

Cysteinylleukotrieners betydning for kronisk inflammation og neoplas i tarmen

Cellebiolog Oliver Jay Broom & overlæge Ole Haagen Nielsen

Herlev Hospital, Medicinsk Sektion, Gastroenheden

Fraset autoimmune sygdomme, hvor autoantigener aktiverer immunsystemet, er initieringen af det respons, der fører til udviklingen af en række andre inflammatoriske sygdomme, fortsat uafklaret. Det er i denne forbindelse veldokumenteret, at cancersygdomme er overrepræsenteret ved kroniske inflammatoriske sygdomme. Denne statusartikel sætter fokus på den nyeste viden omkring cysteinylleukotrienernes (CysLT) betydning for forløbet af en kronisk inflammatorisk tilstand: inflammatorisk tarmsygdom, dvs. colitis ulcerosa og Crohns sygdom samt for kolorektalcancer – en tilstand, der er associeret til denne tarmsygdom [1].

Syntese af eikosanoider

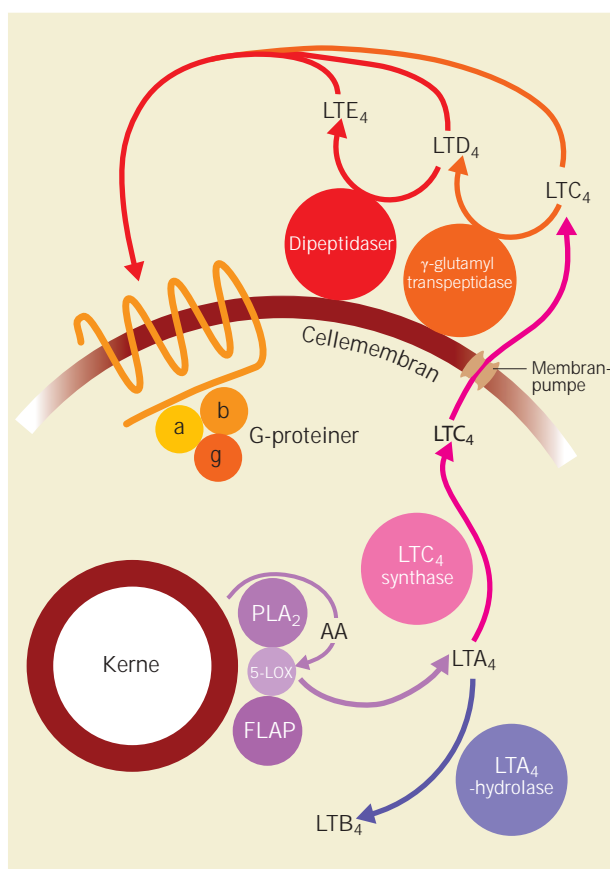
Siden identificeringen af prostaglandinerne i 1930'erne er denne gruppe af biologisk aktive lipider blevet grundigt udforsket i relation til inflammationsprocessen samt i relation til andre patofysiologiske mekanismer, som de influerer på. Eikosanoider inkluderer leukotriener (LT), prostaglandiner (PG) og prostacykliner, som alle dannes ud fra arakidonsyre (AA) [2]. Når AA fraspaltes fra cellemembranens glycerolmolekyler 2-stilling ved hjælp af enzymet fosfolipase (en proces der er med i homøostasen – men som accelereres ved inflammatoriske stimuli), bliver det i fri form biologisk aktivt. Frit AA omdannes hurtigt til en bred vifte af lipidmediatorer (eikosanoider) under indflydelse af to forskellige enzymesystemer: lipoxygenaserne (LOX) og cyclooxygenaserne (COX).

5-LOX-enzymet er sammen med 5-LOX-aktiverende protein (FLAP) ansvarligt for produktionen af den ustabile metabolit LTA₄, som hurtigt omdannes til enten LTB₄ under indflydelse af LTA₄-hydrolase eller til gruppen af CysLT (**Figur 1**). Ved sidstnævnte metaboliseringsvej dannes LTC₄ først ud fra LTA₄ ved hjælp af enzymet LTC₄-syntase [3]. Cellulære membranpumper sender LTC₄ ud i ekstracellulærmiljøet, hvor det efterfølgende omdannes til LTD₄ og LTE₄ ved hjælp af henholdsvis γ -glutamyltranspeptidase og dipeptidaser [3].

Tidligere forskning har vist, at LTB₄ er en vigtig kemoattraktant, hvorimod CysLT oprindeligt blev identificeret på grund af deres evne til at inducere bronkokonstriktion (en opdagelse som efterfølgende har ført til udviklingen af farmaka som bl.a. montelukast, der kan anvendes til astmatikere) og potensen med henblik på stimulering af signalveje herunder bronkokonstriktion af denne gruppe LT'er: LTD₄ > LTC₄ > LTE₄.

Specifikke leukotrienreceptorers virkning

Eikosanoider har betydning for en lang række fysiologiske mekanismer. Selvom LTB₄ og CysLT adskiller sig strukturelt fra hinanden, er de karakteriseret ved, at de binder sig til receptorer, der er koblet til transmembrant G-protein (GPCR). GPCR videregiver de enkelte leukotrieners effekt i aktiveringen af værtens intracellulære signalveje. Således har man fundet to GPCR, der kan binde LTB₄ (BLT₁ og BLT₂). Initialt fandtes to receptorer for CysLT: CysLT₁ og CysLT₂, men nyere forskning har afdækket, at *orphan*-receptoren GRP17 (dvs. en receptor, der mangler en fysiologisk relevant ligand) er i stand til at binde LTC₄ og LTD₄ [3]. Som navnet antyder, kobles GPCR til G-proteiner og stimulerer de intracellulære signalveje – og dette gælder også for CysLT₁ og CysLT₂.



Figur 1. Syntese af leukotriener ud fra arakidonsyre. Når arakidonsyre frigøres fra fosfolipider i cellemembranen omdannes det ved hjælp af en række enzymer, blandt andet 5-lipoxygenase og 5-lipoxygenaseaktiverende protein til cysteinylleukotriener, som udfolder deres effekt gennem binding til forskellige guaninukleotidbindende, proteinkoblede receptorer. Se boksen for forkortelser.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Forskning har således vist, at de fleste cellulære processer så som celleproliferation, overlevelse og migration kan blive induceret ved hjælp af en af CysLT-receptorerne, ofte via veldefinerede signalkaskader, eksempelvis mitogenaktiveretprotein- (MAP) kinase- omdannelsesvejene [4]. Stimulation af omdannelsesvejene er imidlertid afhængig af en række faktorer. Ligesom det gælder for mange ligander og deres reciproke signalreceptorer, er signaler produceret af CysLT₁ eller CysLT₂ afhængig af celletype, og især hvilket G-protein, der aktiveres, og til hvilken receptor CysLT-liganden binder sig til, idet CysLT₁ og ₂ adskiller sig med henblik på responset, der er produceret inden for den samme celle [4]. Alt dette bidrager til kompleksibiliteten, når man forsøger at afdække cellulære signalveje og deres roller ved bestemte CysLT i forskellige cellemodeller.

Leukotriener som inflammationsmediatorer

Ved det inflammatoriske respons frigøres en lang række inflammatoriske mediatorer, som hver især udøver distinkte, men også overlappende virkningsmekanismer [2, 3]. LT pro-

duceres især af leukocytter, men større mængder kan også produceres af endotel- og epitelceller, navnlig nær områder med vævsødelæggelse i forbindelse med inflammationsprocessen. LTB₄ adskiller sig fra CysLT ved at være en meget potent kemoattraktant, som er ansvarlig for en signifikant celleophobning i det betændte væv – et klassisk tegn på inflammation, ligesom det kan øge adhæsionen af leukocytter til og invasionen gennem endotelet [2]. I modsætning hertil, og selv om CysLT i nogen grad kan optræde som kemoattraktanter især overfor eosinofile granulocytter og epitelceller, kan CysLT i høj grad medvirke til udviklingen af en række andre karakteristika for inflammationsprocessen [3]. På vævsniveau giver CysLT anledning til en potent bronko- og vasokonstriktion, mens de på det cellulære niveau kan inducere dannelsen af andre inflammationsmediatorer, ekstracellulære matrixkomponenter samt lede til øget plasmalækage i vævet gennem en direkte effekt på endotelceller [3, 4]. Flere af disse mekanismer kan blive dysreguleret og lede til udviklingen af kronisk inflammation.

Cysteinylleukotriener forstærker det inflammatoriske respons

Kronisk inflammation ligger til grund for inflammatorisk tarmsygdom, reumatoid arthritis, psoriasis og neoplasie. Det stærkeste link mellem kronisk inflammation og cancer ses ved inflammatorisk tarmsygdom, hvor der er en væsentlig øget risiko for udvikling af kolorektalcancer ti år efter diagnostidspunktet [1].

Siden starten af firserne har forskning inden for eikosanoiderne fastslået deres betydning for eksacerbationen af kroniske inflammatoriske sygdomme og progressionen hen imod karcinogenese [4, 5]. Initialt fandtes øgede mængder af LT i sput fra astmatikere og i fæces fra patienter med inflammatorisk tarmsygdom. Senere viste epidemiologiske studier, at kolorektalcancer var underrepræsenteret i en population af patienter med colitis ulcerosa, som var behandlet med præparater, der var baseret på nonsteroidale antiinflammatoriske stoffer (NSAIDs). Dette link blev yderligere forstærket i midten af halvfemserne med opdagelsen af cyclooxygenase-2 (COX-2), der var signifikant øget både ved inflammatorisk tarmsygdom og coloraktalcancer, og det er nu afklaret, at hæmningen af COX-2 eller af prostaglandin (PG)E₂ kan hæmme udviklingen/progressionen af coloraktalcancer bl.a. ved inflammatorisk tarmsygdom [5]. Tilsvarende har undersøgelser af vævsprøver fra patienter med kolorektalcancer vist en øget ekspresion af 5-LOX, FLAP og CysLT₁-receptoren sammenlignet med, hvad der kendetegner sundt væv (dvs. uden cancerforandringer), hvilket støttes af en lang række studier i cellelinjer og dyremodeller [3]. LTC₄/D₄-antagonister herunder montelukast, som har været anvendt til behandling af astma, har også vist sig at bedre eksperimentelt induceret kolitis [6]. Imidlertid er status i dag, at proteiners (dvs. 5-LOX, FLAP og CysLT-receptorer) rolle i leukotriensyntesen ved inflammatorisk tarmsygdom

Forkortelser

| | |
|--------------------|---|
| CysLT: | cysteinylleukotriener |
| LT: | leukotriener |
| PG: | prostaglandiner |
| AA: | arakidonsyre |
| LOX: | lipoxygenase |
| COX: | cyklooxygenase |
| FLAP: | 5-lipoxygenaseaktiverende protein |
| LTA ₄ : | leukotrien A ₄ |
| LTB ₄ : | leukotrien B ₄ |
| LTC ₄ : | leukotrien C ₄ |
| LTD ₄ : | leukotrien D ₄ |
| LTE ₄ : | leukotrien E ₄ |
| GPCR: | transmembrant G-protein-koblede receptorer |
| BLT ₁ : | LTB ₄ -receptor 1 |
| BLT ₂ : | LTB ₄ -receptor 2 |
| GRP17: | G-protein <i>orphan</i> receptor 17 |
| MAP: | mitogenaktiveret protein |
| NSAIDs: | nonsteroidale antiinflammatoriske stoffer |
| COX-2: | cyklooxygenase-2 |
| PGE ₂ : | prostaglandin E ₂ |
| 5-LOX: | 5-lipoxygenase |
| Erk1/2: | ekstracellulær reguleret kinase 1/2 |
| Bcl-2: | B-celle-lymfom-2 |
| GSK-3β: | glukogensynthase kinase 3 beta |
| PI-3K: | fosfatidylinositol-3-kinase |
| GTPase: | guanosintrifosfatase |
| Ras: | rotte-sarkomvirus-onkogen |
| Raf: | v-raf-murine (mus) sarkomvirus-onkogen-homolog B1 |

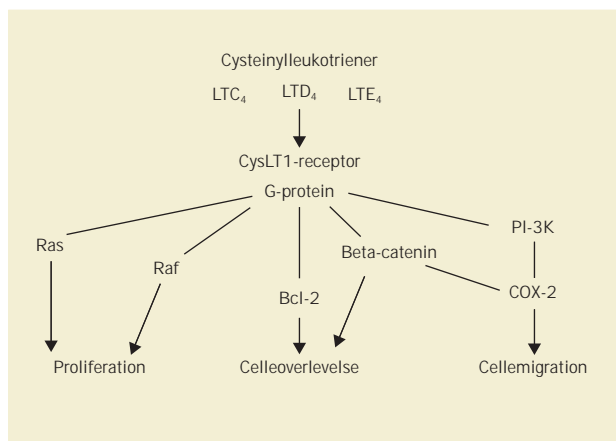
VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

fortsat er uafklaret, idet der har været modstridende rapporter om proteinernes ekspresion, omend ændringer eller mangel på dem ikke nødvendigvis afspejles i ændringer i aktiviteten eller stabiliteten af disse proteiner.

Bortset fra analyse af ekspressionsprofiler af en række metabolitter associeret med CysLT, er en stor forskningsaktivitet blevet lagt i at afklare og kortlægge de signalveje, som stimulerer CysLT, og de cellulære fænotyper, som de inducerer (Figur 2). Som tidligere nævnt medieres hovedparten af CysLT-effekter via CysLT₁-receptoren [4]. Tidligere studier i celler med både transformerede og ikke-transformerede cancer-celler har vist, at LTD₄ kan stimulere aktiviteten af forskellige G-proteiner, som naturligt giver ophav til en række cellepåvirkninger. CysLT₁-receptoren er senere blevet vist at være internaliseret i ikke-transformerede cancer-celler, en ret enestående forskel i forhold til transformerede cancer-celler, hvilket kaster nyt lys på de meget komplicerede mekanismer, som cancer-celler benytter sig af. I denne forbindelse har CysLT₁-receptoren vist sig at være af betydning for celleproliferation, migration og overlevelse, tre fænotyper som har afgørende betydning for udviklingen og spredningen af cancer [4].

Leukotrien D₄ stimulerer celleproliferation

Ikke uventet har adskillige intracellulære signalveje vist sig at være vigtige for den intestinale epitelcelleproliferation, der medieres af LTD₄. For mange celler er den klassiske Ras-nedbrydningsvej af yderste vigtighed, selv om alternative kaskader – herunder en omfattende Raf-MAP-kinase – Erk1/2-metaboliseringsvejen – også har stor betydning [4]. Ud over disse direkte kaskader kan LTD₄ også indirekte påvirke forskellige cellulære processer inklusive proliferation gennem dets evne til at inducere eller øge ekspresionen af COX-2 (hvis metabolitter ganske potent påvirker udviklingen af colorektalcancer) i både ikke-transformerede men også transformerede cancer-celler [3, 4].



Figur 2. Oversigt over betydende proteiner og cellefænotyper, der induceres af cysteinylleukotriener i intestinale celler. Se boksen for forkortelser.

Faktaboks

Cysteinylleukotriener er vigtige inflammationsmediatorer – både ved akutte og kroniske tilstande.

Leukotrien D₄ vedligeholder kronisk inflammation og carcinogenese.

Leukotrien D₄ stimulerer aktiviteten af guaninnukleotid-bindende proteiner, der giver ophav til en række cellepåvirkninger herunder aktivering af calciumrespons, mitogenaktiverede protein-kinaser, Ras-familien af små guanosintrifosfater og β-catenin samt cyclooxygenase-2-ekspresion.

Cysteinylleukotriener øger celleoverlevelse, proliferation og migration, og de besidder en nøglefunktion i cancerspredning.

Hæmning af eikosanoidproduktionen synes at være et rationelt princip i behandlingen af blandt andet inflammatorisk tarmsygdom og colorektalcancer.

Leukotrien D₄ induceret celleoverlevelse kræver B-celle lymfom 2

Progressionen af cancer menes at være forårsaget af en ubalance mellem proliferation og apoptose [4]. Der er nu mange proteiner, som har vist sig at være af betydning for faciliteringen af, at cancer-celler undgår apoptotiske mekanismer, men ingen synes at være mere vigtig end B-celle lymfom 2 (Bcl-2) [7]. Dette protein forebygger lækagen af cytokrom c fra mitokondrier, som er en afgørende nøglefaktor i apoptoseaktivering. Ved at opregulere og forårsage translokering af Bcl-2 til mitokondrier, kan LTD₄ effektivt hæmme apoptose induceret i intestinale celler. Yderligere kan LTD₄ også aktivere β-catenin via inhibering af glykogensyntasekinase (GSK)-3β, hvilket leder til, at antiapoptotiske mekanismer aktiveres, men også at protransformationsgener transkriberes, bl.a. det tidligere nævnte *cox-2*-gen.

Leukotrien D₄ øger cancercellemigration

Cancercelledisseminering og -metastisering er hovedårsagen til morbiditeten af cancer. Med opdagelsen af, at COX-2 ofte er opreguleret ved colorektal cancer, fulgte også fundet af, at PGE₂ – en vigtig metabolit fra COX-2 – signifikant påvirker en øget cancercellemigration. I de senere år er involveringen af receptoren for epidermal vækstfaktor også blevet afdækket, hvilket understøtter, at især PGE₂-receptoren er ansvarlig for cellemigrationen, idet den kan transaktivere andre receptorer. Imidlertid sker der ingen sådan transaktivering med CysLT₁-receptoren, omend den er i stand til at inducere cellemigra-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

tion af både transformerede og ikke-transformerede cancer-celler på en COX-2 afhængig måde. CysLT₁-receptoren opnår dette i ikke-transformerede celler ved at inducere aktivering af fosfatidylinositol-3-kinase (PI-3K) – et enzym der er nøje relateret til cancerudvikling – og Rac, en lille guanosintrifosfatase (GTPase), som primært er involveret i cytoskeletomdannelsen [8]. Desuden er migrationen af celler nøje koblet til den ekstracellulære matrix. Dette gælder også leukotrieninduceret migration af transformerede og ikke-transformerede celler, som øger overfladeekspressionen af $\alpha_2\beta_1$ -integriner [9], og som selv er i stand til at øge eikosanoidproduktion og cellemigration [10].

Som det er beskrevet ovenfor, repræsenterer signalkaskaderne, der er initieret af CysLT, andre potentielle angrebepunkter i behandlingen end blot den konventionelle hæmning af COX-2 blandt patienter med inflammatorisk tarmsygdom, som ubehandlet kan føre til aktive sygdomsfasen samt til udviklingen og spredningen af kolorektalcancer. CysLT repræsenterer derved et fremtidigt mål for en rationel (måske endda profylaktisk) behandling af disse to tilstande.

Korrespondance: *Oliver Broom*, Gastroenheden, Medicinsk Sektion, Forskningslaboratoriet 54 03, Herlev Hospital, DK-2730 Herlev.
E-mail: oliver.broom@gmail.com

Antaget: 5. august 2008
Interessekonflikter: Ingen

Litteratur

- Nielsen OH, Munk LK. Aminosalicylates for the treatment of inflammatory bowel disease. *Nature Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2007;4:160-70.
- Nielsen OH. In vitro studies on the significance of arachidonate metabolism and other oxidative processes in the inflammatory response of human neutrophils and macrophages with special reference to chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1988;23:1-21.
- Broom OJ. Involvement of eicosanoid signalling in epithelial cell migration. Lund University. Faculty of Medicine Doctoral Dissertation Series 2007;136:1-100.
- Capra V, Thompson MD, Sala A et al. Cysteinyl-leukotrienes and their receptors in asthma and other inflammatory diseases: Critical update and emerging trends. *Med Res Rev* 2007;27:469-527.
- Wang D, Dubois RN. Prostaglandins and cancer. *Gut* 2006;55:115-22.
- Holma R, Salmenrärä P, Virtanen I et al. Prophylactic potential of montelukast against mild colitis induced by dextran sulphate sodium in rats. *J Physiol Pharmacol* 2007;58:455-67.
- Mezhybovska M, Wilkström K, Ohd JF et al. The inflammatory mediator leukotriene D₄ induces β -catenin signalling and its association with antiapoptotic Bcl-2 in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem* 2006;281:6776-84.
- Paruchuri S, Broom O, Dib K et al. The pro-inflammatory mediator leukotriene D₄ induces phosphatidylinositol 3-kinase and Rac-dependent migration of intestinal epithelial cells. *J Biol Chem* 2005;280:13538-44.
- Massoumi R, Nielsen CK, Azemovic D et al. Leukotriene D₄-induced adhesion of Caco-2 cells is mediated by prostaglandin E₂ and upregulation of $\alpha_1\beta_2$ integrin. *Exp Cell Res* 2003;289:342-51.
- Broom OJ, Massoumi R, Sjölander A. $\alpha_1\beta_2$ integrin signalling enhances cyclooxygenase-2 expression in intestinal epithelial cells. *J Cell Phys* 2006;209:950-8.

Lægemedelstyrelsen

Tilskud til lægemidler

Lægemedelstyrelsen meddeler, at der pr. 29. december 2008 ydes generelt tilskud efter sundhedslovens § 144 til følgende lægemidler:

(N-06-AX-11) Arintapin smelt smeltetabletter*, Sandoz A/S
(R-03-BA-02) Budesonid »PCH« inhalationspulver i kapsler*, Pharmachemie B.V.
(R-03-BA-02) Budesonid »Pharmachemie« inhalationspulver i kapsler*, Pharmachemie B.V.
(M-01-AE-01) Burana tabletter*, Orion Corporation
(R-03-AC-13) Foradil inhalationspray*, EuroPharmaDK ApS
(R-03-BB-01) Ipratropiumbromid »Teva« inhalationsvæske til nebulisator*, Teva Denmark A/S
(N-06-AX-16) Venlafaxin »Arrow« depotkapsler*, Arrow Pharma ApS
(N-06-AX-16) Venlafaxin »Sandoz« depotkapsler*, Sandoz A/S

gruppe uden klausulering over for bestemte sygdomme.

(N-06-AX-21) Cymbalta kapsler*, Eli Lilly Danmark A/S
(N-06-AX-21) Cymbalta kapsler*, EuroPharmaDK ApS
(N-06-AX-21) Cymbalta kapsler*, Orifarm A/S
(N-06-AX-21) Cymbalta kapsler*, Paranova Danmark A/S
(N-06-AX-21) Cymbalta kapsler*, PharmaCoDane ApS
(N-06-AX-21) Cymbalta kapsler*, Singad Pharma ApS
(N-06-AX-21) Xeristar kapsler*, Boehringer Ingelheim Int. GmbH

gruppe klausuleret til personer, der lider af følgende sygdom:

Moderat til svær depression og/eller generaliseret angst.
En betingelse for at opnå tilskud er derfor, at lægen har skrevet »tilskud« på recepten.

(C-10-AA-04) Fluvastatin »Teva« kapsler*, Teva Denmark A/S

gruppe klausuleret til personer, der er omfattet af følgende tilskudsklausul:

Patienter med behandlingskrævende hyperlipidæmi, hvor behandling med generelt tilskudsberettiget statin har vist sig utilstrækkelig, eller som ikke tåler disse lægemidler.
En betingelse for at opnå tilskud efter tilskudsklausulen er, at lægen har skrevet »tilskud« på recepten.

Denne bestemmelse trådte i kraft den 29. december 2008.

*) Omfattet af tilskudsprissystemet.