

Mezotelina nowym biomarkerem raka jajnika?

Mesothelin: a novel biomarker of ovarian cancer?

© GinPolMedProject 2 (28) 2013

Artykuł poglądowy/Review article

BARTŁOMIEJ BARCZYŃSKI, KAROLINA FRĄSZCZAK, GRZEGORZ POLAK, JAN KOTARSKI
I Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Kierownik Katedry i Kliniki: prof. zw. dr hab. n. med. Jan Kotarski

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Bartłomiej Barczyński,
I Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Staszica 16, 20-081 Lublin
tel: +48 815327847; fax: +48 815320608
e-mail: bbarczyński@poczta.onet.pl

Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count	1888/2331
Tabele/Tables	0
Ryciny/Figures	0
Piśmiennictwo/References	20

Received: 08.03.2013

Accepted: 10.04.2013

Published: 15.06.2013

Streszczenie

Wiele uwagi poświęca się poszukiwaniu metod wczesnego wykrywania nowotworów jajnika. Największe znaczenie we wczesnej diagnostyce mają badania obrazowe i biomarkery surowicy krwi, spośród których najdokładniej przebadany został antygen CA125. Niestety brak odpowiednio wysokiej czułości i swoistości znacznie ogranicza jego użycie jako samodzielnego badania przesiewowego.

Mezotelina jest biomarkerem, który cechuje wysoka swoistość w stosunku do tkanki raka jajnika, co stwarza nadzieję na zastosowanie go w modelach uzupełniających lub zastępujących obecnie stosowane metody diagnostyczne oparte na ocenie stężenia CA125. Wyniki opublikowanych badań potwierdzają wysoką czułość i swoistość mezoteliny, szczególnie w modelach złożonych obejmujących kilka biomarkerów łącznie. Przewagą mezoteliny w porównaniu z innymi biomarkerami raka jajnika może być fakt zidentyfikowania jej frakcji rozpuszczalnej nie tylko w surowicy krwi, ale również w moczu chorych pacjentek.

Mezotelina wywołuje u gospodarza odpowiedź immunologiczną, co skutkuje pojawieniem się we krwi autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie, których obecność stwierdzono u pacjentów w przebiegu niektórych nowotworów złośliwych, w tym raka jajnika. Obecność autoprzeciwciał wywiera wpływ na przebieg kliniczny choroby nowotworowej, a ich stężenie może dostarczać informacji na temat przebiegu leczenia.

Ocena stężenia nowych biomarkerów w surowicy krwi i moczu pacjentek z podejrzeniem choroby nowotworowej jajnika może stanowić istotne klinicznie dopełnienie standardowych metod diagnostycznych opartych o badanie ultrasonograficzne i obecnie stosowane testy (CA125, OVA1, ROMA).

Słowa kluczowe: rak jajnika, biomarkery, mezotelina, CA125, HE4

Summary

There is a strong need to improve early diagnosis of ovarian cancer. Nowadays the most important tools used in early ovarian cancer detection are imaging techniques and serum biomarkers, with CA125 being the most commonly used and thoroughly studied. Unfortunately, the application of CA125 as a single screening tool in ovarian cancer is limited due to lack of sensitivity and specificity.

Mesothelin is one of the biomarkers with high specificity to ovarian cancer, which may complement or replace CA125 as a marker for ovarian tumor diagnosis. The results of the studies prove its high sensitivity and specificity, especially in complex multi-marker models. The soluble isoforms of mesothelin can be identified not only in serum but also in urine of cancer patients, and assays measuring tumor markers in urine have the strong advantage of being non-invasive.

Mesothelin elicits humoral immune response in host and auto-antibodies specific for the antigen are detected in sera of patients with some mesothelin-positive tumors including ovarian cancer. The antibodies to mesothelin can have an impact on development and progression of ovarian cancer and the concentration of such antibodies aids the diagnosis and monitoring of patients during complex oncologic treatment.

Assays measuring novel biomarkers in serum and urine of are likely to be clinically useful for women with ovarian cancer, as data indicate that they reliably complement standard diagnostic tools based on ultrasonography and serum tests and algorithms (CA125, OVA1, ROMA).

Key words: ovarian cancer, biomarkers, mesothelin, CA125, HE4

WSTĘP

Rak jajnika jest chorobą o największej, spośród wszystkich nowotworów ginekologicznych, śmiertelności. Wskaźniki 5. letniego przeżycia różnią się znacząco w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego choroby w momencie postawienia diagnozy, wynosząc ponad 90% dla choroby w I stopniu zaawansowania (wg FIGO), do mniej niż 30% dla choroby w stadium zaawansowanym (stopnie III i IV). Choroba rozwija się bez charakterystycznych objawów klinicznych, stąd rozpoznawana jest najczęściej w stadium zaawansowanym.

W ciągu ostatnich lat wiele uwagi poświęca się poszukiwaniu metod wczesnego wykrywania choroby nowotworowej jajnika w stadium przedklinicznym. Obecnie największe znaczenie we wczesnej diagnostyce mają badania obrazowe i biomarkery surowicy krwi. Wiele z markerów wykazuje skuteczność w przypadku pacjentów z objawami klinicznymi zaawansowanej choroby nowotworowej jajnika, ale żaden nie jest skuteczny w rozpoznaniu choroby bezobjawowej, we wczesnym stadium klinicznym, ani w populacyjnych badaniach przesiewowych. W związku z tym, nadal jedynie 25% przypadków raka jajnika rozpoznawanych jest w I stopniu klinicznym. Spośród biomarkerów surowicy krwi, najdokładniej przebadany został antygen CA125. Brak odpowiednio wysokiej czułości i swoistości znacznie ogranicza jego użycie jako samodzielnego badania przesiewowego. W badaniach klinicznych wykazano, że podwyższone stężenie CA125 (>35 U/mL) stwierdza się jedynie u około 50-60% pacjentek w I stopniu zaawansowania choroby nowotworowej jajnika [1], a w niektórych typach histologicznych raka jajnika (typ śluzowy) stężenie CA125 może być tylko nieznacznie podwyższone [2]. Z drugiej strony, podwyższone stężenie CA125 w surowicy krwi stwierdza się w przebiegu łagodnych schorzeń ginekologicznych (np. endometrioza, łagodne guzy jajnika) i w przebiegu chorób nie wywodzących się z żeńskiego narządu płciowego (np. marskość wątroby) [3]. Ta niska czułość i swoistość markera jest powodem wielu rozpoznań fałszywie ujemnych i fałszywie dodatnich.

Większą czułość i swoistość badania przesiewowego w kierunku raka jajnika można osiągnąć łącząc ocenę stężenia CA125 z ultrasonograficznym badaniem przezpochwowym lub stosując kilka różnych markerów

INTRODUCTION

Ovarian cancer is a disease of the greatest mortality rate among all gynecologic cancers. Indicators for a 5-year-survival differ significantly depending on the level of clinical severity of the disease at the moment of diagnosis. It amounts to more than 90% for the disease in the I level of severity (according to FIGO), to less than 30% for the disease in the advanced stadium (levels III and IV). The disease develops itself without any characteristic clinical symptoms, therefore it is most frequently recognized in the advanced stage.

In recent years, many attention was dedicated to finding methods of early detection of the ovarian cancer in the pre-clinical stage. At present, the greatest importance in early diagnostic is put on imaging examinations and biomarkers of blood serum. Many markers show the efficacy in case of patients with clinical symptoms of severe ovarian cancer, but neither is effective in the diagnosis of asymptomatic disease, neither in early clinical stages nor in population screening tests. Therefore, still only 25% of cases of ovarian cancer are diagnosed in the I clinical stage. Among biomarkers of blood serum, the antigen CA125 was examined very carefully. Lack of appropriate high sensitivity and specificity significantly limits its use as an independent screening test. In clinical researches, it was shown that elevated concentration CA125 (>35 U/mL) is reported only in about 50-60% patients in the I level of ovarian cancer severity [1], and in some histologic types of the ovarian cancer (mucosal type), the concentration CA125 may just be only slightly elevated [2]. On the other hand, the elevated concentration CA125 in blood serum is reported in the course of mild gynecologic conditions (e.g. endometriosis, mild ovarian tumours) and in the course of the diseases not deriving from the female sexual organ (e.g. hepatocirrhosis) [3]. This low marker sensitivity and specificity is the cause of many false negative and false positive diagnosis.

Greater sensitivity and specificity of the screening test towards ovarian cancer may be obtained by linking the evaluation of concentration CA125 with transvaginal ultrasound examination or applying several different markers altogether. Lately, FDA confirmed two new tests applied in the diagnosis of ovarian cancer in patients with tumours of pelvis minor: OVA1 and ROMA [4]. Test OVA1 is characterized by sensitivity

łącznie. Ostatnio FDA zatwierdziła dwa nowe testy stosowane w diagnostyce raka jajnika u pacjentek z guzami miednicy mniejszej: OVA1 i ROMA [4]. Test OVA1 cechuje czułość 96% i polega na oznaczeniu 5 biomarkerów w surowicy krwi: prealbuminy, apolipoproteiny A1, β 2-mikroglobuliny, transferyny i antygeny CA125 [4], natomiast test ROMA opiera się na oznaczeniu antygenów CA125 i HE4 w surowicy krwi w połączeniu z oceną statusu menopauzalnego kobiet (czułość testu w odniesieniu do kobiet po menopauzie wynosi 92%, a dla kobiet przed menopauzą 76%) [5]. Oba testy posiadają dużą wartość predykcyjną w przedoperacyjnej diagnostyce różnicowej u pacjentek z guzami miednicy mniejszej, jednak ze względu na stosunkowo wysokie koszty (szczególnie test OVA1) nie mogą i nie powinny być stosowane u kobiet bezobjawowych, jako badania przesiewowe. Dlatego też prowadzi się obecnie wiele badań nad nowymi potencjalnymi biomarkerami, które cechowałaby odpowiednio wysoka czułość, swoistość, stabilne i stałe stężenie w surowicy krwi, które mogłyby stanowić uzupełnienie najczęściej stosowanej obecnie metody polegającej na ocenie antygeny CA125 w surowicy krwi lub ewentualne jej zastąpienie. W ostatnich latach opisano blisko 50 nowych substancji kandydujących do miana biomarkerów raka jajnika, które poddawano ocenie klinicznej i porównywano z antygenem CA125 [6]. Do najczęściej badanych markerów należą kalikreiny 6 i 10, osteopontyna, haptoglobina, białko HE4, klaudyna 3, VEGF, MUC1, CA19-9 i mezotelina [1]. Największe nadzieje wiąże się z zastosowaniem HE4 i mezoteliny. Rosen i wsp. oceniali ekspresję większości powyższych markerów u chorych na raka jajnika, wykazujących brak lub niską ekspresję CA125 w tkance guza i niskie stężenie CA125 w surowicy krwi. Stwierdzono, że jedynie mezotelinę i HE4 cechuje wysoka swoistość w stosunku do tkanki raka jajnika, co stwarza nadzieję na zastosowanie ich w modelach uzupełniających lub zastępujących obecnie stosowane metody diagnostyczne oparte na ocenie stężenia CA125. Co ważne, oba markery ulegają silnej ekspresji w typie surowiczym raka jajnika, który cechuje się największą śmiertelnością spośród nowotworów gonady i najrzadziej jest rozpoznawany we wczesnych stadiach klinicznych [1].

BUDOWA I BIOLOGICZNA FUNKCJA MEZOTELINY

Mezotelina jest glikoproteiną błonową występującą u człowieka na komórkach mezotelialnych wyściełających otrzewną, osierdzie i opłucną. Jej nadmierną ekspresję zaobserwowano w przebiegu niektórych nowotworów, takich jak rak trzustki, płuc, międzybłoniak otrzewnej i opłucnej oraz w przebiegu raka jajnika (70% przypadków) [7]. Mezotelina powstaje z białka prekursorowego o m. cz. 71 kDa, które ulega podziałowi na rozpuszczalny fragment 31 kDa białko MPF – czynnik pobudzający dojrzewanie megakariocytów (megakary-

96% and consists in determining 5 biomarkers in blood serum: prealbumines, apolipoproteines A1, β 2-microglobulines, transferrines and antigen CA125 [4], whereas the ROMA test relies on the determination of antigens CA125 and HE4 in blood serum in connection with the evaluation of the menopausal state of women (the sensitivity of the test with reference to women after menopause amounts to 92%, and for women before menopause 76%) [5]. Both tests have a big predictive value in the pre-operative differential diagnosis in patients with tumour of the pelvis minor, however due to relatively high costs (especially the OVA1 test) they can't and should not be applied in women not having symptoms, as screening tests. Thus, nowadays, there are many researches carried out over new potential biomarkers, that would be characterized by a relatively high sensitivity, specificity, stable and constant concentration in blood serum, and that would constitute presently a complement to the most frequently used method consisting in the evaluation of antigen CA125 in blood serum or its possible substitution. In recent years, approximately 50 new substances running for the name of ovarian cancer biomarkers have been described. They were all clinically evaluated and compared to antigen CA125 [6]. The most frequently examined markers are kalikreins 6 and 10, osteopontin, haptoglobin, protein HE4, klaudin 3, VEGF, MUC1, CA19-9 and mesotheline [1]. The greatest hopes are linked with the application of HE4 and mesotheline. Rosen et al. evaluated the expression of most above-mentioned markers in patients suffering from ovarian cancer, showing a lack or low expression of CA125 in the tumour tissue and a low concentration CA125 in blood serum. It was stated that only mesotheline and HE4 are characterized by a high specificity in relation to ovarian cancer tissue, what creates hope for their application in complementing models or models substituting the presently applied diagnostic methods based on the evaluation of concentration CA125. What's important, both markers undergo strong expression in the serum type of ovarian cancer, which brings the greatest mortality rate among gonad tumours and is the least frequently diagnosed in early clinical stages [1].

THE STRUCTURE AND BIOLOGICAL FUNCTION OF MESOTHELIN

Mesotheline is a glycoprotein membrane occurring in a man on the mesothelial cells lining the peritoneum, pericardial sac and pleura. Its excessive expression was observed in the course of some cancers, such as pancreatic cancer, lung cancer, mesothelioma of pericardium and pleura as well as in the course of the ovarian cancer (70% of cases) [7]. Mesotheline is created from the precursor protein of molecule mass 71 kDa, which undergoes division onto the dissolvable fragment 31 kDa protein MPF – a megakaryocyte-potentiating factor and 40 kDa protein anchored in the cell membrane

ocyte-potentiating factor) oraz 40 kDa białko zakotwiczone w błonie komórkowej – mezotelinę [8]. Białko prekursorowe jest kodowane przez gen mezoteliny, który po raz pierwszy został sklonowany przez Chang i Pastan [9]. Pierwotny transkrypt mezoteliny podlega procesowi składania eksonów wynikiem czego jest powstawanie trzech wariantów transkrypcyjnych mezoteliny [10]. Największe znaczenie kliniczne ma wariant pierwszy, którego ekspresję stwierdzono na komórkach mezotelialnych i większości komórek nowotworowych, natomiast warianty drugi i trzeci są identyfikowane rzadko i nie mają większego znaczenia klinicznego [11]. Wariant pierwszy mezoteliny może posiadać frakcję rozpuszczalną (SMRP – *soluble mesothelin related proteins*), powstającą prawdopodobnie na skutek nieprawidłowego procesu splicingu pierwotnego genu mezoteliny. Mezotelina została zidentyfikowana w surowicy krwi, moczu oraz płynie otrzewnowym [10].

Biologiczna funkcja mezoteliny nie została w pełni poznana. Przedkliniczne badania wykazały, że połączenie białka CA125/MUC16 z zakotwiczoną w błonie komórkowej mezoteliną może upośledzać procesy adhezji komórkowej. Postawiono hipotezę, że interakcja CA125 i mezoteliny obecnej na prawidłowych komórkach nabłonka jamy otrzewnowej może być przyczyną wewnątrzotrzewnowego rozsiewu raka jajnika i tworzenia się wodobrzusza [12]. Mezotelina jest również związkiem silnie immunogennym. Wywołuje u gospodarza zarówno odpowiedź typu humoralnego, jak i komórkowego. Ho i wsp. wykazali wysokie stężenie przeciwciał przeciwko mezotelinie w surowicy u pacjentek z chorobą nowotworową jajnika oraz z międzybłoniami otrzewnej, wynoszące odpowiednio 41% i 39%, przy czym stężenie przeciwciał koreluje z nasileniem ekspresji błonowej białka [13].

BADANIA KLINICZNE NAD ZASTOSOWANIEM MEZOTELINY JAKO BOMARKERA W RAKU JAJNIKA

Spośród wielu nowych biomarkerów raka jajnika, których potencjał diagnostyczny jest obecnie przedmiotem badań, najwięcej uwagi przywiązuje się ostatnio do HE4 i mezoteliny, jedynych markerów wykazujących wysoką swoistość. Podjęto badania z wykorzystaniem szczególnie frakcji rozpuszczalnej mezoteliny SMRP, jako nowego markera mającego zastosowanie we wczesnym wykrywaniu raka jajnika, monitorowania wyników leczenia i rozpoznawania wznowy.

McIntosh i wsp. oceniali tzw. „marker złożony” (composite marker) składający się z CA125 i SMRP badając surowicę 52 pacjentek z rakiem jajnika, 43 pacjentek z łagodnymi guzami jajnika oraz 220 kobiet zdrowych, bez czynników ryzyka [14]. Ocenie poddano czułość i swoistość oraz stabilność czasową każdego z markerów osobno oraz markera złożonego. Marker złożony wykazał największą czułość (86,5%) w porównaniu do CA125 (79%) oraz SMRP (57%),

– mesotheline [8]. The precursor protein is coded by the mesotheline gene, cloned for the first time by Chang and Pastan [9]. The initial mesotheline transcript is subject to the process of depositing exons resulting in the creation of 3 transcriptional variances of mesotheline [10]. Of greatest clinical significance is the first variation whose expression was stated on mesothelial cells and most cancerous cells, whereas the second and third are rarely identified and do not have a greater clinical significance [11]. The first variation of mesotheline may have a dissolvable fraction (SMRP – *soluble mesothelin related proteins*), created most probably as a result of incorrect process of splicing of the initial mesotheline gene. Mesotheline was identified in blood serum, urine and in the peritoneal liquor [10].

The biological function of mesotheline has not been fully recognised. Preclinical examinations showed that the protein connections CA125/MUC16 with anchored mesotheline in the cell membrane may impair the processes of cell adhesion. A hypothesis was made according to which the interaction of CA125 and mesotheline present on the correct cells of the epithelium of the peritoneal cavity may be the cause of intraperitoneal insemination of ovarian cancer and the creation of abdominal dropsy [12]. Mesotheline is also an extremely immunogenic compound. It causes both a humoral-type response and a cell-type response in the host. Ho et al. proved a high concentration of antibodies against mesotheline in the serum of patients with ovarian cancer and with mesothelioma of pericardium, amounting respectively to 41% and 39%, and the concentration of antibodies correlates with the severity of protein membrane expression [13].

CLINICAL RESEARCHES ON THE APPLICATION OF MESOTHELIN AS A BIOMARKER IN THE OVARIAN CANCER

Among many new biomarkers of ovarian cancer, whose diagnostic potential is at present an object of researches, most attention has been brought lately to HE4 and mesotheline, the only markers showing high specificity. Researches have been undertaken with the special use of mesotheline dissolvable fraction SMRP, as a new marker applied in the early detection of ovarian cancer, monitoring the results of the treatment and diagnosis of recurrence.

McIntosh et al. evaluated the so-called ‘composite marker’ composed of CA125 and SMRP examining the serum of 52 patients with ovarian cancer, 43 patients with mild ovarian tumours and 220 healthy women, without risk factors [14]. At present, we evaluated the sensitivity and specificity as well as the temporary stability of each marker separately and the composite marker. The composite marker showed the greatest sensitivity (86,5%) in comparison to CA125 (79%) and SMRP (57%), by a high specificity comparable to CA125 (98%) [14]. What’s important, the temporary

przy wysokiej swoistości porównywalnej z CA125 (98%) [14]. Co ważne, stabilność czasowa markera złożonego, określająca zdolność do zachowania wysokiej czułości w trakcie programu skriningowego, była również wysoka jak dla CA125. Wyniki tych badań wykazały przewagę markera złożonego nad CA125 i SMRP, jako markerów pojedynczych w diagnozowaniu wczesnych postaci raka jajnika oraz badaniach przesiewowych [14]. Podobnie, większą skuteczność panelu markerów obejmujących między innymi mezotelinę, MPF i CA125 nad samym CA125 w rozpoznaniu wczesnych postaci raka jajnika, udowodnili w niedawno opublikowanych badaniach O'Shannessy i wsp. [15]. Shah i wsp. przeprowadzili podobne badania nad oceną zależności występowania czynników ryzyka raka jajnika oraz stężeniem mezoteliny, HE4 i CA125 [16]. Wyniki potwierdziły czułość mezoteliny w rozpoznaniu przypadków raka jajnika u pacjentek ze standardowym ryzykiem raka jajnika na poziomie 54%, przy czułości HE4 na poziomie 80% i CA125 79% [16]. Z kolei Aktas i wsp. oceniając wartość prognostyczną biomarkerów u pacjentek z rakiem jajnika przed zabiegiem operacyjnym i po chemioterapii udowodnili, że stężenie mezoteliny w surowicy krwi koreluje z innymi klinicznymi czynnikami prognostycznymi i jest użyteczne w monitorowaniu leczenia onkologicznego [17].

Przewagą mezoteliny w porównaniu z innymi biomarkerami raka jajnika może być fakt zidentyfikowania jej frakcji rozpuszczalnej nie tylko w surowicy krwi, czy płynie otrzewnowym, ale również w moczu chorych pacjentek. Wykrywanie biomarkerów chorób nowotworowych w moczu mogłoby mieć zastosowanie w szybkich, łatwych i tanich testach diagnostycznych ułatwiających wczesne rozpoznawanie, monitorowanie i diagnostykę nawrotów choroby.

Badgwell i wsp. oznaczyli stężenie mezoteliny w surowicy krwi i moczu 28 pacjentek z rakiem jajnika w I i II stopniu klinicznym wg FIGO, 111 pacjentek z chorobą zaawansowaną (stopień FIGO III i IV) oraz 19 pacjentek z guzem jajnika o niskim potencjale złośliwości [18]. Stężenie markera zostało porównane z grupą zdrowych kobiet oraz pacjentek z łagodnymi guzami miednicy mniejszej (242 osoby). Podwyższone stężenie mezoteliny w surowicy krwi obserwowano u 12%, natomiast w moczu aż u 42% pacjentek z chorobą nowotworową jajnika we wczesnym stadium. Podobnie, podwyższone stężenie markera w surowicy krwi stwierdzono u 48%, a w moczu u 75% pacjentek z chorobą w stadium zaawansowanym nowotworu [18].

KLINICZNE ZNACZENIE PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO MEZOTELINIE

Mezotelina jest białkiem immunogennym. Wywołuje u gospodarza odpowiedź immunologiczną, co skutkuje pojawieniem się we krwi autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie, których obecność stwierdzono u pacjentów w przebiegu niektórych nowotworów złośliwych: mię-

stability of the composite marker, defining the ability to keep a high sensitivity during the screening programme, was as high as for CA125. The results of these researches showed the advantage of the composite marker over CA125 and SMRP, as single markers in the diagnosis of ovarian cancer early forms and screening tests [14]. Similarly, a greater efficacy of a panel of markers encompassing among others mesotheline, MPF and CA125 over CA125 itself in the identification of early forms of ovarian cancer was proved in the recently published researches of O'Shannessy et al. [15]. Shah et al. have carried out similar researches on the evaluation of the correlation between the risk factors occurrence of ovarian cancers and mesotheline concentration, HE4 and CA125 [16]. The results confirmed the mesotheline sensitivity in the diagnosis of ovarian cancer cases in patients with ovarian cancer standard risk at the level of 54%, with a HE4 sensitivity at the level of 80% and CA125 79% [16]. Aktas et al., on their part, when evaluating the prognostic value of biomarkers in patients with ovarian cancer before the surgery and after chemotherapy, proved that mesotheline concentration in blood serum correlates with other clinical prognostic factors and is useful in monitoring the oncological treatment [17].

The advantage of mesotheline in comparison to other biomarkers of ovarian cancer may be the fact of identifying its dissolvable fraction not only in blood serum or in the peritoneal liquor, but also in the urine of affected patients. The detection of biomarkers of neoplastic diseases in the urine may have an application in quick, easy and cheap diagnostic tests facilitating early detection, monitoring and diagnostics of disease recurrences.

Badgwell et al. determined mesotheline concentration in blood and urine serum of 28 patients with ovarian cancer in the I and II clinical stage according to FIGO, 111 patients with advanced disease (FIGO level III and IV) and 19 patients with ovarian tumour of low level of malignancy [18]. The concentration of the marker was compared to the group of healthy women and patients with mild tumours of pelvis minor (242 people). The elevated mesotheline concentration in blood serum was observed in 12%, whereas in urine in as many as in 42% patients with ovarian neoplastic disease in an early stage. Similarly, the elevated marker concentration in blood serum was stated in 48%, and in the urine in 75% patients with the disease of an advanced stage of cancer [18].

THE CLINICAL IMPORTANCE OF ANTIBODIES AGAINST MESOTHELIN

Mesotheline is an immunogenic protein. It causes in the host an immunologic response, what results in the appearance of auto-antibodies against mesotheline in blood and whose presence was stated in patients in the course of some malignant cancers: mesothelioma, pan-

dzybłoniaka, raka trzustki oraz raka jajnika. Badania Ho i wsp. wykazały, że obecność autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie stwierdza się u około 55% pacjentów z chorobami nowotworowymi wykazującymi ekspresję mezoteliny (międzybłoniak, rak jajnika) w porównaniu do 0-8% pacjentów, u których guz tej ekspresji nie wykazuje [13].

Obecność autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie wywiera wpływ na przebieg kliniczny choroby nowotworowej. Po pierwsze, autoprzeciwciała mogą zapobiegać wiązaniu mezoteliny z CA125 obecnym na komórkach nowotworowych i w ten sposób wpływać na zdolności adhezyjne komórek, hamując progresję choroby nowotworowej oraz rozsiew wewnątrztrzewnowy. Po drugie, autoprzeciwciała w obecności układu dopełniacza, na drodze zależnej od przeciwciał odpowiedzi komórkowej, aktywując komórki NK i makrofagi mogą działać cytotoksycznie, niszcząc ostatecznie komórki nowotworowe [19]. Po trzecie, obecność autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie może nasilać odpowiedź T-komórkową dzięki tworzeniu kompleksów z mezoteliną obecną na komórce nowotworowej, co umożliwia wychwyt antygenem mezoteliny przez komórki prezentujące antygen [20].

W celu oceny potencjalnej klinicznej przydatności autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie, Hellstrom i wsp. oznaczyli stężenie mezoteliny i autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie w surowicy krwi u pacjentek z zaawansowanym rakiem jajnika poddanych leczeniu operacyjnemu i uzupełniającej chemioterapii [20]. Pacjentki podzielono pod kątem wyników leczenia na grupę bez klinicznych objawów choroby (*no evidence of disease*, NED) oraz grupę ze wznową kliniczną (*clinical evidence of disease*, CED). Stężenie mezoteliny w surowicy krwi wykazano u 71% pacjentek z grupy CED i u 21% pacjentek z grupy NED. Podobnie, w surowicy krwi chorych z CED częściej stwierdzono obecność krążącej mezoteliny i autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie (38%) w porównaniu do 7% pacjentek z grupy NED [20]. W kolejnych badaniach potwierdzono, że autoprzeciwciała przeciwko mezotelinie u pacjentek chorych na raka jajnika występują częściej w grupie ze wznową choroby w porównaniu do kobiet w okresie remisji [19]. Wydaje się więc, że odpowiedź humoralna gospodarza przeciwko mezotelinie może korelować z przebiegiem klinicznym choroby nowotworowej jajnika. Stężenie autoprzeciwciał przeciwko mezotelinie może dostarczać informacji dotyczącej odpowiedzi pacjentów na stosowane leczenie. Ponowny wzrost stężenia przeciwciał w surowicy krwi po zakończeniu terapii przeciwnowotworowej może wskazywać na obecność w organizmie komórek uwalniających antygen i być bardzo wczesnym markerem wznowy. Jednak prospektywne, wielośrodkowe badania są niezbędne, aby wyjaśnić, czy ocena stężenia autoprzeciwciał (samy lub w połączeniu z antygenem) będzie użyteczna w diagnostyce wczesnych postaci raka jajnika oraz monitorowaniu leczenia [20].

creatic cancer or ovarian cancer. The researches of Ho et al. showed that the presence of auto-antibodies against mesotheline is stated in about 55% patients with neoplastic diseases showing mesotheline expression (mesothelioma, ovarian cancer) in comparison to 0-8% patients, in whom the tumour does not show such expression [13].

The presence of auto-antibodies against mesotheline influence the clinical course of the neoplastic disease. At first, auto-antibodies may prevent from binding mesotheline with CA125 present in the neoplastic cells and in this way influence the adhesive capacities of the cells, inhibiting the progression of the neoplastic disease and the intraperitoneal dissemination. Secondly, auto-antibodies – in the presence of the complement system, through the cell response dependent on antibodies, activating NK cells and macrophages - may act cytotoxically, destroying finally the neoplastic cells [19]. Thirdly, the presence of auto-antibodies against mesotheline may intensify the T-cell answer thanks to the creation of complexes with mesotheline present in the neoplastic cell, what allows for mesotheline antigen capture by the cells presenting the antigen [20].

In order to evaluate the potentially clinical usefulness of auto-antibodies against mesotheline, Hellstrom et al. determined the mesotheline and auto-antibodies concentration against mesotheline in blood serum in patients with severe ovarian cancer, undergoing surgery and complementing chemotherapy [20]. The patients were divided, paying special attention to the treatment results, into the group without clinical symptoms of the disease (*no evidence of disease*, NED) and the group with clinical recurrence (*clinical evidence of disease*, CED). Mesotheline concentration in blood serum was shown in 71% patients from CED group and in 21% patients from NED group. Similarly, in blood serum of patients with CED, the presence of circulating mesotheline and auto-antigenes against mesotheline (38%) has already been stated in comparison to 7% patients from the NED group [20]. In subsequent researches, it was confirmed that auto-antibodies against mesotheline in patients suffering from ovarian cancer occur more frequently in the group with disease recurrence in comparison to women in the remission period [19]. So, it seems that the humoral response of the host against mesotheline may correlate with the clinical course of the egg sac neoplastic disease. The concentration of auto-antibodies against mesotheline may provide information concerning the patients' response on the applied treatment. Another increase of anti-bodies concentration in blood serum after antineoplastic therapy may indicate the presence of cells liberating the anti-gene in the organism and may be a very early recurrence marker. However, prospective, multicentre research are indispensable so as to explain whether the evaluation of auto-antigenes concentration (single ones or in connection with the antigen) shall be useful in the diagnosis of early forms of ovarian cancer or the monitoring of the treatment [20].

PODSUMOWANIE

W chwili obecnej nie dysponujemy skutecznym biomarkerem lub panelem biomarkerów, które mogłyby znaleźć zastosowanie w badaniach przesiewowych raka jajnika. Ocena stężenia nowych biomarkerów w surowicy krwi i moczu pacjentek z podejrzeniem choroby nowotworowej jajnika może stanowić istotne klinicznie dopełnienie standardowych metod diagnostycznych opartych o badanie ultrasonograficzne i obecnie stosowane testy (CA125, OVA1, ROMA).

Mezotelina jako samotny marker nie znalazła jak dotąd zastosowania we wczesnym wykrywaniu raka jajnika, jednak w połączeniu z innymi biomarkerami znacznie poprawia ich czułość. Jej zaletą jest stabilne i stałe stężenie w surowicy krwi, co można skutecznie wykorzystać w diagnostyce trudnych klinicznie przypadków pacjentów, u których dotychczas stosowane metody nie dają jednoznacznej odpowiedzi. Wstępne doniesienia niosą nadzieję na zastosowanie również przeciwciał przeciwko mezotelinie w diagnostyce onkologicznej. Niezwykle istotną klinicznie informację stanowi fakt dużej czułości wykrywania wczesnych postaci surowiczego raka jajnika na podstawie oceny stężenia mezoteliny w moczu chorych pacjentek.

CONCLUSION

At present, we do not have an effective biomarker or panel of biomarkers which could be applied in ovarian cancer screening tests. The evaluation of the concentration of new biomarkers in blood serum and urine of patient with a suspicion of ovarian cancer may constitute a clinically significant complement of standard diagnostic methods based on ultrasound examination and presently applied tests (CA125, OVA1, ROMA).

So far, mesotheline as a sole marker has not found applications in the early detection of ovarian cancer. However, in connection with other biomarkers, it has significantly improved its sensitivity. Its advantage is the stable and constant concentration in blood serum, what may be used effectively in the diagnostics of clinically difficult cases of patients, in whom the so far applied methods do not give unequivocal answer. Preliminary reports bring hope for the application of antibodies as well against mesotheline in oncological diagnostics. An unusually clinically significant information is the fact of great sensitivity to detect early forms of serous ovarian cancer on the basis of the evaluation of mesotheline concentration in the urine of the patient affected with the disease.

Piśmiennictwo / References:

- Rosen DG, Wang L, Atkinson JN et al. Potential markers that complement expression of CA125 in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2005;99:267-277.
- Zorn KK, Tian C, McGuire WP et al. The prognostic value of pretreatment CA 125 in patients with advanced ovarian carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 2009;115:1028-35.
- Bergmann JF, Bidart JM, George M et al. Elevation of CA 125 in patients with benign and malignant ascites. *Cancer* 1987;59:213-7.
- Bast RC Jr, Skates S, Lokshin A et al. Differential diagnosis of a pelvic mass: improved algorithms and novel biomarkers. *Int J Gynecol Cancer* 2012;22 Suppl 1:S5-8.
- Moore RG, Miller MC, Disilvestro P et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstet Gynecol* 2011;118:280-8.
- Fritz-Rdzanek A, Grzybowski W, Beta J et al. HE4 protein and SMRP: Potential novel biomarkers in ovarian cancer detection. *Oncol Lett* 2012;4:385-389.
- Hassan R, Ho M. Mesothelin targeted cancer immunotherapy. *Eur J Cancer* 2008;44:46-53.
- Hassan R, Bera T, Pastan I. Mesothelin: a new target for immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2004;10:3937-3942.
- Chang K, Pastan I. Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:136-140.
- Scholler N, Fu N, Yang Y et al. Soluble member(s) of the mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family are detectable in sera from patients with ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:11531-11536.
- Muminova ZE, Strong TV, Shaw DR. Characterization of human mesothelin transcripts in ovarian and pancreatic cancer. *BMC Cancer* 2004;12:4-19.
- Rump A, Morikawa Y, Tanaka M et al. Binding of ovarian cancer antigen CA125/MUC16 to mesothelin mediates cell adhesion. *J Biol Chem* 2004;279:9190-9198.
- Ho M, Hassan R, Zhang J et al. Humoral immune response to mesothelin in mesothelioma and ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 2005;11:3814-3820.
- McIntosh MW, Drescher C, Karlan B et al. Combining CA125 and SMR serum markers for diagnosis and early detection of ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2004;95:9-15.
- O'Shannessy DJ, Somers EB, Palmer LM et al. Serum folate receptor alpha, mesothelin and megakaryocyte potentiating factor in ovarian cancer: association to disease stage and grade and comparison to CA125 and HE4. *J Ovarian Res* 2013;6:29-44.
- Shah CA, Lowe KA, Paley P et al. Influence of ovarian cancer risk status on the diagnostic performance of the serum biomarkers mesothelin, HE4, and CA125. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:1365-72.
- Aktas B, Kasimir-Bauer S, Wimberger P et al. Utility of mesothelin, L1CAM and Afamin as biomarkers in primary ovarian cancer. *Anticancer Res* 2013;33:329-36.
- Badgwell D, Lu Z, Cole L et al. Urinary mesothelin provides greater sensitivity for early stage ovarian cancer than serum mesothelin, urinary hCG free beta subunit and urinary hCG beta core fragment. *Gynecol Oncol* 2007;106:490-7.
- Hellstrom I, Hellstrom KE. fTwo novel biomarkers, mesothelin and HE4, for diagnosis of ovarian carcinoma. *Expert Opin Med Diagn* 2011;5:227-240.
- Hellstrom I, Friedman E, Verch T et al. Anti-mesothelin antibodies and circulating mesothelin relate to the clinical state in ovarian cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:1520-6.