

Ludzka chrząstkowa glikoproteina 39 – budowa, funkcja biologiczna i przydatność w diagnostyce

Human cartilage glycoprotein 39: structure, biological function and application for clinical diagnostics

Dominika Wcisło-Dziadecka¹, Anna Kotulska², Eugeniusz Józef Kucharz²

¹Katedra i Klinika Dermatologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, kierownik Katedry prof. dr hab. med. Ligia Brzezińska-Wcisło

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Reumatologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, kierownik Katedry prof. dr hab. med. Eugeniusz J. Kucharz

Słowa kluczowe: ludzka chrząstkowa glikoproteina 39 (HC gp-39), białko YKL-40, uszkodzenie chrząstki, reumatoidalne zapalenie stawów, nowotwory złośliwe.

Key words: human cartilage glycoprotein 39 (HC gp-39), YKL-40 protein, degradation of the cartilage, rheumatoid arthritis, malignant neoplasms.

Streszczenie

Ludzka chrząstkowa glikoproteina 39 (HC gp-39), zwana białkiem YKL-40 lub chondrexem, jest produktem wielu komórek, przede wszystkim jednak chondrocytów ulegających aktywacji, co występuje w stanach uogólnionego lub miejscowego zapalenia stawów. Funkcja biologiczna HC gp-39 nie jest w pełni poznana. Przypuszcza się, że białko to jest aktywatorem procesu przebudowy tkanki łącznej (ma charakter czynnika wzrostu) oraz bierze udział w angiogenezie jako czynnik migracji komórek śródbłonna. Ten ostatni proces odgrywa istotną rolę w rozwoju reumatoidalnego zapalenia stawów i tworzeniu się przerzutów nowotworowych. HC gp-39 jest hipotetycznym autoantygenem w reumatoidalnym zapaleniu stawów.

Zwiększone stężenia HC gp-39 stwierdzono u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, chorobę zwyrodnieniową, a także u pacjentów z zapaleniami jelit, marskością wątroby i niektórymi nowotworami złośliwymi. Uważa się, uszkodzenie i przebudowa chrząstki stawowej, zapalenie z tworzeniem naczyń krwionośnych i rozwój tkanki włóknistej decydują o zwiększonym wytwarzaniu i uwalnianiu HC gp-39 do krwi.

Zastosowanie diagnostyczne oznaczania HC gp-39 wymaga dalszych badań, ale sugeruje się, że może to stanowić ważny wskaźnik oceniający uszkodzenie chrząstek stawowych i proces włóknienia.

Summary

Human cartilage glycoprotein 39 (HC gp-39) known as the YKL-40 protein or chondrex is secreted by a number of cells, mainly by activated chondrocytes. This process takes place in systemic or local articular inflammation. Biological function of HC gp-39 remains unknown. It is suggested that HC gp-39 is a remodeling factor of the connective tissue or a growth factor as well as acts as endothelial cell migration factor. In this way, HC gp-39 contributes to angiogenesis, the phenomenon important for development of rheumatoid arthritis or metastating of malignant neoplasm. HC gp-39 is hypothesized to be a potential autoantigen in patients with rheumatoid arthritis.

Increased serum level of HC gp-39 was found in patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis and patients with inflammatory bowel disease, hepatic cirrhosis and malignant neoplasms. It is believed that the following phenomena lead to enhanced the HC gp-39 synthesis and secretion: degradation and remodeling of the articular cartilage, inflammation with new vessel formation, fibrosis.

Diagnostic application of HC gp-39 determination needs further studies. It is suggested that it may be an important marker of degradation of the cartilage as well as fibrosis.

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. med. Eugeniusz J. Kucharz, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Reumatologii, Śląska Akademia Medyczna, ul. Ziołowa 45/47, 40-635 Katowice

Praca wpłynęła: 3.11.2004 r.

Ludzka chrząstkowa glikoproteina 39 (*human cartilage glycoprotein 39*; HC gp-39) jest ludzkim białkiem o niejasnej funkcji biologicznej, stosunkowo niedawno wykrytym, znanym także pod nazwą białko YKL-40. Ta druga nazwa to skrót (w systemie jednoliterowym) 3 reszt aminokwasowych znajdujących się na aminoterminalnym końcu cząsteczki (Y – tyrozyna, K – lizyna, L – leucyna), a liczba 40 wywodzi się z przybliżonej masy cząsteczkowej białka – 40 kDa. W rzeczywistości masa cząsteczkowa HC gp-39 wynosi ok. 42 kDa, ale we wcześniejszych pracach była określona w zakresie 38–42 kDa. Z tego powodu jeszcze inna nazwa HC gp-39 brzmi: glikoproteina wiążąca heparynę o masie 38 kDa (*38-kDa heparin-binding glycoprotein*). Jako kolejne określenie HC gp-39 spotyka się też nazwę *chondrex*.

HC gp-39 jest białkiem wytwarzanym przez wiele rodzajów komórek, przede wszystkim przez ludzkie chondrocyty, komórki błony maziowej, granulocyty obojętne, makrofagi oraz komórki mięśni gładkich i osteoblasty. Istnieją sugestie, że ekspresja HC gp-39 zachodzi także w innych komórkach (m.in. w układzie nerwowym), ale nie jest jasne, czy jest to sytuacja fizjologiczna. Białko zostało opisane w 1993 r. przez Hakalę i wsp. [9]. Wcześniej podobne białko wyodrębniono z wydzieliny wymion niedających mleka krów [37].

Ze względu na skład i sekwencję reszt aminokwasowych HC gp-39 należy do 18. rodziny hydrolaz glikozyliwych, zawierającej bakteryjne chitynazy i pokrewne im białka. Do wspomnianej rodziny białek należą liczne enzymy rozkładające chitynę – polisacharyd budujący pancerze stawonogów. Chitynazy występują w bakteriach i grzybach oraz organizmach zwierzęcych. Mimo że może się wydawać, że homologia HC gp-39 do białek organizmów odległych filogenetycznie jest trudna do wyjaśnienia, należy wspomnieć, że u ssaków znane są 4 inne niż HC gp-39 białka o znacznej homologii z chitynazami. 2 z nich mają aktywność enzymatyczną chitynazy. Są to chitynaza 1, czyli chitotriozydaza, oraz kwaśna chitynaza ssaków. Enzymy te hydrolizują wiązanie β -1,4 pomiędzy resztami N-acetyloglukozaminy w oligomerycznych produktach rozpadu chityny oraz hydrolizują koloidalną chitynę. Pozostałe białka ssaków z omawianej grupy nie mają aktywności enzymu hydrolytycznego. Są to białka sekrecyjne o nieznanym roli biologicznej. HC gp-39 wykazuje zdolność do przyłączania chityny i heparyny. Jest tym samym lektyną, czyli białkiem mającym zdolność łączenia się ze złożonymi węglowodanami.

HC gp-39 jest produktem genu o nazwie *CHI3L1*. Składa się on z 10 eksonów, czyli odcinków kwasu deoksyrybonukleinowego, kodujących omawianą glikoproteinę, które są oddzielone intronami, a całość genu jest rozmieszczona na odcinku genomu o długości 8 kb [35].

Budowa przestrzenna cząsteczki HC gp-39 jest dobrze poznana, a została opisana przez Houstona i wsp. [13]. Składa się ona z 8 par fragmentów β i α , tworzących strukturę przestrzenną o kształcie beczki. Pomiedzy fragmentem β 7 i α 7 znajduje się dodatkowa domena, która tworzy rowek. Jest to miejsce wiążące oligosacharydy. Zidentyfikowano 9 miejsc wiążących oligosacharydy i opisano odmienny sposób wiązania długich i krótkich fragmentów węglowodanowych [8]. Wiązanie to zachodzi dzięki siłom van der Waalsa występującym we fragmencie HC gp-39, zawierającym reszty aminokwasów aromatycznych oraz dzięki licznym wiązaniom wodorowym z grupami hydroksylowymi cukrowca. Cząsteczka HC gp-39 jest bardzo zbliżona do aktywnych enzymatycznie chitynaz i ma prawie kompletną strukturę centrum aktywnego enzymu – chitynazy 3, a brak aktywności katalitycznej wynika z nielicznych zmian składu reszt aminokwasowych tego fragmentu białka.

Funkcja biologiczna HC gp-39 nie jest znana. Analizując ekspresję omawianego białka, można przypuszczać, że bierze ono udział w degradacji lub przebudowie substancji pozakomórkowej tkanki łącznej, szczególnie chrząstki, oraz może odgrywać jakąś rolę w rozwoju zapalenia. Wykazano, że HC gp-39 jest czynnikiem wzrostu dla komórek tkanki łącznej, zwiększa syntezę glikozaminoglikanów i jest silnie działającym czynnikiem migracji komórek śródbłonna [7]. Ten ostatni proces jest niezbędny do angiogenezy i dlatego HC gp-39 budzi zainteresowanie tak w aspekcie rozwoju reumatoidalnego zapalenia stawów, jak i tworzenia przerzutów nowotworowych. Można też uważać HC gp-39 za jedno z ogniw łączących proces zapalenia, angiogenezy i przebudowy substancji pozakomórkowej tkanki łącznej. Jako czynnik wzrostu HC gp-39 zapoczątkowuje aktywację MAP (*mitogen-activated protein*) i PI-3K (*phosphoinositide-3-kinase*) jako systemów transdukcji sygnału do wnętrza komórki. Powoduje to fosforylację ERK1/ERK2 (*extracellular signal-regulated kinase*) oraz kinazy proteinowej B. Są to znane mechanizmy aktywacji komórki w wyniku zadziałania różnych mitogenów. Na tej podstawie przypuszcza się, że HC gp-39 oddziałuje z jednym lub z kilkoma układami aktywacji komórki znajdującymi się w błonie komórkowej [34].

Na podstawie badań zmian konformacyjnych cząsteczki HC gp-39 zachodzących podczas wiązania fragmentów polisacharydowych wysunięto przypuszczenie, że wiązanie oligosacharydów o budowie chityny dotyczy również fragmentu kwasu hialuronowego, co może sprawiać, że HC gp-39 bierze udział w przebudowie uszkodzonych tkanek. Inną hipotezą jest pogląd o udziale HC gp-39 w aktywacji odporności przeciwko zakażeniom robakami obłymi. Może na to wskazywać duże podobieństwo cząsteczki HC gp-39 do białka ECF-L, czyli cytokiny

odpowiadającej za chemotaksję granulocytów kwasochłonnych, która bezpośrednio uczestniczy w rozwoju odpowiedzi ustroju na zakażenie robakami obłymi [31].

Mało znane są czynniki regulujące wytwarzanie HC gp-39 przez chondrocyty. Wykazano, że HC gp-39 jest wytwarzana we wczesnych stadiach rozpoczętej hodowli chondrocytów *in vitro* [21]. Działanie interleukiny 1 na produkcję HC gp-39 jest złożone. W hodowli chondrocytów w postaci warstwy jednokomórkowej interleukina 1 β hamuje syntezę HC gp-39. W hodowli fragmentów chrząstki *in vitro* interleukina 1 β nie pobudza wytwarzania HC gp-39, ale sekrecja omawianej glikoproteiny nie jest zmniejszona nawet po długotrwałej hodowli w środowisku zawierającym interleukinę 1, kiedy wytwarzanie innych składników chrząstki produkowanych przez chondrocyty jest prawie całkowicie zahamowane. Silnym czynnikiem hamującym wytwarzanie HC gp-39 w warunkach hodowli komórkowej *in vitro* jest TGF- β . Wydaje się, że regulacja syntezy HC gp-39 jest zależna przede wszystkim od substancji pozakomórkowej tworzącej środowisko dla chondrocytów. To może tłumaczyć różnice w reaktywności jednowarstwowej hodowli chondrocytów i fragmentów chrząstki na interleukinę 1 [36].

Wykazano, że HC gp-39 jest białkiem występującym w macierzy ziarnistości granulocytów obojętnochłonnych i ulega uwolnieniu w stanie aktywacji neutrofilii. Podobnie pobudzone makrofagi wydzielają omawiane białko.

Pierwsze kliniczne prace dotyczące HC gp-39 traktowały omawiane białko wyłącznie jako wskaźnik uszkodzenia chrząstki, szybko zaczęto się jednak orientować, że rola HC gp-39, a co za tym idzie, interpretacja kliniczna zmienionych stężeń tego białka jest bardziej złożona.

Wśród prac o aspekcie klinicznym szczególnie dużo uwagi poświęcono roli i przydatności w diagnostyce oznaczania HC gp-39 u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Ekspresję mRNA dla HC gp-39 stwierdzono we fragmentach chrząstki i błony maziowej uzyskanej od chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, a takiej ekspresji nie wykazano w wycinkach chrząstki lub błony maziowej uzyskanych od dorosłych zdrowych osób [23].

Już w pierwszych pracach wykazano zwiększone stężenie omawianego białka u chorych w porównaniu z osobami zdrowymi [10, 29, 44]. Więcej kontrowersji dostarczyły natomiast wyniki badań dotyczących potencjalnego zastosowania oznaczania HC gp-39 w praktyce klinicznej.

W 2000 r. Harvey i wsp. [10] wykazali zwiększone stężenie HC gp-39 w surowicy krwi chorych na wczesne reumatoidalne zapalenie stawów. Stężenia HC gp-39 korelowały dodatnio z OB i stężeniem białka C-reaktywnego. Stężenie HC gp-39 natomiast jedynie słabo korelowało z uszkodzeniem stawów (ocenianym jako wskaźnik Larsena) zarówno w oznaczeniach punktowych, jak i w ocenie stopnia postępu zmian stawowych

w ciągu 19 mies. Wykazano też, że oznaczanie stężenia HC gp-39 na początku choroby pozwala na przewidywanie wykrywanego radiologicznie uszkodzenia stawów z małą czułością (nieco ponad 50%) i wątpliwą swoistością. Na tej podstawie Harvey i wsp. [10] nie wykazali przewagi oznaczania HC gp-39 nad innymi, stosowanymi od dawna wskaźnikami laboratoryjnymi aktywności choroby. Zwiększone stężenie HC gp-39, które korelowało jedynie z OB, opisali również Vos i wsp. [44].

Podobne badania Johansen i wsp. [19, 22] dostarczyły nieco odmiennych wniosków o potencjalnej przydatności oznaczania HC gp-39 w ocenie postępu choroby. Badali oni chorych na wczesne reumatoidalne zapalenie stawów, u których oznaczano stężenie HC gp-39 w surowicy przez 36 mies., wykonując oznaczenia co 3 mies. Wykazano, że u chorych stężenie omawianego białka dodatnio korelowało ze wskaźnikiem Larsena, oceniającym radiologicznie wykrywalne uszkodzenie stawów, a chorzy ze stale zwiększonym stężeniem HC gp-39 mieli istotnie większe uszkodzenie stawów niż pacjenci, u których stężenie HC gp-39 zmniejszało się podczas leczenia. Pozwoliło to tym badaczom wyciągnąć wniosek, że zwiększone stężenie HC gp-39 pozostaje w związku z postępowaniem destrukcji stawów u chorych na wczesne reumatoidalne zapalenie stawów. Matsumoto i Tsurumoto [29] wykazali dodatnią korelację ze stopniem uszkodzenia stawów, ale nie stwierdzili takiej zależności od bólu odczuwanego przez chorych. W grupie chorych ze znacznym upośledzeniem sprawności stężenia HC gp-39 były większe. Wykazano też dodatnią korelację stężeń HC gp-39 i stężeń interleukiny 6, a ujemny związek ze stężeniami podobnego do insuliny czynnika wzrostu I (IGF-I).

Uzyskane wyniki wskazują, że stężenie HC gp-39 we krwi zwiększa się u chorych, u których dochodzi do aktywacji procesu zapalnego i zachodzi proces destrukcji chrząstki stawowej. Nie ma jednak podstaw sądzić, że zwiększone stężenia istotnie wyprzedzają rozwój uszkodzenia stawów lub szczególnie aktywny przebieg choroby. Dlatego wydaje się na podstawie dotychczas opublikowanych wyników badań, że HC gp-39 można uważać za wskaźnik aktywności procesu zapalenia oraz w większym stopniu wskaźnik degradacji chrząstki stawowej, a nie parametr prognostyczny. O ile oceny aktywności procesu zapalnego można dokonać za pomocą wielu innych wskaźników, o tyle liczba parametrów biochemicznych (popularnie zwanych markerami) uszkodzenia chrząstki jest ograniczona. Dalszych badań wymaga jednak ocena rzeczywistej wartości, a co za tym idzie, przydatności w praktyce klinicznej oznaczania HC gp-39 u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.

Odmiennym interesującym zagadnieniem jest hipotetyczny udział HC gp-39 w patogenezie reumatoidalne-

go zapalenia stawów. Dostawowe podanie HC gp-39 myszom rasy BALB/c powoduje wystąpienie przewlekłego nawracającego zapalenia stawów. Natomiast inhalacyjne wprowadzenie HC gp-39 wywołuje tolerancję swoistych antygenowo limfocytów T i istotne zmniejszenie nasilenia zapalenia stawów. Na tej podstawie wysnuto podejrzenie, że HC gp-39 może być autoantygenem wywołującym lub podtrzymującym rozwój reumatoidalnego zapalenia stawów. U chorych na omawiane zapalenie stawów od dawna wyodrębniano limfocyty T reagujące swoiście antygenowo, a immunizacja zwierząt doświadczalnych tymi antygenami wywoływała zapalenie stawów. Do antygenów tych zalicza się kolagen typu II, niektóre proteoglikany chrząstki stawowej, białka szoku cieplnego oraz antygeny wyodrębnione z płynu stawowego, określane jako białka p68 i p205 [27]. Jednak w większości przypadków odpowiedź limfocytów T na wymienione antygeny nie różni się u chorych i osób zdrowych, co podważa ich potencjalną rolę w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów. Pojedyncze obserwacje o intensywniejszej reaktywności limfocytów T uzyskanych od osób chorych niż komórek wyizolowanych od osób zdrowych nie zawsze znajdują potwierdzenie (np. takie sugestie dotyczą białek płynu stawowego p68 i p205). W przypadku omawianej glikoproteiny wykazano, że w błonie maziowej chorych na reumatoidalne zapalenie stawów występują komórki zawierające HC gp-39, a ich liczba koreluje ze stopniem uszkodzenia stawów [1]. Wykazano, że maziówkowe komórki dendrytyczne mogą prezentować kompleks antygenowy zawierający główny epitop antygenowy HC gp-39, tj. fragment złożony z reszt aminokwasowych 263–275 [2]. Na przypuszczalny związek HC gp-39 z rozwojem reumatoidalnego zapalenia stawów może wskazywać fakt, że cząsteczka HC gp-39 zawiera w swej strukturze kilka fragmentów wiążących antygen zgodności tkankowej – peptyd DR4 [41]. Vos i wsp. [45] badali proliferację jednojądrowych komórek krwi obwodowej stymulowaną peptydami pochodzącymi z rozpadu HC gp-39. Wykazali, że jeden z badanych fragmentów, tj. peptyd 259-271, pobudza proliferację badanych komórek istotnie częściej u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Co więcej, częściej reakcja proliferacyjna występowała u chorych z antygenem DRB1*0401, a więc u osób predysponowanych do rozwoju reumatoidalnego zapalenia stawów. Stopień odpowiedzi proliferacyjnej był zależny od nasilenia choroby, ale nie był swoisty dla omawianej choroby. Wykazano go także u pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów i zapaleniem jelit.

Konsekwencją tych badań było uzyskanie ludzkiej rekombinowanej HC gp-39, którą wyprodukowano za pomocą transformowanych komórek jajnika chomika, nazwanej preparatem Org 39141. Na ile preparat ten okaże się skuteczny w leczeniu reumatoidalnego zapa-

lenia stawów, trudno jest ocenić na podstawie jedynie badań modeli zwierzęcych.

Stężenia HC gp-39 są zwiększone we krwi chorych na chorobę zwyrodnieniową stawów. Zwykle stężenia nie są tak duże, jak u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, ale prawie zawsze przewyższają te stwierdzone u ludzi zdrowych. Zwiększone stężenia HC gp-39 opisano u chorych ze zwyrodnieniem stawu biodrowego i wykazano, że korelują one ze stężeniami białka C-reaktywnego [5]. Podobne wyniki wykazano u pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawu kolannowego [17]. Badania immunohistochemiczne fragmentów chrząstki pobranych z głowy kości udowej wykazały, że w chorobie zwyrodnieniowej HC gp-39 gromadzi się wokół chondrocytów w warstwie powierzchniowej i przejściowej, a nie w warstwach głębokich [43]. Szczególnie duże ilości HC gp-39 stwierdzano w tych fragmentach, które były poddawane dużym obciążeniami mechanicznymi. Ekspresja omawianego białka w zdrowej chrząstce jest bardzo mała.

Zwiększone stężenie HC gp-39 w surowicy chorych nie ogranicza się do reumatoidalnego zapalenia stawów i choroby zwyrodnieniowej stawów. Zwiększone stężenia omawianej glikoproteiny wykazano u chorych na toczeń rumieniowaty układowy, szczególnie u tych, u których występowało zajęcie stawów, a także u chorych na zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa [6]. U chorych na twardzinę układową stężenia HC gp-39 są zwiększone, korelują ze stężeniem rozpuszczalnego receptora dla interleukiny 2 i są wskaźnikiem zajęcia stawów [25, 28].

Interesujące są prace o zmienionej ekspresji i uwalnianiu HC gp-39 do krwi u chorych na różne rodzaje nowotworów złośliwych. Dotychczasowe prace dotyczą kilku rodzajów nowotworów. Johansen i wsp. [14] już w 1995 r. ogłosili wyniki oznaczania HC gp-39 we krwi u 60 pacjentek z podejrzeniem nawrotu raka piersi. Wykazali, że stężenie HC gp-39 we krwi jest znacznie większe u chorych z przerzutami do narządów wewnętrznych oraz u pacjentek z przerzutami do kości niż u osób zdrowych. W pierwszej z wymienionych grup stężenia omawianego białka były najwyższe. Analiza przeżycia chorych wykazała ścisły związek dużych stężeń HC gp-39 ze zwiększoną śmiertelnością. W dalszych pracach ta sama grupa badaczy wykazała, że HC gp-39 jest niezależnym czynnikiem prognostycznym ujemnie korelującym z czasem wolnym od nawrotu choroby po zabiegu operacyjnym [15]. Wykazano, że przed operacją tylko u małej części chorych stężenie HC gp-39 jest zwiększone, ale u tych chorych nawrót choroby występuje najwcześniej. Potwierdzają to prace o większej agresywności raków piersi związanych z wytwarzaniem HC gp-39 [18].

HC gp-39 okazało się również potencjalnym wskaźnikiem pomocnym w ustaleniu rokowania u chorych na ra-

ka jajnika. Hogdall i wsp. [11] wykazali zwiększone stężenia HC gp-39 w surowicy pacjentek z rakiem jajnika, a wysokie stężenia były związane z krótszym okresem przeżycia. HC gp-39 istotniej koreluje z okresem przeżycia u chorych na raka jajnika w stadium III niż typ histologiczny nowotworu i stężenie CA125 w surowicy [12].

Zastugą tego samego ośrodka badawczego, który opisał zmiany stężenia HC gp-39 u chorych na raka piersi i jajnika, są również badania nad stężeniem omawianego białka w surowicy chorych na raka jelita grubego [3, 4]. Potwierdzają one zwiększone stężenie HC gp-39 u tych chorych i wskazują na potencjalną przydatnoř oznaczenia w ocenie chorych po operacyjnym usunięciu guza.

Na podstawie powyższych prac nasuwają się pytania o bardziej ogólnej naturze, dotyczące związku HC gp-39 z rozwojem procesu nowotworowego. Nie jest jasne, na ile zmiany stężenia HC gp-39 ograniczają się do opisanych powyżej nowotworów, a na ile są ogólną składową procesu nowotworzenia. Wydaje się, że zwiększone stężenie HC gp-39 we krwi jest wynikiem wciągnięcia substancji pozakomórkowej tkanki łącznej w tworzenie przerzutów. Jak wspomniano powyżej, HC gp-39 prawdopodobnie odgrywa istotną rolę w przebudowie tkanki łącznej oraz pobudza migrację komórek śródbłonka. To ostatnie zjawisko stanowi składową procesu angiogenezy, niezbędnej do wytwarzania przerzutów. Dlatego oznaczanie HC gp-39 może w pewnym stopniu odzwierciedlać tzw. potencjał metastatyczny nowotworu. Towarzyszący rozwojowi nowotworu miejscowy proces zapalny może być dodatkowym czynnikiem zwiększającym stężenie HC gp-39.

Ekspresja HC gp-39 nie ogranicza się do komórek łącznotkankowych. W ostatnich 2 latach ogłoszono prace wskazujące na związek HC gp-39 z układem nerwowym. Po wykryciu omawianego białka w płynie mózgowo-rdzeniowym Tsuji i wsp. [39] przebadali 130 pacjentów z różnymi chorobami rdzenia kręgowego. Grupę odniesienia stanowili chorzy z urazami kręgosłupa. Zwiększone stężenia HC gp-39 stwierdzono u chorych ze zwężeniem kanału kręgowego. Wysunięto hipotezę, że HC gp-39 uwalnia się z komórek nerwowych w odpowiedzi na uszkodzenie lub ucisk na struktury nerwowe. W badaniach ekspresji genów w tkance glejaka wielopostaciowego wykazano największą zmianę ekspresji genu dla HC gp-39, co pozwoliło sugerować, że omawiane białko może być wskaźnikiem pomocnym w wykrywaniu tego nowotworu [38, 40].

HC gp-39 jest czynnikiem wzrostowym tkanki łącznej uwalnianym także w stanach zapalnych. Tym prawdopodobnie można tłumaczyć zwiększone stężenie tego białka u chorych na zapalenie jelita grubego, któremu towarzyszy włóknienie, a przede wszystkim u chorych na marskość wątroby. Vind i wsp. [42] wyka-

zali, że stężenie HC gp-39 jest zwiększone u 41% chorych na wrzodziejące zapalenie jelita grubego w stadium aktywnym i tylko u 10% chorych w okresie remisji. Podobne wyniki uzyskano w badaniu pacjentów z chorobą Leśniowskiego i Crohna. U 46% chorych z aktywną postacią tej choroby stwierdzano zwiększone stężenie HC gp-39 i u 30% pacjentów w okresie remisji. U części chorych stwierdza się zmiany zapalne stawów towarzyszące zapaleniu jelit, co stanowi tzw. gastroenteroatropatię. U tych chorych wykazano większe stężenia HC gp-39 niż u chorych z samym zapaleniem jelit [33]. Wykazano też korelację pomiędzy stężeniem HC gp-39 a aktywnością procesu chorobowego, co może sugerować, że proces zapalny jest silniejszym czynnikiem uwalniającym HC gp-39 do krążenia niż samo włóknienie [24].

Już w 1997 r. ogłoszono pierwsze prace wskazujące na zwiększone stężenie HC gp-39 u chorych na alkoholowe zapalenie wątroby przechodzące w marskość tego narządu [18]. Potwierdziły to dalsze prace wskazujące, że omawiane białko można uważać za wskaźnik procesu włóknienia (rozwijającego się na podłożu zapalenia) nie tylko o etiologii alkoholowej [16, 20]. Pojawiły się też sugestie, że HC gp-39 może stanowić czynnik umożliwiający ocenę zagrożenia rozwojem marskości [30].

Nie jest jasny mechanizm doprowadzający do zwiększenia stężenia HC gp-39 w surowicy krwi u chorych na posocznicę [26] oraz w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na ropne zapalenie opon mózgowych [32]. Wydaje się, że jest to wynik zwiększonej aktywności granulocytów obojętnochłonnych i makrofagów.

Podsumowując, należy stwierdzić, że o białku, które w literaturze fachowej kryje się pod skrótami HC gp-39 lub YKL-40, ciągle jeszcze mało wiadomo. Wydaje się, że jest to jedno z białek regulujących oddziaływanie komórek ze składnikami substancji pozakomórkowej tkanki łącznej, ulegające ekspresji w stanach związanych z zapaleniem i angiogenezą. Od dawno już wiadomo, że substancja pozakomórkowa tkanki łącznej bierze istotny udział w procesach immunologicznych, zapalnych i tworzeniu naczyń, ale większość obserwacji pochodzi z badania układów izolowanych, podczas gdy w ustroju kilka lub więcej procesów współistnieje i są one regulowane w bardzo precyzyjny sposób. Z praktycznego punktu widzenia wydaje się, że badania nad zastosowaniem HC gp-39 jako wskaźnika uszkodzenia chrząstki oraz agresywności tworzenia przerzutów nowotworowych mogą być przydatne w przyszłości w praktyce klinicznej. Co istotne, HC gp-39 nie jest białkiem uwalnianym z chondrocytów, tak jak tradycyjnie uważa się, że uwalniają się enzymy wskaźnikowe z hepatocytów, ale ulega syntezie *de novo* przy aktywacji procesów mogących doprowadzić do zniszczenia lub

powodujących przebudowę chondrocytów. To może stanowić istotną przewagę tego wskaźnika laboratoryjnego, chociaż zarówno pełna interpretacja mechanizmów związanych z HC gp-39, jak i przydatności praktycznej wymaga dalszych badań.

Piśmiennictwo

- Baeten D, Boots AM, Steenbakkers PG, et al. Human cartilage gp-39, CD16+ monocytes in peripheral blood and synovium: correlation with joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1233-43.
- Baeten D, Steenbakkers PG, Rijnders AM, et al. Detection of major histocompatibility complex/human cartilage gp-39 complexes in rheumatoid arthritis synovitis as a specific and independent histologic marker. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 444-51.
- Cintin C, Johansen JS, Christensen IJ, et al. Serum YKL-40 and colorectal cancer. *Br J Cancer* 1999; 79: 1494-9.
- Cintin C, Johansen JS, Christensen IJ, et al. High serum YKL-40 level after surgery for colorectal carcinoma is related to short survival. *Cancer* 2002; 95: 267-74.
- Conrozier T, Carlier MC, Mathieu P, et al. Serum levels of YKL-40 and C reactive protein in patients with hip osteoarthritis and healthy subjects: a cross sectional study. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 828-31.
- D'Amore M, Germinario G, D'Amore S, Scagliusi P. Biochemical markers of bone turnover and YKL-40 in ankylosing spondylitis. Relation to disease activity. *Minerva Med* 2000; 91: 59-68.
- De Ceuninck F, Gaufillier S, Bonnaud A, et al. YKL-40 (cartilage gp-39) induces proliferative events in cultured chondrocytes and synoviocytes and increases glycosaminoglycan synthesis in chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 926-31.
- Fusetti F, Pijning T, Kalk KH, et al. Crystal structure and carbohydrate-binding properties of the human cartilage glycoprotein-39. *J Biol Chem* 2003; 278: 37753-60.
- Hakala BE, White C, Recklies AD. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. *J Biol Chem* 1993; 268: 25803.
- Harvey S, Whaley J, Eberhardt K. The relationship between serum levels of YKL-40 and disease progression in patients with early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2000; 29: 391-3.
- Hogdall DH, Johansen JS, Jorgensen M, et al. Plasma YKL-40 as a prognostic tumor marker in recurrent ovarian cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82: 287-93.
- Hogdall DH, Johansen JS, Kjaer SK, et al. High plasma YKL-40 level in patients with ovarian cancer stage III is related to shorter survival. *Oncol Rep* 2003; 10: 1535-8.
- Houston DR, Recklies AD, Krupa JC, et al. Structure and ligand-induced conformational change of the 39-kDa glycoprotein from human articular chondrocytes. *J Biol Chem* 2003; 278: 30206-12.
- Johansen JS, Cintin C, Jorgensen M, et al. Serum YKL-40: a new potential marker of prognosis and location of metastases of patients with recurrent breast cancer. *Eur J Cancer* 1995; 31A: 1437-42.
- Johansen JS, Christensen IJ, Riisbro R, et al. High serum YKL-40 levels in patients with primary breast cancer is related to short recurrence free survival. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 80: 15-21.
- Johansen JS, Christoffersen P, Moller S, et al. Serum YKL-40 is increased in patients with hepatic fibrosis. *J Hepatol* 2000; 32: 911-20.
- Johansen JS, Hvolris J, Hansen M, et al. Serum YKL-40 levels in healthy children and adults. Comparison with serum and synovial levels of YKL-40 in patients with osteoarthritis or trauma of the knee joint. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 553-9.
- Jensen BV, Johansen JS, Price PSA. High levels of serum HER-2/neu and YKL-40 independently reflect aggressiveness of metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4423-4.
- Johansen JS, Kirwan JR, Price PSA, et al. Serum YKL-40 concentrations in patients with early rheumatoid arthritis: relation to joint destruction. *Scand J Rheumatol* 2001; 30: 297-304.
- Johansen JS, Moller S, Price PA, et al. Plasma YKL-40: a new potential marker of fibrosis in patients with alcoholic cirrhosis? *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 582-90.
- Johansen JS, Olee T, Price PA, et al. Regulation of YKL-40 production by human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 826-37.
- Johansen JS, Stoltenberg M, Hansen M, et al. Serum YKL-40 concentrations in patients with rheumatoid arthritis: relationship to disease activity. *Rheumatology* 1999; 38: 618-26.
- Kirkpatrick RB, Emery JG, Connor JR, et al. Induction and expression of human cartilage glycoprotein 39 in rheumatoid inflammatory and peripheral blood monocyte-derived macrophages. *Exp Cell Res* 1997; 237: 46-54.
- Koutrouakis IE, Petinaki E, Dimoulios P, et al. Increased serum levels of YKL-40 in patients with inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 254-9.
- Knorr T, Obermayr F, Bartnik E, et al. YKL-40 (chitinase 3-like protein 2), but not YKL-40 (chitinase 3-like protein 1), is up regulated in osteoarthritic chondrocytes. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 995-8.
- Kronborg G, Østergaard C, Weis N, et al. Serum level of YKL-40 is elevated in patients with *Streptococcus pneumoniae* bacteremia and is associated with the outcome of the disease. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 323-6.
- Kucharz EJ. The collagens: biochemistry and pathophysiology. Springer Verlag, Heidelberg – New York, 1992.
- La Montagna G, D'Angeli S, Valentini G. Cross-sectional evaluation of YKL-40 serum concentrations in patients with systemic sclerosis. Relationship with clinical and serological aspects of disease. *J Rheumatol* 2003; 30: 2147-51.
- Matsumoto T, Tsurumoto T. Serum YKL-40 levels in rheumatoid arthritis: correlations between clinical and laboratory parameters. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 655-60.
- Nojgaard C, Johansen JS, Christensen E, et al. Serum levels of YKL-40 and PIIINP as prognostic markers in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2003; 39: 179-86.
- Owhashi M, Arita H, Hayai N. Identification novel eosinophilic chemotactic cytokine (ECF-L) as a chitinase family protein. *J Biol Chem* 2000; 275: 1279-86.
- Østergaard C, Johansen JS, Benfield T, et al. YKL-40 is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis. *Clin Diagn Labor Immunol*, 2002; 9: 598-604.
- Punzi L, Podswiadek M, D'Inca RD, et al. Serum human cartilage glycoprotein 39 as a marker of arthritis associated with inflammatory bowel disease. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1224-6.

34. Recklies AD, White C, Ling H. The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 stimulates proliferation of human connective tissue cells and activates both extracellular signal-regulated kinase- and protein kinase B-mediated signaling pathways. *Biochem J* 2002; 365: 119-26.
35. Rehli M, Krause SW, Andreesen R. Molecular characterization of the gene for human cartilage gp-39, a member of the chitinase protein family and marker for late stage of macrophage differentiation. *Genomics* 1997; 43: 221-5.
36. Rehli M, Niller HH, Ammon C, et al. Transcriptional regulation of CHI3L1, a marker gene for late stage of macrophage differentiation. *J Biol Chem* 2003; 278: 44058-67.
37. Rejman JJ, Hurley WL. Isolation and characterization of a novel 39 kilodalton whey protein from bovine mammary secretion collected during the non-lactating period. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 150: 329-34.
38. Shostak K, Labunskyy V, Dmitrenko V, et al. HC gp-39 gene is upregulated in glioblastomas. *Cancer Lett* 2003; 198: 203-10.
39. Tsuji T, Matsuyama Y, Natsume N, et al. Analysis of chondrex (YKL-40, HC gp-39) in the cerebrospinal fluid of patients with spine disease. *Spine* 2002; 27: 732-5.
40. Tanwar MK, Gilbert MR, Holland EC. Gene expression microarray reveals YKL-40 to be a potential serum marker for malignant character in human glioma. *Cancer Res* 2002; 62: 4364-8.
41. Verheijden GF, Rijnders AW, Bos E, et al. Human cartilage glycoprotein-39 as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1115-25.
42. Vind I, Johansen JS, Price PA, et al. Serum YKL-40, a potential new marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 599-605.
43. Volck B, Ostergaard K, Johansen JS, et al. The distribution of YKL-40 in osteoarthritic and normal human articular cartilage. *Scand J Rheumatol* 1999; 28: 171-9.
44. Vos K, Steenbakkens P, Miltenburg AM, et al. Raised human cartilage glycoprotein-39 plasma levels in patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 544-8.
45. Vos K, Mittenburg AA, van Meijgaarden KE, et al. Cellular immune response to human cartilage glycoprotein-39 derived peptides in rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions. *Rheumatology* 2000; 39: 1326.