this review, the role of MUC1-C in cancer progression is discussed.

Keywords: MUC1 • MUC1-C subunit • cancer progression • signaling pathways

GICID 01.3001.0012.8399
DOI: 10.5604/01.3001.0012.8399
Word count: 3889
Tables: –
Figures: 3
References: 96

Adres autorki: dr Alicja M. Kmiecik, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra Morfologii i Embriologii, Zakład Histologii i Embriologii, ul. T. Chałubińskiego 6a, 50-368 Wrocław; e-mail: alicja.kmieciak@umed.wroc.pl

Wykaz skrótów: **CQC** – sekwencja reszt aminokwasowych: cysteina-glutamina-cysteina (CQC), występująca w obrębie podjednostki MUC1-C, która bierze udział w dimeryzacji MUC-C; **EGF** – naskórkowy czynnik wzrostu, **EGFR** – receptor naskórkowego czynnika wzrostu, **EMT** – przejście epitelialno-mezenchymalne, **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów, **HER2** – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2, **MUC1-C** – transbłonowa podjednostka mucyny MUC1, **MUC1-N** – zewnątrzkomórkowa podjednostka mucyny MUC1, **PI3K** – 3 kinaza fosfatidyloinozytolu, **PDGFA** – płytkopochodny czynnik wzrostu, **RTK** – receptory o aktywności kinazy tyrozynowej, **sirNA** – małe interferujące RNA, **TACA** – cukrowe antygeny związane z występowaniem nowotworów (tumor associated carbohydrate antigens), **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego, **VNTR** – region utworzony z leżących jedna za drugą (tandemowo), powtarzających się sekwencji 20 reszt aminokwasowych (variable number of tandem repeat).

WPROWADZENIE

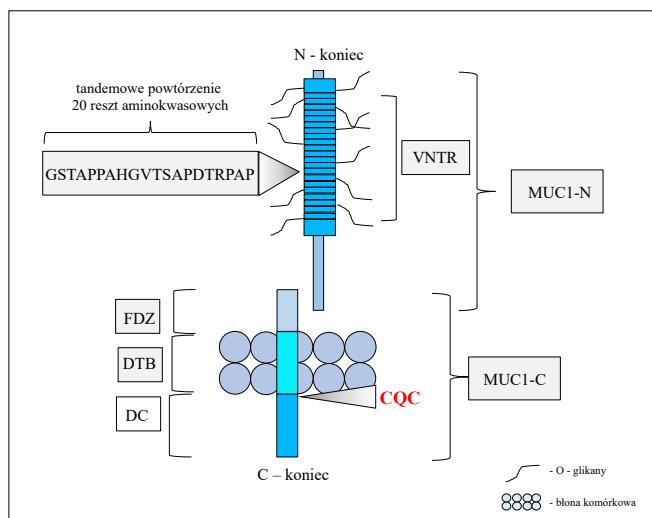
Mucyny są dużymi glikoproteinami o masie cząsteczkowej 250-1000 kDa, zbudowanymi z białkowego rdzenia i licznych węglowodanowych łańcuchów. U człowieka, opisano dotychczas 9 genów kodujących mucyny nabłonkowe, które oznaczono jako: MUC1-MUC4, MUC5A/C, MUC5B oraz MUC6-MUC8 [11]. Najlepiej poznanym białkiem z tej rodziny jest MUC1, nazywana dawniej episialiną. Mucyna MUC1 jest glikoproteiną, której obecność obserwuje się w prawidłowych nabłonkach wielu narządów, m.in. płuc,

przewodów trzustki, jajników, macicy, gruczołu piersiowego, okrężnicy, żołądka, czy pęcherzyka żółciowego [16]. Po raz pierwszy została zidentyfikowana w ludzkim mleku, jako bogate w serynę, treoninę i prolinę, silnie O-glikozylowane białko [80]. Badania immunohistochemiczne wykazały, że ekspresja MUC1 drastycznie wzrasta w komórkach nowotworowych, na przykład w komórkach raka jajnika, okrężnicy, pęcherza moczowego i gruczołu piersiowego. Powoduje to, że część mucyny, uwolniona z powierzchni komórek nowotworowych, przedostaje się do krwi, gdzie wykrywana jest jako antygen CA 15.3 [7]

. Antygen ten jest markerem najczęściej oznaczanym w raku gruczołu piersiowego, oprócz receptorów estrogenowego (ER α), progesteronowego (PR) oraz HER-2 [37]. Pacjentki z rakiem gruczołu piersiowego, u których obserwowano wysoki poziom antygenu CA 15.3 przed leczeniem operacyjnym, charakteryzowały się krótkim czasem wolnym od objawów choroby (DFS, Disease Free Survival) i krótkim czasem przeżycia (OS, Overall Survival) [48].

MUC1 jest integralnym białkiem błonowym zbudowanym z domeny cytoplazmatycznej, transbłonowej oraz zewnątrzkomórkowej (ryc. 1). W obrębie domeny zewnątrzkomórkowej MUC1, w pobliżu N-końca cząsteczki, wyróżnia się region VNTR (variable number of tandem repeats) utworzony z leżących jedna za drugą (tandemowo), powtarzających się sekwencji 20 reszt aminokwasowych, w których skład wchodzi licznie prolina, seryna i treonina [25]. Reszty seryny i treoniny tworzą miejsca przyłączenia łańcuchów O-glikozydowych, których liczba i wielkość ma wpływ na strukturę cząsteczki MUC1 i jej masę cząsteczkową. W zależności od stopnia glikozylacji, białko to osiąga masę cząsteczkową 250-400 kDa. Każda z 20-aminokwasowych sekwencji zawiera 5 reszt prolina, które nadają cząsteczce mucyny sztywną, silnie wydłużoną strukturę [78]. Za regionem VNTR występuje odcinek, składający się z 228 aminokwasów, bogaty w nieglikozylowane reszty seryny i treoniny, zawierający natomiast 5 miejsc N-glikozylacji [63]. Dalej występuje zbudowana z 28 aminokwasów domena transbłonowa. Natomiast domenę wewnątrzkomórkową tworzy cytoplazmatyczny ogon, zbudowany z 72 aminokwasów, zawierający 18 potencjalnych miejsc fosforylacji [30, 45].

MUC1 jest syntetyzowana jako pojedynczy łańcuch polipeptydowy, który w siateczce śródplazmatycznej ulega autoproteolitycznemu rozszczepieniu w obrębie domeny zewnątrzkomórkowej [53]. W wyniku tego rozszczepienia powstają dwie, połączone ze sobą niekovalencyjnie podjednostki: MUC1-N i MUC1-C. Następnie białko wędruje do aparatu Golgiego, gdzie domena MUC1-N ulega O-glikozylacji [10, 89]. Pełna O-glikozylacja MUC1 wymaga wielokrotnego powracania tego białka z powierzchni komórki do aparatu Golgiego, gdzie do łańcuchów cukrowych są przyłączane reszty kwasu sjałowego i ponownie jego wędrowki na powierzchnię błony komórkowej, aż do powstania dojrzałej cząsteczki białka [32]. Charakterystyczną cechą MUC1 wykrywanej na powierzchni komórek raka gruczołu piersiowego jest obecność skróconych i mniej licznych O-glikanów [14, 51], które w postaci długich i rozgałęzionych łańcuchów występują w prawidłowych komórkach nabłonka gruczołu piersiowego. W wyniku zahamowanej syntezy łańcuchów O-glikozydowych dochodzi do nagromadzenia na powierzchni komórek nowotworowych struktur prekursorowych, zwanych cukrowymi antygenami towarzyszącymi nowotworom (TACA, tumor associated carbohydrate antigens), takich jak antygeny: Tn, sjalo Tn, T oraz sjalo T oraz antygeny sjalo-Lea i sjalo-Lex [73, 92]. Dla przykładu, w ponad 90% ludzkich nowotworów złośliwych stwierdzono obecność antygenu T, którego nośnikiem jest głównie MUC1 [18, 79]. TACA odgrywają znaczącą rolę w progresji nowotworu, m.in. zwiększając potencjał przerzutujący komórek rakowych [23]. Uważa się, że ze względu na wielkość i silnie wydłużony, pałeczkaty kształt domeny zewnątrzkomórkowej MUC1 oraz



Ryc. 1. Schemat budowy cząsteczki MUC1 z uwzględnieniem jej struktury podjednostkowej. FDZ - fragment domeny zewnątrzkomórkowej, DTB - domena transbłonowa, DC – domena cytoplazmatyczna, VNTR - region utworzony z leżących jedna za drugą (tandemowo), powtarzających się sekwencji 20 reszt aminokwasowych; czerwona czcionką zaznaczono sekwencję reszt aminokwasowych: cysteina-glutamina-cysteina (CQC), która bierze udział w tworzeniu dimerów podjednostki MUC1-C. transbłonowa, DC – domena cytoplazmatyczna, VNTR - region utworzony z leżących jedna za drugą (tandemowo), powtarzających się sekwencji 20 reszt aminokwasowych; czerwona czcionką zaznaczono sekwencję reszt aminokwasowych: cysteina-glutamina-cysteina (CQC), która bierze udział w tworzeniu dimerów podjednostki MUC1-C. transbłonowa, DC - domena cytoplazmatyczna, VNTR - region utworzony z leżących jedna za drugą (tandemowo), powtarzających się sekwencji 20 reszt aminokwasowych; czerwona czcionką zaznaczono sekwencję reszt aminokwasowych: cysteina-glutamina-cysteina (CQC), która bierze udział w tworzeniu dimerów podjednostki MUC1-C

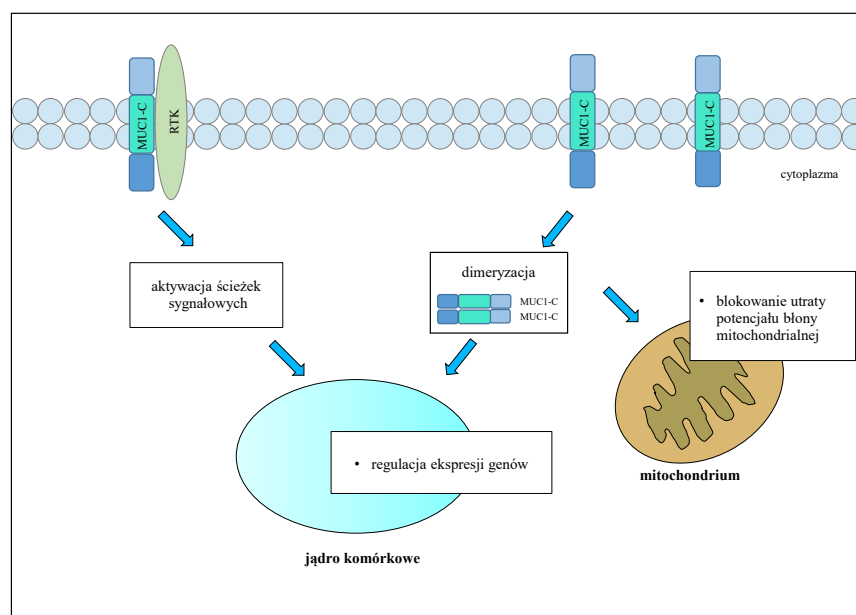
obecność licznych O-glikanów zakończonych resztami kwasu sialowego białko to może pełnić rolę cząsteczki antyadhezyjnej [13]. Jednak obecność licznych struktur cukrowych, takich jak antygeny sjalo-Lea/sjalo-Lex, czy antygen T, stanowiących odpowiednio, ligandy selektywnych i galektyny-3, wskazuje, że MUC1 może także odgrywać ważną rolę w adhezji komórek nowotworowych do innych komórek. Na przykład, oddziaływanie między antygenem T a galektyną-3 ma zwiększyć adhezję komórek nowotworowych, zarówno homotypowej (między komórkami nowotworowymi) jak i heterotypowej (między komórkami nowotworowymi a cząsteczkami adhezyjnymi na komórkach śródbłonka naczyniowego). Yu i wsp. [97] zaproponowali, że oddziaływanie antygeny T z galektyną-3 doprowadza do redystrybucji MUC1 na powierzchni komórek nowotworowych, co ma odsłaniać właściwe cząsteczki adhezyjne i/lub ich ligandy, prowadząc do wiązania się komórek nowotworowych do śródbłonka naczyniowego podczas kaskady przerzutowania [92]. W wyniku redystrybucji MUC1 ma dochodzić również do odsłonięcia cząsteczek adhezyjnych powodujących wzrost agregacji komórek nowotworowych, co ułatwia im przetrwanie w krwiobiegu podczas procesu przerzutowania i uniknięcie apoptozy wywołanej brakiem adhezji do substancji międzykomórkowej lub innych komórek (anoikis) [94].

O ile domena zewnątrzkomórkowa tej glikoproteiny, głównie dzięki obecności O-glikanów, jest odpowiedzialna, jak opisano wyżej, za oddziaływanie z innymi komórkami, to jej domena wewnątrzkomórkowa bierze udział w komórkowych szlakach przekazywania sygnału

oraz regulacji ekspresji genów [45]. Badania ostatnich lat sugerują, że to ta część cząsteczki definiuje mucynę MUC1 jako onkoproteinę i jest obiecującym celem terapii przeciwnowotworowych [69]. Właśnie tym zagadnieniom poświęcony jest niniejszy artykuł.

BUDOWA PODJEDNOSTKI MUC1-C

Podjednostka MUC1-C jest zbudowana z 58 aminokwasów domeny zewnątrzkomórkowej, odcinka śródbłonowego i wewnątrzkomórkowego ogona cytoplazmatycznego (ryc. 1). Badania ostatnich lat wykazały, że po odłączeniu podjednostki MUC1-N, podjednostka MUC1-C, oddziałując z receptorami o aktywności kinazy tyrozynowej, aktywuje odpowiednie ścieżki sygnałowe lub ulega internalizacji i akumuluje się w cytoplazmie, skąd może być transportowana do jądra komórkowego lub mitochondriów [46] (ryc. 2). Po internalizacji, podjednostki MUC1-C ulegają dimeryzacji w cytoplazmie, w co jest zaangażowany sąsiadujący z regionem transbłonowym motyw cysteina-glutamina-cysteina (CQC) [45], w którym pierwsza cysteina stanowi początek domeny wewnątrzkomórkowej [95]. Wykorzystując ludzkie komórki raka okrężnicy HCT116 i raka stercza LNCa/P, do których wprowadzono cDNA dla całego białka MUC1 oraz cDNA jedynie dla podjednostki MUC1-C, wykazano, że w obydwu wariantach komórkowych tworzą się dimery złożone z podjednostek MUC1-C. Wskazuje to, że tworzenie dimerów MUC1-C w komórce jest niezależne od podjednostki MUC1-N [69]. Traktując ludzkie komórki ZR-75 raka gruczołu piersiowego nadtenkiem wodoru wykazano, że podjednostki MUC1-



Ryc. 2. Udział mucyny MUC1-C w wewnątrzkomórkowych szlakach przekazywania sygnału, w regulacji ekspresji genów (prolifercja i różnicowanie komórek) i utracie potencjału błony mitochondrialnej (wzrost oporności komórek na apoptozę). i utracie potencjału błony mitochondrialnej (wzrost oporności komórek na apoptozę).

-C tworzą dimery w odpowiedzi na stres oksydacyjny. Dodanie do komórek czynników redukujących, takich jak ditiotretitol czy β -merkaptoetanol powoduje, że w cytoplazmie nie dochodzi do dimeryzacji. Ditiotretitol jak i β -merkaptoetanol zapobiegają zatem łączeniu się dwóch podjednostek MUC1-C przez redukcję wiązań disiarczkowych między cysteinami z motywów CQC [69]. Ekspresja w komórkach HCT116 podjednostki MUC1-C, w której reszty cysteiny w motywie CQC zastąpiono resztami alaniny, także spowodowała brak dimerów MUC1-C. Inkubacja komórek z wnioskującymi do ich wnętrza syntetycznymi peptydami zawierającymi motyw aminokwasowy CQCRRKN, prowadziła do zablokowania tworzenia dimerów MUC1-C, podczas gdy podanie peptydów z motywem AQARRKN nie miało wpływu na ten proces [69]. Wszystkie powyższe eksperymenty potwierdzają, że motyw CQC jest kluczowy dla powstania dimerów podjednostek MUC1-C w komórce.

REGULACJA EKSPRESJI MUC1 W KOMÓRKACH NOWOTWOROWYCH ORAZ UDZIAŁ MUC1-C W REGULACJI EKSPRESJI GENÓW

Gen MUC1 kodujący łańcuch polipeptydowy (apomucynę) MUC1 obejmuje 7 eksonów, z których w wyniku alternatywnego składania może powstać 21 wariantów transkrypcyjnych. Przy czym najczęściej dochodzi do ekspresji wariantu oznaczanego jako I [2].

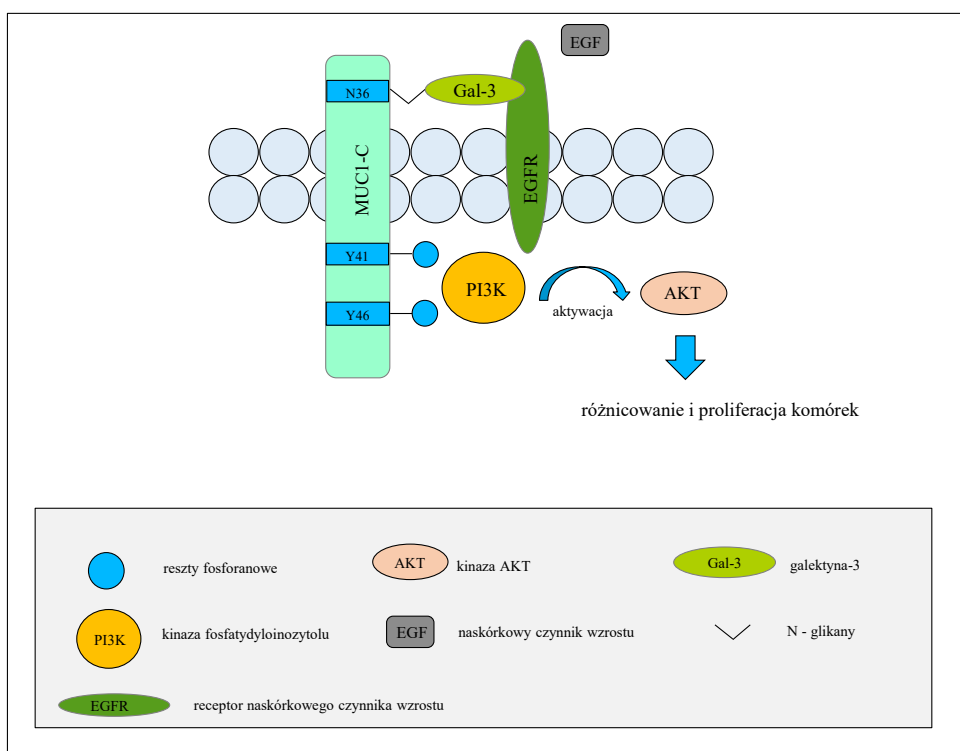
Uważa się, że, główną przyczyną nadmiernego wytwarzania białka MUC1 w komórkach nowotworowych jest zwiększona ekspresja genu MUC1 na poziomie jego transkrypcji [47]. Wykazano, że demetylacja wyspy CpG w obrębie promotora genu MUC1 wraz z demetylacją histonu H3-K9, przy jednoczesnej jego acetylacji, prowadzi do nadekspresji mRNA tej mucyny w komórkach raka gruczołu piersiowego, trzustki i okrężnicy [63, 87]. W wyniku badań nad promotorem genu MUC1 określono miejsca wiązania dla takich czynników transkrypcyjnych, jak Sp1, AP-1, ER, STAT1/3 i NF κ B/RelA, do nadekspresji których dochodzi w wielu rodzajach nowotworów [1]. Na przykład, ekspresja MUC1 w tkankach prawidłowych i komórkach raka gruczołu piersiowego jest indukowana przez aktywację białka STAT1 [50]. Przy czym, w komórkach raka gruczołu piersiowego promotor genu MUC1 może ulegać aktywacji na zasadzie sprzężenia zwrotnego dodatniego z udziałem podjednostki MUC1-C, która asocjuje z czynnikiem STAT1 przez bezpośrednie oddziaływanie z domeną wiążącą DNA tego białka. Wykazano również, że koekspresja MUC1 i STAT1 wiąże się często z progresją choroby nowotworowej i gorszą przeżywalnością pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego [41]. W innych badaniach wykazano, że w komórkach raka gruczołu piersiowego, MUC1-C wiąże się do kompleksu białek JAK/STAT3 [4]. Tak jak w przypadku STAT1, podjednostka MUC1-C wiąże się bezpośrednio do domeny wiążącej DNA zarówno białka JAK1, jak i STAT3. Kompleksy MUC1-C/STAT3 oddziałują z promotorami genów, takich białek jak cyklina D1 czy STAT3, obecność takich kompleksów stwierdzono także w regionie promotorowym genu MUC1 [4].

Komórki niektórych typów nowotworów często charakteryzują się brakiem ekspresji pewnych genów supresorowych, których inaktywacja często wiąże się z hipermetylacją regionów promotorowych przez metylotransferazy DNA, co sprzyja progresji nowotworu [56]. Sugeruje się, że w regulacji ekspresji tych enzymów udział bierze mucyna MUC1, a konkretnie podjednostka MUC1-C, która w połączeniu z czynnikiem NF- κ B oddziałuje z regionami promotorowymi genów DNMT1 oraz DNMT3b kodujących metylotransferazy. Wykazano, że zahamowanie ekspresji MUC1 w komórkach BT-549 raka gruczołu piersiowego powoduje spadek ekspresji tych dwóch metylotransferaz, natomiast nadmierne wytwarzanie MUC1 w komórkach MCF-7 powoduje wzrost ich ekspresji [71].

UDZIAŁ PODJEDNOSTKI MUC1-C W PROLIFERACJI KOMÓREK

Domena MUC1-C asocjuje z receptorem naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR), umiejscowionym na tej samej komórce i oddziaływanie to jest stymulowane przez naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) w ludzkich komórkach raka trzustki, gruczołu piersiowego, pęcherza moczowego i okrężnicy [19, 67]. Wykazano, że utworzenie kompleksu MUC1-C - EGFR prowadzi do fosforylacji w podjednostce MUC1-C reszt tyrozyny w pozycji 41 i 46 w czym udział bierze EGFR, a to powoduje aktywację kolejnych ścieżek sygnałowych [31]. Na przykład, dochodzi w ten sposób do aktywacji kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K), co powoduje aktywację kinazy AKT, stymulację proliferacji i wzrost przeżycia komórek nowotworowych (ryc. 3) [35]. Partridge i wsp. [66] wykazali, że w komórkach raka gruczołu piersiowego, EGFR asocjuje także z galektyną-3, która będąc białkiem o charakterze lektyny wiąże resztę galaktozy w łańcuchu N-glikozydowym przyłączonym do reszty asparaginy w pozycji 36 podjednostki MUC1-C (ryc. 3) [59, 66]. Galektyna-3 może więc stanowić „mostek” łączący EGFR z MUC1. Na udział galektyny-3 w tworzeniu kompleksu MUC1-C - EGFR wskazują również badania na komórkach raka trzustki, w których pokazano, że zahamowanie ekspresji galektyny-3 zmniejsza oddziaływanie między MUC1 i EGFR. Należy dodać, że nadekspresji MUC1 w komórkach raka gruczołu piersiowego towarzyszy nadekspresja galektyny-3, natomiast zahamowanie ekspresji MUC1 z użyciem siRNA wiąże się ze znacznym spadkiem poziomu tego białka w komórkach [72]. Ta obserwacja sugeruje, że MUC1 może dodatkowo brać udział w regulacji ekspresji galektyny-3.

Receptor HER2 należy do rodziny białek EGFR [62]. Nadekspresja HER2 w komórkach nowotworowych uaktywia ścieżki sygnałowe powodując wzmożoną progresję choroby nowotworowej [61]. Szacuje się, że nadmierne wytwarzanie tego białka zachodzi w około 20% przypadków raka gruczołu piersiowego. Trastuzumab (herceptyna) jest lekiem stosowanym z powodzeniem u pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego, u których wykazano nadekspresję receptora HER2 [9, 22]. Lek ten jest przeciwciałem monoklonalnym, które swoiście



Ryc. 3. Oddziaływanie podjednostki MUC1-C z EGFR, prowadzące do aktywacji komórkowych szlaków przekazywania sygnału, sprzyjających progresji nowotworu

wiąże się do zewnątrzkomórkowej domeny receptora HER2, co prowadzi do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych wykazujących nadmierne wytwarzanie tego białka [22, 57]. Niemniej jednak, w wielu przypadkach o takim fenotypie obserwuje się brak odpowiedzi na taką terapię lub nabycie oporności na herceptynę. Niedawne badania wykazały, że podjednostka MUC1-C asocjuje z receptorem HER2 i promuje aktywację ścieżki sygnałowej HER2 → kinaza AKT, a tym samym proliferację komórek [70]. Raina i wsp. [67] wykazali, że w komórkach raka gruczołu piersiowego BT474 wykazujących ekspresję receptora HER2, ale opornych na herceptynę, zahamowanie ekspresji MUC1 z użyciem siRNA powodowało wzrost wrażliwości komórek na ten lek. Inkubacja komórek SK-BR-3 oraz BT474 raka gruczołu piersiowego z inhibitorem dimeryzacji podjednostek MUC1-C również zmniejszała ilość fosforylowanego HER2 w komórkach oraz zmniejszała aktywację ścieżki sygnałowej zależną od kinazy AKT, a także wzrostu wrażliwości komórek na herceptynę. Wyniki tych badań świadczą zatem, że dimer podjednostek MUC1-C przyczynia się do fosforylacji HER2 i aktywacji ścieżki sygnałowej kinazy AKT, wzmagając proliferację komórek. Dodatkowo, MUC1-C przez oddziaływanie z receptorem HER2, prawdopodobnie blokuje jego dostępność dla trastuzumabu. Tak więc, zastosowanie inhibitora dimeryzacji MUC1-C w połączeniu z herceptyną ma działanie synergistyczne i daje nadzieję na leczenie pacjentów opornych na działanie tego leku [22, 70].

Podsumowując, należy stwierdzić, że wzmożona synteza podjednostki MUC1-1 w komórkach nowotworowych stymuluje ich proliferację i przeżywalność.

ROLA PODJEDNOSTKI MUC1-C W PROCESIE APOPTOZY

Podjednostka MUC1-C umiejscowiona w błonie komórkowej może być transportowana do jądra, za co odpowiedzialna jest importyna- β oraz nukleoporyna p62 [52]. W jądrze komórkowym, MUC1-C asocjuje z β -kateniną, a także innymi białkami, np. białkiem p53 zaangażowanym w indukcję apoptozy w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Wei i wsp. [84] wykazali, że powstający w komórkach raka gruczołu piersiowego w odpowiedzi na stres komórkowy kompleks MUC1-C z białkiem p53 wiąże się do promotora podstawowego w zapobieganiu apoptozie genu p21, przyczyniając się do aktywacji jego transkrypcji [84]. Kufe i wsp. [47] wykazali, że zahamowanie ekspresji MUC1 w ludzkich komórkach MCF-7 oraz ZR-75 raka gruczołu piersiowego powoduje wzrost ekspresji białka p53 [85]. Wykazano również, że podjednostka MUC1-C asocjuje z czynnikiem transkrypcyjnym Krupla 4 i kompleks ten wiąże się do promotora genu p53, zwiększając jego aktywność [85]. Wyniki te wskazują, że podjednostka MUC1-C, wpływając zarówno na ekspresję białka p53, jak i jego funkcję, ma w komórkach nowotworowych działanie antyapoptotyczne.

Ren i wsp. [74] wykazali, że w cytoplazmie komórek HTC116 raka okrężnicy oraz komórek ZR-75 raka gru-

czołu piersiowego podjednostka MUC1-C może tworzyć kompleks z białkami opiekuńczymi HSP70 oraz HSP90, powodując przeniesienie jej do błony zewnętrznej mitochondrium, gdzie może być zaangażowana w proces zahamowania apoptozy indukowanej cytostatykami [74]. Na ochronne działanie podjednostki MUC1-C wobec mitochondriów wskazują również badania, w których wykorzystano komórki HCT116 raka okrężnicy z nadprodukcją MUC1-C. Stwierdzono, że w obecności cisplatyny, w cytoplazmie tych komórek obserwuje się znacząco niższy poziom białek proapoptotycznych, takich jak cytochrom c, AIF czy Smac/DIABLO, w porównaniu z komórkami bez ekspresji MUC1. Powyższe wyniki badań wskazują, że w odpowiedzi na stres cytotoksyczny podjednostka MUC1-C wędruje do mitochondrium i oddziałując z białkami zewnętrznej błony mitochondrialnej blokuje utratę potencjału tej błony, powodując wzrost oporności komórek na apoptozę.

Na działanie antyapoptotyczne MUC1-C wskazują również badania Ahmada i wsp. [3], którzy wykazali, że w komórkach MCF-7 raka gruczołu piersiowego oraz komórkach HCT116 raka okrężnicy podjednostka MUC1-C asocjuje z proapoptotycznym białkiem Bax, blokując jego funkcję. Z badań tych wynika, że w odpowiedzi na stres oksydacyjny, podjednostka MUC1-C, poprzez motyw CQC, wiąże się z domeną BH3 białka Bax przy cysteinie w pozycji 62. Wiązanie to uniemożliwia przeniesienie tego białka do mitochondrium i zależne od niego uwolnienie cytochromu c [3]. Na antyapoptotyczne działanie podjednostki MUC1-C wskazują najnowsze badania, w których wykazano, że zahamowanie jej ekspresji w komórkach MDA-MB-648 oraz BT-20 raka gruczołu piersiowego obniża stężenie antyapoptotycznego białka MCL-1, natomiast nadekspresja MUC1-C w tych liniach wywołuje działanie odwrotne [33].

Podsumowując, powyższe doniesienia skłaniają do sformułowania wniosku, że wysoka ekspresja mucyny MUC1 w komórkach nowotworowych, zwłaszcza raka gruczołu piersiowego, może być jednym z istotnych czynników zwiększających ich oporność na apoptozę.

UDZIAŁ PODJEDNOSTKI MUC1-C W PRZEJŚCIU EPITELIALNO-MEZENCHYMALNYM (EMT)

Przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT) jest procesem fizjologicznym mającym szczególne znaczenie w embriogenezie [42]. Badania ostatnich lat dowodzą, że proces EMT zachodzi także w stanach patologicznych, przede wszystkim w czasie rozwoju i progresji choroby nowotworowej [29]. W wyniku tego zjawiska komórki nabłonkowe zmieniają swój fenotyp, zaczynają przypominać komórki mezenchymalne, nabywając zdolność migracji i inwazji, co sprzyja progresji nowotworu [12]. Jedną z charakterystycznych cech tych komórek jest zanik ekspresji kadheryny E, cząsteczki adhezyjnej odgrywającej kluczową rolę w międzykomórkowej adhezji prawidłowych komórek nowotworowych [65]. W proces EMT wydaje się zaangażowana również MUC1, która

konkuruje z kadheryną E o wiązanie z β -kateniną, co prowadzi do osłabienia połączeń międzykomórkowych [88]. Wynika to z tego, że domena cytoplazmatyczna podjednostki MUC1-C, podobnie jak kadheryna E, zawiera motyw sekwencyjny SAGNGGSSLS, którym charakteryzują się białka wiążące β -kateninę [54].

MUC1-C A NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYSTE

Dehydrogenaza aldehydowa A1A (ALDH A1A) jest markerem komórek macierzystych raka gruczołu piersiowego [27]. Enzym ten katalizuje utlenianie retinolu do kwasu retinowego, który jest czynnikiem indukującym różnicowanie komórek [28]. Kufe i wsp. [46] wykazali, że w komórkach MDA-MB-468 i MCF7 raka gruczołu piersiowego podjednostka MUC1-C asocjuje z fosforylowanym czynnikiem transkrypcyjnym C/EBP- β , a powstały kompleks wiąże się do promotora genu ALDH A1A, aktywując jego transkrypcję [5]. Udowodniono również, że zahamowanie ekspresji mucyny MUC1 w komórkach MDA-MB-468 oraz SK-BR-3 raka gruczołu piersiowego obniża ekspresję ALDH A1A, natomiast nadmierne wytwarzanie MUC1 w komórkach MCF7 powoduje znaczny wzrost ekspresji tego enzymu. Podjednostka MUC1-C aktywując ekspresję dehydrogenazy aldehydowej A1A w komórkach macierzystych raka gruczołu piersiowego może prowadzić do ich różnicowania.

Wzrost komórek macierzystych raka gruczołu piersiowego w postaci struktur sferycznych (tzw. mammosfer) jest jedną z charakterystycznych cech tej subpopulacji komórek i wiąże się z ich zdolnością do samoodnowy (self-renewal). Alam i wsp. [5] wykazali, że zahamowanie ekspresji podjednostki MUC1-C w komórkach MCF-7 i SK-BR-3 zapobiega formowaniu przez nie takich struktur [6]. Podobne działania obserwowano, gdy w komórkach z ekspresją MUC1 blokowano tworzenie przez mucynę funkcjonalnych dimerów w wyniku zastąpienia reszt cysteiny w motywie sekwencyjnym CQC domeny cytoplazmatycznej resztami alaniny. Dalsze badania wykazały, że MUC1-C asocjuje z czynnikiem transkrypcyjnym NF- κ B, co uaktywnia transkrypcję interleukiny-8, cytokiny niezbędnej w procesie tworzenia mammosfer [6].

Reasumując, MUC1-C zwiększa ekspresję dehydrogenazy aldehydowej A1A w komórkach macierzystych raka gruczołu piersiowego, co prowadzi do ich różnicowania i stymuluje tworzenie mammosfer.

ROLA MUCYNY MUC1 W PROCESIE ANGIOGENEZY

Angiogeneza jest procesem tworzenia nowych naczyń krwionośnych na bazie już istniejących [49]. Jest ściśle regulowana ze względu na jej ogromne znaczenie zarówno w stanach fizjologicznych, np. podczas rozwoju zarodkowego, jak i patologicznych, np. w rozwoju chorób niedokrwiennych, czy wzroście nowotworu [15, 20, 83]. Zdolność komórek nowotworowych do wzrostu w postaci guza jest możliwa dzięki dostępowi

do składników odżywczych i tlenu [38], co wymaga powstania odpowiedniej sieci naczyń krwionośnych, dostarczających niezbędnych do progresji nowotworu substancji [96]. Badania immunohistochemiczne wykazały istnienie dodatniej korelacji między poziomem MUC1 a ekspresją wielu czynników proangiogennych, takich jak: VEGF, fosforylaza tymidynowa, receptor KDR VEGF, czynnik wzrostu fibroblastów (FGF) oraz receptor FGF w niedrobnokomórkowym raku płuc [26]. Dużą korelację między ekspresją MUC1 a VEGF wykazano także w raku gruczołu piersiowego [86]. W tych samych badaniach, wykorzystując modele komórkowe, udowodniono, że MUC1-C bierze udział w regulacji ekspresji VEGF przez ścieżkę sygnałową kinazy AKT. Sahraei i wsp. [77] również wskazują na udział MUC1-C w regulacji ekspresji płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGFA) w komórkach raka trzustki [77]. Stosując immunoprecypitację wykazano, że w tych komórkach podjednostka MUC1-C asocjuje z czynnikiem transkrypcyjnym Hif-1 α i taki kompleks wędruje do jądra komórkowego, gdzie może wpływać na ekspresję PDGFA [32, 75].

Wykorzystując medium hodowlane z raka trzustki AsPC1 z wyciszoną ekspresją MUC1, poddanych hipoksji, w teście tworzenia naczyń krwionośnych przez ludzkie komórki śródbłonka żyły pępowinowej (HUVEC) wykazano, że komórki śródbłonka charakteryzowały się mniejszą zdolnością do formowania struktur rurkowatych i mniejszą zdolnością do inwazji oraz migracji, w porównaniu z komórkami kontrolnymi [43]. Wyniki te wskazują na udział MUC1 w procesie angiogenezy wywołanej hipoksją i sugerują, że MUC1-C regulując ekspresję czynników proangiogennych może mieć wpływ na tworzenie nowych naczyń krwionośnych w czasie progresji nowotworowej.

MUC1-C A METABOLIZM KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Zmiany w metabolizmie są charakterystyczną cechą komórek nowotworowych. Wysoki stopień proliferacji wymaga ciągłego dostarczania energii i substancji odżywczych. Wiele badań ostatnich lat wskazuje na udział MUC1-C w procesie reprogramowania metabolizmu komórek nowotworowych [58]. Duże zapotrzebowanie energetyczne zmusza komórki nowotworowe do wzmożonej glikolizy. Kosugi i wsp. [44] wykazali, że w szczurzych fibroblastach z nadexpresją MUC1-C obserwuje się nasilenie procesu glikolizy [44]. Chaika i wsp. [17] wskazali natomiast, że MUC1-C asocjując z czynnikami transkrypcyjnymi bierze udział w regulacji ekspresji enzymów glikolitycznych, takich jak enolaza-1 (ENO1) czy fosfoglukomutaza (PGM2). Wykorzystując modele komórkowe wykazano, że nadmierne wytwarzanie MUC1-C w komórkach raka trzustki powoduje wzrost poziomu mRNA dla takich enzymów jak heksokinaza HK2, kinaza fosfoglicerynianowa (PGK1), dehydrogenaza mleczanowa (LDHA), 6-fosfofrukto-2-kinaza (PFKFB2). Wyciszenie ekspresji MUC1 spowodowało odwrotny skutek [17]. Zwiększone aktywności enzymów glikolitycznych w komórkach nowotworowych są związane z wydajnym pobieraniem glukozy przez te komórki [24]. Za transport

glukozy do komórki odpowiadają błonowe transportery glukozy z rodziny białek GLUT, których zwiększoną ekspresję obserwuje się w wielu nowotworach [93]. Wykazano dodatnią korelację między ekspresją MUC1 a GLUT1 w raku grasicy [21] oraz w niedrobnokomórkowym raku płuc [39]. Także w komórkach S2-013 raka trzustki z nadexpresją MUC1 obserwowano wyższy poziom ekspresji transportera GLUT1 w porównaniu do kontroli [17]. Szybko proliferujące komórki nowotworowe, znajdujące się w nieprzyjaznym dla nich mikrośrodowisku guza (hipoksja, zakwaszenie) są narażone na niewystarczający dostęp do składników odżywczych. Badania wykazały, że przy niskim stężeniu glukozy w komórkach HT116 raka okrężnicy z nadexpresją MUC1 dochodzi do aktywacji ścieżki sygnałowej AMPK i do autofagii [90]. Nasilony proces autofagii w takich komórkach dostarcza im podstawowych metabolitów, takich jak: aminokwasy, lipidy czy nukleotydy [55].

Podsumowując MUC1 stymuluje metabolizm komórek nowotworowych, ułatwiając im przetrwanie w niekorzystnym środowisku guza.

MUC1 JAKO CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWYCH

Glikoproteina MUC1, ze względu na zbyt duże wytwarzanie, zmienioną glikozylację oraz znaczenie w patogenezie nowotworów, od dawna budziła zainteresowanie jako potencjalny cel terapii przeciwnowotworowych. Ze względu na immunogenność, MUC1 próbowano wykorzystywać w immunoterapiach bazujących m.in. na podawaniu humanizowanych przeciwciał anti-MUC1, koniugatów przeciwciał anti-MUC1 np. z radioaktywnymi pierwiastkami lub immunizacji pacjentów szczepionkami wykorzystującymi syntetyczne peptydy o sekwencjach odpowiadających fragmentom apomucyny w połączeniu z adjuwantami, czy syntetyczne antygeny cukrowe, takie jak Tn i sialo-Tn [51, 75]. Na przykład, preparat AS1402 jest humanizowanym przeciwciałem skierowanym na zewnątrzkomórkowy fragment białka MUC1. W początkowych badaniach *in vitro*, w których komórki ZR-75 raka gruczołu piersiowego traktowano przeciwciałem AS1402 stwierdzono, że wykazuje cytotoksyczność komórkową (ADCC- antibody-dependent cell mediated cytotoxicity) wobec tych komórek. W oparciu o te wyniki, w badaniach klinicznych podjęto próby podawania przeciwciała AS1402 w połączeniu z letrozolem, lekiem stosowanym u pacjentek z hormonozależną postacią raka gruczołu piersiowego. Jednak badania II fazy klinicznej, przeprowadzane w grupie 110 pacjentek z zaawansowanym rakiem gruczołu piersiowego, przerwano z powodu braku pozytywnej odpowiedzi. W niektórych przypadkach stwierdzano nawet progresję choroby [36]. W badaniach Oei i wsp. [64], pacjentkom z rakiem jajnika podawano przeciwciało HMFG1 skierowane przeciwko MUC1 skońiugowane z promieniotwórczym Itr (izotop Itr 90). U osób poddanych takiej terapii obserwowano wzrost poziomu przeciwciał skierowanych na MUC1 z jednoczesnym spadkiem poziomu markera CA 15.3 w surowicy. Wydużało to czas wolny od objawów choroby (DFS), ale

nie miało wpływu na całkowity czas przeżycia pacjentek (OS). Apostolopoulos i wsp. [8] przeprowadzili badania, w których pacjentkom z rakiem gruczołu piersiowego podawano szczepionkę zawierającą peptydy odpowiadające fragmentom apomucyny MUC1 [8]. Po 15 latach od badania dokonano analizy, która wykazała, że w grupie pacjentek, która otrzymywała placebo nawrót choroby nastąpił u 9 spośród 15 badanych osób, w grupie osób, które otrzymywały szczepionkę nawrót choroby nastąpił tylko u 2 z 16 badanych osób. Te obiecujące wyniki wymagają potwierdzenia na większej grupie pacjentek w III fazie badań klinicznych [82]. Oprócz szczepionek „peptydowych”, stosowano także szczepionkę, do produkcji której wykorzystano obecny na mucynie cukrowy antygen sjało Tn. Stosowanie takiej szczepionki w I i II fazie prób klinicznych spowodowało wzrost guza i wydłużyło czas przeżycia pacjentek [76]. Badania III fazy nie potwierdziły jednak tych wcześniejszych obserwacji. Zastosowanie tego typu szczepionek powodowało wprawdzie wzrost miana przeciwciał skierowanych na antygen sjało Tn, ale nie hamowało progresji nowotworu, ani czasu całkowitego przeżycia pacjentek [60].

Podsumowując, mimo że początkowe wyniki badań klinicznych wydawały się przynosić obiecujące wyniki, ostatecznie słaba odpowiedź immunologiczna lub brak wyniku leczenia w postaci ograniczenia progresji nowotworu, stały się główną przyczyną niepowodzeń immunoterapii, których celem było białko MUC1. Obecnie

w I fazie badań klinicznych znajduje się peptyd o nazwie GO-203, który wiążąc się do sekwencji CQC domeny cytoplazmatycznej podjednostki MUC1-C blokuje jej dimeryzację, a tym samym onkogenną funkcję [31, 81]. We wcześniejszych badaniach wykazano, że preparat ten blokuje samoodnowę macierzystych komórek raka gruczołu piersiowego [6], zdolność komórek nowotworowych do wzrostu w postaci guza [40], a także zwiększa ich podatność na apoptozę [91]. Komórki raka gruczołu piersiowego z nadekspresją HER2, odporne na działanie trastuzumabu, stają się wrażliwe na ten lek, gdy jest podawany z preparatem GO-203 [70].

PODSUMOWANIE

Mimo że już od lat osiemdziesiątych XX w. podejmowano próby wykorzystania MUC1 jako celu w zwalczaniu różnych typów nowotworów, dotychczas stosowane strategie nie przyniosły wymiernych efektów w postaci skutecznej terapii. Należy przy tym zaznaczyć, że większość dotychczasowych badań skupiała się na wykorzystaniu w celach terapeutycznych immunogennej, zewnątrzkomórkowej podjednostki MUC1-N. Badania ostatnich lat wskazują jednak, że to podjednostka MUC1-C obejmująca domenę transbłonową i cytoplazmatyczną ma większe znaczenie w progresji nowotworu [5, 68, 69, 85], co powoduje, że budzi coraz większe zainteresowanie, jako cel terapii przeciwnowotworowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abe M., Kufe D.: Characterization of cis-acting elements regulating transcription of the human DF3 breast carcinoma-associated antigen (MUC1) gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 282-286
- [2] Adil Butt M., Pye H., Haidry R.J., Oukrif D., Khan S.U., Puccio I., Gandy M., Reinert H.W., Bloom E., Rashid M., Yahioğlu G., Deonarain M.P., Hamoudi R., Rodriguez-Justo M., Novelli M.R. i wsp.: Upregulation of mucin glycoprotein MUC1 in the progression to esophageal adenocarcinoma and therapeutic potential with a targeted photoactive antibody-drug conjugate. *Oncotarget*, 2017; 8: 25080-25096
- [3] Ahmad R., Alam M., Rajabi H., Kufe D.: The MUC1-C oncoprotein binds to the BH3 domain of the pro-apoptotic BAX protein and blocks BAX function. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 20866-20875
- [4] Ahmad R., Rajabi H., Kosugi M., Joshi M.D., Alam M., Vasir B., Kawano T., Kharbanda S., Kufe D.: MUC1-C oncoprotein promotes STAT3 activation in an autoinductive regulatory loop. *Sci. Signal.*, 2011; 4: ra9
- [5] Alam M., Ahmad R., Rajabi H., Kharbanda A., Kufe D.: MUC1-C oncoprotein activates ERK3→C/EBPβ signaling and induction of aldehyde dehydrogenase 1A1 in breast cancer cells. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 30892-30903
- [6] Alam M., Rajabi H., Ahmad R., Jin C., Kufe D.: Targeting the MUC1-C oncoprotein inhibits self-renewal capacity of breast cancer cells. *Oncotarget*, 2014; 5: 2622-2634
- [7] Ali H.Q., Mahdi N.K., Al-Jowher M.H.: The value of CA15-3 in diagnosis, prognosis and treatment response in women with breast cancer. *J. Pak. Med. Assoc.*, 2013; 63: 1138-1141
- [8] Apostolopoulos V., Pietersz G.A., Tsiabanis A., Tsikkinis A., Drakaki H., Loveland B.E., Piddlesden S.J., Plebanski M., Pouniotis D.S., Alexis M.N., McKenzie I.F., Vassilaros S.: Pilot phase III immunotherapy study in early-stage breast cancer patients using oxidized mannan-MUC1 [ISRCTN71711835]. *Breast Cancer Res.*, 2006; 8: R27
- [9] Arteaga C.L.: Trastuzumab, an appropriate first-line single-agent therapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 2003; 5: 96-100
- [10] Bennett E.P., Mandel U., Clausen H., Gerken T.A., Fritz T.A., Tabak L.A.: Control of mucin-type O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology*, 2012; 22: 736-756
- [11] Białas P., Jankowska A.: Biochemical markers in breast and ovarian cancer. *Polski Przegląd Nauk o Zdrowiu*, 2015; 42: 115-121
- [12] Bong A.H., Monteith G.R.: Breast cancer cells: Focus on the consequences of epithelial-to-mesenchymal transition. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2017; 87: 23-26
- [13] Brockhausen I.: Mucin-type O-glycans in human colon and breast cancer: glycodynamics and functions. *EMBO Rep.*, 2006; 7: 599-604
- [14] Brockhausen I., Yang J.M., Burchell J., Whitehouse C., Taylor-Papadimitriou J.: Mechanisms underlying aberrant glycosylation of MUC1 mucin in breast cancer cells. *Eur. J. Biochem.*, 1995; 233: 607-617
- [15] Carmeliet P.: Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*, 2005; 438: 932-936
- [16] Cascio S., Finn O.J.: Intra- and extra-cellular events related to al-

- tered glycosylation of MUC1 promote chronic inflammation, tumor progression, invasion, and metastasis. *Biomolecules*, 2016; 6: E39
- [17] Chaika N. V., Gebregiorgis T., Lewallen M.E., Purohit V., Radhakrishnan P., Liu X., Zhang B., Mehla K., Brown R.B., Caffrey T., Yu F., Johnson K.R., Powers R., Hollingsworth M.A., Singh P.K.: MUC1 mucin stabilizes and activates hypoxia-inducible factor 1 alpha to regulate metabolism in pancreatic cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 13787-13792
- [18] Desai P.R.: Immunoreactive T and Tn antigens in malignancy: role in carcinoma diagnosis, prognosis, and immunotherapy. *Transfus. Med. Rev.*, 2000; 14: 312-325
- [19] Dharmaraj N., Engel B.J., Carson D.D.: Activated EGFR stimulates MUC1 expression in human uterine and pancreatic cancer cell lines. *J. Cell. Biochem.*, 2013; 114: 2314-2322
- [20] Dimova I., Popivanov G., Djonov V.: Angiogenesis in cancer - general pathways and their therapeutic implications. *J. BUON*, 2014; 19: 15-21
- [21] Du M.J., Shen Q., Yin H., Rao Q., Zhou M.X.: Diagnostic roles of MUC1 and GLUT1 in differentiating thymic carcinoma from type B3 thymoma. *Pathol. Res. Pract.*, 2016; 212: 1048-1051
- [22] Fessler S.P., Wotkowicz M.T., Mahanta S.K., Bamdad C.: MUC1* is a determinant of trastuzumab (Herceptin) resistance in breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2009; 118: 113-124
- [23] Fu C., Zhao H., Wang Y., Cai H., Xiao Y., Zeng Y., Chen H.: Tumor-associated antigens: Tn antigen, sTn antigen, and T antigen. *HLA*, 2016; 88: 275-286
- [24] Gajek K., Wiatrak B., Ślęzak A., Ussowicz M.: Strategie odżywcze komórek nowotworowych – przegląd wybranych typów nowotworów z uwzględnieniem zmian w poziomie i wzorze ekspresji transporterów glukozy. *Acta Bio-Optica Inform. Medica*, 2017; 23: 133-146
- [25] Gendler S.J.: MUC1, the renaissance molecule. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2001; 6: 339-353
- [26] Giatromanolaki A., Koukourakis M.I., Sivridis E., O'Byrne K., Cox G., Thorpe P.E., Gatter K.C., Harris A.L.: Coexpression of MUC1 glycoprotein with multiple angiogenic factors in non-small cell lung cancer suggests coactivation of angiogenic and migration pathways. *Clin. Cancer Res.*, 2000; 6: 1917-1921
- [27] Ginestier C., Hur M.H., Charafe-Jauffret E., Monville F., Dutcher J., Brown M., Jacquemier J., Viens P., Kleer C.G., Liu S., Schott A., Hayes D., Birnbaum D., Wicha M.S., Dontu G.: ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*, 2007; 1: 555-567
- [28] Ginestier C., Wicinski J., Cervera N., Monville F., Finetti P., Bertucci F., Wicha M.S., Birnbaum D., Charafe-Jauffret E.: Retinoid signaling regulates breast cancer stem cell differentiation. *Cell Cycle*, 2009; 8: 3297-3302
- [29] Gos M., Miloszewska J., Przybyszewska M.: Rola przejścia epithelialno-mezenchymalnego w progresji nowotworu. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 121-128
- [30] Hanson R.L., Hollingsworth M.A.: Functional consequences of differential O-glycosylation of MUC1, MUC4, and MUC16 (downstream effects on signaling). *Biomolecules*, 2016; 6: E34
- [31] Hasegawa M., Sinha R.K., Kumar M., Alam M., Yin L., Raina D., Kharbanda A., Panchamoorthy G., Gupta D., Singh H., Kharbanda S., Kufe D.: Intracellular targeting of the oncogenic MUC1-C protein with a novel GO-203 nanoparticle formulation. *Clin. Cancer Res.*, 2015; 21: 2338-2347
- [32] Hilkens J., Buijs F.: Biosynthesis of MAM-6, an epithelial sialomucin. Evidence for involvement of a rare proteolytic cleavage step in the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, 1988; 263: 4215-4222
- [33] Hiraki M., Suzuki Y., Alam M., Hinohara K., Hasegawa M., Jin C., Kharbanda S., Kufe D.: MUC1-C stabilizes MCL-1 in the oxidative stress response of triple-negative breast cancer cells to BCL-2 inhibitors. *Sci. Rep.*, 2016; 6: 26643
- [34] Hoffmann A.C., Mori R., Vallbohmer D., Brabender J., Klein E., Drebbler U., Baldus S.E., Cooc J., Azuma M., Metzger R., Hoelscher A.H., Danenberg K.D., Prenzel K.L., Danenberg P.V.: High expression of HIF1a is a predictor of clinical outcome in patients with pancreatic ductal adenocarcinomas and correlated to PDGFA, VEGF, and bFGF. *Neoplasia*, 2008; 10: 674-679
- [35] Horn G., Gaziol A., Wreschner D.H., Smorodinsky N.I., Ehrlich M.: ERK and PI3K regulate different aspects of the epithelial to mesenchymal transition of mammary tumor cells induced by truncated MUC1. *Exp. Cell Res.*, 2009; 315: 1490-1504
- [36] Ibrahim N.K., Yariz K.O., Bondarenko I., Manikhas A., Semiglazov V., Alyasova A., Komisarenko V., Shparyk Y., Murray J.L., Jones D., Senderovich S., Chau A., Erlandsson F., Acton G., Pegram M.: Randomized phase II trial of letrozole plus Anti-MUC1 antibody AS1402 in hormone receptor-positive locally advanced or metastatic breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2011; 17: 6822-6830
- [37] Janik-Papis K., Błasiak J.: Molekularne wyznaczniki raka piersi. Inicjacja i promocja - część I. *Nowotwory*, 2010; 60: 236
- [38] Jarosz P., Woźniak B.: Angiogeneza w chorobach nowotworowych. *Przegląd Med. Uniw. Rzesz. i Nar. Inst. Leków w Warszawie*, 2012; 4: 498-507
- [39] Kaira K., Nakagawa K., Ohde Y., Okumura T., Takahashi T., Murakami H., Endo M., Kondo H., Nakajima T., Yamamoto N.: Depolarized MUC1 expression is closely associated with hypoxic markers and poor outcome in resected non-small cell lung cancer. *Int. J. Surg. Pathol.*, 2012; 20: 223-232
- [40] Kharbanda A., Rajabi H., Jin C., Alam M., Wong K.K., Kufe D.: MUC1-C confers EMT and KRAS independence in mutant KRAS lung cancer cells. *Oncotarget*, 2014; 5: 8893-8905
- [41] Khodarev N., Ahmad R., Rajabi H., Pitroda S., Kufe T., McClary C., Joshi M.D., MacDermid D., Weichselbaum R., Kufe D.: Cooperativity of the MUC1 oncoprotein and STAT1 pathway in poor prognosis human breast cancer. *Oncogene*, 2010; 29: 920-929
- [42] Kim D.H., Xing T., Yang Z., Dudek R., Lu Q., Chen Y.H.: Epithelial mesenchymal transition in embryonic development, tissue repair and cancer: A comprehensive overview. *J. Clin. Med.*, 2017; 7: E1
- [43] Kitamoto S., Yokoyama S., Higashi M., Yamada N., Takao S., Yonezawa S.: MUC1 enhances hypoxia-driven angiogenesis through the regulation of multiple proangiogenic factors. *Oncogene*, 2013; 32: 4614-4621
- [44] Kosugi M., Ahmad R., Alam M., Uchida Y., Kufe D.: MUC1-C oncoprotein regulates glycolysis and pyruvate kinase M2 activity in cancer cells. *PLoS One*, 2011; 6: e28234
- [45] Kufe D.: Oncogenic function of the MUC1 receptor subunit in gene regulation. *Oncogene*, 2010; 29: 5663-5666
- [46] Kufe D.W.: Targeting the human MUC1 oncoprotein: A tale of two proteins. *Cancer Biol. Ther.*, 2008; 7: 81-84
- [47] Kufe D.W.: Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2009; 9: 874-885
- [48] Kumpulainen E.J., Kesikuru R.J., Johansson R.T.: Serum tumor marker CA 15.3 and stage are the two most powerful predictors of survival in primary breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2002; 76: 95-102
- [49] Kurzyk A.: Angiogeneza - możliwości, problemy, perspektywy. *Postępy Biochem.*, 2015; 61: 25-34
- [50] Lagow E.L., Carson D.D.: Synergistic stimulation of MUC1 expression in normal breast epithelia and breast cancer cells by interferon- γ and tumor necrosis factor- α . *J. Cell. Biochem.*, 2002; 86: 759-772
- [51] Laskowska A., Ugorski M.: Mucyny – budowa, właściwości i rola

w progresywnym wroście nowotworowym. *Współcz. Onkol.*, 1999; 6: 244-248

[52] Leng Y., Cao C., Ren J., Huang L., Chen D., Ito M., Kufe D.: Nuclear import of the MUC1-C oncoprotein is mediated by nucleoporin Nup62. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 19321-19330

[53] Levitin F., Stern O., Weiss M., Gil-Henn C., Ziv R., Prokocimer Z., Smorodinsky N.I., Rubinstein D.B., Wreschner D.H.: The MUC1 SEA module is a self-cleaving domain. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 33374-33386

[54] Li Y., Bharti A., Chen D., Gong J., Kufe D.: Interaction of glycogen synthase kinase β with the DF3/MUC1 carcinoma-associated antigen and β -catenin. *Mol. Cell. Biol.*, 1998; 18: 7216-7224

[55] Lisiak N., Tотоń E., Rybczyńska M.: Autofagia, nowe perspektywy w terapii przeciwnowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 925-935

[56] Łuczak M.W., Jagodziński P.P.: The role of DNA methylation in cancer development. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 2006; 44: 143-154

[57] Mathew A., Romond E.H.: Systemic therapy for HER2-positive early-stage breast cancer. *Curr. Probl. Cancer*, 2016; 40: 106-116

[58] Mehla K., Singh P.K.: MUC1: a novel metabolic master regulator. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014; 1845: 126-135

[59] Merlin J., Stechly L., de Beaucé S., Monté D., Leteurtre E., van Seuningen I., Huet G., Pigny P.: Galectin-3 regulates MUC1 and EGFR cellular distribution and EGFR downstream pathways in pancreatic cancer cells. *Oncogene*, 2011; 30: 2514-2525

[60] Miles D., Roché H., Martin M., Perren T.J., Cameron D.A., Glaspy J., Dodwell D., Parker J., Mayordomo J., Tres A., Murray J.L., Ibrahim N.K., Theratope Study Group: Phase III multicenter clinical trial of the sialyl-TN (STn)-keyhole limpet hemocyanin (KLH) vaccine for metastatic breast cancer. *Oncologist*, 2011; 16: 1092-1100

[61] Moasser M.M.: The oncogene HER2: Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*, 2007; 26: 6469-6487

[62] Nakashoji A., Hayashida T., Yokoe T., Maeda H., Toyota T., Kikuchi M., Watanuki R., Nagayama A., Seki T., Takahashi M., Abe T., Kitagawa Y.: The updated network meta-analysis of neoadjuvant therapy for HER2-positive breast cancer. *Cancer Treat. Rev.*, 2018; 62: 9-17

[63] Nath S., Mukherjee P.: MUC1: A multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression. *Trends Mol. Med.*, 2014; 20: 332-342

[64] Oei A.L., Moreno M., Verheijen R.H., Sweep F.C., Thomas C.M., Massuger L.F., von Mensdorff-Pouilly S.: Induction of IgG antibodies to MUC1 and survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Int. J. Cancer*, 2008; 123: 1848-1853

[65] Papiewska-Pająk I., Kowalska M.A., Boncela J.: Ekspresja i aktywność czynnika transkrypcyjnego SNAIL w trakcie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) w procesie nowotworzenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2016; 70: 968-980

[66] Partridge E.A., Partridge E.A., Le Roy C., Di Guglielmo G.M., Pawling J., Cheung P., Granovsky M., Nabi I.R., Wrana J.L., Dennis J.W.: Regulation of cytokine receptors by Golgi N-glycan processing and endocytosis. *Science*, 2004; 306: 120-124

[67] Piyush T., Chacko A.R., Sindrewicz P., Hilken J., Rhodes J.M., Yu L.G.: Interaction of galectin-3 with MUC1 on cell surface promotes EGFR dimerization and activation in human epithelial cancer cells. *Cell Death Differ.*, 2017; 24: 1937-1947

[68] Raina D., Agarwal P., Lee J., Bharti A., McKnight C.J., Sharma P., Kharbanda S., Kufe D.: Characterization of the MUC1-C cytoplasmic domain as a cancer target. *PLoS One*, 2015; 10: e0135156

[69] Raina D., Ahmad R., Rajabi H., Panchamoorthy G., Kharbanda S., Kufe D.: Targeting cysteine-mediated dimerization of the MUC1-C oncoprotein in human cancer cells. *Int. J. Oncol.*, 2012; 40: 1643-1649

[70] Raina D., Uchida Y., Kharbanda A., Rajabi H., Panchamoorthy G., Jin C., Kharbanda S., Scaltriti M., Baselga J., Kufe D.: Targeting the MUC1-C oncoprotein downregulates HER2 activation and abrogates trastuzumab resistance in breast cancer cells. *Oncogene*, 2014; 33: 3422-3431

[71] Rajabi H., Tagde A., Alam M., Bouillez A., Pitroda S., Suzuki Y., Kufe D.: DNA methylation by DNMT1 and DNMT3b methyltransferases is driven by the MUC1-C oncoprotein in human carcinoma cells. *Oncogene*, 2016; 35: 6439-6445

[72] Ramasamy S., Duraisamy S., Barbashov S., Kawano T., Kharbanda S., Kufe D.: The MUC1 and galectin-3 oncoproteins function in a microRNA-dependent regulatory loop. *Mol. Cell*, 2007; 27: 992-1004

[73] Regimbald L.H., Pilarski L.M., Longenecker B.M., Reddish M.A., Zimmermann G., Hugh J.C.: The breast mucin MUC1 as a novel adhesion ligand for endothelial intercellular adhesion molecule 1 in breast cancer. *Cancer Res.*, 1996; 56: 4244-4249

[74] Ren J., Bharti A., Raina D., Chen W., Ahmad R., Kufe D.: MUC1 oncoprotein is targeted to mitochondria by heregulin-induced activation of c-Src and the molecular chaperone HSP90. *Oncogene*, 2006; 25: 20-31

[75] Rivalland G., Loveland B., Mitchell P.: Update on mucin-1 immunotherapy in cancer: a clinical perspective. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2015; 15: 1773-1787

[76] Sabbatini P.J., Ragupathi G., Hood C., Aghajanian C.A., Juretzka M., Iasonos A., Hensley M.L., Spassova M.K., Ouerfelli O., Spriggs D.R., Tew W.P., Konner J., Clausen H., Abu Rustum N., Dansiehesky S.J. i wsp.: Pilot study of a heptavalent vaccine-keyhole limpet hemocyanin conjugate plus QS21 in patients with epithelial ovarian, fallopian tube, or peritoneal cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 4170-4177

[77] Sahraei M., Roy L.D., Curry J.M., Teresa T.L., Nath S., Besmer D., Kidiyoor A., Dalia R., Gendler S.J., Mukherjee P.: MUC1 regulates PDGFA expression during pancreatic cancer progression. *Oncogene*, 2012; 31: 4935-4945

[78] Singh R., Bandyopadhyay D.: MUC1: A target molecule for cancer therapy. *Cancer Biol. Ther.*, 2007; 6: 481-486

[79] Solatycka A., Owczarek T., Piller F., Piller V., Pula B., Wojciech L., Podhorska-Okolow M., Dziegiel P., Ugorski M.: MUC1 in human and murine mammary carcinoma cells decreases the expression of core 2 β 1,6-N-acetylglucosaminyltransferase and β -galactoside α 2,3-sialyltransferase. *Glycobiology*, 2012; 22: 1042-1054

[80] Taylor-Papadimitriou J., Burchell J., Miles D.W., Dalziel M.: MUC1 and cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999; 1455: 301-313

[81] Uchida Y., Raina D., Kharbanda S., Kufe D.: Inhibition of the MUC1-C oncoprotein is synergistic with cytotoxic agents in the treatment of breast cancer cells. *Cancer Biol. Ther.*, 2013; 14: 127-134

[82] Vassilaros S., Tsibanis A., Tsikkinis A., Pietersz G., McKenzie I.F., Apostolopoulos V.: Up to 15-year clinical follow-up of a pilot Phase III immunotherapy study in stage II breast cancer patients using oxidized mannan-MUC1. *Immunotherapy*, 2013; 5: 1177-1182

[83] Viallard C., Larrivé B.: Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. *Angiogenesis*, 2017; 20: 409-426

[84] Wei X., Xu H., Kufe D.: Human MUC1 oncoprotein regulates p53-responsive gene transcription in the genotoxic stress response. *Cancer Cell*, 2005; 7: 167-178

[85] Wei X., Xu H., Kufe D.: Human mucin 1 oncoprotein represses transcription of the p53 tumor suppressor gene. *Cancer Res.*, 2007; 67: 1853-1858

[86] Woo J.K., Choi Y., Oh S.H., Jeong J.H., Choi D.H., Seo H.S., Kim C.W.: Mucin 1 enhances the tumor angiogenic response by activation of the AKT signaling pathway. *Oncogene*, 2012; 31: 2187-2198

- [87] Yamada N., Nishida Y., Tsutsumida H., Hamada T., Goto M., Higashi M., Nomoto M., Yonezawa S.: MUC1 expression is regulated by DNA methylation and histone H3 lysine 9 modification in cancer cells. *Cancer Res.*, 2008; 68: 2708-2716
- [88] Yamamoto M., Bharti A., Li Y., Kufe D.: Interaction of the DF3/MUC1 breast carcinoma-associated antigen and β -catenin in cell adhesion. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 12492-12494
- [89] Yang E., Hu X.F., Xing P.X.: Advances of MUC1 as a target for breast cancer immunotherapy. *Histol. Histopathol.*, 2007; 22: 905-922
- [90] Yin L., Kharbanda S., Kufe D.: MUC1 oncoprotein promotes autophagy in a survival response to glucose deprivation. *Int. J. Oncol.*, 2009; 34: 1691-1699
- [91] Yin L., Kufe T., Avigan D., Kufe D.: Targeting MUC1-C is synergistic with bortezomib in downregulating TIGAR and inducing ROS-mediated myeloma cell death. *Blood*, 2014; 123: 2997-3006
- [92] Yu L.G., Andrews N., Zhao Q., McKean D., Williams J.F., Connor L.J., Gerasimenko O.V., Hilken J., Hirabayashi J., Kasai K., Rhodes J.M.: Galectin-3 interaction with Thomsen-Friedenreich disaccharide on cancer-associated MUC1 causes increased cancer cell endothelial adhesion. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 773-781
- [93] Yu M., Yongzhi H., Chen S., Luo X., Lin Y., Zhou Y., Jin H., Hou B., Deng Y., Tu L., Jian Z.: The prognostic value of GLUT1 in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, 2017; 8: 43356-43367
- [94] Zhao Q., Barclay M., Hilken J., Guo X., Barrow H., Rhodes J.M., Yu L.G.: Interaction between circulating galectin-3 and cancer-associated MUC1 enhances tumour cell homotypic aggregation and prevents anoikis. *Mol. Cancer*, 2010; 9: 154
- [95] Zhou Y., Rajabi H., Kufe D.: Mucin 1 C-terminal subunit oncoprotein is a target for small-molecule inhibitors. *Mol. Pharmacol.*, 2011; 79: 886-893
- [96] Zielonka T.M.: Angiogeneza - Część I. Mechanizm powstawania nowych naczyń krwionośnych. *Alerg. Astma Immunol.*, 2003; 8: 169-174

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.