

GAZDAVÉDŐ PEPTIDEK ÉS PEPTIDOMIMETIKUMOK, MINT A RÁKTERÁPIA POTENCIÁLIS ÚJ ESZKÖZEI

Lapis Károly

Semmelweis Egyetem, ÁOK, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

A legkülönbözőbb speciesekben termelődő gazdavédő peptidek számos tagja *in vitro* és állatkísérletekben igen kifejezett ráksejtölő aktivitással rendelkezik. Emellett számos olyan előnyös vonásuk van, amely miatt ígéretes, hogy belőlük potenciálisan új rákellenes szereket fejlesszenek ki. Többségük széles spektrumú aktivitással rendelkezik, a konvencionális kemoterápiás szereknél nagyobb specificitást mutatnak a ráksejtekkel szemben és képesek a konvencionális kemoterápiás szerekekkel szemben rezisztenssé vált ráksejtek elölésére is. Képesek különböző kemoterápiás szerek citotoxikus aktivitását fokozni multidrug-rezisztens tumorsejtekkel szemben is. Sejtölő hatásukat többnyire a sejtmembrán károsítása révén fejtik ki, csekély tehát az esély, hogy velük szemben rezisztencia alakuljon ki. Nem csak a proliferáló, hanem a szunnyadó ráksejtekre is hatnak. Számos ilyen peptid a klasszikus kemoterápiás szerekekkel történő kombinált alkalmazás esetén azokkal szinergisztikusan hat. Szintetikus variánsok, peptidomimetikumok előállítása és alkalmazása a természetes eredetű rákellenes polipeptidek fizikai sajátágaiban rejlő korlátok leküzdésére, terápiás potenciáljuk megjavítására ígéretesnek mutatkozik. A rákellenes peptidek célzott ectocalreticulint indukáló peptidekkel történő együttes alkalmazása e peptidek által szokványosan előidézett nem-immunogén sejthalált specifikus ráksejt-ellenes immunreakció kiváltására képes immunogén sejthalállá változtatja. A szisztémás adagolásukat és humán alkalmazásukat jelenleg még korlátozó tényezők leküzdhetőnek látszanak. Így e peptidekből potenciálisan új széles spektrumú, s teljesen új hatásmódú rákellenes szerek kifejlesztésére nyílt meg ígéretes lehetőség. Magyar Onkológia 54:47–58, 2010

Kulcsszavak: rákellenes peptidek, antimikrobiális peptidek, gazdavédő peptidek

Host defence peptides (HDP) produced by almost all species of living organisms and widely recognized as antimicrobial antibiotics have also proved to be capable of killing a wide variety of cancer cells. In this respect they have many advantages over conventional cytotoxic chemotherapeutic agents. They seem to kill cancer cells by effects on plasma membranes and/or the membranes of mitochondria. They are often effective against multidrug-resistant cells. They have a broad spectrum of activity in that their killing effects are not restricted to particular kinds of cancer. Above all they commonly have few side effects in that they do not have the same detrimental effects on normal cells as they do on cancer cells. It has been demonstrated that HDP can be used as effective adjuvants to conventional chemotherapeutic agents. In addition they have effects on neo-angiogenesis which is important in relation to tumour growth. HDP have been shown to be powerful immunomodulators in a number of circumstances and in this respect they are believed to be instrumental in strengthening immunological host defence against cancer cells. Importantly it has also been shown that certain HDP have the capability to alter the capacity of cells to import Ca ions by affecting the location and thus function of calreticulin. Such changes it has been argued are significant in facilitating the killing of tumour cells by immunological means. HDP constitute a novel class of anticancer agents for which, as we develop better knowledge of their pharmacokinetic profiles and learn better how to tailor their administration, hold high promise to augment or even replace the currently available cytotoxic anticancer chemotherapeutic agents most of which owe their efficacy to their capacity to bind to and damage target cell DNA. Lapis K. Host defence peptides and peptidomimetics as new weapons for cancer treatment. Hungarian Oncology 54:47–58, 2010

Keywords: antimicrobial peptides, host defence peptides, anticancer peptides

Közlésre érkezett:
2010. január 10.

Elfogadva:
2010. február 11.

Levelezési cím:
Dr. Lapis Károly
Semmelweis Egyetem
ÁOK, I. sz. Patológiai
és Kísérleti Rákkutató
Intézet
1085 Budapest
Üllői út 26.
Telefon: (06-1) 2179-699
E-mail:
lapkar@t-online.hu

BEVEZETÉS

A technológia korunkban végbemenő rohamos fejlődése a rákos megbetegedések diagnosztikája, korai felismerése terén korábban szinte elképzelhetetlennek tűnő javulást hozott és jelentős javulást eredményezett a daganatok sebészeti- és sugárterápiája terén is (30). Jelentős fejlődés ment végbe a rák-kemoterápia terén is. A konvencionális rák-kemoterápiában alkalmazott – zömmében a sejtproliferáció gátlása révén ható – citotoxikus szerek választéka jelentősen kibővült. A molekuláris biológia és molekuláris genetika robbanásszerű fejlődése pedig lehetővé tette a karcinogenezis (onkogenezis) és a daganatos progresszió folyamatában kulcsszerepet játszó molekuláris események megismerését. Ez pedig megnyitotta az utat új, célzottan a daganatnövekedés és -progresszió tekintetében kulcsfontosságúnak bizonyult faktorok, jelátviteli utak, enzimek, folyamatok (növekedésfaktor-receptorok, pl. EGFR, tirozinkináz, angiogenezis, stb.) gátlására irányuló szerek kifejlesztéséhez. Így az onkológiában beköszöntött a „molecular targeted therapy”, a célzott kemoterápia és annak konvencionális kemoterápiás szerekkel és/vagy sugárterápiával való kombinációban történő alkalmazásának korszaka, és mutatkoznak az egyénre szabott és a gén-terápia beköszöntésének előjelei is (3, 18, 43, 44, 70).

Az elért sikerek mégis korlátozottak és korántsem tekinthetők kielégítőnek (44). A jelenleg rendelkezésre álló és alkalmazott kemoterápiás szerek ugyanis különböző toxikus mellékhatásokkal járnak (19), és velük szemben a ráksejtek előbb-utóbb rezisztenssé válnak, multidrug-rezisztenciát fejlesztenek ki. A szerek kombinált alkalmazása és más, még összetettebb kezelési formák alkalmazása pedig elkerülhetetlenül fokozza a kezelésekkel járó toxikus mellékhatásokat (19). Nagy szükség van tehát új, mellékhatással nem, vagy csak enyhébb mellékhatásokkal járó, s olyan gyógyszerek kifejlesztésére, amelyekkel szemben nem (vagy csak nehezen) alakulhat ki gyógyszer-rezisztencia.

E tekintetben új út látszik megnyílni azáltal, hogy felismerték, hogy az ún. antimikrobiális peptidok (AMP) közül sok citotoxikus hatást fejt ki számos különböző ráksejt-féleséggel szemben, még olyanokkal szemben is, amelyeknél már multidrug-rezisztens fenotípus alakult ki, miközben jelentős hányaduk a szervezet nem rákos, normális sejtjeire ugyanazon dózisban nem toxikus (2, 10, 14, 22, 40, 68).

Antimikrobiális peptidok termelése mikrobáktól hemzsegő világunkban az élő szervezetek ősi és az evolúció során minden speciesben mindmáig megőrződött védekezési módja, mely a növény- és állatvilágban egyaránt igen elterjedt jelenség. E kis peptidok a védekezés első vonalban bevetett fegyverei. Először észlelt és leírt alapvető közös sajátosságuk az in vitro megfigyelt direkt baktériumpusztító hatás, mely in vivo is érvényesül, ezért e peptidokat először antibakteriális peptidoknak nevezték el. Hamarosan az is felismerésre került, hogy nem csak baktériumok elölésére, hanem gombák, burokkal

rendelkező vírusok és protozoák károsítására is képesek, ezért antimikrobiális peptidoknak (AMP) nevezték el őket. Majd nemsokára azt is felismerték, hogy e peptidok az antimikrobiális hatásukon kívül sok más – a gazdaszervezet védelmét szolgáló – aktivitással is rendelkeznek. Többek között képesek a baktérium-toxinok neutralizálására. Immunrendszerrel rendelkező specieken pedig az immunrendszer első barrierjét képezik és jelző (signaling), mozgósító molekulaként szolgálnak az immunrendszer különböző effektor sejtjei számára. Ily módon e peptidok nem csak a veleszületett, természetes, hanem a szerzett (adaptív) immunvédekezési folyamatokban is fontos szerepet játszanak. Képesek a veleszületett és szerzett immunvédekezési folyamatok beindítására, modulálására és koordinálására. E felismerések alapján az antimikrobiális peptid elnevezést egyre inkább a gazdavédő peptid (host defence peptide, HDP) elnevezés váltja fel az irodalomban (23, 28, 29, 54, 90). E peptidok jellegzetességeiről, élettani, kórtani jelentőségéről magyar nyelven is olvasható áttekintő közlemény az Orvosi Hetilapban (28, 29), ezért itt csak legfontosabb sajátásaik rövid összefoglalására kerül sor.

Az antimikrobiális/gzavédő (AMP/HDP) peptidok közös jellemzője, hogy rövidnek (általában 12–45, kivételesen maximum 100 aminosavból állnak), kis molekulásúlyúak (3–5 kDa), kationosak, pozitív töltésűek (+2–+7 között). További jellemzőjük, hogy amfofil tulajdonságúak, hidofil és hidrofób oldaluk is van, ami képessé teszi őket, hogy vizes környezetben oldódjanak, ugyanakkor arra is, hogy lipidgazdag membránokba lépjenek. Ha pedig e peptidok egyszer a cél-mikrobák membránjába beléptek, azokat membránjuk különböző mechanizmusok által történő felszakítása révén elpusztítják (23, 28, 29). Az AMP-knek fontos tulajdonsága az is, hogy közülük sok a ma használatos antibiotikumokkal szemben rezisztenssé vált mikrobákkal szemben is hatásosnak bizonyult (23). Éppen ez váltott ki irántuk egyre növekvő érdeklődést. Napjainkig – különösen az utóbbi években – sok száz ilyen peptidet izoláltak a legkülönbözőbb fajokból, az egysejtű mikroorganizmusoktól a növényeken, rovarokon, gerincteleneken, kétélűeken, madarakon és halakon át az emlősökig, az embert is beleértve. Ugyancsak sok ezret pedig szintetizáltak (23, 75, 80).

Mint már utalás történt rá, az 1970-es évek végén felismerték, hogy különböző baktériumok által termelt antimikrobiális peptidok, az ún. bakteriocinek egy része különböző daganatos sejtvonalak növekedésére gátló hatást fejt ki, sőt azokat elöli (10). A későbbiekben a legkülönbözőbb speciestek által termelt antimikrobiális peptidok (AMP-k) között találtak számos olyat, amelyek ráksejtekkel szemben citotoxikusnak bizonyultak (22, 40, 51, 61). Az ilyen peptidokat külön névvel illették: „rákellenes”, „anticancer” peptidoknak (ACP) nevezték el. Kiderült, hogy e rákellenes aktivitással rendelkező kationos antimikrobiális peptidoknak hatásspektrumuk alapján két osztálya különíthető el. Az első osztályba azon AMP-ket sorolják, amelyek igen hatékonyak a

mikrobákkal és különböző ráksejtekkel szemben, de nem toxikusak a normális emlőssejtekkel szemben, vagyis a ráksejtekkel szemben szelektív citotoxikus hatással rendelkeznek. A második osztályba pedig azon AMP-k sorolhatók, amelyek mikrobákkal, ráksejtekkel szemben igen hatékonyak, de – ha kisebb mértékben is – citotoxikusak a nem rákos emlőssejtekkel szemben is (60, 73). Az első osztályba sorolt ACP-eket az irodalomban a tumorsejtekre kifejtett szelektív citotoxikus, citolitikus hatásukra utalva ACP_{ct} (anticancer peptides with selectivity to tumour cell lines) megjelöléssel, míg a második osztályba tartozókat általános citotoxikus voltukra utalva ACP_{gt} (anticancer peptides with general cytotoxicity) megjelöléssel látták el (12).

A RÁKSEJTEKRE CITOTOXIKUS PEPTIDEK ÉS PEPTIDOMIMETIKUMOK KÜLÖNBÖZŐ CSOPORTJAI

Fontos hangsúlyozni, hogy jelen ismereteink szerint az antimikrobiális peptideknek (AMP-knek) csak kis hányada rendelkezik ráksejtölő képességgel. Ráksejtölő aktivitással rendelkező peptidek viszont a legkülönbözőbb szerkezetű AMP-k között találhatók. Napjainkban az irodalomban a ráksejtölő aktivitással rendelkező AMP-eket, tehát az ACP-eket az 1. táblázatban látható csoportosításban tárgyalják (22).

α-helikális szerkezetű ACP-k

Az α-helikális szerkezetű, ráksejtölő aktivitással rendelkező peptidek közös vonása, hogy oldatban α-helikális szerkezetet vesznek fel és N-terminális részük amfipatikus, míg C-terminális részük erősen hidrofób természetű. Ide tartozik a BMAP-27 és BMAP-28, a cecropin A és B, a cathelicidin (LL-37/hCAP-18), a magaininek és más kétéltű-eredetű ACP-k, valamint a melittin (22).

A BMAP-27 és BMAP-28 szarvasmarha cathelicidinből származó, 27 illetve 28 aminosavból álló peptidek. Ezek alacsony mikromoláris koncentrációban különböző humán leukaemia-sejtvonalakon a sejtmembrán permeabilizációját idézték elő és Ca⁺⁺ beáramlását váltották ki, melyet apoptózisra jellemző DNS-fragmentáció követett (69). Alacsony koncentrációban e peptidek csak a proliferáló sejtekre citotoxikusak, magasabb (30 μM vagy nagyobb) koncentrációban azonban a humán neutrofilekre és vörösvértestekre is citolitikus hatásának bizonyultak, ami terápiás célra történő alkalmazásukat erősen korlátozza (77).

A cecropin A-t és B-t eredetileg rovarokban írták le, de később emlősökben is kimutatták jelenlétüket. Oldatban olyan másodlagos szerkezetet öltenek fel, melyre két α-hélix jelenléte jellemző. Az egyik cecropin-analóg, a cecropin B1 erős citotoxikus aktivitást fejtett ki számos leukaemiás sejtvonalra olyan koncentrációk-

ban, amelyek a normális fibroblasztokra és vörösvértestekre nem voltak litikusak (6, 22).

A humán cathelicidin (LL-37/hCAP-18) mikromoláris koncentrációban antimikrobiális hatású Gram+ és Gram- mikrobák ellen. Citotoxikus a ráksejtekre is, de más AMP-ktől eltérően kissé magasabb koncentrációban normális eukarióta sejtekkel szemben is toxikus és vörösvértestekre is litikus hatásának bizonyult (77). A hCAP-18 C-terminális 109–135 aminosav-residuumból álló fragmentumáról viszont leírták, hogy száájüregi laphámrák-eredetű sejteken apoptózist indukál mitokondrium-depolarizáció révén, anélkül, hogy kaspáz-3-aktiválódás detektálható lenne (22, 77). Hangsúlyozandó, hogy míg az LL-37 citotoxikus a vér normális perifériás limfocitáira és jelentős hemolitikus hatással is rendelkezik, addig a fentebb említett fragmentum, a hCAP-18_(109–135) semmiféle toxikus hatást nem mutatott gingivális fibroblasztokon és a HaCAT nevű humán keratinocita-sejtvonalon, ezért, úgy tűnik, további vizsgálatra érdemes. Alátámasztja ezt az a megfigyelés is, miszerint ha immunterápiás próbálkozásként Toll-like receptor ligandumokkal (CpG-oligonukleotidokkal) kezelt, ovariumtumort hordozó egerek kezelését LL-37-tel való kezeléssel is kiegészítették, sokkal jobb tumorelles hatást kaptak, és a kombinált kezelés a tumort hordozó egerek túlélését szignifikánsan meghosszabította (8, 22).

A magaininek és más kétéltű-eredetű ACP-k. A kétéltűek bőrváladéka közismerten gazdag AMP-kben; közülük számosról közölték, hogy in vitro humán ráksejtekre szelektív citotoxikus hatást fejtenek ki. Ilyenek a magaininek, az aurein 1.2, a citropin 1.1 és a gaegurinek, de ilyenek bizonyos magainin-analógok is. Közülük legtöbbet az afrikai körmös béka (*Xenopus laevis*) bőréből kinyert magainineket tanulmányozták (22, 85). Számos magainin-analógot szintetizáltak is, melyek közül több a daganatos sejtekre a natív magaininnél erősebb citotoxikus hatást fejtett ki. A magainin 2 szintetikus analógjai (magainin A, B és G) közül a legcitotoxikusabbnak a magainin B, míg a ráksejtekre legszelektívebb hatásának a magainin G bizonyult. Ezek a vérképzőrendszeri és solid tumorokból kialakított sejtvonalak gyors lízisét okozták a magaininnek az emberi perifériás vér limfocitáira és neutrofileire toxikus dóziséknál 5–10-szer alacsonyabb koncentrációban (11, 25). A magainin A-t és G-t úgy tervezték és alakították ki, hogy azok fokozott α-helikális potenciállal és alacsonyabb hemolitikus aktivitással rendelkezzenek. Ezek gyógyszerreztens ráksejtvonalak proliferációját mikromoláris koncentrációban is gátolni tudták (az átlagos IC₅₀ 9 μM körül mozgott) (53). A magainin 1-ről pedig kimutatták, hogy a HL-60 humán promyelocytás leukaemiás sejtek apoptózist idézi elő. Jelenleg azonban még nem teljesen tisztázott, hogy a magaininek elsődleges membránlízis vagy apoptózis révén ölik-e meg a ráksejteket. Előállítottak olyan fokozottan amfipatikus α-helikális szerkezettel rendelkező magainineket is, amelyek egyike (MSI-136) tisztán

1. táblázat. A ma ismert fontosabb rákellenes peptidek osztályozása*

Peptid	Forrás	Töltés**	Rákellenes aktivitás
<i>α-helikális peptidek</i>			
BMAP-27 és BMAP-28	szarvasmarha (Bos taurus)	+7	membránlízis
Cecropin A és B	selyemlepke (Hyalophora cecropia)		pórusképzés
LL-37	ember (Homo sapiens)	+6	membránlízis
Magaininek és más kétéltű-eredetű peptidek	kétéltűek (Amphibia)	+3	membránlízis apoptózisindukció
Magainin 2	Xenopus laevis		
Gaegurinek	Rana rugosa		
Aurein	Litoria raniformis		
Citropin 1.1	Litoria citropa	+3	membránlízis
Melittin	mézelő méh (Apis mellifera)	+6	membránlízis, foszfolipáz A- és D-aktiválás
<i>β-lemezes peptidek</i>			
Defensinek			
Humán neutrofil peptidek HNP-1–3	neutrofilek, tej, nyál		membránpermeabilizáció
Lactoferricin			
Lactoferricin B	tehén (Bos taurus) tej	+8	membránlízis, apoptózisindukció, angiogenezis-gátlás
Tachyplesin I	lópatkó-rák (Tachypleus tridentatus)	+6	hialuronsav-kötődés, komplementaktiválás, angiogenezis-gátlás, differenciációindukálás
<i>Lineáris peptidek</i>			
PR-39	sértés vékonybél, neutrofil		syndecan-1-expresszió indukálása, SH3-tartalmú proteinek modulálása
<i>Hibrid és szintetikus peptidek</i>			
Cecropin-alapú szintetikus peptidek			
P18			citolízis
Diaszteromerikus és más szintetikus peptidek			
(KLAKLAK) ₂			angiogenezis-gátlás

*Hoskin DW, Ramamorthy A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. Biochim Biophys Acta 1778:357–375, 2008 (22) alapján; **neutrális pH-nál

balraforgató, L-aminosavakból, míg a másik (MSI-238) tisztán D-aminosavakból állt. Ezek a természetes magainin 2-nél erősebb citotoxikus hatást fejtettek ki in vitro humán tüdőráksejtekkel szemben és az ovarialis teratocarcinómával beoltott immundeficiens egerek túlélését meghosszabbították; a D-aminosavakból álló analóg (MSI-238) hatékonyabbnak bizonyult. Egy másik, ugyancsak D-aminosavakból álló analóg (MSI-511) pedig melanomasejtekkel szemben bizonyult erősen citotoxikusnak in vitro olyan koncentrációkban, melyek a normális melanocitákat nem károsították. Szubkután humán melanoma-xenograftothordozóimmundeficiens

egerekben pedig az MSI-511 intratumorális adagolása a melanomasejtek teljes elpusztításához vezetett (78). Ez arra utal, hogy proteázrezisztens magainin-analógok emberben is hasznosíthatók lehetnek a melanoma lokoregionális terápiájában.

A kétéltűek bőréből kinyert rákellenes AMP-k másik csoportját egy koreai békafajta (Rana rugosa) bőréből izolált ACP-k, a gaegurinok képezik. Ezeknek is több szintetikus analógját állították elő. Közülük különösen a 24 aminosavból álló gaegurin 5 és 6 rendelkezett igen szelektív citotoxikus hatással számos különböző humán ráksejtvonallal szemben. A gaegurin 6 és szinte

tikus analógjai közül különösen a PTP7 analóg szelektív citotoxikus hatást fejtett ki MCF-7 emlőráksejt vonal multidrug-rezisztens variánsaival szemben is (22, 27). Egy ausztráliai békafajta (*Litoria raniformis*) bőréből kinyert, 13 aminosavból álló aurein 1.2 pedig 60 humán ráksejt vonal közül 57-tel szemben bizonyult mérsékelten citotoxikusnak és magasabb (100 µg/ml) dózisban alkalmazva elpusztította csaknem az összes daganatsejtet. Ugyanakkor e dózisban sem lizálta a vörösvértesteket (22). A levelibéka (*Litoria citropa*) bőréből izolált 16 aminosavból álló citropin 1.1 is citotoxikusnak bizonyult a daganatos sejtvonalak széles skálájával szemben olyan koncentrációkban, amelyek nem idéztek elő jelentősebb vörösvértestlízist (22).

Melittin. Az európai mézelő méh (*Apis mellifera*) mérgének fő komponensét képező, 26 aminosavból álló alkalikus polipeptid litikus hatású rákos és normális sejtekre, így a vörösvértestekre is. Mindenesetre az L1210 leukaemiasejtek sokszorosan érzékenyebbek bizonyultak iránta, mint az egerekből nyert lépsejtek (splenociták) és csontvelősejtek. Különböző eljárásokkal próbálkoztak a daganathoz célzottan történő eljuttatását elérni. Többek között melittin alapú génterápia modelljét is kialakították. A melittin gén adenovírus-mediált és α -fötóprotein promotor kontrollja mellett történő átvitele Bel-7402 humán májráksejtbe in vivo is – májrák-xenograftot hordozó immundeficiens egerekben – a daganatnövekedés drámai gátlását eredményezte (34). Tumorspecifikus antitestek is használhatók a melittinek tumorsejtbe történő célbajuttatására. Leírták, hogy melittinszerű peptidet tartalmazó immunkonjugátum adagolása meghosszabbította a humán prostatarák-xenograftot hordozó immundeficiens egerek túlélését (71). Nem kétséges, hogy a melittin és más ACP-k tumoros góckhoz való célzott eljuttatására irányuló kutatások a rákterápia javítását célzó próbálkozások érdekes és izgalmas területét képezik napjainkban.

A β -lemezes szerkezetű ACP-k

Ezeknek a ciszteinben és argininben gazdag, 29–45 aminosavból álló, 6 cisztein-residuomot tartalmazó AMP-knek jellegzetessége, hogy C- és N-terminális régióik 3 diszulfidhíddal vannak összekötve, miáltal ciklikus 3 fonatú amfofil β -lemezes struktúrát alkotnak térben jól elkülönülő hidrofób és hidrophil régiókkal (22).

A β -lemezes szerkezetű AMP-k között is számos olyan van, amelyek egér- és humán tumorsejtekre citotoxikus hatásúak (50). Maguk a humán neutrofil peptidek (HNP-1–3), az α -defensinek is több daganatsejtféleségre citotoxikusnak bizonyultak, és úgy vélik, elektrosztatikus hatás által mediált membránhoz kötődés és csatornaképző képességük révén fejtik ki e hatásukat (46). Még DNS-károsító hatást is megfigyeltek részükről. Leírták azt is, hogy a tumorfejlődés során ezen α -defensinek az endothelsejtek $\alpha_5\beta_1$ integrintől függő migrációjának és fibronectinhez való kitapadásának gátlása révén

(nem eléggé tisztázott mechanizmus által) gátolják a neovaszkularizációt is. Emellett a HNP-1 és HNP-3 gátolja az endothelsejtek vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) által kiváltott proliferációját is apoptózis indukciója révén (5). Azt is leírták, hogy a humán α -defensin-1 (HNP-1) gátolja a csupasz (nude) egerekbe oltott humán tüdő-adenocarcinoma xenograft növekedését (89). A humán defensinek klinikai hasznosíthatóságát azonban az a körülmény megakadályozza, hogy hatásuk nem tumorszelektív, a normális humán leukociták, epitheliális sejtek és fibroblasztok lízisét is kiváltják (22, 33). Klinikai hasznosíthatóságukat akadályozza az is, hogy a szérum erősen gátolja citosztatikus aktivitásukat (22).

E csoportba tartozik a lactoferricin is, mely az emlős lactoferrin savas-peptides hidrolízise során képződő vaskötő protein, s amely jelen van a neutrofilek szekréciós granulumaiban és a szervezet által szekretált folyadékokban: a tejben és a nyálban. A tehéntejből izolált, 25 aminosavból álló lactoferricin, az LfcinB két cisztin-residuomot és diszulfidkötést is tartalmaz és vizes oldatban csavart β -lemez konfigurációt ölt. Ez sok különböző egér- és humán ráksejt vonal ellen citotoxikus aktivitást mutatott, miközben nem fejtett ki lényeges hatást normális fibroblasztokra, epitheliális- és endothelsejtekre és a vörösvértestekre (22, 39). Az LfcinB ráksejtek elleni citotoxikus aktivitása nagymértékben függ a peptid amfipatikus szerkezetétől és magas pozitív töltésétől. A LfcinB a ráksejtmembránokhoz kötődik, megbontja annak integritását, transzmembrán pórus kialakulását hozza létre, behatol a ráksejtek citoplazmájába és a negatív töltésű mitokondriumokkal is interakcióba lép (15, 38). Újabban e peptidről azt is kimutatták, hogy in vitro elnyomja a humán endothelsejtek fibroblaszt növekedési faktor (bFGF) által valamint a VEGF által indukált proliferációját és migrációját. Kimutatták továbbá, hogy egerekbe szubkután beültetett Matrigel esetében interferál a bFGF és VEGF indukálta angiogenezissel, azáltal, hogy verseng azokkal az endotheliális sejtek felszínén lévő növekedésifaktor-receptorral társult heparánszulfát-proteoglikánokhoz való kötődésért. Egerekben B16-BL6 melanoma esetében gátolta az érképződést. In vivo tumorprogressziót gátló hatásáról azonban még nem rendelkezünk elegendő ismerettel.

A lópatkó alakú rák (*Tachypleus tridentatus*) hemocitáiból izolált kationos antimikrobiális peptid, a tachypleusin I, mely 17 aminosavból áll és két diszulfidkötéssel összetartott két antiparallel β -lemezt képez (47), ugyancsak citotoxikusnak bizonyult több ráksejtféleséggel szemben. Ezt a hatását pedig igen sajátos mechanizmus révén, a daganatsejtek felszínén többnyire túlexpresszált hialuronsavhoz, valamint a komplement C1q-hoz való egyidejű kötődése révén fejtik ki, a daganatsejtek mintegy komplement-mediált elpusztítását idézve elő ily módon. Tekintettel arra, hogy a hialuronsav a tumorsejtek felszínén sokkal erősebben expresszált, mint a normális szövetek sejtjeinek felszínén, citotoxikus hatása utóbbiakat nem érinti. A

tachyplesin I és szintetikus analógja azonban más mechanizmusok révén (komplement-mediált destrukció, kaspázfüggő apoptózis) is gyakorol hatást a daganatsejtekre (7). Kimutatták, hogy egyebek között egyes onkogének (pl. c-myc) expresszióját csökkenti, míg a tumorsuppresszor p21^{WAF/CIP} expresszióját fokozza (57), s így in vitro a tumorsejtek differenciálódását, a daganatos fenotípus visszafordítását is képes előidézni. Megjegyzendő azonban, hogy magasabb koncentrációknál a vörösvértestek membránjában lévő neutrális lipidekkel is kölcsönhatásba lép és hemolízist okoz (22).

Lineáris ACP-k

A lineáris (másodlagos struktúrát nem formáló) rákellenes peptidek közül a PR-39 érdemel említést. Ez a cathelicidin család egy prolinban és argininben gazdag tagja, melyet eredetileg sertés-vékonybélből izoláltak, majd azt a sertések neutrofiljeiben is megtalálták. Ráksejtellenes aktivitását az eddigi vizsgálatok eredményei szerint két módon fejt ki. Egyrészt a syndecan-1 fokozott expresszióját indukálja a daganatos sejtek felszínén, mely azok inváziós aktivitásának csökkenésével jár (22), másrészt receptorfüggő módon a sejtmembrán permeabilizálása nélkül gyorsan bejut a citoszolba, ahol a sejtek jelátvivő folyamataiban kulcs szerepet játszó SH3-at hordozó proteinek aktivitását csökkentve fejt ki hatását (2, 22).

Hibrid és szintetikus ACP-k

A hibrid és szintetikus rákellenes hatású peptidek egyik csoportját a cecropin A-ra alapozott hibrid ACP-k, másik csoportját pedig a diasztereomerikus és egyéb szintetikus rákellenes peptidek képezik. Az utóbbi években sok törekvés történt arra, hogy természetes eredetű rákellenes hatású peptidek (ACP-k) kedvező tulajdonságait hibrid molekulákban egyesítsék. A törekvések különösen arra irányultak, hogy a cecropin A N-terminális pozitív töltésű, α -helikális régióját a melittin és/vagy a magainin N-terminális α -helikális hidrofób régiójával kombinálják (22, 76). A különböző aminosav-szubsztitúciókat tartalmazó analógokkal végzett vizsgálatok során nyert tapasztalatok szerint e hibrid peptidek citolitikus aktivitásának meghatározásában kulcsfontosságú tényező azok alakzatbeli flexibilitása (76). Ez teszi lehetővé ugyanis, hogy e peptidek kationos N-terminális α -hélice a sejtmembránhoz, azzal párhuzamosan rendeződjön, s vele kölcsönhatásba lépjen, miközben e peptidek C-terminális α -hélice pedig befürödik a sejtmembránba és ezáltal kiváltja a sejtek lízisét. Egy P18 nevű α -helikális hibrid ACP különösen szelektív citotoxikus aktivitást fejtett ki különböző humán ráksejtekre, anélkül, hogy hemolitikus hatást és a normális sejtekre citotoxikus hatást fejtett volna ki (22). A P18-hoz és analógjaihoz hasonló hibrid ACP-k terve-

zése és előállítására fontos előrehaladást eredményezhet új rákellenes szerek felkutatására, majd gyógyszerre történő fejlesztésére irányuló törekvések terén (22).

A szintetikus analógok hatékonyságának javítását többek között D-aminosavak használatával, valamint a szelektivitás-aktivitás növelése érdekében membránpenetráló szekvenciák, illetve a peptidek oligomer struktúrájának stabilitását fokozó fluorozott aminosavak beépítésével, továbbá a peptidek glikozilálásával igyekeznek elérni. Ennek kapcsán születtek is biztató eredmények például célzó (targeting) domáinok pro-apoptotikus peptiddel (KLAKLAK)₂ történő összeépítése révén nyert szintetikus peptiddel. Leírták, hogy az így nyert peptid új érzékeléssel járó körülmények között citotoxikus az endothelsejtekre, így a daganatfejlődés vagy -progresszió során az ér-hálózat kialakulását gátolja, míg új érzékeléssel nem járó angiosztatikus állapotokban az endothelsejteket nem károsítja. E peptid szisztémás adagolásával humán emlőrákot hordozó immundeficiens egerekben a daganatvolumen drámai csökkenése mellett a túlélés szignifikáns meghosszabbodását is észlelték és leírták (22). Biztató azon megfigyelés is, miszerint egyes ráksejtre citotoxikus peptidek és konvencionális daganatellenes gyógyszerek kombinált alkalmazása esetén szinergisztikus hatás mutatkozott (22).

A természetes gazdavédő és rákellenes hatású peptideknél hatékonyabb derivátumok, peptidomimetikumok után kutatva Held-Kuznetsov és munkatársai (20) változó töltésű, hidrofobicitású és különböző hosszúságú vázzal rendelkező acililízil-oligomereket állítottak elő, majd azokat két prostatarák-sejtvonalon valamint kontrollként primer humán fibroblaszt-tenyészeteken vizsgálták. Az egyik 11-mer szekvencia, melyet α_{12} - β_{12} -nek nevezték, gyorsan fellépő szelektív citotoxikus hatást fejtett ki ráksejtekkel szemben. TRAMP-C2 prostataráksejtekkel beoltott egerekben mind lokális (intratumorális), mind szisztémás (iv.) adagolás esetén szignifikánsan gátolta a daganatnövekedést és -progressziót, doxorubicinnal együtt adagolva pedig a tumor teljes kiirtásához vezetett. E vizsgálatok meggyőzően bizonyították, hogy gazdavédő (HDP) peptidomimetikumok előállítására révén egyszerűbb (58), mégis erőteljesebb hatású rákellenes szerek fejleszthetők ki. Az ilyen oligomerek áthatolnak a sejtmembránra és több intracelluláris célponttal, köztük a mitokondriumokkal, lizoszómákkal kerülnek kölcsönhatásba, s több célpontra kifejtett hatásuk révén még azzal a kulcsfontosságú sajátossággal is rendelkeznek, hogy nem csak a proliferáló, hanem a nyugvó ráksejtekkel szemben, sőt a gyógyszerrezisztenssé vált ráksejtekkel szemben is hatékonyak (20).

Egy másik sikeresnek mutató megközelítés arra irányul, hogy a pro-apoptotikus peptidek által okozott csendes, nem immunogén sejthalált immunogén sejthalállá változtassák (52). E törekvés képviselői ugyanis korábbi vizsgálataik eredményei alapján úgy tartják, hogy a rákterápiás kezelések (kemo- és sugárterápia) annál ered-

ményesebbek, minél jobban képesek az elhaló ráksejtek felszínén immunogén jegyek kiváltására, indukálására és ezáltal olyan erős specifikus rákellenes immunreakció kiváltására, amely az implantált tumor teljes kiirtását eredményezi. Obeid (52) munkatársaival végzett korábbi, az immunogén jegyek molekuláris alapjainak megismerésére irányuló vizsgálatok során azt is megállapította, hogy a kemo- és sugárterápia által okozott immunogén természetű sejthalál esetén az elhaló ráksejtek immunogén voltát és annak erősségét a calreticulin (ectocalreticulin) sejtfelszínen történő expressziójának mértéke határozza meg. S valóban, rekombináns calreticulin hozzáadásával sikerült a már ismert pro-apoptotikus peptidek (16, 41) által előidézett, csendes nem immunogén – csekélyfokú ectocalreticulin-expresszió által jellemzett – sejthalált immunogénné alakítaniuk. Majd azt is megállapították, hogy a calreticulin sejtfelszínre történő transzlokációja együtt történik az ezt elősegítő fehérje (ERP57) áthelyeződésével. A calreticulin és ERP57 sejtfelszíni expressziója tehát együttes transzlokáció eredménye, melyet a PP1/GADD34 komplex, pontosabban a PP1 és GADD34 kölcsönhatásának gátlása mozdít elő.

Ezek ismeretében Obeid (52) célul tűzte ki egy olyan, a PP1/GADD37 komplexet gátló, s így a calreticulin sejtfelszínre történő transzlokációját elősegítő peptid előállítását, amely szelektíven a ráksejtekre irányul, hogy azzal az ugyancsak célzottan a ráksejtekre ható pro-apoptotikus peptidek által kiváltott nem immunogén sejthalált immunogénné tegye. Ki is alakított ezért kétféle kiméra peptid-családot: a ráksejtekre célzott, ectocalreticulin-expressziót indukáló peptidek és az ugyancsak a ráksejtekre célzott pro-apoptotikus peptidek családját. Ezt követően in vitro vizsgálatokban igazolta, hogy e két peptidcsalád tagjai egyedül nem, csak együttesen alkalmazva növelik meg a különböző daganatsejtvonalak sejteiben az ectocalreticulin és az ERP57 expresszióját, ugyanakkor együttes alkalmazás esetén e peptidek a pro-apoptotikus peptidek által egyébként szokványosan okozott nem immunogén vagy csekély immunogenitású sejthalált erős immunogenitásúvá alakítják. In vivo pedig a két kiméra peptid kombinált adagolása a különböző daganatokkal, colon- és emlőrákkal illetve prostata-adenocarcinomával beoltott egerekben jelentősen csökkentette a daganatnövekedést és szignifikánsan meghosszabbította a tumoros egerek túlélését. Az ectocalreticulin-expressziót indukáló peptid konvencionális kemoterápiás szerekekkel történő kombinált adagolása utóbbiak hatását is jelentősen fokozta. Az észlelt előnyös hatásokat eredményező hatásmód részleteiről Obeid cikkében (52) olvashatunk. Az itt csak nagy vonalakban ismertetett kísérletekben kapott eredmények mindenesetre mutatják, hogy a pro-apoptotikus peptidek által kiváltott nem immunogén sejthalált az ectocalreticulin-expressziót indukáló peptidek képesek immunogén sejthalállá alakítani s ezáltal azok rákellenes hatékonyságát jelentősen javítani, amely humán vonatkozásban is specifikusabb és hatékonyabb rákterápia kialakításának reményével kecsegtet.

A RÁKELLENES PEPTIDEK HATÁSMÓDJÁRA VONATKOZÓ ISMERETEK

A ráksejtekre citotoxikus AMP-k hatásmódjára vonatkozó ismereteink még meglehetősen hiányosak, de azok megértéséhez is nélkülözhetetlen az AMP-k mikrobaölő hatásának mechanizmusára vonatkozó – előbbinél sokkal teljesebb – ismeretek rövid áttekintése.

Az AMP-k mikrobaölő hatásukat alapvetően a mikrobák membránjának közvetlen, súlyos és igen gyorsan előidézett, irreverzibilis károsítása révén fejtik ki, mely azok pusztulásához vezet, bár közöttük számos olyan is van, amely más hatásmódokkal is rendelkezik (23, 28, 29).

A mikrobamembránok AMP-k által történő permeabilizálásának, felbomlasztásának módját illetően többféle modell (szőnyeg-modell, molekuláris elektroporációs modell) és mechanizmus (hordódonga, toroidális pórus, detergens-szerű) került leírásra. Ezekről részletesebb információt több összefoglaló cikkben találhatunk (23, 28, 29, 74). Hangsúlyozandó, hogy az antimikrobiális peptidek túlnyomó többsége szelektíven csak a mikrobák membránjára gyakorol károsító hatást, mikrobicid hatású koncentrációban az emlőssejtekre nem toxikus. Ennek magyarázatát a mikrobák és az emlőssejtek sejtmembránjának eltérő összetétele és eltérő elektromos töltése képezi. A baktériummembránok olyan lipideket (foszfatidilglicerol, kardiolipin, foszfatidilszerin) tartalmaznak, amelyek révén a membránok negatív töltésűek. Az emlőssejtek membránja viszont túlnyomórészt neutrális töltésű, úgynevezett zwitterionos foszfolipidekből (foszfatidiletanolamin, foszfatidilkolin, szfingomielin) áll. A mikrobamembránok negatív töltésű lipidjei és a pozitív töltésű AMP-k közötti elektrosztatikus kölcsönhatás teszi lehetővé, hogy a kationos peptidek a mikrobák membránjához kötődjenek és kifejhessék hatásukat. A neutrális töltésű emlőssejtmembránok kevésbé vonzzák a kationos AMP-ket. Emellett az emlőssejtmembránban koleszterin is van, ami önmagában is megnehezíti, hogy az AMP-k permeabilisá tegyék, megbontsák a kettős lipidréteget is tartalmazó sejtmembránt.

Az AMP-k mikrobicid hatásának módját illetően azok pozitív töltése, amfipatikus volta játssza a kulcsszerepet. Az AMP-k amfipatikus sajátsága pedig a peptidek oldatba kerülése során specifikus másodlagos struktúrák (α -hélixek, β -lemezek vagy kiterjedt poliprolin-szerű hélixek) kialakulása révén fokozódik.

Bizonyos vonások (foszfatidilkolinban, foszfatidiletanolaminban való gazdagság, alacsonyabb töltés) gazdasejtmembránban való jelenléte esetén azonban az AMP-k hatására az eukariótasejtek membránja is károsodhat (17, 74).

Felmerül a kérdés, mi lehet a magyarázata annak, hogy az AMP-k egy része csak a ráksejtekre citotoxikus vagy azokra sokkal erősebben citotoxikus, mint a nem rákos, normális sejtekre? Milyen különbségek lehetnek a nem rákos és a rákos sejtek között, amelyek az utóbbia-

kat érzékenyebbé teszik a kationos gazdavidő peptidek ráksejtekre citotoxikus tagjaival, az ACP-kkel szemben? Az előzőkben ismertetésre került, hogy e peptidek mikrobaölő hatásában kulcsszerepet játszik az, hogy a bakteriumok, mikrobák felszíne erősen negatív töltésű. A ráksejtek membránja, ha nem is olyan mértékben, mint a mikrobáké, típusosan szintén negatív töltésű, mivel bennük bizonyos molekulák, mint a foszfatidilserin erősebben expresszáltak, mint a normális nem rákos sejtekben (17, 24, 81). A ráksejtek membránja azonban csak kis mennyiségben (3–9%) tartalmaz negatív töltésű foszfatidilserint, így csak enyhén negatív töltésű (6, 60). Ennek ellenére bizonyos kationos antimikrobiális peptidek toxikusabbak a ráksejtekre, mint a normális sejtekre (60).

Emellett sok ráksejt-féleség membránja O-glikolizált mucinokat (magas molekulású glikoproteinek) is tartalmaz, melyek vázát alkotó proteinhez a szerin és treonin hidroxilcsoportjai révén oligoszacharidák kötődnek (60). Ezek a glikoproteinek további járulékos negatív töltést eredményeznek a ráksejtek membránjának felszínén. A sejtfelszíni N- és O-kötésű glikánokon a terminális szíalsavak fokozott expresszióját jellegzetesnek írták le különböző rákok esetében (17). A ráksejtek membránjának glikoproteinjei és glikolipidjei a szíalsavak normális sejtkenél nagyobb mennyisége szintén hozzájárul a tumorsejtfelszín negatív töltésének növekedéséhez (17).

A sejtek felszínén proteoglikánok is expresszáltak, melyeket igen magas negatív töltésű glükózaminoglikánok (GAG-ok) jellemeznek. Feltételezték ezért, hogy a sejtfelszínen lévő GAG-ok is fokozzák a rákellenes peptidek (ACP-k) hatását. Ezzel kapcsolatban ellentétes eredményekre alapozott ellentétes nézetek találhatók az irodalomban (17). Egyesek szerint a sejtfelszínen lévő heparánszulfát (HS) csökkenti a rákellenes peptidek citotoxikus aktivitását. Úgy vélik, azért, mert a hosszú el nem ágazó HS-láncok elszeparálják a peptideket a sejtmembrán kettős lipidrétegétől és ezáltal akadályozzák meg azok citolitikus hatásának kifejtését (17). Mások (64) viszont vizsgálati eredményeik alapján ezzel ellentétben egyenesen azt állítják, hogy a sejtfelszíni proteoglikánok mintegy molekuláris kapuként szolgálnak a kationos peptidek és polimerek sejtekbe való belépése számára. A szerzők még arra is rámutatnak, hogy nem ez az egyetlen működő mechanizmus a kationos komplexek sejtekbe történő bejutásához, s különösen a syndecanok és glypicanok mediáló szerepének fontosságára hívják fel a figyelmet e vonatkozásban. Jelen ismereteink szerint az azonban bizonyos, hogy azok a kis anionos molekulák, amelyek a tumorsejtek membránjának kettős foszfolipid rétegéhez közel vannak, megkönnyítik és elősegítik a rákellenes peptidek (ACP-k) aktivitásának kifejtését.

A normális és a ráksejtek citolitikus peptidekkel szembeni eltérő fogékonyságának további magyarázata lehet az is, hogy a ráksejtek felszínén sokkal

több a mikrobolyhok, mikrovillusok száma, ami a tumorsejtek felszínét nagymértékben megnöveli, ami viszont nagyobb mennyiségű peptid kötődését teszi lehetővé (4).

Jelenleg mindenesetre általában úgy tartják, hogy a ráksejtekre citotoxikus ACP-k ráksejtölő hatásában a fő tényező a kationos ACP-k és az anionos ráksejtmembránok közötti elektrosztatikus kölcsönhatás (22, 81). Ezen elektrosztatikus kölcsönhatás következtében a legtöbb rákellenes peptid – csakúgy, mint az antimikrobiális hatás kifejtése során – a célsejtek (a ráksejtek) plazmamembránjával a „szőnyeg-modell” szerint párhuzamosan rendeződik, szőnyegszerűen beborítja azok felszínét, majd a sejtfelszínen felhalmozódó peptid bizonyos koncentrációs küszöbérték elérése után a plazmamembrán felrostdozódását („micellizáció”) eredményezi vagy a membránba való beékelődés és pórusképzés révén teszi azt permeabilissá és vezet a ráksejtek típusosan citolízis útján történő gyors halálához (55, 65). Eközben pedig a normális, nem rákos sejteket e peptidek – legalábbis az ACP-k ráksejtekre szelektíven citotoxikus osztályába tartozó tagjai (ACP_c) – megkímélik, mivel azok sejtmembránja a felépítésében résztvevő komponensek „zwitterionos” természete miatt neutrális töltésű. Így köztük és az ACP-k között nem lép fel elektrosztatikus kölcsönhatás (22).) Úgy vélik továbbá, hogy a ráksejteken belül uralkodó, a normális sejtkenél magasabb negatív feszültség is hozzájárul az AMP-k ráksejtekre szelektív litikus aktivitásához (11, 31, 60).

Egyes rákellenes AMP-k (ACP-k) viszont áthatolnak a sejtmembránon és az ugyancsak negatív töltésű mitokondriális membránok diszrupcióját idézik elő, s – nem pontosan tisztázott mechanizmus révén – a ráksejtek apoptózisát indukálják (16, 17, 55, 65). A ráksejtekbe behatoló peptidek azonban az útjukba eső jelátvivő proteinekre gyakorolt direkt vagy indirekt hatások révén (2, 21) megcélozhatják a tumorsuppresszor-géneket és onkogéneket is, de más sajátosan egyedi hatásmódról is olvashatunk (56).

Újabban került felismerésre és közlésre, hogy egyik, a humán NK-sejtek és citotoxikus T-sejtek (CTL) granulumaiban található peptid, a granulysin, mely tumorsejtekkel szemben igen hatékony citotoxikus aktivitással rendelkezik, előbbiektől egészen eltérő mechanizmus révén, nevezetesen a tumoros célsejtek lizoszómái tartalmának s benne a katepszin B-nek a citoszolba való kiszabadítása révén fejt ki sejtölő hatását a sejthalál egy új formáját, úgynevezett nekroptózt idézve elő (86).

A rákellenes peptidek (ACP-k) vázlatosan ismertett, de jól megalapozott biológiai aktivitásai azt sugallják, hogy az ilyen peptidek a jövőben terápiás értékkel bírhatnak mint rákellenes szerek, akár monoterápia formájában (20, 36), akár konvencionális kemoterápiás szerekkel vagy más potenciális rákellenes molekulákkal kombinációban adagolva (20).

MEGBESZÉLÉS

A leírtakból láthatjuk, hogy a kationos gazdavédő kis peptidek számos tagja *in vitro* és állatkísérletekben igen kifejezett és széles spektrumú ráksejtölő aktivitással rendelkezik. Hatásukat nem receptormediált úton fejtik ki (22, 40, 51, 68, 87). Többségük a ráksejtölő hatást a sejtmembrán integritásának megbontása révén, vagyis anélkül fejtik ki, hogy a sejtekbe behatolna, és a sejteket gyorsan elpusztítják, így csekély az esély velük szemben rezisztencia kialakulására. A rákellenes peptidek (ACP-k) egy része pedig a mitokondriális membránok felszakítása s azt követő apoptózis révén vezet a sejthalálhoz. Némely ACP a tumor progresszióját elősegítő új érképződést (az angiogenezist) is hatékonyan gátolja (22, 60). Egyes peptidek esetében pedig más sajátos egyedi hatásmód érvényesül (56).

Kedvező tulajdonsága e peptideknek, hogy nem csak a proliferáló, hanem a nyugvó, sőt az alvó ráksejtekre is hatnak. A konvencionális kemoterápiás szerekekkel szemben a rákellenes peptidek egy része (ACP_c) specifikusan csak a tumorsejtekkel szemben fejt ki citotoxikus hatást, tehát szelektíven csak a ráksejtekre hat.

Kisebb dózisban történő alkalmazás esetén azonban még az általános citotoxicitású ACP-k (ACP_g) is sokkal inkább károsítják a ráksejteket, mint a nem rákos normális sejteket (13, 40). Igen előnyös vonása a rákellenes peptideknek, hogy képesek a konvencionális kemoterápiás szerekekkel szemben rezisztenssé vált ráksejtek elölésére is (17, 26, 27, 65). További előnyös vonása e peptideknek, hogy a konvencionális rákellenes kemoterápiás szerekekkel kombináltan is alkalmazhatók, továbbá, hogy azok hatását nem csak addicionálisan, hanem sok esetben szinergikusan fokozzák, s toxikus mellékhatásaikat is csökkentik. Azt is kimutatták, hogy bizonyos ACP-k képesek különböző kemoterápiás szerek citotoxikus aktivitását fokozni multidrug-rezisztens tumorsejtekkel szemben is, vagyis a ráksejteket velük szemben újra érzékennyé teszik (11, 17, 26). Tumorhordozó egereken végzett vizsgálatok eredményei pedig jelzik, hogy bizonyos rákellenes peptidek potenciálisan alkalmazhatók *in vivo* is solid tumorok lokális kezelésére (7, 15, 17, 42, 59). Az ACP-k e kísérletesen jól megalapozott biológiai aktivitásai azt sugallják, hogy az ilyen peptidek a jövőben terápiás értékkel bírhatnak mint rákellenes szerek, akár monoterápia formájában (20, 35, 78), akár konvencionális kemoterápiás szerekekkel vagy más potenciális rákellenes molekulákkal kombinációban adagolva (8, 17, 20). Eddig ugyan igen korlátozottak az ez irányú eredmények, de kétségtelen, hogy az eddigi tanulmányok eredményei természetes eredetű, alapvetően új, széles spektrumú és olyan új hatásmódú rákellenes készítmények kifejlesztése felé nyitották meg az utat, amelyek alkalmazásával elkerülhető a multidrug-rezisztencia kialakulásának fenyegető réme, sőt a kísérleti eredmények szerint esetenként a már kialakult rezisztencia is megkerülhetővé válik. Ahhoz azonban, hogy az ilyen

peptidek, peptidkészítmények klinikailag ténylegesen hasznosíthatók lehessenek, még jó néhány problémát meg kell oldani. E peptidek humán és szisztémás alkalmazását ugyanis korlátozzák még bizonyos farmakológiai, farmakokinetikai sajátosságaik: gyenge stabilitásuk, a szérumproteázok iránti érzékenyséjük, rövid féléletidejük, szöveti eloszlásuk, nem mindig kellő specificitásuk, relatív toxicitásuk és antigenicitásuk. A vázolt kedvező biológiai aktivitásaik azonban egyre inkább arra ösztönzik a kutatókat, hogy e peptidek bizonyos sajátosságainak megváltoztatásával és/vagy derivátumok előállításával növeljék hatékonyságukat, elérjék nagyobb biztonsággal való adagolhatóságukat.

A polipeptidek fizikai sajátosságaiban rejlő korlátok leküzdésére s azok terápiás potenciáljának megjavítására fontos és ígéretes útnak látszik peptidderivátumok, peptidomimetikumok (17, 67) előállítása. Számos szintetikus peptidet, peptidomimetikumot állítottak elő antibiotikus és tumorelles hatásuk javítása, és a normális sejtek, főként a vörösvértestek ellen esetleg fellépő citolitikus aktivitásuk csökkentése céljából (80, 83). A peptidkönyvtárak előállítására és a kívánt hatású peptidek, peptidomimetikumok kiszűrésére és hatásuk kivizsgálására szolgáló technológiák terén a múlt évtizedben bekövetkezett robbanásszerű fejlődés eredményeként napjainkban már a peptidek és peptidomimetikumok százait-ezreit szintetizálják és vizsgálják nagy hatékonysággal biológiai hatásaik gyors megállapítására. Így nem véletlen, hogy napjainkban e peptidek és peptidomimetikumok tucatjai vannak már különböző betegségek ellen (köztük daganatok ellen is) klinikai kipróbálás stádiumában. Ezt az irányzatot a közeljövőben várhatóan jelentősen felgyorsítja és eredményesebbé teszi az a körülmény, hogy a technológia fejlődése, mindenekeelőtt pedig a nagy feloldású folyadék-NMR-vizsgálatok alkalmazásának elterjedése nyomán a membránproteinek strukturális biológiájára vonatkozó ismereteink rohamosan bővülnek, és a rákellenes ACP-k hatásmódjának molekuláris szintű tanulmányozására, valamint a proteinek, peptidek egymásközi és lipidekkel való kölcsönhatásának vizsgálatára is kiváló lehetőség nyílik (84). Pozitronemissziós tomográfias (microPET), valamint izotópos vizsgálatok is segíthetik az egyes gyógyszertmennyek hatásmódjának és szervezeten belüli eloszlásának jobb megismerését (49, 91). Az így szerzett ismeretek pedig a kitűzött cél megvalósítását még inkább szolgáló peptidek egyre racionálisabb megtervezését és előállítását teszik lehetővé.

Ugyanakkor azon módzatokra is van már reményt keltő eredménnyel járó tanulmány, amelyek révén e peptideket és/vagy peptidomimetikumokat a proteázok és peptidázok hatásával szemben is rezisztensebbé lehet tenni, jelentősen megnövelve stabilitásukat (63, 79). Tam (79) már az 1980-as években előállított elágazódó ún. multiple antigen peptideket, melyek már rendelkeztek ezekkel a tulajdonságokkal, s így stabilá válva alkalmassá váltak gyógyszerre való fejlesztésre. Vár-

ható tehát, hogy azok a hátrányos vonások, amelyek e peptidek és peptidomimetikumok *in vivo* szisztémás adagolását és klinikai alkalmazását mind ez ideig akadályozták, hamarosan leküzdhetővé válnak. Érdekes, s talán ígéretesnek mondható az a megfigyelés is, miszerint a polipeptidláncok háromdimenziós szerkezetének megváltoztatása, például redőik, hajlataik részleges felnyitása új funkciók megjelenésével járhat, melyek némelyike hasznosnak is bizonyulhat. Így nyertek a laktózsztézisben meghatározó szerepet betöltő humán alfa-lactalbuminból tumorsejtekre fatális hatású komplexet, melyet angol megnevezésének kezdőbetűi alapján HAMLET-nek neveztek el (62).

A litikus peptidek hormonligandumokkal való kötése és pro-peptidek előállításuk is módot ad a ráksejtek kedvezőbb célbavételére. Leírták, hogy litikus peptid-choriogonadotropin konjugátumok elpusztítják a primer tumort, megelőzik a metasztázisképződést és megelőzik az alvó tumorsejteket is, miközben nem károsítják a létfontosságú szerveket, nem antigén természetűek, és toxikusabbak a tumorsejtekre, mint a nem malignus sejtekre (32). Emellett arra is joggal gondolnunk kell, hogy a természetben membránra litikus peptidek, mint a védekezést szolgáló molekulák előfordulnak növényekben, rovarokban, gerinctelenekben, gerincesekben, és az emberben is, nem utolsósorban pedig a tengerek, óceánok fajtáiban gazdag élővilágának tagjaiban (32). Ezek még jórészt feltáratlanok, köztük még sok eddig ismeretlen rákellenes peptidre lelhetünk (66, 75). E helyen is említésre méltó és figyelmet érdemel ugyanakkor az is, hogy a kationos és amfofil sajátosság bizonyos peptidek számára azt is lehetővé teszi, hogy a membrán integritásának megbontása nélkül átjussanak biológiai membránokon (82). Ilyen sejtpenetráló peptid alkalmas lehet a hozzákötött gyógyszer citoplazmába juttatására, megnövelve annak biológiai hozzáférhetőségét (48). Végeztek is ilyen kísérletet: a doxorubicint kémiaiilag konjugálták az egyik ilyen sejtpenetráló peptiddel (penetratinnal), majd különböző ráksejtvonalakon (köztük gyógyszerrezisztens sejtvonalon is) összehasonlították a doxorubicin és a doxorubicin-peptid konjugátum intracelluláris eloszlását és citotoxicitását. Kiderült, hogy e gyógyszerkonjugátum citotoxikus hatása sokszorosan nagyobb volt a doxorubicinénál, vagyis a membránpenetráló peptid sejtvonalanként különböző mértékben (4,87–11,53-szorosan) megnövelte a doxorubicin citotoxikus hatását és alkalmasnak bizonyult a gyógyszer-rezisztencia áthidalására is (1).

A szóban forgó peptidek potenciális terápiás értékének mérlegelése során az sem hagyható figyelmen kívül, hogy azok többségéről az is bizonyított, hogy a tumorelles immunításban is szerepük van, és közülük több jelentős immunadjuváns aktivitással rendelkezik (72, 88, 90). Peptid-alapú rákellenes vakcinákkal próbálkoznak, de ezek klinikai vonatkozásban még nem jártak igazán eredménnyel (45).

Meg kell azonban említenem azt is, hogy újabb vizsgálatok szerint az AMP-k egyes tagjai, mint gyulladást

kiváltó molekulák, melyeket ezért alarminoknak is neveznek, a daganatok kifejlődésében és progressziójában promotor szerepet is játszhatnak. Felmerült ezért az a gondolat is, hogy az AMP-k nemcsak eszközei, hanem bizonyos tagjaik (az alarminok) akár célpontjai is lehetnek a jövőben a rákellenes terápiának (9).

KÖVETKEZTETÉSEK

E teljességre nem törekvő, és a részleteket szándékosan nem tárgyaló, áttekintő közleményben foglalt adatok alapján is levonható az a következtetés, miszerint bizonyított, hogy a gazdavédő peptidek, kationos antimikrobiális peptidek (HDP-k/AMP-k) számos tagja az antimikrobiális hatás mellett szelektív, vagy kevésbé szelektív citotoxikus hatással rendelkezik a ráksejtekkel szemben is. E rákellenes peptideknek (ACP-k) nevezett, s egyre népesebb peptidcsoport tagjai, melyek forrásukat és szerkezetüket tekintve igen heterogének, természetes eredetű gyógyszerek ígéretes új osztálya kialakításának alapját képezhetik. A kísérleti eredmények alapján várható az is, hogy a következő évtizedben olyan természetes eredetű, teljesen új hatásmechanizmusú, széles hatásspektrumú peptidekkel és/vagy az azok nyomán megtervezett szintetikus peptidomimetikumokkal gazdagodik a rákterápiás fegyvertár, amelyekkel el- és megkerülhető a konvencionális kemoterápia során fellépő korlátozó tényezők többsége, mindenekelőtt pedig a gyógyszer-rezisztencia kialakulásának veszélye. Ehhez azonban még e peptidek szisztémás adagolását gátló hátrányos vonásainak leküzdését szolgáló, további innovációkhoz vezető kutatásra van szükség.

IRODALOM

1. Aroui S, Brahim S, Kenani A. Cytotoxicity, intracellular distribution and uptake of doxorubicin coupled to cell-penetrating peptides in different cell lines: A comparative study. *Biochim Biophys Res Commun* 391:419–425, 2010
2. Bidwell GL 3rd, Raucher D. Therapeutic peptides for cancer therapy. Part I. Peptide inhibitors of signal transduction cascades. *Expert Opin Drug Deliv* 6:1033–1047, 2009
3. Bosc A, Peyrade F, Fischel JL, Milano G. Emerging molecular targeted therapy in the treatment of head and neck cancer. *Expert Opin Emerg Drugs* 14:299–310, 2009
4. Chan SC, Hui L, Chen HM. Enhancement of the cytolytic effect of antibacterial cecropin by the microvilli of cancer cells. *Anticancer Res* 18:4467–4474, 1998
5. Chavakis T, Cines DB, Rhee JS, et al. Regulation of neovascularization by human neutrophil peptides (α -defensins): a link between inflammation and angiogenesis. *FASEB J* 18:1306–1308, 2004
6. Chen M, Wang W, Smith D, et al. Effects of antimicrobial peptide cecropin B and its analogs, cecropins B-1 and B-2, on liposomes, bacteria and cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 1336:171–179, 1997
7. Chen Y, Xu X, Hong J, et al. RGD-tachyplesin inhibits tumor growth. *Cancer Res* 61:2434–2438, 2001
8. Chuang CM, Momie A, Wu A, et al. Treatment with LL37 peptide enhances antitumor effects induced by CpG oligodeoxynucleotides against ovarian cancer. *Hum Gene Ther* 20:303–313, 2009
9. Coffelt SB, Scandurro AB. Tumors sound the alarmin(s). *Cancer Res* 68: 6482–6485, 2008

10. Cornut G, Fortin C, Souliéres D. Antineoplastic properties of bacteriocins: revisiting potential active agents. *Am J Clin Oncol* 31:399–404, 2008
11. Cruciani RA, Barker JL, Zasloff M, et al. Antibiotic magainins exert cytolytic activity against transformed cell lines through channel formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:3792–3796, 1991
12. Dennison SR, Harris F, Bhatt T, et al. A theoretical analysis of secondary structural characteristics of anticancer peptides. *Mol Cell Biochem* 333:129–135, 2010
13. Dennison SR, Whittaker M, Harris F, Phoenix DA. Anticancer alpha-helical peptides and structure/function relationships underpinning their interactions with tumour cell membranes. *Curr Protein Pept Sci* 7:487–499, 2006
14. Droin N, Hendra JB, Ducoroy P, Solary E. Human defensins as cancer biomarkers and antitumour molecules. *J Proteomics* 72:918–927, 2009
15. Eliassen LT, Berge G, Laknessund A, et al. The antimicrobial peptide, lactoferricin B, is cytotoxic to neuroblastoma cells in vitro and inhibits xenograft growth in vivo. *Int J Cancer* 119:493–500, 2006
16. Ellerby HM, Arap W, Ellerby LM, et al. Anti-cancer activity of targeted pro-apoptotic peptides. *Nat Med* 5:1032–1038, 1999
17. Fadnes B, Rekdal O, Uhlin-Hansen L. The anticancer activity of lytic peptides is inhibited by heparan sulfate on the surface of the tumor cells. *BMC Cancer* 9:183, 2009
18. Gillet JP, Macadangdang B, Fathke RL, et al. The development of gene therapy: from monogenic disorders to complex diseases such as cancer. *Methods Mol Biol* 542:5–54, 2009
19. Grenon NN, Chan J. Managing toxicities associated with colorectal cancer chemotherapy and targeted therapy: a new guide for nurses. *Clin J Oncol Nurs* 13:285–296, 2009
20. Held-Kuznetsov V, Rotem S, Assaraf YG, Mor A. Host-defense peptide mimicry for novel antitumor agents. *Faseb J* 23:4299–4307, 2009
21. Hidalgo M, Rowinsky EK. The rapamycin-sensitive signal transduction pathway as a target for cancer therapy. *Oncogene* 19:6680–6686, 2000
22. Hoskin DW, Ramamorthy A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta* 178:357–375, 2008
23. Huttner KM. Antimicrobial peptides the defence never rests. In: *NeuroImmune Biology*, Eds. Berczi I, Szentiványi A. Vol. 5 Natural Immunity Eds. Bertók L, Chow DA, Elsevier 2005, pp 39–48
24. Iwasaki T, Ishibashi J, Tanaka H, et al. Selective cancer cell cytotoxicity of enantiomeric 9-mer peptides derived from beetle defensins depends on negatively charged phosphatidylserine on the cell surface. *Peptides* 30:660–668, 2009
25. Jacob L, Zasloff M. Potential therapeutic applications of magainins and other antimicrobial agents of animal origin. *Ciba Found Symp* 186:197–216, 1994
26. Johnstone SA, Gelmon K, Mayer LD, et al. In vitro characterization of the anticancer activity of membrane-active cationic peptides. I. Peptide-mediated cytotoxicity of doxorubicin against wild-type and p-glycoprotein over-expressing tumor cell lines. *Anticancer Drug Res* 15:151–160, 2000
27. Kim S, Kim SS, Bang YJ, et al. In vitro activities of native and designed peptide antibiotics against drug sensitive and resistant tumor cell lines. *Peptides* 24:945–953, 2003
28. Lapis K. Az antimikrobiális (gazdavédő) kis peptidek élettani és kórtani jelentősége. *Orvosi Hetilap* 149:2419–2424, 2008
29. Lapis K. Egyes humán gazdavédő peptidek jellegzetességei. *Orvosi Hetilap* 150:109–119, 2009
30. Lawrance W Jr. Technologic innovations in surgery: a philosophic reflection on their impact on operations for cancer. *J Surg Oncol* 100:163–168, 2009
31. Lemeshko VV. Potential-dependent membrane permeabilization and mitochondrial aggregation caused by anticancer poly-arginine-KLA peptides. *Arch Biochem Biophys* 493:213–220, 2010
32. Leuschner C, Hansel W. Membrane disrupting lytic peptides for cancer treatments. *Curr Pharm Res* 10:2299–2310, 2004
33. Lichtenstein A, Ganz T, Selsted RI, et al. In vitro tumor cell cytotoxicity mediated by peptide defensins of human and rabbit granulocytes. *Blood* 68:1407–1410, 1986
34. Ling CQ, Li B, Zhang D, et al. Inhibitory effect of recombinant adenovirus carrying melittin gene on hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol* 16:109–115, 2005
35. Liu SY, Yu M, He Y, et al. Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac-1 dependent pathway. *Hepatology* 47:1964–1973, 2008
36. Lu JX, Blazyk J, Lorigan GA. Exploring membrane selectivity of the antimicrobial peptide KIGAKI using solid state NMR spectroscopy. *Biochem Biophys Acta* 1758:1303–1313, 2006
37. Ludtke SJ, He K, Heller WT, et al. Membrane pores induced by magainin. *Biochemistry* 35:13723–13728, 1996
38. Mader JS, Richardson A, Salsman J, et al. Bovine lactoferricin causes apoptosis in Jurkat T-leukemia cells by sequential permeabilization of the cell membrane and targeting of mitochondria. *Exp Cell Res* 313:2634–2650, 2007
39. Mader JS, Salsman J, Conrad DM, et al. Bovine lactoferricin selectively induces apoptosis in human leukemia and carcinoma cell lines. *Mol Cancer Ther* 4:612–624, 2005
40. Mader JS, Hoskin DW. Cationic antimicrobial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment. *Expert Opin Invest Drugs* 15:933–946, 2006
41. Mai JC, Mi Z, Kim S, Ng B, et al. A proapoptotic peptide for the treatment of solid tumors. *Cancer Res* 61:7709–7712, 2001
42. Makovitzki A, Fink A, Shai Y. Suppression of human solid tumor growth in mice by intratumor and systemic inoculation of histidine rich and pH-dependent host defense-like lytic peptides. *Cancer Res* 69:3458–3463, 2009
43. Mansfield AS, Markovic SN. Novel therapeutics for the treatment of metastatic melanoma. *Future Oncol* 5:543–557, 2009
44. Mathiew M, Verna RS. Humanized immunotoxins: a new generation of immunotoxins for targeted cancer therapy. *Cancer Sci* 100:1359–1365, 2009
45. Mocellin S, Pilati P, Nitti D. Peptide-based anticancer vaccines: recent advances and future perspectives. *Curr Med Chem* 16:4779–4796, 2009
46. Müller CA, Markovic-Lipkovski J, Klatt T, et al. Human alpha-defensins HNP-1,-2,-3 in renal cell carcinoma: influences on tumor cell proliferation. *Am J Pathol* 160:1311–1324, 2002
47. Nakamura T, Furunaka H, Miyata T, et al. Tachyplesin, a class of antimicrobial peptide from the hemocytes of the horseshoe crab (*Tachyplesus tridentatus*). Isolation and chemical structure. *J Biol Chem* 263:16709–16713, 1988
48. Ndinguri MW, Solipuram R, Gambrell RP, et al. Peptide targeting of platinum anti-cancer drugs. *Bioconjug Chem* 20:1869–1878, 2009
49. Nguyen QD, Smith G, Glaser M, et al. Positron emission tomography imaging of drug-induced tumor apoptosis with a caspase-3/7 specific [¹⁸F]-labeled isatin sulfonamide. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:16375–16380, 2009
50. Nishimura M, Abiko Y, Kurashige Y, et al. Effect of defensin peptides on eukaryotic cells: primary epithelial cells, fibroblasts and squamous cell carcinoma cell lines. *J Dermatol Sci* 36:87–95, 2004
51. Noteborn HM. Proteins selectively killing tumor cells. *Eur J Pharmacol* 625:165–173, 2009
52. Obeid M. Anticancer activity of targeted proapoptotic peptides and chemotherapy is highly improved by targeted cell surface calreticulin-inducer peptides. *Mol Cancer Ther* 6:2693–2707, 2009
53. Ohaki Y, Gazdar A, Chen FHC, et al. Antitumor activity of magainin analogues against human lung cancer cell lines. *Cancer Res* 52:3534–3538, 1992
54. Oppenheim J, Biragyn A, Kwak LW, Yang D. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann Rheumat Dis* 62(Suppl II):ii17–ii21, 2003
55. Oren Z, Shai Y. Mode of action of linear amphipathic alpha-helical antimicrobial peptides. *Biopolymers* 47:451–463, 1998
56. O'Sullivan-Coyne G, O'Sullivan GC, O'Donovan TR, et al. Curcumin induces apoptosis-independent death in oesophageal cancer cells. *Br J Cancer* 101:1585–1595, 2009

57. Ouyang GL, Li QF, Peng XX, et al. Effects of tachyplesin on proliferation and differentiation of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 12:1694–1698, 2006
58. Owen DR. Short bioactive peptides. In: Helix Biomedix Inc., USA United States Patent 6875744
59. Papo N, Shai Y, Eisenbach L, Shai Y. A novel lytic peptide composed of DL-amino acids selectively kill cancer cells in culture and in mice. *J Biol Chem* 278:21018–21023, 2003
60. Papo N, Shai Y. Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. *CMLS Cell Mol Life Sci* 62:784–790, 2005
61. Park BT, Na KH, Jung EC, et al. Antifungal and anticancer activities of a protein from the mushroom *Cordyceps militaris*. *Korean J Physiol Pharmacol* 13:49–54, 2009
62. Petterson-Kastberg J, Aits S, Gustafsson L, et al. Can misfolded proteins be beneficial? The HAMLET case. *Ann Med* 41:162–176, 2009
63. Pini A, Falciani C, Bracci L. Branched peptides as therapeutics. *Curr Protein Pept Sci* 5:468–477, 2008
64. Poon GM, Gariépy J. Cell surface proteoglycans as molecular portals for cationic peptide and polymer entry into cells. *Biochem Soc Trans* 35:788–793, 2007
65. Pouny Y, Shai Y. Interaction of D-amino acid incorporated analogues of pardaxin with membranes. *Biochemistry* 31:9482–9490, 1992
66. Provencio M, Sánchez A, Gasent J, et al. Cancer treatments: can we find treasures at the bottom of the sea? *Clin Lung Cancer* 10:295–300, 2009
67. Radzishewsky IS, Rotem S, Bourdetsky D, et al. Improved antimicrobial peptides based on acyl-lysine oligomers. *Nat Biotechnol* 25:657–659, 2007
68. Raucher D, Moktan S, Massodi I, Bidwell GL 3rd. Therapeutic peptides for cancer therapy. Part II. Cell cycle inhibitory peptides and apoptosis-inducing peptides. *Expert Opin Drug Deliv* 6:1049–1064, 2009
69. Riso A, Zanetti M, Gennaro R. Cytotoxicity and apoptosis mediated by two peptides of innate immunity. *Cell Immunol* 189:107–115, 1998
70. Rosati G, Ferrara D, Manzione L. New perspectives in the treatment of advanced or metastatic gastric cancer. *World J Gastroenterol* 15:2689–2692, 2009
71. Russel P, Hewish D, Carter T, et al. Cytotoxic properties of immunoconjugates containing melittin-like peptide 101 against prostate cancer in vitro and in vivo studies. *Cancer Immunol Immunother* 53: 411–421, 2004
72. Scott MG, Davidson DJ, Gold MR, et al. The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses. *J Immunol* 169:3883–3891, 2002
73. Schweizer F. Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity. *Eur Pharmacol* 625:190–194, 2009
74. Shai Y. Mechanism of binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alpha-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. *Biochim Biophys Acta* 1462:56–70, 1999
75. Seebah S, Suresh A, Zhuo S, et al. Defensins knowledgebase: a manually curated database and information source focused on the defensins family of antimicrobial peptides. *Nucleic Acid Res* 35(Database issue):D265–D268, 2007
76. Sheih IC, Fang TJ, Wu TK, Lin PH. Anticancer and antioxidant activities of the peptide fraction from algae protein waste. *J Agric Food Chem* 58:1202–1207, 2010
77. Shin SY, Kang JH, Hahn KS. Structure, antibacterial, antitumor and hemolytic activity relationship of cecropin A-megainin 2 and cecropin A-melittin hybrid peptides. *J Pept Res* 53:82–90, 1999
78. Skerlavaj B, Gennaro R, Bagella L, et al. Biological characterization of two novel cathelicidin-derived peptides and identification of the structural requirements for their antimicrobial and cell lytic activities. *J Biol Chem* 271:28375–28381, 1996
79. Soballe P, Maloy W, Myrge WL, et al. Experimental local therapy of human melanoma with lytic magainin peptides. *Int J Cancer* 60:280–284, 1995
80. Tam JP. Synthetic peptide vaccine design: synthesis and properties of a high-density multiple antigenic peptide system. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:5409–5413, 1988
81. Tossi A. Host defense peptides: roles and applications. *Curr Opin Protein Pept Sci* 6:1–3, 2005
82. Utsugi T, Schroit AJ, Connor J, et al. Elevated expression of phosphatidyl serine in the outer membrane leaflet of human tumor cells and recognition by activated human blood monocytes. *Cancer Res* 51:3062–3066, 1991
83. Vallespi MG, Fernandez JR, Torrens I, et al. Identification of a novel antitumor peptide based on screening of an Ala-library derived from the LALF(32–51) region. *J Pept Sci* 16:40–47, 2010
84. Wang G, Li X, Wang Z. APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Res* 37(Database issue):D933–D937, 2009
85. Zasloff M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms and partial DNA sequence of a precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:5449–5453, 1987
86. Zhang H, Zhong C, Shi L, et al. Granulysin induces cathepsin B release from lysosomes of target tumor cells to attack mitochondria to processing of bid leading to necroptosis. *J Immunol* 182:6993–7000, 2009
87. Zhang L, Falla TJ. Antimicrobial peptides: therapeutic potential. *Expert Opin Pharmacother* 7:653–663, 2006
88. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J Leukoc Biol* 75:39–48, 2004
89. Xu N, Wang YS, Pan WB, et al. Human alpha-defensin-1 inhibits growth of human lung adenocarcinoma xenograft in nude mice. *Mol Cancer Ther* 6:1588–1597, 2008
90. Yang D, Cherov O, Oppenheim JJ. The role of mammalian antimicrobial peptides and proteins in awakening of innate host defenses and adaptive immunity. *Cell Mol Live Sci* 58:978–989, 2001
91. Yu M, Zhou H, Liu X, et al. Study on biodistribution and imaging of radiolabeled arginine-arginine-leucine peptide in nude mice bearing human prostate carcinoma. *Ann Nucl Med* 24:13–19, 2010