

Agata Majecka¹ , Adrianna Winnicka² 

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Polska

¹Instytut Biofizyki

²Instytut Biochemii

e-mail: agata.majecka@edu.uni.lodz.pl, adrianna.winnicka@edu.uni.lodz.pl

OBIECUJĄCE CELE MOLEKULARNE W TERAPII RAKA JAJNIKA

PROMISING MOLECULAR TARGETS IN OVARIAN CANCER THERAPY

ABSTRACT

Ovarian cancer is a disease with a high mortality rate among women and standard therapies do not guarantee complete recovery. More than 70% of patients diagnosed with ovarian cancer experience recurrence of the disease, which is most often characterized by a very high mortality rate and most patients do not survive longer than 24 months since the time of recurrence. New treatment approaches which are under development include therapies that target proteins that are overexpressed in ovarian cancer. The article describes three of such proteins: MSLN, FR α and NaPi2b. MSLN is a glycoprotein that under normal conditions, is expressed only in mesothelial cells, but despite numerous studies, its physiological function is unclear. However, its role in the pathogenesis of ovarian cancer has been demonstrated, e.g. by binding to MUC16/CA-125. Currently, the greatest potential is associated with ADC drugs, e.g. Anetumab ravtansine, which is currently undergoing clinical trials. FR α is a folate and folic acid receptor. Importantly, from the point of view of drug delivery, it mediates transport by endocytosis. This property allowed the creation of drugs conjugated with folic acid, e.g. Vintafolide, which binds to FR α and is then transported inside the endosome, where the drug is activated and released. Many studies focus on the use of FR α in anticancer therapy, but so far, the only solution approved is an ADC drug - Mirvetuximab soravtansine. NaPi2b is a transporter of inorganic phosphorus into the cell. Proposed explanation for its role in cancer development is upregulation of expression of CDK4, CDK6 and D1 cyclin. Clinical trials are currently carried out to create drugs conjugated with the anti-NaPi2b antibody in the treatment of ovarian cancer.

KEY WORDS: MSLN; FR α ; NaPi2b; ovarian cancer; targeted drug delivery.

STRESZCZENIE

Rak jajnika jest chorobą cechującą się wysokim odsetkiem śmiertelności wśród kobiet, a standardowe terapie nie gwarantują całkowitego wyleczenia. U ponad 70% pacjentek z rozpoznaniem raka jajnika dochodzi do wznowy choroby, którą najczęściej cechuje bardzo wysoki odsetek śmiertelności, a większość pacjentek nie przeżywa dłużej niż 24 miesiące od czasu wystąpienia nawrotu. Nowe podejścia leczenia obejmują wykorzystanie terapii celowanych, które skierowane są wobec białek ulegających nadekspresji w nowotworze jajnika. W artykule opisano 3 takie białka: MSLN, FR α i NaPi2b. MSLN jest glikoproteiną, która w prawidłowych warunkach ulega ekspresji tylko w komórkach mezotelialnych, jednak pomimo licznych badań jego funkcja w organizmie nie jest jednoznaczna. Wykazano jednak jego rolę w patogenezie raka jajnika np. poprzez wiązanie z MUC16/CA-125. Aktualnie największy potencjał wiąże się z lekami typu ADC np. anetumab ravtansine, który obecnie podlega badaniom klinicznym. FR α jest receptorem folianów i kwasu foliowego. Co ważne, z punktu widzenia dostarczania leków, przeprowadza on transport na drodze endocytozy. Właściwość ta pozwoliła na stworzenie

potencjalnych leków sprzężonych z kwasem foliowym np. Vintafolidu, który przyłącza się do FR α . Następnie ulega transportowi w endosomie, w którym następuje aktywacja i uwolnienie leku. Trwa obecnie wiele badań nad wykorzystaniem FR α w terapii przeciwnowotworowej, jednak jak do tej pory, jedynym wprowadzonym rozwiązaniem jest lek typu ADC - Mirvetuksymab sorawtanzyiny. NaPi2b jest transporterem nieorganicznego fosforu do komórki. Jednym z wyjaśnień, dlaczego jego ekspresja wzrasta w komórkach nowotworowych jest jego stymulacja ekspresji CDK4, CDK6 oraz cykliny D1. Co więcej, wykazano, że NaPi2b wykazuje swoje działanie onkogenne poprzez szlak PTEN/AKT/FOXO3a. Obecnie trwają próby kliniczne nad stworzeniem leków sprzężonych z przeciwciałem ant-NaPi2b w terapii nowotworów jajnika.

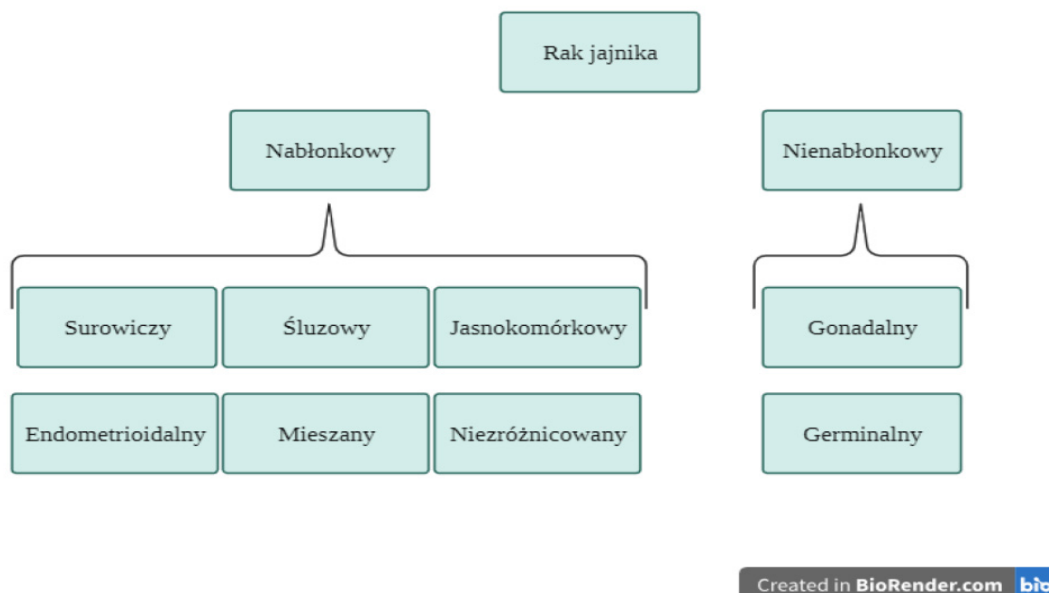
SŁOWA KLUCZOWE: MSLN; FR α ; NaPi2b; rak jajnika; terapia celowana.

WPROWADZENIE

Rak jajnika (ang. Ovarian Cancer, OC) znajduje się na siódmym miejscu wśród najczęstszych nowotworów złośliwych u kobiet i ósmym pod względem śmiertelności na całym świecie (Momenimovahed et al., 2019). Według danych w 2020 roku liczba zachorowań wynosiła 313 959 przypadków, natomiast śmiertelność oscylowała na poziomie 207 252 osób w ciągu roku. Ponadto, OC stanowił 1,6% wszystkich wykrytych nowotworów u kobiet (Sung et al., 2021). Niestety, liczba nowych przypadków wciąż rośnie. Szacuje się, iż w 2040 roku, liczba zachorowań oraz śmiertelność na całym świecie może wynosić 428 000 oraz 307 000, kolejno (Cabasag et al., 2022). Obecnie, ryzyko zachorowania na przełomie całego życia w skali całego świata wynosi u kobiet 2,7% (Momenimovahed et al., 2019).

OC należy do heterogenicznej grupy chorób o zróżnicowanym obrazie klinicznym oraz rokowaniu (Kossai et al., 2017; Torre et al., 2018). W momencie diagnostyki ponad 90% przypadków stanowią OC pochodzenia nabłonkowego (ang. Epithelial Ovary Cancer, EOC), natomiast pozostałe są pochodzenia nienabłonkowego (Torre et al., 2018). Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) dzieli EOC na następujące typy histologiczne: surowiczy (70%), endometrioidalny (9-11%), jasnokomórkowy (12-13%), śluzowy (3%), mieszany (6%) i niezróżnicowany (5%) (Kurman and World Health Organization, 2014) (Rysunek 1). W 2004 roku zaproponowano dualistyczny model kancerogenezy, w którym OC został podzielony na dwa odrębne typy – typ I oraz typ II (Shih and Kurman, 2004). Dokładna charakterystyka została przedstawiona w tabeli 1.

Standardowa terapia OC obejmuje postępowanie skojarzone, leczenie chirurgiczne jak i chemioterapię (Armstrong et al., 2021). Wybór metody leczenia OC zależy od stopnia zaawansowania oraz ogólnego stanu pacjentki (Susman, 2011). W chemioterapii pierwszego rzutu wykorzystuje się głównie związki platyny w skojarzeniu z taksanami podawane dożylnie w odstępach 3 tygodniowych (Markman, 2003; Armstrong et al., 2021). Aczkolwiek, oprócz wymienionych związków FDA (Agencja Żywności i Leków) zatwierdziło również inne związki w terapii OC. Są to między innymi doksorubicyna, gemcytabina, irinotecan, etopozyd oraz 5-fluorouracyl (Pfisterer et al., 2006; Sehouli et al., 2009; Larson et al., 2013; Lisio et al., 2019). Mimo iż, większość typów OC są wrażliwe na stosowaną chemioterapię, dane wskazują, iż u około 70% pacjentek dochodzi do wznowy choroby nowotworowej, prowadząc ostatecznie do śmierci. Do głównych przyczyn wystąpienia tego zjawiska należą oporność na chemioterapię oraz brak skuteczności standardowego leczenia (Ogundipe et al., 2023). Niestety próby leczenia wznowy nie należą do prostych. Nawrotowy rak jajnika jest chorobą przewlekłą a leczenie rzadko prowadzi do wyleczenia. Co więcej, większość pacjentek nie przeżywa dłużej niż 24 miesiące od czasu wystąpienia nawrotu (Kwolek et al., 2023). Dotychczasowe strategie leczenia opierają się na zastosowaniu pojedynczych chemioterapeutyków (paklitaksel, liposomalna pegylowana doksorubicyna (PLD), topotekan, gemcytabina) bądź na schematach wielolekowych takich jak cyklofosfamid/doksorubicyna i gemcytabina/cisplatyna (Ogundipe et al., 2023). Dodatkowo oprócz chemioterapii, w leczeniu OC stosuje się również terapie celowane z wykorzystaniem bewacyzumabu (Haunschild and Tewari, 2020) oraz inhibitorów polimerazy poli (PARP) (Papa et al., 2016). Bewacyzumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym ukierunkowanym przeciwko czynnikowi wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) (Mabuchi et al., 2008). Włączany jest on dodatkowo jako 3 środek do standardowej terapii u kobiet ze znacznym ryzykiem progresji (Armstrong et al., 2021). Z kolei, inhibitor PARP (olaparyb, rukaparib i nira-



RYSUNEK 1. Klasyfikacja raka jajnika.
Ilustrację wykonano za pomocą oprogramowania BioRender.

TABELA 1. Charakterystyka nowotworów typu I i II. Na podstawie (Jones et al., 2010; Shih and Kurman, 2004; Senturk et al., 2010; Ahmed et al., 2010).

Typ 1 (raki dobrze zróżnicowane - low grade)	Typ 2 (raki niskozróżnicowane - high grade)
surowicze (LG-SOC), endometrialne, jasnokomórkowe oraz śluzowe	niskozróżnicowane raki surowicze (ang. high-grade serous ovarian cancer, HG-SOC), niskozróżnicowane raki endometrioidalne (ang. high grade endometrioid carcinoma), mięsakoraki i raki niezróżnicowane (ang. undifferentiated)
Mutacje w genach <i>KRAS</i> , <i>BRAF</i> , <i>ERBB2</i> , <i>PTEN</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>CTNNB1</i> , <i>ARID1A</i> oraz <i>PPP2R1A</i> Brak mutacji w genie <i>TP53</i>	Mutacje w genie <i>TP53</i> Inaktywacje w genach <i>BRCA</i>
Powstają ze zmian prekursorowych takich jak nowotwory graniczne (ang. serous borderline tumors) czy endometrioza	Większość powstaje ze zmian nowotworowych (STIC) obecnych w dystalnej części jajowodu
Diagnozowane we wczesnym etapie	Diagnozowane w zaawansowanych stopniach (III i IV)
Wolny wzrost	Szybki wzrost
Rokowanie dobre (oprócz raka jasnokomórkowego)	Rokowanie złe

paryb) stosowany jest w przypadku nawrotowego raka jajnika ze stwierdzonymi mutacjami w genie *BRCA1/2* (Audeh et al., 2010). Mechanizm działania inhibitora PARP polega na blokowaniu centrum katalitycznego PARP, w konsekwencji prowadząc do cytotoksyczności i śmierci komórek nowotworowych (Xie et al., 2020).

Wymienione terapie ukierunkowane mają niestety swoje wady. Badania wykazały, iż stosowanie inhibitorów PARP, owszem poprawia przeżycie wolne od progresji, ale nie całkowite przeżycie. Co więcej, jego stosowanie wraz z chemioterapią na bazie platyny może prowadzić do hemotoksyczności, powodując jego ograniczone zastosowanie (Ogundipe et al., 2023). Z drugiej strony, bewacyzumab wykazuje działania toksyczne takie jak opóźnione gojenie się ran, nadciśnienie czy też perforację jelit (Kwolek et al., 2023).

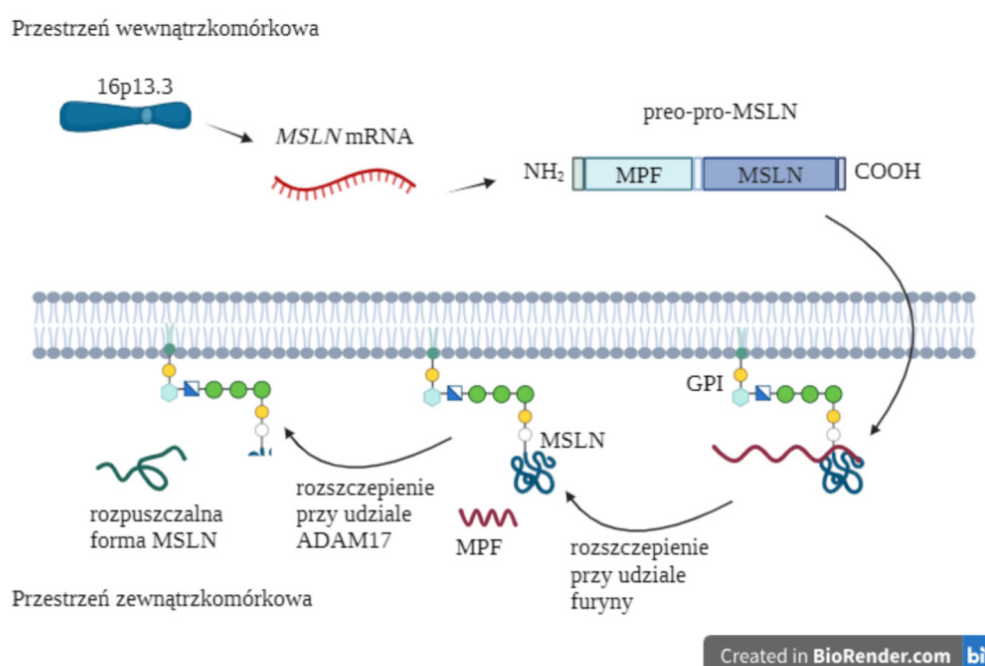
Dostępne metody leczenia rzadko umożliwiają całkowite wyleczenie pacjentów z zaawansowanym rakiem jajnika. Biorąc pod uwagę powyższe informacje, coraz więcej uwagi skupia się na znalezieniu nowych terapii celowanych, które byłyby ukierunkowane na hamowaniu konkretnych szlaków sygnałowych w komórkach nowotworowych. Dlatego, w niniejszym artykule przeglądowym skupiono się na FOLR α , NaPi2b oraz MSLN, nad którymi prowadzone są zaawansowane prace badawcze, a uzyskane wyniki są obiecujące.

W celu uzyskania informacji przeprowadzono przegląd literaturowy bazy Pubmed, skupiając się na anglojęzycznych artykułach oryginalnych, badaniach klinicznych oraz metaanalizach. Podczas wyszukiwania artykułów wykorzystano następujące słowa kluczowe: Ovarian cancer molecular targets, MSLN in targeted therapy, MSLN overexpression in cancer, MSLN overexpression in ovarian cancer, FR α overexpression in cancer, FR α overexpression in ovarian cancer, FR α targeted drug delivery, FR α as molecular target, Folic acid conjugated drugs, NaPi2b overexpression in cancer, NaPi2b overexpression in ovarian cancer, NaPi2b targeted drug delivery, NaPi2b as molecular target.

MSLN

CHARAKTERYSTYKA MSLN

MSLN (ang. Mesothelin) jest to glikoproteina błonowa o łącznej masie 40 kDa, zlokalizowana w mezotelialnej warstwie jam ciała, takich jak opłucna lub otrzewna. Białko to zakotwiczone jest w błonie komórkowej, za pomocą wiązania glikozylofosfatydyloinozytolu (GPI) (Chang and Pastan, 1996). Gen MSLN został po raz pierwszy opisany w 1992 przez Chang et al. (Chang et al., 1992). Na podstawie badań, stwierdzono, iż gen ten koduje białko prekursorowe (pre-pro mezotelinę) o masie 71 kDa, które z kolei w wyniku proteolitycznego rozszczepienia prowadzi do powstania białka MSLN oraz rozpuszczalnego fragmentu MPF (ang. megakaryocyte potentiating factor) (Chang and Pastan, 1996; Kojima et al., 1995). Forma rozpuszczalna MSLN (ang. soluble MSLN-related protein, SMRP), powstaje poprzez alternatywny splicing, bądź dalszą proteolityczną modyfikację z udziałem enzymu ADAM 17 (Sapede et al., 2008). Forma ta, bardzo często jest wykrywana w surowicy pacjentek z OC (Sholler et al., 1999) Proces powstawania MSLN został przedstawiony na rysunku 2.



Created in BioRender.com bio

RYSUNEK 2. Schematyczne przedstawienie procesu powstawania MSLN oraz MPF. Ilustrację wykonano za pomocą oprogramowania BioRender.

Mimo, iż od odkrycia MSLN minęło ponad 20 lat, dokładna funkcja biologiczna tego białka pozostaje do tej pory nie do końca poznana. Co ciekawe, badanie przeprowadzane z wykorzystaniem myszy z knock-outem genu MSLN nie wykazało, żadnych nieprawidłowości w rozmnażaniu, wzroście czy w płytkach krwi, gdy porównywało się je z myszami typu dzikiego. Wyniki te wskazują na brak istotnych funkcji MSLN w fizjologicznych procesach (Bera and Pastan, 2000). Dotychczasowe badania naukowców sugerują znaczny udział MSLN w procesach związanych z nowotworzeniem, szczególnie w proliferacji, inwazji, migracji, progresji oraz oporności na chemioterapię. Rump et al. w swoim badaniu wykazał zdolność MSLN do wiązania się z CA125/MUC16, implikując jego rolę w adhezji komórkowej (Rump et al. 2005). Z kolei, Bharadwaj et al. wykazał, iż nadekspresja MSLN prowadzi do aktywacji szlaku sygnalizacyjnego NF- κ B (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) oraz produkcji IL-6 (ang. interleukin 6) (Bharadwaj et al. 2011).

NADEKSPRESJA MSLN W KOMÓRKACH NOWOTWOROWYCH

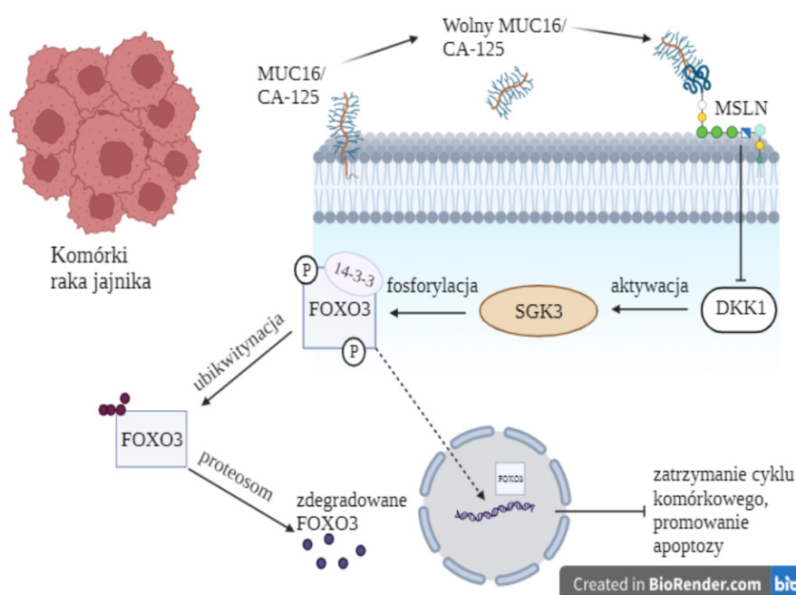
W prawidłowych warunkach ekspresja MSLN jest ograniczona do komórek mezotelialnych oraz niektórych komórek jelitowych (Chang and Pastan, 1996). Nadekspresja MSLN obserwowana jest między innymi w międzybłoniaku (Feng et al., 2020), raku przełyku (Moentenich et al., 2020), raku trzustki (Li et al. 2008), raku szyjki macicy (Takamizawa et al., 2022) i raku jajnika (Hilliard et al., 2021). Jego nadekspresja w raku jajnika była badana, między innymi przez zespół naukowców pod kierownictwem Hilliard'a. W doświadczeniu analizowano próbki (zabezpieczone formaliną bloki parafinowe tkanek) od 42 pacjentek z zaawansowanym SOC (ang. advanced serous ovarian cancer). Ekspresję MSLN określono poprzez barwienie immunohistochemiczne (IHC) z zastosowaniem przeciwciał anti-MSLN. Jako kontrole pozytywną użyto komórki mezotelialne. Ponad połowa pacjentek (52.4%) miała IV stopień zaawansowania OC. 27 pacjentek (64.3%) było wrażliwe na chemioterapię a 15 (35.7%) wykazywała oporność. Co zaskakujące, 38 pacjentek (90.5%) u których stwierdzono progresję, zmarło. U 14 pacjentek (33.3%) przeprowadzono pierwotną operację cytoredukcyjną, całkowite przeżycie (OS) w tej grupie pacjentek wynosiło 41 miesięcy. Z kolei, 25 (59.5%) pacjentek przeszło nieoptymalną cytoredukcję a ich mediana OS wynosiła 29 miesięcy. Pośród 42 badanych pacjentek, 34 (81%) z nich charakteryzowało się wysoką ekspresją MSLN a tylko 8 (19%) niską ekspresją MSLN. Poziom ekspresji był silnie skorelowany z OS. W przypadku niskiej ekspresji OS wynosiło 67 miesięcy. W przeciwieństwie do grupy z wysoką ekspresją MSLN, OS drastycznie spadło do 27 miesięcy. Dodatkowo stwierdzono również korelację między stopniem zaawansowania, statusem wrażliwości na platynę, rodzajem przeprowadzonej operacji, poziomem ekspresji MSLN a OS. Podsumowując, omówione badanie wskazuje, iż wysoka ekspresja MSLN przekłada się na skrócone OS u pacjentek z zaawansowanym OC (Hilliard et al., 2021). Warto jednak zaznaczyć, iż, to badanie ma swoje ograniczenia. Po pierwsze badanie przeprowadzono na dość małej liczbie pacjentek. Po drugie brak jest danych odnośnie poziomu ekspresji we wczesnych stopniach OC a także heterogeniczności. Innym przykładem jest badanie Weidemann et al. z 2023 roku. W odróżnieniu od przedstawionego powyżej badania, zakres grupy badanej był znacząco wyższy. Przeanalizowali oni 220 próbek, które pobrane były od pacjentek z OC oraz z przerzutów do węzłów chłonnych i otrzewnej. Rozkład histologiczny był następujący: typ surowiczy (75%), typ śluzowy (8%), typ endometrioidalny (7%), typ jasnokomórkowy (5%), typ mieszany (5%). W celu określenia stopnia heterogeniczności nadekspresji MSLN wykonano mikromacierz tkankową (ang. tissue microarray, TMA), którą w następnej kolejności wybarwiono immunohistochemicznie. W TMA uzyskano łącznie 2460 miejsc tkankowych z 423 różnych miejsc guza (188 nowotworów pierwotnych OC, 162 przerzuty do otrzewnej, 73 przerzuty do węzłów chłonnych). Aczkolwiek, w wyniku niewystarczającej liczby komórek nowotworowych w 118 próbkach, tylko 2342 poddano dalszym interpretacjom. W IHC zastosowano przeciwciało pierwszorzędowe specyficzne wobec białka mezoteliny (mysie przeciwciało monoklonalne) oraz niezależne przeciwciało (EPR19025-42) jako kontrola. W wyniku barwienia, 2041 próbek tkanek (87%) wykazywało pozytywną ekspresję MSLN. Biorąc pod uwagę miejsce guza, 372 z 392 miejsc (95%) było możliwych do interpretacji IHC. Ostatecznie heterogeniczność wewnątrznowotworowa została potwierdzona tylko w 23% pierwotnych OC. W przypadku przerzutów do otrzewnej i węzłów chłonnych heterogeniczność wynosiła 12% i 6%, kolejno. Heterogeniczność między guzem pierwotnym a przerzutem do otrzewnej stwierdzono w 16% przypadków. W tym przypadku następowała zmiana statusu MSLN z dodatniego na ujemny, ujemnego na dodatni lub na status mieszany. Jednakże, takiej zmiany nie zaobserwowano między guzem pierwotnym a przerzutem do węzłów chłonnych (Weidemann et al., 2023). Biorąc pod uwagę powyższe wyniki nasuwają się następujące wnioski. Nadekspresja MSLN w OC

jest częsta i jednocześnie homogeniczna. Z tego powodu OC wydaje się być idealnym kandydatem na potencjalne terapie przeciwko MSLN. Ponadto w przyszłości, doświadczenie to powinno być wzbogacone o dane dotyczące OS oraz obrazu klinicznego.

ZWIĄZEK MSLN Z ROZWOJEM RAKA JAJNIKA

W 2020 roku zespół badawczy Coelho przeprowadził doświadczenie, w którym powiązali ekspresję MSLN w liniach komórkowych HGSC (ang. high-grade serous carcinoma) z uniknięciem śmierci na drodze anoikis. Anoikis jest to jedna z form apoptozy, która zachodzi w wyniku utraty połączenia komórek z substancją międzykomórkową bądź innymi komórkami. W badaniu *in vitro* wykorzystano linie HGSC z „naturalnie” wysoką ekspresją MSLN, knock-outem lub bez knock-outu genu MSLN. W przypadku linii komórkowej o wyższym stężeniu MSLN zaobserwowano zwiększoną oporność na anoikis jak i proliferację. By określić wpływ MSLN na inwazję wykonano testy inwazji pojedynczych i zagregowanych komórek (ang. single and aggregate cell invasion assays). W tym teście stwierdzono najwyższy wzrost komórek inwazyjnych w przypadku linii komórkowej HGSC z wysoką ekspresją MSLN. Oprócz badań *in vitro*, przeprowadzili również badanie *in vivo* na modelu zwierzęcym, polegające na wstrzyknięciu nagim myszom komórek z wysoką ekspresją MSLN oraz knock-outem MSLN. Wyniki badań wykazały zwiększony rozsiew komórek nowotworowych do jamy otrzewnej wśród mysz z wysoką ekspresją MSLN (Coelho et al. 2020).

MSLN ma zdolność do wiązania się z MUC16/CA125, który występuje na powierzchni komórek nowotworowych (Gubbels et al., 2006). Połączenie to z kolei umożliwia implantację komórek nowotworowych jajnika do otrzewnej (Sholler et al., 2007; Bruney et al., 2014), co udowodnił w 2021 roku Hou et al. W badaniu *in vivo* na mysich ksenoszczepach stwierdzono, iż wiązanie CA125 z MSLN promuje przerzuty raka jajnika. Co więcej, dzięki metodzie Western Blot i półilościowej analizie gęstości optycznej określił, iż, wiązanie wolnego CA125 z MSLN powoduje w konsekwencji zmniejszenie ekspresji DKK1 (ang. dickkopf-related protein 1) oraz aktywację szlaku SGK3/FOXO3 (Huo et al. 2021), co zostało przedstawione na rysunku 3. SGK3 (ang. serum- and glucocorticoid-regulated kinases) należy do rodziny kinaz o podobnej strukturze oraz funkcji co Akt (Firestone et al. 2003). Natomiast FOXO3 (ang. forkhead box O3) należy do podklasy O rodziny czynników transkrypcyjnych (Huang and Tindall, 2007). W warunkach fizjologicznych FOXO3 zlokalizowany jest w jądrze komórkowym, gdzie reguluje geny p21 czy p27, prowadząc zatem do zatrzymania cyklu komórkowego i aktywacji białek proapoptycznych (BCL2L11, Bim), promując apoptozę (Gilley et al. 2003). SGK3 katalizuje fosforylację FOXO3, który następnie wiąże się z białkami 14-3-3. W ten sposób FOXO3 nie jest w stanie być ponownie importowany do jądra komórkowego. Pozostając w cytoplazmie, FOXO3 ulega ubikwitynacji oraz degradacji proteasomalnej (Bocitto and Kalb, 2011). Konsekwencją wspomnianych „zdarzeń” w świetle kancerogenezy jest zwiększona proliferacja i uniknięcie apoptozy przez komórki nowotworowe (Liu et al., 2018; Huo et al. 2021).



RYSUNEK 3. Rola MSLN w raku jajnika.

Ilustrację wykonano za pomocą oprogramowania BioRender.

BADANIA NAD WYKORZYSTANIEM MSLN W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Wysoka ekspresja w tkankach nowotworowych przy jednoczesnej ograniczonej ekspresji w zdrowych tkankach oraz właściwości antygenowe, czynią MSLN idealnym celem w terapii przeciwnowotworowej. Do tej pory przeprowadzono kilka interesujących badań dotyczących wykorzystania MSLN w terapii przeciwnowotworowej, w tym raka jajnika. W niniejszym podrozdziale omówiono trzy obiecujące leki - Anetumab ravnansine - stojącym na czele, DMOT4039A oraz BMS-986148.

Anetumab ravnansine, znany również pod nazwą BAY-94 934, jest koniugatem przeciwciało-lek (ang. antibody–drug conjugate, ADC) skierowany wobec MSLN. Zbudowany jest z pełni ludzkiego przeciwciała monoklonalnego przeciw mezotelinie IgG1, skoniugowanego z inhibitorem DM4 – pochodną tubuliny maytansyny (Golfier et al. 2014). Po związaniu z mezoteliną, która znajduje się na powierzchni komórek nowotworowych ulega on internalizacji. Uwolnienie DM4 następuje w wyniku rozszczepienia łącznika dwusiarczowego (Chen et al., 2017). W badaniach przedklinicznych *in vitro* na liniach komórkowych ludzkiego raka płuc (NCI-H322) oraz ludzkiego raka jajnika (OVCAR-3), anetumab ravnansine zmniejszał ekspresję MSLN, w porównaniu z komórkami nieleczonymi. Wykazano również, iż anetumab ravnansine indukował areszt mitotyczny, uszkodzenia DNA oraz apoptozę. Z kolei w badaniach *in vivo* na dziesięciu liniach komórkowych raka jajnika (OVCAR-3, OVCAR-8, ST103, ST081, ST270, ST409, ST467, ST206B, Ov6645 ST2054), anetumab ravnansine odznaczał się wysoką skutecznością. Co więcej, na modelach ST081 oraz ST103 przyczynił się do całkowitej eradykacji guza. W omawianym badaniu sprawdzono również skuteczność w skojarzeniu z PLD, karboplatiną, copanlisibem, bewacyzumabem. Oprócz copanlisibu, anetumab ravnansine wykazywał zwiększoną siłę działania, gdy był stosowany w schemacie wielolekowym. Warto również podkreślić, iż, sam anetumab ravnansine jak i w połączeniu był dobrze tolerowany (Quanz et al., 2018). W marcu 2020 r. opublikowano pierwsze badanie kliniczne fazy pierwszej (NCT01439152) z udziałem ludzi, w którym badano bezpieczeństwo, tolerancję, farmakokinetykę i aktywność kliniczną anetumabu ravnansine przeciwko zaawansowanym lub przerzutowym guzom litym z nadekspresją MSLN (międzybłoniak, rak piersi, rak trzustki, niedrobnokomórkowy rak płuc, rak jajnika). Badanie kliniczne było otwarte oraz ośmioośrodkowe. Rekrutacja odbywała się między wrześniem 2011 r. a czerwcem 2015 r, podczas której zakwalifikowano 148 pacjentów (w tym 64 pacjentek z OC). Pacjenci byli podzieleni na 6 grup i w zależności od grupy przyjmowali: 6,5 mg/kg co 3 tygodnie, 2,2 mg/kg raz w tygodniu, 1,8 mg/kg raz w tygodniu. Do najczęstszych skutków ubocznych było zmęczenie, nudności, biegunka, anoreksja, wymioty, obwodowa neuropatia czuciowa oraz zapalenie rogówki. U jednego pacjenta wystąpiła całkowita odpowiedź (ang. complete response, CR) u 11 częściowa odpowiedź (ang. partial response, PR) a u 66 choroba ustabilizowała się (ang. stable disease, SD). Spośród 64 pacjentek, u jednej pacjentki wystąpiła CR, gdy przyjmowała anetumab ravnansine w schemacie 2,2 mg/kg raz w tygodniu. Podczas badania klinicznego stwierdzono również trend między ekspresją MSLN, a aktywnością przeciwnowotworową. Odsetek obiektywnych odpowiedzi (ang. objective response rate, ORR) wynosił 12,8%, gdy ekspresja MSLN w OC przekraczała 66% (Hassan et al. 2020). Jedno z najnowszych badań klinicznych fazy Ib (NCT02751918) opublikowanych w 2022 r. dotyczyło wykorzystania anetumabu ravnansine w skojarzeniu z PLD u pacjentek z nawrotowym rakiem jajnika opornym na platynę z ekspresją mezoteliny. Do badania zakwalifikowano 65 pacjentek z rozpoznany, chemoopornym inwazyjnym lub przerzutowym rakiem jajnika, jajowowodou lub pierwotnym rakiem otrzewnej. Anetumab ravnansine podawano co 3 tygodnie dożylnie, w dawce 5,5 lub 6,5 mg/kg wraz z PLD (30 mg/m²). Maksymalna tolerowana dawka wynosiła 6,5 mg/kg co 3 tygodnie. ORR spośród wszystkich leczonych pacjentów wynosił 27,7%. Odnotowano również jedną CR (1,5%) oraz 17 PR (26,2%). U podgrupy 8 pacjentów z wysoką ekspresją oraz ≤ 3 wcześniejszymi liniami leczenia, ORR wynosił 42,1%, a przeżycie wolne od progresji (ang. progression free survival, PFS) wynosiło 8,5 miesięcy (Santin et al., 2022). Anetumab ravnansine w monoterapii jak i w skojarzeniu z PLD jest obiecującą metodą leczenia pacjentek z rakiem jajnika opornym na platynę, zwłaszcza z guzami o wysokiej ekspresji MSLN co potwierdzono w badaniach klinicznych. Aczkolwiek, mimo zadowalających wyników, badania te należy uzupełnić danymi, które uzyska się w kolejnych fazach badań klinicznych.

DMOT4039A, inaczej RG7600, jest lekiem typu ADC skierowanym wobec MSLN. Zbudowane jest z humanizowanego przeciwciała IgG1 skoniugowanego z monometyloaurystatyną E (ang. monomethyl auristatin E, MMAE) (Zhao et al., 2016). MMAE jest syntetycznym analogiem dolastyny i tak samo jak wcześniej wspomniany DM4, jest środkiem antymitotycznym (Calo and O'Malley, 2020). W zakończonym badaniu klinicznym pierwszej fazy (NCT01469793), 71 pacjentów (40 z rakiem trzustki i 31 rakiem jajnika) było le-

czonych DMOT4039A. MTD wynosiło 2,4 mg/kg w przy podawaniu co 3 tygodnie oraz 1 mg/kg, gdy DMO-T4039A było raz w tygodniu. Odpowiedź przeciwnowotworową określano za pomocą RECIST 1.1 (ang. Response Evaluation Criteria In Solid Tumours) oraz oznaczając stężenia CA19-9 lub CA125 w surowicy. U 6 pacjentów (4 z rakiem jajnika oraz 2 z rakiem trzustki) odnotowano PR, gdy DMOT4039A podawany był w schemacie co 3 tygodniowym. Jednocześnie spadek CA-125 zaobserwowano wśród 3 pacjentek z rakiem jajnika (Weekes et al., 2016). Brak jest jakichkolwiek danych odnośnie fazy drugiej tego badania.

BMS-986148 (Bristol-Myers Squibb) jest kolejnym lekiem typu ADC skierowanym przeciwko MSLN. Składa się z pełni ludzkiego IgG1, który skoniugowany jest z tubulizyną (Rottery et al., 2021). Tubulizyna (ang. tubulysin) jest wysoce cytotoksycznym białkiem izolowanym z myksobakterii. Białko to wykazuje aktywność antymitotyczną, prowadzi do upośledzonej proliferacji i w konsekwencji do apoptozy. (Khalil et al., 2006). Do tej pory przeprowadzono jedno badanie kliniczne (NCT02341625, faza I/II), które miało na celu określenie bezpieczeństwa, tolerancji i odpowiedzi przeciwnowotworowej w monoterapii i w skojarzeniu z nivolumabem u 126 pacjentów z guzami litymi (międzybłoniak, niedrobnokomórkowy rak płuc, rak jajnika, rak trzustki i rak żołądka). Grupa 96 pacjentów otrzymała BMS-986148 w dawce 0.1-1.6 mg/kg co 3 tygodnie lub BMS-986148 w dawce 0.4/0.6 mg/kg co tydzień. Grupa 30 pacjentów przyjmowała BMS-986148 w dawce 0.8 mg/kg + nivolumab 360 mg co 3 tygodnie. Poważne TRAE (ang. Treatment-Related Adverse Events) wystąpiło u 18% i 23% pacjentów poddawanych monoterapii i terapii skojarzonych, odpowiednio. Ostatecznie MDL wynosiła 1.2 mg/kg co 3 tygodnie (w monoterapii) oraz 0,8 mg/kg (z nivolumabem) BMS-986148 w skojarzeniu z nivolumabem wykazywał podobny profil bezpieczeństwa co BMS-986148 w monoterapii. ORR u pacjentek z rakiem jajnika wynosił 9% w przypadku monoterapii a odpowiedź trwała do 20 miesięcy (Rottery et al., 2021). Niestety dalsze fazy badania klinicznego zostały wycofane w 2022 r. z przyczyn innych niż bezpieczeństwa. Obecnie nie prowadzi się dalszych badań klinicznych nad tym lekiem.

FR α (FOLR1)

CHARAKTERYSTYKA FR α

FR α (ang. Folate Receptor α) jest ludzkim białkiem zbudowanym z 257 aminokwasów i kodowanym przez gen FOLR1 (folate receptor 1). Jest jedną z czterech izoform receptora FR występujących u człowieka. W komórce położony jest na zewnętrznej powierzchni błony komórkowej i jest w niej zakotwiczony za pomocą glikofosfatydyloinozytolu (GPI). Podstawową funkcją FR α jest wiązanie i transport folianów oraz kwasu foliowego do wnętrza komórki. Kiedy folian lub zredukowany kwas foliowy przyłączają się do receptora powstały kompleks receptor-ligand jest transportowany do komórki na drodze endocytozy w celu uwolnienia ligandu. Z punktu widzenia terapii przeciwnowotworowej ważne jest, że receptor ten nie jest głównym dostarczycielem kwasu foliowego do komórki oraz ulega bardzo ograniczonej ekspresji w zdrowym organizmie (Antony, 1996). Głównym dostarczycielem niezbędnych dla organizmu folianów jest białko RFC (Reduced Folate Carrier 1). Różnią się one mechanizmem transportu, powinowactwem, przepustowością oraz dystrybucją w organizmie. FR α transportuje foliany na drodze endocytozy po ich przyłączeniu do receptora, a RFC przeprowadza transport poprzez antyport, co zostało zilustrowane w tabeli 2 (Visentin et al., 2012).

TABELA 2. Porównanie podstawowych różnic między FR α , a głównym dostarczycielem kwasu foliowego do komórki - RFC.

	FR α	RFC
Mechanizm transportu	Transport na drodze endocytozy	Antyport wykorzystujący wysoki gradient transbłonowego fosforu organicznego
Powinowactwo do kwasu foliowego	Wysokie	Niskie
Przepustowość	Niska	Wysoka

Różnice w mechanizmie transportu folianów do komórki przez różne receptory przekładają się na różnice w transporcie leków sprzężonych z folianami oraz antagonistów kwasu foliowego jak np. metotreksatu. Zrozumienie tych różnic ma kluczowe znaczenie w doborze odpowiednich leków do danego typu nowotworu. Badania przeprowadzone przez Sierra et al. porównywały zmodyfikowaną linię komórkową L1210 (mysią linię komórkową białaczki limfatycznej), która charakteryzowała się defektem RFC i zwiększoną ekspresją FR β (ang. Folate Receptor β), który posiada taki sam mechanizm transportu jak FR α ze standardową linią L1210. Wykazano, że napływ metotreksatu do komórki w linii zmodyfikowanej był 3 krotnie niższy niż w standardowej linii, a dodatkowo był hamowany przez podanie kwasu foliowego, który „zajmował” nisko przepustowe FR α (Sierra et al., 1995). Może to sugerować, że przy podawaniu leków nakierowywanych na FR α należy ograniczyć zawartość kwasu foliowego w diecie.

WYSTĘPOWANIE RECEPTORA FR α ORAZ JEGO NADEKSPRESJA W KOMÓRKACH NOWOTWOROWYCH

W zdrowych tkankach ekspresja receptora FR α jest ograniczona i występuje on wyłącznie w zewnętrznej, spolaryzowanej powierzchni komórek nabłonkowych. Występuje on między innymi w strzępkach pokrywających jajowód w jego części najbliższej jajnika, proksymalnych kanalikach nerkowych, pneumocytach typu I i II, splocie naczyńńwkowym, gruczołach oskrzelowych oraz komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki (Ledermann et al., 2015).

Nadekspresja receptora jest silnie skorelowana z rozwinieniem się nowotworów pochodzenia nabłonkowego, między innymi w raku błony śluzowej macicy (Allard et al., 2007), piersi (O'Shannessy et al., 2012), płuc (Shi et al., 2015) oraz jajników (Kalli et al., 2008), (Leung et al., 2013), (Bax et al., 2022). Od wielu lat naukowcy obserwują wzrost ekspresji receptora FR α w przypadku nowotworów jajnika. Poszukiwanie nowych markerów raka jajnika jest niezbędne, aby zrewolucjonizować wczesne wykrywanie, a tym samym znacznie poprawić wyniki leczenia pacjentów. Markery te nie tylko zwiększają dokładność diagnostyczną, ale także umożliwiają podjęcie interwencji w odpowiednim czasie, ostatecznie wpływając na spersonalizowane strategie leczenia.

Przykładowo, badania przeprowadzone w 2008 roku przez zespół Kalli et al. w Mayo Clinic w Rochester pokazały, że u pacjentek, które poddały się chirurgicznemu usunięciu guza ekspresja FR α występowała w 134 z 186 (72%) przypadków guzów pierwotnych oraz w 22 z 27 (81,5%) przypadków guzów nawracających (Kalli et al., 2008). Nowe badania z 2022 roku przeprowadzone przez zespół Bax et al. obejmowały większą grupę badaną, bo aż 316 pacjentek cierpiących na raka jajnika, leczących się w szpitalu Guy's Hospital w Londynie. Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy. Łącznie pobrano wycinki nowotworu od 316 pacjentek, a surowicę od 143 pacjentek i od 61 zdrowych wolontariuszy. Barwienie błonowe i/lub cytoplazmatyczne pozwoliło na zaobserwowanie FR α w 52,7% przypadków guzów. Dodatkowo, przeprowadzono badania nad sFR α (ang. soluble FR α), czyli formą receptora prawdopodobnie uwalnianą z komórek nowotworowych i wykrywaną w surowicy. Stężenie krążącego sFR α było istotnie wyższe u pacjentów w porównaniu do zdrowych ochotników, zwłaszcza u tych, u których pobrano próbki przed zastosowaniem leczenia neoadjuwantowego i paliatywnego (Bax et al., 2023). Omówione badania pokazują, że związek nadekspresji FR α z rozwojem nowotworu jajnika jest wysoki, ale nie jest to jednak uniwersalny marker dla wszystkich nowotworów. Może jednak znacząco pomóc w diagnostyce i spersonalizowanej medycynie.

WŁAŚCIWOŚCI CZYNIĄCE FR α DOBRYM CELEM W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

FR α charakteryzuje się wieloma cechami, które czynią go dobrym celem w terapii przeciwnowotworowej. Są to między innymi opisana wyżej nadekspresja w komórkach nowotworowych oraz położenie na zewnętrznej części błony komórkowej. Jednak kluczową cechą, dzięki której FR α jest często określany jako komórkowy koń trojański (Ledermann et al., 2015), jest mechanizm transportu na drodze endocytozy oraz jego przemieszczanie się wraz z powstałym endosomem w głąb komórki. Umożliwia to transport dużych cząsteczek takich jak np. lek sprzężony z kwasem foliowym oraz zapobiega szybkiemu usunięciu leku przez transportery ABC (ang. ATP-binding cassette transporters) położone w błonie komórkowej.

Istotną cechą FR α jest to, że w trakcie transportu na drodze endocytozy, receptor znajdujący się na endosomie jest transportowany w głąb komórki, a nawet do jądra komórkowego. Dowodzą tego badania przeprowadzone na linii komórkowej DAOY (linii komórkowej rdzeniaka zarodkowego desmoplastycznego). Komórki traktowano kwasem foliowym, a następnie za pomocą immunoblotów lizatów jądra komórkowego, badano zmiany zawartości FR α w czasie. Wykazano, że w momencie podawania kwasu foliowego w jądrze

komórkowym nie było receptora, ale pojawił się on już po 15 minutach (Boshnjaku et al., 2012).

W literaturze przeglądowej receptor $FR\alpha$ często zestawiany jest z receptorem RFC, przykładem może być artykuł o bardzo wysokim impact factor autorstwa Jonathana Ledermanna z 2015 roku. Uważa się, że RFC w przeciwieństwie do $FR\alpha$ nie ma zdolności transportu większych cząstek sprzężonych z folianami np. leku Vintafolide. Byłaby to wyjątkowo korzystna cecha z punktu terapii przeciwnowotworowej, gdyż pozwalałaby na selektywny transport leków sprzężonych z folianami tylko do komórek posiadających $FR\alpha$. Większość doniesień na ten temat opiera się jednak na danych przedstawionych przez Christophera P. Leamona współpracującego z firmą farmaceutyczną Endocyte, które ostatecznie nie zostały opublikowane. Inni badacze nie potwierdzili jak do tej pory selektywnego transportu leku Vintafolide przez receptor $FR\alpha$. Pojawiają się jednak doniesienia o zróżnicowanym wychwycie różnych związków przez różne transportery kwasu foliowego. Badania opublikowane w Nature w 2021 roku przez O'Connor et al. porównywały transport antagonistów kwasu foliowego: AGF94, AGF102, Pemetreksedu, Metotreksatu i PT523 (Talotrexin). Wykazano między innymi, że w przypadku metotreksatu i PT523 dominował wychwyt z wykorzystaniem RFC, a w przypadku AGF94 w wykorzystaniem $FR\alpha$, nawet w obecności innych transporterów (O'Connor et al., 2021).

BADANIA NAD WYKORZYSTANIEM $FR\alpha$ W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Próby wykorzystania receptora $FR\alpha$ w terapii przeciwnowotworowej obejmują kilka podejść. Są to sprzężanie leków lub nanocząstek niosących lek z kwasem foliowym, wykorzystanie przeciwciał skierowanych przeciwko $FR\alpha$ lub sprzężanie tych przeciwciał z lekami.

Jako pierwsze do badań klinicznych trafiły leki sprzężone z folianami. Przykładem takiego rozwiązania jest lek Vintafolide. Łączy on w sobie lek przeciwnowotworowy będący pochodną winblastyny DAVLBH (ang. desacetylvinblastine monohydrate), który jest połączony za pomocą peptydowego łącznika i redukwalnego łącznika disiarczkowego z kwasem foliowym. DAVLBH jest konwencjonalnym lekiem przeciwnowotworowym, uniemożliwiającym powstanie wrzeciona kariokinetycznego, a tym samym podział komórek. W rozwiązaniu Vintafolide, kwas foliowy pełni rolę cząsteczki, która nakierowuje lek w rejon guza, a następnie po przyłączeniu do $FR\alpha$ umożliwia transport do wnętrza komórki na drodze endocytozy. Wewnątrz endosomu, w którym panuje niższe pH łącznik disiarczkowy ulega zerwaniu, a lek uwolnieniu (Vergote i Leamon, 2015). II faza badań klinicznych o numerze NCT00722592 badała osoby chorujące na nawracającego raka jajnika opornego na platynę, którym chirurgicznie usunięto zmiany chorobowe. Następnie jednej grupie pacjentek podawano pegylowaną, liposomalną doksrubicynę (PLD), która jest konwencjonalnym lekiem wykorzystywanym w zapobieganiu nawrotów raka jajnika. Drugiej grupie podawano PLD wraz z Vintafolide. Badania wykazały, że połączenie Vintafolidu z PLD prowadziło do lepszych wyników niż standardowa terapia. Największą korzyść zaobserwowano u pacjentek, u których 100% zmian nowotworowych wykazywało ekspresję $FR\alpha$. Przy standardowym leczeniu czas przeżycia do ponownego pojawienia się guza wynosił zaledwie 1,5 miesiąca, a przy dodatkowym podaniu Vintafolide 5,5 miesiąca (Naumann et al., 2013). Niestety III faza badań klinicznych o numerze NCT01170650 została zakończona ze względu na brak oczekiwanych wyników, a obecnie nie prowadzi się dalszych badań nad tym lekiem. Jednak trwa obecnie wiele innych badań wykorzystujących receptor $FR\alpha$.

Kolejnym podejściem w terapii nowotworów wykorzystującym $FR\alpha$ było stworzenie leków na bazie przeciwciał skierowanych przeciwko temu receptorowi. Jednym z badanych rozwiązań było MORAb-003 (Farletuzumab), czyli humanizowane przeciwciało monoklonalne, które cechowało się wysokim powinowactwem do $FR\alpha$. Przedkliniczne badania wykazały, że lek ten charakteryzuje hamowanie wzrostu komórek o nadekspresji $FR\alpha$, jak również wywoływanie cytotoksyczności zależnej od przeciwciał (ADCC) oraz cytotoksyczności zależnej od układu dopełniacza (CDC). Co więcej, wykazano, że wiązanie przeciwciał MORAb-003 z receptorem nie zakłócało poboru antagonistów kwasu foliowego np. metotreksatu do komórki (Ebel et al., 2007). Jest to atrakcyjna cecha z punktu widzenia terapii przeciwnowotworowej, gdyż pozwala na podawanie pacjentom przeciwciał, bez zakłócania poboru innych leków. II faza badań klinicznych wykazała skuteczność leku Farletuzumab w skojarzeniu z platyną i taksanem w leczeniu pacjentek z nawrotem raka jajnika po leczenie pierwszego rzutu choroby (Armstrong et al., 2009). Niestety, w następującej III fazie badań klinicznych (NCT00849667) żadna z badanych dawek farletuzumabu nie osiągnęła pożądanej wartości PFS (ang. progression-free survival) (Vergote et al., 2016). W późniejszych latach przeprowadzono jeszcze jedną próbę kliniczną badającą potencjał leku Farletuzumab w leczeniu raka jajnika. W 2015 roku rozpoczęła się II faza badań klinicznych o numerze NCT02289950, która skupiała się na pacjentkach będących po pierwszym

nawrocie raka jajnika wrażliwego na platynę. Farletuzumab podawano w skojarzeniu z konwencjonalnymi środkami leczniczymi: karboplatiną wraz z paklitakselem lub karboplatiną z pegylowaną liposomalną doksorubicyną. Niestety badania wykazały, że włączenie farletuzumabu do standardowej chemioterapii pierwszego nawrotu raka jajnika wrażliwego na platynę i cechującego się niskim stężeniem antygenu CA-125 (ang. cancer antigen 125) nie poprawiło wartości PFS u pacjentek (Herzog et al., 2023). W 2023 roku, w *Nature* opublikowano jednak przełomowe wyniki pierwszej fazy badań klinicznych, w której również skupiono się na wykorzystaniu FR α . Badano przeciwciała anti-FR α o nazwie Mov18, ale należące do klasy IgE (jak dotąd wszystkie stosowane w praktyce klinicznej przeciwciała należą do klasy IgG). Opisana próba kliniczna NCT02546921 potwierdziła bezpieczeństwo i tolerowalność leku u pacjentów, co było kluczowe ze względu na przełomowość stosowania przeciwciał klasy IgE. Wysoki potencjał tego leku wynika z faktu, że leki IgE mogą pośredniczyć w silniejszej odpowiedzi immunologicznej na komórki nowotworowe niż IgG ze względu na ich większe powinowactwo do receptorów Fc (Spicer et al., 2023). Konieczne będą dalsze, rozległe badania kliniczne w celu pełnego zrozumienia leku Mov18. W chwili obecnej brak jest innych równoległych prób klinicznych, co nakazuje zachowanie ostrożności i powściągliwości w ocenie jego potencjalnych terapeutycznych korzyści.

Obecnie bardzo duże nadzieje są związane z kolejną grupą leków: koniugatami leku z przeciwciałami anti-FR α . Trwające badania obejmują między innymi MORAb-202, czyli połączenie opisanych wyżej przeciwciał MORAb-003 (Farletuzumab) z lekiem erybuliną. Lek erybulina (eribulin mesylate) jest syntetycznym analogiem halichondryny B i poprzez hamowanie pracy mikrotubuli wykazuje właściwości przeciwnowotworowe. Pierwsza faza badań klinicznych o numerze NCT03386942 wykazała potencjał MORAb-003 w leczeniu guzów litych. Spośród 22 pacjentów, którzy wzięli udział w badaniu u 1 zaobserwowano całkowite ustąpienie choroby, u 9 częściowe ustąpienie choroby, u 8 nie zaobserwowano zmian, a u 4 nastąpił postęp choroby. Lek był dobrze tolerowany przez pacjentów. Badania te zapoczątkowały trwające obecnie, dalsze badania kliniczne (Shimizu et al., 2021). Obecnie trwają trzy niezależne eksperymenty kliniczne drugiej fazy, z czego jeden, o numerze NCT05613088 obejmuje pacjentki chorujące na nowotwór jajnika.

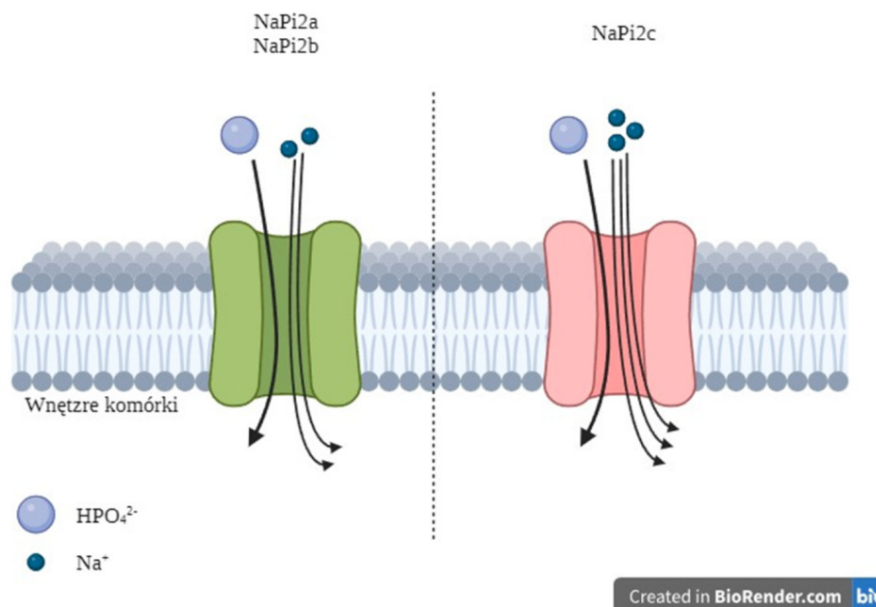
Wysoki potencjał koniugatów leków z przeciwciałami anti-FR α w terapii nowotworów jajnika podkreśliła bardzo niedawne dopuszczenie w ramach przyspieszonej procedury leku mirwetuksymabu sorawtanzyiny o nazwie handlowej ELAHERE opracowanym przez firmę ImmunoGen. Lek ten składa się z humanizowanego przeciwciała IgG1 oraz leku maytansinoid DM4, które są ze sobą połączone łącznikiem dwusiarczkowym. Lek ten został dopuszczony przez FDA 14 listopada 2022 i otrzymał status leku sierociego w Stanach Zjednoczonych i Unii Europejskiej. Jest dopuszczony w leczeniu pacjentek z opornym na pochodne platyny nabłonkowym rakiem jajnika, jajowodu i pierwotnym rakiem otrzewnej, które wykazują nadekspresję receptora FR α . Podstawą do stwierdzenia obecności receptora FR α jest test diagnostyczny, który został zarejestrowany wraz z lekiem pod nazwą VENTANA FOLR1 (FOLR-2.1) RxDx Assay. Kluczową próbą kliniczną, która umożliwiła akceptację leku przez FDA była próba o nazwie SOYARA i numerze NCT04296890 (Matulonis et al., 2023; Heo, 2023). Dopuszczenie leku jest kamieniem milowym w leczeniu nowotworów jajnika oraz uhonorowaniem wieloletniej pracy naukowców z całego świata pracujących nad wykorzystaniem FR α . Potrzeba jednak czasu, aby w pełni ocenić sukces leku w praktyce klinicznej.

NAPi2B

CHARAKTERYSTYKA NAPi2B

Transporter NaPi2b (ang. sodium-dependent phosphate transport protein 2B) jest zbudowany z 689 aminokwasów i jest kodowany przez gen SLC34A2, należy do rodziny białek SLC34 odpowiadających za transport nieorganicznego fosforu do wnętrza komórki wśród ssaków (Hhilmfiker et al., 1998; Rangel et al., 2003). W skład rodziny, oprócz NaPi2b, wchodzi również NaPi2a (SLC34A1) oraz NaPi2c (SLC34A3), różnią się one kompozycją aminokwasową oraz poziomem ekspresji w tkankach. Wszyscy przedstawiciele rodziny przeprowadzają transport, gdzie nieorganiczny fosforan HPO $_4^{2-}$ ulega symportowi wraz z dwoma lub trzema jonami sodu, co przedstawia rysunek 4. Drugą rodziną białek przeprowadzającą transport fosforu jest SLC20 (Wagner et al., 2013).

NaPi2b jest atrakcyjnym markerem niektórych rodzajów nowotworów, gdyż ulega on silnej ekspresji tylko w niektórych tkankach, a jego nadekspresja na obszarach, gdzie nie występuje fizjologicznie jest wiązana z rozwojem nowotworu np. raka jajnika. Badania wykazały, że w zdrowym organizmie ulega on



RYSUNEK 3. Schematyczne przedstawienie mechanizmu transportu fosforu przez transportery z rodziny SLC34. Ilustrację wykonano za pomocą oprogramowania BioRender.

silnej ekspresji w jelicie cienkim, nerkach i komórkach nabłonka pęcherzykowego typu II płuc, gdzie bierze udział w syntezie płucnego środka powierzchniowo czynnego AT-II 9 (Traebert et al., 1999; Xu et al., 1999; Hashimoto et al., 2000; Wagner et al., 2013). Nadmierna ekspresja NaPi2b została zidentyfikowana jako istotny czynnik związany z rozwojem różnych nowotworów, w tym nowotworu piersi (Chen et al., 2010), nabłonkowego nowotworu jajnika (Rangel et al., 2003; Gryshkova et al., 2009; Nurgalieva et al., 2021), nowotworu tarczycy (He et al., 2020) oraz nowotworu pęcherza moczowego (Ye et al., 2017).

NADEKSPRESJA RECEPTORA NaPi2B W RAKU JAJNIKA

Badania zespołu Vitaliny Gryshkovej z 2009 roku skoncentrowały się na wykazaniu związku nadekspresji NaPi2b w nabłonkowych nowotworach jajnika. W ramach tego badania pobrano próbki od 28 pacjentek z National Cancer Institute w Kijowie, u których stwierdzono nowotwór jajnika. Grupę kontrolną stanowiła zdrowa tkanka nabłonkowa jajnika. Pobrane wycinki zostały poddane analizie przy użyciu technik Western Blot, immunohistochemii oraz qPCR. Wyniki badań wykazały, że 18 na 28 badanych wycinków wykazywało pozytywną ekspresję NaPi2b, w tym aż 13 na 13 przypadków torbielakogruczolak surowiczego (ang. papillary serous tumors). Warto zaznaczyć, że żaden z 10 lizatów zdrowej tkanki jajnika nie wykazywał ekspresji NaPi2b (Gryshkova et al., 2009).

Kolejnymi badaniami potwierdzającymi korelację pomiędzy nadekspresją NaPi2b, a rozwojem raka jajnika są te przeprowadzone przez zespół kierowany przez Nurgalieva i opublikowane w 2021. W badaniach wzięło udział 48 pacjentek, które poddały się chirurgicznemu usunięciu guza w ośrodku Republican Clinical Oncological Dispensary w Kazanie. Badania wykazały jednak bardzo zróżnicowany poziom ekspresji w poszczególnych wycinkach. Zawartość białka NaPi2b była niższa u pacjentek, które otrzymały już leczenie neoadiuwantowe (leczenie poprzedzające zabieg chirurgiczny i polegające najczęściej na chemioterapii, hormonoterapii i radioterapii). Jest to bardzo istotna informacja z perspektywy trwających obecnie prób klinicznych nad przeciwciałami skierowanymi przeciwko NaPi2b w leczeniu nowotworu jajnika, gdyż pokazuje, że terapia ta może nie być skuteczna w przypadku pacjentek po leczeniu neoadiuwantowym. Warto zauważyć, że różnica ta była widoczna na poziomie białkowym, a nie była obserwowana na poziomie transkrypcji. Potrzebne są dalsze badania w celu zrozumienia roli NaPi2b w rozwoju i terapii raku jajnika (Nurgalieva et al., 2021).

ZWIĄZEK NaPi2B Z ROZWOJEM NOWOTWORU

Pomimo licznych doniesień na temat wzrostu ekspresji białka NaPi2b w wielu typach nowotworów, wciąż brakuje danych literaturowych na temat przyczyn tego zjawiska. Jednym z wyjaśnień tego zjawiska może być hipoteza tempa wzrostu (ang. growth rate hypothesis), która mówi o tym, że zwiększona dostępność

fosforu w mikrośrodkowisku guza sprzyja syntezie białek i proliferacji komórek nowotworowych (Kareva, 2013). He et al. zbadali dokładny mechanizm, w jaki NaPi2b przyczynia się do rozwoju raka brodawkowego tarczycy. Na początku zbadano mechanizm odpowiadający za nadekspresję genu SLC34A2 i odkryto, że promotor genu posiada charakterystyczny region -wyspy CpG w rejonie od 1400 bp do 800 bp od miejsca początku transkrypcji. Hipometylacja promotora odpowiada za zwiększoną ekspresję w nowotworze brodawkowym tarczycy, a enzymem regulującym ten proces jest metylotransferaza DNMT3B (ang. DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3 beta). Dowiedziono również, że nadekspresja SLC34A2 bezpośrednio zwiększa ekspresję CDK4, CDK6 oraz cykliny D1, które regulują przejście cyklu komórkowego z fazy G1 do S. Co więcej, wykazano, że NaPi2b wykazuje swoje działanie onkogenne poprzez szlak PTEN/AKT/FOXO3a. Poza tym SLC34A2 bezpośrednio oddziałuje z kortaktyną (ang. cortactin) i ta interakcja znacząco zwiększa rekrutację Arp2 (ang. Actin Related Protein 2), Arp3 (ang. Actin Related Protein 3) i N-WASP (ang. Neural Wiskott-Aldrich Syndrome Protein), co w konsekwencji sprzyja tworzeniu się inwadopodiów i degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej (He et al., 2020). Powyższe odkrycia stanowią istotne informacje z perspektywy zrozumienia roli białka NaPi2b w procesie rozwoju nowotworów. Niemniej jednak, konieczne są dalsze badania w celu pełnego zrozumienia tego mechanizmu w kontekście innych typów nowotworów, zwłaszcza w przypadku nowotworów jajnika, gdzie obserwowana korelacja między ekspresją białka, a procesem nowotworzenia wydaje się być szczególnie wysoka.

BADANIA NAD WYKORZYSTANIEM NaPi2B W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Na dzień dzisiejszy, kilka rozwiązań wykorzystujących NaPi2b jako cel molekularny podlega badaniom. Przykładem są XMT-1536 oraz XMT-1592. Obydwa rozwiązania wykorzystują przeciwciała anti-NaPi2b i są dedykowane leczeniu raka jajnika odpornego na platynę oraz niedrobnokomórkowego raka płuc za przerzutami, dodatkowo XMT-1536 jest obecnie w trakcie badań klinicznych.

XMT-1536 jest lekiem typu ADC (koniugat lek-przeciwciała, ang. Antibody Drug Conjugate) i jest kompleksem przeciwciała anti-NaPi2b oraz leku Auristatin F hydroxypropylamide (AF-HPA) na platformie Dolaflexin (Dolaflexin ADC technology). Jest to platforma oparta na polimerach i charakteryzująca się pewnymi przewagami w stosunku do standardowych platform ADC. Platforma Dolaflexin posiada wysoki stosunek leku do przeciwciała, przyłącza około 10-15 jednostek leku AF-HPA do jednego przeciwciała, w przeciwieństwie do standardu wynoszącego około 3-4 jednostki. Lek AF-HPA ma zdolność permeabilizacji błony komórkowej, wewnątrz komórki ulega przekształceniu do aktywnego metabolitu - Auristatinu F, który za to nie posiada zdolności permeabilizacji błony komórkowej oraz nie jest substratem transportera ABCB1 (glikoproteiny P) (Bodyak et al., 2021). Jest to szczególnie atrakcyjna właściwość w leczeniu nowotworów, które wykształciły lekooporność. Auristatin F jest chętnie badany pod kątem wykorzystania w tworzeniu leków typu ADC i jest silnym inhibitorem mikrotubul i środkiem uszkadzającym naczynia (Woitok et al., 2016).

Grupa badawcza firmy farmaceutycznej Mersana Therapeutics pod kierownictwem Natalya Bodyak dokonała charakterystyki in-vitro XMT-1536. Wykazano, że lek typu ADC cechuje się wysokim powinowactwem do peptydu odpowiadającego ludzkiemu NaPi2b oraz wysokim powinowactwem do linii komórkowej OVCAR3 (ludzkiego nabłonkowego nowotworu jajnika) wykazującej nadekspresję NaPi2b (około 66 000 antygenów NaPi2b na jedną komórkę). Po przyłączeniu do białka XMT-1536 trafiało do kompartmentu liposomalnego w przeciągu 3 godzin. Dodatkowo badania cytotoksyczności leku na linii OVCAR3 wykazały wysoką cytotoksyczność w stężeniach nanomolowych, która była wyraźnie wyższa niż w przypadku układu niezwiązanego z przeciwciałem. Komórki poddane działaniu XMT-1536 charakteryzowały się zatrzymaniem cyklu w fazie G2-M. Przeprowadzono również badania na indukowanym modelu guza na modelu zwierzęcym. Próbkę badaną stanowiło 10 myszy, którym podawano XMT-1536 w dawce 3 mg na kilogram masy ciała. W grupie tej uzyskano 3 przypadki pełnej regresji guza (CR), 4 przypadki częściowej regresji (PR), a różnica w medianie czasu do punktu końcowego w grupie leczonej w porównaniu z grupą kontrolną wyniosła 30,9 dnia. Dla porównania, kompleks IgG1-Dolaflexin (kompleks leku z niewiążącym przeciwciałem) podawany wraz z wolnym przeciwciałem XMT-1536 cechowało 0/10 przypadków pełnej lub częściowej regresji oraz brak opóźnienia wzrostu guza. Co więcej, lek cechował korzystny profil cytotoksyczności. Dobrą informacją płynącą z badań był również brak akumulacji leku w płucach badanych zwierząt, czyli miejscu z naturalnie wysoką ekspresją NaPi2b oraz fakt, że stężenie leku było wyższe w rejonie guza niż w płucach. Przeprowadzone badania jasno potwierdzają wysoką wartość trwających obecnie prób klinicznych nad XMT-1536

(Bodyak et al., 2021). Obecnie trwająca próba kliniczna o numerze NCT03319628 badająca lek XMT-1536 w leczeniu pacjentów chorujących na raka jajnika opornego na platynę oraz niedrobnokomórkowego raka płuc z przerzutami jest w drugiej fazie badań klinicznych.

PODSUMOWANIE

Rak jajnika jest chorobą o zróżnicowanej genezie i różnej odpowiedzi na środki lecznicze. Pomimo powszechności tego nowotworu i intensywnych prac badawczych, jego leczenie wciąż stanowi poważne wyzwanie dla świata medycyny. Największe wyzwanie stanowi nawrotowy rak jajnika, gdyż jest to schorzenie o charakterze przewlekłym, a terapie rzadko skutkują całkowitym wyleczeniem. Dodatkowo, większość kobiet dotkniętych tą chorobą nie przeżywa dłużej niż 24 miesiące od momentu nawrotu. Z tego powodu na świecie wciąż poszukuje się nowych rozwiązań z dziedziny medycyny personalizowanej, a proponowane rozwiązania nakierowane są na konkretne cele molekularne, których nadekspresja wzrasta w nowotworze jajnika.

W artykule skupiono się na 3 celach molekularnych, które zdaniem autorów mają wysoki potencjał na wykorzystanie w skutecznej terapii raka jajnika. Są to MSLN, FR α oraz NAPI2b. Wszystkie te białka charakteryzuje nadekspresja w komórkach raka jajnika, jednak MSLN jest celem bardziej uniwersalnym, gdyż jego ekspresja jest homogeniczna, a ekspresja FR α oraz NAPI2b występuje tylko w niektórych typach OC. Z tego powodu, w celu przeprowadzenia skutecznej terapii, konieczne jest wykonywanie testów diagnostycznych na obecność konkretnych celi molekularnych u danej pacjentki.

Wszystkie 3 opisane białka są już przedmiotem trwających prób klinicznych. Najbardziej obiecujące wydają się leki typu ADC (koniugaty leków z przeciwciałami), które umożliwiają precyzyjne dostarczenie substancji aktywnej do komórek nowotworowych. Bardzo dobrą wiadomością jest niedawne dopuszczenie przez FDA leku typu ADC - mirwetuksymabu sorawtanżyny o nazwie handlowej ELAHERE, który zawiera przeciwciała anty-FR α . Co ciekawe, lek został dopuszczony wraz ze specjalnym testem potwierdzającym nadekspresję FR α , umożliwiającym podawanie go odpowiedniej grupie pacjentek. Pomimo trwających od wielu lat badań nad MSLN, FR α oraz NAPI2b wciąż pozostaje tajemnicą dokładny mechanizm w jaki przyczyniają się one do rozwoju nowotworu, dlatego jest to atrakcyjny i wartościowy temat do dalszych badań *in-vitro* i *in-vivo*.

LITERATURA

Ahmed, A. A. et al. (2010) 'Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary', *The Journal of Pathology*, 221(1), pp. 49–56. doi: <https://doi.org/10.1002/path.2696>.

Allard, J. et al. (2007) 'Overexpression of folate binding protein is associated with shortened progression-free survival in uterine adenocarcinomas', *Gynecologic Oncology*, 107(1), pp. 52–57. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2007.05.018>.

Antony, A. C. (1996) 'Folate Receptors', *Annual Review of Nutrition*, 16(1), pp. 501–521. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.16.070196.002441>.

Armstrong, D. K. et al. (2013) 'Farletuzumab (a monoclonal antibody against folate receptor alpha) in relapsed platinum-sensitive ovarian cancer', *Gynecologic Oncology*, 129(3), pp. 452–458. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.03.002>.

Armstrong, D. K. et al. (2021) 'Ovarian Cancer, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology', *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 19(2), pp. 191–226. doi: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2021.0007>.

Audeh, M. W. et al. (2010) 'Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial', *The Lancet*, 376(9737), pp. 245–251. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60893-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60893-8).

Bax, H. J. et al. (2022) 'Folate receptor alpha in ovarian cancer tissue and patient serum is associated with

- disease burden and treatment outcomes', *British Journal of Cancer*, 128(2), pp. 342–353. doi: <https://doi.org/10.1038/s41416-022-02031-x>.
- Bera, T. K. and Pastan, I. (2000) 'Mesothelin Is Not Required for Normal Mouse Development or Reproduction', *Molecular and Cellular Biology*, 20(8), pp. 2902–2906. doi: <https://doi.org/10.1128/mcb.20.8.2902-2906.2000>.
- Bharadwaj, U. et al. (2011) 'Mesothelin overexpression promotes autocrine IL-6/sIL-6R trans-signaling to stimulate pancreatic cancer cell proliferation', *Carcinogenesis*, 32(7), pp. 1013–1024. doi: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr075>.
- Bocitto, M. and G. Kalb, R. (2011) 'Regulation of Foxo-Dependent Transcription by Post-Translational Modifications', *Current Drug Targets*, 12(9), pp. 1303–1310. doi: <https://doi.org/10.2174/138945011796150316>.
- Bodyak, N. et al. (2021) 'The Dolaflexin-based Antibody–Drug Conjugate XMT-1536 Targets the Solid Tumor Lineage Antigen SLC34A2/NaPi2b', *Molecular Cancer Therapeutics*, 20(5), pp. 896–905. doi: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-20-0183>.
- Boshnjaku, V. et al. (2012) 'Nuclear localization of folate receptor alpha: a new role as a transcription factor', *Scientific Reports*, 2(1). doi: <https://doi.org/10.1038/srep00980>.
- Bruney, L. et al. (2014) 'Membrane-type I matrix metalloproteinase-dependent ectodomain shedding of mucin16/CA-125 on ovarian cancer cells modulates adhesion and invasion of peritoneal mesothelium', *Biological Chemistry*, 395(10), pp. 1221–1231. doi: <https://doi.org/10.1515/hsz-2014-0155>.
- C. Sapede et al. (2008) 'Aberrant splicing and protease involvement in mesothelin release from epithelioid mesothelioma cells', *Cancer Science*, 99(3), pp. 590–594. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00715.x>.
- Cabasag, C. J. et al. (2022) 'Ovarian cancer today and tomorrow: a global assessment by world region and Human Development Index using GLOBOCAN 2020', *International Journal of Cancer*. doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.34002>.
- Calo, C. and O'Malley, D. M. (2020) 'Antibody-drug conjugates for the treatment of ovarian cancer', *Expert Opinion on Biological Therapy*, 21(7), pp. 875–887. doi: <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1776253>.
- Chang, K. et al. (1992) 'Characterization of the antigen (CAK1) recognized by monoclonal antibody K1 present on ovarian cancers and normal mesothelium.', *PubMed*, 52(1), pp. 181–6.
- Chang, K. and Pastan, I. (1996) 'Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(1), pp. 136–140. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.93.1.136>.
- Chen, D. R. et al. (2010) 'SLC34A2 as a novel marker for diagnosis and targeted therapy of breast cancer.', *PubMed*, 30(10), pp. 4135–40.
- Chen, H. et al. (2017) 'Tubulin Inhibitor-Based Antibody-Drug Conjugates for Cancer Therapy', *Molecules*, 22(8), p. 1281. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules22081281>.
- Coelho, R. et al. (2020) 'Regulation of invasion and peritoneal dissemination of ovarian cancer by mesothelin manipulation', *Oncogenesis*, 9(6), pp. 1–12. doi: <https://doi.org/10.1038/s41389-020-00246-2>.

- Ebel, W. et al. (2007) 'Preclinical evaluation of MORAb-003, a humanized monoclonal antibody antagonizing folate receptor-alpha', *Cancer Immunity*, 7, p. 6. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17346028/> (Accessed: 27 December 2023).
- Emir Senturk et al. (2010) 'A critical re-appraisal of BRCA1 methylation studies in ovarian cancer', *Gynecologic Oncology*, 119(2), pp. 376–383. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2010.07.026>.
- Feng, F. et al. (2020) 'Level of mesothelin expression can indicate the prognosis of malignant pleural mesothelioma', *Translational Cancer Research*, 9(12), pp. 7479–7485. doi: <https://doi.org/10.21037/tcr-19-2027>.
- Firestone, G., Giampaolo, J. and O'Keeffe, B. (2003) 'Stimulus-Dependent Regulation of Serum and Glucocorticoid Inducible Protein Kinase (SGK) Transcription, Subcellular Localization and Enzymatic Activity', *Cellular Physiology and Biochemistry*, 13(1), pp. 1–12. doi: <https://doi.org/10.1159/000070244>.
- Gilley, J., Coffey, P. J. and Ham, J. (2003) 'FOXO transcription factors directly activate bim gene expression and promote apoptosis in sympathetic neurons', *The Journal of Cell Biology*, 162(4), pp. 613–622. doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.200303026>.
- Golfier, S. et al. (2014) 'Anetumab Raptansine: A Novel Mesothelin-Targeting Antibody-Drug Conjugate Cures Tumors with Heterogeneous Target Expression Favored by Bystander Effect', *Molecular Cancer Therapeutics*, 13(6), pp. 1537–1548. doi: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-13-0926>.
- Gryshkova, V. et al. (2009) 'The study of phosphate transporter NAPI2B expression in different histological types of epithelial ovarian cancer', *Experimental Oncology*, 31(1), pp. 37–42. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19300415/> (Accessed: 27 December 2023).
- Gubbels, J. A. et al. (2006) 'Mesothelin-MUC16 binding is a high affinity, N-glycan dependent interaction that facilitates peritoneal metastasis of ovarian tumors', *Molecular Cancer*, 5(1). doi: <https://doi.org/10.1186/1476-4598-5-50>.
- Hashimoto, M. et al. (2000) 'Isolation and Localization of Type IIb Na/Pi Cotransporter in the Developing Rat Lung', *American Journal of Pathology*, 157(1), pp. 21–27. doi: [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)64512-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)64512-9).
- Hassan, R. et al. (2020) 'First-in-Human, Multicenter, Phase I Dose-Escalation and Expansion Study of Anti-Mesothelin Antibody-Drug Conjugate Anetumab Raptansine in Advanced or Metastatic Solid Tumors', *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 38(16), pp. 1824–1835. doi: <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02085>.
- Haunschild, C. E. and Tewari, K. S. (2020) 'Bevacizumab use in the frontline, maintenance and recurrent settings for ovarian cancer', *Future Oncology*, 16(7), pp. 225–246. doi: <https://doi.org/10.2217/fon-2019-0042>.
- He, J. et al. (2020) 'SLC34A2 simultaneously promotes papillary thyroid carcinoma growth and invasion through distinct mechanisms', *Oncogene*, 39(13), pp. 2658–2675. doi: <https://doi.org/10.1038/s41388-020-1181-z>.
- Heo, Y.-A. (2023) 'Mirvetuximab Soraptansine: First Approval', *Drugs*, 83(3). doi: <https://doi.org/10.1007/s40265-023-01834-3>.
- Herzog, T. J. et al. (2023) 'Randomized phase II trial of farletuzumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy in low CA-125 platinum-sensitive ovarian cancer', *Gynecologic Oncology*, 170, pp. 300–308. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2023.01.003>.

- Hilfiker, H. et al. (1998) 'Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(24), pp. 14564–14569. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.24.14564>.
- Hilliard, T. S. et al. (2021) 'Host Mesothelin Expression Increases Ovarian Cancer Metastasis in the Peritoneal Microenvironment', *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), pp. 12443–12443. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms222212443>.
- Huang, H. and Tindall, D. J. (2007) 'Dynamic FoxO transcription factors', *Journal of Cell Science*, 120(15), pp. 2479–2487. doi: <https://doi.org/10.1242/jcs.001222>.
- Huo, Q. et al. (2021) 'Free CA125 promotes ovarian cancer cell migration and tumor metastasis by binding Mesothelin to reduce DKK1 expression and activate the SGK3/FOXO3 pathway', *International Journal of Biological Sciences*, 17(2), pp. 574–588. doi: <https://doi.org/10.7150/ijbs.52097>.
- Jalid Sehouli et al. (2009) 'Pegylated liposomal doxorubicin (CAELYX®) in patients with advanced ovarian cancer: results of a German multicenter observational study', *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64(3), pp. 585–591. doi: <https://doi.org/10.1007/s00280-008-0909-1>.
- Jones, S. et al. (2010) 'Frequent Mutations of Chromatin Remodeling Gene ARID1A in Ovarian Clear Cell Carcinoma', *Science*, 330(6001), pp. 228–231. doi: <https://doi.org/10.1126/science.1196333>.
- Kalli, K. R. et al. (2008) 'Folate receptor alpha as a tumor target in epithelial ovarian cancer', *Gynecologic Oncology*, 108(3), pp. 619–626. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2007.11.020>.
- Kareva, I. (2013) 'Biological Stoichiometry in Tumor Micro-environments', *PLoS ONE*. Edited by J. A. Coles, 8(1), p. e51844. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051844>.
- Khalil, M. W. et al. (2006) 'Mechanism of Action of Tubulysin, an Antimitotic Peptide from Myxobacteria', *ChemBioChem*, 7(4), pp. 678–683. doi: <https://doi.org/10.1002/cbic.200500421>.
- Kojima, T. et al. (1995) 'Molecular Cloning and Expression of Megakaryocyte Potentiating Factor cDNA', 270(37), pp. 21984–21990. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.270.37.21984>.
- Kossai, M. et al. (2017) 'Ovarian Cancer: A Heterogeneous Disease', *Pathobiology*, 85(1-2), pp. 41–49. doi: <https://doi.org/10.1159/000479006>.
- Kurman, R. J. and World Health Organization (2014) WHO classification of tumours of female reproductive organs : [this book reflects the views of a working group that convened for a consensus and editorial meeting at the International Agency for Research on Cancer, Lyon, 13-15 June 2013]. Lyon: Internat. Agency For Research On Cancer.
- Kwolek, D. G. et al. (2023) 'Ovarian, Uterine, and Vulvovaginal Cancers: Screening, Treatment Overview, and Prognosis', *Medical Clinics*, 107(2), pp. 329–355. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2022.10.016>.
- Larson, N. et al. (2013) 'Biodegradable multiblock poly(N-2-hydroxypropyl)methacrylamide gemcitabine and paclitaxel conjugates for ovarian cancer cell combination treatment', *International Journal of Pharmaceutics*, 454(1), pp. 435–443. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.06.046>.
- Ledermann, J. A., Canevari, S. and Thigpen, T. (2015) 'Targeting the folate receptor: diagnostic and therapeutic approaches to personalize cancer treatments', *Annals of Oncology*, 26(10), pp. 2034–2043. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv250>.

- Leung, F. et al. (2013) 'Folate-receptor 1 (FOLR1) protein is elevated in the serum of ovarian cancer patients', *Clinical Biochemistry*, 46(15), pp. 1462–1468. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.03.010>.
- Li, M. et al. (2008) 'Mesothelin is a malignant factor and therapeutic vaccine target for pancreatic cancer', *Molecular Cancer Therapeutics*, 7(2), pp. 286–296. doi: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-07-0483>.
- Lisio, M.-A. et al. (2019) 'High-Grade Serous Ovarian Cancer: Basic Sciences, Clinical and Therapeutic Standpoints', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), p. 952. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20040952>.
- Liu, Y. et al. (2018) 'Critical role of FOXO3a in carcinogenesis', *Molecular Cancer*, 17(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0856-3>.
- Markman, M. (2003) 'Optimizing primary chemotherapy in ovarian cancer', *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 17(4), pp. 957–968. doi: [https://doi.org/10.1016/s0889-8588\(03\)00058-3](https://doi.org/10.1016/s0889-8588(03)00058-3).
- Matulonis, U. A. et al. (2023) 'Efficacy and Safety of Mirvetuximab Soravtansine in Patients With Platinum-Resistant Ovarian Cancer With High Folate Receptor Alpha Expression: Results From the SORAYA Study', *Journal of Clinical Oncology*, 41(13). doi: <https://doi.org/10.1200/jco.22.01900>.
- Momenimovahed, Z. et al. (2019) 'Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors', *International Journal of Women's Health*, Volume 11, pp. 287–299. doi: <https://doi.org/10.2147/ijwh.s197604>.
- Naumann, R. W. et al. (2013) 'PRECEDENT: A Randomized Phase II Trial Comparing Vintafolide (EC145) and Pegylated Liposomal Doxorubicin (PLD) in Combination Versus PLD Alone in Patients With Platinum-Resistant Ovarian Cancer', *Journal of Clinical Oncology*, 31(35), pp. 4400–4406. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2013.49.7685>.
- Nurgalieva, A. K. et al. (2021) 'Sodium-dependent phosphate transporter NaPi2b as a potential predictive marker for targeted therapy of ovarian cancer', *Biochemistry and Biophysics Reports*, 28, p. 101104. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.101104>.
- O'Connor, C. et al. (2021) 'Folate transporter dynamics and therapy with classic and tumor-targeted antifolates', *Scientific Reports*, 11(1). doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85818-x>.
- O'Shannessy, D. J. et al. (2012) 'Folate receptor alpha (FRA) expression in breast cancer: identification of a new molecular subtype and association with triple negative disease', *SpringerPlus*, 1(1). doi: <https://doi.org/10.1186/2193-1801-1-22>.
- Ogundipe, O. D., Oluwabukunmi Olajubutu and Adesina, S. K. (2023) 'Targeted drug conjugate systems for ovarian cancer chemotherapy', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 165, pp. 115151–115151. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115151>.
- Papa, A. et al. (2016) 'Update on Poly-ADP-ribose polymerase inhibition for ovarian cancer treatment', *Journal of Translational Medicine*, 14(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1027-1>.
- Pfisterer, J. et al. (2006) 'Gemcitabine Plus Carboplatin Compared With Carboplatin in Patients With Platinum-Sensitive Recurrent Ovarian Cancer: An Intergroup Trial of the AGO-OVAR, the NCIC CTG, and the EORTC GCG', *Journal of Clinical Oncology*, 24(29), pp. 4699–4707. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2006.06.0913>.
- Quanz, M. et al. (2018) 'Anetumab ravtansine inhibits tumor growth and shows additive effect in combination with targeted agents and chemotherapy in mesothelin-expressing human ovarian cancer models', *Oncotarget*, 9(75), pp. 34103–34121. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26135>.

- Rangel, L. B. A. et al. (2003) 'Characterization of novel human ovarian cancer-specific transcripts (HOSTs) identified by serial analysis of gene expression', *Oncogene*, 22(46), pp. 7225–7232. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207008>.
- Rottey, S. et al. (2021) 'Phase I/IIa Trial of BMS-986148, an Anti-mesothelin Antibody–drug Conjugate, Alone or in Combination with Nivolumab in Patients with Advanced Solid Tumors', *Clinical Cancer Research*, 28(1), pp. 95–105. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-21-1181>.
- Rump, A. et al. (2003) 'Binding of Ovarian Cancer Antigen CA125/MUC16 to Mesothelin Mediates Cell Adhesion', *Journal of Biological Chemistry*, 279(10), pp. 9190–9198. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.m312372200>.
- Santin, A. D. et al. (2022) 'Safety and activity of anti-mesothelin antibody–drug conjugate anetumab ravtansine in combination with pegylated-liposomal doxorubicin in platinum-resistant ovarian cancer: multicenter, phase Ib dose escalation and expansion study', *International Journal of Gynecological Cancer*, 33(4), pp. 1–9. doi: <https://doi.org/10.1136/ijgc-2022-003927>.
- Scholler, N. et al. (1999) 'Soluble member(s) of the mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family are detectable in sera from patients with ovarian carcinoma', 96(20), pp. 11531–11536. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.96.20.11531>.
- Scholler, N. et al. (2007) 'Development of a CA125-mesothelin cell adhesion assay as a screening tool for biologics discovery', *Cancer Letters*, 247(1), pp. 130–136. doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.03.029>.
- Seiji Mabuchi et al. (2008) 'Maintenance Treatment with Bevacizumab Prolongs Survival in an In vivo Ovarian Cancer Model', *Clinical Cancer Research*, 14(23), pp. 7781–7789. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-08-0243>.
- Shi, H., Guo, J. and Li, C. (2015) 'A current review of folate receptor alpha as a potential tumor target in non-small-cell lung cancer', *Drug Design, Development and Therapy*, 9, p. 4989. doi: <https://doi.org/10.2147/dddt.s90670>.
- Shigemasa Takamizawa et al. (2022) 'High mesothelin expression is correlated with non-squamous cell histology and poor survival in cervical cancer: a retrospective study', *BMC Cancer*, 22(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-022-10277-0>.
- Shih, I.-M. and Kurman, R. J. (2004) 'Ovarian Tumorigenesis', *The American Journal of Pathology*, 164(5), pp. 1511–1518. doi: [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63708-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63708-x).
- Shimizu, T. et al. (2021) 'First-in-Human Phase 1 Study of MORAb-202, an Antibody–Drug Conjugate Comprising Farletuzumab Linked to Eribulin Mesylate, in Patients with Folate Receptor- α -Positive Advanced Solid Tumors', *Clinical Cancer Research*, 27(14), pp. 3905–3915. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-20-4740>.
- Sierra, E. E. et al. (1995) 'Comparison of transport properties of the reduced folate carrier and folate receptor in murine L1210 leukemia cells', *Biochemical Pharmacology*, 50(8), pp. 1287–1294. doi: [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)94097-y](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)94097-y).
- Spicer, J. et al. (2023) 'Safety and anti-tumour activity of the IgE antibody MOv18 in patients with advanced solid tumours expressing folate receptor-alpha: a phase I trial', *Nature Communications*, 14(1). doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39679-9>.
- Sung, H. et al. (2021) 'Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality

Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries', *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), pp. 209–249. Available at: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>.

Susman, E. (2011) 'NCCN Updates Ovarian Cancer Guidelines', *Oncology Times*, 33(7), pp. 17–18. doi: <https://doi.org/10.1097/01.cot.0000397191.46574.8b>.

Torre, L. A. et al. (2018) 'Ovarian cancer statistics, 2018', *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(4), pp. 284–296. doi: <https://doi.org/10.3322/caac.21456>.

Traebert, M. et al. (1999) 'Expression of type II Na-Picotrporter in alveolar type II cells', *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 277(5), pp. L868–L873. doi: <https://doi.org/10.1152/ajplung.1999.277.5.1868>.

Valeska Moentenich et al. (2020) 'Mesothelin expression in esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma and its possible impact on future treatment strategies', *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 12, p. 175883592091757-175883592091757. doi: <https://doi.org/10.1177/1758835920917571>.

Vergote, I. et al. (2016) 'A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase III Study to Assess Efficacy and Safety of Weekly Farletuzumab in Combination With Carboplatin and Taxane in Patients With Ovarian Cancer in First Platinum-Sensitive Relapse', *Journal of Clinical Oncology*, 34(19), pp. 2271–2278. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2015.63.2596>.

Vergote, I. and Leamon, C. P. (2015) 'Vintafolide: a novel targeted therapy for the treatment of folate receptor expressing tumors', *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 7(4), pp. 206–218. doi: <https://doi.org/10.1177/1758834015584763>.

Visentin, M., Zhao, R. and Goldman, I. D. (2012) 'Augmentation of Reduced Folate Carrier-Mediated Folate/Antifolate Transport through an Antiport Mechanism with 5-Aminoimidazole-4-Carboxamide Riboside Monophosphate', *Molecular Pharmacology*, 82(2), pp. 209–216. doi: <https://doi.org/10.1124/mol.112.078642>.

Wagner, C. A. et al. (2013) 'The SLC34 family of sodium-dependent phosphate transporters', *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 466(1), pp. 139–153. doi: <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1418-6>.

Weekes, C. D. et al. (2016) 'Phase I Study of DMOT4039A, an Antibody-Drug Conjugate Targeting Mesothelin, in Patients with Unresectable Pancreatic or Platinum-Resistant Ovarian Cancer', *Molecular Cancer Therapeutics*, 15(3), pp. 439–447. doi: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0693>.

Weidemann, S. et al. (2023) 'High Homogeneity of Mesothelin Expression in Primary and Metastatic Ovarian Cancer', *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 31(2), pp. 77–83. doi: <https://doi.org/10.1097/pai.0000000000001097>.

Woitok, M. et al. (2016) 'The efficient elimination of solid tumor cells by EGFR-specific and HER2-specific scFv-SNAP fusion proteins conjugated to benzylguanine-modified auristatin F', *Cancer Letters*, 381(2), pp. 323–330. doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.08.003>.

Xie, H. et al. (2020) 'Therapeutic applications of PARP inhibitors in ovarian cancer', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 127, p. 110204. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110204>.

Xu, H. et al. (1999) 'Molecular Cloning, Functional Characterization, Tissue Distribution, and Chromosomal Localization of a Human, Small Intestinal Sodium-Phosphate (Na⁺-Pi) Transporter (SLC34A2)', *Genomics*, 62(2), pp. 281–284. doi: <https://doi.org/10.1006/geno.1999.6009>.

Ye, W. et al. (2017) 'Overexpression of SLC34A2 is an independent prognostic indicator in bladder cancer

and its depletion suppresses tumor growth via decreasing c-Myc expression and transcriptional activity', *Cell Death & Disease*, 8(2), pp. e2581–e2581. doi: <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.13>.

Zhao, X.-Y. et al. (2016) 'Novel Antibody Therapeutics Targeting Mesothelin In Solid Tumors', *Clinical Cancer Drugs*, 3(2), pp. 76–86. doi: <https://doi.org/10.2174/2212697x03666160218215744>.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 01.01.2024r.

Zrecenzowano: 01.02.2024r.

Przyjęto do druku: 06.02.2024r.