

A kromogranin-A és a belőle lehasadó WE-14 szerepe az 1-es típusú cukorbetegség kialakulásában

Herold Zoltán^{1, 2} ■ Nagy Péter dr.³
Patócs Attila dr.^{4, 5} ■ Somogyi Anikó dr.²

¹Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Budapest
Simmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ²II. Belgyógyászati Klinika,
³I. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, ⁴Laboratóriumi Medicina Intézet, Budapest
⁵MTA-SE „Lendület” Örökletes Endokrin Daganatok Kutatócsoport, Budapest

A kromogranin-A a granincsaládba tartozó fehérje, amelyet neuroendokrin sejtek termelnek és ezek szekréciós granulumaiból származik. A kromogranin-A-ból számos, mind ez idáig kevésbé tisztázott funkciójú fehérje képződik. Jelenleg a kromogranin-A vérben mérhető szintjének meghatározását elsősorban neuroendokrin daganatok laboratóriumi diagnosztikájában használják. A legfrissebb kutatások alapján azonban úgy tűnik, a kromogranin-A-ból származó WE-14 nevű fehérjének szerepe lehet az 1-es típusú cukorbetegség kialakulásában is. A WE-14 fehérje autoantigénként viselkedik a β -sejtek elpusztításában részt vevő T-sejtek számára. Ezt a mechanizmust eddig specifikusan a nem obes diabetogén egerekben figyelték meg. Újabb eredmények alapján a WE-14 a diabeteses egerek mellett az újonnan diagnosztizált 1-es típusú cukorbetegéknél is az autoreaktív sejtek célpontjaként szolgál, amely reakció szöveti transzglutamináz enzimmel fokozható. A szerzők jelen összefoglalójukban áttekintik a kromogranin-A bioszintézisét, biokémiai jellegzetességeit, szerkezetbeli funkcióit, valamint ismertetik a cukorbetegség patomechanizmusában betöltött szerepére vonatkozó jelen ismereteket. *Orv. Hetil.*, 2015, 156(5), 163–170.

Kulcsszavak: kromogranin-A, diabetes mellitus, tumormarker, WE-14

The role of chromogranin-A and its derived peptide, WE-14 in the development of type 1 diabetes mellitus

Chromogranin-A is a member of the granine protein family. It is produced in neuroendocrine cells via secretory granules. Many cleavage proteins are formed from chromogranin-A, from which some have well known biological activity, while the function of others is not yet fully known. Serum chromogranin-A levels are used in neuroendocrine tumour diagnostics. Recent studies showed that one of its cleavage protein, WE-14 may also play a role in the development of type 1 diabetes. WE-14 may function as an autoantigen for T-cells involved in the destruction of β -cells. This mechanism was previously observed only in non-obese diabetic mice. Novel results show that WE-14 also serves as a target for autoreactive cells in newly diagnosed type 1 diabetic patients as well, which reaction can be increased with transglutaminase. In this paper the authors summarize the recent knowledge about chromogranin-A and its potential role in the pathomechanism of type 1 diabetes mellitus.

Keywords: chromogranin-A, diabetes mellitus, tumour marker, WE-14

Herold, Z., Nagy, P., Patócs, A., Somogyi, A. [The role of chromogranin-A and its derived peptide, WE-14 in the development of type 1 diabetes mellitus]. *Orv. Hetil.*, 2015, 156(5), 163–170.

(Beérkezett: 2014. november 5.; elfogadva: 2014. december 4.)

Rövidítések

5-HIAA = 5-hidroxi-indolecetsav; ACTH = adrenokortikotrop hormon; CD = cluster of differentiation; CgA = kromogranin-

A; Cys = cisztein; DNES = diffúz neuroendokrin rendszer; ECL = enterokromaffinszerű; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; FSH = folliculusstimuláló hormon; GH = nő-

vekedési hormon; LH = luteinizáló hormon; MHC = fő hisztonkompatibilitási komplex; mRNS = messenger ribonukleinsav; NOD = nem obes diabetese; NSE = neuron-specifikus enoláz; RIA = radioimmún assay; T1DM = 1-es típusú diabetes mellitus; TCR-Tg = transzgenikus T-sejt-receptor; TGáz = transz-glutamináz enzim; TNF = tumornekrózis-faktor; TSH = thyreoidestimuláló hormon

A kromogranin-A (CgA) vagy parathyroid szekréciós hormon egy, a granin glükoprotein családba tartozó savas kémhatású, hidrofil, 439 aminosavból (48 kDa) álló fehérje, amelyet számos endokrin és neuroendokrin sejt-típus képes szintetizálni. A kromogranin elnevezés 1967-ből származik, amikor *Blaschko és mtsai* szarvasmarhák kromaffin típusú granulumaiból szolúbilis fehérjéket izoláltak, amelyeket kromograninoknak [1], míg a felfedezett fehérjék fő komponensét CgA-nak nevezték el [2, 3].

A humán szervezetben a CgA termelése a terhesség során 6. és 8. hetes embriókban észlelhető először, a mellékvese primordiumában, az emésztőszervek endokrin sejtjeiben, majd a 9. héten megjelenő, a kromaffinsejtek előalakjainak tekinthető „nagy méretű sejtekben” mutatható ki [4].

A kromogranin-A bioszintézise, szekréciója és regulációja

A CgA bioszintézisének szabályozásában számos intracelluláris hírvivő molekula vesz részt. A proteinkináz-C jelátviteli útvonal sejt-specifikusan szabályozza a CgA termelődését. A hisztamin, a nikotin, az angiotenzin-II, a prosztaglandin-E₂ és a káliumionok is elősegíthetik a CgA bioszintézist, amelyet a feszültségfüggő kalciumion-csatornák aktiválásával fokoznak. A CgA egészséges állapotban is termelődik a szervezetben, vérplazmaszintje cirkadián ritmust mutat (reggel alacsonyabb, míg este magasabb) [5]. Szérumszintjének az egészséges tartománynál (19,4–98,1 ng/ml) intenzívebb növekedése

általában valamilyen kóros, neuroendokrin sejtszaporulat kialakulását jelzi [6].

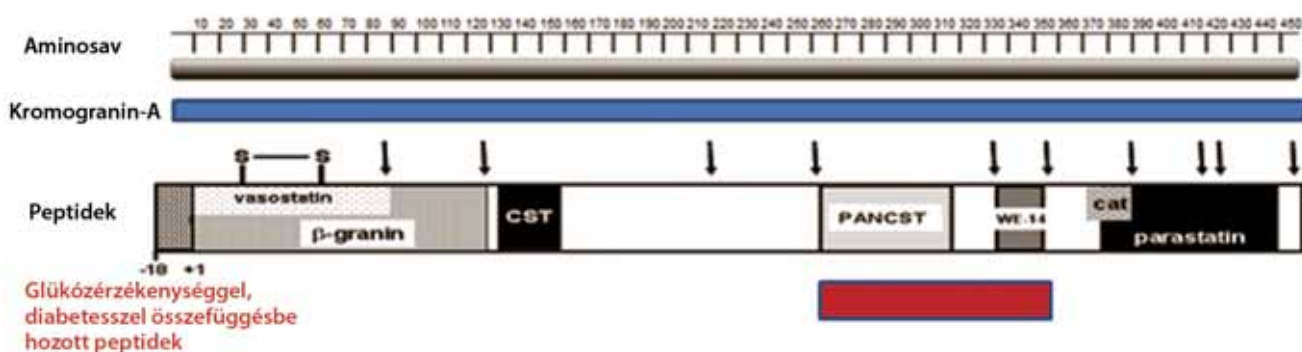
A CgA fehérje a durva felszínű endoplazmatikus reticulumban szintetizálódik, majd a Golgi-apparátusba szállítódik. A transz-Golgi-hálózatban az újonnan kialakuló neuroendokrin granulumban halmozódnak fel, majd az endoproteázok proteolitikus módosításait követően biológiailag aktív fehérjék hasadnak le a CgA-ból. A proteolízis nemcsak az intracelluláris mátrixban mehet végbe, hanem a már kialakult granulumban is [7, 8]. A szekréciós proteinek szelektív aggregációjához magas kalciumion-koncentráció és savas pH szükséges. Ennek biztosítása eredményezi a CgA-ból kialakuló molekulák elkülönülését a konstitutív fehérjétől, és megakadályozza a szabályozott szekréciós fehérjék éretlen granulumból való kiszabadulását is [9].

A CgA-t kódoló gén expresszióját különböző szteroidhormonok is befolyásolhatják; az agyalapi mirigyben a glükokortikoidok fokozzák, az ösztrogén pedig gátolja a CgA-termelést [10].

A kromogranin-A biokémiai tulajdonságai

A humán CgA-t kódoló gén 12 kilobázis hosszúságú, 8 exonból áll és a 14q32.12-es locuson található [11], az átvitt fehérje 439 aminosav hosszúságú [10]. Szerkezete némileg konzervált a különböző fajok között, de a CgA mérete az egyes állatfajokban változó; a legrövidebb 430 aminosavból álló CgA-fehérjével a sertések, míg a leghosszabb, 445 aminosavból álló variánssal az egerek rendelkeznek. Minden vizsgált állatfajban igazoltak két darab ciszteinresiduomot (Cys¹⁷, Cys³⁸) az aminoterminális szakaszban, amelyek között egy diszulfidhíd alakul ki. Ezen szerkezeti sajátosság megfigyelhető a kromogranin-B és egyéb, a granincsaládba tartozó fehérjékben is (*I. ábra*) [12].

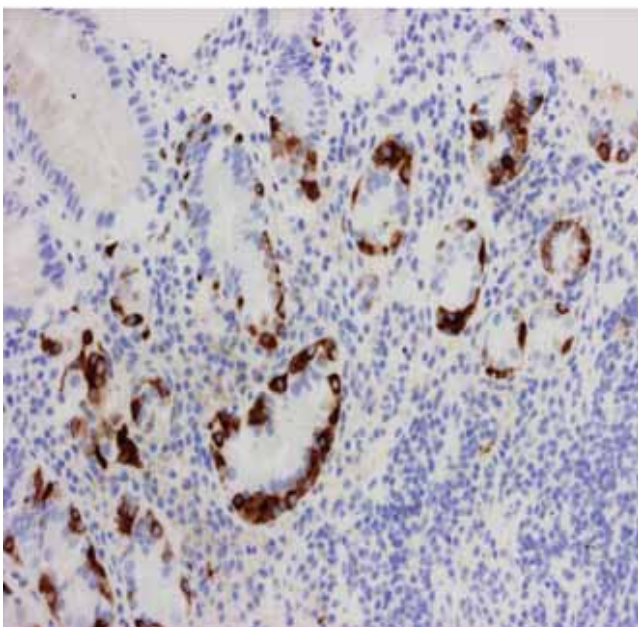
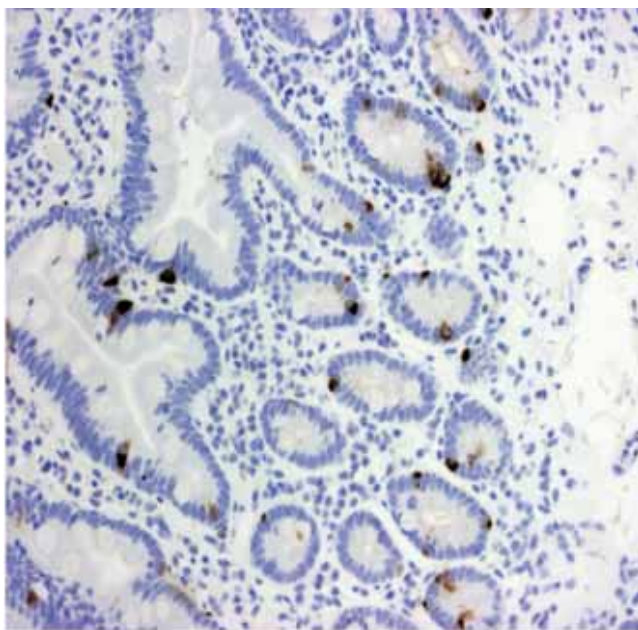
A CgA felépítésében nagyszámú glutaminsav, aszpar-támsav (25%), illetve prolin (10%) vesz részt, amelyek biztosítják a fehérje savasságát, illetve hidrofil tulajdonságait [10]. Ugyanakkor a molekula aminosavsorrendjében több helyen (a humán CgA esetén 4 ilyen hely van)



1. ábra | A humán kromogranin-A aminosav, fehérje és a CgA hasításával képződő peptidek szerkezete, strukturális és funkcionális doménjei. A fehérje N-terminális végén egy diszulfidhíd található. A molekula egyes részei megegyeznek az alábbi biológiailag aktív peptidekkel: β -granin, vasostatin, chromostatatin (CST), pancreastatin (PANCST), WE-14, katesztatin (cat) és parastatin

oligoglutaminsavból álló szakaszok is felismerhetőek, amelyek a molekula harmadlagos és negyedleges szerkezetében játszanak fontos szerepet [13].

A CgA számos más biológiailag aktív peptid előalakja, amelyek a CgA hasításával jönnek létre. Ezek közé tartoznak a pancreastatin, a β -granin, a chromostatin, a vasostatin és a parastatin. A fehérje poszttranszlációs mó-



2. ábra

Felső panendoszkópiás vizsgálat során vett, DAKO DAK-A3-as kromogranin-A-t kimutató immunhisztokémiai festéssel kezelt biopsziás minták. A DAKO DAK-A3 kitben található antitestek segítségével a normális sejtek és a neuroendokrin eredetű neoplasmák különíthetőek el. A felső mintában hyperplasia nem, míg az alsó mintában lineáris hyperplasia figyelhető meg (Nagyítás: 200-szoros)

dosulásai – glikolizáció, foszforiláció, szulfatáció vagy karboximetiláció – során a molekula mérete jelentősen megnőhet (akár 75–80 kDa) [7, 10].

A kromogranin-A szervezetbeli eloszlása

Legnagyobb mennyiségben a CgA a mellékvese velőállományának kromaffinsejtjeiben fordul elő, illetve a szimpatikus idegrostok elektrodenz vesiculumaiban. Az egyes neuroendokrin sejtekben a CgA-tartalom a szövet típusa szerint változik. A központi és perifériás idegrendszer, az agyalapi mirigy és a mellékpajzsmirigy szintén CgA-ban gazdag területek. CgA-t termelő sejtek megtalálhatók a pajzsmirigy kalcitonintermelő C-sejtjeiben és a pancreas inzulin- és glükagontermelő exokrin szöveteiben is. A CgA jelenléte kimutatható a tüdőben, a lépben, a prosztatában, a csecsemőmirigyben és a gyomor-bél traktusban található diffúz neuroendokrin rendszerben (DNES) is [14].

Fontos kiemelni, hogy a fentebb részletezett sejtípusokból kiinduló daganatok szintén CgA-ban gazdagok lehetnek, ami a neuroendokrin eredetet igazolja (2. ábra). Diagnosztikailag a CgA emelkedett szintjének immunhisztokémiával történő igazolása különösen fontos a DNES-ből származó daganatok, elsősorban a gyomor-bél rendszeri és a bronchopulmonalis daganatok eseteiben [7, 15].

A kromogranin-A és a belőle képződő fehérjék funkciója a szervezetben

A CgA megfelelő biológiai aktivitásához a fehérje proteolitikus módosulásai szükségesek, amelyek mind intracellulárisan, mind extracellulárisan végbemehetnek. A CgA-ból több, biológiailag aktív fehérje is kialakulhat, egyes feltevések szerint azonban akár további, mind ez idáig még fel nem fedezett fehérjék is képződnek belőle. A CgA-ból kialakuló fehérjék biológiai hatásának pontos mechanizmusa ma még nem teljesen ismert [7, 10], de számos olyan intra- és extracelluláris hatás ismert, amelyeket összefüggésbe hoztak a CgA-val, illetve a belőle képződő peptidekkel.

A kromogranin-A és hasításából keletkező fehérjék intracelluláris funkciói

A CgA intracelluláris funkciói közül nagy kapacitású és alacsony affinitású kalciumkötő képessége emelendő ki, amelyet elsősorban a szekréciós granulomok érése és savasodása során a változó pH szabályoz [16]. A H^+ - és Ca^{2+} -ionok koncentrációja a granulumban képes akár konformációs változásokat is okozni a fehérjében, illetve a kalcium képes fokozni a CgA membránokhoz való kapcsolódását is [17, 18]. A molekula aminosavsorrendjének több régiója hasonlóságot mutat jól ismert kalciumkötő proteinek kalciumkötő doménjeihez, mint például

a kalmodulin vagy a bélrendszeri D-vitamin-függő kalciumkötő protein (kalbindin D9K). A fehérje kalciumkötő sajátossága járul hozzá a molekula azon tulajdonságához is, hogy képes bizonyos peptidhormonok és neurotranszmitterek kapcsolódás útján történő szelektív változtatására, majd a kapcsolódott fehérjék szekréciónak granulumba csomagolására. A Golgi-ciszternák kémhatása normálesenben semleges, azonban a beáramló H^+ és Ca^{2+} -ionok a kémhatást a savas irányba tudják eltolni. A transz-Golgiban kialakuló savas eltolódás a CgA és az ahhoz kötődött fehérjék és neurotranszmitterek szekréciónak granulumba történő aggregációját okozza. Az aggregációt követően a szekréciónak granulumba zárva válnak le a Golgi-apparátusról. A nem CgA-kapcsolt fehérjék a leváló granulumba nem kerülnek bele [10]. A CgA szelektív csomagolási képességét *Gorr és mtsai* [9] 1989-ben in vitro kísérleteikkel bizonyítani is tudták. A CgA alacsony pH és magas kalciumkoncentráció mellett képes például összekapcsolódni a mellékpajzsmirigy parathormonjával, míg a szérumalbumin esetén ilyen reakció nem figyelhető meg [9].

Szintén fontos intracelluláris funkciója a molekulának, hogy képes egyes prohormonok modulálására. A CgA relatív mennyisége a különböző sejtípusokban befolyásolhatja a prohormonkonvertáz enzimek kapacitását, miközben a differenciális génkifejeződésben nem játszik szerepet [19].

A kromogranin-A és hasításából keletkező fehérjék extracelluláris funkciói

Jelenlegi tudásunk szerint úgy gondoljuk, hogy a CgA és a belőle kialakuló fehérjék extracellulárisan az endokrin sejtek kiválasztási aktivitásában modulátorként működnek [10].

Az első bizonyítékot, hogy a CgA más hormonfehérje előalakja lehet, a glükóz indukálta inzulinikibocsátást gátló pancreastatin, egy 49 aminosavból álló, karboxilamidált fehérje adta. A pancreastatin nagymértékű hasonlóságot mutat a sertésből izolált CgA fehérje 240. és 288. aminosav közötti szakaszával. A fentiekből arra következtettek, hogy a keletkezett fehérje a szervezetben in vivo alakulhat ki a CgA-molekulából [20].

A pancreastatin mellett további, a CgA-ból származtatható, biológiailag aktív fehérjéket azonosítottak. Ezek egyike a 20 kDa méretű β -granin, amely a CgA 1–128. aminosav közötti szakaszának feleltethető meg. A fehérje a hasnyálmirigy β -sejtjeiben termelődik. In vitro kísérletek során a mellékpajzsmirigysejt szekréciónak gátló hatását mutatták ki, azonban pontos funkciója a szervezetben nem ismert [21].

Szintén in vitro kísérletekkel igazolták, hogy a vasostatin, amely a korábban említett β -granin szekvencián belül található (CgA-[1–76]), gátolja a véredények TNF- α által indukált permeabilitását és az endothelialis sejtproliferációt [22].

A chromostatin szintén a CgA egy hasítási terméke, amely a CgA gén VII. exonján kódolódik és 20 aminosavból áll. *Galindo és mtsai* kimutatták, hogy a chromostatin gátolja a kromaffinsejtek szekréciónak, feltehetően mint a catecholaminasszociált válaszok endokrin modulátora [23]. A hasnyálmirigy β -sejtjeiben termelődő chromostatin pontos funkciója ma még nem ismert.

A kromogranin-A-ból származó peptidok és az 1-es típusú diabetes mellitus kapcsolata

A CgA és a diabetes mellitus kapcsolatát a betegség gyakori előfordulása ellenére eddig igen kevesen vizsgálták [24]. Több közlemény számolt be arról, hogy a CgA-ból képződő pancreastatin és a WE-14 szerepet játszhat a cukoranyagcserében.

A pancreastatinról kimutatták, hogy szabályozza a cukor-, zsír- és fehérje-anyagcserét a májban és a zsírszövetekben. Szintén igazolták, hogy szabályozza a leptin szekréciónak és expresszióját a zsírszövetben. Csökkenti a máj cukorfelvételt, glikogénolízist indukál és gátolja a glikogén szintézist. Ezen hatások közvetítésében a pertussis toxinra érzéketlen G-protein ($G_{\alpha q/11}$) által aktivált foszfolipáz-C $\beta 3$ izoformája játszik szerepet a májsejtek citoplazmatikus Ca^{2+} -ion koncentrációjának növelésével és a proteinkináz-C stimulálásával [25].

Sánchez-Margalet és mtsai [26] a pancreastatin emelkedett szintjét figyelték meg gestációs diabetesesekben kontrollegyénekhez képest. Ugyanebben a vizsgálatban pozitív korrelációt mutattak ki a pancreastatin és egyes catecholaminok (epinefrin és norepinefrin) szintje között.

Funakoshi és mtsai 2-es típusú cukorbetegségben az étkezéseket követően szignifikáns pancreastatin-szint-emelkedéseket figyeltek meg kontrollszemélyekhez hasonlóan [27]. A betegekben ez a kismértékű emelkedés feltehetően a pancreastatin termelő hasnyálmirigysejtek glükózérzékenységre utalhat, ami alapján feltételezhető, hogy a 2-es típusú cukorbetegségben kialakuló kismértékű pancreastatin hiperszekréciónak szerepet játszhat a glükóz indukálta inzulinsekreció gátlásában, ami végső soron hyperglykaemiát válthat ki.

Az 1-es típusú cukorbetegségben az autoreaktív T-sejteknek a β -sejtek ellen termelt antigénjei központi szerepet játszanak a pancreas β -sejtjeinek pusztulásában mind a humán 1-es típusú cukorbetegségben (T1DM), mind pedig a T1DM modellállataiban, a nem obes diabeteses (NOD) egerekben. A korán felfedezett autoreaktív T-sejtek a β -sejtek pusztulását jelezhetik előre, illetve a praediabeteses állapotok biomarkerei lehetnek [28].

A CgA-ból kialakuló WE-14 fehérjét (CgA-[359–372]) *Guillemot és mtsai* elsőként a mellékvesevelő kromaffinsejtjeiből kialakuló catecholaminintermelő tumorból (phaeochromocytoma) izolálták. Az izolációt követően kimutatták, hogy a fehérje megtalálható mind

az embriók, mind a felnőttek kromaffinsejtjeiben is, illetve primer phaeochromocytomatenyészetekben is sikeresen detektálták. Kísérleteik során igazolták, hogy a CgA-hoz hasonlóan a WE-14 is könnyen detektálható egészséges egyének véréből vett mintákból [29].

Később a WE-14-et igazolták a hasnyálmirigy β -sejtjeiben és egyéb gastroenteropancreaticus szövetekben is. *Stadinski és mtsai* proteomikai módszerekkel megállapították, hogy a WE-14 a β -sejtekre diabetogén hatású reaktív CD4+ T-sejt-klónok antigénjeként funkcionál. A WE-14-en megtalálható antigénmotívum ellenére hiányoznak róla azok az N-terminális aminosavak, amelyek elfoglalják az MHC-II antigénjének, az I-A^{g7} p1-p4 közötti peptidkötő helyeit, amelyek rendszerint szükségesek a stabil MHC-II-kötéshez. Adataik alapján feltételezhető, hogy a WE-14 C-terminális aspecifikus kölcsönhatást alakít ki az I-A^{g7} egy olyan kötőhelyén, amely kívül esik a szokásos peptidkötő barázdán [28].

NOD egerek hasnyálmirigy- β -sejtjei mellett további egyéb gastroenteropancreaticus szövetmintákon is megvizsgálták a kromogranin-A-ra adott immunreakciókat. E kísérletek során a hasnyálmirigy β -sejtjein kívül az egyéb szövetekben CgA indukálta autoimmun folyamatok nem voltak igazolhatóak [30]. Hogy a NOD egerekben a β -sejteken kívül más szövetekben miért nem figyelhető meg a β -sejtekéhez hasonló CgA indukálta autoimmun reakció, az jelenlegi ismereteink szerint még nem világos. *Stadinskiék* [28] feltevései szerint a CgA csak akkor működhet a hasnyálmirigyben autoantigénként, ha a molekula hasnyálmirigy-specifikus poszttranszlációs módosításokon esik át. Míg egy másik elmélet szerint [31] a β -sejtek szelektív pusztulása annak tulajdonítható, hogy azok nagyobb érzékenységet mutatnak a gyulladáshoz vezető károsodásokra, mint az a többi szekretoros pancreassejt típus esetén megfigyelhető.

A fenti két elmélet mellett *Stadinskiék* tanulmányában [28] felmerült a kérdés, hogy a thymus fejlődése során miként alakulhatnak ki olyan T-lymphocyták, amik kifejezetten a CgA-ra specifikusak? Mint ismeretes, a CgA már a fejlődés korai szakaszában nagy mennyiségben termelődik a szervezetben [4], így feltételezhető lenne, hogy a thymusban lejátszódó T-sejt-érés során a CgA-érzékeny T-sejtek kellő mennyiségben szelektálódnak. A thymus medullaris epitheliumsejtjein végzett kísérletek során [32] a CgA gén mRNS-e nem volt detektálható, és feltételezhetően ezen CgA-mRNS-hiánynak lehet az oka, hogy nem szelektálódnak kellő mennyiségben a CgA-ra reagáló T-sejtek az érés során.

A WE-14 fehérje antigénaktivitása szöveti transzglutamináz enzim (TGáz) kezelés hatására drámaian megnő. A TGáz különböző fehérjék módosítását katalizálja, amely dezamidálás (glutamin lebontása glutaminsavvá) és a fehérjék keresztkötéseinek átalakítása (a fehérjék glutamin és lizin aminosav-oldalláncai között alakít ki izopeptidkötéseket) [33]. A TGáz-kezelés hatására bekövetkező magasabb antigenitást a WE-14 fehérje esetében egyedül a keresztkötések átalakítása okozza, a deza-

midációs módosítások esetén nem figyelhető meg erősebb antigenitás [34].

Delong és mtsai az I-es típusú cukorbetegség kísérletes modelljeként szolgáló NOD egerekben vizsgálták a WE-14 és a TGáz kapcsolatát. Eredményeik alapján a TGáz a WE-14 fehérjét egy gyengén stimuláló antigénből jelentős agonistává alakítja a CgA-reaktív és I-A^{g7}-korlátozott CD4+ T-sejtek számára. Az átalakított fehérje alacsony koncentrációja nemcsak a diabetogén β -sejtekre jellemző BDC-T-sejt- és BDC-2.5 TCR-Tg-T-sejt-klónok esetén, hanem a nem transzgen NOD egér T-sejt-klónjai esetén is erős reakciókat mutatott. A primer CD4+ T-sejtek jelenléte a poliklonális NOD-populációkban – amelyek szintén reagálnak a megváltozott WE-14 peptid esetén is – azt sugallja, hogy a WE-14 fehérje fontos autoantigén epitóp lehet az I-es típusú diabetesben [34].

Gottlieb és mtsai frissen diagnosztizált I-es típusú cukorbeteg és egészségesek vizsgálatával kimutatták, hogy a CgA-ból kialakuló WE-14 fehérje az autoreaktív sejtek célpontjaként szolgál az újonnan diagnosztizált I-es típusú diabeteses betegeknek, míg az egészséges kontrollpopulációban az antigenitás nem volt igazolható. A TGáz enzimmel módosított WE-14 egyes betegeknek tovább fokozta az antigénhatást [35].

A kromogranin-A egyéb diagnosztikai felhasználása

A CgA kimutatása szérumból vagy plazmavérmentákból radioimmunassay- (RIA-) vagy ELISA-technikákkal lehetséges. Fontos hangsúlyozni, hogy a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően – legyen szó RIA- vagy ELISA-technológiáról – a detektáláshoz csak a CisBio cég kettős, monoklonális antitestet használó reagensei használhatóak [7].

Külön említést érdemel, hogy a hypoaciditas, atrophias gastritis, valamint a savszekréció-gátlás (például protonpumpagátló vagy hisztamin H₂-receptor-blokkoló kezelés) emeli a szérumból CgA-szintet másodlagos hypergastrinaemia és a gyomor enterokromaffinszerű sejtjeinek serkentése által [36, 37]. A CgA mérése előtt az ilyen típusú kezelések felfüggesztése javasolt, a gyógyszer-típustól függően legalább három felezési idő erejéig [38].

A kromogranin-A mint keringő tumormarker

A karcinoid tumorok leggyakoribb peptidszekréciós termékei közül klinikai diagnosztikai szempontból a CgA a legjelentősebb. A szövetmintákban a CgA-pozitivitás a daganatok neuroendokrin sejtjes eredetére utal. A legmagasabb CgA-szinteket a gastrointestinalis rendszer neuroendokrin sejtjes tumorai esetében regisztrálták, különösen a vékonybél carcinomái és a hasnyálmirigy kóros szigetsejtjei esetében (2. ábra) [7].

A CgA vizsgálata különösen informatív lehet azokban az esetekben, amikor a daganat hormonálisan inaktív. Mivel a catecholaminok és metabolitjaik rendkívül bomlékony molekulák, vérmintákból történő meghatározásuk körülményes. A catecholaminokat termelő daganatok laboratóriumi diagnosztikájában ezeket a hormonokat gyűjtött vizeletmintákból határozzák meg. A legtöbb neuroendokrin daganat esetében a CgA vérkoncentrációja jelentősen meghaladja a normáltartomány felső határát, így diagnosztikus értéke jó, bár fals pozitív és negatív eredmények is előfordulhatnak. Legfontosabb, hogy a korábban már említett protonpumpa- és H₂-gátló gyógyszerek is pozitív eredményt adnak [39].

A betegség aktivitásának és a kezelés eredményességének nyomon követésében is hasznos a szérumból CgA-koncentráció meghatározása, a CgA-érték növekedése a daganatos folyamat progresszióját, a tumor növekedését is jelzi [38].

Gyomor karcinoid tumorainak kimutatására a CgA érzékenysége 65–75%-os, specifikitása pedig 85–90%-os, míg az NSE és a vizeletből származó 5-HIAA specifikitása 100%, azonban érzékenységük jóval alacsonyabb, csupán 30–35%-os. *De Block és mtsai* vizsgálatában a CgA érzékenységét oly módon tudták tovább fokozni 100%-ra, specifikitását pedig 59%-ra, hogy a CgA-val a gasztrin közös hatását vették figyelembe [40].

A CgA leginkább neuroendokrin eredetű tumorok kimutatására alkalmas, amelyek főként a gyomor-bél traktusban alakulnak ki. A neuroendokrin daganatok diagnosztikájában nélkülözhetetlen az adott sejttípusra jellemző hormonok mérése. A szérumból CgA mind a hormont termelő, mind pedig a hormonálisan inaktív neuroendokrin daganatok diagnosztikájában alkalmazható [38]. A CgA-t olyan endokrin eredetű neoplazmák is termelhetik, amelyek ACTH-t, FSH-t, GH-t, LH-t és TSH-t is termelnek [7].

Az egyes nem neuroendokrin eredetű tumorok esetében is megfigyelhetőek emelkedett CgA-értékek, mivel a neuroendokrin tumorsejtek elsősorban megjelenhetnek a kialakult neoplasiákban vagy esetleg kisebb klasztereket hozhatnak létre azok szöveteiben. A CgA szintjei jellemzően magasabbak atípusos tüdőcarcinomák esetén. Megfigyelték, hogy a kissejtes tüdőrák szakaszai és a tumor teljes mérete korrelál a termelődő CgA-koncentrációval [41]. A neuroblastomákban és a pajzsmirigy medullaris carcinomájában szintén emelkedett CgA-szintek figyelhetők meg [42].

Kromogranin-A-szintek nem onkológiai betegségek esetén

Különböző mértékben emelkedett CgA-szintek detektálhatók abban az esetben is, ha a vizsgált személy valamilyen gyulladásszerű bélbetegségben (például Crohn-betegség), előrehaladott májelégtelenségben, szívelégtelenségben vagy atrophias gastritisben szenved. Az

atrophias gastritis esetén a magasabb CgA-szintek a gasztrin enterokromaffinszerű (ECL) sejtekre kifejtett stimulációja miatt alakulnak ki [43].

A legtöbb jelentős CgA-növekedésről a veselégtelenség miatt kialakuló csökkent peptidszekréció esetén számoltak be. Intenzív sympathoadrenalis stimuláció (stressz, testmozgás) képes akár a normális kétszeresére megnövelni a CgA szintjét. Enyhe CgA-emelkedésről számoltak be menopauzálás nők esetén is [43, 44].

A vasostatin (vasostatin-1 és vasostatin-2), amely a CgA N-terminális fragmentuma, az értónus befolyásolása révén szabályozza a vérnyomást. Ez a hatás az extracelluláris kalciumszint függvénye.

A CgA és a humán artériás hipertónia közötti összefüggés első bizonyítéka 1985-ből származik, mikor is *O'Connor* megfigyelte, hogy magas vérnyomású betegekben magasabb a vérben mérhető CgA szintje, mint egészséges személyekben [45].

Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy egyes CgA-eredetű peptidek képesek gátolni a catecholamin felszabadulását. A catecholamint gátló molekulának a katestatin (humán CgA-[352–372]) nevet adták. Hypertóniás betegekben, illetve a magas vérnyomás szempontjából fokozott genetikai kockázattal rendelkezőknél alacsonyabb katestatinszintek mérhetők, mint egészséges kontrollszemélyeknél. Végstádiumú vesebetegségben szenvedő hipertóniás betegekben szintén csökkent a katestatin szintje [46].

Következtetések

A CgA az emberi szervezetben intracellulárisan a különböző hormonpeptidek tárolása és szelektív szekréciója során játszik fontos szerepet. A különböző endokrin szövetekben proteolitikus módosításokat követően alakul át extracellulárisan működő biológiailag aktív peptidformákká. A CgA-ból kialakuló fehérjék, mint a pancreastatin, a vasostatin, a WE-14 és további formák jelentős és specifikus biológiai hatással rendelkeznek (*1. táblázat*) [26, 27, 28, 29, 30, 34, 35, 45, 47, 48, 49, 50, 51, 52].

A szérumból CgA-meghatározást gyakran használják a tumordiagnosztikában. Az emelkedett értékek jellemzően különböző adrenalis, illetve gastrointestinalis neuroendokrin elváltozásokra utalhatnak. A szérumból CgA-szintek mérése a tumorok progressziójáról, kiújulásáról vagy a kezelésre adott válaszról is fontos információkat szolgáltat.

A legújabb tanulmányok szerint a fentiek mellett a CgA az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulásában is fontos szerepet játszik. A CgA-ból kialakuló WE-14 fehérje mind humán, mind NOD egerekkel végzett állatkísérletekben autoantigénként funkcionált a β -sejtek elpusztításában részt vevő CD4+ T-sejtek számára. Az autoantigén hatás a szöveti transzglutamináz általi módosításokat követően még intenzívebbé válhat, így a β -sejtek autoimmun eredetű pusztulása még gyorsabban játszódhat le.

I. táblázat | A kromogranin-A bioaktív tulajdonságai és alkalmazásai az egyes betegségek esetén

A kromogranin-A és a belőle képződő WE-14 egyes betegségekben betöltött szerepe	Hivatkozás
1-es típusú diabetes mellitus	
• Emelkedett pancreastatinszintek gestációs diabetesben	• <i>Sánchez-Margalet</i> , 1998 [26]
• T2DM-ben étkezést követően emelkedett pancreastatinkoncentráció	• <i>Funakoshi</i> , 1990 [27]
• WE-14 diabetogén autoantigénként funkcionál CD4+ T-sejtek számára	• <i>Stadinski</i> , 2010 [28]
• NOD egerek β -sejtjein kívül a WE-14 más szövetekben nem indukált autoimmun reakciót	• <i>Gleeson</i> , 1996 [30]
• NOD egerekben a WE-14 antigenitása transzglutaminázzal növelhető	• <i>Delong</i> , 2012 [34]
• Frissen diagnosztizált T1DM-betegeknél a TGázzal módosított WE-14 szintén fokozott antigenitást okoz	• <i>Gottlieb</i> , 2014 [35]
Neuroendokrin daganatok	
• A CgA mint a neuroendokrin eredetű tumoros elváltozások markere	• <i>Campana</i> , 2007 [47], • <i>Nehar</i> , 2004 [48]
• Tumorterápia eredményességének nyomon követése CgA segítségével	• <i>Korse</i> , 2009 [49]
• WE-14 phaeochromocytomás betegekben	• <i>Guillemot</i> , 2014 [29]
Cardiovascularis kórképek	
• A hipertóniás betegekben magasabb a vérben mérhető CgA szintje	• <i>O'Connor</i> , 1985 [45]
• A CgA és a hosszú távú mortalitás kapcsolata myocardialis infarctust követően	• <i>Omland</i> , 2003 [50], • <i>Estensen</i> , 2006 [51]
• Kromogranin-A szerepe a szívelégtelenségben	• <i>Cecconi</i> , 2002 [52]

Anyagi támogatás: A közlemény megírása anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: H. Z.: Az elméleti összefoglalás szerzője. N. P.: Tanácsadás a klinikai jellemzőkről. P. A.: A kézirat szerkesztése, lektorálása, szakmai értékelése és kiegészítése. S. A.: Kutatásvezető, témafelvetés, irodalomkutatás, a közlemény koncepciójának megalkotása. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Irodalom

- [1] *Blaschko, H., Comline, R. S., Schneider, F. H., et al.*: Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin, from the adrenal gland after splanchnic stimulation. *Nature*, 1967, 215(5096), 58–59.
- [2] *Schneider, F. H., Smith, A. D., Winkler, H.*: Secretion from the adrenal medulla: biochemical evidence for exocytosis. *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, 1967, 31(1), 94–104.
- [3] *Feldman, S. A., Eiden, L. E.*: The chromogranins: their roles in secretion from neuroendocrine cells and as markers for neuroendocrine neoplasia. *Endocr. Pathol.*, 2003, 14(1), 3–23.
- [4] *Winkler, H., Fischer-Colbrie, R.*: The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience*, 1992, 49(3), 497–528.
- [5] *Takiyyuddin, M. A., Neumann, H. P., Cervenka, J. H., et al.*: Ultradian variations of chromogranin A in humans. *Am. J. Physiol.*, 1991, 261(4 Pt 2), R939–R944.
- [6] *Simon, J. P., Bader, M. F., Aunis, D.*: Effect of secretagogues on chromogranin A synthesis in bovine cultured chromaffin cells. Possible regulation by protein kinase C. *Biochem. J.*, 1989, 260(3), 915–922.
- [7] *Louthan, O.*: Chromogranin A in physiology and oncology. *Folia Biol. (Praha)*, 2011, 57(5), 173–181.
- [8] *Nobels, F. R., Kwekkeboom, D. J., Bouillon, R., et al.*: Chromogranin A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1998, 28(6), 431–440.
- [9] *Gorr, S. U., Shioi, J., Colm, D. V.*: Interaction of calcium with porcine adrenal chromogranin A (secretory protein-I) and chromogranin B (secretogranin I). *Am. J. Physiol.*, 1989, 257(2 Pt 1), E247–E254.
- [10] *Hendy, G. N., Bevan, S., Mattei, M. G., et al.*: Chromogranin A. *Clin. Invest. Med.*, 1995, 18(1), 47–65.
- [11] *Deftos, L. J.*: Chromogranin A: its role in endocrine function and as an endocrine and neuroendocrine tumor marker. *Endocr. Rev.*, 1991, 12(2), 181–187.
- [12] *Wu, H. J., Rozansky, D. J., Parmer, R. J., et al.*: Structure and function of the chromogranin A gene. Clues to evolution and tissue-specific expression. *J. Biol. Chem.*, 1991, 266(20), 13130–13134.
- [13] *Simon, J. P., Aunis, D.*: Biochemistry of the chromogranin A protein family. *Biochem. J.*, 1989, 262(1), 1–13.
- [14] *Angeletti, R. H., Hickey, W. F.*: A neuroendocrine marker in tissues of the immune system. *Science*, 1985, 230(4721), 89–90.
- [15] *Lloyd, R. V., Cano, M., Rosa, P., et al.*: Distribution of chromogranin A and secretogranin I (chromogranin B) in neuroendocrine cells and tumors. *Am. J. Pathol.*, 1988, 130(2), 296–304.
- [16] *Reiffen, F. U., Gratzl, M.*: Chromogranins, widespread in endocrine and nervous tissue, bind Ca^{2+} . *FEBS Lett.*, 1986, 195(1–2), 327–330.
- [17] *Gorr, S. U., Dean, W. L., Radley, T. L., et al.*: Calcium-binding and aggregation properties of parathyroid secretory protein-I (chromogranin A). *Bone Miner.*, 1988, 4(1), 17–25.
- [18] *Settleman, J., Nolan, J., Angeletti, R. H.*: Chromogranin, an integral membrane protein. *J. Biol. Chem.*, 1985, 260(3), 1641–1644.
- [19] *Seidah, N. G., Hendy, G. N., Hamelin, J., et al.*: Chromogranin A can act as a reversible processing enzyme inhibitor. Evidence from the inhibition of the IRCM-serine protease 1 cleavage of pro-enkephalin and ACTH at pairs of basic amino acids. *FEBS Lett.*, 1987, 211(2), 144–150.
- [20] *Drees, B. M., Hamilton, J. W.*: Pancreastatin and bovine parathyroid cell secretion. *Bone Miner.*, 1992, 17(3), 335–346.
- [21] *Drees, B. M., Rouse, J., Johnson, J., et al.*: Bovine parathyroid glands secrete a 26-kDa N-terminal fragment of chromogranin-A which inhibits parathyroid cell secretion. *Endocrinology*, 1991, 129(6), 3381–3387.
- [22] *Aardal, S., Helle, K. B.*: The vasoinhibitory activity of bovine chromogranin A fragment (vasostatin) and its independence of extracellular calcium in isolated segments of human blood vessels. *Regul. Pept.*, 1992, 41(1), 9–18.
- [23] *Galindo, E., Rill, A., Bader, M. F., et al.*: Chromostatin, a 20-amino acid peptide derived from chromogranin A, inhibits chromaffin cell secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1991, 88(4), 1426–1430.

- [24] Goetze, J. P., Alchagen, U., Flyvbjerg, A., et al.: Chromogranin A as a biomarker in cardiovascular disease. *Biomark. Med.*, 2014, 8(1), 133–140.
- [25] Valicherla, G. R., Hossain, Z., Mahata, S. K., et al.: Pancreastatin is an endogenous peptide that regulates glucose homeostasis. *Physiol. Genomics*, 2013, 45(22), 1060–1071.
- [26] Sánchez-Margalet, V., Lobón, J. A., González, A., et al.: Increased plasma pancreastatin-like levels in gestational diabetes: correlation with catecholamine levels. *Diabetes Care*, 1998, 21(11), 1951–1954.
- [27] Funakoshi, A., Tateishi, K., Shinozaki, H., et al.: Elevated plasma levels of pancreastatin (PST) in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Regul. Pept.*, 1990, 30(2), 159–164.
- [28] Stadinski, B. D., Delong, T., Reisdorph, N., et al.: Chromogranin A is an autoantigen in type 1 diabetes. *Nat. Immunol.*, 2010, 11(3), 225–231.
- [29] Guillemot, J., Guérin, M., Thouvenon, E., et al.: Characterization and plasma measurement of the WE-14 peptide in patients with pheochromocytoma. *PLoS ONE*, 2014, 9(2), e88698.
- [30] Gleeson, C. M., Curry, W. J., Johnston, C. F., et al.: Occurrence of WE-14 and chromogranin A-derived peptides in tissues of the human and bovine gastro-entero-pancreatic system and in human neuroendocrine neoplasia. *J. Endocrinol.*, 1996, 151(3), 409–420.
- [31] Mathews, C. E., Suarez-Pinzon, W. L., Baust, J. J., et al.: Mechanisms underlying resistance of pancreatic islets from ALR/Lt mice to cytokine-induced destruction. *J. Immunol.*, 2005, 175(2), 1248–1256.
- [32] Anderson, M. S., Venanzi, E. S., Klein, L., et al.: Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science*, 2002, 298(5597), 1395–1401.
- [33] Sollid, L. M.: Molecular basis of celiac disease. *Annu. Rev. Immunol.*, 2000, 18, 53–81.
- [34] Delong, T., Baker, R. L., He, J., et al.: Diabetogenic T-cell clones recognize an altered peptide of chromogranin A. *Diabetes*, 2012, 61(12), 3239–3246.
- [35] Gottlieb, P. A., Delong, T., Baker, R. L., et al.: Chromogranin A is a T cell antigen in human type 1 diabetes. *J. Autoimmun.*, 2014, 50, 38–41.
- [36] Pregun, I., Herszényi, L., Jubász, M., et al.: Effect of proton-pump inhibitor therapy on serum chromogranin A level. *Digestion*, 2011, 84(1), 22–28.
- [37] Glinicki, P., Jeske, W.: Chromogranin A (CgA) – the influence of various factors in vivo and in vitro, and existing disorders on its concentration in blood. *Endokrynol. Pol.*, 2010, 61(4), 384–387.
- [38] Vinik, A. I., Silva, M. P., Woltering, E. A., et al.: Biochemical testing for neuroendocrine tumors. *Pancreas*, 2009, 38(8), 876–889.
- [39] Oberg, K., Janson, E. T., Eriksson, B.: Tumour markers in neuroendocrine tumours. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1999, 31(Suppl. 2), S160–S162.
- [40] De Block, C. E., Colpin, G., Thielemans, K., et al.: Neuroendocrine tumor markers and enterochromaffin-like cell hyper/dysplasia in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2004, 27(6), 1387–1393.
- [41] Linnoila, R. I., Mulshine, J. L., Steinberg, S. M., et al.: Neuroendocrine differentiation in endocrine and nonendocrine lung carcinomas. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1988, 90(6), 641–652.
- [42] Seregni, E., Ferrari, L., Bajetta, E., et al.: Clinical significance of blood chromogranin A measurement in neuroendocrine tumours. *Ann. Oncol.*, 2001, 12(Suppl. 2), S69–S72.
- [43] Sciola, V., Massironi, S., Conte, D., et al.: Plasma chromogranin A in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2009, 15(6), 867–871.
- [44] Hsiao, R. J., Mezger, M. S., O'Connor, D. T.: Chromogranin A in uremia: progressive retention of immunoreactive fragments. *Kidney Int.*, 1990, 37(3), 955–964.
- [45] O'Connor, D. T.: Plasma chromogranin A. Initial studies in human hypertension. *Hypertension*, 1985, 7(3 Pt 2), 176–179.
- [46] Di Comite, G., Morganti, A.: Chromogranin A: a novel factor acting at the cross road between the neuroendocrine and the cardiovascular systems. *J. Hypertens.*, 2011, 29(3), 409–414.
- [47] Campana, D., Nori, F., Piscitelli, L., et al.: Chromogranin A: is it a useful marker of neuroendocrine tumors? *J. Clin. Oncol.*, 2007, 25(15), 1967–1973.
- [48] Nehar, D., Lombard-Bohas, C., Olivieri, S., et al.: Interest of chromogranin A for diagnosis and follow-up of endocrine tumours. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 2004, 60(5), 644–652.
- [49] Korse, C. M., Bonfrer, J. M., Aaronson, N. K., et al.: Chromogranin A as an alternative to 5-hydroxyindoleacetic acid in the evaluation of symptoms during treatment of patients with neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*, 2009, 89(3), 296–301.
- [50] Omland, T., Dickstein, K., Syversen, U.: Association between plasma chromogranin A concentration and long-term mortality after myocardial infarction. *Am. J. Med.*, 2003, 114(1), 25–30.
- [51] Estensen, M. E., Hognestad, A., Syversen, U., et al.: Prognostic value of plasma chromogranin A levels in patients with complicated myocardial infarction. *Am. Heart J.*, 2006, 152(5), 927e1–927e6.
- [52] Ceconi, C., Ferrari, R., Bachetti, T., et al.: Chromogranin A in heart failure; a novel neurohumoral factor and a predictor for mortality. *Eur. Heart J.*, 2002, 23(12), 967–974.

(Somogyi Anikó dr.,

Budapest, Szentkirályi utca 46., 1088

e-mail: somogyi.aniko@med.semmelweis-univ.hu)