



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Caveolin-1 και καρκινογένεση παχέος εντέρου»

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ Ν.ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

Ιατρός Παθολόγος Ογκολόγος
Επιμελητής Ογκολογικής κλινικής Π.Γ.Ν.Λάρισα

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ,

Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ,

Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ,

Επίκουρος Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΛΑΡΙΣΑ, ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2016

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι από τις πιο συχνές κακοήθειες του ανθρώπου και εμφανίζει κακή πρόγνωση σε προχωρημένα στάδια. Παράλληλα, σε πιο πρώιμα στάδια δεν υπάρχουν καλά τεκμηριωμένοι βιοδείκτες για την ανάγκη χορήγησης συμπληρωματικών του χειρουργείου θεραπειών. Γι' αυτό, η ερευνητική προσπάθεια έχει προσανατολιστεί στην ανίχνευση μοριακών προγνωστικών και προβλεπτικών βιοδεικτών. Η Caveolin-1 είναι μια πρωτεΐνη, κύριο συστατικό των Caveolae της κυτταρικής μεμβράνης, με δράσεις στην κυτταρική σηματοδότηση, στις μεταφορές της μεμβράνης, στην ομοιόσταση των λιπιδίων και στο μετασχηματισμό των κυττάρων. Προκειμένου να μελετηθεί ο ρόλος της Caveolin-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου έγινε συστηματική αναζήτηση στη βάση δεδομένων Pub Med χρησιμοποιώντας ως κριτήρια αναζήτησης τους όρους «Caveolin-1» και «Caveolin-1 and Colon Cancer». Μετά από την αρχική εύρεση των άρθρων και επιλογή εκείνων με δεδομένα σχετικά με την Caveolin-1 και τον καρκίνο του παχέος εντέρου έγινε ταξινόμηση των μελετών σε αυτές με προκλινικά και με κλινικά στοιχεία. Ακολούθησε κριτική ανάλυση των μελετών και στην περίπτωση των κλινικών δεδομένων ομαδοποίηση σε πίνακα των μεθόδων ανάλυσης και των αποτελεσμάτων. Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα η Caveolin-1 υπερεκφράζεται στα καρκινώματα του παχέος εντέρου σε σχέση με το φυσιολογικό κολονικό επιθήλιο και η έκφραση είναι αναλογικά μεγαλύτερη όσο πιο προχωρημένο είναι το αδενοκαρκίνωμα. Η Caveolin-1 έχει διττό ρόλο ως επαγωγέας και ως καταστολέας της ογκογένεσης και αυτό εξαρτάται από τη διαφορετική ενεργοποίηση διαφόρων τμημάτων της πρωτεΐνης και την ποικίλη αλληλεπίδραση με διάφορα μόρια και την ακόλουθη επίδραση σηματοδοτικών μονοπατιών.

ABSTRACT

Colorectal cancer is one of the most common human malignancies and has a poor prognosis in advanced stages. Meanwhile, in earlier stages there are well documented biomarkers to guide to additional therapies after surgery. Therefore, the research effort is aiming at detecting molecular prognostic and predictive biomarkers. Caveolin-1 is a protein, the main component of Caveolae cell membrane, which acts in cellular signaling, in the membrane transport, in the homeostasis of lipid and in the cell transformation. To study the role of Caveolin-1 in colorectal cancer there was a systematic search in the Pub Med database using as search criteria the terms of «Caveolin-1» and «Caveolin-1 and Colon Cancer». After the initial articles

were found and selected according to having data on the Caveolin-1 and Colon cancer, and then they were classified in those with preclinical and clinical data. A critical analysis of the studies took place and those with clinical data were grouping in a table based on analytical methods and results. Summarizing the results, we concluded that Caveolin-1 is overexpressed in tumors of the colon compared to normal colonic epithelium and expression is more elevated as the adenocarcinoma is more advanced. Finally, Caveolin-1 has a dual role as an inducer and suppressor of tumorigenesis and this depends on the different activation of the various parts of the protein and variable interaction with molecules and the subsequent effect in signaling pathways.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

- ΕΙΣΑΓΩΓΗ
- ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ
- ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. CAVEOLAE ΚΑΙ CAVEOLIN-1.
- ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ CAVEOLIN-1 ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΒΑΣΙΣΜΕΝΟΣ ΣΕ ΠΡΟΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ.
- ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ CAVEOLIN-1 ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΒΑΣΙΣΜΕΝΟΣ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ.
- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ
- ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στις μέρες μας παρατηρείται αύξηση των νεότερων στοχευτικών μοριακών θεραπειών στη θεραπεία του καρκίνου. Συγχρόνως όμως, στερούμαστε τεκμηριωμένων προβλεπτικών βιοδεικτών για να καθορίσουμε ποιοι ασθενείς θα επωφεληθούν από τα κατάλληλα φάρμακα. Το μοντέλο «one size fits all» δεν ισχύει και αυτό αποδεικνύεται από την διαφορετική απάντηση σε κάθε φάρμακο. Από την άλλη, υπάρχουν ασθενείς σε διάφορα στάδια καρκίνου που έχουν διαφορετική πρόγνωση και αυτό κάνει επιτακτική την ανάγκη να μπορούν να αναγνωριστούν αυτοί οι ασθενείς που έχουν τη χειρότερη πρόγνωση και να λάβουν τις κατάλληλες θεραπείες. Συνεπώς, η ανάγκη εύρεσης προγνωστικών και προβλεπτικών βιοδεικτών στον καρκίνο και συγκεκριμένα στον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι επιβεβλημένη.

Ως τώρα, στον καρκίνο του παχέος εντέρου μοναδικός προβλεπτικός μοριακός βιοδείκτης ανταπόκρισης στη θεραπεία με στοχευτικά μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) είναι η ύπαρξη μεταλλάξεων στο K-RAS και N-RAS ογκογονίδιο στο 50% περίπου των περιπτώσεων (εξώνια 2-4) και στο B-RAF ογκογονίδιο (εξώνιο 15) στο 10% των περιπτώσεων. Όταν υπάρχουν μεταλλάξεις στα άνωθεν ογκογονίδια τότε δεν παρατηρείται όφελος στη θεραπεία με τα anti-EGFR φάρμακα. Αρκετές ερευνητικές προσπάθειες διεξάγονται στον τομέα αυτό με δοκιμή σε πληθώρα μορίων χωρίς μέχρι τώρα να έχουν ανακαλυφθεί τεκμηριωμένοι και επικυρωμένοι βιοδείκτες.

Προς αυτήν την κατεύθυνση, ο σκοπός αυτής της ανασκόπησης ήταν η παρουσίαση όλων των επιστημονικών δεδομένων που αφορούν ένα μόριο-πρωτεΐνη, την Caveolin-1, και το ρόλο που αυτή διαδραματίζει στην καρκινογένεση και εξέλιξη των νεοπλασμάτων του παχέος εντέρου. Η επιλογή αυτής της πρωτεΐνης βασίστηκε στην ποικιλότροπο δράση της και στα ενδιαφέροντα και ελκυστικά ευρήματα από τις προκλινικές και κλινικές μελέτες.

Η ανασκόπηση των επιστημονικών ευρημάτων πραγματοποιήθηκε με αναζήτηση στην ηλεκτρονική βιβλιοθήκη Pub Med χρησιμοποιώντας ως λέξεις-κλειδιά, τους όρους «Caveolin-1» και «Caveolin-1 and Colon Cancer». Μετά την πρώτη επιλογή 86 περίπου άρθρων πραγματοποιήθηκε κριτική ανάλυση και επιλογή εκείνων με χρήσιμα και σχετιζόμενα με το θέμα δεδομένα. Ακολούθησε επεξεργασία των επιστημονικών δεδομένων και στην περίπτωση των κλινικών μελετών ομαδοποίηση των αποτελεσμάτων σε μορφή πίνακα για την συνοπτική καταγραφή τους.

Στο κεφάλαιο 1 παρουσιάζονται τα επιδημιολογικά στοιχεία για τον καρκίνο του παχέος εντέρου, τον τρόπο σταδιοποίησης των καρκινωμάτων και τις υφιστάμενες θεραπευτικές επιλογές.

Στο κεφάλαιο 2 παρουσιάζονται η δομή των Caveolae της κυτταρικής μεμβράνης και οι λειτουργίες τους. Ακόμη, περιγράφεται το μόριο της πρωτεΐνης Caveolin-1, η δόμη της, η τοπολογία της και οι λειτουργίες της.

Στο κεφάλαιο 3 παρουσιάζονται αναλυτικά όλες οι μελέτες με προκλινικά μοντέλα (κυτταρικές καρκινικές σειρές παχέος εντέρου ή ζωικά μοντέλα) που αφορούν την Caveolin-1 και τα αποτελέσματα αυτών ενώ στο τέλος παραθέτονται τα συμπεράσματα αυτών των μελετών.

Στο κεφάλαιο 4 παρουσιάζονται όλες οι μελέτες με κλινικά μοντέλα δηλαδή με ανθρώπινους φυσιολογικούς ή καρκινικούς ιστούς που εξετάζουν την έκφραση της Caveolin-1 και καταγράφονται τα συμπεράσματα αυτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Ο ορθοκολικός καρκίνος (Colorectal Cancer) είναι η τρίτη πιο κοινή αιτία καρκίνου που διαγιγνώσκεται στους άνδρες και η δεύτερη στις γυναίκες. Τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου είναι η πιο κοινή κακοήθεια του γαστρεντερικού σωλήνα [1]. Τα καρκινώματα του παχέος εντέρου εμφανίζονται πιο συχνά μεταξύ των 60 και 79 ετών και η συχνότητα τους αυξάνεται με την ηλικία. Αν και είναι ασυνήθιστο να εμφανιστούν πριν από την ηλικία των 40 ετών, η ανάπτυξή τους είναι δυνατή λόγω γενετικής προδιάθεσης και της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου σε αυτήν την ηλικιακή ομάδα [1-4].

Παγκοσμίως, ο καρκίνος του παχέος εντέρου αντιπροσωπεύει το 9,7% του συνολικού αριθμού των θανάτων από καρκίνο, μετά τον καρκίνο του πνεύμονα και του μαστού. Τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου είναι μία από τις κύριες αιτίες θνησιμότητας και νοσηρότητας παγκοσμίως. Κάθε χρόνο, 50 ανά 100.000 άνθρωποι διαγιγνώσκονται και σχεδόν 50.000 άνθρωποι χάνουν τη ζωή τους λόγω του καρκίνου του παχέος εντέρου στις Ηνωμένες Πολιτείες [5]. Ο καρκίνος του παχέος εντέρου προκαλεί περίπου 655.000 θανάτους παγκοσμίως κάθε χρόνο.

Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο και αποδεκτό σύστημα σταδιοποίησης είναι το TNM (Tumor, Node, Metastasis) [6]. Η επιβίωση συνδέεται στενά με το στάδιο της νόσου κατά τη διάγνωση, με τα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης να είναι στο 89,8% για την τοπικά περιορισμένη νόσο (περιορίζεται στο τοίχωμα του εντέρου), αλλά 67,7% για την τοπικά εκτεταμένη νόσο (με συμμετοχή των περιοχικών λεμφαδένων) και μόνο 10,3% για τη μεταστατική νόσο [7].

Η θεραπεία είναι συνήθως η χειρουργική επέμβαση, που ακολουθείται σε πολλές περιπτώσεις από τη χημειοθεραπεία η οποία χρησιμοποιείται για την επιβράδυνση της ανάπτυξης του όγκου, τη συρρίκνωση του μεγέθους του όγκου και για να μειώσει την πιθανότητα δημιουργίας μετάστασης. Οι ασθενείς με πρώτο και δεύτερο στάδιο καρκίνου παχέος εντέρου κατά TNM υποβάλλονται σε χειρουργική εξαίρεση μόνο. Σε ειδικές περιπτώσεις, για τους ασθενείς με νόσο σταδίου II και pT4 όγκο, χορηγείται και επικουρική χημειοθεραπεία. Επί του παρόντος, οι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν: το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου (Grade 3), τη διήθηση των γύρω αιμοφόρων αγγείων, τη διήθηση του λεμφικού ή και περινευρικού ιστού της περιοχής, την απόφραξη ως αρχική εκδήλωση ή τη διάτρηση του εντέρου, τη διήθηση παθολογοανατομικά-микροσκοπικά (R1) ή μακροσκοπικά (R2) των

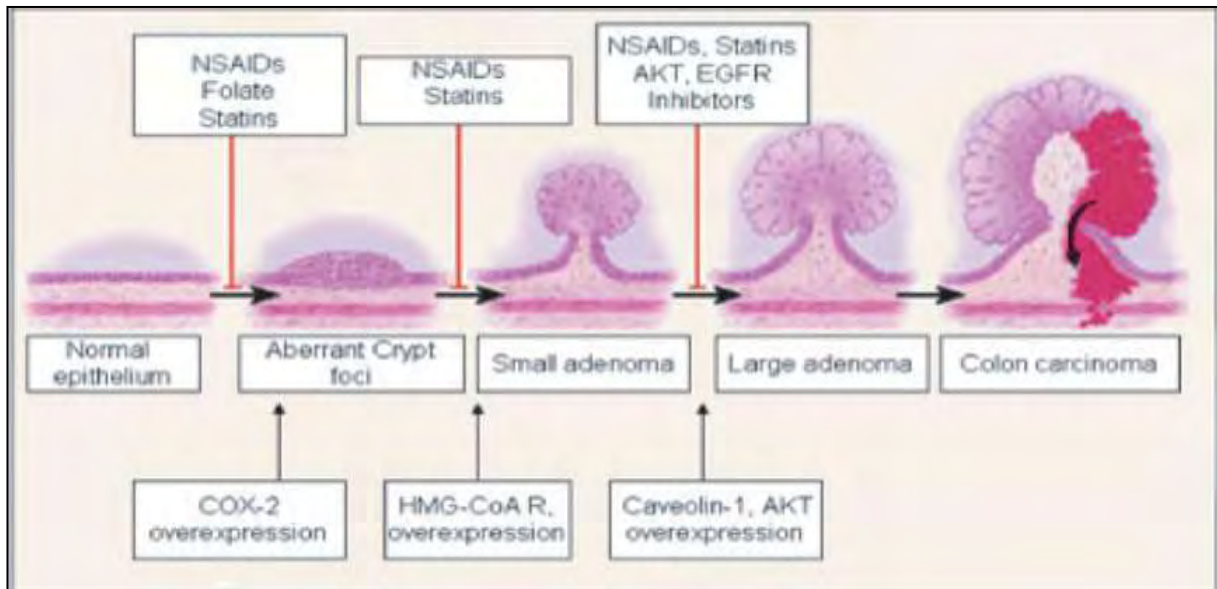
χειρουργικών ορίων εκτομής, το μεγάλο βάθος εισβολής του καρκινώματος στο τοίχωμα του εντέρου και τέλος τον ανεπαρκή αριθμό των εξαιρεθέντων λεμφαδένων (<12 συνολικά) [8]. Όμως, φαίνεται ότι τα τρέχοντα κριτήρια δεν επαρκούν καθώς μερικοί ασθενείς με στάδιο II καρκίνου παχέος εντέρου και χωρίς πρόσθετους παράγοντες κινδύνου εμφανίζουν υποτροπή ή και πεθάνουν από την ασθένεια.

Ως εκ τούτου, είναι επιτακτική η ανάγκη να βρεθεί ένας μη επεμβατικός βιοδείκτης που να μπορεί να εφαρμοστεί ευρέως για τον έλεγχο (screening), τη διάγνωση, την έγκαιρη ανακάλυψη της υποτροπής και την παρακολούθηση των μεταστατικών καρκινωμάτων του παχέος εντέρου.

Αρκετοί μοριακοί δείκτες είναι στο στάδιο της έρευνας για την προγνωστική ή προβλεπτική τους αξία στον καρκίνο του παχέος εντέρου [9]. Ωστόσο στις μέρες μας είναι γνωστός μόνο ένας αρνητικός προβλεπτικός βιοδείκτης για την απουσία ανταπόκρισης στα μονοκλωνικά αντισώματα Cetuximab και Panitumumab. Αυτός είναι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο K-RAS και N-RAS καθώς και στο ογκογονίδιο B-RAF που κάνει τους ασθενείς ανθεκτικούς στη θεραπεία. Οι περισσότερες από τις μεταλλάξεις K-RAS βρίσκονται στο εξόνιο 2 (κωδικόνιο 12 και 13), ενώ οι μεταλλάξεις στο εξόνιο 3 (κωδικόνιο 59 και 61) και το εξόνιο 4 (κωδικόνιο 117 και 146) παρατηρούνται λιγότερο συχνά [10]. Οι μεταλλάξεις στο N-RAS εμφανίζονται στα εξόνια 2-4 και μαζί με αυτές του K-RAS υπολογίζονται στο 50% περίπου των περιστατικών με καρκίνο παχέος εντέρου. Τέλος, η μετάλλαξη στο B-RAF παρατηρείται περίπου στο 10% των περιπτώσεων και εμφανίζεται στο εξόνιο 15.

Στις μέρες μας, οι επιστήμονες καταβάλλουν εντατικές προσπάθειες για τη βελτίωση του θεραπευτικού αποτελέσματος στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Στη σημερινή εποχή, το πεδίο των μοριακών μηχανισμών και της υποκείμενης ογκογένεσης θεωρείται ένα από τα πιο σημαντικά που βρίσκονται υπό μελέτη.

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου προέρχεται από υπερδιαιρούμενες περιοχές στο φυσιολογικό βλεννογόνο του κόλου, που εμφανίζονται ως πολύποδες και αναπτύσσονται σε αδενώματα και τελικά σε καρκίνωμα. Η αλληλουχία αδένωμα-καρκίνωμα χαρακτηρίζεται από υπερέκφραση διαφόρων δεικτών, όπως COX-2, HMG-CoA-R, AKT και Caveolin-1 [11].



Εικόνα 1. Η εξέλιξη του καρκίνου του παχέος εντέρου και η υπερέκφραση ειδικών δεικτών κατά στάδιο (τροποποιημένο από Janne and Mayer. 2000. *New Engl J Med.*)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 CAVEOLAE ΚΑΙ CAVEOLIN-1

Τα Caveolae (Λατινικός όρος για το "little caves"- μικροσπήλαια) είναι μικρές, 50 έως 100 nm, εγκολπώσεις της μεμβράνης του πλάσματος, αποτελώντας έτσι ένα ιδιαίτερο τύπο λιπιδιακής σχεδίας, σχήματος φιάλης, εμπλουτισμένες σε χοληστερόλη και γλυκοσφιγγολιπίδια. Τα Caveolae μπορούν να υπάρχουν ως μεμονωμένες εγκολπώσεις ή να βρίσκονται σε ανεξάρτητες συσπειρώσεις που μοιάζουν σαν σταφύλι και μακρούς σωληνοειδείς σχηματισμούς που προέρχονται από τη σύντηξη ενός Caveolae εντός του κυτταροπλάσματος. Τα Caveolae εντοπίστηκαν τη δεκαετία του 1950 σε τριχοειδή ενδοθηλιακά κύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα από τη χοληδόχο κύστη του ποντικού [103]. Από τότε, τα Caveolae έχουν βρεθεί σε μια ευρεία ποικιλία ιστών και κυτταρικών τύπων, συμπεριλαμβανομένων των λιποκυττάρων, των ενδοθηλιακών κυττάρων, των γραμμωτών και λείων μυϊκών κυττάρων, των ινοβλαστών και των επιθηλιακών κυττάρων.

Τα Caveolae είναι πλούσια σε πρωτεΐνες με δομή ικρίωματος που είναι συνδεδεμένες με τη μεμβράνη και εμπλέκονται σε ποικιλία λειτουργιών συμπεριλαμβανομένης της ενδοκύττωσης, της μεταφοράς της χοληστερόλης καθώς και της ρύθμισης των διαδικασιών μεταγωγής σήματος. Τα Caveolae αρχικά είχαν θεωρηθεί ότι λειτουργούν ως κυστίδια μεταφοράς μακρομορίων. Από τότε, ο ρόλος τους έχει επεκταθεί στη μεταγωγή σήματος, στον κυτταρικό μεταβολισμό, στην ομοίωση της χοληστερόλης, στην ενδοκύττωση, στην

ανάπτυξη αλλά και στην καταστολή του όγκου. Έχει προταθεί ότι τα μέλη της οικογένειας της Caveolin (σπηλαιίνη) που είναι η Caveolin- 1, η Caveolin-2 και η Caveolin-3 λειτουργούν ως πρωτεΐνες με δομή ικριώματος ώστε να συγκεντρωθούν και να οργανωθούν ειδικά λιπίδια (χοληστερόλη και σφιγγολιπίδια και μόρια σηματοδότησης τροποποιημένων λιπιδίων) μέσα στις μεμβράνες των Caveolae. Αυτά τα μόρια περιλαμβάνουν υποδοχείς συζευγμένους με την πρωτεΐνη G, ετεροτριμερείς G-πρωτεΐνες, υποδοχείς τυροσινικών κινασών, μόρια του μονοπατιού της Ras ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης, τυροσινικές κινάσες της οικογενείας Src, ισομορφές της πρωτεϊνικής κινάσης C και συνθετάση του νιτρικού οξειδίου (NOS) [12].

Η Caveolin-1 (CAV-1) και Caveolin-2 (CAV-2) είναι άφθονες σε μη μυϊκά κύτταρα, ενώ η Caveolin-3 (CAV-3) βρίσκεται στους σκελετικούς μυς και σε ορισμένα λεία μυϊκά κύτταρα. Αφαίρεση της CAV-1 και CAV-3 προκαλεί απώλεια των Caveolae από τα συγκεκριμένα είδη κυττάρων [13]. Αντιθέτως, η απώλεια της CAV-2 δεν έχει εμφανή επίδραση στον σχηματισμό των Caveolae in vivo, αλλά θα μπορούσε να συμβάλει στο σχηματισμό των Caveolae σε ορισμένους τύπους κυττάρων [14].

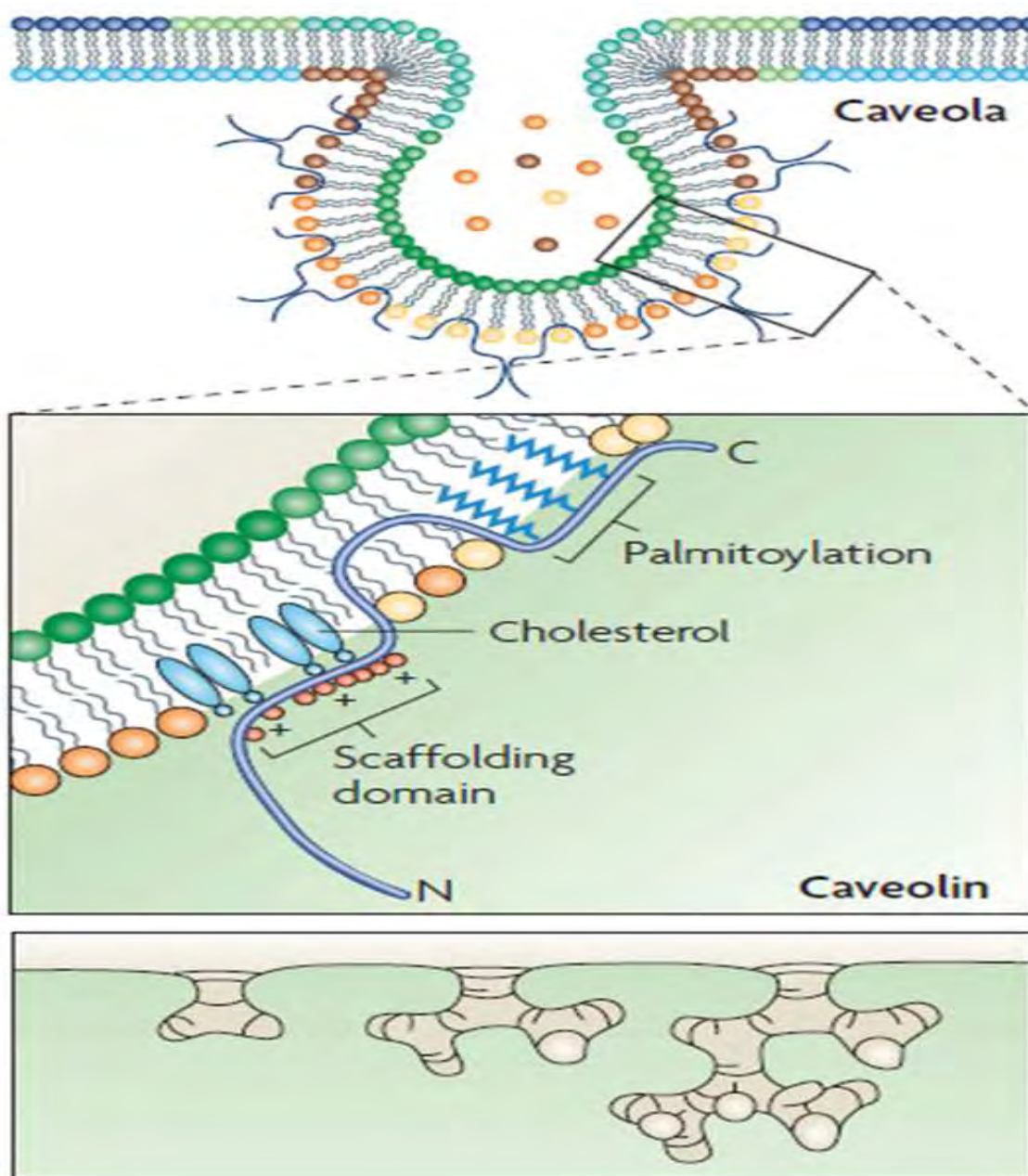
Και οι τρεις Caveolins δείχνουν μια ασυνήθιστη τοπολογία με αμινοτελικά και καρβοξυτελικά άκρα στο κυτταρόπλασμα και μια μεγάλη υποθετική φουρκέτα ως ενδομεμβρανικό τμήμα. Ο σχηματισμός των Caveolae από την CAV-1 και CAV-3 περιλαμβάνει ολιγομερισμό και σύνδεση με τους τομείς των λιπιδικών σχεδίων που είναι πλούσια σε χοληστερόλη. Η CAV-1 δεσμεύεται με 1-2 μόρια χοληστερόλης και είναι παλμιτουϊλιωμένη στην C-τερματική περιοχή. Η εξάντληση της χοληστερόλης διαταράσσει τη δομή των Caveolae [15].

Πρόσφατα, περιγράφηκε μια άλλη οικογένεια δύο πρωτεϊνών των 47 kDa, που είναι αναπόσπαστο τμήμα της μεμβράνης και που μπορεί να συμβάλουν στη διαρθρωτική οργάνωση των Caveolae των μεμβρανών. Αυτές οι πρωτεΐνες, που προσδιορίζονται ανεξάρτητα από δύο ομάδες, ονομάστηκαν Reggie-1 και Reggie-2 [33] ή φλοτιλλίνη-2 και φλοτιλλίνη-1 [34,35], αντίστοιχα.

Η Caveolin-1 (CAV1) είναι μια πρωτεΐνη από 21- έως 24-kd και είναι το κύριο συστατικό των Caveolae, εγκοιλώσεων της μεμβράνης του πλάσματος, τα οποία βρίσκονται σε διαφοροποιημένα κύτταρα επιθηλιακής και μεσεγχυματικής προέλευσης [16]. Πρόκειται για μια πρωτεΐνη που έχει δομικές ιδιότητες που απαιτούνται για το σχηματισμό των Caveolae σε μη μυϊκά κύτταρα. Τα Caveolae είναι σχήματος φιάλης εγκοιλώσεις της μεμβράνης του πλάσματος που υπάρχουν σε όλους σχεδόν τους τύπους των κυττάρων και λειτουργούν ως σχέδια των λιπιδίων και τμήματα με δομή ικριώματος εντός της μεμβράνης του πλάσματος.

Η CAV-1 εκφράζεται σε αγγειακά επιθηλιακά κύτταρα, σε ινοβλάστες, σε λιποκύτταρα και κύτταρα των λείων μυών [17].

Έκφραση της CAV-1 σε κύτταρα που στερούνται μικροσπήλαια και επομένως και έκφραση της CAV-1 όπως Jurkat T κύτταρα, FRT-κύτταρα και Sf9 κύτταρα εντόμων, οδήγησε στο σχηματισμό των τυπικών σχήματος φιάλης εγκολπώσεων που μοιάζουν με τα Caveolae, υποδηλώνοντας ότι η CAV-1 παίζει ένα σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό των Caveolae [25,26,27]. Ακόμη, αποσιώπηση της CAV-1 σε ζωικά μοντέλα (ποντικούς) έχει ως αποτέλεσμα αυτά να στερούνται πλήρως ανιχνεύσιμων Caveolae [13,28]. Οι CAV-1 και CAV-3 έχουν κοινό ότι και οι δύο είναι από μόνες τους ικανές να προωθήσουν το σχηματισμό μορφολογικά όμοιων Caveolae στις μεμβράνες, ενώ η CAV-2 δεν έχει αυτή την ικανότητα [24].



Εικόνα 2. Caveolae and Caveolins (Parton RG, Simons K. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007 Mar;8(3):185-94).

Τα Caveolae είναι εμφανή ως διακριτές κοιλότητες σε σχήμα φιάλης ή κυκλικές κατατομές όπου η επιφάνεια σύνδεσης κείται εκτός του επιπέδου τμήματος. Η Caveolīn εισέρχεται μέσα στη μεμβράνη των Caveolae, με τα αμινοτελικά και καρβοξυτελικά άκρα να “κοιτούν” το κυτταρόπλασμα και μια υποθετική «φουρκέτα» του ενδομεμβρανικού τμήματος να περιέχεται στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας της μεμβράνης. Το τμήμα με δομή ικριώματος, μια καλά διατηρημένη περιοχή της Caveolīn, θα μπορούσε να έχει ένα ρόλο στις αλληλεπιδράσεις της χοληστερόλης μέσω της διατηρημένης βασικής (+) και των ογκώδων υδρόφοβων υπολειμμάτων (κόκκινοι κύκλοι). Το καρβοξυτελικό τμήμα, το οποίο είναι κοντά στον ενδομεμβρανικό τομέα, τροποποιείται από παλμιτοϋλοομάδες οι οποίες εισέρχονται στη λιπιδική διπλοστιβάδα. Οι πολύπλοκες δομές που σχηματίζονται από διασυνδεδεμένα Caveolae μπορούν να καταλαμβάνουν μια μεγάλη περιοχή της μεμβράνης του πλάσματος.

Η CAV-1 συντίθεται ως αναπόσπαστη πρωτεΐνη της μεμβράνης στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Endoplasmic Reticulum-ER) με ένα τρόπο εξαρτώμενο από σωματίδιο αναγνώρισης σήματος (Signal Recognition Particle-SRP). Η νεοσυντεθείσα πρωτεΐνη περνά από ένα πρώτο στάδιο ολιγομερισμού ο οποίος, τουλάχιστον *in vitro*, μπορεί να συμβεί στο ER [18]. Η CAV-1 στη συνέχεια μεταφέρεται από το ER στο σύμπλοκο Golgi. Η CAV-1 σχετιζόμενη με τις λιπιδικές σχεδίες, γίνεται ανθεκτική σε αποδιατακτικούς παράγοντες και οργανώνεται σε ολιγομερή υψηλότερης τάξης που είναι χαρακτηριστικές της εσωτερικής επιφάνειας των μικροσπλαιών. Έξοδος από το Golgi συνδέεται με συναρμολόγηση της CAV-1 (ολιγομερισμού και σύνδεσης με τη χοληστερόλη και με τομείς των λιπιδικών σχεδίων που είναι πλούσια σε γλυκοσφιγγολιπίδια) για να σχηματίσει μια ώριμη σαν την Caveolae εξωκυστική δομή η οποία προορίζεται για τη μεμβράνη του πλάσματος.

Η CAV-1 είναι μια πρωτεΐνη με πολλές λειτουργίες, ρυθμίζει τη μεταγωγή σήματος, τις μεταφορές στη μεμβράνη και την ομοιοστάση των λιπιδίων. Η άμεση αλληλεπίδραση με την CAV-1 έχει γενικά ως αποτέλεσμα την παγίδευση ενός συγκεκριμένου μορίου σηματοδότησης εντός των Caveolae των μεμβρανών και τροποποίηση της δραστηριότητας της σηματοδότησης του. Αυτές οι πρωτεΐνες σηματοδότησης περιλαμβάνουν άλφα υπομονάδες G-πρωτεΐνης, H-Ras, συνθετάση του νιτρικού οξειδίου (Nitric Oxide Synthase-NOS), τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (Epidermal Growth Factor Receptor-EGFR), τυροσινικές κινάσες μη σχετιζόμενες με υποδοχείς (Src-like Nonreceptor Tyrosine Kinases-NRTK) όπως η Src (Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src), πρωτεϊνική κινάση C (Protein Kinase C-PKC) και πρωτεϊνική κινάση A (Protein Kinase A-PKA) [40].

Η CAV-1 στη μη φωσφορυλιωμένη της μορφή ενεργεί στο να σταθεροποιεί τα Caveolae. Όταν η CAV-1 φωσφορυλιώνεται, συνηθέστερα στη τυροσίνη-14 από μια Src κινάση, αποσυνδέεται από τα Caveolae και έτσι αυτά αποσταθεροποιούνται. Η CAV-1 εκφράζεται

παντού και αντιπροσωπεύει την καλύτερα χαρακτηρισμένη ισομορφή της οικογένειας αυτής σε σχέση με τη συμμετοχή της στον καρκίνο [19] σε αντίθεση με τα υπόλοιπα δύο μέλη της οικογένειας. Η λειτουργία της CAV-2 δεν είναι απόλυτα καθορισμένη. Εκφράζεται σε ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα, σκελετικούς μυοβλάστες και ινοβλάστες [104]. Η CAV-2 μπορεί να ενεργεί ως μια πρωτεΐνη με δομή ικριώματος (scaffolding protein) εντός των Caveolae των μεμβρανών. Αλληλεπιδρά άμεσα με υπομονάδες άλφα G-πρωτεΐνης και μπορεί λειτουργικά να ρυθμίζει τη δραστηριότητα τους. Δρα ως βοηθητική πρωτεΐνη σε συνδυασμό με την CAV-1 στη σύνδεση στις λιπιδικές σχεδίες και στο σχηματισμό των μικροσπηλαίων. Η φωσφορυλιωμένη μορφή στη Ser-36 έχει ρόλο στη ρύθμιση της μίτωσης σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Είναι επίσης θετικός ρυθμιστής της κυτταρικής μιτογένεσης του μονοπατιού σηματοδότησης MAPK. Τέλος απαιτείται για την πυρηνική μετατόπιση που διεγείρεται από την ινσουλίνη και την ενεργοποίηση των MAPK1 και STAT3 και την επακόλουθη ρύθμιση της προόδου του κυτταρικού κύκλου [105,106]. Η CAV-3 παρατηρείται μόνο στους μύες και τα νευρογλοιακά κύτταρα. Μπορεί να ενεργεί ως μια δομή ικριώματος (scaffolding protein) εντός των Caveolae των μεμβρανών. Αλληλεπιδρά άμεσα με υπομονάδες άλφα G-πρωτεΐνης και μπορεί λειτουργικά να ρυθμίζει τη δραστηριότητα τους. Μπορεί επίσης να ρυθμίζει την τάση των διαύλων καλίου. Παίζει έναν ρόλο στον μηχανισμό επιδιόρθωσης του σαρκολήμματος τόσο των σκελετικών μυών και όσο και των καρδιομυοκυττάρων που επιτρέπει την ταχεία επαναστεγανοποίηση των μεμβρανών που διαταράσσονται από μηχανικό stress.

Υπάρχουν δύο μορφές της CAV-1, που αναφέρονται ως CAV-1a και CAV-1b. Είναι παρόμοιες εκτός από τα επιπλέον 31 αμινοξέα της α-υπομονάδας στο αμινοτελικό της άκρο και δημιουργούνται με εναλλακτική έναρξη της μεταγραφής (alternative transcription initiation) από το ίδιο mRNA ή εναλλακτικό μάτισμα [20]. Δεν είναι σαφές αν οι δύο ισομορφές έχουν διακριτούς ρόλους ή πως ρυθμίζεται η έκφραση τους.

Σε αντίθεση με τις άλλες ακυλιωμένες πρωτεΐνες, η CAV-1 κυρίως συνδέεται με DIGs (Detergent insoluble glycolipid-enriched membranes - μεμβράνες πλούσιες σε γλυκολιπίδια αδιάλυτες σε αποδιατακτικούς παράγοντες) μέσω ενός ασυνήθιστου βρόχου στη μεμβράνη και όχι μέσω των τριών καρβοξυτελικών προσαρτημένων παλμιτικών καταλοίπων τους, αν και τέτοιες τροποποιήσεις μεταβάλλουν τη λειτουργία και τη θέση της CAV-1 [21,22].

Η χοληστερόλη είναι ένα άλλο σημαντικό συστατικό των Caveolae, δεδομένου ότι τα φάρμακα που απομονώνουν τη χοληστερόλη καθώς και η φιλιπίνη ή η εξάντληση της ενδοκυτταρικής χοληστερόλης προκαλούν το στρώμα να αποσυναρμολογηθεί και τα Caveolae να εξαφανιστούν [29]. Η CAV-1 δεσμεύει και μεταφέρει τη χοληστερόλη και αυτό

επιτυγχάνεται με παλμιτοϋλίωση. Επίσης, δεδομένου ότι η CAV-1 δεσμεύει τη χοληστερόλη και η χοληστερόλη σταθεροποιεί τα ολιγομερή της CAV-1, στερόλες και CAV-1 πρέπει να συνυπάρξουν μαζί για να σχηματίσουν το στρώμα των Caveolae [30,31,32].

Το αμινοτελικό τμήμα της πρωτεΐνης είναι καλά διατηρημένο και ρυθμίζει τον ολιγομερισμό της CAV-1 καθώς και την αλληλεπίδραση της με πολλές άλλες κυτταρικές πρωτεΐνες. Οι επαφές μεταξύ των COOH-τελικών περιοχών της CAV-1 διασταυρώνουν τα ολιγομερή της CAV-1 ώστε να δώσουν μεγάλα συσσωματώματα της πρωτεΐνης [24].

Μια πληθώρα από παρατηρήσεις υποδεικνύουν ότι η CAV-1 λειτουργεί ως ένα μόριο η σύνδεση του οποίου με μετατροπείς σήματος (signal transducers) ρυθμίζει την ενεργοποίηση της μεταγωγής του σήματος [36]. Συγκεκριμένα, αρκετές αναφορές δείχνουν ότι η CAV-1 αλληλοεπιδρά άμεσα και αναστέλλει την λειτουργία πολλών βασικών μορίων σηματοδότησης μέσω ενός μοτίβου που αναφέρεται ως δομή κριώματος (scaffolding domain).

Άμεση αλληλεπίδραση με τον τομέα κριώμα της CAV-1 προάγει την παγίδευση-σύνδεση του ανενεργού Ha-Ras [37,38] και c-Src εντός των Caveolae [39,26].

Δύο σχετιζόμενα μοτίβα πρόσδεσης της CAV-1 φάνηκε να μεσολαβούν στην αλληλεπίδραση της CAV-1 με διαφορετικές άλφα υπομονάδες της G πρωτεΐνης και Src [41]. Όπως πολλές άλλες πρωτεΐνες περιλαμβανομένων των κινασών της οικογένειας Src, eNOS, PKCa, MAPK, του υποδοχέα του EGF, του υποδοχέα ινσουλίνης και του υποδοχέα PDGF, όλες περιέχουν μοτίβα πρόσδεσης με την CAV-1 [36]. Αυτό μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα γενικό μηχανισμό για την παγίδευση-πρόσδεση, με τη μεσολάβηση της CAV-1, και την ενσωμάτωση μιας ομάδας διάφορων μορίων σηματοδότησης εντός των Caveolae για τη ρυθμιζόμενη ενεργοποίηση υποδοχέων με προσδέτες. Στην ουσία, η CAV-1 μπορεί να δρα ως πρωτεΐνη μετασχηματιστής (adaptor) ώστε να προάγει το σχηματισμό στον πυρήνα συμπλοκών μεταγωγής σήματος και / ή να συμβάλλει στη διατήρηση μορίων στην ανενεργή τους κατάσταση [41,36]. Η ερμηνεία αυτή θα πρέπει, ωστόσο, να εξεταστεί με προσοχή. Μέχρι στιγμής, τα *in vivo* δεδομένα που υπογραμμίζουν τη φυσιολογική σημασία είναι ουσιαστικά διαθέσιμα μόνο για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ CAV1 και eNOS [13,28]. Επιπλέον, η CAV-1 δεν διαταράσσει μόνο τη λειτουργία των οδών σηματοδότησης αναστέλλοντας τη λειτουργία των βασικών συστατικών, αλλά ελέγχει επίσης την αποδόμηση των πρωτεϊνών όπως η iNOS μέσω της μεσολάβησης του πρωτεασώματος [42]. Από την άποψη αυτή, η CAV-1 φαίνεται πάλι λειτουργικά όμοια με την CAV-3, όπου η παρουσία ενός νέου σαν WW πεδίου φάνηκε να εμποδίζει την αλληλεπίδραση β-dystroglycan / δυστροφίνης και κατά συνέπεια να προωθεί την αποικοδόμηση του τελευταίου μέσω της

οδού του πρωτεοσώματος [43]. Τέλος, η φωσφορυλίωση της CAV-1 στην τυροσίνη 14 ευνοεί τη συνδέση της Grb7 και την ενεργοποίηση της οδού MAPK [44], καθώς και την επιστράτευση του C-τελικού της κινάσης Src (CSK) η οποία προάγει την απενεργοποίηση κινασών της οικογένειας Src [45]. Έτσι, η Caveolin-1 χρησιμοποιεί μια ποικιλία μηχανισμών για να ρυθμίζει την κυτταρική σηματοδότηση, αλλά δεν το κάνει πάντα με ανασταλτικό τρόπο.

Τα Caveolae είναι επίσης σημαντικά κυστίδια που παίρνουν μέρος στην ενδοκύτωση μέσω ενός μηχανισμού που διαφέρει σημαντικά από εκείνον που περιγράφεται για τις επικαλυμμένες κοιλότητες [46]. Επιπλέον, τα Caveolae λειτουργούν ως κυστίδια διακυτταρικής μεταφοράς ή σε μια διαδικασία που ονομάζεται ποτοκύτωση (pocytosis), υπεύθυνα για την ενδοκυτταρική απελευθέρωση μικρών μορίων [47]. Έτσι, ανώμαλη έκφραση της CAV-1 αναμένεται να οδηγήσει σε δυσλειτουργία του συστήματος των Caveolae και κατά συνέπεια θα οδηγήσει σε ακατάλληλο συντονισμό των γεγονότων μεταγωγής σήματος, ένα μπλοκ στις διαδικασίες εσωτερίκευσης που συνδέονται με τα Caveolae και εξασθενημένη ομοιόσταση της χοληστερόλης [48,49,50]. Ωστόσο, το ζήτημα αν τα Caveolae είναι απαραίτητα για τη διακυτταρική σύνδεση δεν επιλύθηκε. Από τη μία πλευρά, η συγκέντρωση της λευκωματίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, το οποίο θεωρούνταν ότι εξαρτάται από τη διακυτταρική σύνδεση μέσω των Caveolae των τριχοειδών των ενδοθηλιακών κυττάρων, ήταν η ίδια σε στελέχη ποντικών με αποσιώπηση της CAV-1 αλλά και στα αντίστοιχα κανονικά (άγριου τύπου, wild type) στελέχη [13]. Ωστόσο, από την άλλη πλευρά, εμβρυϊκοί ινοβλάστες σε ποντίκια ελλειμματικά σε CAV-1 έδειξαν σαφώς ελαττώματα στην ενδοκυττάρωση της λευκωματίνης ενώ η πρόσληψη της τρανσφερίνης δεν επηρεάστηκε [28]. Έτσι, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων σε στελέχη ποντικών με αποσιώπηση της CAV-1 είναι ασαφή ως προς τη σημασία των Caveolae στη διακυτταρική σύνδεση.

Από την ταυτοποίησή της [15,51], η CAV-1 έχει εμπλακεί στη διαδικασία του μετασχηματισμού των κυττάρων. Αρχικά, η CAV-1 περιγράφηκε ως ο κύριος στόχος του ιού του σαρκώματος Rous κατά τον μετασχηματισμό των κυττάρων σε κακοήθη, νεοπλασματικά μέσω της φωσφορυλίωσης της τυροσίνης στην πρωτεΐνη [51], υποδηλώνοντας ότι η CAV-1 μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα κρίσιμο στόχο κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας.

Στη συνέχεια, τα επίπεδα του mRNA και της πρωτεΐνης της CAV-1, καθώς και ο αριθμός των Caveolae, βρέθηκε να έχουν μειωθεί σε NIH-3T3 ινοβλάστες που μετασχηματίζονται σε νεοπλασματικά από διάφορα ογκογονίδια, υποδεικνύοντας ότι η μείωση της έκφρασης της CAV-1 και/ή αλλοίωση της δομής των Caveolae θα μπορούσε να ευνοήσει τον

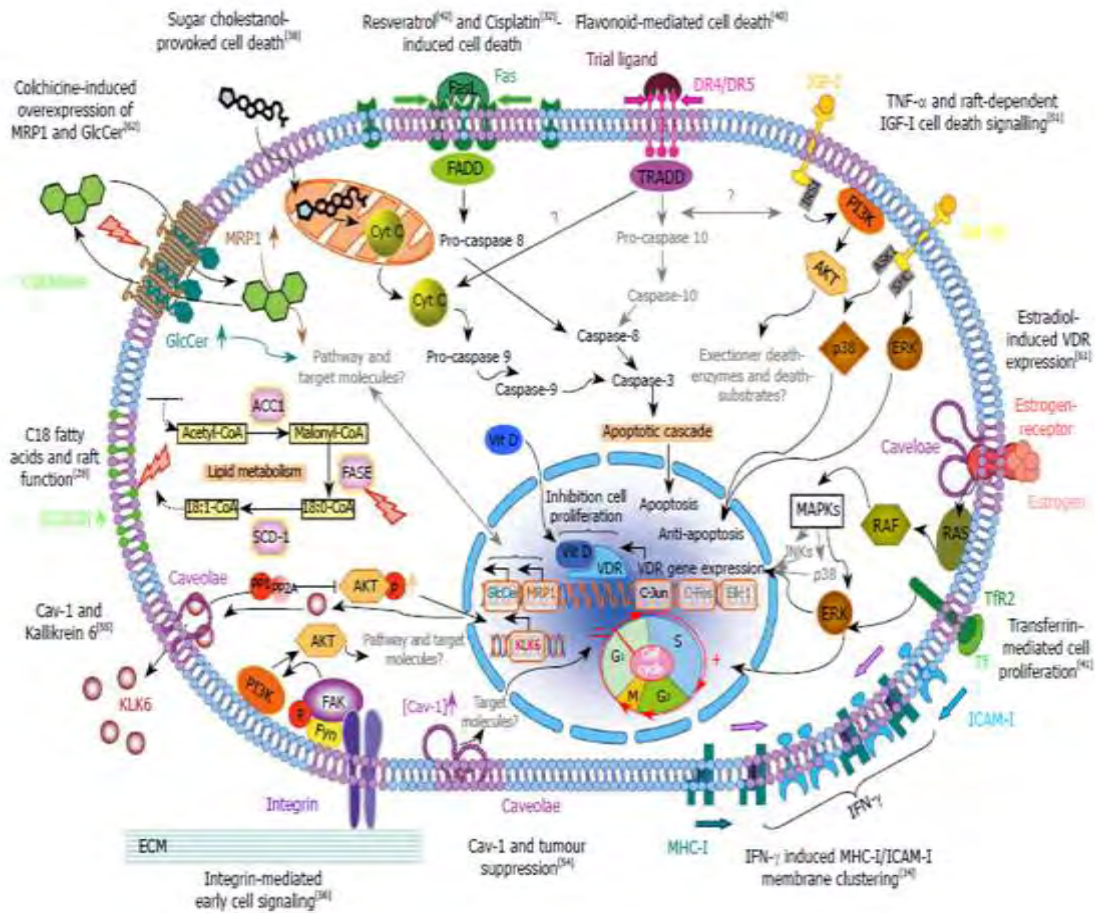
μετασχηματισμό των κυττάρων [52]. Επιπλέον, η απουσία της CAV-1 συσχετίζεται με μορφές του μετασχηματισμού των κυττάρων, μια διαδικασία που φαίνεται ότι μπορεί να αναστραφεί με την εκ νέου έκφραση της CAV-1 [53,54].

Πράγματι, μείωση της έκφρασης της CAV-1 χρησιμοποιώντας antisense ολιγονουκλεοτίδια ήταν αρκετή για να προκαλέσει τον μετασχηματισμό των NIH3T3 ινοβλαστών [55]. Τέλος, μειωμένα επίπεδα CAV-1 έχουν παρατηρηθεί σε μια ποικιλία κυτταρικών σειρών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπινου μαστού [56], του πνεύμονα [54], του παχέος εντέρου [57] και καρκινώματα των ωοθηκών [59], καθώς και ανθρώπινα σαρκώματα [60].

Λαμβανόμενα μαζί, αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η μειωμένη έκφραση της CAV-1 μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα γενικό χαρακτηριστικό ή ακόμη και προαπαιτούμενο των μετασχηματισμένων κυττάρων και ότι η CAV-1 θα μπορούσε να διαδραματίσει έναν κεντρικό ρόλο ως ένας αναστολέας του σχηματισμού όγκου.

Σε συμφωνία με την ιδέα ότι η CAV-1 μπορεί να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στον έλεγχο του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, εμβρυικοί ινοβλάστες από στελέχη ποντικών με αποσιώπηση της CAV-1 εμφανίζουν αύξηση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και μείωση των κυττάρων σε G0 / G1 του κυτταρικού κύκλου [28]. Ωστόσο, αν και η απώλεια της CAV-1 προωθεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, δεν είναι επαρκής για να επάγει την αθανατοποίηση των πρωτόγονων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ινοβλαστών [13,28]. Γενικά, οι λιπιδικές σχεδίες (lipid rafts) της κυτταρικής μεμβράνης μέσω της πρωτεΐνης CAV-1 είναι ιδιαίτερα δυναμικές και ενεργούν ως εκλεκτικοί μεσολαβητές μεταγωγής του σήματος που διευκολύνουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του περιβάλλοντος εξωτερικά και εσωτερικά του κυττάρου. Ακόμη, έχουν βρεθεί σχεδόν σε όλα τα υπάρχοντα πειραματικά μοντέλα καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του παχέος εντέρου και παίζουν βασικό ρυθμιστικό ρόλο στη μετανάστευση των κυττάρων, τη μετάσταση, την επιβίωση του κυττάρου και την εξέλιξη του όγκου.

Οι διάφορες παρατηρήσεις σχετικά με τις λιπιδικές σχεδίες της μεμβράνης και την πρωτεΐνη CAV-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου μπορούν να κατηγοριοποιηθούν γενικά στα ακόλουθα κύρια θέματα έρευνας: μηχανισμοί που ρυθμίζουν το θάνατο των κυττάρων, τα Caveolae και η CAV-1 στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και τη λειτουργία τους, μοριακοί συσχετισμοί όσον αφορά την μοναδική δομή και λειτουργία και μελέτες παρέμβασης με βιοδραστικές ενώσεις.



Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση των διαφόρων μικροπεριοχών στη μεμβράνη μεσολάβησης ενδοκυττάρων μονοπατιών σηματοδότησης στον καρκίνο του παχέος εντέρου (Jahn KA et al. *World J Gastroenterol.* 2011 Feb 14;17(6):681-90).

Αυτό το διάγραμμα συνοψίζει ό, τι έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα στη βιβλιογραφία σχετικά με τα διάφορα ενδοκυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης που διαμεσολαβούνται από τις σχεδίες λιπιδίων και τις επιπτώσεις από αυτά τα μονοπάτια για την κατάσταση και την τύχη των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου. Σημειώστε ότι το κείμενο και τα βέλη που τους συνδέει όπως φαίνεται στο μαύρο είναι επιβεβαιωμένες παρατηρήσεις, ενώ το γκρι δηλώνει υποθετικά μοριακά μονοπάτια σηματοδότησης ή / και άγνωστους μοριακούς στόχους. Η λιπιδική διπλοστοιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης απεικονίζεται με γαλάζιο, μικροπεριοχές της μεμβράνης ή λιπιδικές σχεδίες με ανοιχτό μωβ και τα Caveolae σε σχήμα αχλαδιού που σχετίζονται με αυτές τις σχεδίες με σκούρο μωβ.

Abbreviations

MRP: Multidrug-resistance protein; **GlcCer:** Glucosylceramide; **FADD:** Fas-associated protein with death domain; **TRADD:** Tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH domain protein; **PI3K:** Phosphoinositide3-kinase; **AKT:** Serine/threonine protein kinase; **ERK:** Extracellular signal-regulated kinase; **MAPK:** Mitogen-activated protein kinase; **IRS1:** Insulin receptorsubstrate 1; **ASK1:** Apoptosis signal-regulating kinase 1; **SHC:** Src homology 2 domain; **TNF-α:** Tumor necrosis factor-α; **IGF- I:** Insulin-like growth factor- I; **VDR:**Vitamin D receptor; **Vit D:** Vitamin D; **RAF:** Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase; **RAS:** RAt sarcoma; **TfR2:** The second transferrin receptor; **Tf:** Transferrin; **JNKs:** c-Jun N-terminal kinases; **ICAM- I:** Intercellular adhesion molecule I; **IFN-γ:** Interferon-γ; **MHC- I:** Major histocompatibility complex I; **FAK:** Focal adhesionkinase; **ECM:**

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ CAVEOLIN-1 ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΒΑΣΙΣΜΕΝΟΣ ΣΕ ΠΡΟΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Στο κεφάλαιο αυτό θα αναφερθούν χρονολογικά (από τα πιο πρόσφατα προς τα παλαιότερα) τα επιστημονικά δεδομένα είτε αυτά αφορούν αποδεδειγμένα συμπεράσματα είτε ενδείξεις για τη βιολογική δράση της πρωτεΐνης CAV-1 στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου, στην ανάπτυξη του καρκίνου και τη μετάσταση του καθώς και σε στοιχεία χημειοαντοχής των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου που εκφράζουν αρνητικά ή θετικά την πρωτεΐνη CAV-1. Τα στοιχεία που θα παρατεθούν στη συνέχεια πηγάζουν από δημοσιευμένες εργασίες με προκλινικά μοντέλα δηλαδή κυτταρικές σειρές ή ζωικά μοντέλα.

Οι Deb M [60] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η έκτοπη υπερέκφραση της CAV-1 μετά από θεραπεία με επιγενετικούς ρυθμιστές-τροποποιητές έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων. Στη μελέτη αυτή οι συγγραφείς αναφέρουν ότι σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου (HCT15, COLO205) η έκφραση της πρωτεΐνης CAV-1 τροποποιείται (αυξάνεται) μετά από θεραπεία με τους επιγενετικούς ρυθμιστές-τροποποιητές AZA (5-Aza-2'-deoxycytidine), TSA (trichostatin), SFN (sulforaphen) και SAM (S-adenosyl-L-methionin). Οι αναλύσεις του επιγενετικού προφίλ έδειξαν ότι δεν είναι η μεθυλίωση του υποκινητή του DNA η οποία ρυθμίζει την έκφραση της CAV-1 αλλά κυρίως οι τροποποιήσεις της ιστόνης 3. Οι ερευνητές βρήκαν ότι, μέσα και γύρω από τον υποκινητή της CAV-1, το κατασταλτικό σήμα H3K9me3 είχε ουσιαστικά εξαντληθεί, ενώ, τα ενεργά εκφραστικά σήματα H3K4me3 και H3K9AcS10P ήταν πολύ εμπλουτισμένα προκαλώντας την υπερέκφραση της CAV-1. Αυτό παρέχει ένα λογικό μηχανισμό για την ρύθμιση της έκφρασης της CAV-1 και διευρύνει το προφίλ του επιγονιδιώματος του καρκίνου. Επιπλέον, η ισχυρότερη επαγωγή της έκφρασης του γονιδίου CAV-1 πυροδοτείται από αναστολείς των αποακετυλασών της ιστόνης (Histone deacetylases –HDAC) που δείχνουν ότι η ακετυλίωση της ιστόνης παίζει έναν σημαντικό ρόλο στην έκφραση της CAV-1.

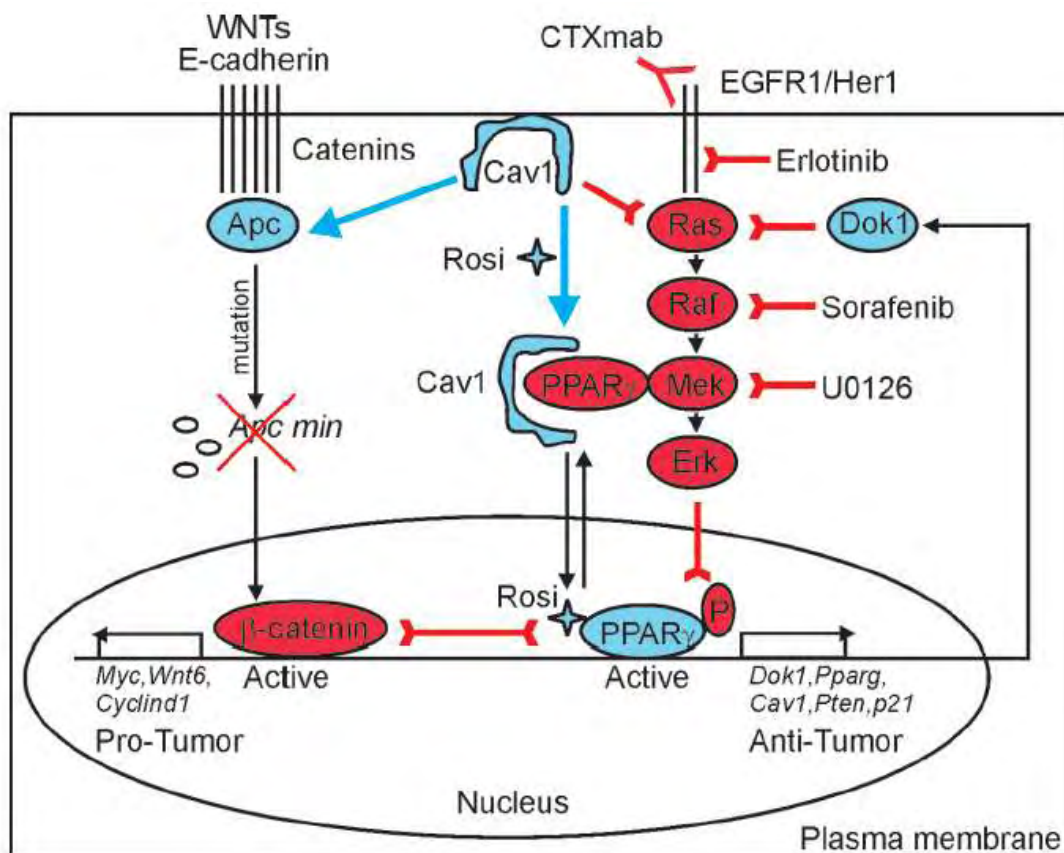
Οι Dasgupta N [61] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η έκφραση της CAV-1 σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου (HT-29) επάγεται από το βουτυρικό οξύ (butyrate), που είναι ένας ισχυρός αναστολέας της αποακετυλάσης των ιστονών (Inhibitor of Histone

deacetylases), κατά την διάρκεια της διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου και προάγει την κυτταρική διαφοροποίηση και απόπτωση. Σε καρκινικά κύτταρα HT-29 στα οποία αποσιωπήθηκε η έκφραση της CAV-1 με την υπερμεθυλίωση του υποκινητή, βρέθηκε ότι το βουτυρικό οξύ μπορεί να επανενεργοποιήσει την CAV-1 από παρατεταμένη υπερακετυλίωση των ιστονών μέσω απευθείας αναστολής της δράσης της αποακετυλάσης των ιστονών χωρίς να αφαιρεί το ένζυμο της αποακετυλάσης από τον υπερμεθυλιωμένο υποκινητή. Οστόσο, δεν είναι μόνο η μεθυλίωση, αλλά ίσως και σε πιο σημαντικό βαθμό και η πυκνότητα της μεθυλίωσης που καθορίζουν την αναστολή της αποακετυλάσης των ιστονών (HDAC) και τη μεταγραφική ενεργοποίηση των υπερμεθυλιωμένων γονιδίων. Αυτή η μελέτη ενισχύει το ρόλο της CAV-1 ως καταστολέα των όγκων στο καρκίνο του παχέος εντέρου, τουλάχιστον *in vitro*.

Οι Díaz J [62] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η CAV-1 προωθεί την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης Rab5, μια μικρή GTPάση, στα κύτταρα της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς HT-29 από μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου. Η πρωτεΐνη Rab5, αναφέρεται στη μελέτη, ότι απαιτείται για την καθοδηγούμενη από την CAV-1 κυτταρική μετανάστευση και εισβολή, την ενισχυμένη Tiam1 (T-cell lymphoma invasion and metastasis-inducing protein 1), τον Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1), παράγοντα ανταλλαγής νουκλεοτιδίων γουανίνης, τις προσλήψεις στα πρόωρα ενδοσώματα και την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης Rac1. Ειδικότερα, η CAV-1 εξαρτώμενη ενεργοποίηση της Rab5 συνδέθηκε με δέσμευση του p85α (επίσης γνωστό ως PIK3R1), μια Rab5 πρωτεΐνη ενεργοποίησης της GTPάσης (GAP), αποκλείοντας έτσι την αδρανοποίηση της Rab5. Έτσι οι ερευνητές βρήκαν ένα καινούριο άξονα σηματοδότησης, τον CAV-1-Rab5-Rac1, ο οποίος απαιτείται για την ενισχυόμενη από την CAV-1 μετανάστευση των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων. Αυτός ο άξονας CAV-1-Rab5-Rac1 που ρυθμίζεται από την Tiam1 και το p85α, συμβάλλει στην αύξηση της μετανάστευσης των κυττάρων του καρκίνου, την εισβολή και τη μετάσταση.

Οι Friedrich T [63] και συνεργάτες προκειμένου να ελέγξουν εάν η ανεπάρκεια της CAV-1 επιταχύνει τον οδηγούμενο από το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt σχηματισμό καρκίνων του παχέος εντέρου *in vivo*, χρησιμοποίησαν ποντίκια $Apc^{min/+} Cav1^{-/-}$ (διασταύρωση $Apc^{min/+}$ με CAV1-Knock out ποντίκια). Βρήκαν ότι η ταυτόχρονη ανεπάρκεια της APC (Adenomatous polyposis coli) και CAV-1 προάγει την ογκογένεση στο άπω κόλον του ποντικού. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι σε αυτά τα ζώα οι ενδο-νεοπλασματικές γονιδιακές υπογραφές που σχετίζονται με το Ras και το Wnt μονοπάτι ήταν αυξημένες σε σχέση με τα φυσιολογικά άγριου τύπου ζώα καθώς και ότι ο πυρηνικός εντοπισμός της πρωτεΐνης PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) και η έκφραση των

γονιδίων της μειώθηκαν ανεξάρτητα από την CAV-1. Ο PPAR γ είναι ένας πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας που προωθεί τη διαφοροποίηση των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων και ανοσολογικές αποκρίσεις στο γαστρεντερικό σωλήνα. Επίσης, ο PPAR γ -αγωνιστής rosiglitazone εμπόδισε το σχηματισμό όγκου σε ποντικούς ανεξαρτήτως της κατάστασης της CAV-1 και αύξησε την έκφραση της Ras-ανασταλτικής πρωτεΐνης σύνδεσης πρωτεΐνη-1 (Ras-inhibitory protein docking protein-1). Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η αυξημένη δραστηριότητα της Ras (όπως παρατηρείται από τα αυξημένα επίπεδα N-Ras ή K-Ras mRNA σε Apc^{min/+} όγκους) μπορεί εμμέσως να στοχεύεται με PPAR γ προσδέτες που ρυθμίζουν αυξητικά ενδογενείς αναστολές της Ras οδού (DOK1, CAV-1) και επιπλέον γονίδια ανασταλτικά της ανάπτυξης ή προώθησης της διαφοροποίησης (π.χ. PTEN, p21). Το τελευταίο αναμένεται να ασκήσει αρνητικούς βρόχους ανάδρασης (i) προς αναστολή των δραστηριοτήτων του Ras και Wnt μονοπατιού στη μεμβράνη του πλασματος και (ii) μέσω των αρνητικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ β -κατενίνης και PPAR γ στον πυρήνα. Οι ερευνητές προτείνουν το μοντέλο Ras/WNT (επαγωγείς του όγκου) και CAV-1/PPAR γ (καταστολείς του όγκου) που παρουσιάζεται στην εικόνα 4 σχετικά με τη σηματοδότηση του καρκίνου του παχέος εντέρου.



Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση του προτεινόμενου μοντέλου Ras/WNT (επαγωγείς του όγκου) και Cav1/PPAR γ (καταστολείς του όγκου) στη σηματοδότηση του καρκίνου του παχέος εντέρου (προσθήκη από Carcinogenesis. 2013 Sep;34(9):2109-18).

Μπλε = κατασταλτικές του όγκου πρωτεΐνες, κόκκινο =επαγωγείς του όγκου πρωτεΐνες. Κόκκινα βέλη = ανασταλτική δράση των φαρμάκων / αντισωμάτων στις πρωτεΐνες, μπλε βέλη = ενεργοποίηση / σταθεροποιητική δράση των πρωτεϊνών / φαρμάκων στις πρωτεΐνες. Μαύρα βέλη = υποκυτταρικές μεταθέσεις.

Σε φυσιολογικό ιστό, η CAV-1 και wild type APC αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό (και σταθεροποιεί τις συνδέσεις των κυττάρων) αποκλείοντας τη β-κατενίνη από τον πυρήνα και αναστέλλοντας τη Ras. Η CAV-1 αλληλεπιδρά με τον PPAR γ και προωθεί την εξαρτώμενη από τον προσδέτη σηματοδότηση του PPAR γ (π.χ. κατά την πρόσληψη του rosiglitazone από το εξωκυτταρικό μέσο). Όταν απουσιάζει η Ras σηματοδότηση, ο ενεργός PPAR γ , αναστέλλει έτσι τη β-κατενίνη και προωθεί την έκφραση αντι-πολλαπλασιαστικών / προ-διαφοροποίησης γονιδίων στον πυρήνα, όπως DOK1, CAV-1, PTEN, p21 και ο ίδιος PPAR γ , ο οποίος επιβάλλει την αναστολή της Ras μέσω ενός αρνητικού βρόχου ανάδρασης. Μετά την απώλεια της CAV-1 ή μετάλλαξη του APC (όπως ισχύει στον καρκινικό ιστό παχέος εντέρου των ανθρώπων και ποντικών και σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου), η β-κατενίνη απελευθερώνεται στον πυρήνα, καταστέλλει γονίδια στόχους του PPAR γ και ενεργοποιεί γονίδια που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό όπως Cyclin-D1 και Myc. Η Cav-1 μεσολαβούμενη αναστολή της Wnt και Ras σηματοδότησης μετριάζεται και η δραστηριότητα της Ras μπορεί επιπροσθέτως να ενισχυθεί από μεταλλάξεις (G12D, G12V, G13D). Η ενεργός Ras σηματοδότηση οδηγεί στη δέσμευση στο κυτταρόπλασμα και αδρανοποίηση του PPAR γ με MEK1/2 (Mitogen-activated protein kinase kinase) με αποτέλεσμα την απώλεια της μεταγραφικής δραστηριότητας του PPAR γ στο πυρήνα. Στη βάση αυτού του μοντέλου πιθανά Raf / MEK-αναστολείς σε συνδυασμό με αγωνιστές PPAR γ να μπορούν να υπερκεράσουν τη μη ανταπόκριση των Ras-μεταλλαγμένων ανθρώπινων κυττάρων καρκίνου παχέος εντέρου σε αντι-EGFR θεραπείες, όπως το Cetuximab ή το Erlotinib.

Οι Volonte D [64] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η CAV-1 συνδέεται απευθείας με τον Nrf2 (Nuclear factor-erythroid 2-related factor) και αναστέλλει την επαγόμενη από τα οξειδωτικά μετατόπιση του Nrf2 στον πυρήνα και έτσι προωθεί την πρόωρη γήρανση (SIPS- Stress induced premature senescence) που επάγεται από το οξειδωτικό στρες. Ο Nrf2 είναι ένας βασικός μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει το αντιοξειδωτικό σύστημα άμυνας. Δρα ως ένα ενδοκυττάριος αισθητήρας του οξειδωτικού στρες και προστατεύει τα κύτταρα από βλάβες που προκαλούνται από ενδογενές και εξωγενές στρες. Έτσι λοιπόν, η CAV-1 / Nrf2 μεσολαβούμενη κυτταρική γήρανση αναστέλλει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου. Συμπερασματικά, η υπερέκφραση της CAV-1 σε καρκινικά κύτταρα του

παχέος εντέρου αναστέλλει την, επαγόμενη από το οξειδωτικό, ενεργοποίηση της Nrf2 εξαρτώμενης σηματοδότησης, προωθεί την πρόωρη γήρανση και αναστέλλει τον μετασχηματισμένο φαινότυπό τους. Έτσι, αναστέλλοντας την Nrf2 μεσολαβούμενη σηματοδότηση, η CAV-1 συνδέει τις ελεύθερες ρίζες με την ενεργοποίηση του μονοπατιού p53 που οδηγεί τελικά στην κυτταρική γήρανση.

Οι Mohammed A [65] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η συνδυασμένη χορήγηση χημειοαποτρεπτικών, του καρκίνου του παχέος εντέρου, παραγόντων όπως gefitinib, licofelone, atorvastatin και α-difluoromethylornithine (GLAD) είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της CAV-1 και της β-κατενίνης και την αύξηση της p21 και της κασπάσης-3 σε εντερικούς πολύποδες ποντικών APC^{min/+}. Στο σύνολό τους, αυτά τα αποτελέσματα συσχετίζονται με την αναστολή του πολλαπλασιασμού και την αύξηση της απόπτωσης. Το GLAD λοιπόν που είναι ένας συνδυασμός χημειοαποτρεπτικών (chemopreventive) παραγόντων σε χαμηλές δόσεις καταστέλλει την εντερική ογκογένεση σε APC^{Min/+} ποντίκια χωρίς τοξικότητα.

Οι Basu Roy UK [66] και συνεργάτες ανέφεραν ότι ένα ενεργοποιημένο ογκογονίδιο KRAS, ανεξάρτητα από τον τύπο της ενεργοποιημένης μετάλλαξης που υπάρχει στο γονίδιο, επάγει μεταγραφικά την CAV-1 σε κύτταρα που προέρχονται από όγκο ανθρώπινου παχέος εντέρου και αυτή η ρύθμιση προς τα πάνω της έκφρασης της CAV-1 γίνεται μέσω του μονοπατιού της AKT που αυξάνει την μεταγραφή της CAV-1 μέσω του μεταγραφικού παράγοντα Sp1. Το K-RAS αυξάνει τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου με τρόπο εξαρτώμενο από τη CAV-1 και τη Src. Επίσης, κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου με p53 ανεπάρκεια εμφάνισαν μη ανιχνεύσιμη έκφραση της CAV-1 υποστηρίζοντας το ρόλο του p53 στον έλεγχο της CAV-1. Οι ερευνητές πρότειναν ένα μοντέλο για την έκφραση και δραστηριότητα της CAV-1 που ρυθμίζεται από το -KRAS. Ένα ενεργοποιημένο K-RAS ογκογονίδιο αυξάνει τη μετενεργοποίηση του Sp1 με τρόπο εξαρτώμενο από τη AKT. Αυτή με τη σειρά της αυξάνει τη μεταγραφή της CAV1. Η πρωτεΐνη CAV1 στη συνέχεια εντοπίζεται στη μεμβράνη και φωσφορυλιώνεται από τη Src. Η CAV-1 φωσφορυλιώνεται στο κατάλοιπο 14 της τυροσίνης και τότε επιστρατεύονται μόρια όπως Grb2 και SOS1 για τη διατήρηση της μεταγωγής του σήματος σηματοδότησης και τη μετανάστευση που εξαρτάται από το RhoA. Αυτή η μελέτη υποστηρίζει ότι η οδός K-RAS/CAV-1 θα μπορούσε να αποτελεί ένα θετικό βρόχο ανάδρασης που ουσιαστικά βοηθά τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων και τη μετάσταση ιδιαίτερα στα τελευταία στάδια του καρκίνου του παχέος εντέρου.

Οι Sherif ZA [67] και συνεργάτες ανέφεραν ότι μειωμένη έκφραση της CAV-1 παρατηρήθηκε τόσο σε p53 αποσιωπημένα όσο και σε p21 αποσιωπημένα HTC116 κύτταρα

υποδηλώνοντας ότι το p53 ελέγχει την έκφραση της CAV-1 μέσω p21 και οδηγώντας στην υπόθεση ότι p53, CAV-1 και p21 μπορεί να είναι μέρος ενός θετικού αυτό-ρυθμιστικού βρόχου ανάδρασης (p53 → p21 → CAV-1 → αναστολή της ανάπτυξης).

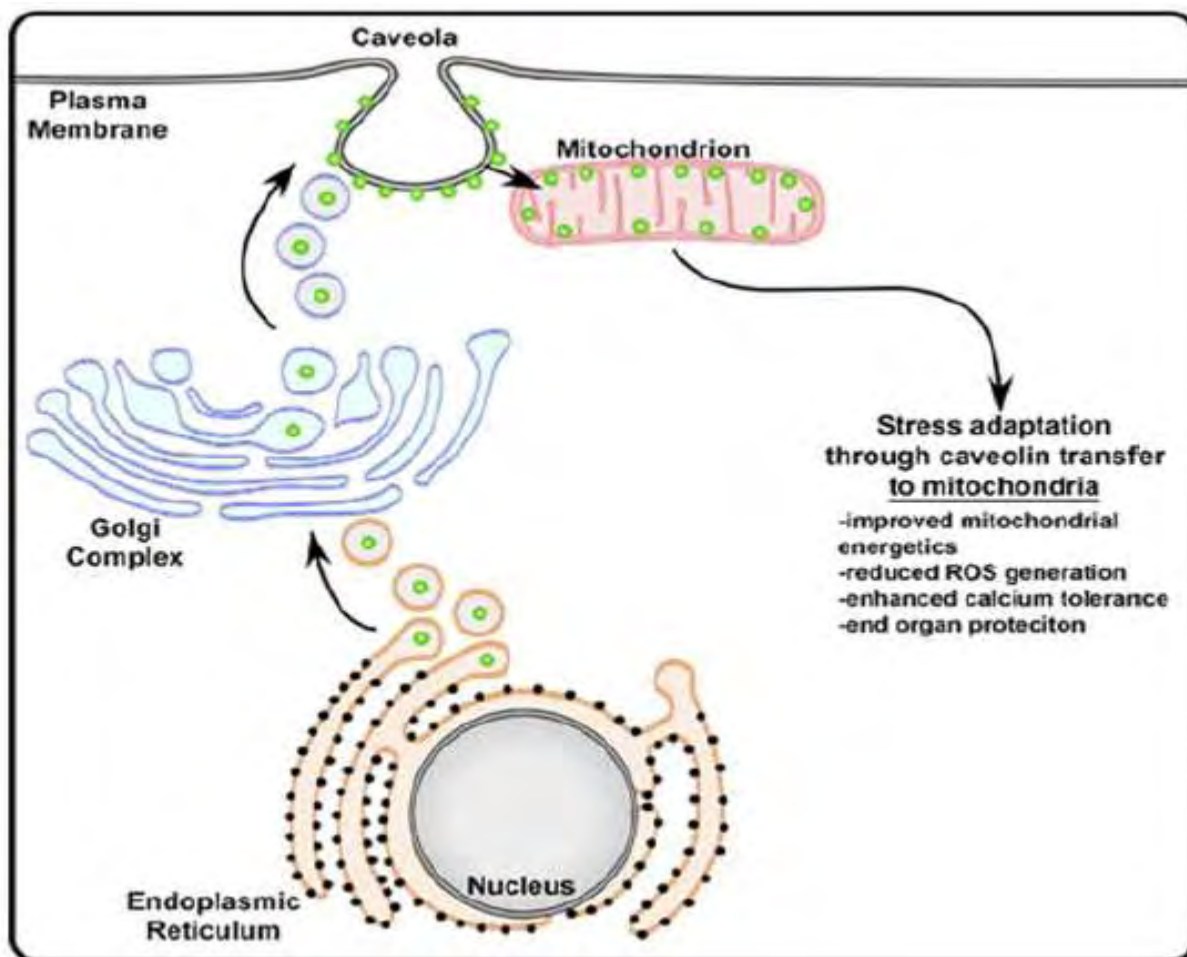
Οι Ha TK [68] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η αυξημένη CAV-1 προάγει την πρόσληψη της γλυκόζης διεγείροντας τη μεταγραφή του γονιδίου SLC2A3 με τη μεσολάβηση του HMGA1 (High mobility group AT-hook 1). Ο αποκλεισμός της έκφρασης της CAV-1 έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων του ενδοκυττάριου ATP, που ενεργοποιεί τη AMPK-TP 53 σηματοδότηση και πυροδοτεί την TP 53 (gene) -εξαρτώμενη αυτοφαγία. Ως εκ τούτου, η αερόβια γλυκόλυση και η δημιουργία ATP από τη CAV-1 προστατεύει τα καρκινικά κύτταρα από το μεταβολικό στρες και παρέχει στα καρκινικά κύτταρα πλεονεκτήματα σχετικά με την ανάπτυξη και την επιβίωση. Συνοψίζοντας οι ερευνητές υποδεικνύουν ότι η αυξημένη έκφραση της CAV-1 μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου παρέχοντας στα κύτταρα του όγκου πλεονεκτήματα για τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση τους ενισχύοντας τη γλυκόλυση και τη δημιουργία ATP κάτω από συνθήκες θρεπτικού στρες.

Οι Fridolfsson HN [69] και συνεργάτες ανέφεραν ότι σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου τα μιτοχόνδρια με αυξημένη CAV-1 έχουν μείωση κατά 30% σε αποπτωτικό στρες ($P < 0,05$), αλλά τα κύτταρα με διαταραγμένη την αλληλεπίδραση μεταξύ μιτοχονδρίων-CAV1 έχουν μια αύξηση κατά 30% ως απόκριση στο στρες ($P < 0,05$). Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι το επίπεδο της μιτοχονδριακής έκφρασης της CAV-1 βοηθά στον έλεγχο της κυτταρικής προσαρμογής στο στρες (εικόνα 5).

Οι Ζου Η [70] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η CAV-1 αναστέλλει την απόπτωση που προκαλείται από τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα και προωθεί τη μακροπρόθεσμη επιβίωση των κυττάρων του καρκίνου του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα, η CAV-1 είναι μια νέα πρωτεΐνη δέσμησης στην Ku70 (αμινοξέα 82 έως 101 της περιοχής ικριώματος της CAV-1 με τα αμινοξέα 471-478 της περιοχής δέσμησης της CAV-1 στην πρωτεΐνη Ku 70). Η CAV-1 δεσμεύει την πρωτεΐνη Ku70 μετά τη θεραπεία με χημειοθεραπευτικό φάρμακο Etoposide και αυτό αναστέλλει την επαγόμενη από τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα απελευθέρωση του Bax από την Ku70, την ενεργοποίηση του Bax, τη μετατόπιση του Bax στα μιτοχόνδρια και την απόπτωση.

Απελευθέρωση του Bax από την Ku70 και μετατόπιση του Bax στα μιτοχόνδρια είναι βασικά βήματα στα γεγονότα σηματοδότησης που συνδέουν ένα αποπτωτικό ερέθισμα με τον κυτταρικό θάνατο. Η ενίσχυση της απόπτωσης με αποσιώπηση της έκφρασης της πρωτεΐνης CAV-1 μειώνεται σημαντικά με την απουσία της έκφρασης του Bax. Τέλος, οι ερευνητές

βρήκαν ότι η υπερέκφραση της wild type Ku70, αλλά όχι μία μεταλλαγμένη μορφή της Ku70 που δεν μπορεί να συνδεθεί με τη CAV-1 (Ku70 WRA), περιορίζει τον προκαλούμενο από το χημειοθεραπευτικό φάρμακο Ku70/Bax διαχωρισμό και απόπτωση. Έτσι, η CAV-1 δρα ως αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου μέσω σύνδεσης με την Ku70 και αναστέλλοντας τον Bax-εξαρτώμενο κυτταρικό θάνατο.



Εικόνα 5. Μοντέλο που δείχνει τη μεταφορά της Caveolin στα μιτοχόνδρια από τα Caveolae και τη διευκόλυνση της προσαρμογής στο στρες με διατήρηση της λειτουργίας των μιτοχονδρίων (προσθήκη από *FASEB J.* 2012 Nov;26(11):4637-49).

Οι Nimri L [71] και συνεργάτες ανέφεραν ότι τα πολύ χαμηλής μεταστατικής ικανότητας κύτταρα LS174T του καρκίνου του παχέος εντέρου εξέφραζαν πολύ χαμηλά επίπεδα CAV-1 στο κυτταροπλασματικό τους κλάσμα αλλά όχι στις λιπιδικές σχεδίες ενώ τα HM-7 κύτταρα, ένας επιλεγμένος κλώνος από τα LS174T, που προηγουμένως είχε φανεί ότι είναι εξαιρετικά μεταστατικά, δεν εξέφραζαν καθόλου διακριτή CAV-1 στο κυτταρόπλασμα ή στις λιπιδικές σχεδίες. Αποκατάσταση της πρωτεΐνης CAV-1 in vitro αποκάλυψε σημαντική αναστολή των δραστηριοτήτων που σχετίζονται με τα μεταστατικά κύτταρα και του πολλαπλασιασμού και

της βιωσιμότητας των μεταστατικών κυττάρων. Συγκεκριμένα, μείωση της έκφρασης της μεταλλοπρωτεΐνωσης MT4-MMP της λιπιδικής σχεδίας της μεμβράνης και υπερέκφραση της πρωτεΐνης φλοτιλλίνης-1 (flotillin-1) που σχετίζεται με τα Caveolae. Αθροιστικά, οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι μαζί η CAV-1 και η φλοτιλλίνη-1 σταθεροποιούν τα Caveolae επιτρέποντας την οργάνωση της μεμβράνης κατά τρόπο ώστε ο πολλαπλασιασμός και η βιωσιμότητα των κυττάρων να επηρεάζονται σημαντικά. Το πιο σημαντικό, η CAV-1 και η φλοτιλλίνη-1 όταν υπάρχουν στις λιπιδικές σχεδίες δεν επιτρέπουν την μεταλλοπρωτεΐνωση MT4-MMP να εντοπίζεται εντός των λιπιδικών σχεδιών, επηρεάζοντας την έκφραση της στο κύτταρο και πιθανώς τη δραστηριότητάς της, η οποία μεταφράζεται σε δραστηριότητες που σχετίζονται με τη μετάσταση αυτών των κυττάρων.

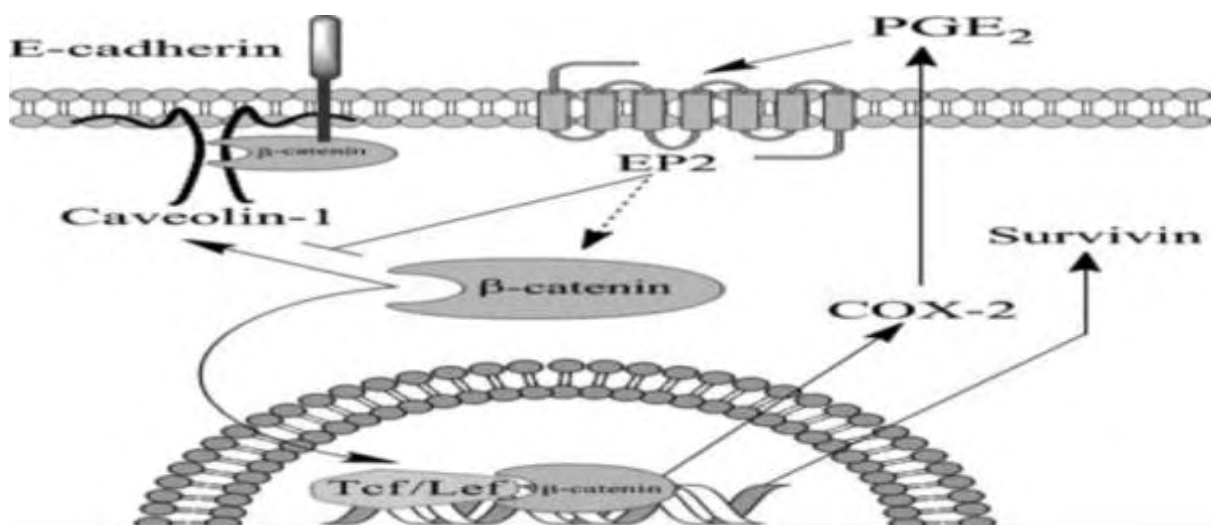
Οι Kawaraguchi Y [72] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η έκθεση στο ισοφλουράνιο (isoflurane) που είναι ένα πτητικό αναισθητικό, οδηγεί σε αντίσταση εναντίον της απόπτωσης που επάγεται από το TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) μέσω CAV-1 εξαρτώμενου μηχανισμού. Επιπλέον, διαμορφώνοντας την έκφραση της CAV-1 μεταβάλλει την απόκριση στην απόπτωση που επάγεται από το TRAIL μετά την έκθεση στο ισοφλουράνιο. Γι' αυτό, το ισοφλουράνιο ακούσια μπορεί να μειώσει την ευαισθησία σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες ανάλογα με την κατάσταση της έκφρασης της CAV-1 στον καρκίνο.

Οι Chen SF [73] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η CAV-1 καταστέλλει την έκφραση του COX-2 in vitro και in vivo μέσω δέσμησης της CAV-1 με τη C-τελική περιοχή του COX-2 στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Endoplasmic Reticulum-ER) και διευκολύνοντας την αποδόμησή του. Οι ερευνητές προτείνουν ότι η CAV-1 έχει ιδιότητες καταστολής των όγκων, διευκολύνοντας την αποικοδόμηση προ νεοπλασματικών και προ φλεγμονωδών πρωτεϊνών όπως η COX-2.

Οι Guruswamy S [74] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η λοβαστατίνη (lovastatin) και η σελεκοξίμπη (celecoxib), και οι δύο, διαταράσσουν τα Caveolae της μεμβράνης και μειώνουν την έκφραση μορίων σηματοδότησης που σχετίζονται με τη CAV-1 όπως η φωσφορυλιωμένη AKT και οι μεταγενέστερες πρωτεΐνες, η φωσφορυλιωμένη ERK και STAT3.

Οι Rodriguez DA [75] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η CAV-1 ρυθμίζει αρνητικά τον COX-2 με ένα μηχανισμό εξαρτώμενο από τη β -Catenin-Tcf/Lef με την απαιτούμενη παρουσία της E-Cadherin. Επίσης, η CAV-1 μειώνει την παραγωγή της PGE2 (Prostaglandin E2) και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Εν τω μεταξύ, η υπερέκφραση της COX-2 ή η προσθήκη της PGE2 ενεργοποιεί την οδό β -Catenin-Tcf/Lef και αυξάνει της έκφραση της πρωτεΐνης survivin. Έτσι, η ρύθμιση από τη CAV-1 της survivin, του COX-2 και πιθανώς άλλα γονίδια

στόχοι της οδού β -Catenin-Tcf/Lef περιλαμβάνει όχι μόνο την αναστολή της μεταγραφής από την παγίδευση της β -κατενίνης στη μεμβράνη του πλάσματος σε ένα σύμπλοκο με την E-καδερίνη, αλλά επίσης καταστολή αυτού του μετα-μεταγραφικού COX-2-PGE2 βρόχου ενίσχυσης. Εναλλακτικά, τα στοιχεία της μελέτης δείχνουν ότι η PGE2 εμποδίζει την ικανότητα της CAV-1 να απομονώσει τη β -κατενίνη στη μεμβράνη του πλάσματος, αν και ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο συμβαίνει αυτό μένει να αποδειχθεί. Η PGE2 προτείνεται σε αυτή τη μελέτη για την ενίσχυση της σταθερότητας της β -κατενίνης στο κυτταρόπλασμα μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από τον υποδοχέα EP2 (Prostaglandin E2). Επιπλέον, αν και θεωρητικά, αυτή η ίδια ακολουθία προτείνεται να εμποδίζει τον αποτελεσματικό σχηματισμό του συμπλόκου CAV-1/E-Cadherin/ β -Catenin στην κυτταρική επιφάνεια. Εν ολίγοις, βρέθηκε ένας βρόχος εμπροσθόδρομης ενίσχυσης μεταξύ των COX-2/PGE2 και την έκφραση της survivin. Από τη μία πλευρά, η PGE2, παράγεται ως συνέπεια της δράσης του COX-2 και απελευθερώνεται από τα κύτταρα, συνδέεται με υποδοχείς EP2, αυξάνει τη δραστηριότητα της β -Catenin-Tcf/Lef και προωθεί την έκφραση γονιδίων που ευνοούν την ανάπτυξη, όπως COX-2 και survivin. Από την άλλη πλευρά, η CAV-1 απομονώνει τη β -κατενίνη στη μεμβράνη του πλάσματος σε ένα σύμπλοκο με την E-καδερίνη και αναστέλλει την εξαρτώμενη από τη β -Catenin-Tcf/Lef μεταγραφή της επιβίωσης. Έτσι, η αυξημένη παραγωγή PGE2 από οποιοδήποτε κύτταρο προβλέπεται να μειώνει την ικανότητα της CAV-1 να αναστέλλει τη β -Catenin-Tcf/Lef εξαρτώμενη μεταγραφή και να λειτουργεί ως καταστολέας του όγκου στο ίδιο κύτταρο, καθώς επίσης και σε γειτονικά κύτταρα. Αντιθέτως, οι προσαυξήσεις στην έκφραση της CAV-1 μπορεί να διαμορφώνει τα χαρακτηριστικά των κυττάρων με έναν αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο μειώνοντας την παραγωγή της PGE2.



Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων της μελέτης των Rodriguez DA et al (προσθήκη από Mol Biol Cell. 2009 Apr;20(8):2297-310).

Οι Torres VA [84] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η ικανότητα της CAV-1 να ρυθμίζει την έκφραση της survivin (η CAV-1 αναστέλλει την έκφραση του αναστολέα της απόπτωσης πρωτεΐνης survivin μέσω ενός μεταγραφικού μηχανισμού όπου συμμετέχει η οδός β-catenin-Tcf/Lef) και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων είναι σοβαρά διαταραγμένη σε μεταστατικά καρκινικά κύτταρα που στερούνται E-καδερίνης. Επίσης, η E-καδερίνη προωθεί τη συνεντόπιση και τη συν ανοσοκατακρήμνιση της CAV-1 με τη β-κατενίνη, καθώς επίσης και την αναστολή της μεταγραφής εξαρτώμενης από την οδό β-catenin-Tcf/Lef. Απώλεια της E-καδερίνης παρατηρείται συχνά σε επιθηλιακούς όγκους του ανθρώπου. Έτσι, η συνδυασμένη απομάκρυνση των CAV-1 και E-καδερίνης από τα επιθηλιακά κύτταρα είναι πιθανό να επιταχύνει την απώλεια των επαφών κυττάρου-κυττάρου, την επιθηλιο-μεσεγχυματική μετατροπή και τον μετασχηματισμό. Επιπλέον, και ίσως το σημαντικότερο, η απώλεια της E-καδερίνης συμβάλλει στη δημιουργία ενός ανεκτικού κυτταρικού περιβάλλοντος όπου η επανέκφραση της CAV-1 σε ένα μεταγενέστερο στάδιο στην πρόοδο του όγκου δεν συνδέεται με επίσημες επιπτώσεις για την ανάπτυξη του όγκου. Αντ' αυτού, γνωρίσματα αυτής της πρωτεΐνης σχετιζόμενα με κακοήγη εξέλιξη του όγκου είναι πιο πιθανό να επικρατήσουν.

Οι Joshi B [76] και συνεργάτες ανέφεραν ότι σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου η CAV-1 συνδέεται σημαντικά με την παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων. Σε καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου HCT116 η φωσφορυλιωμένη CAV-1 διεγείρει την ενεργοποίηση της Rho, σταθεροποιεί τη σύνδεση των FAK (Focal Adhesion Kinase) με εστιακές προσκολλησεις (FAs) και προάγει την κυτταρική μετανάστευση και εισβολή με τρόπο που εξαρτάται από τη ROCK (Rho kinase) και τη Src. Οι ερευνητές προσδιόρισαν ένα βρόχο ανάδρασης μεταξύ Rho/ROCK, Src και της φωσφορυλιωμένης CAV-1 στις προεξοχές ενός κυττάρου όγκου, προσδιορίζοντας μία νέα λειτουργία για τη CAV-1 στη μετάσταση του όγκου που μπορεί να συντελεί στην κακή πρόγνωση μερικών όγκων που εκφράζουν CAV-1. Οι Selga E [77] και συνεργάτες ανέφεραν ότι, σε ανθεκτικά στη μεθοτρεξάτη κύτταρα HT29, τα γονίδια της CAV-1, της ενολάσης-2 και της PKCa υπερεκφράζονται. Επίσης, μειώνοντας τα επίπεδα της CAV-1 και υπερεκφράζοντας ταυτόχρονα την E-καδερίνη, κατάφεραν να μειώσουν την ικανότητα αντίστασης των κυττάρων στη μεθοτρεξάτη.

Οι Palozza P [78] και συνεργάτες ανέφεραν ότι το β-καροτένιο δρα ως ανασταλτικός της ανάπτυξης παράγοντας σε CAV-1 θετικά μόνο κύτταρα και ρυθμίζει αρνητικά με τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση και το χρόνο την έκφραση της πρωτεΐνης CAV-1 και τα επίπεδα

του αγγελιοφόρου RNA και αναστέλλει την φωσφορυλίωση της AKT η οποία, με τη σειρά της, διεγείρει την απόπτωση αυξάνοντας την έκφραση της β-κατενίνης και του c-myc καθώς και τη δραστηριότητα των κασπασών-3, -7, -8 και -9. Προτείνουν λοιπόν οι ερευνητές ότι η τροποποίηση του CAV-1 μονοπατιού από το β-καροτένιο θα μπορούσε να είναι ένας νέος μηχανισμός με τον οποίο το καροτενοειδές δρα ως ισχυρός ανασταλτικός παράγοντας της ανάπτυξης σε καρκινικά κύτταρα.

Οι Tencer L [79] και συνεργάτες ανέφεραν ότι ένας αναστολέας του EGFR αναστέλλει την επαγωγή της CAV-1 από τη rosiglitazone (PPAR γ -αγωνιστής) η οποία διεγείρει τη φωσφορυλίωση του EGFR, ενώ η απευθείας ενεργοποίηση του EGFR από τον EGF ρυθμίζει θετικά τα επίπεδα του mRNA της CAV-1. Οι αναστολείς της Src και της Mek1-Erk1/2 και p38 MAP κινάσης οδοί αναστέλλουν επίσης τη θετική ρύθμιση της CAV-1 από τη rosiglitazone. Επιπλέον, η rosiglitazone διεγείρει το σχηματισμό ανιόντων υπεροξειδίου, ενώ η επαγωγή της έκφρασης της CAV-1 από τη rosiglitazone εξασθενεί από το αντιοξειδωτικό N-ακέτυλο-κυστεΐνη (NAC-N-acetyl-cysteine). Ο υποκινητής του γονιδίου της CAV-1 στερείται ενός κανονικού στοιχείου απόκρισης PPAR γ (PPAR γ response element-PPRE) και μια PPRE-αναφοράς δομή δεν είναι ευαίσθητη σε EGF ή EGFR αναστολή. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η θετική ρύθμιση της CAV-1 από τη rosiglitazone απαιτεί το σχηματισμό υπεροξειδίου και την ενεργοποίηση των Src, EGFR, του Mek1-Erk1/2 και p38 MAP κινάσης μονοπατιών. Προτείνουν λοιπόν οι ερευνητές ένα καινοτόμο τρόπο δράσης των συνδετών PPAR γ στη ρύθμιση της CAV-1 και ενδεχομένως άλλα γονίδια στερούνται PPRE στους υποκινητές τους, που περιλαμβάνει τη συντονισμένη ενεργοποίηση του PPAR γ και ενδοκυττάρων μονοπατιών σηματοδότησης.

Οι Roy UK [80] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η απώλεια της CAV-1 αυξάνει την πρόσληψη πολυαμινών σε HCT116 καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου και το ενεργοποιημένο KRAS αυξάνει την πρόσληψη των πολυαμινών μέσω της Src. Οι πολυαμίνες έχουν την τάση να συνδέονται με τις λιπιδικές σχεδίες σε αυτά τα κύτταρα και η πρόσληψη τους ρυθμίζεται αρνητικά από την CAV-1. Ακόμη, ογκογονίδια όπως το KRAS ρυθμίζουν την πρόσληψη των πολυαμινών τροποποιώντας τη φωσφορυλίωση της CAV-1 κατά τρόπο εξαρτώμενο από SRC.

Οι Henkhaus RS [81] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η έκφραση και η έκκριση της καλλικρεΐνης 6 (kallikrein 6-KLK6) μειώνεται σε κύτταρα με αρνητική ρύθμιση της CAV-1 μέσω φωσφορυλίωσης από τη Src και ότι η καλλικρεΐνη 6 εντοπίζεται σε τμήματα της μεμβράνης που περιέχουν CAV-1. Επίσης οι ερευνητές έδειξαν ότι, σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου, η CAV-1 αυξάνει την ποσότητα της φωσφορυλιωμένης AKT στα

κύτταρα μέσω της αναστολής της δραστηριότητας των αρνητικών ρυθμιστών του AKT, φωσφατασών PP1 και PP2A. Οι καλλικρεΐνες είναι σερινοπρωτεάσες που από τη στιγμή που εκκρίνονται από το κύτταρο έχουν την ικανότητα να αποδομούν τον περιβάλλοντα εξωκυττάριο κυτταροσκελετό (Extracellular Matrix-ECM) και να συμβάλλουν έτσι στη διήθηση των κυττάρων. Οι ερευνητές λοιπόν προτείνουν ότι η καλλικρεΐνη 6 έχει τη δυνατότητα να παίζει ένα ρόλο ως ένας βιοδείκτης του ορού για την παρουσία ή/και την πρόοδο των διαφόρων τύπων καρκίνου και κατανοώντας πώς η καλλικρεΐνη 6 εκκρίνεται θα μπορούσε να οδηγήσει σε θεραπευτικές προσπάθειες για να αναχαιτιστεί αυτή τη διαδικασία, δίνοντας έτσι ένα λιγότερο διηθητικό φαινότυπο σε αυτά τα κύτταρα.

Οι Park SE [82] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η ακετυλοχολινεστεράση (acetylcholinesterase-AChE) εντοπίζεται στα Caveolae μέσω αλληλεπίδρασης με την CAV-1 κατά τη διάρκεια της απόπτωσης και αυτά η αλληλεπίδραση της AChE με την CAV-1 είναι απαραίτητη για το σχηματισμό του αποπτωσώματος.

Οι Roy UK [83] και συνεργάτες ανέφεραν ότι το mRNA και η έκφραση της πρωτεΐνης CAV-1 σε καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου επάγεται από το APC (Adenomatous polyposis coli) και ρυθμίζεται και από το FOXO1a, ένα μέλος της οικογένειας Forkhead μεταγραφικών παραγόντων, και από το c-myc. Η πρωτεΐνη FOXO1a, που είναι αυξημένη κατά τη wild type έκφραση του APC, επάγει τη δραστηριότητα του υποκινητή της CAV-1 και συνδέεται άμεσα με μια αλληλουχία FKHR δέσμευσης στον υποκινητή της CAV-1. Η c-myc πρωτεΐνη, η οποία μειώνεται κατά τη wild type έκφραση του APC, δρα για να καταστέλλει την έκφραση της CAV-1, με δράση σε μη-E-box στοιχεία του υποκινητή της CAV-1. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι η έκφραση της CAV-1 μειώνεται στις αρχές της καρκινογένεσης του κόλου του εντέρου, η οποία συνδέεται με την απώλεια του wild type APC. Τα αποτελέσματά αυτής της μελέτης τους είναι συνεπή με την ερμηνεία ότι η CAV-1 μπορεί να έχει ιδιότητες καταστολής των όγκων κατά τα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου.

Οι Chintharlapalli S [85] και συνεργάτες ανέφεραν ότι οι ενώσεις CDDO (2-Cyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oic acid) οι οποίες εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινική δράση επάγουν την CAV-1 σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου.

Οι Cavallo-Medved D [86] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η αρνητική ρύθμιση της CAV-1 σε HCT116 κύτταρα ελαττώνει τα επίπεδα των σχετιζόμενων με τα Caveolae, καθεψίνη B (cathepsin B) και του υποδοχέα της p11 και επίσης ελαττώνει την έκφραση και μεταβάλλει την κατανομή της ουροκινάσης, ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, uPA (Urokinase plasminogen activator και του υποδοχέα της, uPAR (Urokinase plasminogen activator receptor). Επιπλέον, οι ερευνητές έδειξαν ότι η αρνητική ρύθμιση της CAV-1 μειώνει τη

διηθητική ικανότητα των κυττάρων του καρκίνου του παχέος εντέρου αναστέλλοντας την αποικοδόμηση του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού της πρωτεΐνης κολλαγόνου IV από αυτά τα κύτταρα και τη διεισδυτικότητά τους. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, προτείνουν ένα ρυθμιστικό ρόλο για την CAV-1 στην έκφραση και τον εντοπισμό της καθεσίνης B και της pro-uPA και των υποδοχέων τους, μεσολαβώντας έτσι σε πρωτεολυτικά γεγονότα της κυτταρικής επιφάνειας που συνδέονται με τη διήθηση των κυττάρων του καρκίνου του παχέος εντέρου. Επίσης, καθιέρωσαν ένα λειτουργικό ρόλο για τις πρωτεάσες που σχετίζονται με τα Caveolae στην αποικοδόμηση των πρωτεϊνών του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού κατά τη διάρκεια της εισβολής του καρκίνου και της μετάστασης.

Οι Patlolla JM [87] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η CAV-1 υπερεκφράζεται σε πειραματικούς (από ποντίκια) όγκους του παχέος εντέρου. Σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου Caco-2, HT-29, HCT-116, τα επίπεδα του mRNA και της έκφρασης της πρωτεΐνης εξαρτάται από τους ρυθμούς ανάπτυξης τους (με τη σειρά Caco2 <HT-29 <HCT-116).

Οι Bürgermeister E [88] και συνεργάτες ανέφεραν ότι οι συνδέτες του PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor- γ) ρυθμίζουν θετικά την έκφραση της CAV-1 και CAV-2. Αυτές οι επιδράσεις των συνδετών του PPAR γ είναι δόσο και χρόνο-εξαρτώμενες. Η θετική ρύθμιση των Caveolins είναι ένα πρώιμο συμβάν που προηγείται της επαγόμενης από το PPAR γ διαφοροποίησης και αναστέλλεται σημαντικά από έναν κυρίαρχο-αρνητικό PPAR γ . Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ρυθμισμένη από το PPAR γ έκφραση της Caveolin δεν συσχετίζεται αναγκαστικά με το πρόγραμμα διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων. Εν κατακλείδι, οι ερευνητές προτείνουν ότι η CAV-1 είναι ένας μεταγραφικός στόχος του PPAR γ και μπορεί να τροποποιήσει κάποιες από τις φαινοτυπικές μεταβολές που προκαλούνται από τον κλινικά σημαντικό πυρηνικό υποδοχέα στα καρκινικά κύτταρα. Αυτά τα ευρήματα μπορούν να έχουν δυνητικά σημαντικές λειτουργικές συνέπειες στο πλαίσιο της θεραπείας του καρκίνου και της αντοχής στα φάρμακα.

Οι Felley-Bosco E [89] και συνεργάτες πρότειναν ότι η CAV-1 προάγει την παρουσία της iNOS (inducible nitric oxide synthase) στα υδρόφοβα τμήματα της μεμβράνης και την αποικοδόμηση εκεί μέσω της οδού του πρωτεασώματος. Αυτά τα αποτελέσματα αποκαλύπτουν έναν αναπάντεχο μηχανισμό με τον οποίο η CAV-1 ρυθμίζει την iNOS και δια φωτίζει πώς η CAV-1 μπορεί να λειτουργήσει ως καταστολέας των όγκων, ιδίως σε καρκινώματα του παχέος εντέρου.

Οι Bender FC [90] και συνεργάτες ανέφεραν ότι τα επίπεδα της CAV-1 μειώθηκαν σε όγκους του παχέος εντέρου από ανθρώπους ασθενείς και το mRNA και τα επίπεδα πρωτεΐνης CAV-1

ήταν χαμηλά στα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου. Αυτά αρνητική ρύθμιση της CAV-1 εμφανίζεται κατά τη διάρκεια του σχηματισμού του όγκου. Η CAV-1 μπορεί να επανεκφραστεί σε κύτταρα καρκινώματος του κόλου και όταν συμβαίνει μειώνει το σχηματισμό όγκου σε γυμνούς ποντικούς. Η αρχική αρνητική ρύθμιση της CAV-1 σε κύτταρα καρκινώματος του παχέος εντέρου είναι ένα αναστρέψιμο γεγονός επειδή η επιβίωση του κυττάρου στην επιλογή είτε για αντοχή στα φάρμακα ή αυξημένο μεταστατικό δυναμικό μπορεί να απαιτήσει την επανέκφραση της CAV-1.

Οι Lavie Y [91] και συνεργάτες ανέφεραν ότι πολυανθεκτικά (Multidrug-resistant-MDR) HT-29 κύτταρα ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του κόλου εμφανίζουν μια 12-πλάσια υπερέκφραση της CAV-1. Η αυξητική ρύθμιση των Caveolins συνδέεται με 5-πλάσια αύξηση στον αριθμό των δομών σαν τα Caveolae που παρατηρούνται στις πλασματικές μεμβράνες των κυττάρων HT-29-MDR. Ένα σημαντικό κλάσμα της κυτταρικής P-γλυκοπρωτεΐνης (P-glycoprotein-P-gp) είναι εντοπισμένη σε χαμηλής πυκνότητας αδιάλυτα σε αποδιατακτικούς παράγοντες κλάσματα της μεμβράνης που προέρχονται από τα κύτταρα HT-29-MDR. Τα καρκινικά κύτταρα "κανονικά" έχουν πολύ χαμηλά επίπεδα CAV-1, πιθανότατα λόγω της αρνητικής ρύθμισης της CAV-1 που λαμβάνει χώρα κατά τον ογκογόνο μετασχηματισμό. Οι Lavie και συνεργάτες υποδεικνύουν ότι κατά την απόκτηση του φαινοτύπου MDR, τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν εκ νέου χαρακτηριστικές ιδιότητες του διαφοροποιημένου επιθηλιακού κυττάρου, δηλαδή υψηλά επίπεδα CAV-1. Ως εκ τούτου, μια λειτουργική συνέπεια της αυξητικής ρύθμισης των Caveolins σε κύτταρα MDR είναι ένας πιο αργός ρυθμός πολλαπλασιασμού, ο οποίος μπορεί να παρέχει στα κύτταρα MDR κάποια προστασία έναντι της δράσης των κυτταροτοξικών φαρμάκων και να συμβάλλουν έτσι σε επιλεκτικό πλεονέκτημα όσον αφορά την ανάπτυξή τους υπό χημειοθεραπεία.

Οι Engelman JA [92] και συνεργάτες ανέφεραν ότι οι Caveolins 1 και 2 συν-εντοπίζονται στην περιοχή q31.1-q31.2 του ανθρώπινου χρωμοσώματος 7. Επίσης, το γονίδιο της CAV-1 βρίσκεται εξαιρετικά κοντά στο D7S522. Στο D7S522 εκτείνεται μια γνωστή κοινή εύθραυστη θέση στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 7 (FRA7G) και το D7S522 συχνά διαγράφεται σε μια ποικιλία ανθρώπινων καρκίνων. Οι Engelman και συνεργάτες πρότειναν ότι η CAV-1 μπορεί να αντιπροσωπεύει το χαμένο ογκοκατασταλτικό τόπο στο D7S522 (7q31.1).

Οι Rebecca Feldman [93] και συνεργάτες ανέφεραν ότι το Ουρσοδεσοξυχολικό οξύ (UDCA) καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και αυτό ενισχύεται από την CAV-1. Η καταστολή της δράσης της κινάσης ERK MAP από το ουρσοδεσοξυχολικό οξύ επίσης ενισχύεται από την CAV-1 υποδηλώνοντας ότι η CAV-1 αυξάνει την ικανότητα του ουρσοδεσοξυχολικού οξέος να καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέσω της

αναστολής της μιτογόνου σηματοδότησης. Αυτό είναι σύμφωνο με το ρόλο της CAV-1 ως καταστολέας της σηματοδότησης της MAP κινάσης.

Συμπερασματικά, ο ρόλος της CAV-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι αμφιλεγόμενος. Μια σειρά από μελέτες υποδεικνύουν ένα ρόλο προώθησης της ογκογένεσης και άλλες τεκμηριώνουν μια ογκοκατασταλτική δράση.

Ειδικότερα, η CAV-1 μέσω της ενεργοποίησης της Rab5 και στη συνέχεια της Rac1 συμβάλλει στη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων και τη μετάσταση [62]. Επίσης, η μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων αυξάνει από ένα ενεργοποιημένο ογκογονίδιο KRAS που επάγει μεταγραφικά την CAV-1 μέσω της Akt και του μεταγραφικού παράγοντα Sp1 [66]. Ακόμη, η φωσφορυλίωση της τυροσίνης της CAV-1 διεγείρει την ενεργοποίηση της Rho, σταθεροποιεί τις συνδέσεις FAK με εστιακές προσκολλήσεις και προάγει την κυτταρική μετανάστευση και εισβολή μέσω της Rock και της Src [76]. Επιπλέον, σε περιπτώσεις αρνητικής ρύθμισης της CAV-1 ελαττώνεται η καθεψίνη B, ο υποδοχέας της p11, η ουροκινάση ενεργοποιητής του πλασμινογόνου και ο υποδοχέας της και αναστέλλεται η αποικοδόμηση του εξωκυττάρου κυτταροσκελετού της πρωτεΐνης του κολλαγόνου IV και έτσι μειώνεται η διηθητική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου [86]. Επιπρόσθετα, η CAV-1 δρά ως αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη καθώς μετά τη χορήγηση της χημειοθεραπείας δεσμεύει την Ku70, δεν απελευθερώνεται ο Bax από την Ku70, δεν ενεργοποιείται ο Bax, δεν μετατοπίζεται στα μιτοχόνδρια και μ' αυτόν τον τρόπο αναστέλλεται η απόπτωση [70]. Τέλος, στην αρχική ανάπτυξη του καρκίνου η αυξημένη CAV-1 προάγει την αερόβια γλυκόλυση από τα κύτταρα του όγκου και τη δημιουργία ATP παρέχοντας προστασία στα κύτταρα από το μεταβολικό stress [68]. Η αύξηση της CAV-1 μειώνει το αποπτωτικό stress και αυτό ρυθμίζεται από τη μιτοχονδριακή CAV-1 [69].

Από την άλλη, υπάρχουν ισχυρά δεδομένα που θεμελιώνουν την CAV-1 ως κατασταλτική του όγκου πρωτεΐνη. Πρώτα απ' όλα, το γονίδιο της CAV-1 εντοπίζεται στο 7q31.1 χρωμόσωμα κοντά στο D7S522 το οποίο συχνά διαγράφεται σε πολλούς τύπους καρκίνου και άρα η CAV-1 θα μπορούσε να θεωρηθεί ένα χαμένο ογκοκατασταλτικό γονίδιο [92]. Άλλοι τρόποι ογκοκατασταλτικής δράσης είναι η σύνδεσής της με τον NRF2 και προώθησης της πρόωρης γήρανσης των κυττάρων από το οξειδωτικό stress και αναστολή του μετασχηματισμένου φαινοτύπου των καρκινικών κυττάρων [64]. Ακόμη, η ογκοκατασταλτική δράση επιτυγχάνεται και μέσω της πρόκλησης παρουσίας iNOS στη μεμβράνη των κυττάρων και την αποικοδόμηση της από το πρωτεάσωμα [89]. Η CAV-1 καταστέλλει την έκφραση του COX-2 και έτσι δρα ογκοκατασταλτικά [73]. Επιπλέον, η CAV-1 όταν εντοπίζεται στις λιπιδικές σχεδίες της μεμβράνης προάγει τη μείωση της

μεταλλοπρωτεϊνάσης MT4 και παράλληλα την υπερέκφραση της πρωτεΐνης φλοτυλλίνης 1 που σχετίζεται με τα Caveolae και τελικά αναστέλλεται η βιωσιμότητα και η μετάσταση των κυττάρων [71].

Οι τροποποιήσεις της έκφρασης της CAV-1 μέσω αλληλεπίδρασης με διάφορα μόρια επηρεάζουν την ανάπτυξη, τη βιωσιμότητα και τη διηθητική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων.

Οι επιγενετικές αλλαγές μετά από θεραπεία με επιγενετικούς ρυθμιστές γίνονται όχι μόνο με τη μεθυλίωση του υποκινητή της CAV-1 αλλά κυρίως από τις τροποποιήσεις της ιστόνης 3 και προκαλείται υπερέκφραση της CAV-1 που τελικά επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη των κυττάρων. Να σημειωθεί ότι η ισχυρότερη επαγωγή της CAV-1 επέρχεται από τους αναστολείς της αποακετυλάσης της ιστόνης [60]. Για παράδειγμα το βουτυρικό που είναι ένας ισχυρός αναστολέας της αποακετυλάσης της ιστόνης επάγει την έκφραση της CAV-1 κατά τη διαφοροποίηση των κυττάρων και οδηγεί σε απόπτωση τα κύτταρα [61].

Οι συνδέτες του PPAR γ επάγουν την έκφραση της CAV-1 πριν τη διαφοροποίηση των κυττάρων με δόσο- και χρονο-εξαρτώμενο τρόπο [88] και καταστέλλουν την ανάπτυξη των όγκων. Για παράδειγμα η rosiglitazone που είναι ένας συνδέτης του PPAR γ επάγει την CAV-1 με το σχηματισμό υπεροξειδίου και την ενεργοποίηση των Src, EGFR, Mek1- Erk1/2, p28 MAK κινασών [79]. Αυτό φαίνεται και από το ότι αναστολέας του EGFR αναστέλλει την επαγωγή της CAV-1 από τη rosiglitazone [79]. Από την άλλη, η rosiglitazone αποτρέπει το σχηματισμό όγκων στους ποντικούς ανεξάρτητα της CAV-1 [63]. Ακόμη, όταν έχουμε ανεπάρκεια της CAV-1 και της APC δημιουργούνται όγκοι στο άνω κόλον του ποντικού στους οποίους το Ras και Wnt μονοπάτι είναι αυξημένα ενώ είναι μειωμένος ο PPAR γ . Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι συνδέτες του PPAR γ στοχεύουν το αυξημένο Ras και ρυθμίζουν αυξητικά τους αναστολείς της οδού του Ras όπως η CAV-1 και ανασταλτικά γονίδια που προωθούν την ανάπτυξη όπως το PTEN. Άρα, από την μια το Ras και Wnt μονοπάτι επάγουν τον όγκο ενώ οι CAV-1 και PPAR γ καταστέλλουν τον όγκο στο παχύ έντερο [63].

Στην αρχή της καρκινογένεσης συμβαίνει απώλεια του γονιδίου APC και μειώνεται η CAV-1 που επιδρά κατασταλτικά στη διαδικασία της ογκογένεσης [83]. Αυτό είναι ένα αναστρέψιμο γεγονός [90]. Κανονικά η CAV-1 επάγεται από το APC και ρυθμίζεται από το FOXO1a που αυξάνεται και από το c-myc που μειώνεται κατά τη wild type κατάσταση του APC [83].

Η ανεπάρκεια της p53 στον καρκίνο του παχέος εντέρου οδηγεί σε απώλεια της έκφρασης της CAV-1 [66]. Αυτή η μείωση της CAV-1 μέσω της p21 από την απώλεια του p53 αναστέλλει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων [67].

Οι προσαυξήσεις της έκφρασης της CAV-1 διαμορφώνουν ανάλογα τα χαρακτηριστικά των κυττάρων τροποποιώντας την παραγωγή μορίων όπως ο PGE2 με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο. Ο PGE2 λοιπόν παραγόμενος από τον COX-2 και αφού απελευθερωθεί από τα κύτταρα συνδέεται με EP2 υποδοχείς και μέσω αύξησης της δραστηριότητας της οδού β-Catenin-Tcf/Lef αυξάνει την πρωτεΐνη survivin προωθώντας την ανάπτυξη των όγκων. Αντίθετα δρώντας η CAV-1 απομονώνει την β-κατενίνη στη μεμβράνη του πλάσματος σε ένα σύμπλοκο με την E-καδερίνη και καταστέλλει το μεταγραφικό σήμα από τους COX-2/PGE2 αναστέλλοντας την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων [75]. Άλλωστε σε κύτταρα που στερούνται της E-καδερίνης δεν μπορεί η CAV-1 να ρυθμίσει την πρωτεΐνη survivin μέσω της οδού β-Catenin-Tcf/Lef [84]. Γι' αυτό και η σύγχρονη απομάκρυνση της CAV-1 και της E-καδερίνης επιτυγχάνει την επιθηλιομεσεγχυματική μετατροπή [84].

Η καλλικρεΐνη 6 μειώνεται σε απενεργοποίηση της CAV-1 μέσω του Src, Akt και φωσφατασών σηματοδοτικού μονοπατίου και έτσι αναστέλλεται η διηθητικότητα των καρκινικών κυττάρων καθώς η KLK6 αποικοδομεί τον εξωκυτταριο κυτταροσκελετό των καρκινικών κυττάρων και διευκολύνει τη διήθηση τους [81].

Η CAV-1 παίζει και σημαντικό ρόλο στην αντίσταση των καρκινικών κυττάρων από τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Συγκεκριμένα, κύτταρα με φαινότυπο MDR (Multidrug resistant) υπερέκφραζουν την CAV-1, αυξάνουν τον αριθμό των Caveolae και πολλαπλασιάζονται με αργό ρυθμό ώστε να ξεφεύγουν της κυτταροστατικής δράσης των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων [91]. Ακόμη, υπερέκφραση της CAV-1 παρατηρείται και σε κύτταρα ανθεκτικά στη μεθοτρεξάτη [77]. Άρα, ξεκάθαρα η αυξημένη CAV-1 συντελεί σε χημειοαντίσταση των κυττάρων και αυτό ίσως θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν στις προσπάθειες άρσης της χημειοαντοχής. Αυτό υποστηρίζεται και από το ότι μειώνοντας τα επίπεδα της CAV-1 και ταυτόχρονα υπερεκφράζοντας την E-καδερίνη επιτυγχάνεται μείωση της αντίστασης των καρκινικών κυττάρων [77].

Τέλος, μια σειρά χημικών ουσιών-φαρμάκων ασκούν τις δράσεις τους και με τη μεσολάβηση της CAV-1. Ο συνδυασμός των εξής χημειοαποτρεπτικών παραγόντων gefitinib, licoferone, atorvastatin και α-difluoromethylornithine (GLAD) σε χαμηλές δόσεις μειώνει την CAV-1 και τη β-κατενίνη ενώ από την άλλη αυξάνει την p21 και την κασπάση 3 και μ' αυτόν τον τρόπο προωθεί την απόπτωση [65]. Τα φάρμακα λοβαστατίνη και σελεκοξίμη διαταράσσουν τα Caveolae της μεμβράνης και μειώνουν μόρια που σχετίζονται με τη CAV-1 όπως η φωσφορυλιωμένη AKT [74]. Το ισοφλουράνιο που είναι ένα πτητικό αναισθητικό προκαλεί μέσω της CAV-1 αναστολή της απόπτωσης που επάγεται από το TRAIL [72]. Το ουρσοδεσοξυχολικό οξύ καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέσω αναστολής

της κινάσης ERK MAP με τρόπο επαγόμενο από την CAV-1 [93]. Το β-καροτένιο αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων μέσω τροποποίησης της έκφρασης της CAV-1 [78].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ CAVEOLIN-1 ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΒΑΣΙΣΜΕΝΟΣ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται χρονολογικά (από τα πιο πρόσφατα προς τα παλαιότερα) τα κυριότερα συμπεράσματα που πηγάζουν από δημοσιευμένες εργασίες με κλινικά δεδομένα (ανθρώπινοι κυτταρικοί ιστοί) σχετικά με το ρόλο της Caveolin-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Οι Erdemli HK [94] και συνεργάτες ανέφεραν ότι τα επίπεδα της CAV-1 θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης για τον προσδιορισμό της εξέλιξης του καρκίνου του παχέος εντέρου. Βρήκαν ότι τα επίπεδα της CAV-1 στον ορό μειώνονται ανάλογα με την χειρότερη εξέλιξη. Συγκεκριμένα, αν τα επίπεδα της CAV-1 είναι ίσα ή μικρότερα από 10,73 ng/mL, ο μέσος χρόνος ελεύθερος προόδου νόσου (Progression free survival-PFS) βρέθηκε να είναι 29,7 μήνες (19,8 - 39,7), ενώ σε ασθενείς που έχουν επίπεδα CAV-1 μεγαλύτερα του 10.73 ng/ml, ο μέσος χρόνος ελεύθερος προόδου νόσου (PFS) ήταν 61,9 μήνες (44,2 - 79,6).

Οι Kitowska A [95] και συνεργάτες παρατήρησαν αυξημένα επίπεδα CAV-1 mRNA σε T4 όγκους του παχέος εντέρου συγκριτικά με T2 ή T3 όγκους ($p=0.002$). Επίσης, ανέφεραν ότι οι ασθενείς με χαμηλού σταδίου όγκους του παχέος εντέρου που εμφάνιζαν αυξημένη έκφραση της CAV-1 είχαν σημαντικά μικρότερο χρόνο επιβίωσης μετά τη χειρουργική επέμβαση συγκριτικά με τους ασθενείς που είχαν μειωμένα ή αμετάβλητα επίπεδα CAV-1 mRNA ($p = 0,025$). Αυτή η παρατήρηση υποδεικνύει ότι η αυξημένη έκφραση της CAV-1 σε καρκίνους του παχέος εντέρου τους καθιστά πιο επιθετικούς και αυτό μπορεί να είναι ένας χρήσιμος ογκοδείκτης στην επιλογή ασθενών χαμηλού σταδίου καρκίνου του παχέος εντέρου (χωρίς μεταστάσεις), οι οποίοι μπορούν να επωφεληθούν από επικουρική θεραπεία. Οι ερευνητές δεν παρατήρησαν καμία συσχέτιση μεταξύ του επιπέδου έκφρασης της CAV-1 και της ενεργοποίησης του K-RAS λόγω σημειακής μετάλλαξης του γονιδίου K-RAS στο κωδικόνιο 12. Ουσιαστικά, οι ερευνητές παρατήρησαν μια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του CAV-1 mRNA με το βάθος της διήθησης του καρκίνου και αυτό τα μπορούσε να σημαίνει ότι όγκοι με υψηλή έκφραση της CAV-1 είναι επαρκώς προχωρημένοι σε ανάπτυξη

και μπορούν να επιβιώσουν σε συνθήκες προσωρινής υποξίας μέχρι να φτάσουν σε μεταστατική ικανότητα και ως εκ τούτου συνεπάγονται υψηλότερο κίνδυνο θανάτου.

Οι Alshenawy HA [96] και συνεργάτες έδειξαν ότι καθώς ο όγκος καθίσταται πιο επιθετικός και διηθητικός και καθώς μεθίσταται, μειώνεται η CAV-1 και η E-καδερίνη στο στρώμα και αυξάνεται η CAV-1 στην κυτταρική επιφάνεια του όγκου καθώς και η ανώμαλη έκφραση της β-κατενίνης. Ειδικότερα, οι ερευνητές έδειξαν ότι η CAV-1 εκφράζονταν στο στρώμα στο 44% (31/70) των περιπτώσεων καρκίνου του παχέος εντέρου και συσχετίστηκε με μικρού μεγέθους μη μεταστατικούς όγκους. Αντίθετα, η CAV-1 εκφράστηκε στα κύτταρα του όγκου στο 87% (61/70) των περιπτώσεων και συσχετίστηκε με μεγάλου μεγέθους, μεταστατικούς και με κακό ιστολογικό τύπο όγκους. Η διαφορετική διαφασική έκφραση της CAV-1 (χαμηλή έκφραση σε καρκινικά κύτταρα όγκου χαμηλού σταδίου αλλά υψηλή σε εκείνους με απομακρυσμένες μεταστάσεις) και το αντίθετο που παρατηρήθηκε για την έκφραση της CAV-1 στο στρώμα μπορεί να εξηγηθεί από το ρόλο της ως ρυθμιστή του όγκου ειδικού του ιστού και του σταδίου. Η CAV-1 λειτουργεί ως ένας καταστολέας του όγκου σε φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα, ρυθμίζεται αρνητικά στο μετασχηματισμό των καρκινικών κυττάρων επιτρέποντας την κλωνική επέκταση στο πρωτογενές καρκίνωμα. Στη συνέχεια η CAV-1 ανακτάται σε κύτταρα του καρκινώματος που αποσπώνται από τη βασική μεμβράνη και μεθίστανται στο υποκείμενο στρώμα. Αυτά τα ευρήματα συνδέουν την CAV-1 στο στρώμα με αυξημένη δύναμη διείσδυσης και εξάπλωσης και επίσης συνδέουν την κυτταρική CAV-1 με επιθετικότητα και διαφοροποίηση.

Οι Garouniatis A [97] και συνεργάτες βρήκαν ότι η CAV-1 εκφράζεται ανώμαλα στα καρκινώματα του ανιόντος παχέος εντέρου και σημαντικά λιγότερο σε όγκους του αριστερού κόλου και του ορθού. Επίσης, τα ποσοστά επιβίωσης βελτιώθηκαν στους ασθενείς που την εξέφραζαν αλλά το αποτέλεσμα δεν ήταν στατιστικά σημαντικό. Ειδικά, στην ομάδα με πρώιμο στάδιο νόσου ο VEGFR-3 (Vascular endothelial growth factor receptor 3) φαίνεται να σχετίζεται με τη θέση του όγκου, ενώ η CAV-1 σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με την εντόπιση του όγκου. Στο σύνολό τους, τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι το αριστερό κόλον είναι εκτεθειμένο στις λεμφαγγειογενετικές επιδράσεις του VEGFR-3 ενώ στερείται των πιθανώς προστατευτικών δράσεων της CAV-1. Αυτό θα μπορούσε να είναι-τουλάχιστον εν μέρει ο λόγος που οι όγκοι του αριστερού κόλου του παχέος εντέρου παρουσιάζονται με προχωρημένη λεμφαδενική κατάσταση κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Ακόμη πιο σημαντικό, η CAV-1 επηρεάζει θετικά και σημαντικά την επιβίωση ($p = 0,022$) σε αυτή την ομάδα, αποδεικνύοντας έτσι την ογκοκατάσταλτική της φύση. Από την άλλη, στην ομάδα των ασθενών με προχωρημένο στάδιο, η CAV-1 συσχετίζεται σημαντικά με το στάδιο, ενώ ο

VEGFR-3 συσχετίζεται θετικά με την κατάσταση των λεμφαδένων και ο VEGFR-1 ήταν και πάλι προστατευτικός έναντι απομακρυσμένων μεταστάσεων. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση και συσχέτιση μεταξύ των VEGFR-1, VEGFR-3, CAV1, EGFR, CD44v6, FAK και c-Met, η CAV-1 αναδείχθηκε ως ένα σημαντικός ανεξάρτητος ογκοκατασταλτικός παράγοντας. Εν τω μεταξύ, στην ομάδα των ασθενών με προχωρημένο στάδιο η CAV-1 συσχετίστηκε μόνο με την κινάση εστιακής προσκόλλησης (FAK-focal adhesion kinase).

Οι Basu R [98] και συνεργάτες έδειξαν ότι η CAV-1 είναι ένας μεταγραφικός στόχος του ογκογονιδίου K-RAS στα προχωρημένα στάδια του καρκίνου του παχέος εντέρου. Στην πραγματικότητα, τα επίπεδα της φωσφορυλιωμένης AKT και Src είναι αυξημένα σε δείγματα όγκων με K-RAS μεταλλάξεις και, στα τελευταία στάδια της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου, μέσω ρύθμισης από το ογκογονίδιο K-RAS, η CAV-1 θα μπορούσε να έχει πλειοτροπικούς ρόλους στην ανάπτυξη του καρκίνου.

Οι Tsao SC [99] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η ένταση της CAV-1 αυξήθηκε σε μεταστατικά αδενοκαρκινώματα του κόλου υποδεικνύοντας ότι η CAV-1 παίζει ένα ρόλο στη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.

Οι Kim HA [100] και συνεργάτες έδειξαν ότι η CAV-1 εκφράζεται περισσότερο σε καρκινικούς ιστούς του παχέος εντέρου από ότι στο φυσιολογικό κόλον και σχετίζεται με την Akt-1 ανεξάρτητα από την έκφραση του EGFR.

Οι Lin SY [101] και συνεργάτες βρήκαν ότι η παρεκκλίνουσα μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου CAV-1 μπορεί να παρουσιαστεί στο προκαρκινικό στάδιο, ρυθμίζεται από παράγοντες σχετιζόμενους με το φύλο και συσχετίζεται με τη γονιδιακή αποσιώπηση της CAV-1 στην ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου.

Οι Fine SW [102] και συνεργάτες ανέφεραν ότι η συντριπτική πλειοψηφία των φυσιολογικών επιθηλίων του κόλου και των αδενωματώδων ιστών του κόλου έχουν περιορισμένη ή καθόλου έκφραση της CAV-1, σε αντίθεση με τα αδενοκαρκινώματα όπου στη συντριπτική τους πλειοψηφία έχουν αυξημένη έκφραση της CAV-1.

Τα ευρήματα των ανωτέρω μελετών υποστηρίζουν ότι η έκφραση της CAV-1 είναι αυξημένη στον καρκίνο του παχέος εντέρου και σε άλλους τύπους καρκίνου του ανθρώπου και φαίνεται να έρχεται σε αντίθεση με τα συντριπτικά ενδεικτικά στοιχεία της αρνητικής ρυθμιστικής επίδρασης της CAV-1. Αυτές οι ποικίλες επιδράσεις μπορεί, ωστόσο, να εξηγηθούν από την κατάσταση ενεργοποίησης των διαφορετικών δομικών περιοχών της CAV-1 και τα επίπεδα άλλων μορίων που αλληλοεπιδρούν με την CAV-1. Δομικές μελέτες έχουν βρει ότι η αρνητική ρυθμιστική επίδραση επιτυγχάνεται με τη μεσολάβηση του τομέα κριώματος της CAV-1 (κατάλοιπα 82-101). Επίσης, η CAV-1 είναι ένα υπόστρωμα της

κινάσης c-Src, η οποία φωσφορυλιώνει την CAV-1 στην τυροσίνη-14 (μια μακρινή θέση από τον τομέα ικρίωμα). Στη συνέχεια η φωσφορυλιωμένη CAV-1 συνδέεται με την πρωτεΐνη 7 σύνδεσης του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα (Grb7-Growth factor receptor-binding protein 7). Η συνεργική δράση της c-Src, CAV1 και Grb-7 με τη σειρά της οδηγεί σε ανεξάρτητη από την προσκόλληση ανάπτυξη και σε διεγερμένη από την EGF μετανάστευση των κυττάρων [44]. Επομένως, οι διστάμενες επιδράσεις της CAV-1 μπορεί να ρυθμίζεται από διαφορετικές περιοχές του μορίου και μπορεί να εξαρτάται από τα επίπεδα των άλλων μορίων που συν εκφράζονται μαζί με την CAV-1. Οι Lee [44] και συνεργάτες έχουν δείξει ότι η αλληλεπίδραση με τον τομέα ικρίωμα της CAV-1 προσδίδει την κατασταλτική δράση μετασχηματισμού, ενώ η φωσφορυλίωση στην τυροσίνη-14 της CAV-1 έχει ως αποτέλεσμα μια διεγερτική δράση στην ανάπτυξη. Ο ρόλος της αυξημένης έκφρασης της CAV-1 σε αδενοκαρκινώματα του κόλου παραμένει ασαφής και αναμένεται περαιτέρω μελέτη.

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα ευρήματα όλων των μελετών σχετικά με το ρόλο της CAV1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου πάνω σε ανθρώπινους ιστούς.

Συμπερασματικά, η CAV-1 εκφράζεται περισσότερο στους καρκινικούς ιστούς του παχέος εντέρου από ότι στο φυσιολογικό ιστό [100,102] και ακόμη είναι πιο αυξημένη στα μεταστατικά αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου [99] τεκμηριώνοντας ένα ρόλο στον πολλαπλασιασμό και τη διήθηση των κυττάρων. Σε προχωρημένα στάδια του καρκίνου του παχέος εντέρου η CAV-1 είναι μεταγραφικός στόχος του ογκογονιδίου K-RAS [98]. Επιγενετικά, η παρεκκλίνουσα μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου της CAV-1 μπορεί να εμφανιστεί στο προκαρκινικό στάδιο και σχετίζεται με την αποσιώπηση του γονιδίου της CAV-1 στην ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου [101].

Να σημειωθεί πως η CAV-1 εμφανίζει μια διαφορική έκφραση στο στρώμα και στον όγκο. Είναι μειωμένη σε όγκους χαμηλού σταδίου και αυξημένη σε μεταστατικούς και το αντίθετο ισχύει στο στρώμα. Άρα, ένας όγκος όσο πιο επιθετικός καθίσταται τόσο κερδίζει σε CAV-1 ενώ χάνει το στρώμα σε CAV-1 και E-καδερίνη. Έτσι η CAV-1 επιδρά στον όγκο ανάλογα με τον ιστό και το στάδιο του όγκου [96].

Ακόμη, η CAV-1 εκφράζεται περισσότερο στο δεξιό κόλον και λιγότερο στο αριστερό και το ορθό. Στερούμενο λοιπόν το αριστερό κόλο της προστατευτικής δράσης της CAV-1 εμφανίζει πιο προχωρημένους όγκους κατά τη διάγνωση και αυτό έχει αντίκτυπο στην επιβίωση των ασθενών [97].

Τέλος, η CAV-1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης στον καρκίνο του παχέος εντέρου στις εξής περιπτώσεις. Η CAV-1 αυξάνει σε βαθύτερους (πιο διηθητικούς) όγκους του παχέος εντέρου. Επίσης στους όγκους χαμηλού σταδίου η αυξημένη CAV-1 συνδυάζεται με

μικρότερο χρόνο επιβίωσης μετά το χειρουργείο. Αυτό μπορεί να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης για την επιλογή ασθενών χαμηλού σταδίου καρκίνου του παχέος εντέρου οι οποίοι θα ωφεληθούν από μια επικουρική θεραπεία [95]. Επιπρόσθετα η CAV-1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός βιοδείκτης στον καρκίνο του παχέος εντέρου καθώς μικρότερα επίπεδα της CAV-1 συνεπάγονται μικρότερο διάστημα ελεύθερο προόδου νόσου [94]. Το τελευταίο όμως πρέπει να επιβεβαιωθεί και με άλλες μελέτες καθώς έρχεται σε αντίθεση με την έως τώρα γνώση ότι η CAV-1 καθώς αυξάνει σχετίζεται με διηθητικότερους όγκους και άρα λογικά χειρότερη πρόγνωση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η Caveolin-1 είναι μία πρωτεΐνη βασικό συστατικό των Caveolae της κυτταρικής μεμβράνης. Υπερεκφράζεται σε πληθώρα όγκων και μεταξύ αυτών και στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Η επιστημονική έρευνα έχει αποδείξει τη δράση της CAV-1 στην ογκογένεση, στην ανάπτυξη του όγκου, στην μεταστατική του διασπορά και στη χημειοαντοχή του. Ακόμη η CAV-1 αλληλοεπιδρά με διάφορα μόρια και ρυθμίζει μ'αυτόν τον τρόπο τη μεταγωγή του σήματος σε μοριακά μονοπάτια. Στον καρκίνο του παχέος εντέρου η CAV-1 φαίνεται, από τις μέχρι τώρα μελέτες, ότι έχει διττό ρόλο και συγκεκριμένα ως επαγωγέας και ως καταστολέας της καρκινογένεσης. Αυτό εξαρτάται πιθανόν από την αλληλοεπίδρασή της με διάφορα μόρια μέσα στον όγκο και τα σηματοδοτικά μηνύματα που προκύπτουν κάθε φορά. Όμως, είναι ανάγκη για επιπρόσθετες και αναλυτικότερες μελέτες ώστε να αποσαφηνιστεί ο ακριβής ρόλος αυτής της πρωτεΐνης. Τέλος, προοπτικές μελέτες με δεδομένα επιβίωσης, κλινικο-παθολοανατομικά χαρακτηριστικά και θεραπευτικούς χειρισμούς που θα συσχετίζονται με την έκφραση της CAV-1 θα αποδείξουν την αξία αυτής της πρωτεΐνης ως αξιόπιστο προγνωστικό και προβλεπτικό παράγοντα.

Author/Year	Nr of patients		Material	Method	Protein	Expression (%)		Clinicopathological correlation	Survival	
						T	N		PFS/Recurrence	OS
Erde-mli, 2016	CRR C	61 46	Blood	Elisa	CAV-1	11.5 ng/mL (10.4 - 12.9) (p = 0.465) 11.9 ng/mL (10.7 - 14.4)	No significant correlations	mean PFS: 29.7 (CAV-1 level ≤ 10.73 ng/mL) vs. 61.9 months (CAV-1 level > 10.73 ng/mL). (p = 0.017)	NA
Kito-wska, 2015	CC ANT NCM	50 50 24	Frozen tissue & FFPE	R-T PCR IHC	CAV-1	2.03 +/- 4.8 Not statistically significant. 0.99 +/- 1.02 0.49 +/- 0.39	CAV1 increased in tumors with greater depths of invasiveness (T4 vs. T2& T3), (P=0.01) and (P=0.003) respectively.	NA	<u>10-year survival rate:</u> 59% (elevated CAV1) vs. 91% (reduced or unchanged CAV1), (P=0.007) . The level of CAV1 expression is more relevant for patients with more advanced lesions (T3+T4).
Alshe-nawy, 2013	CC	70	FFPE	IHC	CAV-1	Stromal rate of expression: 44% (31/70), Cellular rate of expression: 87% (61/70).	NA	Stromal expression significantly associated with: small-sized tumor (p = .02), no nodal metastasis (p = 0.02) and low-stage (p = 0.02). Cellular expression significantly correlated with: large-sized tumor (p = .04), nodal metastasis (p = .001), high-stage (p = .003) and bad histologic type (p = .04).	NA	NA
Garou-niatis, 2013	CRA ANT	18 3 18 3	FFPE	IHC	CAV-1	96/183 (52.5%)	NA	Right vs. left & rectal colon, (p=0.022) . Positively correlated with FAK. (p=0.037) .	NA	Enhanced presence of VEGFR-1, CAV1 and their co-expression showed improved mean survival, (not statistically significant).
Basu Roy, 2013	CRC	20	FFPE	IHC	CAV-1	<u>Mutant K-RAS:</u> 8/10 <u>WT K-RAS:</u> 2/11 (p<0.05)	NA	NA	NA	NA
Tsao SC, 2007	CRA	10	FFPE	IHC	CAV-1	6/10 (60%)	NA	NA	NA	NA
Mori, 2006	CC NCM	56 22	Frozen tissue	qRT-PCR	<u>Genes:</u> CAVI	<u>Methylation:</u> 34/34 (100%)	<u>Methylation:</u> Less (p < .001)	NA	NA	NA
HA Kim, 2005	CC ANT	95 95	Fresh Frozen tissue	sqRT PCR	CAV-1	0.7921 ± 0.2609. (Mean intensity)	0.6991 ± 0.3969. (p=0.025)	Positive correlated CAV-1 & Akt-1 (p = 0.002)	NA	NA
SY LIN, 2004	CC ANT	18 5 18 5	Fresh Frozen tissue	MSP	CAV-1	3.8% (7/185) <i>Promoter hypermethylation gene</i>	5.9% (11/185) (p>0.05)	Female showed statistically significant different methylation status of CAV1 (p=0.045)	NA	NA
SW Fine, 2001	CRA ANT CA	41 36 13	FFPE	IHC	CAV-1 CAV-2	32/41 (78%) 1/18 (6%) 0% 2/36 (6%) 0%	CAV1 elevated expression correlated significantly with colonic adenocarcinoma but not adenoma.		

Πίνακας 1. Μελέτες και αποτελέσματα αυτών των μελετών σχετικά με το ρόλο της CAV1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Abbreviations

CAV-1: Protein caveolin-1; CAV-2: Caveolin-2; CRC: Colorectal cancer; CRA: Colorectal Adenocarcinoma; C: Contols; CC: Colon Cancer; T: Tumor; CA: Colon Adenoma; N: Normal; NA: Not

Assessed; RT-PCR: Real-time polymerase chain reaction; IHC: immunohistochemistry; NCM: normal colon mucosa; FFPE: formalin-fixed, paraffin-embedded; ANT: adjacent normal tissues; qRT-PCR: quantitative real-time PCR; sqRT-PCR: semi-quantitative RT-PCR; MSP: Methylation-specific PCR;FAK:focal adhesion kinase.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kumar R, Abbas A, DeLancey A, Malone E. Pathologic basis of disease. 8th, Philadelphia: Saunders; 2010:815-26.
2. Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P, Ilyas M, Morreau H, Nakamura SI. Carcinoma of the colon and rectum. Pathology and genetics of tumors of the digestive system. Lyon: IARC Press; 2010:132-81.
3. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Isaacson PG. Epithelial neoplasms of the colon. Gastrointestinal pathology, an atlas and text. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2008:898-1034.
4. Odze R, Goldblum JR. Epithelial neoplasms of large intestine. Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract and pancreas. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009:597-637.
5. Tenesa A, Dunlop MG. New insights into the aetiology of colorectal cancer from genome-wide association studies. Nat Rev Genet 2009;10:353-8.
6. Quirke P, Williams GT, Ectors N, Ensari A, Piard F, Nagtegaal I. The future of the TNM staging system in colorectal cancer: time for a debate? Lancet Oncol 2007;8:651-7.
7. Terziæ J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. Gastroenterology 2010; 138:2101-14.
8. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, et al.: ESMO Guidelines Working Group. Primary colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. Ann Oncol 2010;21:v70–v77.
9. Sanz-Pamplona R, Berenguer A, Cordero D, et al.: Clinical value of prognosis gene expression signatures in colorectal cancer: A systematic review. PLoS ONE 2012;7:e48877.
10. Prior IA, Lewis PD, Mattos C: A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. Cancer Res 2012;72:2457–2467.

11. Jänne PA, Mayer RJ. Chemoprevention of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2000 Jun 29;342(26):1960-8.
12. Razani B, Schlegel A, Lisanti MP. Caveolin proteins in signaling, oncogenic transformation and muscular dystrophy. *J Cell Sci* 2000;113:2103–9.
13. Drab, M. et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in Caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science* 293, 2449–2452 (2001).
14. Lahtinen, U., Honsho, M., Parton, R.G., Simons, K. & Verkade, P. Involvement of caveolin-2 in caveolar biogenesis in MDCK cells. *FEBS Lett.* 538, 85–88 (2003).
15. Rothberg, K.G. et al. Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. *Cell* 68, 673–682 (1992).
16. Alshenawy HA, Ali MA. Differential caveolin-1 expression in colon carcinoma and its relation to E-cadherin- β -catenin complex. *Ann Diagn Pathol* 2013; 17:476-82.
17. Engelman JA, Zhang XL, Galbiati F, et al.: Chromosomal localization, genomic organization, and developmental expression of the murine caveolin gene family (Cav-1, -2, and -3). Cav-1 and Cav-2 genes map to a known tumor suppressor locus (6-A2/7q31). *FEBS Lett* 1998;429:330–336.
18. Monier, S., Dietzen, D.J., Hastings, W.R., Lublin, D.M. & Kurzchalia, T.V. Oligomerization of VIP21–caveolin in vitro is stabilized by long chain fatty acylation or cholesterol. *FEBS Lett.* 388, 143–149 (1996).
19. Williams TM, Lisanti MP. The caveolin proteins. *Genome Biol.* 2004;5:214.
20. KOGO H, FUJIMOTO T (2000). Caveolin-1 isoforms are encoded by distinct mRNAs. Identification of mouse caveolin-1 mRNA variants caused by alternative transcription initiation and splicing. *FEBS Lett* 465: 119-123.
21. DIETZEN DJ, HASTINGS WR, LUBLIN DM (1995). Caveolin is palmitoylated on multiple cysteine residues. Palmitoylation is not necessary for localization of caveolin to caveolae. *J Biol Chem* 270: 6838-6842.
22. SCHLEGEL A, LISANTI MP (2000). A molecular dissection of caveolin-1 membrane attachment and oligomerization. Two separate regions of the caveolin-1 C-terminal domain mediate membrane binding and oligomer/oligomer interactions in vivo. *J Biol Chem* 275: 21605-21617.
23. LEE H, WOODMAN SE, ENGELMAN JA, VOLONTE D, GALBIATI F, KAUFMAN HL, LUBLIN DM, LISANTI MP (2001). Palmitoylation of caveolin-1 at a single site (Cys-156) controls its coupling to the c-Src tyrosine kinase: targeting of

- dually acylated molecules (GPI-linked, transmembrane, or cytoplasmic) to caveolae effectively uncouples c-Src and caveolin-1 (TYR-14). *J Biol Chem* 276: 35150-35158.
24. SCHLEGEL A, LISANTI MP (2001). The caveolin triad: caveolae biogenesis, cholesterol trafficking, and signal transduction. *Cytokine Growth Factor Rev* 12: 41-51.
 25. FRA AM, WILLIAMSON E, SIMONS K, PARTON RG (1995). De novo formation of caveolae in lymphocytes by expression of VIP21- caveolin. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 8655-8659.
 26. LI S, SEITZ R, LISANTI MP (1996b). Phosphorylation of caveolin by src tyrosine kinases. The alpha-isoform of caveolin is selectively phosphorylated by v-Src in vivo. *J Biol Chem* 271: 3863-3868.
 27. LIPARDI C, MORA R, COLOMER V, PALADINO S, NITSCH L, RODRIGUEZ-BOULAN E, ZURZOLO C (1998). Caveolin transfection results in caveolae formation but not apical sorting of glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins in epithelial cells. *J Cell Biol* 140: 617-626.
 28. RAZANI B, ENGELMAN JA, WANG XB, SCHUBERT W, ZHANG XL, MARKS CB, MACALUSO F, RUSSELL RG, Li M, PESTELL RG, DI VIZIO D, HOU H, JR., KNEITZ B, LAGAUD G, CHRIST GJ, EDELMANN W, LISANTI MP (2001). Caveolin-1 null mice are viable but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities. *J Biol Chem* 276: 38121-38138.
 29. CHANG WJ, ROTHBERG KG, KAMEN BA, ANDERSON RG (1992). Lowering the cholesterol content of MA104 cells inhibits receptor- mediated transport of folate. *J Cell Biol* 118, 63-69.
 30. MURATA M, PERANEN J, SCHREINER R, WIELAND F, KIRZCHALIA TV, SIMONS K. (1995). VIP21/caveolin is a cholesterol-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 10339-10343.
 31. LI S, SONG KS, LISANTI MP (1996c). Expression and characterization of recombinant caveolin. Purification by polyhistidine tagging and cholesterol-dependent incorporation into defined lipid membranes. *J Biol Chem* 271:568-573.
 32. MONIER S, DIETZEN DJ, HASTINGS WR, LUBLIN DM, KURZCHALIA TV (1996). Oligomerization of VIP21-caveolin in vitro is stabilized by long chain fatty acylation or cholesterol. *FEBS Lett* 388: 143-149.

33. SCHULTE T, PASCHKE KA, LAESSING U, LOTTSPREICH F, STUERMER CA (1997). Reggie-1 and reggie-2, two cell surface proteins expressed by retinal ganglion cells during axon regeneration. *Development* 124: 577-587.
34. BICKEL PE, SCHERER PE, SCHNITZER JE, OH P, LISANTI MP, LODISH HF (1997). Flotillin and epidermal surface antigen define a new family of caveolae-associated integral membrane proteins. *J Biol Chem* 272: 13793-13802.
35. VOLONTE D, GALBIATI F, LI S, NISHIYAMA K, OKAMOTO T, LISANTI MP (1999). Flotillins/cavatellins are differentially expressed in cells and tissues and form a hetero-oligomeric complex with caveolins in vivo. Characterization and epitope-mapping of a novel flotillin-1 monoclonal antibody probe. *J Biol Chem* 274:12702-12709.
36. OKAMOTO T, SCHLEGEL A, SCHERER PE, LISANTI MP (1998). Caveolins, a family of scaffolding proteins for organizing «preassembled signaling complexes» at the plasma membrane. *J Biol Chem* 273: 5419-5422.
37. MINEO C, JAMES GL, SMART EJ, ANDERSON RG (1996). Localization of epidermal growth factor-stimulated Ras/Raf-1 interaction to caveolae membrane. *J Biol Chem* 271: 11930-11935.
38. SONG SK, LI S, OKAMOTO T, QUILLIAM LA, SARGIACOMO M, LISANTI MP (1996). Co-purification and direct interaction of Ras with caveolin, an integral membrane protein of caveolae microdomains. Detergent-free purification of caveolae microdomains. *J Biol Chem* 271: 9690-9697.
39. LI S, COUET J, LISANTI MP (1996a). Src tyrosine kinases, Galpha subunits, and H-Ras share a common membrane-anchored scaffolding protein, caveolin. Caveolin binding negatively regulates the auto-activation of Src tyrosine kinases. *J Biol Chem* 271: 29182-29190.
40. COUET J, LI S, OKAMOTO T, IKEZU T, LISANTI MP (1997a). Identification of peptide and protein ligands for the caveolin-1 scaffolding domain. Implications for the interaction of caveolin with caveolae-associated proteins. *J Biol Chem* 272: 6525-6533.
41. ANDERSON RG (1998). The caveolae membrane system. *Annu Rev Biochem* 67:199-225.
42. FELLE-Y-BOSCO E, BENDER FC, COURJAULT-GAUTIER F, BRON C, QUEST AFG (2000). Caveolin-1 down-regulates inducible nitric oxide synthase via the proteasome pathway in human colon carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 14334-14339.

43. SOTGIA F, LEE JK, DAS K, BEDFORD M, PETRUCCI TC, MACIOCE P, SARGIACOMO M, BRICARELLI FD, MINETTI C, SUDOL M, LISANTI MP (2000). Caveolin-3 directly interacts with the C-terminal tail of beta -dystroglycan. Identification of a central WW-like domain within caveolin family members. *J Biol Chem* 275: 38048-38058.
44. LEE H, VOLONTE D, GALBIATI F, IYENGAR P, LUBLIN DM, BREGMAN DB, WILSON MT, CAMPOS-GONZALEZ R, BOUZAHZAH B, PESTELL RG, SCHERER PE, LISANTI MP (2000). Constitutive and growth factor-regulated phosphorylation of caveolin-1 occurs at the same site (Tyr-14) in vivo: identification of a c-Src/Cav-1/Grb7 signaling cassette. *Mol Endocrinol* 14: 1750-1775.
45. CAO H, COURCHESNE WE, MASTICK CC (2002). A phosphotyrosine-dependent protein interaction screen reveals a role for phosphorylation of caveolin-1 on tyrosine 14: recruitment of C-terminal Src kinase. *J Biol Chem* 277,8771-8774.
46. GOLDSTEIN JL, BROWN MS, ANDERSON RG, RUSSELL DW, SCHNEIDER WJ (1985). Receptor-mediated endocytosis: concepts emerging from the LDL receptor system. *Annu Rev Cell Biol* 1: 1-39.
47. ANDERSON RG, KAMEN BA, ROTHBERG KG, LACEY SW (1992). Potocytosis: sequestration and transport of small molecules by caveolae. *Science* 255: 410-411.
48. PARTON RG, SIMONS K (1995). Digging into caveolae. *Science* 269: 1398-1399.
49. KURZCHALIA TV, PARTON RG (1996). And still they are moving.... dynamic properties of caveolae. *FEBS Lett* 389:52-54.
50. ROY S, LUETTERFORST R, HARDING A, APOLLONIA, ETHERDGE M, STANG E, ROLLS B, HANCOCK JF, PARTON RG (1999). Dominant-negative caveolin inhibits H-Ras function by disrupting cholesterol-rich plasma membrane domains. *Nature Cell Biol* 1: 98-105.
51. GLENNEY JR, SOPPET D (1992). Sequence and expression of caveolin, a protein component of caveolae plasma membrane domains phosphorylated on tyrosine in Rous sarcoma virus-transformed fibroblasts. *Proc Natl Acad. Sci USA* 89: 10517-10521.
52. KOLESKE AJ, BALTIMORE D, LISANTI MP (1995). Reduction of caveolin and caveolae in oncogenically transformed cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 1381-1385.
53. ENGELMAN JA, WYKOFF CC, YASUHARA S, SONG KS, OKAMOTO T, LISANTI MP (1997). Recombinant expression of caveolin-1 in oncogenically transformed cells abrogates anchorage-independent growth. *J Biol Chem* 272: 16374-16381.

54. RACINE C, BELANGER M, HIRABAYASHI H, BOUCHER M, CHAKIR J, COUET J (1999). Reduction of caveolin 1 gene expression in lung carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 255: 580-586.
55. GALBIATI F, VOLONTE D, ENGELMAN JA, WATANABE G, BURK R, PESTELL RG, LISANTI MP (1998). Targeted downregulation of caveolin-1 is sufficient to drive cell transformation and hyperactivate the p42/44 MAP kinase cascade. *EMBO J* 17: 6633-6648.
56. LEE SW, REIMER CL, OH P, CAMPBELL DB, SCHNITZER JE (1998). Tumor cell growth inhibition by caveolin re-expression in human breast cancer cells. *Oncogene* 16: 1391-1397.
57. BENDER FC, REYMOND MA, BRON C, QUEST AFG (2000). Caveolin-1 levels are down-regulated in human colon tumors, and ectopic expression of caveolin-1 in colon carcinoma cell lines reduces cell tumorigenicity. *Cancer Res* 60: 5870-5878.
58. WIECHEN K, DIATCHENKO L, AGOULNIK A, SCHARFF KM, SCHOBER H, ARLT K, ZHUMABAYEVA B, SIEBERT PD, DIETEL M, SCHAFFER R, SERS C (2001a). Caveolin-1 is down-regulated in human ovarian carcinoma and acts as a candidate tumor suppressor gene. *Am J Pathol* 159: 1635-1643.
59. WIECHEN K, SERS C, AGOULNIK A, ARLT K, DIETEL M, SCHLAG PM, SCHNEIDER U (2001b). Down-regulation of caveolin-1, a candidate tumor suppressor gene, in sarcomas. *Am J Pathol* 158: 833-839.
60. Deb M et al. Epigenetic drift towards histone modifications regulates CAV1 gene expression in colon cancer. *Gene*. 2016 Apr 25;581(1):75-84.
61. Dasgupta N et al. Caveolin-1 is transcribed from a hypermethylated promoter to mediate colonocyte differentiation and apoptosis. *Exp Cell Res*. 2015 Jun 10;334(2):323-36.
62. Díaz J et al. Rab5 is required in metastatic cancer cells for Caveolin-1-enhanced Rac1 activation, migration and invasion. *J Cell Sci*. 2014 Jun 1;127(Pt 11):2401-6.
63. Friedrich T et al. Deficiency of caveolin-1 in *Apc*(min/+) mice promotes colorectal tumorigenesis. *Carcinogenesis*. 2013 Sep;34(9):2109-18.
64. Volonte D et al. Inhibition of nuclear factor-erythroid 2-related factor (Nrf2) by caveolin-1 promotes stress-induced premature senescence. *Mol Biol Cell*. 2013 Jun;24(12):1852-62.

65. Mohammed A et al. Multitargeted low-dose GLAD combination chemoprevention: a novel and promising approach to combat colon carcinogenesis. *Neoplasia*. 2013 May;15(5):481-90.
66. Basu Roy UK et al. Caveolin-1 is a novel regulator of K-RAS-dependent migration in colon carcinogenesis.. *Int J Cancer*. 2013 Jul;133(1):43-57.
67. Sherif ZA et al. Divergent control of Cav-1 expression in non-cancerous Li-Fraumeni syndrome and human cancer cell lines. *Cancer Biol Ther*. 2013 Jan;14(1):29-38.
68. Ha TK et al. CAV1/caveolin 1 enhances aerobic glycolysis in colon cancer cells via activation of SLC2A3/GLUT3 transcription. *Autophagy*. 2012 Nov;8(11):1684-5.
69. Fridolfsson HN et al. Mitochondria-localized caveolin in adaptation to cellular stress and injury. *FASEB J*. 2012 Nov;26(11):4637-49.
70. Zou H et al. Interaction of caveolin-1 with Ku70 inhibits Bax-mediated apoptosis. *PLoS One*. 2012;7(6):e39379.
71. Nimri L et al. Restoration of caveolin-1 expression suppresses growth, membrane-type-4 metalloproteinase expression and metastasis-associated activities in colon cancer cells. *Mol Carcinog*. 2013 Nov;52(11):859-70.
72. Kawaraguchi Y et al. Volatile anesthetics protect cancer cells against tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis via caveolins. *Anesthesiology*. 2011 Sep;115(3):499-508.
73. Chen SF et al. Caveolin-1 facilitates cyclooxygenase-2 protein degradation. *J Cell Biochem*. 2010 Feb 1;109(2):356-62.
74. Guruswamy S et al. Synergistic effects of lovastatin and celecoxib on caveolin-1 and its down-stream signaling molecules: Implications for colon cancer prevention. *Int J Oncol*. 2009 Nov;35(5):1037-43.
75. Rodriguez DA et al. Caveolin-1-mediated suppression of cyclooxygenase-2 via a beta-catenin-Tcf/Lef-dependent transcriptional mechanism reduced prostaglandin E2 production and survivin expression. *Mol Biol Cell*. 2009 Apr;20(8):2297-310.
76. Joshi B et al. Phosphorylated caveolin-1 regulates Rho/ROCK-dependent focal adhesion dynamics and tumor cell migration and invasion. *Cancer Res*. 2008 Oct 15;68(20):8210-20.
77. Selga E et al. Role of caveolin 1, E-cadherin, Enolase 2 and PKCalpha on resistance to methotrexate in human HT29 colon cancer cells. *BMC Med Genomics*. 2008 Aug 11;1:35.

78. Palozza P et al. The sensitivity to beta-carotene growth-inhibitory and proapoptotic effects is regulated by caveolin-1 expression in human colon and prostate cancer cells. *Carcinogenesis*. 2008 Nov;29(11):2153-61.
79. Tencer L et al. Rosiglitazone induces caveolin-1 by PPARgamma-dependent and PPRE-independent mechanisms: the role of EGF receptor signaling and its effect on cancer cell drug resistance. *Anticancer Res*. 2008 Mar-Apr;28(2A):895-906.
80. Roy UK et al. Activated K-RAS increases polyamine uptake in human colon cancer cells through modulation of caveolar endocytosis. *Mol Carcinog*. 2008 Jul;47(7):538-53.
81. Henkhaus RS et al. Caveolin-1-mediated expression and secretion of kallikrein 6 in colon cancer cells. *Neoplasia*. 2008 Feb;10(2):140-8.
82. Park SE et al. Interactions of acetylcholinesterase with caveolin-1 and subsequently with cytochrome c are required for apoptosome formation. *Carcinogenesis*. 2008 Apr;29(4):729-37.
83. Roy UK et al. Wild-type APC regulates caveolin-1 expression in human colon adenocarcinoma cell lines via FOXO1a and C-myc.. *Mol Carcinog*. 2008 Dec;47(12):947-55.
84. Torres VA et al. E-cadherin is required for caveolin-1-mediated down-regulation of the inhibitor of apoptosis protein survivin via reduced beta-catenin-Tcf/Lef-dependent transcription.. *Mol Cell Biol*. 2007 Nov;27(21):7703-17.
85. Chintharlapalli S et al. 2-cyano-lup-1-en-3-oxo-20-oic acid, a cyano derivative of betulinic acid, activates peroxisome proliferator-activated receptor gamma in colon and pancreatic cancer cells. *Carcinogenesis*. 2007 Nov;28(11):2337-46.
86. Cavallo-Medved D et al. Caveolin-1 mediates the expression and localization of cathepsin B, pro-urokinase plasminogen activator and their cell-surface receptors in human colorectal carcinoma cells.. *J Cell Sci*. 2005 Apr 1;118(Pt 7):1493-503.
87. Patlolla JM et al. Overexpression of caveolin-1 in experimental colon adenocarcinomas and human colon cancer cell lines. *Oncol Rep*. 2004 May;11(5):957-63.
88. Burgermeister E et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma upregulates caveolin-1 and caveolin-2 expression in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2003 Jun 19;22(25):3888-900.
89. Felley-Bosco E et al. Caveolin-1 down-regulates inducible nitric oxide synthase via the proteasome pathway in human colon carcinoma cells.. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Dec 19;97(26):14334-9.

90. Bender FC et al. Caveolin-1 levels are down-regulated in human colon tumors, and ectopic expression of caveolin-1 in colon carcinoma cell lines reduces cell tumorigenicity. *Cancer Res.* 2000 Oct 15;60(20):5870-8.
91. Lavie Y et al. Up-regulation of caveolae and caveolar constituents in multidrug-resistant cancer cells. *J Biol Chem.* 1998 Dec 4;273(49):32380-3.
92. Engelman JA et al. Genes encoding human caveolin-1 and -2 are co-localized to the D7S522 locus (7q31.1), a known fragile site (FRA7G) that is frequently deleted in human cancers. *FEBS Lett.* 1998 Oct 9;436(3):403-10.
93. Rebecca Feldman et al. Growth suppression by ursodeoxycholic acid involves caveolin-1 enhanced degradation of EGFR. *Biochim Biophys Acta.* 2009 August ; 1793(8): 1387–1394.
94. Erdemli HK et al. Is Serum Caveolin-1 a Useful Biomarker for Progression in Patients with Colorectal Cancer?. *Clin Lab.* 2016;62(3):401-8.
95. Kitowska A et al. J Differentiation of high-risk stage I and II colon tumors based on evaluation of CAV1 gene expression. *Surg Oncol.* 2015 Sep;112(4):408-14.
96. Alshenawy HA et al. Differential caveolin-1 expression in colon carcinoma and its relation to E-cadherin- β -catenin complex. *Ann Diagn Pathol.* 2013 Dec;17(6):476-82.
97. Garouniatis A et al. Vascular endothelial growth factor receptors 1, 3 and caveolin-1 are implicated in colorectal cancer aggressiveness and prognosis--correlations with epidermal growth factor receptor, CD44v6, focal adhesion kinase, and c-Met. *Tumour Biol.* 2013 Aug; 34(4):2109-17.
98. Basu Roy et al. Caveolin-1 is a novel regulator of K-RAS-dependent migration in colon carcinogenesis. *Int J Cancer* 2013 Jul;133(1):43-57.
99. Tsao SC et al. Use of caveolin-1, thyroid transcription factor-1, and cytokeratins 7 and 20 in discriminating between primary and secondary pulmonary adenocarcinoma from breast or colonic origin. *Kaohsiung J Med Sci.* 2007. Jul;23(7):325-31.
100. Kim HA et al. Expression of caveolin-1 is correlated with Akt-1 in colorectal cancer tissues. *Exp Mol Pathol.* 2006. Apr;80(2):165-70.
101. Lin SY et al. Promoter CpG methylation of caveolin-1 in sporadic colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2004. May-Jun;24(3a):1645-50.
102. Fine SW et al. Elevated expression of caveolin-1 in adenocarcinoma of the colon. *Am J Clin Pathol.* 2001. May;115(5):719-24.
103. Yamada E. The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. *J Biophys Biochem Cytol.* 1955;1:445–458.

104. Scherer PE et al. Cell-type and tissue-specific expression of caveolin-2. Caveolins 1 and 2 co-localize and form a stable hetero-oligomeric complex in vivo. *J Biol Chem.* 1997 Nov 14;272(46):29337-46.
105. Wang XB et al. Tyrosine phosphorylation of caveolin-2 at residue 27: differences in the spatial and temporal behavior of phospho-Cav-2 (pY19 and pY27). *Biochemistry.* 2004 Nov 2;43(43):13694-706.
106. Sowa G et al. Serine 23 and 36 phosphorylation of caveolin-2 is differentially regulated by targeting to lipid raft/caveolae and in mitotic endothelial cells. *Biochemistry.* 2008 Jan 8;47(1):101-11. Epub 2007 Dec 15.

