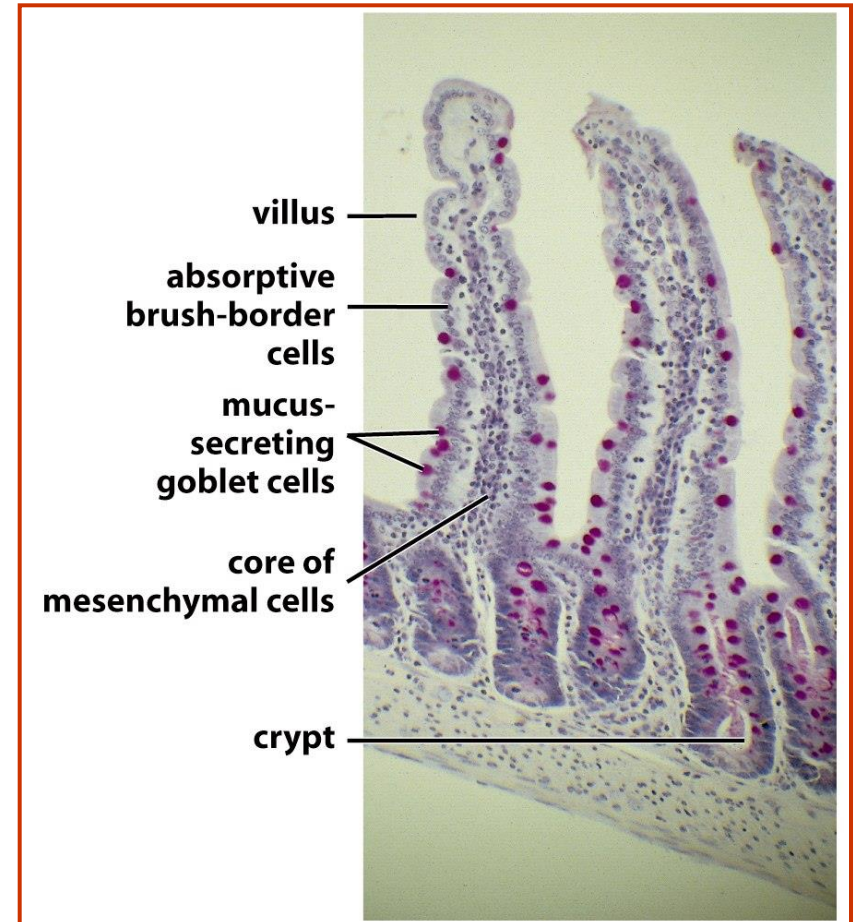


Patogeneze solidních nádorů

Leoš Křen, Jana Šmardová

Lidské tělo je složitý mnohobuněčný systém

1. Velký počet buněk ($3,72 \pm 0,81 \times 10^{13}$)
2. Různé buněčné typy (~ 200): rozrůžňování - diferenciace)
3. Odpovídající zastoupení jednotlivých buněčných typů v rámci jednotlivých typů tkání, orgánů, celého organismu
4. Správné umístění odpovídajících buněčných typů, tkání, orgánů
5. Všechny buňky v těle nesou stejnou genetickou informaci!!



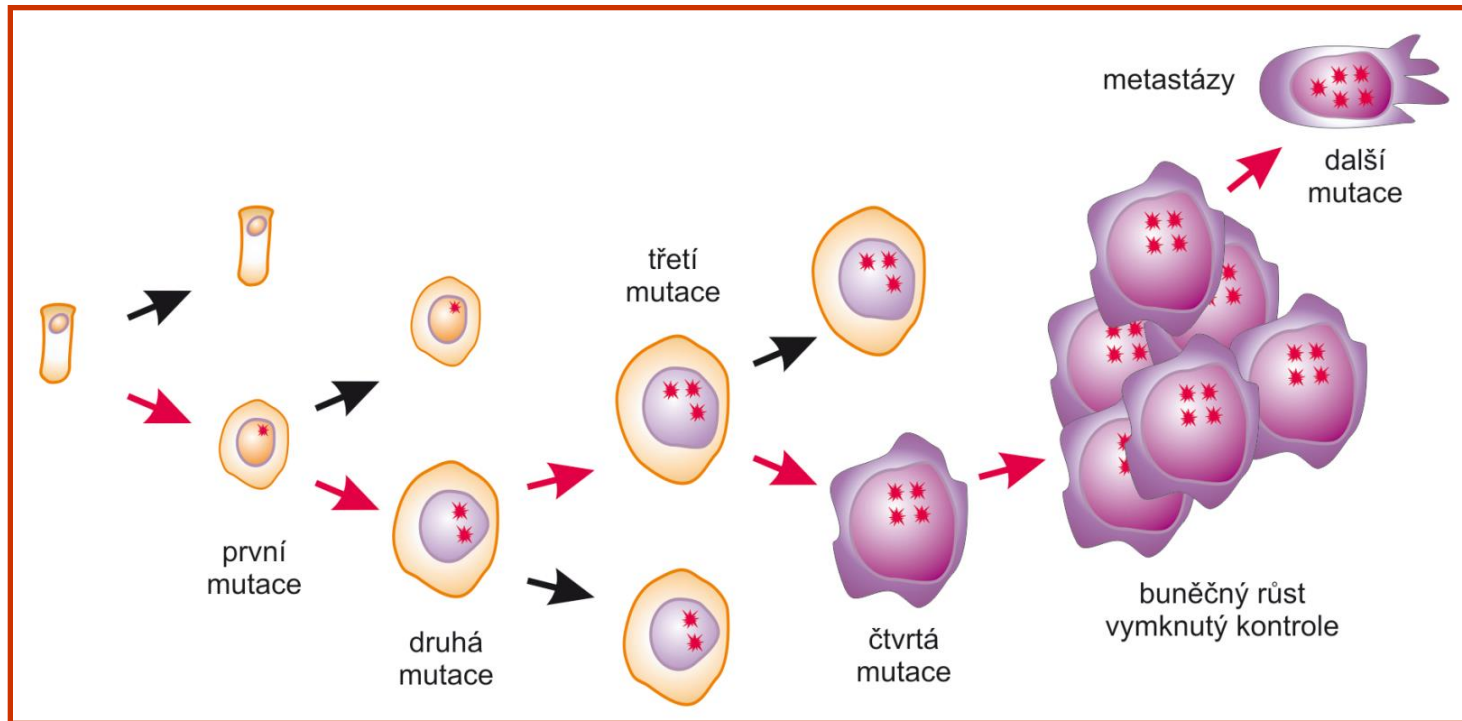
Kde se berou nádory?

- Nádory vznikají porušením základních pravidel sociálního chování buněk.
- Pro organismus nepředstavuje vážné riziko, pokud se jednotlivá buňka nahodile nezachová správně. Potenciálně nebezpečná situace nastává tehdy, pokud dojde v jedné buňce ke změně, která (1) buňku zvýhodní a dovolí jí **přežít, rozdělit se** a (2) **předat** nově vzniklou vlastnost dceřiným buňkám, a tak produkovat dceřiné buňky s podobně asociálním chováním.

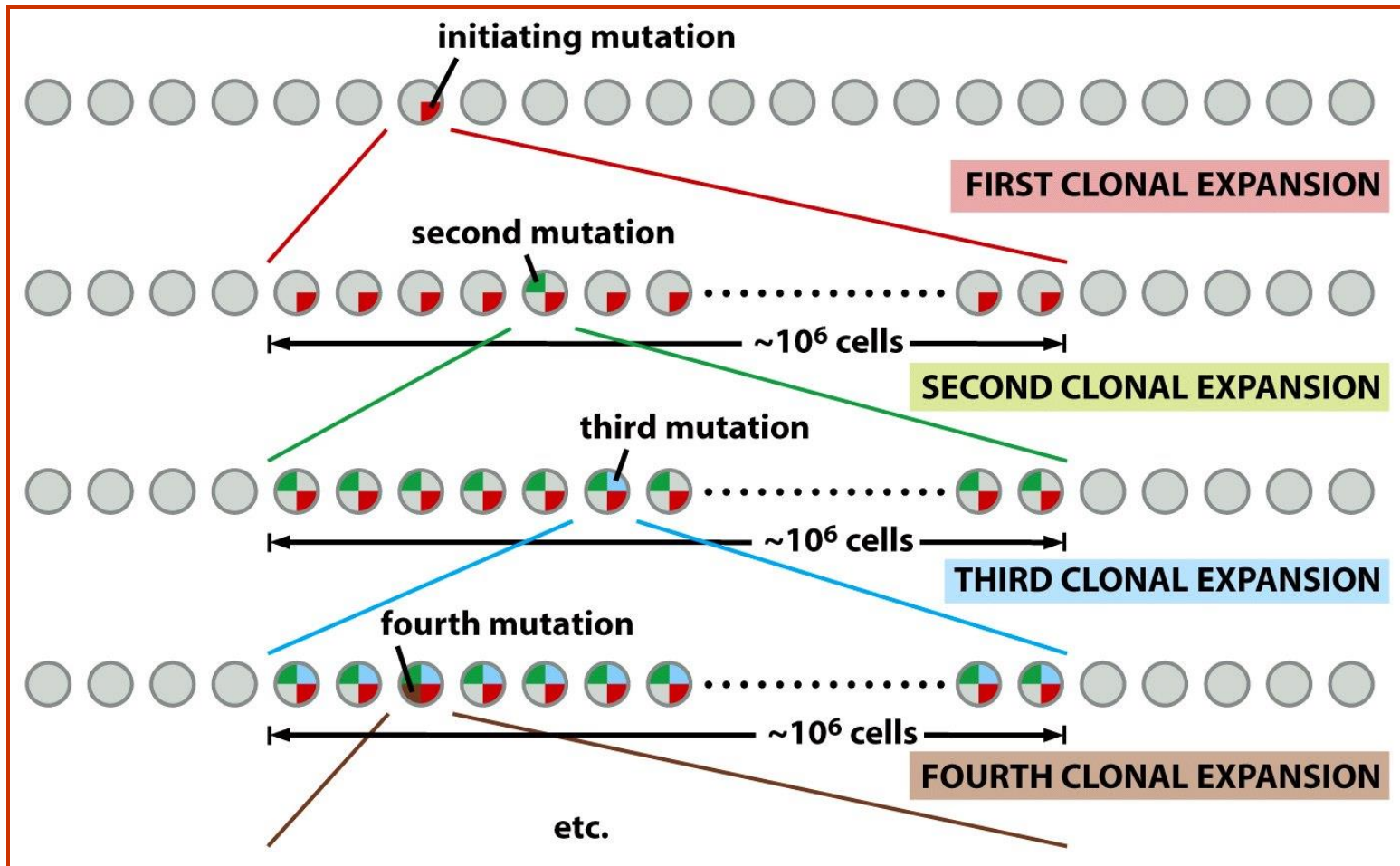
Proces vývoje nádoru:

- začíná **jednou odrodilou buňkou**
- je provázen **genetickými** a **epigenetickými** změnami

Nádorová buňka se vyvíjí postupným hromaděním genetických a epigenetických změn



Vícestupňová kancerogeneze: postupné hromadění genetických změn spojené s kroky klonální expanze



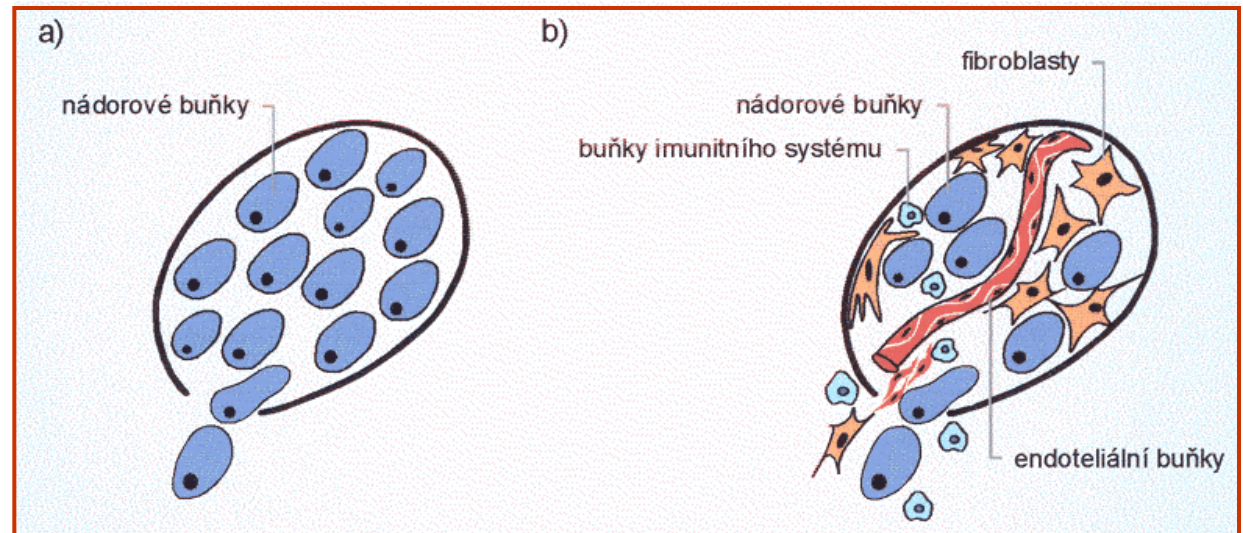
Kancerogeneze

- proces vzniku a vývoje nádoru
- vícestupňový proces
- podstatou kancerogeneze je postupné hromadění genetických a epigenetických změn

Neoplastická transformace

- přeměna somatické buňky v buňku nádorovou

Nádor je komplexní tkáň



Kolik a které geny jsou změněny během kancerogeneze?

- Nádor není **monogenní** onemocnění (X vrozené dispozice k nádorům!!).
- Odhaduje se, že pro vývoj nádoru je nezbytných **4-7** událostí (zásahů).
- Konkrétních genů, které mohou být během kancerogeneze změněny, jsou **stovky**.
- Obecně existuje šest (sedm? dvanáct?...?) základních vlastností plně maligního nádoru:

Kolik a které geny jsou změněny během kancerogeneze?

- Nádor není **monogenní** onemocnění (X vrozené dispozice k nádorům!!).
- Odhaduje se, že pro vývoj nádoru je nezbytných **4-7** událostí (zásahů).
- Konkrétních genů, které mohou být během kancerogeneze změněny, jsou **stovky**.
- Obecně existuje šest (sedm? jedenáct?...?) základních vlastností plně maligního nádoru:

„The hallmarks of cancer“

(Hanahan D. and Weinberg R.A. 2000, *Cell* 100: 57-70)

Hallmarks

- (1) Produkce vlastních proliferčních signálů
- (2) Necitlivost k signálům zastavujícím b. c.
- (3) Odolnost k buněčné smrti
- (4) Neomezený replikační potenciál
- (5) Indukce angiogenese
- (6) Aktivace invazivity a metastázování

Enabling hallmarks

- (7) Genetická nestabilita a mutace

Hallmarks of Cancer: The Next Generation

(Hanahan D. and Weinberg R.A. 2011, *Cell* 144: 646-674)

Hallmarks

- (1) Produkce vlastních proliferčních signálů
- (2) Necitlivost k signálům zastavujícím b.c.
- (3) Odolnost k buněčné smrti
- (4) Neomezený replikační potenciál
- (5) Indukce angiogenese
- (6) Aktivace invasivity a metastázování

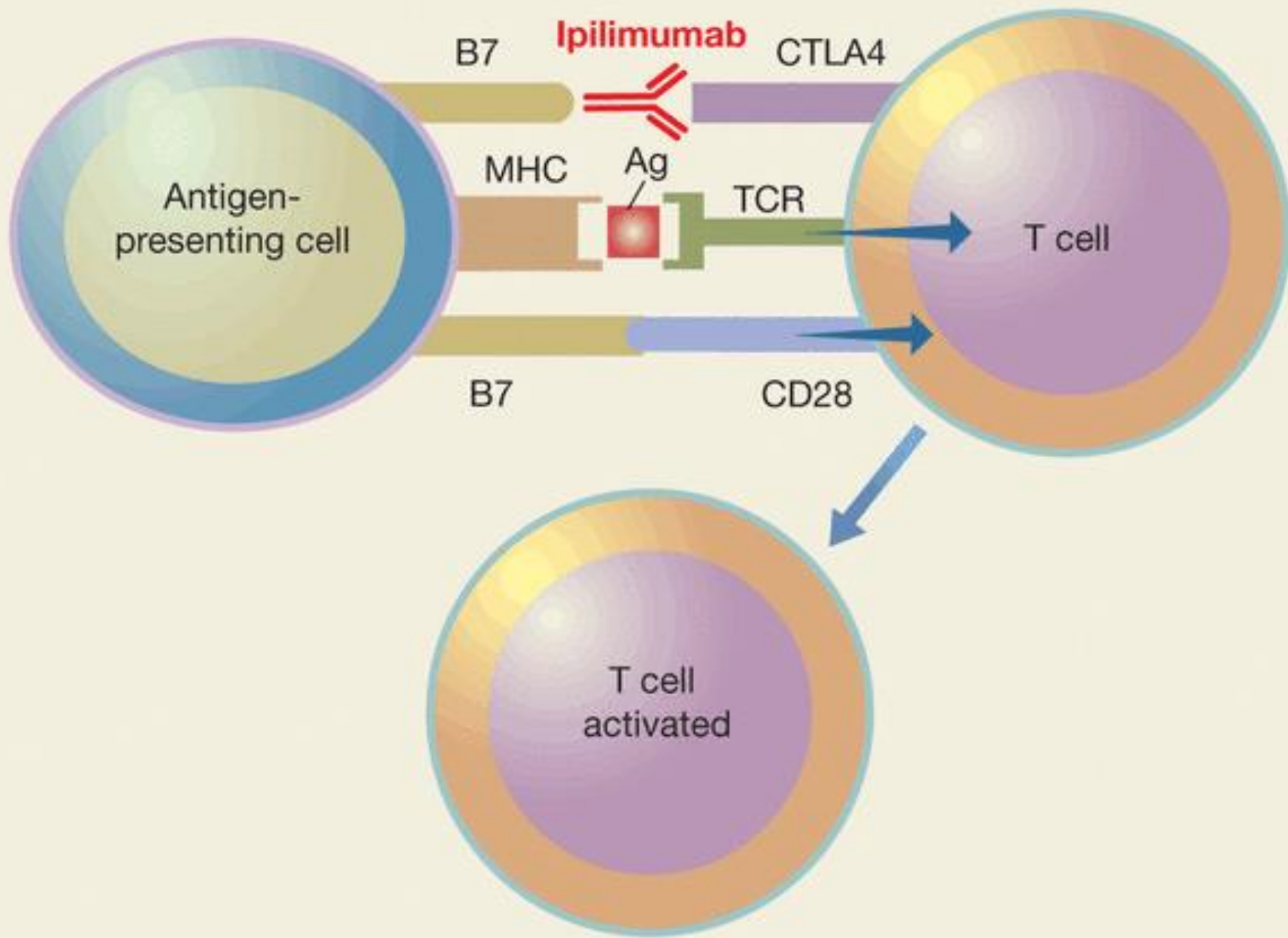
Enabling hallmarks

- Genetická nestabilita a mutace (7)
- Přítomnost zánětu podporující nádor (8)

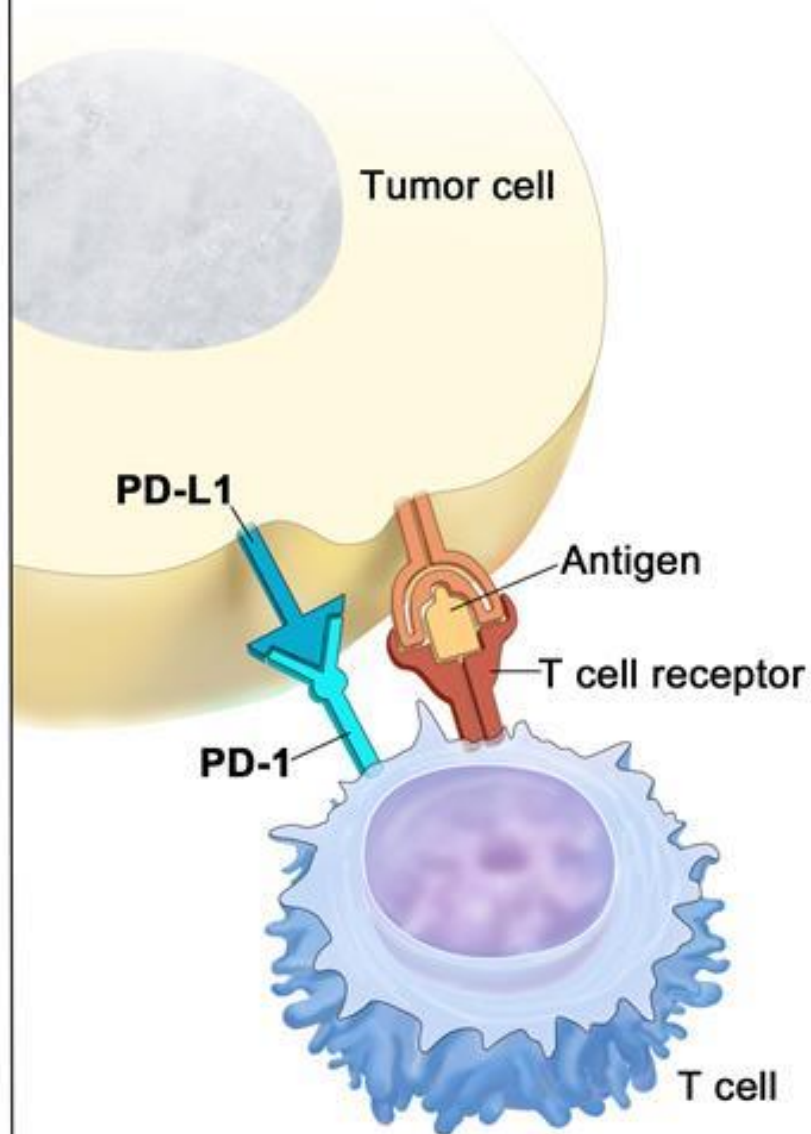
Emerging hallmarks

- Přeprogramování energetického metabolismu (9)
- Schopnost vyhnout se destrukci imunitním systémem (10)

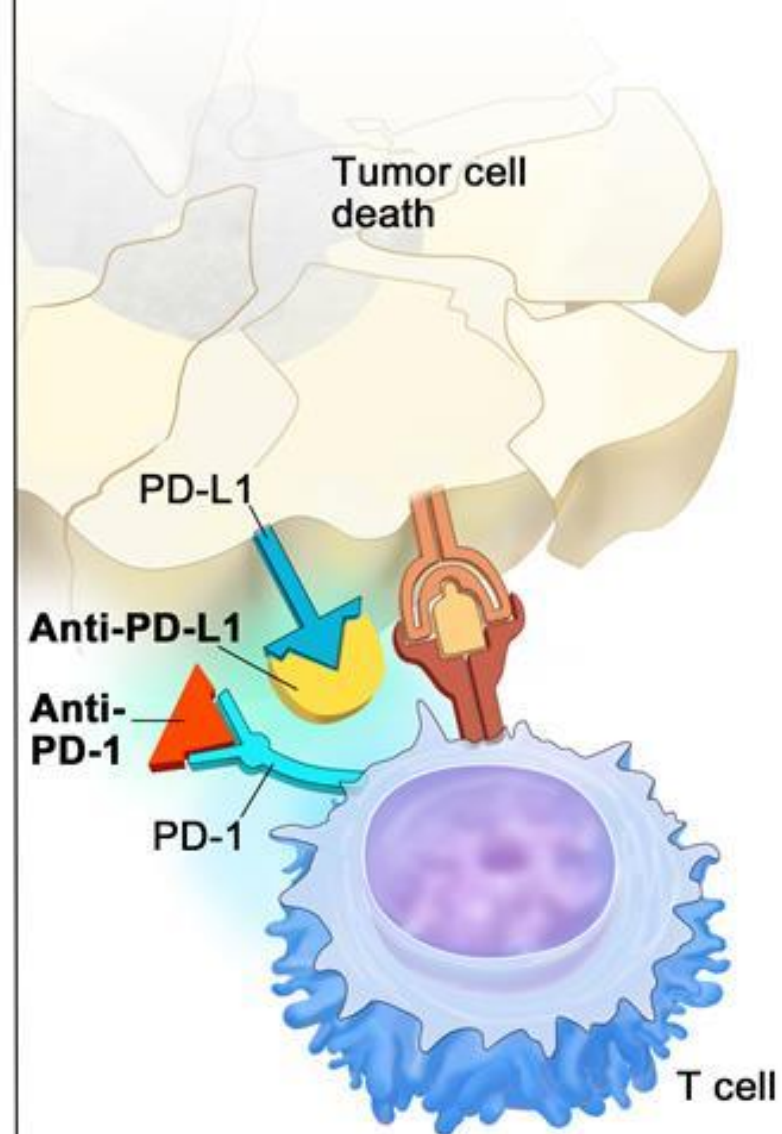
Tumor microenvironment (11)

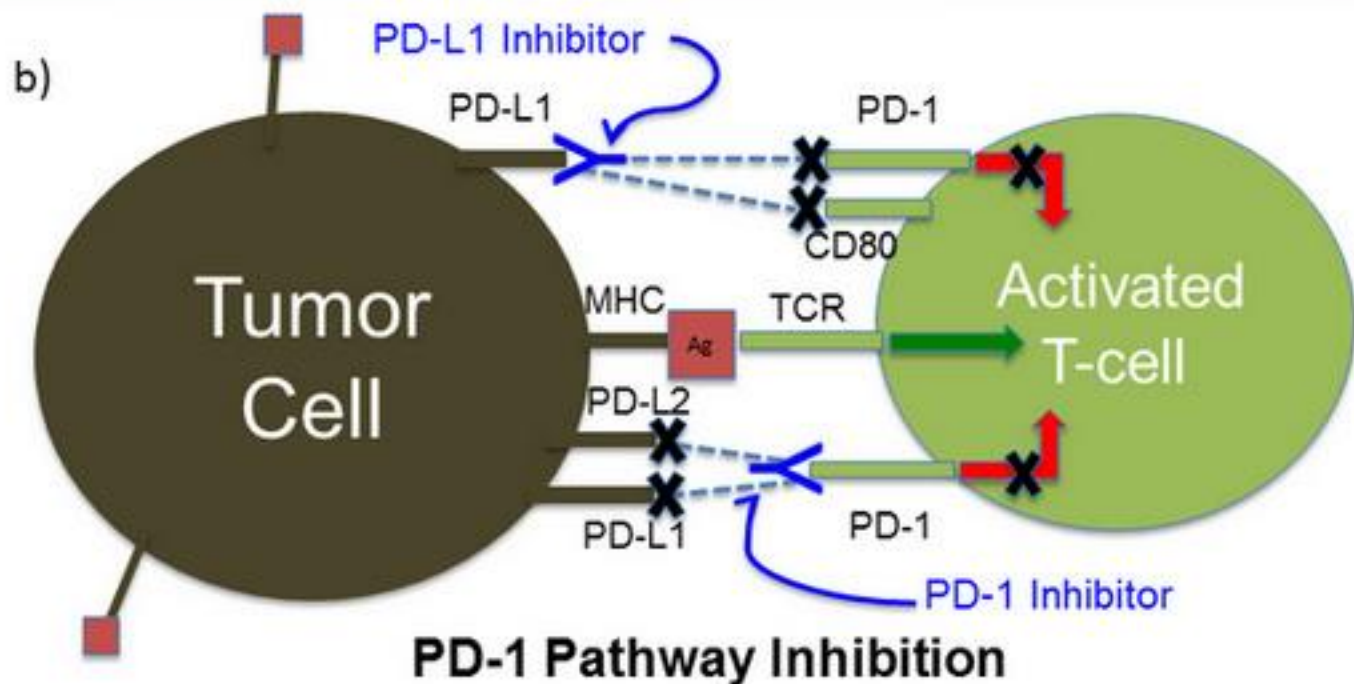
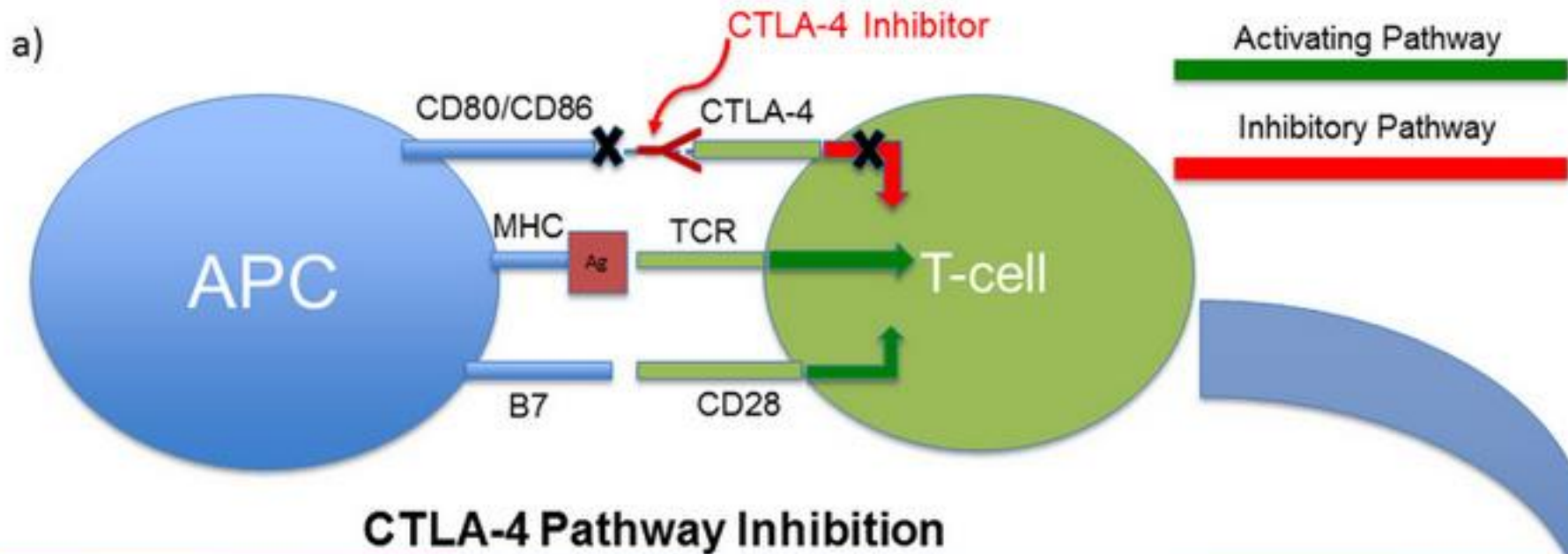


PD-L1 binds to PD-1 and inhibits T cell killing of tumor cell



Blocking PD-L1 or PD-1 allows T cell killing of tumor cell





Onkogeny

Protoonkogen je strukturní gen eukaryotické buňky, který se svým translačním produktem podílí do značné míry na stimulaci dělení buněk a jejich diferenciaci.

Onkogen je protoonkogen pozměněný nebo aktivovaný tak, že vyvolává neoplastickou transformaci buňky.

Mutace protoonkogenů jsou:

- aktivující
- dominantní
- vyskytují se v somatických buňkách a jen výjimečně v zárodečných buňkách

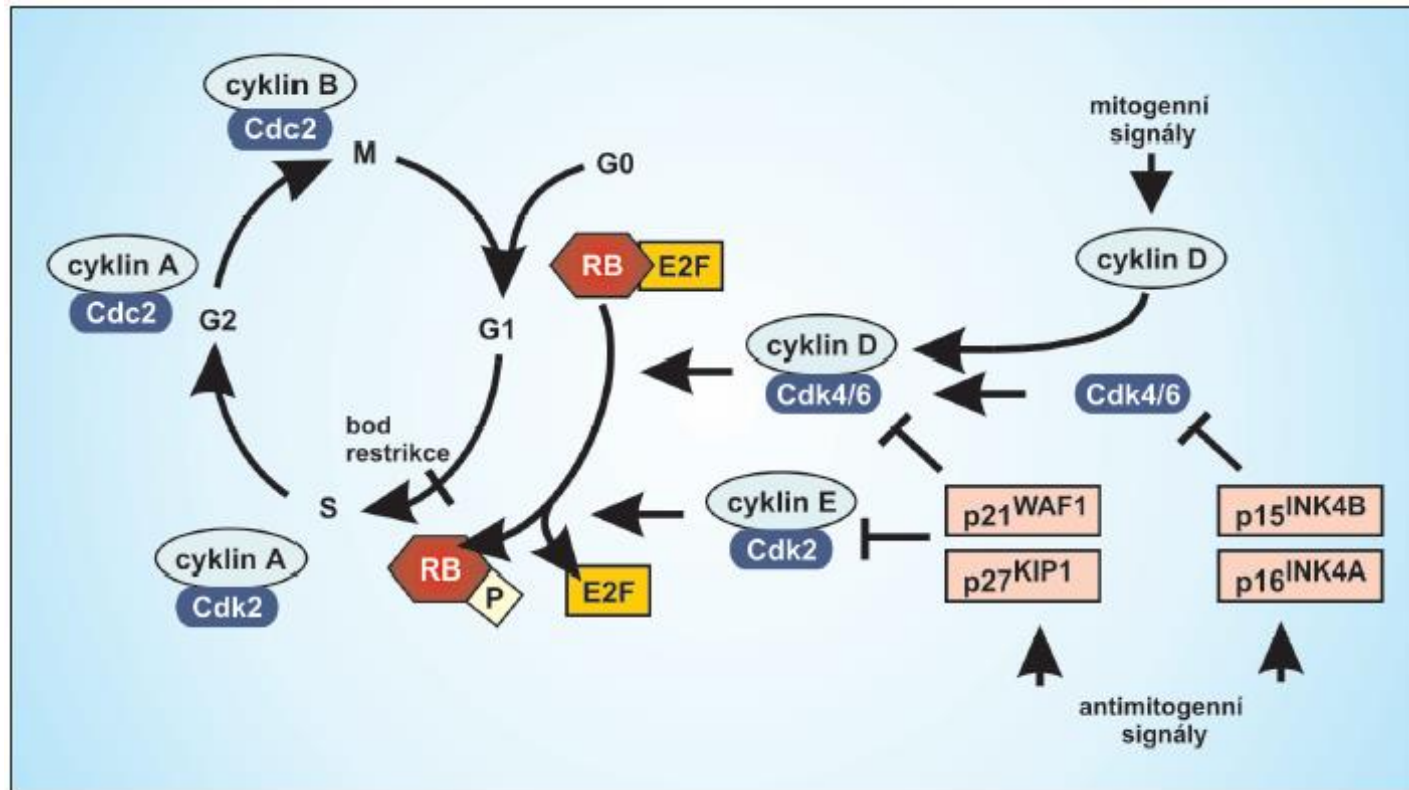
Nádorové supresory

Produkty genů pro nádorové supresory (**antionkogeny**) v normálních buňkách nevyvolávají proliferaci, ale naopak ji **potlačují** a udržují buňky ve stadiu klidu (G_0). Jejich ztráta se projevuje neregulovanou proliferací.

Mutace nádorových supresorů jsou:

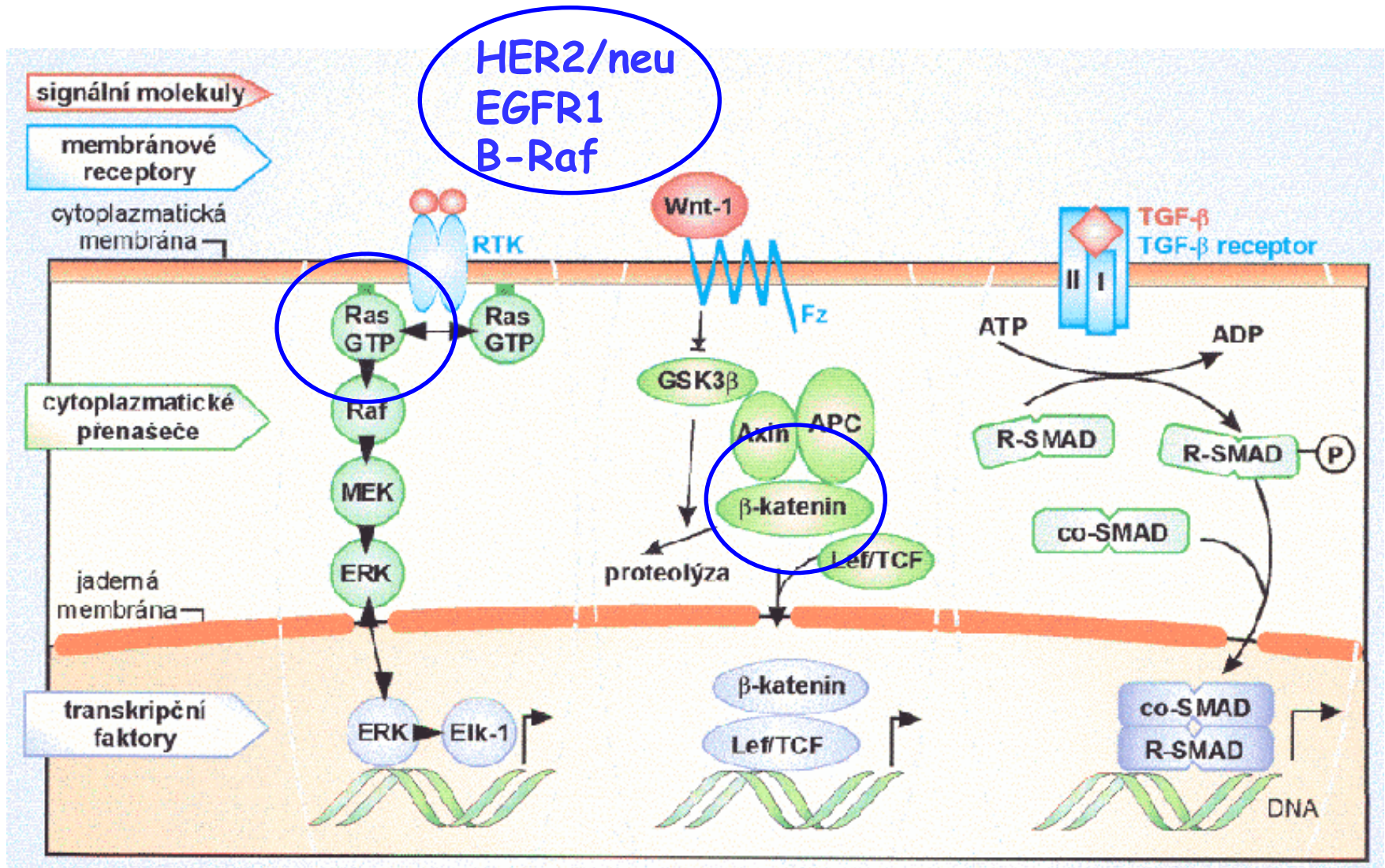
- inaktivující
- recesivní
- vyskytují se v somatických a také v zárodečných buňkách

Regulace buněčného cyklu



cykliny D, Myc - protoonkoproteiny
stimulující buněčné dělení

Příklady signálních drah

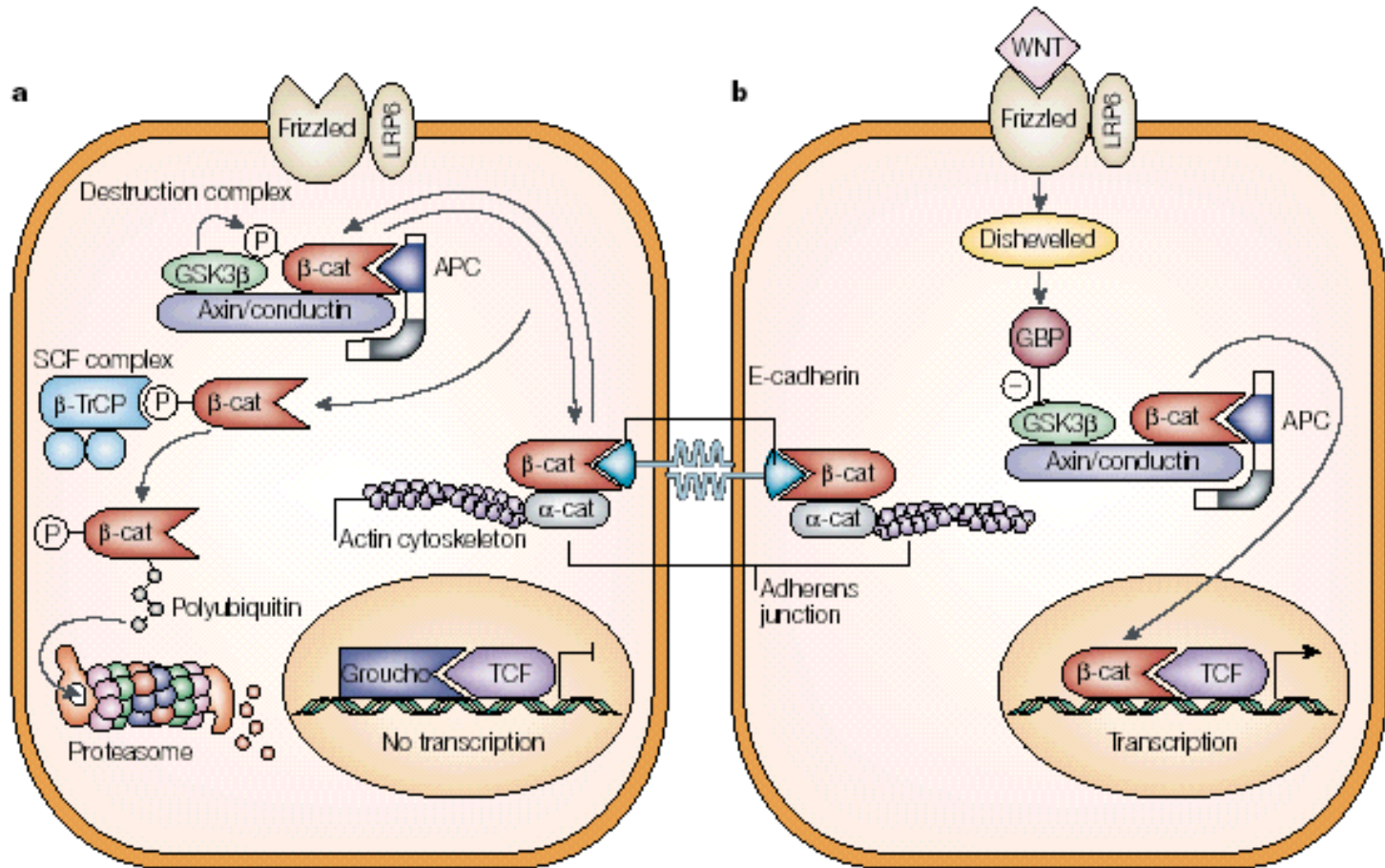


Signální dráha Wnt-1/ β -katenin

β -kateniny hrají v buňkách dvě odlišné role a obě tyto role se mohou podílet na kancerogenezi:

1. Molekuly β -kateninu jsou strukturální součástí cytoskeletu a adhezivních komplexů (zprostředkovávají vztah mezi kadheriny a aktinovými složkami cytoskeletu). Ztráta/změna buněčné adheze se uplatňuje při metastazování nádoru.
2. Volný β -katenin funguje jako signální molekula dráhy Wnt-1/ β -katenin účastnící se regulace transkripce. Transkripce genů zprostředkovaná β -kateniny může aktivovat např. *c-myc* a gen pro cyklin D1, což vede ke zvýšení buněčné proliferace.

Signální dráha Wnt/ β -katenin



Přebytek volného β -kateninu je degradován, což je zprostředkováno destrukčním komplexem.

Signální dráha Wnt-1/ β -katenin a nádory

- Mutace APC znemožňující vazbu APC na β -katenin nebo vazbu APC na axin způsobují konstitutivní aktivaci β -kateninu. Mutace APC patří k časným genetickým změnám při vývoji kolorektálního karcinomu (i vrozené mutace), dávají buňkám růstovou výhodu.
- Mutace axinu, které znemožňují vazbu axinu na β -katenin, byly nalezeny u některých hepatocelulárních nádorů.
- Mutace β -kateninu buď odstraňují serin nebo mění serin na jinou aminokyselinu, což vede ke zvýšení transkripční aktivity a k necitlivosti k APC zprostředkovanému odbourávání β -kateninu. Mutace β -kateninu se vyskytují u kolorektálního nádoru, nikdy ne zároveň s mutacemi APC.

Regulace β -kateninů

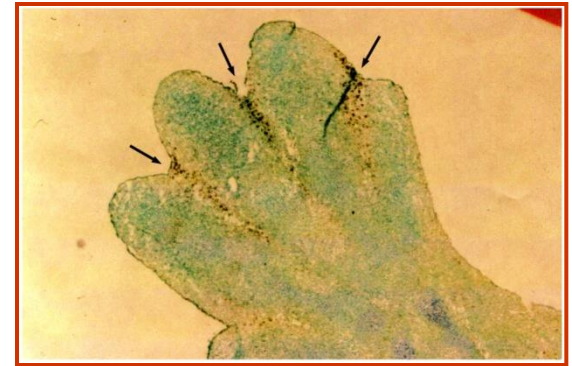
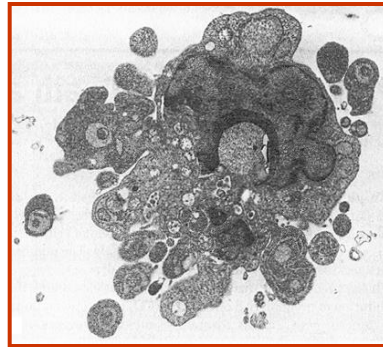
Hladina **volného** β -kateninu je udržována pomocí tzv. **destrukčního komplexu**. Ten je tvořen proteiny: *GSK-3*, *Axin*, *APC* a dalšími.

GSK-3 serin/threoninová kináza, která fosforyluje β -katenin (S33, S37, T47 a S45). Tato fosforylace funguje jako signál k následné ubikvitinaci a degradaci β -kateninu.

Axin a ***APC*** fungují jako "lešení" celého komplexu a podmiňují jeho fungování. *Axin* obsahuje vazebná místa pro všechny součásti destrukčního komplexu.

Poškození apoptózy (programované buněčné smrti)

3



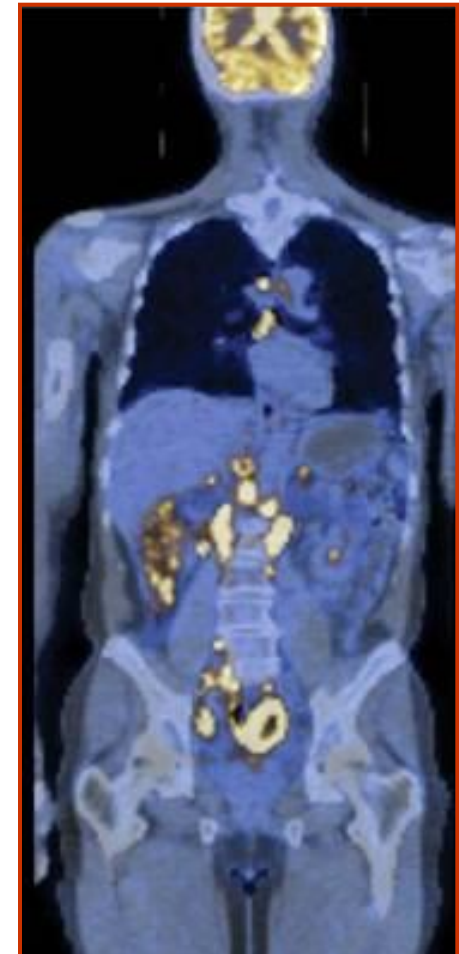
- Apoptotický program je latentně přítomen ve všech buňkách.
- Buňky jsou neustále připraveny odumřít apoptózou.
- Signály indukující apoptózu: poškození DNA, aktivace onkogenů, hypoxie, ztráta kontaktu s okolními strukturami (buňkami, ECM), nepřítomnost signálů přežití, signály smrti,...

Tvorba metastáz

6

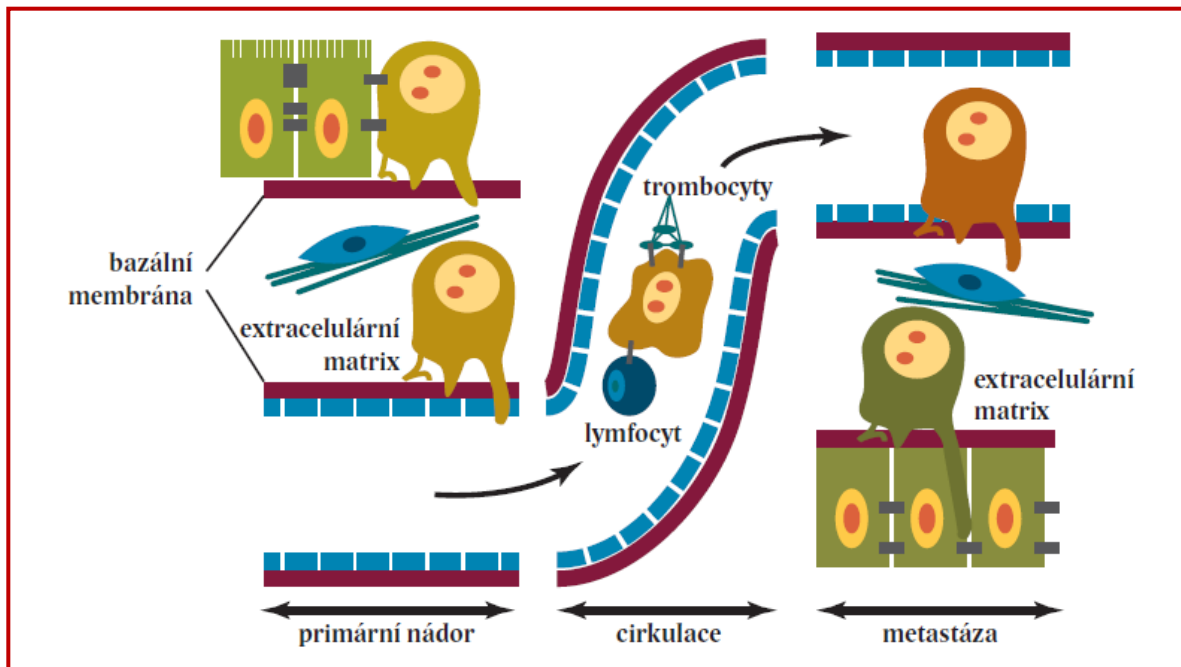


- Metastázy jsou **nejzhoubnějším** jevem při nádorovém onemocnění a jsou příčinou asi 90 % úmrtí pacientů s nádorovým onemocněním.
- Méně častou příčinou je bezprostřední působení primárního nádoru: nádory mozku, nádory žlaznatých buněk, leukémie, lymfomy.



Metastatická kaskáda

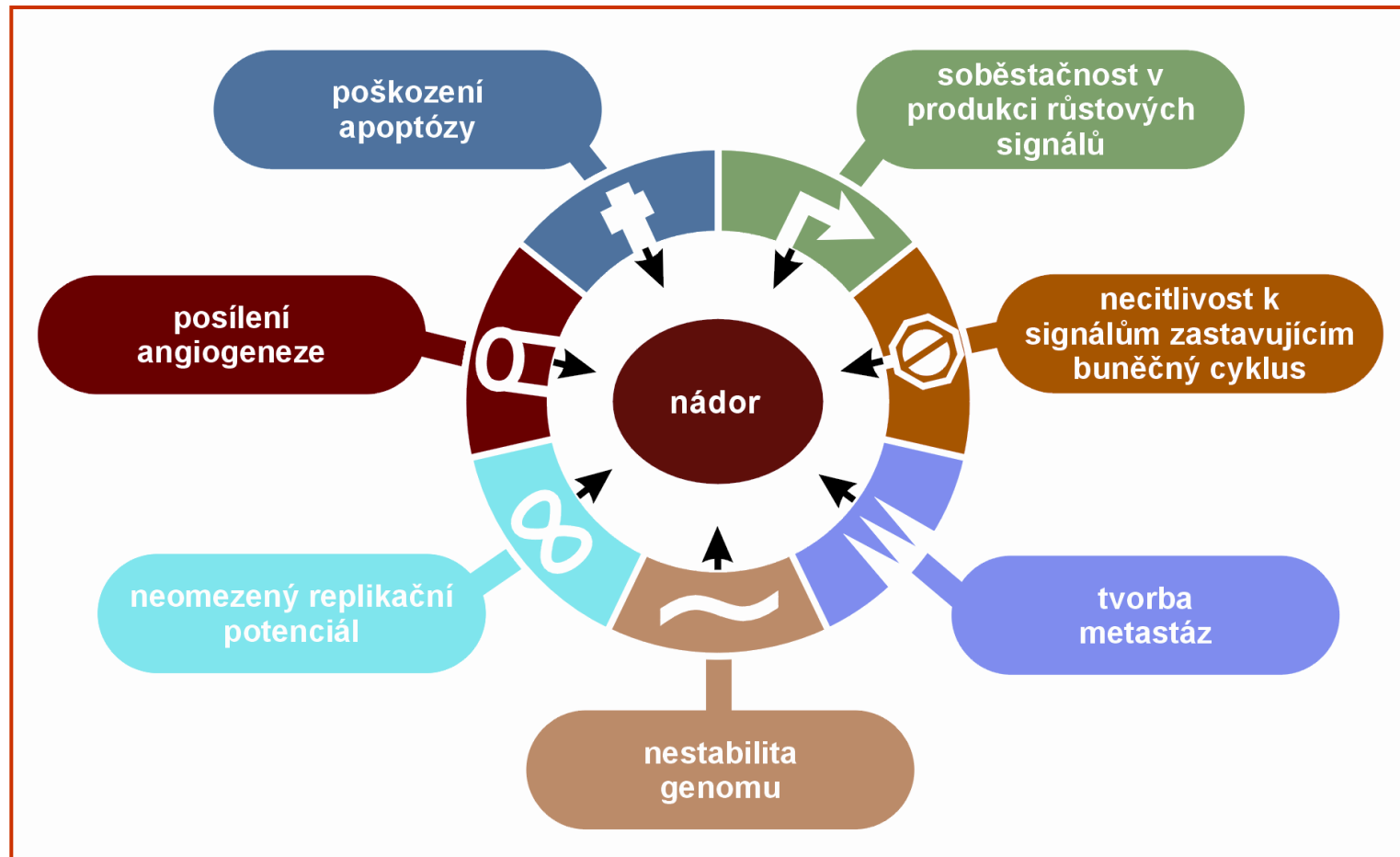
1. Uvolnění nádorové buňky z primárního nádoru.
2. Prostoupení ECM a bazální membrány, vstup do cirkulačního systému.
3. Migrace cirkulačním systémem.
4. Vystoupení z cirkulačního systému, prostoupení bazální membrány a ECM.
5. Tvorba sekundárního nádoru (mikrometastázy → kolonizace).



Invazi nádorových buněk lze chápat jako **pohyb** buněk spojený s regulovanou **adhezí** a uvolňováním adheze (od ECM, mezi buňkami navzájem) a **proteolýzou ECM**.

Vývoj kolorektálního karcinomu: model kancerogeneze

Kancerogeneze má obecné rysy

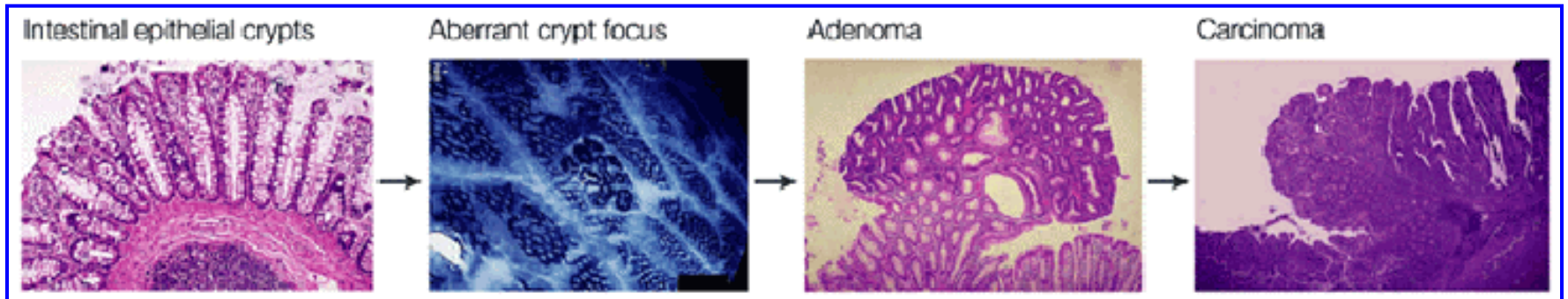
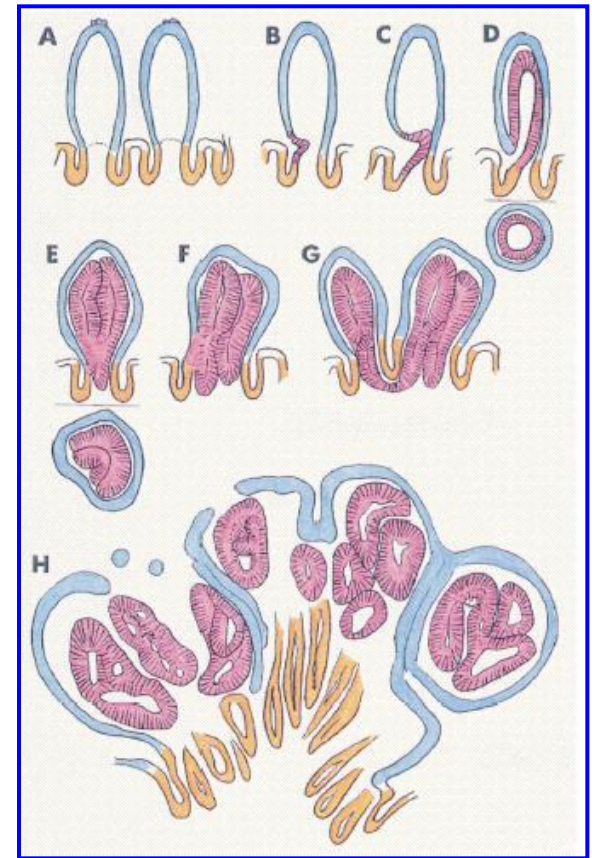


Vývoj kolorektálního karcinomu

Kolorektální karcinomy představují výborný model pro studium kancerogeneze:

- relativně „standardní“ průběh od malých adenomů (do 1 cm), přes středně pokročilé (více než 1 cm bez známek transformace) a velké adenomy až po plně rozvinutý maligní CRC
- souvislost mezi morfologií jednotlivých stadií a genetickými změnami
- model kooperace onkogenů a nádorových supresorů během kancerogeneze

Vývoj kolorektálního karcinomu



Familiální adenomatózní polypoza - FAP

Autozomálně dominantní dědičné onemocnění.

- U pacientů s FAP se vyvíjejí stovky až tisíce benigních kolorektálních nádorů, z nichž některé progredují do karcinomů, nejčastěji během druhé a třetí dekády života. Průměrný věk detekce nádoru u FAP pacientů je 40 let.
- Polypy, které se objevují u pacientů s FAP jsou totožné s polypy sporadickými a také nemají větší riziko maligní progresse než sporadické polypy. Ale jejich velký počet „zajišťuje“, že některé se s jistotou v maligní vyvinou.
- Pacienti s FAP mají zvýšené riziko thyroidních nádorů, nádorů tenkého střeva, žaludku a mozku.

Familiální adenomatózní polypoza

- FAP je spojena s vrozenými mutacemi genu *APC* (*adenomatosis polyposis coli*).

paci



ince

Figure 7-22 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

- Somatické mutace *APC* také hrají klíčovou úlohu při vývoji sporadických kolorektálních karcinomů, jsou detekovány alespoň u 80% všech CRC.

Příklad cytoplazmatického proteinu: Ras

Proteiny Ras (p21^{Ras}; H-Ras, N-Ras, K-Ras4A, 4B), jsou lokalizovány na vnitřní straně cytoplazmatické membrány, kde fungují jako přepínače při přenosu extracelulárních signálů do cytoplazmy. Účastní se řízení buněčného cyklu, diferenciaci a apoptózy.

Proteiny Ras mají GTPázovou aktivitu: jsou inaktivní, váže-li se na ně **GDP**, a aktivní, váže-li se na ně **GTP**.

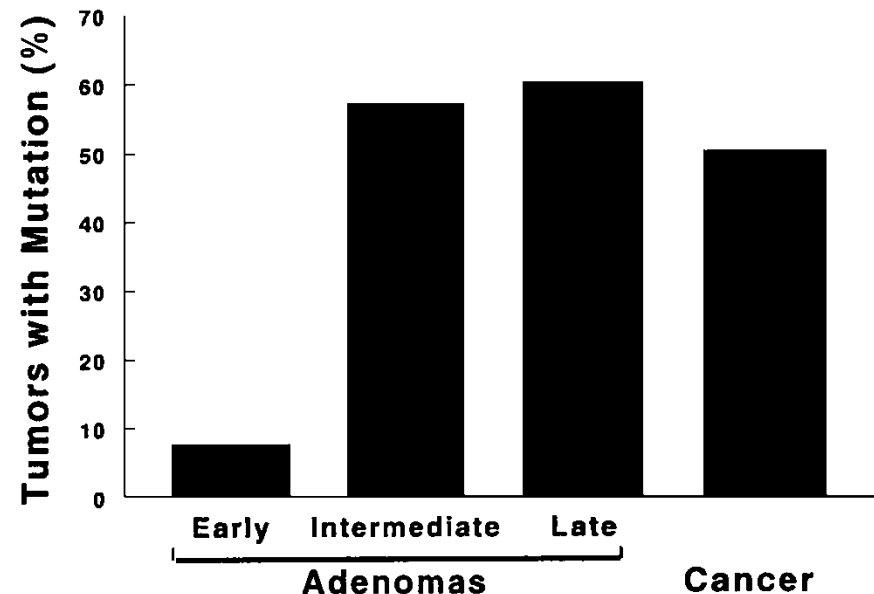
Onkogenní mutace posilují aktivitu Ras (např. v kodónu 12 poškozují GTPázovou aktivitu); u některých nádorů je zvýšená exprese ras.

Přítomnost onkogenní mutace *ras* detekována téměř u 35% nádorů.

Další stadia vývoje kolorektálního karcinomu - aktivace ras

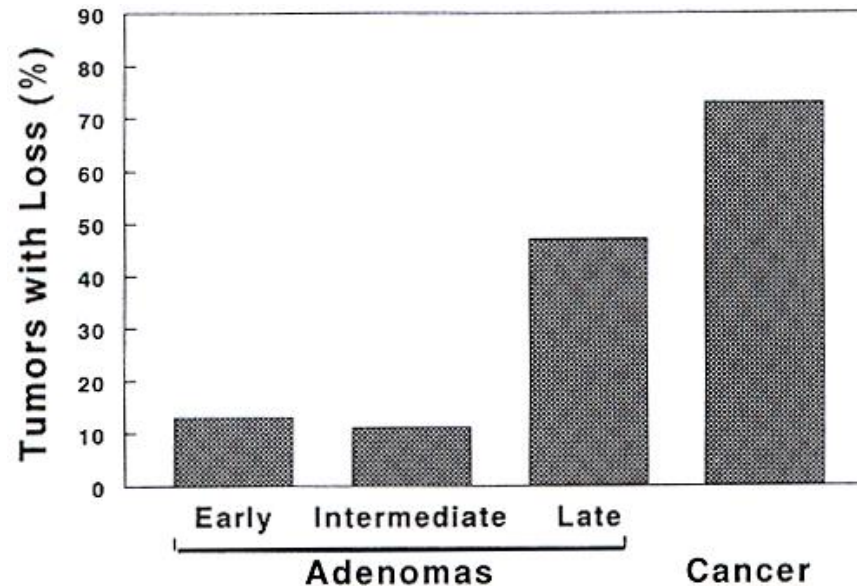
- Specifické bodové mutace protoonkogenu K-*ras* nebo N-*ras* jsou detekovány alespoň u 50% kolorektálních adenomů větších než 1 cm a asi u 50% karcinomů.
- Mutace *ras* jsou jen vzácně (do 10%) detekovány u adenomů menších než 1cm.

⇒ mutace *ras* se typicky objevují při progresi adenomů



Další stadia vývoje kolorektálního karcinomu - LOH (Loss Of Heterozygosity) 18q

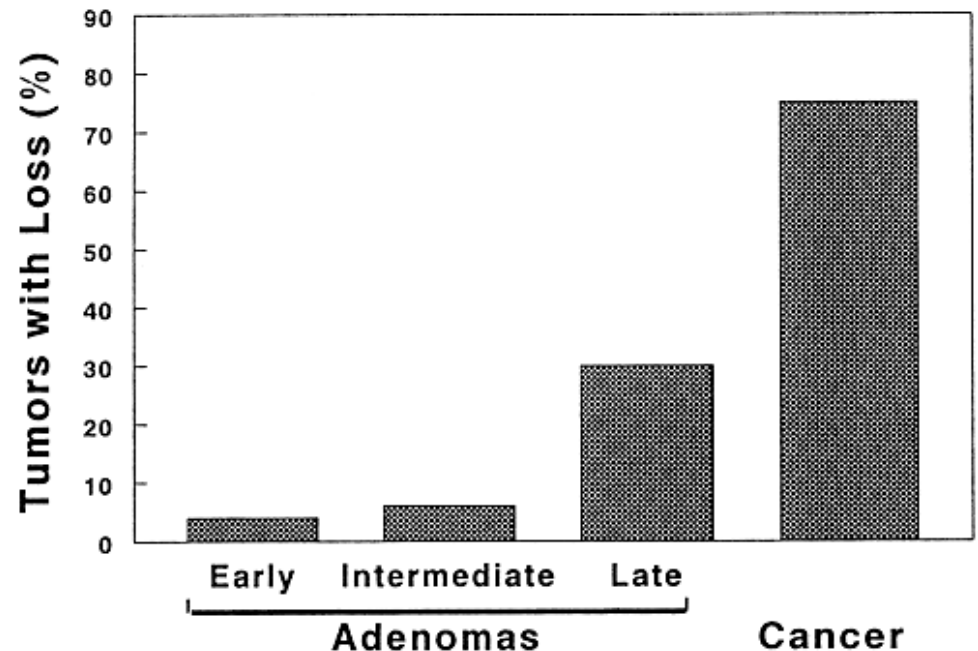
- Delece oblasti 18q detekovány u 50% velkých adenomů a 70% karcinomů.
- Na chromozomu 18q detekován gen pro co-SMAD, někdy označovaný jako *DPC4* („deleted in pancreatic cancer“).
- co-SMAD je součástí signální dráhy TGF- β .



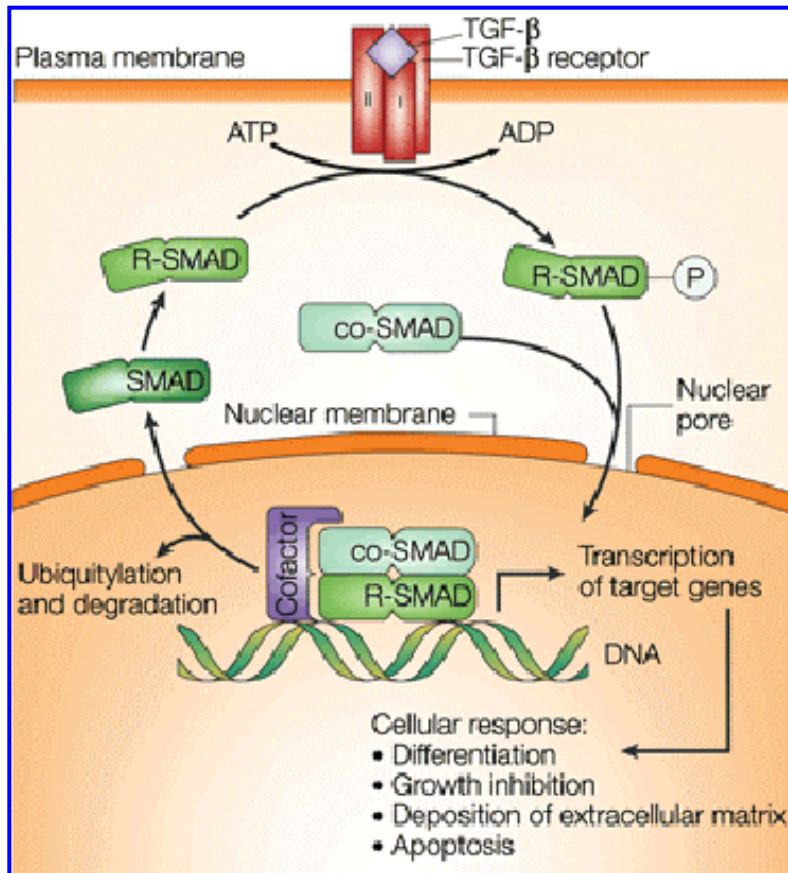
Další stadia vývoje kolorektálního karcinomu - inaktivace p53

- Ztráta 17p je detekována u 75% kolorektálních karcinomů.
- Ztráta 17p je jen vzácně detekována u kolorektálních adenomů.

⇒ inaktivace nádorového supresoru p53 je typicky pozdní událost během vývoje kolorektálních karcinomů



Signální dráha **TGF** (transforming growth factor)- β



Vazba TGF- β k příslušnému receptoru vede k fosforylaci **R-SMAD**, ten potom tvoří komplex s **co-SMAD** a tento komplex migruje do jádra, kde ve spolupráci s dalšími TF spouští transkripci TGF- β -cílových genů (např. **p21^{CIP1}**, **p15^{INK4B}**, a další).

⇒ antimitogenní signalizace

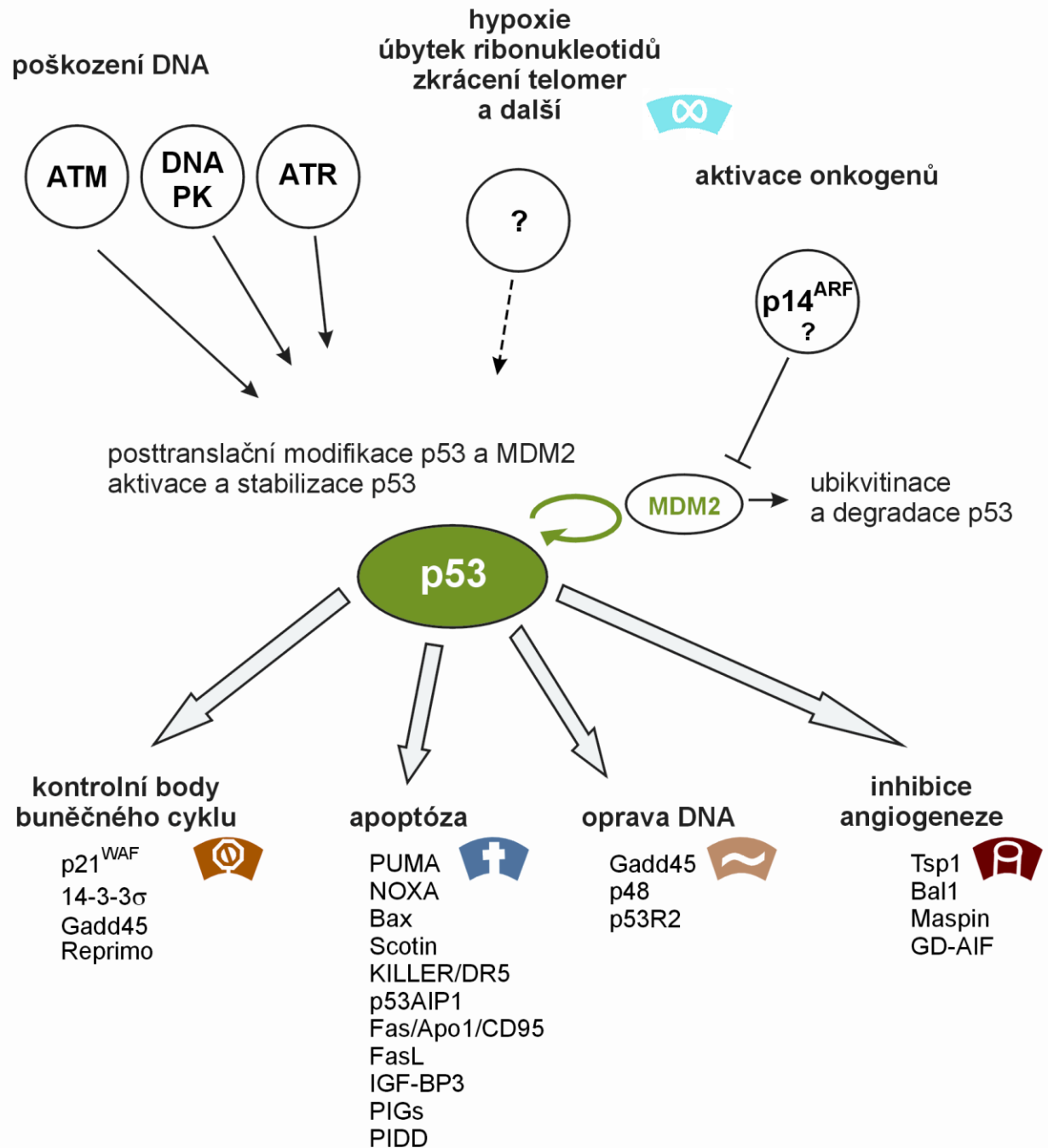
Gen a protein p53

Protein je jaderný fosfoprotein, 393 AA, 53 kDa;
funguje jako transkripční faktor.

Cílové geny:

- *mdm2* - zpětnovazební inhibiční klička
- *p21^{CIP1/WAF1}* - blok *G1*
- *bax* - apoptóza
- *GADD45* - oprava DNA

Funkce p53: signální síť



Vývoj kolorektálního karcinomu: model mnohostupňové kancerogeneze

