

Az S100B protein marker szerepe daganatokban és más kórképekben

Bánfalvi Teodóra,¹ Gergye Mária,² Beczássy Enikő,² Gilde Katalin,¹ Ottó Szabolcs²

Országos Onkológiai Intézet, ¹Bőrgyógyászati Osztály, ²Tumormarker laboratórium, Budapest

Az S100 proteinek a számos sejtfolyamatot szabályozó kalciumkötő proteinek családjának legnagyobb alcsoportját képviselik. Napjainkig összesen húsz tag ismert. Intracelluláris folyamatokat szabályoznak, mint a sejt növekedése, motilitás, sejtciklus-szabályozás, transzkripció és sejt differenciáció. Melanomában az emelkedett S100B protein-koncentráció stádiumtól független rizikófaktornak bizonyult. Szérumszintje alkalmas a prognózis becslésére, megfelelő a terápia monitorozására, és a beteg követésére. Célszerű azonban meghatározni a szöveti S100B-expressziót, különösen tünetmentes betegek monitorozása előtt. Ugyanakkor a szérumban és a liquorban emelkedett S100B-szintet közöltek agysérülés, subarachnoidális vérzés, agyvérzés után, valamint az S100B markere a vér-agy-gát diszfunkciójának. Az S100B protein szívsebészeti műtétek után is korrelál az agysérüléssel, a cerebrális ischémia mértékével, az agyi infarktus kiterjedésével, továbbá a magas S100B-értékek rövidebb túléléssel járnak. Magas rizikójú terheségekben agysérülés esetén az S100B protein megemelkedik az amnionfolyadékban és a magzat köldökzsinórvérében is. *Magyar Onkológia 48:71-74, 2004*

The S100 protein family constitutes the largest subgroup of the Ca binding proteins. To date 20 members of the family were discovered. S100 proteins regulate intracellular processes such as cell growth and motility, cell cycle regulation, transcription and differentiation. S100B protein is expressed constitutively by brain astrocytes. Serum S100B protein concentration in Stage II-III-IV melanoma is a reliable prognostic marker. The serum level of S100B protein is significant independent prognostic marker in respect to disease specific survival, it is a relevant marker for therapy monitoring and patient follow-up. It is recommended to determine the S100B expression pattern and intensity of the primary tumour of melanoma before therapy monitoring. Elevated S100B levels were published after head trauma, subarachnoidal haemorrhage and stroke. Furthermore, it indicates blood-brain barrier dysfunction. S100B protein was used to determine the cerebral damage after cardiovascular surgery as well. *Bánfalvi T, Gergye M, Beczássy E, Gilde K, Ottó Sz. Role of S100B protein in neoplasms and other diseases Hungarian Oncology 48:71-74, 2004*



Az S100 proteincsalád

Az S100 proteinek a számos sejtfolyamatot szabályozó Ca-kötő proteinek családjának legnagyobb alcsoportját képviselik. 10–12 kDa molekulatömegű kisméretű savas fehérjék, melyek homo- vagy heterodimereket képeznek. Néhány évvel ezelőtt még csak három S100 protein struktúráját ismertük (Calcibindin D9k, S100A6, S100B), mára számos kalciumhoz kötött, kalciumtól független, vagy targetfehérjével komplexet képező S100 pro-

tein szerkezetét is meghatározták. Növekvő jelentőségük szövet- és sejtspecifikus expressziójuknak köszönhető, továbbá számos emberi megbetegedéssel (daganatok, Alzheimer-kór, idegrendszeri sérülések, cardiomyopathia, akut gyulladással járó folyamatok) mutatható ki kapcsolatuk. Az S100 proteinek és/vagy specifikus antitestjeik alkalmasak melanomában monitorozásra, terápiakövetésre (S100B), használhatók agysérülésekben és elzáródásos szívbetegségekben (S100B), akut myocardialis infarktuszban (S100A1), astrocytomák és glioblastomák klasszifikációjára, gyomorrák (S100A4), a larynx (A100A2) és az esophagus (S100A4) plancellularis carcinomája, valamint emlőcarcinoma prognosztikai faktoraként (17).

Egyedülálló továbbá az S100 proteincsaláddal kapcsolatban, hogy a legtöbb S100 gén az 1q21 kromoszómán található. Tumor kialakulása során ezen

Közlésre érkezett: 2003. november 20.
Elfogadva: 2004. január 15.

Levelezési cím: Dr. Bánfalvi Teodóra,
Országos Onkológiai Intézet, Bőrgyógyászati Osztály,
1122 Budapest, Ráth György 7-9., Tel.: 1-2248600,
Fax: 1-2248620, E-mail: banfalvi@oncol.hu

kromoszómaregióban átrendeződéseket írtak le, amely kapcsolatban lehet az S100 gén szabálytalan expressziójával (35). Az S100 gének struktúrája a különböző fajokban szigorúan rögzült. Továbbá az egyes S100 proteinek specifikus sejtalkotórészekben helyezkednek el, ahonnan kalciumaktivációval áthelyeződhetnek és közvetítik a kalciumszignált térbelileg és időbelileg a különböző, az egyes S100 proteinekre specifikus célsejttel. Az egyes S100 proteinek különböző molekuláris utakat használnak fel (ER-Golgi-út, tubulinnal vagy actinnal kapcsolatos). Extracelluláris koncentrációjuk alapvető szerepet játszik a fiziológiás válaszreakciókban. Például az S100B patológias szintje gliális aktivációhoz vezet, ami az Alzheimer-kór jellemzője.

Mostanáig három különböző S100-target komplexet karakterizáltak. Az S100B komplexet a p53 domén peptiddel, az S100A10-et annexin II peptiddel, az S100A11-et az annexin I-gyel. Az annexin peptidok kötődése teljes mértékben különbözik a p53-S100B kapcsolattól.

Biológiai funkciójukat tekintve az S100 proteinek nagyszámú celluláris folyamatban játszanak szerepet, mint a szignáltranszdukció, sejt differenciáció, a sejt motilitás regulációja, transzkripció, a sejt ciklus progressziója. Az S100 proteinek modulálják a target proteinek aktivitását kalcium- (és valószínűleg Zn-, valamint Cu-) dependens módon. Ezért az S100 proteinek biológiai funkciójának megértése alapvetően függ a target proteinek azonosításától. Az utóbbi évtizedben nagyszámú ilyen interakciót írtak le, melyekben enzimek, citoskeletális alkotóelemek valamint transzkripciós faktorok érintettek.

Eltekintve ezektől az intracelluláris funkcióktól, az egyes S100 proteinek, mint az S100B az S100A4/A8/A9 a sejtekből szekretálódva citokin-szerű extracelluláris szereppel rendelkeznek. A szekréció mechanizmusa és a sejt felszíni receptorok természete még ismeretlen. Egyedül a RAGE-t (receptor for advanced glycation end products, gyulladási folyamatokban érintett immunoglobulin szupercsalád) írták le, amely aktiválódik az S100B és az S100A12 kötődése során.

Az S100B protein

A normális sejtekben valamennyi S100 protein sajátos expressziót mutat, ami számos emberi betegségben károsodik. Emiatt az individuális S100 protein jó néhány körképben diagnosztikus markerként alkalmazható. Az S100B protein Alzheimer-kórban kölcsönhatásban áll a betegséggel kapcsolatos fehérjékkel, mint például a presenilin (PS1 és PS2) vagy az amiloid prekursor protein (APP). Ezeket a kölcsönhatásokat az S100B túljelölése megváltoztatja, ami az S100B neurodegenerációban betöltött szerepére utal.

A normálisan a szérumban csak alacsony szinten mérhető S100B proteint astrocyták, oligodendrocyták és Schwann-sejtek szintetizálják, és az összes agyi fehérje 0,2%-át képviseli. Agysérülés esetén az S100B a liquorba, majd a vérbe áramlik. Ennek következtében az S100B protein koncentrációja jól használható idegsebészeti műtét kapcsán

az akut agykárosodás mértéke és a posztoperatív komplikációk megítélésére (7). Sorozatvizsgálatok alkalmasak továbbá agyi infarktus után a nekrosis kiterjedésének becslésére és a hosszútávú neurológiai szövődmények jóslására (31).

Bár az S100B protein szérumszintje gyermekkorban változékony, és a korrallal fordítottan korrelál, traumás agysérülés után az akut S100B protein szérumszintje összefügg a prognózissal (38). Trauma (csonttörés, mellkasi kontúzió, égés) még fejsérülés nélkül is magas S-100B protein-koncentrációt eredményezhet (1). A központi idegrendszer tumorainak differenciáldiagnózisára az S100B protein-szint egymagában nem alkalmas, mivel különböző tumork (glioblastoma multiforme, anaplasztikus astrocytoma, oligodendroglioma, pinealoblastoma, neurinoma, alacsony malignitású glioma) esetében a műtét előtti átlagos koncentrációk egymástól nem különböznek. Recidíva, reziduum esetében azonban az értékek glioblastománál és astrocytománál megemelkednek (34).

Az S100B biokémiai markere az agyi ischémiának, és a vér-agy-gát diszfunkciónak. Szívsebészeti műtétek után az agysérülést szenvedett betegek életkilátásai romlanak. Az S100B protein szívsebészeti műtétek után is korrelál az agysérüléssel, a cerebrális ischémia mértékével, az agyi infarktusz kiterjedésével, továbbá a magas S100B-értékek rövidebb túléléssel járnak (21, 39).

Követéses vizsgálatok szerint a gyermekkori neurológiai kórképek nagy része prenatális vagy perinatális eredetű. Magas rizikójú terhességekben agysérülés esetén az S100B protein mennyisége megemelkedik az amnionfolyadékban és a magzat köldökzsinórvérében. Ráadásul az S100B protein hasznosnak bizonyult az anyai antenatális terápia, mint például a glükokortikoid kezelés hatásának megítélésében (29).

S100B protein melanómában

Az S100 dimer fehérje, mely alfa és béta egységek különböző kombinációiban (homo- és heterodimer) fordul elő. Kezdetben neurospecifikusnak tartották, azonban fiziológiásan előfordul számos szövetben, így az $\alpha\alpha$ dimer harántcsíkt- és szívizomban, vesében, makrofágokban, monocitákban sejtekben. A $\beta\beta$ dimer megtalálható a központi idegrendszer glia- és Schwann-sejtjeiben, epidermális Langerhans-sejtjeiben. Az $\alpha\beta$ forma gliasejtjeiben és melanómában észlelhető (8). A 91 aminosavat tartalmazó szekvenciát Isope 1978-ban határozta meg (19).

Az S100B proteint vizsgáló közlemények szerint emelkedett szérumszintet mértek már a melanoma valamennyi stádiumában (14). Számos elemzés I-II-es stádiumban alacsony szenzitivitást észlelt, amely azonban a betegség progressziója során növekszik (2, 3, 11, 16, 25).

A betegkövetés során néha már csak nagyméretű metasztázist tudunk diagnosztizálni. A mikro- és makrometasztázisok észlelése a tumormarkerek alkalmazhatóságának is érdekes területe. Az áttét korai felfedezésében a markerek jelentős szerepet

játszhatnak, mivel az S100B protein szérumszintjének folyamatos emelkedése progressziót, szisztémás betegség kialakulását jelzi (12, 20). A statisztikai vizsgálatok során a markerkoncentrációk között észlelt szignifikáns különbségek közül klinikai szempontból a legjelentősebb a II-es és IV-es, valamint a III-as és IV-es stádiumok közti eltérés, mivel a belsőszervi metasztázisok kimutatására alkalmazott diagnosztikus vizsgálatok a stádiumnak megfelelően előre tervezettek és csak időszakosan végezhetők (2-4). A betegkövetés kapcsán az egyszerű és viszonylag olcsó markervizsgálatok gyakrabban kivitelezhetők, az emelkedő szérum-markerszint az eszközös vizsgálatok korábbi bevetésére serkenkethet. Ismert, hogy a melanoma igen gyakran metasztatizál a tüdőbe, melanomaáttét vagy új tüdődaganat differenciáldiagnózisában (kivéve a kis-sejtes tüdőrákot, mely S100-pozitív lehet) az emelkedett értékek diagnosztikus segítséget nyújthatnak. Az ocularis melanoma elsősorban a májba ad áttétet, így az S100B protein sorozatvizsgálata a tünetmentes betegnél informatív lehet. A marker-vizsgálatok számos szerző és saját tapasztalataink alapján is néha 2-3 hónappal az eszközös vizsgálatok előtt jelzik a metasztázis kialakulását (6, 23). Anyagunkban a tünetmentes betegek követése kapcsán az S100B protein koncentrációjának növekedése az esetek 1/3-ában megelőzte a betegek stádiumának megfelelően tervezett és kivitelezett képalkotó- vagy fizikális vizsgálatokkal felállított metasztázis diagnózisát. Az értékelés azonban retrospektíven készült, így nem állítható biztonsággal, hogy az emelkedett markerkoncentráció észlelésének pillanatában, ha van lehetőség azonnali további vizsgálatokra, a progresszió még nem lett volna kimutatható (4).

A prognózis megállapítására stádiumonként különböző, sokféle paraméter áll rendelkezésre (9, 15). Mégis az individuális esetekben nem várt, ezen faktoroknak ellentmondó tünetmentes vagy átlagos túlélés tapasztalható. Ezekben az esetekben a tumormarkerek alkalmazása előtérbe kerül.

Primer tumoros betegeknél általában a kor, a nem, a lokalizáció, a Breslow szerinti vastagság, esetleg egyéb szövettani paraméterek (szövettani típus, exulceráció) korrelálnak a prognózissal. A távoli áttétes betegek túlélésével klinikai szempontból több faktor is kapcsolatos: a metasztázis helye (bőr- és tüdőáttét szemben a cerebrális és hepatikus áttéttel), a metasztázisok száma, LDH-érték, a beteg általános állapota. Az élettartam ezektől a faktoroktól függően 4 hónap és közel két év körül várható (10, 16, 28). IV-es stádiumban az S100B protein a közlemények alapján független prognosztikai faktornak fogadható el, mellyel saját eredményeink is korrelálnak (15, 28, 36). Korábbi vizsgálataink során a 475 beteget tartalmazó anyagunkban független prognosztikus faktornak bizonyult a Breslow szerinti tumorvastagság, a stádium, a szérum S100B protein, a metasztázisok száma és lokalizációja (3).

Az S100B protein szérumszintje tükrözi továbbá a betegség aktivitását, megkülönböztetve a tünetes és tünetmentes betegeket (26, 32, 37). Vizsgálatunkban is szignifikáns volt a különbség a két

csoporthoz. Számos tumormarkerről ismert, hogy szintje a tumortömeggel függ össze.

Anyagunkban a IV-es stádiumban a tünetmentes és tünetes betegek átlag/medián értékei egymástól jelentősen eltértek, ami a tumortömeget tükröző hipotézist támasztja alá (28). A különböző szervi áttétek esetében észlelt eltérő S100B protein-koncentrációk azonban a koncepció ellen szólnak.

Saját vizsgálataink alapján az S100B és a tumortömeg kapcsolata jól megfigyelhető. Mivel az S100B protein a tumorból származik, valószínűleg létezik egy minimális tumortömeg, mely az S100B detektálható emelkedéséhez vezet. A tumorok növekedésük különböző időszakában feltehetően különböző mennyiségben szekretálják az S100B proteint. A tumor erezettsége nyilvánvalóan szintén befolyásolja megjelenését a keringésben. Saját eredményeink alapján a tumortömeg és az S100B protein közti kapcsolatot megerősíti egyrészt a betegség progressziója során észlelt átlag/medián szérumkoncentráció növekedése, valamint a stádium III-IV-ben tünetmentes és tünetes betegek markerszintje között kimutatott szignifikáns különbség. Amennyiben az S100B protein valóban a tumortömeget tükrözi, a betegség progressziója kapcsán az értékek emelkedése várható. Ellenkező esetben, terápiás válasz esetén a regressziót-remissziót a szérumkoncentrációk csökkenése kíséri. Ennek alapján a tumormarkerek alkalmasak a melanoma progressziójának megítélésére és kezelésének monitorozására, azaz a szérum S100B-szint korrelál a daganatellenes terápiában részesülő betegeknél a progresszióval, ill. regresszióval (4, 6, 15).

A melanoma azonban közismerten heterogén tumor. A heterogenitás szempontjából talán legérzékenyebb a primer daganat (stádium I-II). Még vastag tumor esetében is, ha az immunhisztokémiai S100B-expresszió alacsony, a szérumkoncentráció nem emelkedik (15). Ezért célszerű monitorozás előtt az immunhisztokémiai expressziót meghatározni.

Irodalom

1. Anderson RE, Hansson LO, Nilsson O, et al. High serum S100B levels for trauma patients without head injuries. *Neurosurg* 48:1255-1258, 2003
2. Bánfalvi T, Gilde K, Bezzegh A, et al. Clinical significance of S-100 protein assay in malignant melanoma. *J Tumour Marker Oncol* 14:5-12, 1999
3. Bánfalvi T, Gilde K, Boldizsár M, et al. Serum levels of S-100 protein and 5-S-cysteinyldopa as markers of melanoma progression. *Pathol Oncol Res* 5:218-223, 1999
4. Bánfalvi T, Gilde K, Boldizsár M, et al. Use of serum S-100B protein and 5-S-cysteinyldopa to monitor the clinical course of patients with malignant melanoma. *Eur J Cancer* 39:164-169, 2002
5. Bánfalvi T, Udvarhelyi N, Orosz Z, et al. Heterogenous S-100B protein expression patterns in malignant melanoma and association to the serum protein levels. *Oncology* 64:374-379, 2003
6. Bonfrer, JMG, Korse CM. Monitoring malignant melanoma with the S-100B tumour marker. *Recent Result Cancer Res* 158:150-157, 2001
7. De Vries J, Snels SE, Menovsky T, et al. Peri-operative levels of S-100 protein in serum: marker for surgical manipulation and postoperative complications. *Minim Invasive Neurosurg* 46:33-36, 2003

8. Dummer W, Becker JC, Schwaaf A, et al. Elevated serum levels of interleukin 10 in patients with metastatic malignant melanoma. *Melanoma Res* 5:67-68, 1995
9. Einhorn LH, Burgess MA, Vallejos C, et al. Prognostic correlations and response to treatment in advanced melanoma. *Cancer Res* 34:1997-2004, 1974
10. Eton O, Legha S, Moon T, et al. Prognostic factors for survival of patients treated systemically for disseminated melanoma. *J Clin Oncol* 16:1103-1111, 1998
11. Ghanem G, Loir B, Morandini R, et al. On the release and half life of S100B protein in the peripheral blood of melanoma patients. *Int J Cancer* 94:586-590, 2001
12. Guo HB, Stoffel-Wagner B, Bierwirth T, et al. Clinical significance of serum S100 in metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer* 31A:1898-1902, 1995
13. Hamberg AP, Korse CM, Bonfrer JM, et al. Serum S100B is suitable for prediction and monitoring of response to chemioimmunotherapy in metastatic malignant melanoma. *Melanoma Res* 13:45-49, 2003
14. Hauschild A. The use of serological tumor markers for malignant melanoma. *Onkologie* 20:462-465, 1997
15. Hauschild A, Engel G, Brenner W, et al. Predictive value of serum S 100B for monitoring patients with metastatic melanoma during chemotherapy and/or immunotherapy. *Br J Dermatol* 140:1065-1071, 1999
16. Heimdal K, Hannisdal E, Gunderson S. Metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer* 25:1219-1223, 1989
17. Heizmann CW, Fritz G, Schafer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci* 7:1356-1368, 2002
18. Henze G, Dummer R, Joller-Jemelka HI, et al. Serum S100—a marker for disease monitoring in metastatic melanoma. *Dermatology* 194:208-212, 1997
19. Isobe T, Okuyama T. The amino acid sequence of S-100 protein (PAP I-b protein) and its relation to the calcium-binding proteins. *Eur J Biochem* 89:379-388, 1978
20. Jackal A, Diechman M, Waldmann V. S-100B protein in serum: a tumor marker in malignant melanoma - current state of knowledge and clinical experiences. *Hautarzt* 50:250-256, 1999
21. Johnsson P, Backstrom M, Bergh C, et al. Increased S100B in blood after cardiac surgery is a powerful predictor of late mortality. *Ann Thorac Surg* 75:162-168, 2003
22. Jonsson H. S100B and cardiac surgery: Possibilities and limitations. *Restor Neurol Neurosci* 21:151-157, 2003
23. Jury CS, McAllister EJ, MacKie RM. Rising levels of serum S-100 protein precede other evidence of disease progression in patients with malignant melanoma. *Br J Dermatol* 143:269-274, 2000
24. Kanner AA, Marchi N, Fazio V, et al. Serum S100b: a noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions. *Cancer* 97:2806-2813, 2003
25. Karnell R, von Schoultz E, Hansson LO, et al. S 100B protein, 5-S-CD and 6-H-5-MI-2-carboxylic acid as biochemical markers for survival, prognosis in patients with malignant melanoma. *Melanoma Res* 7:393-399, 1997
26. Keilholz U, Martus P, Punt CJ, et al. Prognostic factors for survival with long term remission in patients with advanced melanoma receiving cytokine-based treatments. *Eur J Cancer* 38:1501-1511, 2002
27. Manola J, Atkins M, Ibrahim J, et al. Prognostic factors in metastatic melanoma: a pooled analysis of Eastern Cooperative Oncology Group trials. *J Clin Oncol* 18:3782-3793, 2000
28. Martenson ED, Hansson LO, Nilsson B. Serum S100b protein as prognostic marker in malignant cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 19:824-831, 2001
29. Michetti F, Gazzolo D. S100B testing in pregnancy. *Clin Chim Acta* 335:1-7, 2003
30. Miliotes G, Lyman GH, Cruse CW, et al. Evaluation of new putative tumour markers for melanoma. *Ann Surg Oncol* 3:558-563, 1996
31. Missler U, Wiesmann M, Friedrich C, et al. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in serum as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke* 28:1956-1960, 1997
32. Mohammed MQ, Abraha HD, Sherwood RA, et al. Serum S100b protein as a marker of disease activity in patients with malignant melanoma. *Med Oncol* 18:109-120, 2001
33. Orchard GE. Comparison of immunohistochemical labelling of melanocyte differentiation antibodies melan-A, tyrosinase and HMB 45 with NKIC3 and S100 protein in evaluation of benign naevi and malignant melanoma. *Histochemical J* 32:475-481, 2000
34. Ortiz MB, Menendez LA, Yaya TR, et al. S100 protein in tumours of the central nervous system. *Rev Neurol* 36:1011-1015, 2003
35. Schafer BW, Wicki R, Engelkamp D, et al. Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S100 genes on a human chromosome 1q21: rationale for a new nomenclature of the S100 calcium-binding protein family. *Genomics* 25:638-643, 1995
36. Schoultz E, Hansson LO, Djureen E, et al. Prognostic value of serum analyses of S100 B protein in malignant melanoma. *Melanoma Res* 6:133-137, 1996
37. Seregeni E, Massaron S, Martinetti A. S-100 protein serum levels in cutaneous malignant melanoma. *Oncol Rep* 5:601-604, 1998
38. Spinella PC, Dominguez T, Drott HR, et al. S100b protein-serum levels in healthy children and its association with outcome in pediatric traumatic brain injury. *Crit Care Med* 31:939-945, 2003
39. Ueno T, Iguro Y, Yamamoto H, et al. Serial measurement of serum S-100B protein as a marker of cerebral damage after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 75:1892-1897, 2003