



Nádorová progrese

Invazivita a vznik metastáz

Angiogeneze



Invazivita a vznik metastáz



Metastázy

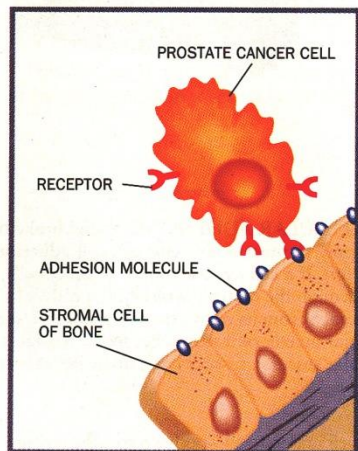
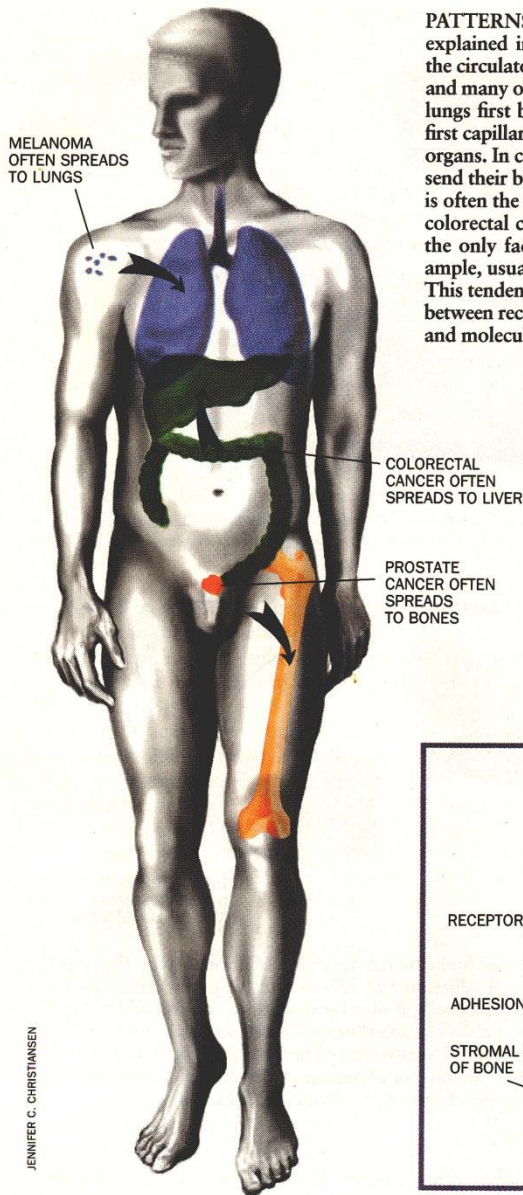
tvorba progresivně rostoucích sekundárních nádorových fokusů v místech nespojených s primárním nádorem.

Metastatická kaskáda - série definovaných kroků:

- uvolnění buňky (od okolních buněk, ECM)
- překonání bazální membrány v epitelech (metalloproteinázy)
- překonání bazální membrány a endotelu cév
- přenos krevním (lymfatickým) řečištěm
- překonání endotelu, bazálních membrán v jiné lokalitě
- uchycení v nové tkáni (hyaluronan a jeho receptory - CD44, integriny)
- přežívání, proliferace
- vznik mikro- a makrometastáz - letalita onemocnění

Vznik a struktura metastáz

PATTERNS OF METASTASIS can be explained in part by the architecture of the circulatory system. Tumors in the skin and many other tissues often colonize the lungs first because the lungs contain the first capillary bed "downstream" of most organs. In contrast, because the intestines send their blood to the liver first, the liver is often the primary site of metastasis for colorectal cancers. Yet circulation is not the only factor: prostate cancer, for example, usually metastasizes to the bones. This tendency may result from an affinity between receptors on prostate tumor cells and molecules in bone tissues (*inset*).



Existuje řada genů a proteinů, které regulují metastatickou schopnost buněk a které musí být koordinovaně exprimovány. Ztráta funkce tzv. **supresorových genů pro metastázy**, které zabraňují tvorbě spontánních, makroskopických metastáz, aniž by ovlivňovaly růst primárního nádoru (prvním z objevených genů je nm23).

Význam dostupnosti cév, angiogeneze - tvorba cév v nádoru.

Nádory kůže a dalších tkání nejčastěji kolonizují první plíce obsahující první spád kapilár většiny orgánů. Ze střeva teče krev do jater - nádory střeva metastazují do jater. Nádory prostaty metastazují do kostí díky afinitě mezi receptory nádorových buněk prostaty a molekul v kostní tkáni.

Benigní versus maligní nádory

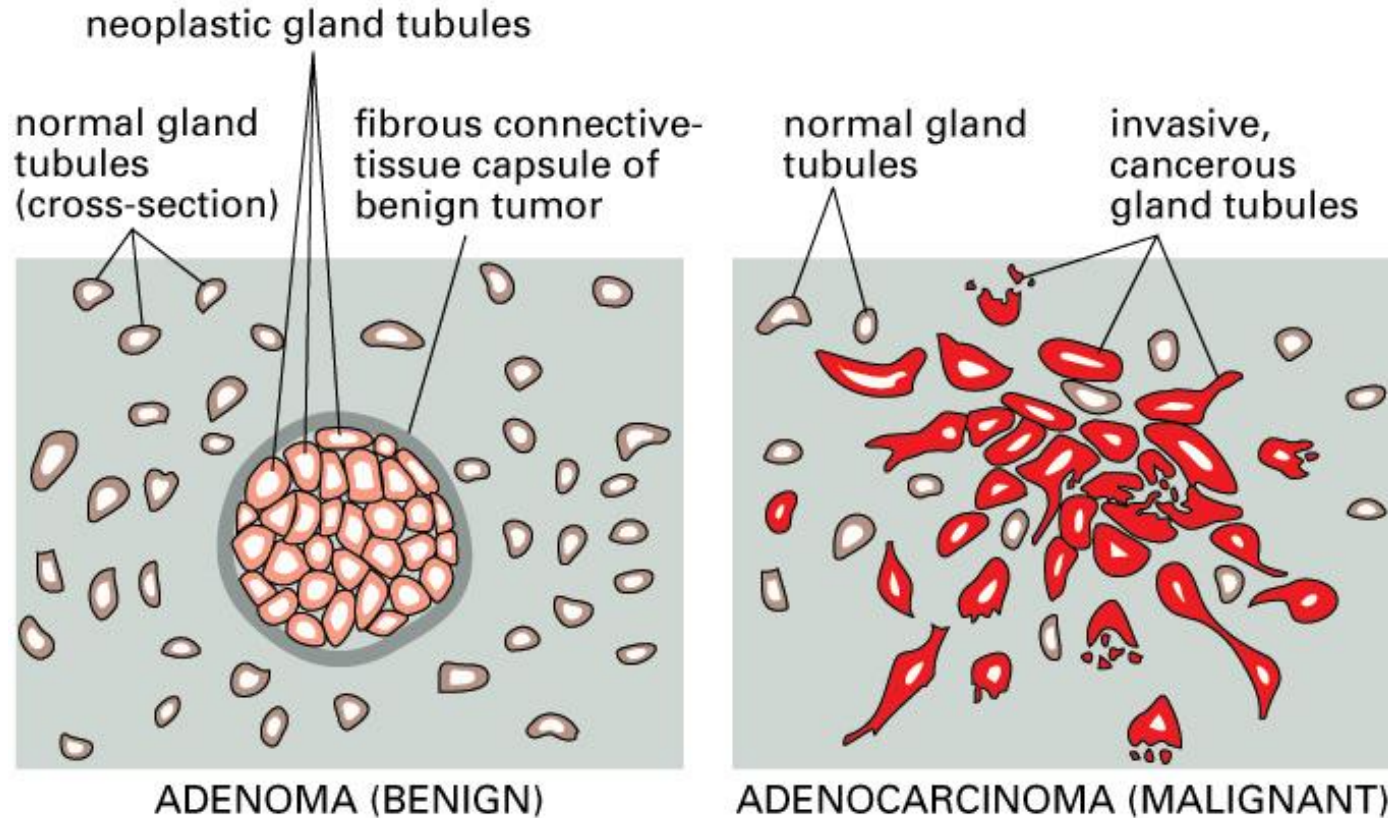
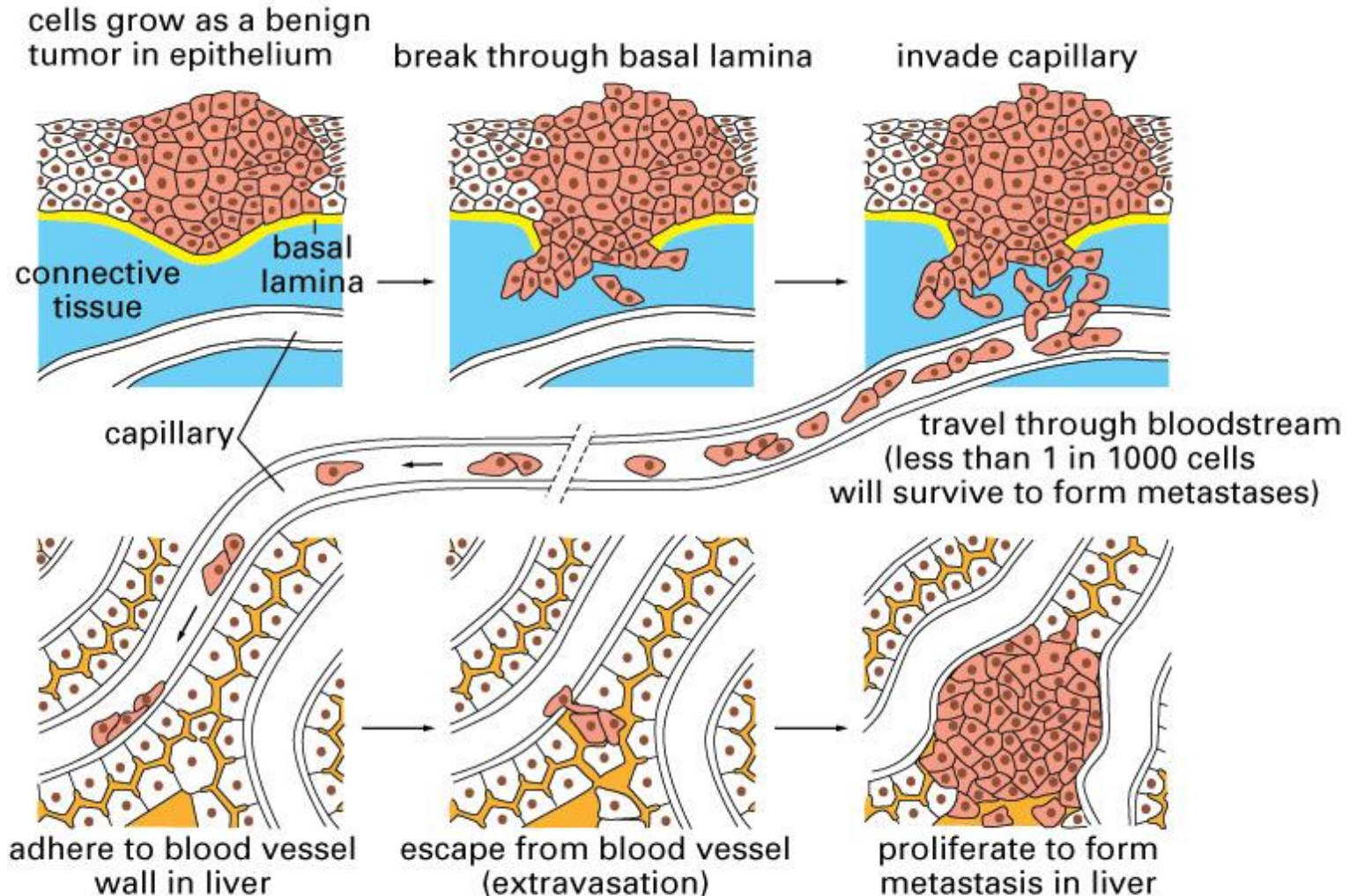


Figure 23-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Adenomy – benigní, morfologicky stejné jako původní tkáň, ohraničené od okolní tkáně, neinvazivní

Adenokarcinomy – maligní, změněné morfologické i funkční vlastnosti, prorůstají do okolní tkáně, invazivní, vznik metastáz

Proces vzniku metastáz



Přechod z benigního do progresivního maligního stádia – průnik buněk bazální laminou, uvolnění buněk a průnik do cévního řečiště, putování cévami (přežívá cca 1 buňka z 1000), adheze na cévní stěnu, průnik cévní stěnou, zahájení proliferace - tvorba metastáz ve vzdáleném orgánu

Význam buněčné adheze

Pro vznik metastáz jsou důležité zejména **změny v buněčné adhezi a komunikaci**

Buňky se pro předání signálu musí dotýkat - "juxtacrine signaling"

Kontakt buňka-buňka – transmembránové kadheriny (E-kadherin) jsou propojeny přes katenin, vinkulin, plakoglobin s cytoskeletem - geny kódující tyto proteiny označeny jako **supresorové geny pro metastázy**

Kontakt buňka - extracelulární matrix (ECM) - **integriny**
Anchorage dependence - závislost na podkladu
Area code - specifická oblast bazální membrány

„Junctional“ a „nonjunctional“ adhezivní mechanizmy živočišných buněk pro vzájemnou vazbu a pro vazbu k extracelulární matrix

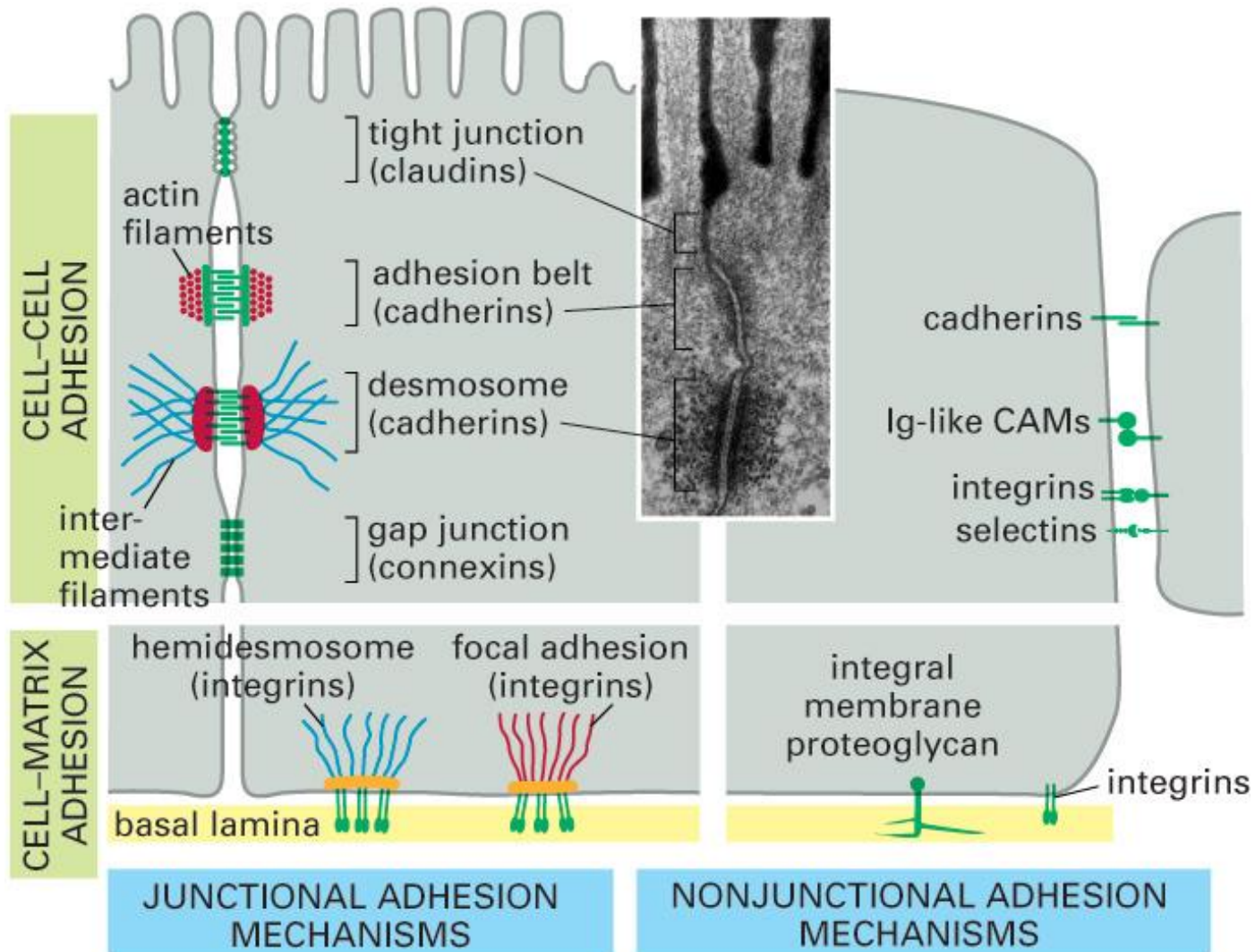
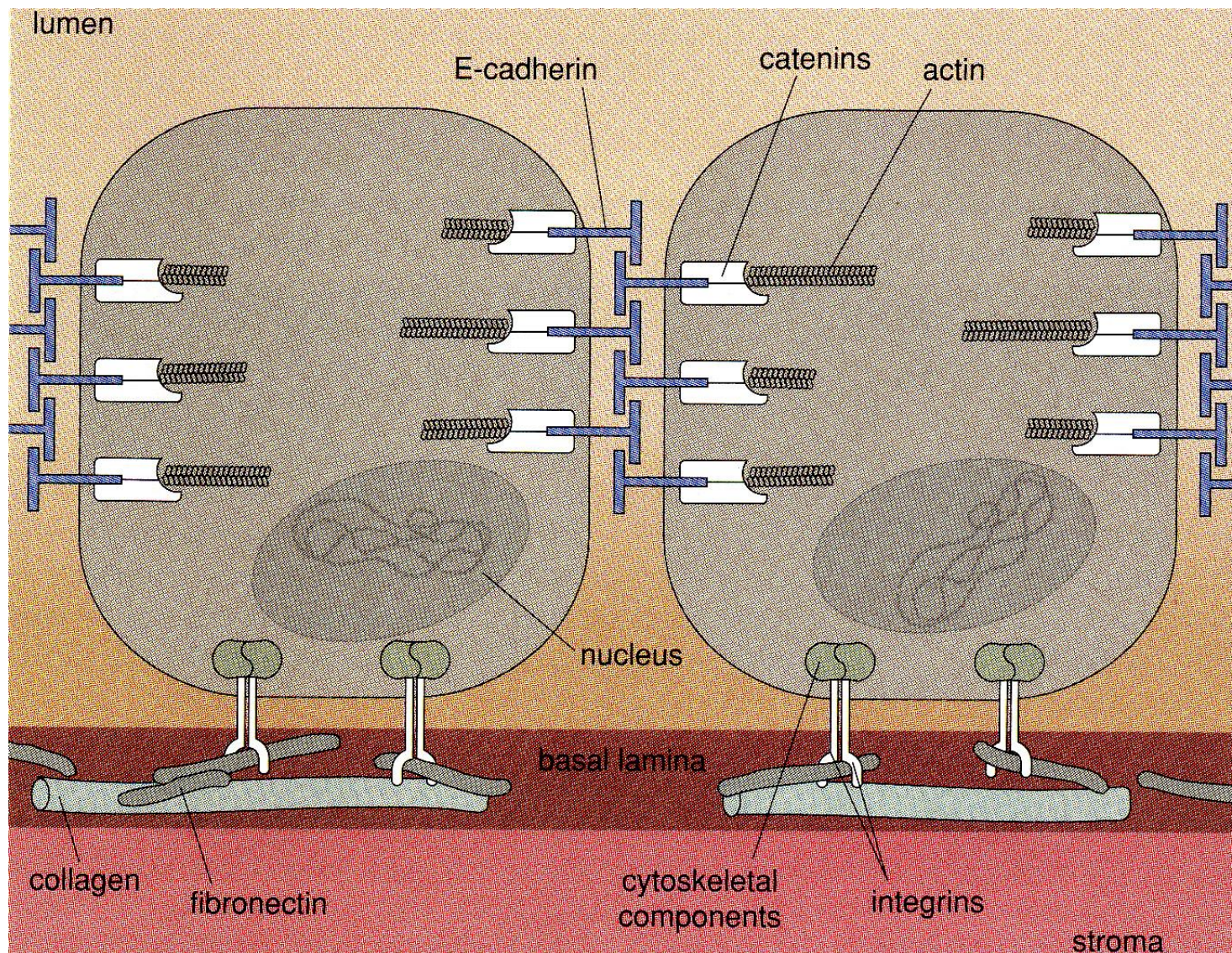


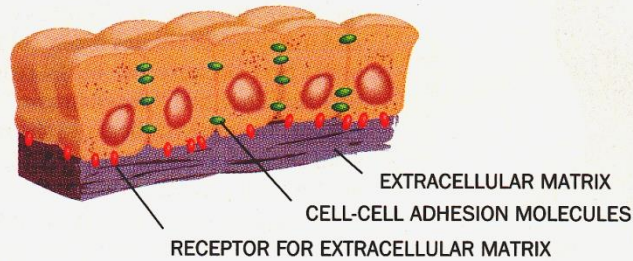
Figure 19–32. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Sít' proteinových spojů u normálních epitelálních buněk

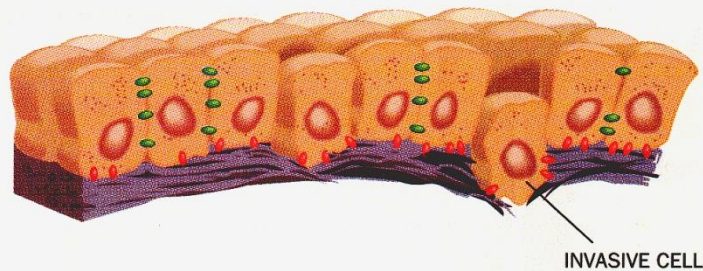


Adheze buněk

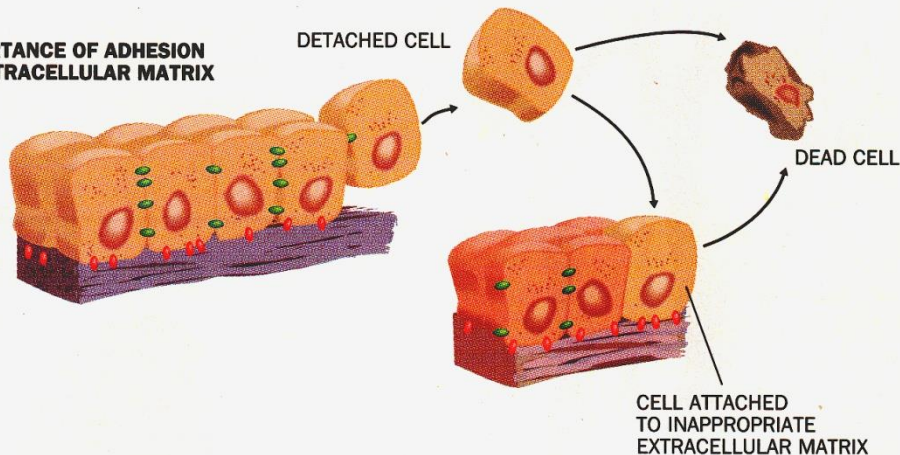
CELLULAR ADHESION



IMPORTANCE OF CELL-CELL ADHESION



IMPORTANCE OF ADHESION TO EXTRACELLULAR MATRIX

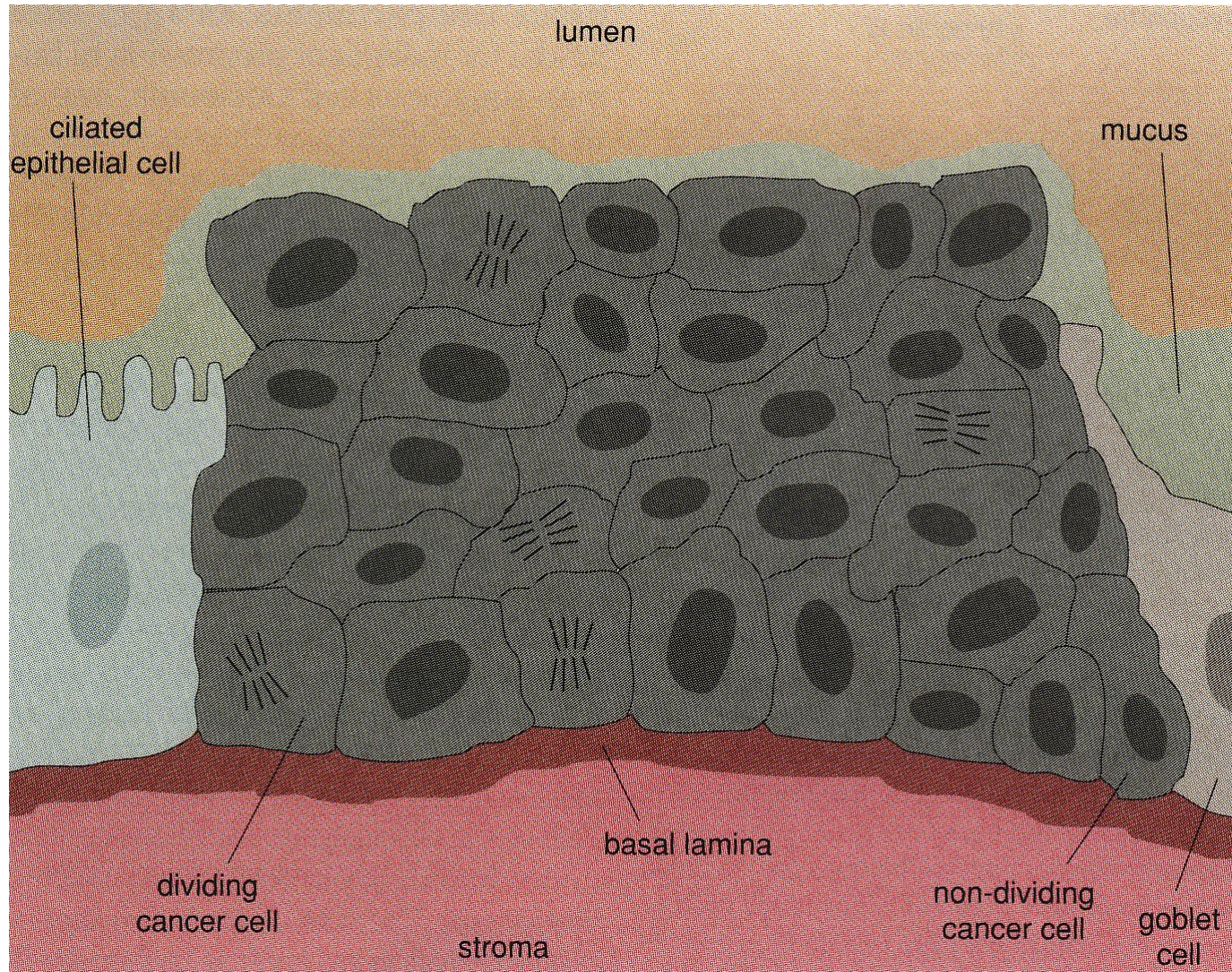


DANA BURNS-PIZER

Pro uvolnění buněk z nádorové masy i pro jejich uchycení a tvorbu metastáz ve vzdálené tkáni jsou **důležité jak vzájemné buněčné vazby tak vazby k ECM.** Uvolněná buňka bez příslušných vazeb za normálních okolností není schopna přežít. Přežití umožňují **poruchy regulace apoptózy – anoikis („detachment-induced apoptosis“).**

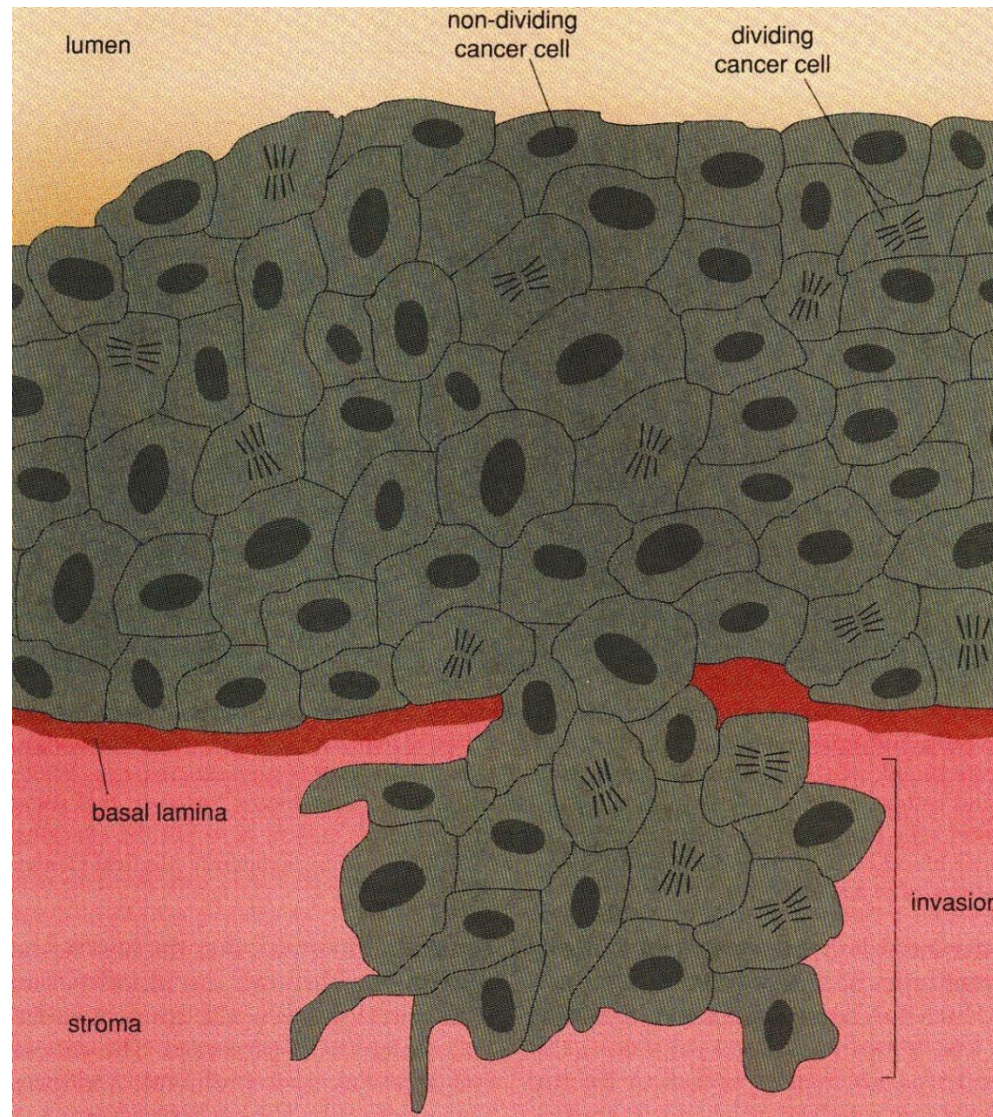
Ruoslahti E., Scientific American 1996:72-77

Karcinom *in situ*



Van Noorden C.J.F. et al., *American Scientist* 86,1998:130-141

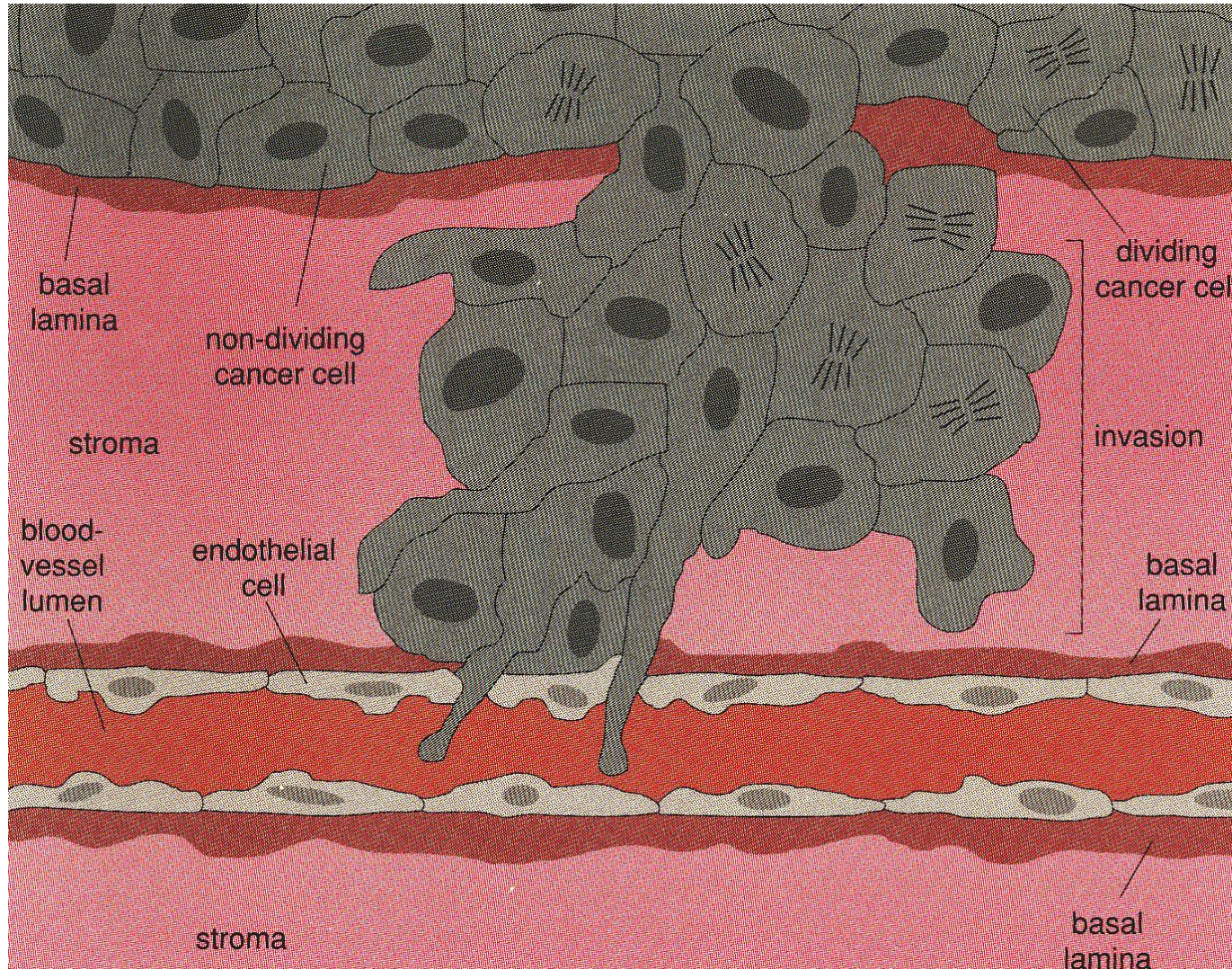
Malignita – buňky pronikají přes bazální laminu a stroma



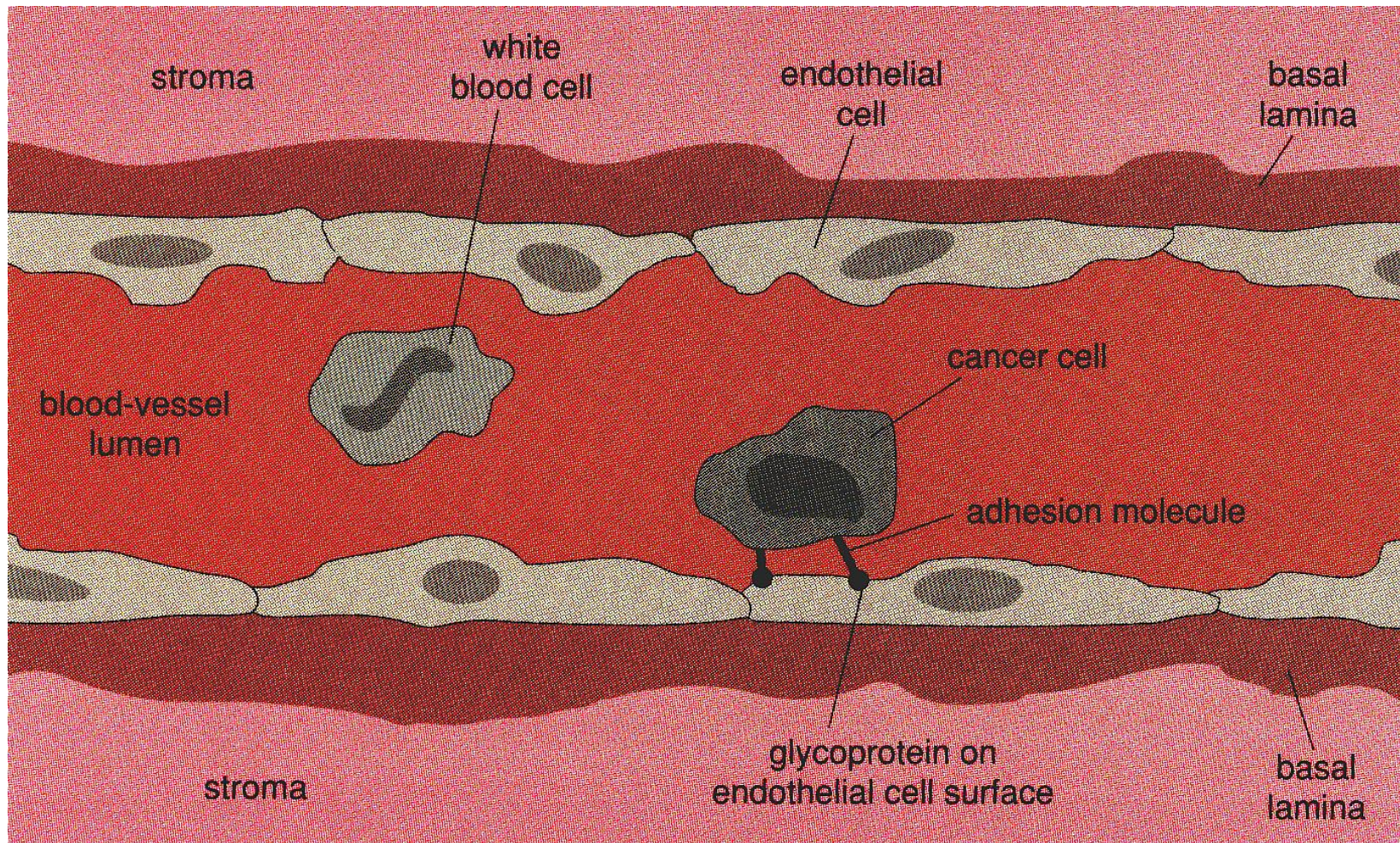
Van Noorden C.J.F. et al., American Scientist 86,1998:130-141

Invaze do krevních a lymfatických cév

- narušení endotelové bariéry

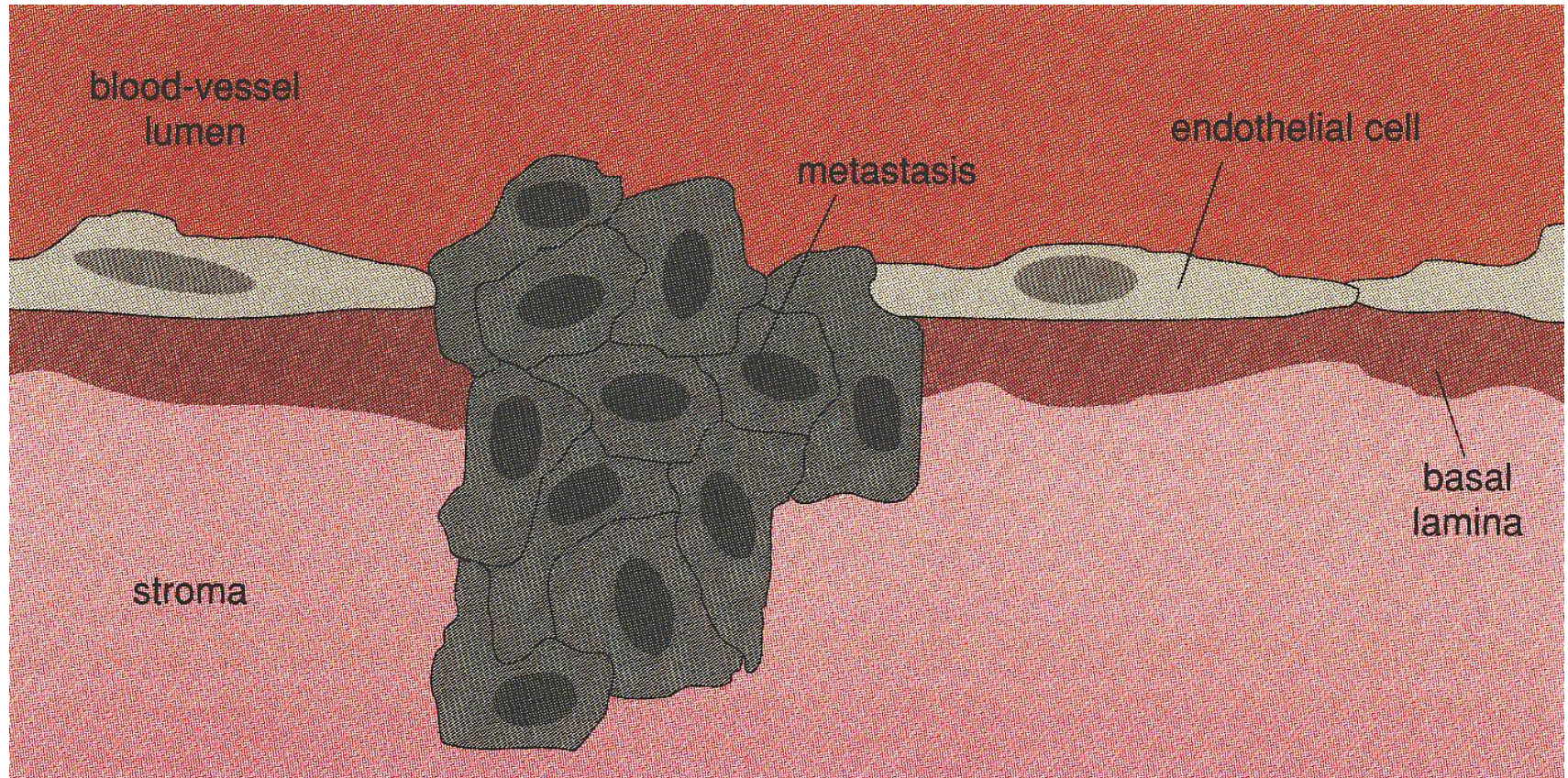


Adheze nádorových buněk na cévní stěny ve vzdálených tkáních

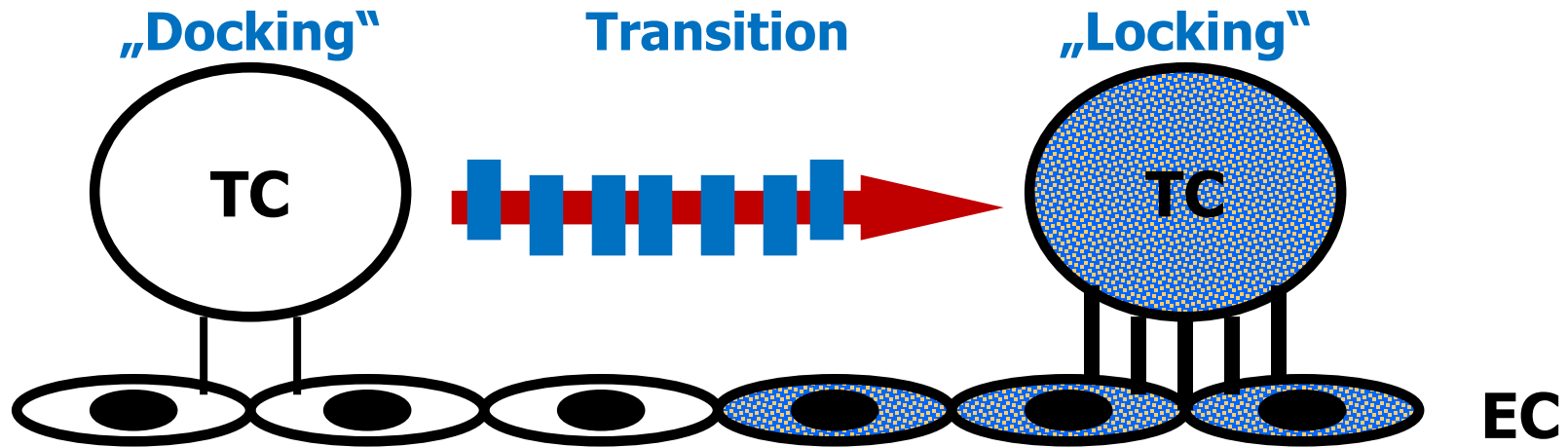


Van Noorden C.J.F. et al., *American Scientist* 86,1998:130-141

Metastatic cancer cell penetrates through the endothelial barrier into the tissue, attaches, begins to divide and forms a secondary tumor



Hypotéza „docking a locking“. Interakce nádorových buněk s cévními endoteliálními buňkami může být rozdělena do počáteční fáze **slabé adheze („docking“)** a pozdější fáze **pevné adheze („locking“)**. Je znázorněna účast specifických skupin adhezivních molekul v těchto dvou fázích. Přechod je zprostředkován širokou škálou bioaktivních mediátorů. TC = Tumor cell; EC = endothelial cells; ECM = extracellular matrix.

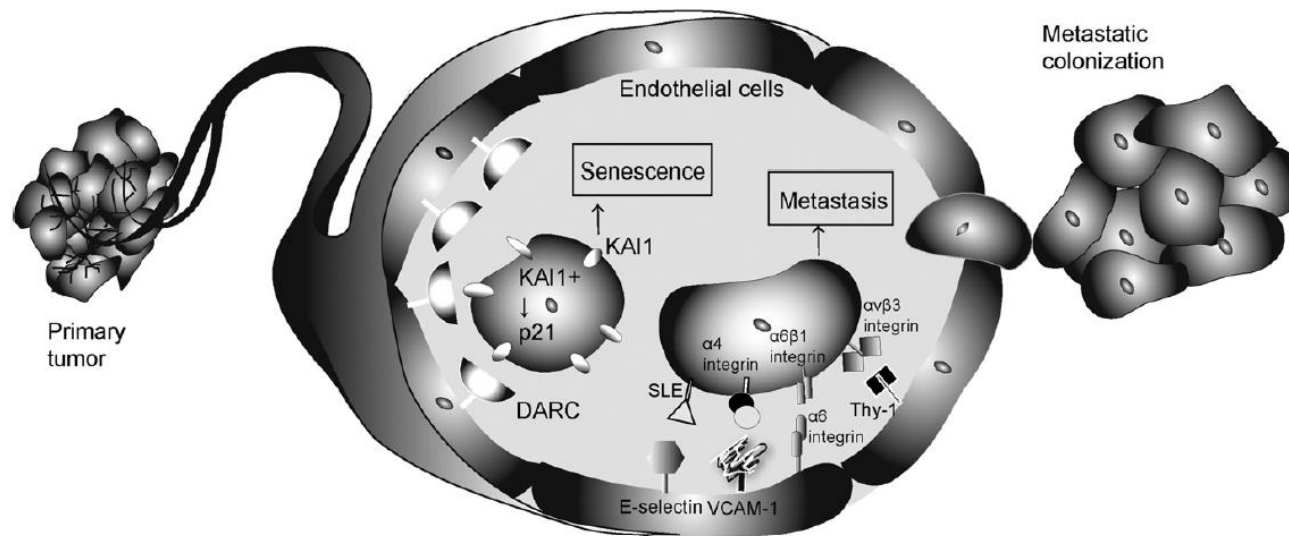


- slabé a přechodné vazby
- zprostředkované zejména rozpoznáním uhlovodík - uhlovodík

- aktivace nádorových a hostitelských buněk (platelety, leukocyty, endoteliální buňky atd.)
- tvorba zánětlivých cytokinů, chemokinů a bioaktivních lipidů
- Exprese inducibilních adhezivních molekul (selektiny, ICAM, VCAM)

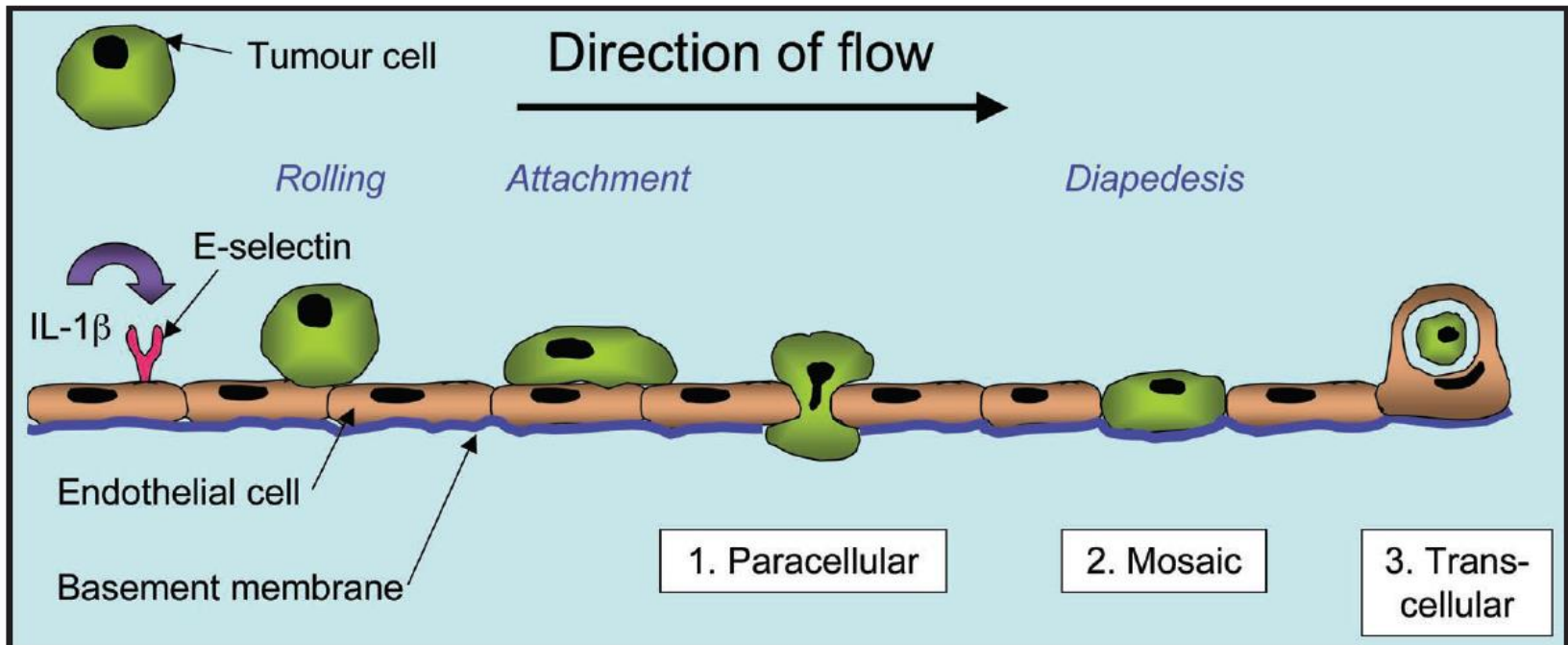
- pevnější adheze nádorových buněk k endoteliálním buňkám
- zprostředkované v základu integrinovými receptory
- integriny jsou hlavními přenašeči signálu pro následné molekulární děje (uvolnění od endoteliálních b., interakce s ECM, proteolýza, pohyb buněk a invaze)

Interakce nádorové buňky s endotelem



Úloha nádorově supresorového proteinu KAI1/CD82 (tetraspanin) – blokuje migraci a tvorbu metastáz. Interaguje s řadou molekul (EGFR, integriny) a DARC (Duffy antigen receptor for chemokines) na endotel. buňkách- indukce senescence. Nádorové buňky bez KAI1 úspěšně kolonizují okolní tkáň.

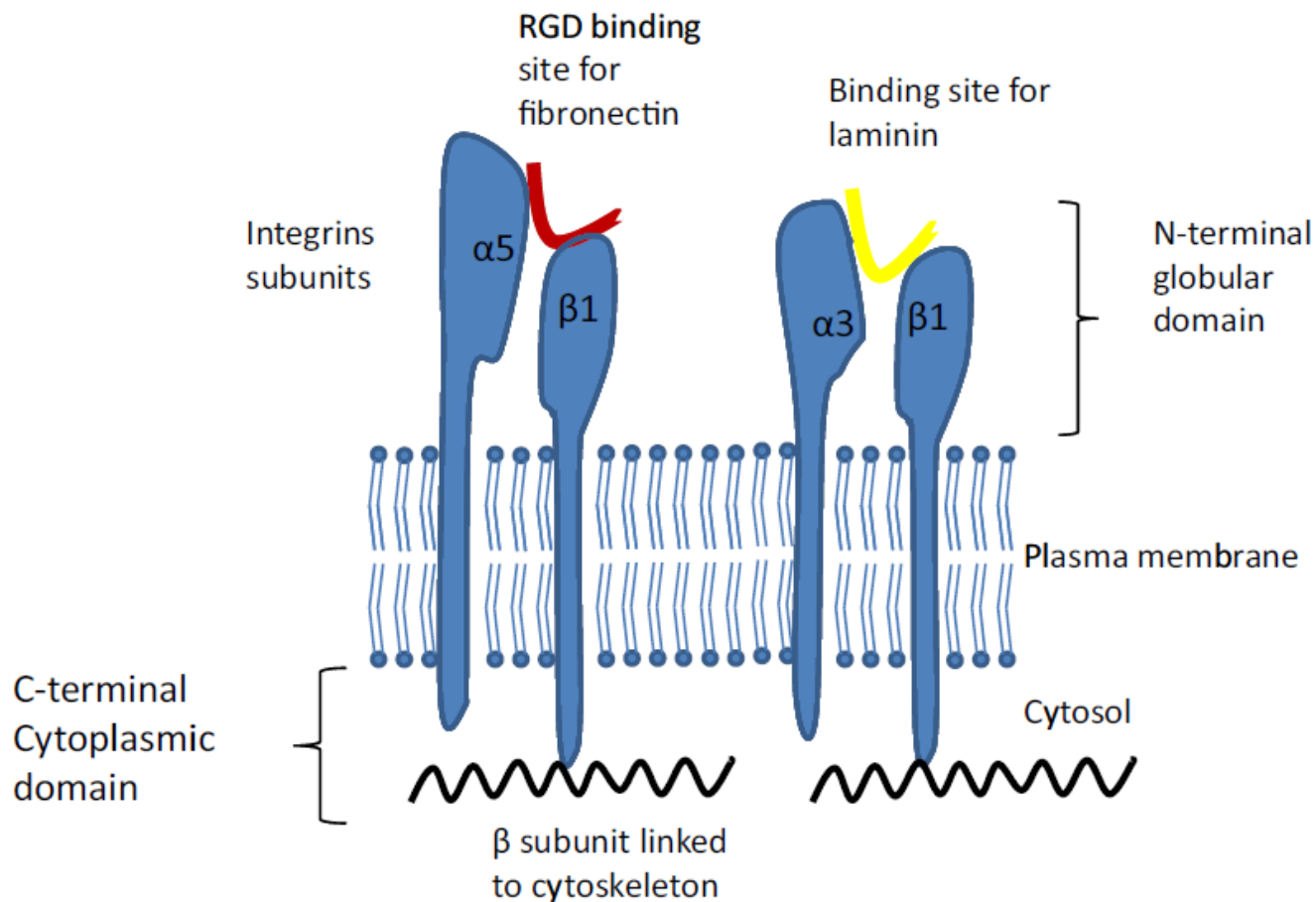
Prostup (diapedeze) nádorových buněk kolonu endotelem



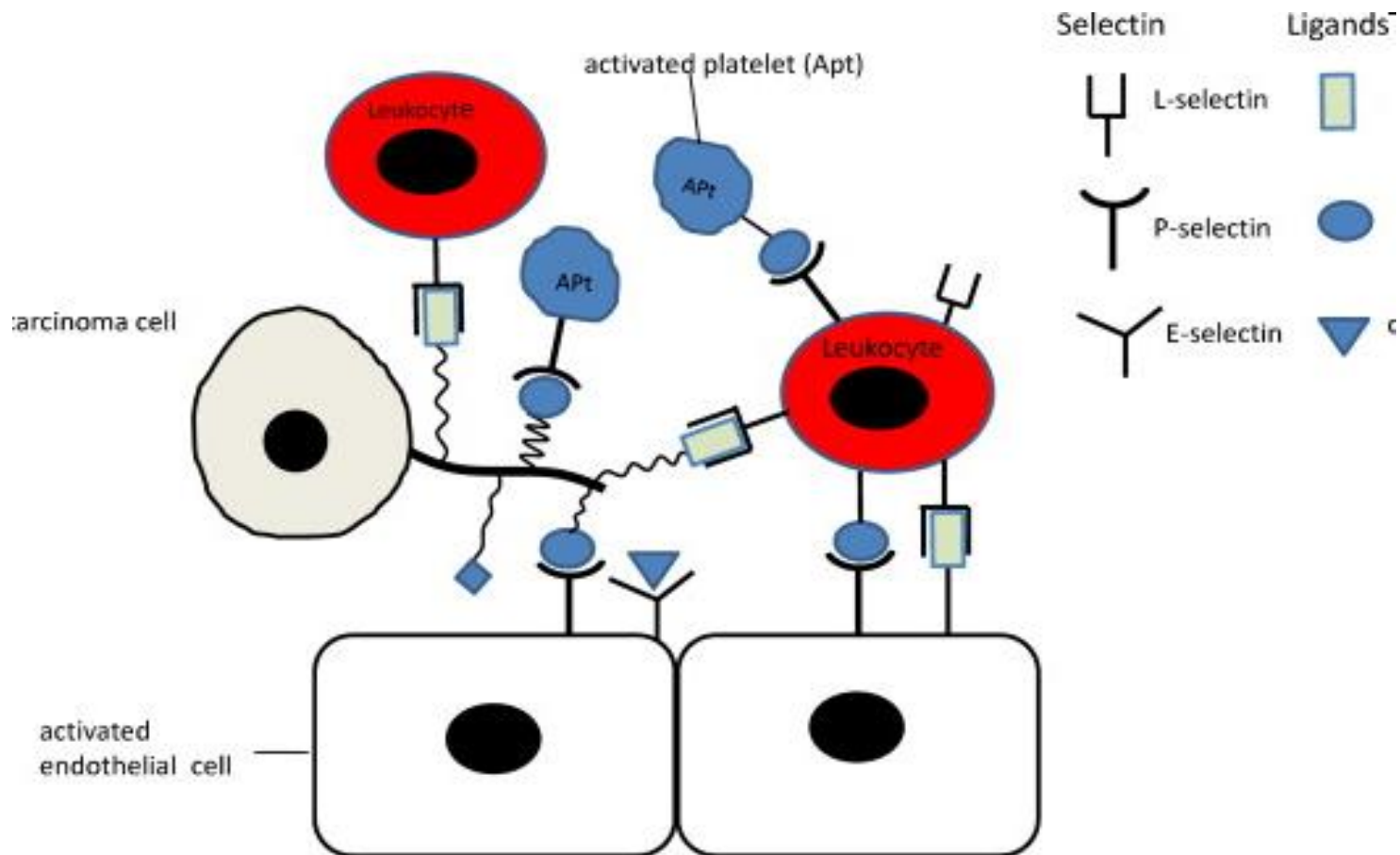
Volné putující nádorové buňky nejdříve tvoří volné vazby s endotelem, pak rolují a tvoří pevné vazby zprostředkované specifickými adhezivními molekulami jako je E-selektin. Po vytvoření pevné vazby zahajují nádorové buňky diapedezu: 1) migrují mezi spoji endoteliálních buněk (paracelulární diapedeza), 2) tvoří mozaikovitou chimerickou vrstvu obou typů buněk a 3) pronikají skrz endoteliální buňky ve velké vakuole (transcelulární diapedeza).

Interakce mezi buňkami a ECM

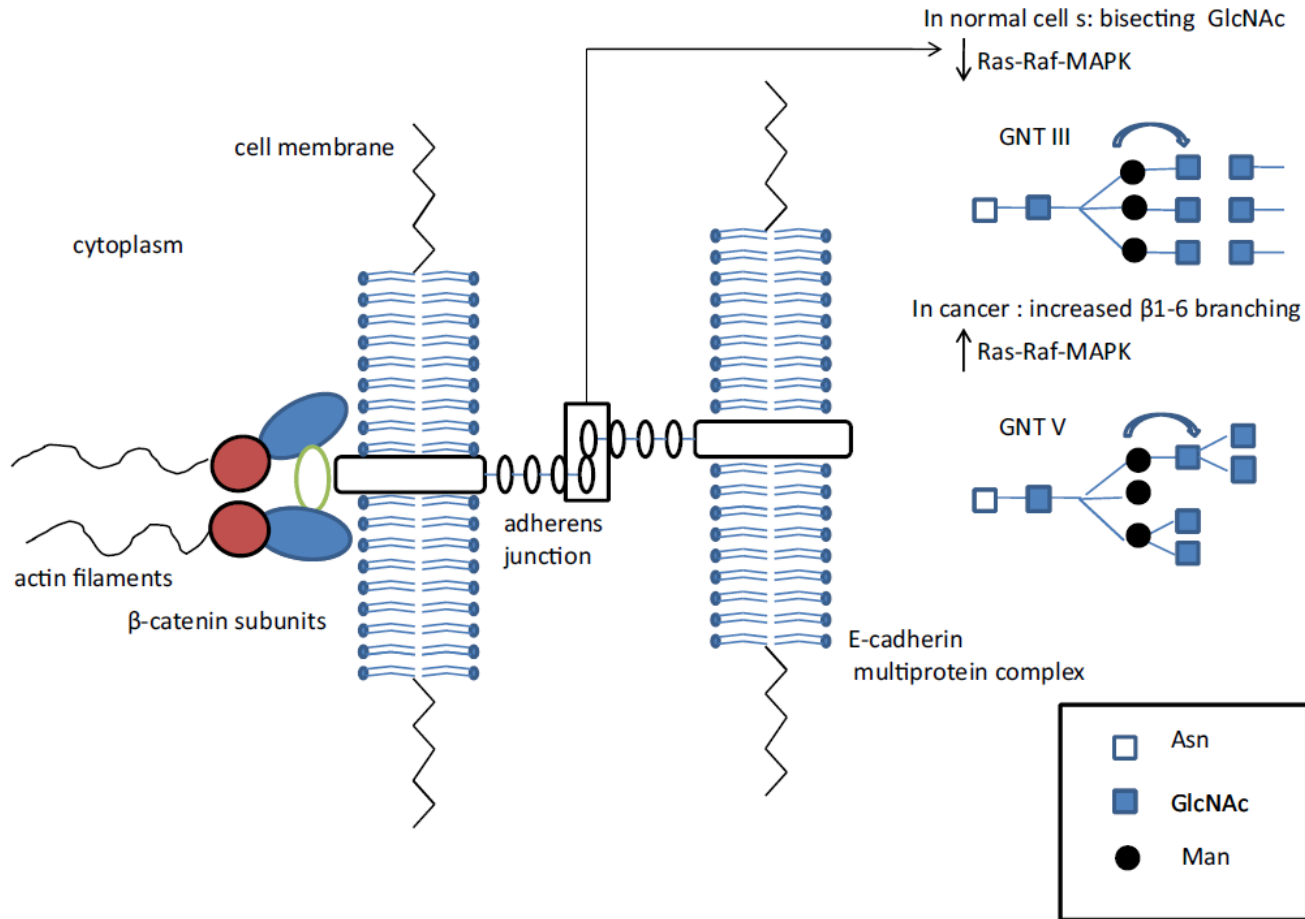
Vazebná místa integrinů pro složky ECM (fibronektin, laminin)



P-, E- and L-selektiny u aktivovaných endoteliálních buněk a leukocytů se vážou ke specifickým nádorovým ligandům



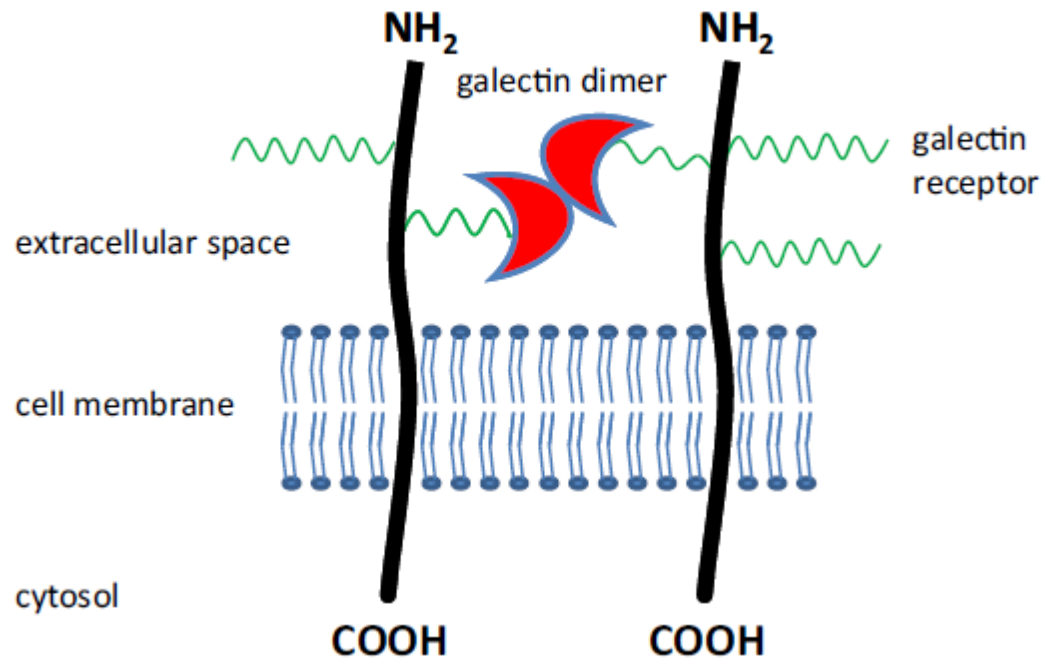
Adherentní spoje mezi sousedními epiteliálními buňkami (E-kadherin), organizace a stabilita ovlivněna glykany (zvýšená biosyntéza koreluje s migrací a invazí)



Galektiny se účastní adhezí buňka-ECM, migrace, růstu, apoptózy a diferenciaci.

Tvoří propojení důležitá při aktivaci receptorů a indukci vnitrob. signálů

Expres a sekrece dobře regulovány během vývoje a změněny v patologických podmínkách



Poruchy proteolytické – antiproteolytické rovnováhy

Kooperativní aktivita systému proteolytických enzymů:

- **Lyzosomální proteázy** (aspartyl a cystein proteázy – katepsiny)
- **Serinové proteázy** – plasminogen, plasminogenové aktivátory (PA)
- **Metalloproteínázy**

Plasminogenové aktivátory - přeměňují plasminogen na plasmin.

Plasmin degraduje různé složky ECM včetně fibrinu, fibronektinu, lamininu atd. Plasmin také aktivuje několik typů metalloproteínáz.

Rodina metalloproteínáz (MMP) - asi 16 členů, většina jsou rozpustné sekretované enzymy nebo transmembránové proteiny schopné digesce ECM nebo komponent bazální membrány. Různé typy podle struktury a substrátové specifity (kolagenázy, gelatinázy, stromelysiny). **PA a MMPs jsou sekretovány spolu se svými inhibitory** (za normálních podmínek nízká hladina), což zajišťuje přísnou kontrolu lokální proteolytické aktivity a je tak zachována normální struktura tkání.

Kontrola aktivity PA a MMP

Aktivita PA i MMP je kontrolována na několika úrovních:

- exprese se zvyšuje působením angiogenních růstových faktorů a cytokinů
- pro-MMP a pro-PA mohou být proteolyticky aktivovány
- MMP, plasmin a PA jsou regulovány tkáňovými inhibitory MMP (TIMP).

Během nádorového růstu a tvorby metastáz je kontrola proteolytické aktivity narušena.

U mnoha typů nádorů (kolorekta, prsu, žaludku, moč. měchýře, prostaty) byla detekována vysoká aktivita MMPs.

Byla také nalezena dobrá korelace mezi množstvím MMPs a agresivitou a invazivitou nádoru.

Po proteolytické degradaci zahajují "vedoucí" endoteliální buňky migraci přes degradovanou matrix.

Jsou následovány prolifерujícími endoteliálními buňkami, které jsou stimulovány řadou faktorů, z nichž některé jsou uvolňovány z degradované ECM.

Proteázy degradující ECM a jejich inhibitory

Table 1 Proteases participating in degradation of ECM components

Protease family	Protease	Protease function	Protease inhibitors
Aspartyl protease	Cathepsin D	Degradation of ECM components Conversion of cysteine procathepsins into cathepsins	
Cysteine proteases	Cathepsins B, L, H, K	Degradation of ECM components Conversion of pro-MMPs into MMPs	Cystatins, stefins, kininogen
Serine proteases	Plasmin	Degradation of ECM components Activation of uPA Conversion of inactive elastase into elastase	α_2 -antiplasmin, α_2 -macroglobulin
Neutrophil serine proteases	Urokinase-type plasminogen activator (uPA)	Conversion of plasminogen into plasmin	PAI-1, 2, 3
	Tissue-type plasminogen activator (tPA)	Conversion of plasminogen into plasmin	
	Elastase	Degradation of ECM components	α_2 -antiplasmin α_2 -macroglobulin secretory leukoprotease inhibitor
Matrix metalloproteinases	Cathepsin G		
		Degradation of collagens and other ECM proteins Activation another pro-MMPs into MMPs	TIMP-1, 2, 3, 4 α_2 -macroglobulin
		Degradation of collagens: I, II, III, VII, X and gelatins	
	Collagenases [MMP-1, 8, 13]	Degradation of proteoglycans, laminin, gelatins, collagens III, IV, V, IX, fibronectin, entactin, SPARC, collagenases-1	
	Stromelysins [MMP-3, 10]	Degradation of gelatins, collagens: I, IV, V, VII, X, fibronectin, elastin, procollagenase-3	
	Gelatinases [MMP-2, 9]	Degradation of collagen I, II, III, gelatins, aggrecan, fibronectin, laminin, vitronectin, MMP-2,13, tenascin, nidogen	
Membrane-type [MMP-14, 15, 16, 17, 24, 25]	Degradation of proteoglycans, laminin, fibronectin, gelatins, collagens IV, elastin, entactin, tenascin, α_1 -antitrypsin, amelogenin		
	Others [MMP-7, 11, 12, 19, 20, 23]		

Význam interakce hyaluronan a CD44

CD44 – pleomorfní doména vážící hyaluronan a další molekuly

Hyaluronan – důležitý pro vazbu nádorové buňky s ECM

přenos signálu reorganizující cytoskeleton a aktivující spec. molekuly

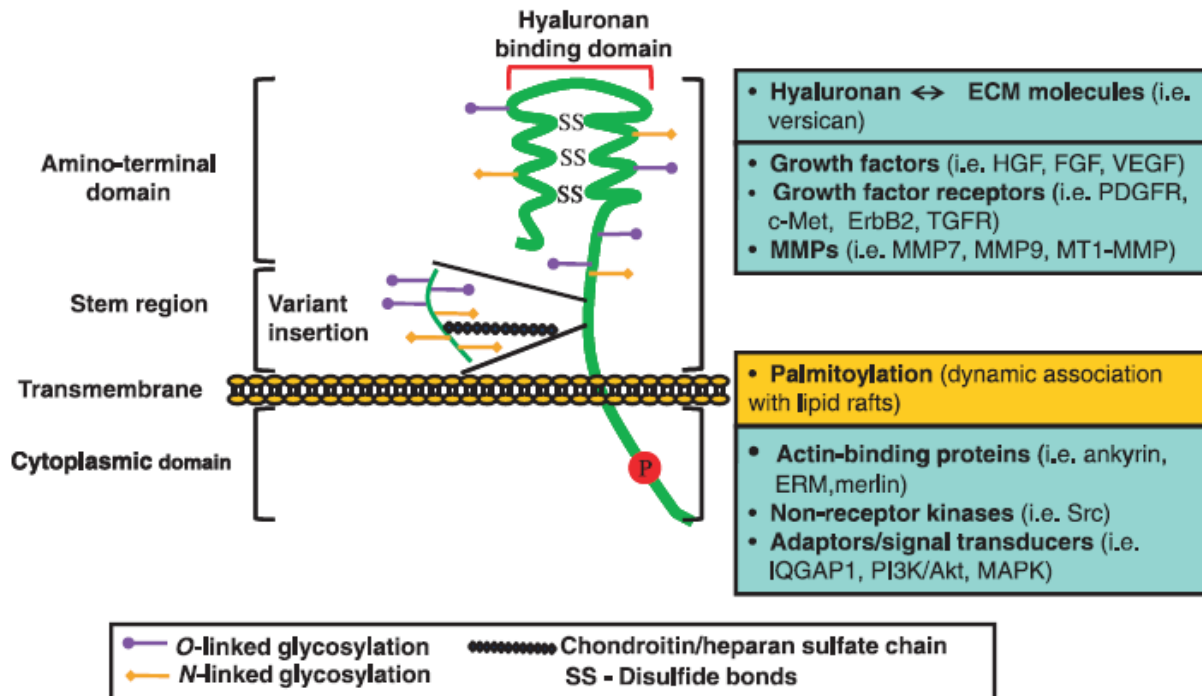


Fig. 1. Structure, binding domains and interactions of CD44. The ectodomain of CD44 contains hyaluronan-binding motifs and is decorated with chondroitin/heparan sulfate that both affect its hyaluronan-binding capacity and enable its interactions with growth factors/growth factor receptors and matrix metalloproteinases (MMPs). Transmembrane and cytoplasmic domains undergo multiple post-translational modifications, including palmitoylation and phosphorylation on cysteine and serine residues, respectively, promoting the binding of proteins with crucial functions in cytoskeletal organization and signaling. ErbB2, epidermal growth factor receptor-2; ERM, ezrin-radixin-moesin; FGF, fibroblast growth factor; HGF, hepatocyte growth factor; IQGAP1, IQ motif containing GTPase activating protein 1; MAPK, mitogen-activated protein kinase; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; PI3K, phosphoinositide 3-kinase; TGFR, transforming growth factor receptor; VEGF, vascular endothelial growth factor.

Model interakce mezi nádorovými buňkami a stromatem

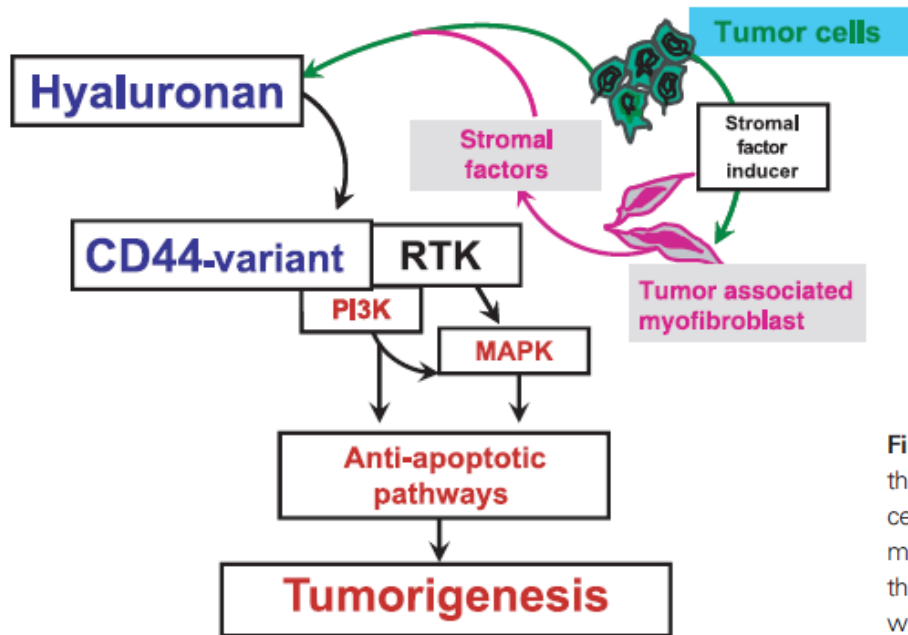
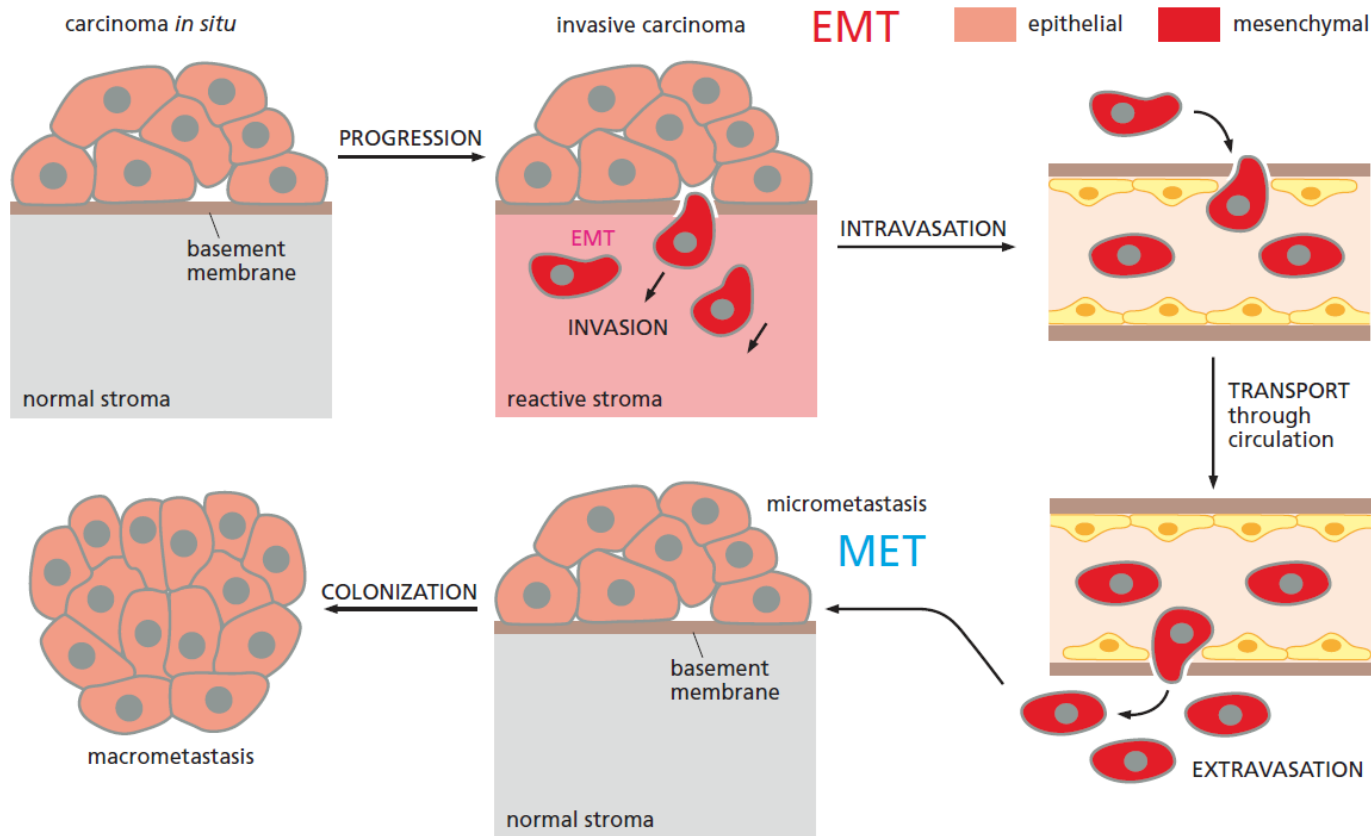


Fig. 2. Proposed model for the cross-talk between tumor cells (epithelial cells) and tumor-associated stromal myofibroblasts. Cancer cells and stroma-derived fibroblasts influence each other's development. The extracellular domain of CD44 variants, which contains the sequence encoded for variants of CD44 and their interaction with HA, is required for the stromal factor-dependent activation of receptor tyrosine kinases (RTK, such as hepatocyte growth factor/Met) and its downstream anti-apoptotic signaling involving phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT and mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways. Tumor-associated stromal myofibroblast-derived hyaluronan, synthesized in response to stromal factors (such as hepatocyte growth factor) and cancer cell-derived CD44 variant, and RTK are involved in tumorigenesis.

Epiteliálně mesenchymální přechod (EMT)



Metody výzkumu

Metodickým základem současného výzkumu je úspěšné klonování předpokládaných metastatických genů a manipulace s jejich expresí nebo funkcí genových produktů.

3 nejobecněji používané testy metastatického procesu:

1) **test na spontánní metastázy** - nádorové buňky jsou subkutánně injikovány do syngenních nebo imunodeficientních zvířat. Test napodobuje přirozenou situaci.

2) **test na experimentální metastázy** - nádorové buňky jsou injikovány intravenózně. Test odhaduje schopnost buněk opustit krevní řečiště a kolonizovat specifické tkáně.

3) **test invazivity** - nádorové buňky jsou umístěny na povrch matrix (tvořené např. z kuřecí srdeční nebo chorioalantoidní membrány či umělé membrány) a sleduje se migrace tímto materiálem.

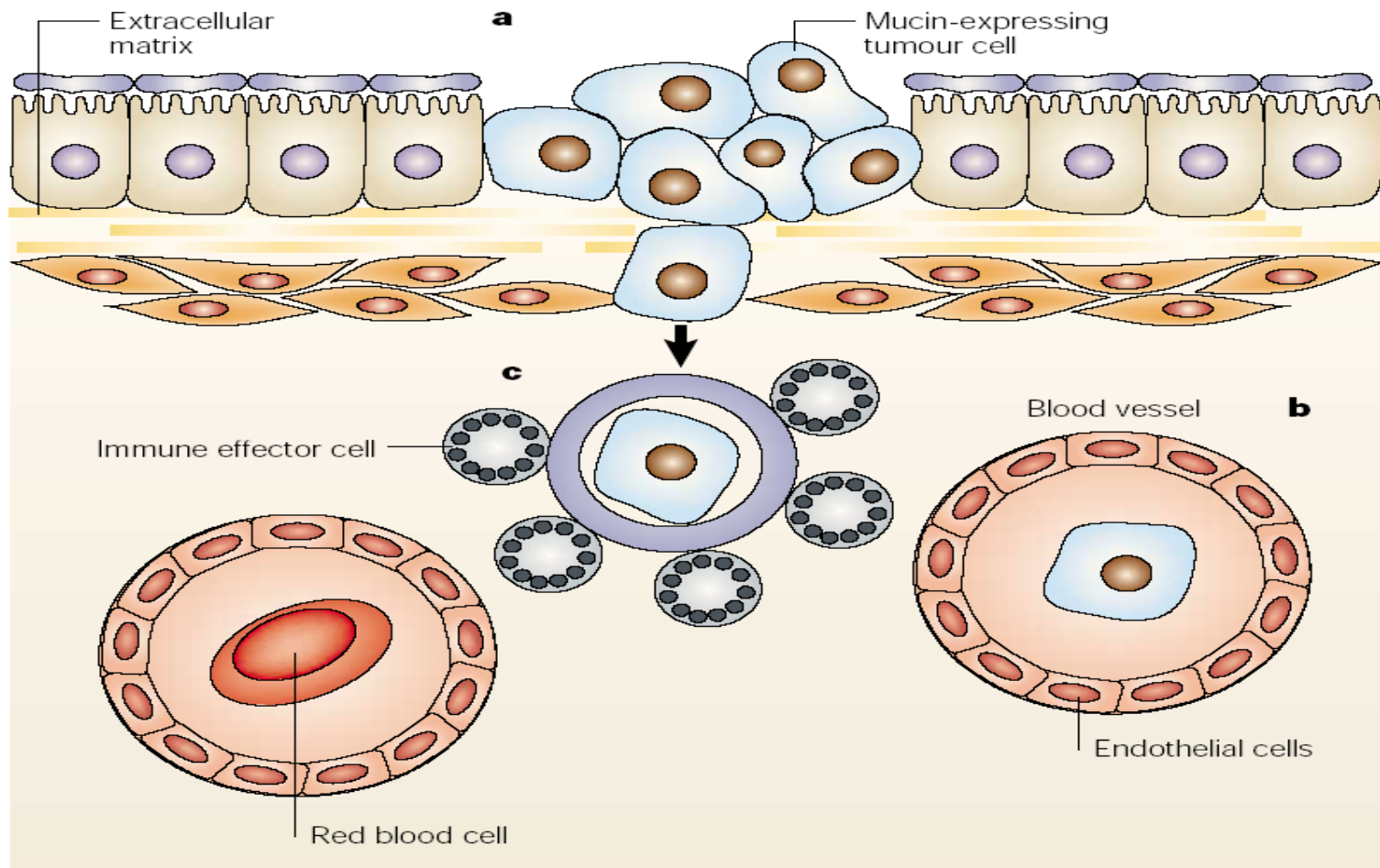
Poznatky o povrchových a intracelulárních regulačních molekulách účastnících se metastatického procesu jsou vodítkem pro **nové terapeutické přístupy** - využití **specifických monoklonálních protilátek** nebo „antisense“ techniky.

Úloha mucinů v karcinogenezi

Muciny - velké glykosylované proteiny syntetizované buňkami gastrointestinálního, dýchacího a močopohlavního ústrojí. Chrání epitel proti mechanickému, chemickému, enzymatickému a mikrobiálnímu poškození.

Kódovány řadou genů, tkáňově specifické
Hlavní mucin sekretovaný gobletovými buňkami ve střevě – MUC2.

Poruchy povrchových mucinů jsou obecnou charakteristikou maligní transformace. Jsou odpovědné za abnormální chování buněk: změny adheze nebo metastázování a uniknutí z imunologického dozoru.



Nádory využívají

- a) antiadhezivních vlastností mucinů k uvolnění z nádorové masy a okolního stromatu a k invazi,
- b) adhezivních vlastností mucinů k připojení k endotelu a k invazi,
- c) muciny k úniku z imunologického dohledu.

Antiadhezivní vlastnosti mucinů

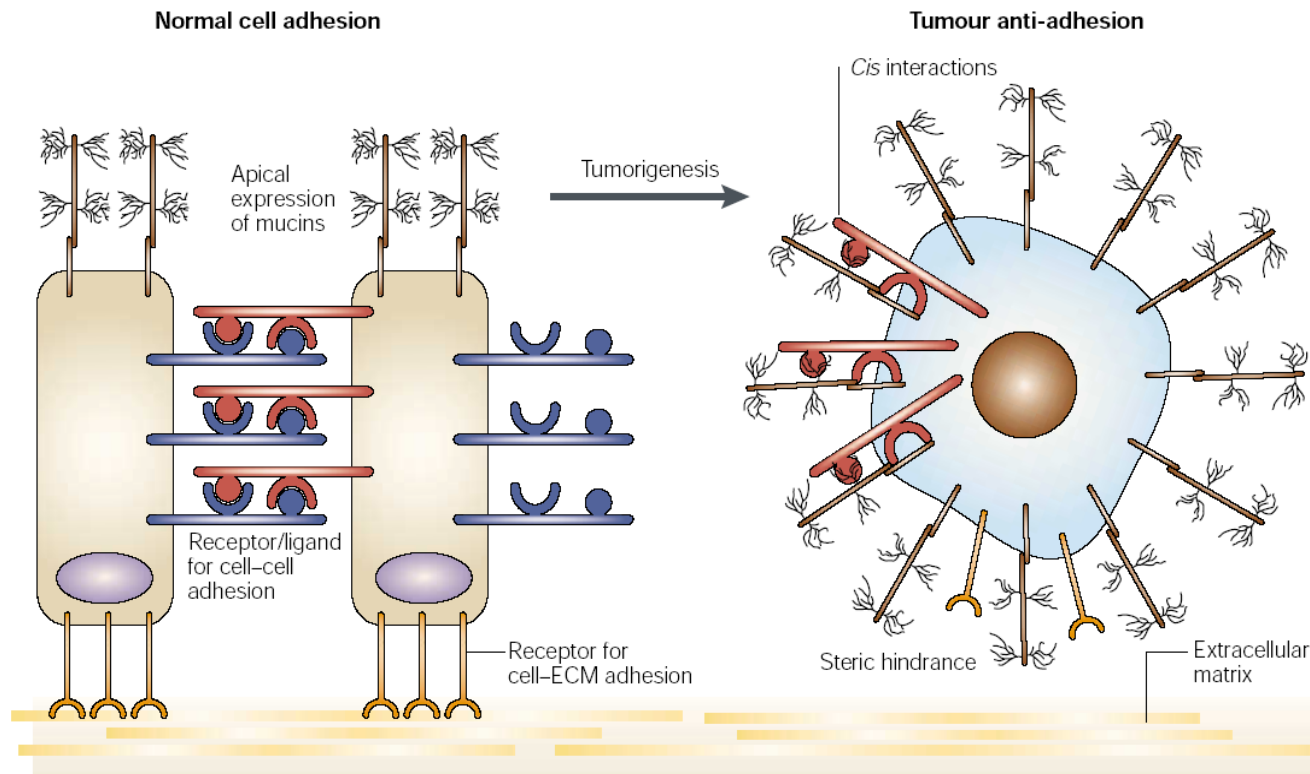


Figure 5 | **Anti-adhesion by membrane-associated mucins in cancer.** Normal epithelial cells express membrane-associated mucins on the apical surface, thereby allowing cell-cell and cell-substratum adhesion. Tumour cells aberrantly express membrane-associated mucins that are not apically restricted, which block cell-cell and cell-substratum adhesion in two ways. *Cis* interactions between membrane-associated mucins and receptors on the same cell could prevent the receptors from interacting with other cells to mediate adhesion. Through steric hindrance, membrane-associated mucins can non-specifically block adhesion via their large, glycosylated tandem repeat.

Normální epiteliální buňky – s membránou spojené muciny na apikálním konci – adheze buňka-buňka a buňka-substrát.

Nádorové buňky – exprese mucinů po celém povrchu blokuje receptory a adheze s ostatními buňkami.

The slide features a white background with decorative elements consisting of several overlapping circles in shades of orange and yellow. One large orange circle with a yellow center is in the top-left corner. Another large orange circle is in the top-right corner, partially overlapping a smaller yellow circle. The bottom-left corner contains a cluster of circles in orange, yellow, and light blue. A single orange circle is in the bottom-right corner.

Angiogeneze (neovaskularizace)

Angiogeneze

je proces tvorby nových krevních kapilár (neovaskulizace).

U dospělého jedince je proliferace endoteliálních buněk velmi nízká.

Fyziologickou vyjímkou, kde je ale angiogeneze přísně regulována, tvoří ženský reprodukční systém a hojení ran.

Neregulovaná angiogeneze je spojena s řadou patologických stavů jako je revmatická artritida, psoriasis, diabetická retinopatie a **nádorová onemocnění**

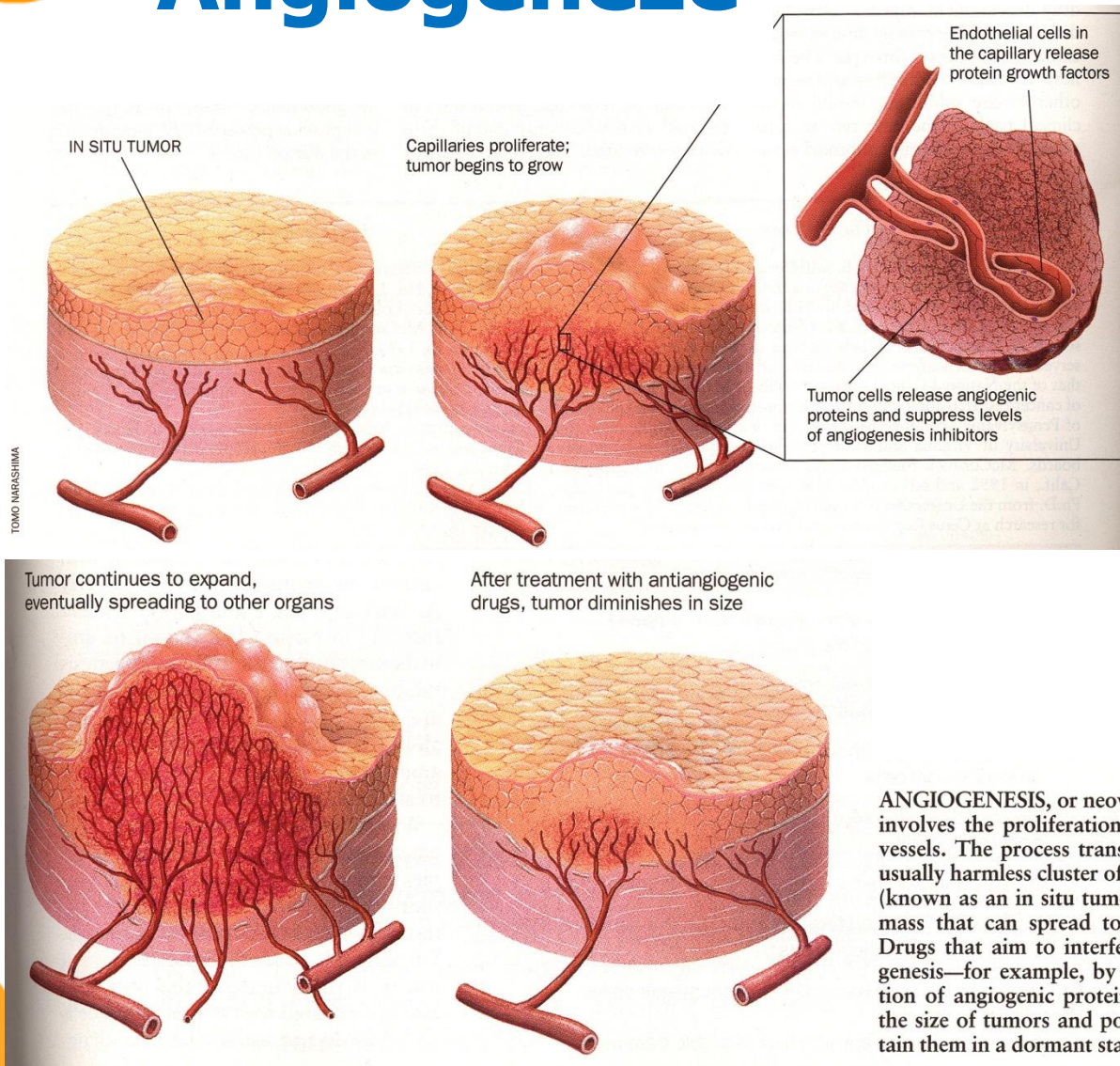
Nádorový růst a tvorba metastáz jsou závislé právě na angiogenezi.

Úloha:

- zásobování živinami a kyslíkem.
- cesta, kudy se nádorové buňky dostávají do oběhu a mohou tak metastázovat v různých vzdálených orgánech.

Angiogeneze je komplexní proces zahrnující širokou souhru mezi buňkami, rozpustnými faktory a složkami extracelulární (mimobuněčné) matrix (ECM).

Angiogeneze



Proliferace nových krevních kapilár, které prokrvují nádor (kyslík, výživa) a umožňují rozšiřování nádorových buněk krevním řečištěm do dalších míst.

Endoteliální buňky produkují růstové faktory a nádorové buňky produkují **angiogenní proteiny** a suprimují **angiogenní inhibitory**

ANGIOGENESIS, or neovascularization, involves the proliferation of new blood vessels. The process transforms a small, usually harmless cluster of abnormal cells (known as an in situ tumor) into a large mass that can spread to other organs. Drugs that aim to interfere with angiogenesis—for example, by halting the action of angiogenic proteins—can reduce the size of tumors and potentially maintain them in a dormant state.

Hlavní endogenní induktory angiogeneze

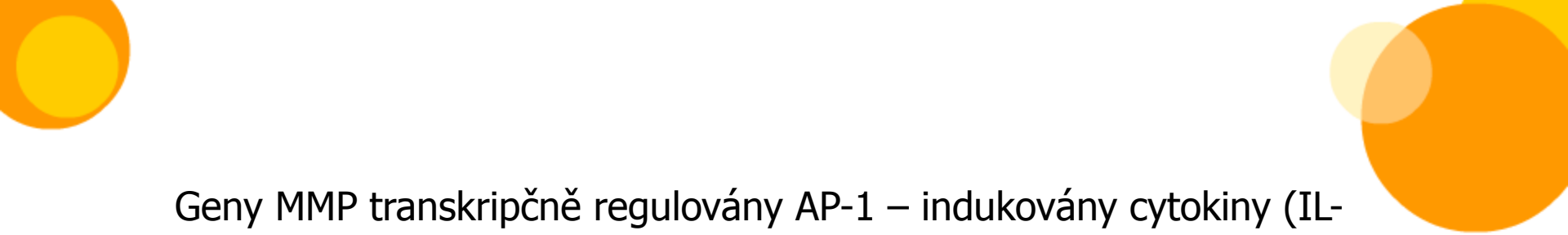
Peptidové růstové faktory a prozánětlivé mediátory

- vaskulární endoteliální růstový faktor (rodina VEGF) a angiopoetiny působí specificky na endoteliální buňky. Působí přes tyrosin kinázové receptory a fungují protiaopticky

- cytokiny a chemokiny přímo působící** - aktivují řadu dalších buněčných typů. Prototypem je bFGF (basic fibroblast growth factor) a PDGF (platelet growth factor) a interleukiny (IL-8, IL-3).

- nepřímo působící cytokiny** (tumor necrosis factor – TNF α a tumor growth factor - TGF β), které působí uvolňování dalších faktorů z makrofágů, endoteliálních nebo nádorových buněk. Např. TNF α stimuluje uvolňování VEGF, IL-8 a FGF-2 z endoteliálních buněk.

- Enzymy** (COX-2, angiogenin), **hormony** (estrogeny), **oligosacharidy** (hyaluronan), **hemopoetické faktory** (EPO, G-CSF, GM-CSF), **adhezivní molekuly** (VCAM-1, E-selektin), **oxid dusíku** atd.

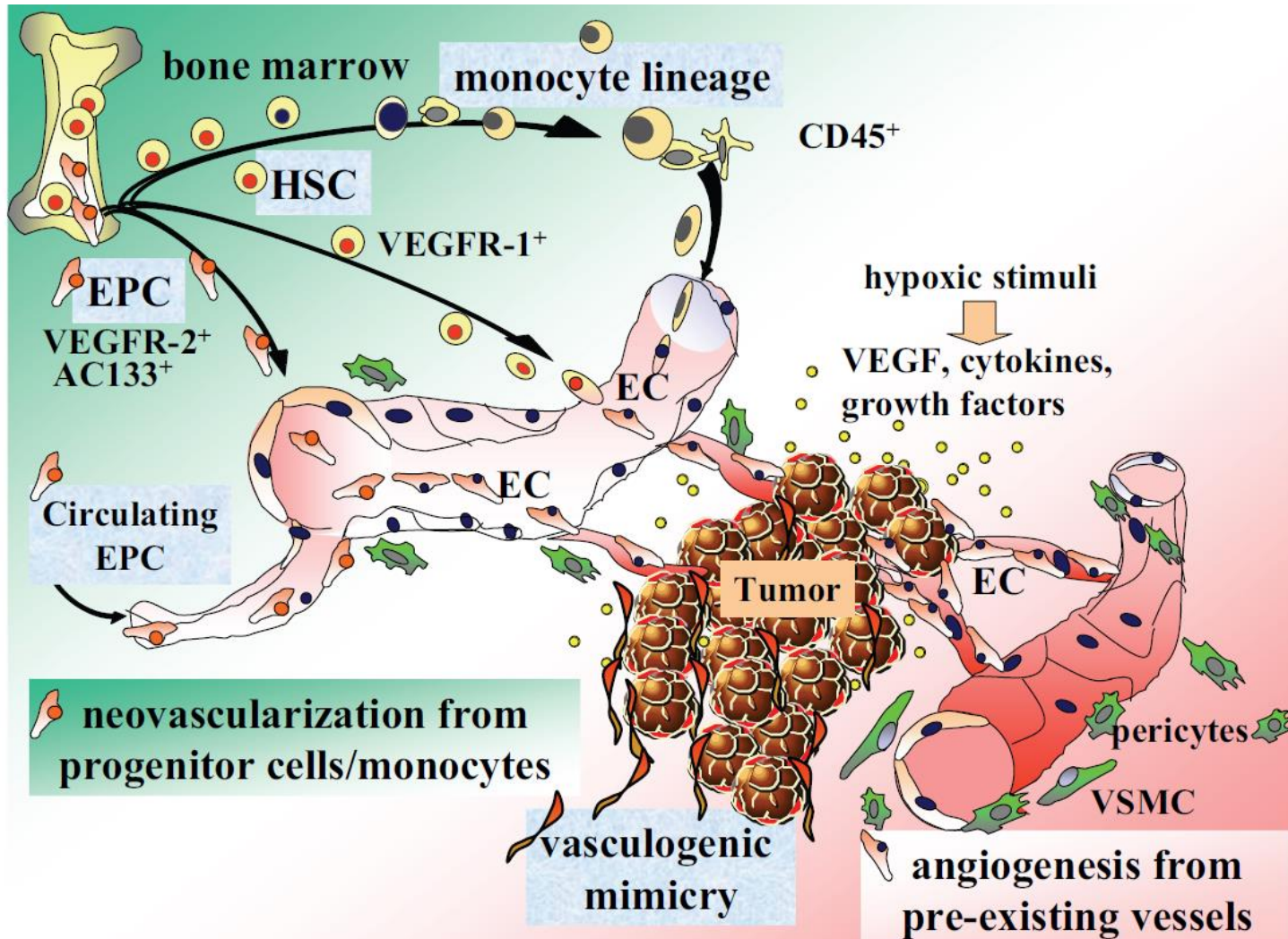


Geny MMP transkripčně regulovány AP-1 – indukovány cytokiny (IL-4, IL-10, TGF, bFGF – aktivace MAPK (mitogen-activated protein kinase)).

Endogenní inhibitory angiogeneze: trombospodin-1, interferon α/β , prolactin, angiostatin, endostatin, vasostatin atd.

Zahájení nádorové angiogeneze je výsledkem posunu v rovnováze stimulátorů a inhibitorů.

Patologická neovaskularizace během nádorové progresse



Nádorová tkáň produkuje prozánětlivé faktory a vasoaktivní látky podporující neovaskularizaci (VEGF, cytokiny). Ta je podporována i progenitorovými buňkami z kostní dřeně (EPC) a z oběhu, hemopoetickými kmenovými buňkami (HPC) a dalšími diferencovanými buňkami monocytární řady (makrofágy, dendritické buňky).

Úloha buněčné adheze

Proces buněčné invaze, migrace a proliferace je zprostředkován také adhezivními molekulami.

Interakce buňka-buňka a buňka-ECM

Buněčné adhezivní molekuly (cell adhesion molecules – CAM)

děleny do 4 základních skupin v závislosti na jejich biochemických a strukturálních vlastnostech:

- selektiny
- imunoglobulinová supergenová rodina
- kadheriny
- integriny

Členové každé z nich se uplatňují v angiogenezi.

K zahájení angiogenního procesu se musí endoteliální buňky uvolnit od sousedních buněk.

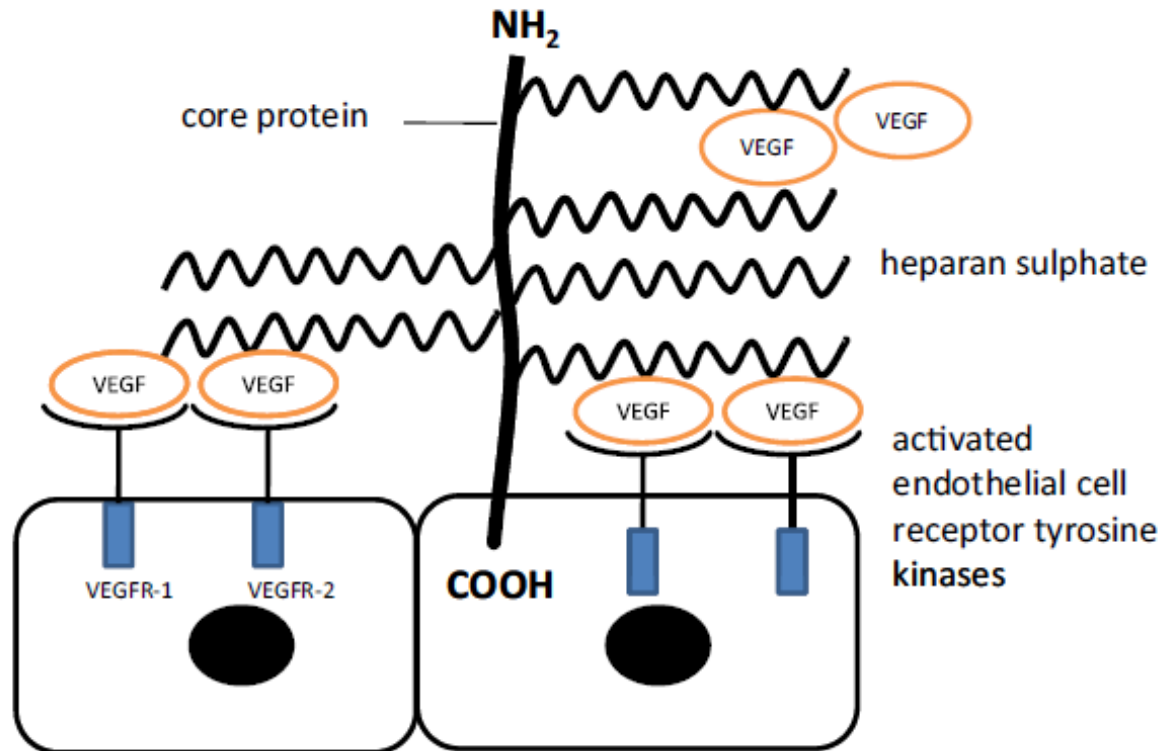
Během invaze a migrace je interakce endoteliálních buněk s ECM zprostředkována **integriny**. Také konečná fáze angiogenního procesu, včetně konstrukce kapilárních smyček a určení polarity endoteliálních buněk vyžaduje buněčné kontakty a kontakty s ECM.

Integriny (2 nekovalentně spojené jednotka alfa a beta) - heterodimerizují ve více než 20 kombinacích. Endoteliální buňky tak exprimují několik různých integrinů - napojení na široké spektrum proteinů ECM. V aktivovaném endotelu mohou suprimovat aktivitu p-53 a p21 a zvyšovat poměr Bcl2:Bax, což má antiapoptické účinky

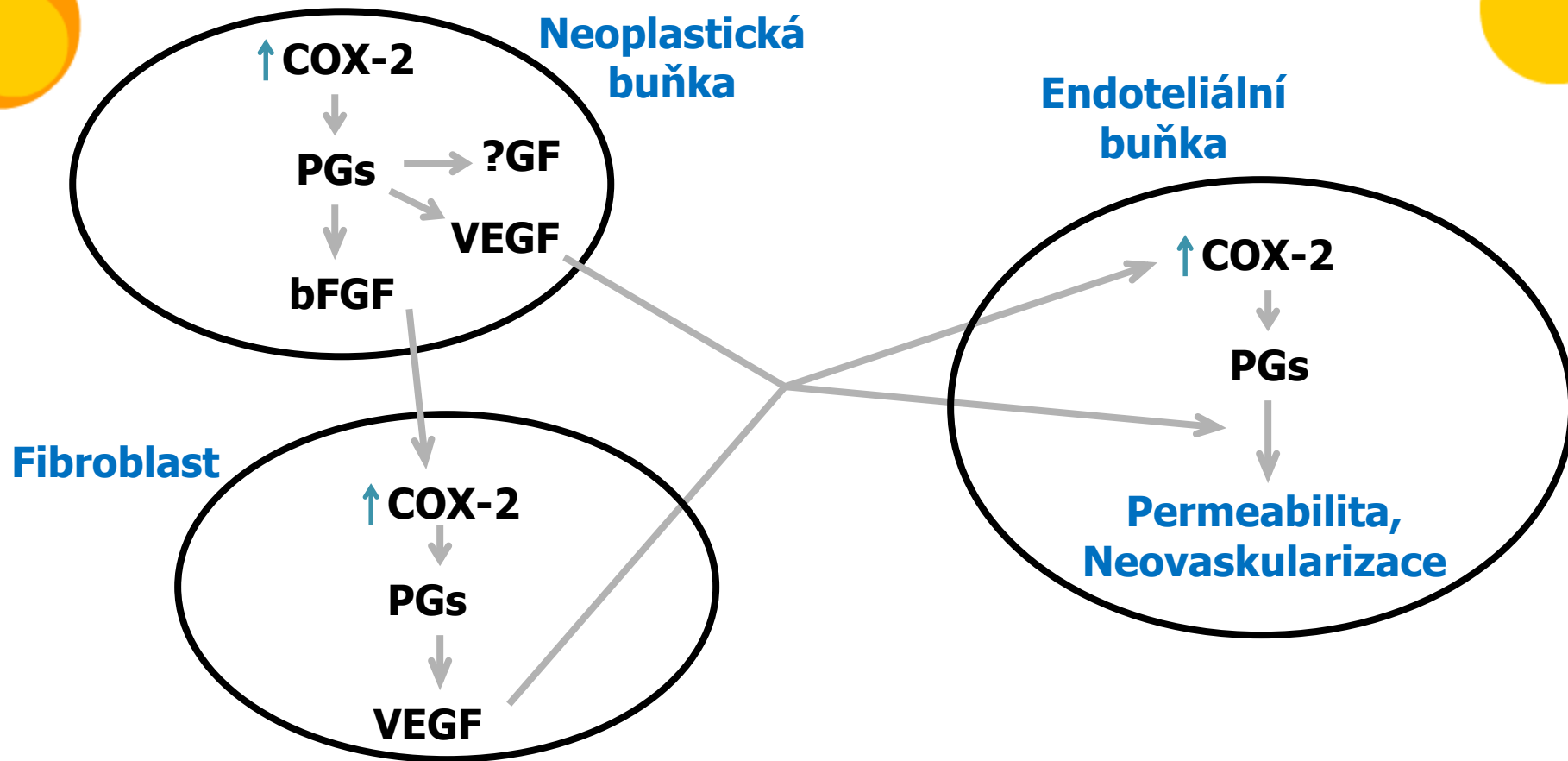
Další molekuly:

- **vaskulární endoteliální kadherin** zprostředkovává na Ca^{2+} závislé homofilní interakce mezi endotel. buňkami.
- **členové ICAM** zprostředkovávají heterofilní adheze. Jsou zvyšovány TNFalfa, IL-1 nebo INF-gamma.
- **P- nebo E-selektin** - podporují adhezi leukocytů k cytokiny aktivovanému endotelu

Interakce heparan sulfátu (HS) s VEGF na receptorech endoteliálních buněk během angiogeneze.



Proteoglykany podporují rozsev nádorů. HS proteoglykan bývá složkou ECM, váže se na VEGF a usnadňuje vazbu receptorových tyrosin kináz k růstovým faktorům. Je zvýšen během angiogeneze.



Model angiogeneze - interakce buněčných typů

V nádorových buňkách prostaglandiny (PGs) tvořené přes cyklooxygenázu-2 (COX-2) zvyšují produkci růstových faktorů jako je VEGF, které působí přímo na endoteliální buňky a bFGF, který stimuluje produkci COX-2 u fibroblastů. PGs tvořené ve fibroblastech stimuluje produkci VEGF, který působí parakrinním způsobem na endoteliální b. a opět zvyšuje aktivitu COX-2 a usnadňuje permeabilitu cév a angiogenezi. Inhibitory COX-2 blokuje produkci PGs a tak zabraňují angiogenezi indukované růstovými faktory.

Stupeň angiogeneze jako prognostický faktor

Úzký vztah mezi angiogenezí a tvorbou metastáz.

Čím intenzivnější angiogeneze, tím větší riziko metastáz a horší prognóza nádorového onemocnění.

Histologické řezy a detekce fokálních oblastí tzv. „hot spots“ pomocí monoklonálních protilátek proti cévnímu endotelu nebo adhezivním molekulám CD31 a CD34.

Kvantitativní hodnocení je **prognostickým faktorem** např. u rakoviny prsu, děložního čípku, močového měchýře a melanomu.

Zvýšená vaskularizace kostní dřeně – horší prognóza u akutní leukémie.

Inhibice angiogeneze – léčebná metoda

Antiangiogenní terapie

Výhody proti terapii mířené přímo proti nádorovým buňkám. Endoteliální buňky jsou geneticky stabilní, diploidní a homogenní cíl a zřídka zde dochází k mutacím.

Také jejich obnova je 50 krát vyšší než v normální klidové tkáni a aktivované krevní cévy vykazují specifické markery jako jsou integriny a selektiny nebo VEGF receptory. Hustota cév uvnitř nádoru má také prognostickou hodnotu.

Byla nalezena pozitivní korelace mezi nádorovou angiogenezí a rizikem vzniku metastáz, znovuobnovení nádoru a smrtí.

- **inhibitory buněčné invaze, motility a adheze** (inhibitory MMP aktivity, inhibice buněčných adhezivních molekul)
- **inhibitory aktivovaných endoteliálních buněk** (trombospodin-1 - fyziologický inhibitor angiogeneze, který je snížen během aktivace angiogeneze a jeho produkce je regulována p53, angiostatin a endostatin - zdrojem jsou samotné nádorové buňky, uměle syntetizované látky (talidomid)
- **látky, které interferují s angiogenními růstovými faktory a jejich receptory** (specifické protilátky, INF-alfa)
- **inhibitory enzymů** jako je COX-2 (NSAIDs)
- tzv. "vascular targeting" - **inhibice růstu nádoru destrukcí nádorových cév**

Endogenní inhibitory angiogeneze

Table I. Some endogenous inhibitors of angiogenesis

Name	Description
Thrombospondin-1 and internal fragments of thrombospondin-1	Thrombospondin is a 180 kDa, large, modular extracellular matrix protein (53)
Angiostatin	A 38 kDa fragment of plasminogen involving either kringle domains 1–3, or smaller kringle 5 fragments (58,163,164)
Endostatin	A 20 kDa zinc-binding fragment of type XVIII collagen (59)
Vasostatin	An N-terminal fragment (amino acids 1–80) of calreticulin (61)
Vascular endothelial growth factor inhibitor (VEGI)	A 174 amino acid protein with 20–30% homology to tumor necrosis factor superfamily (60)
Fragment of platelet factor 4 (PP4)	An N-terminal fragment of PP4 (63)
Derivative of prolactin	16 kDa fragment of the hormone (57)
Restin	NC10 domain of human collagen XV (165)
Proliferin-related protein (PRP)	A protein related to the pro-angiogenic proliferin molecule (166)
SPARC cleavage product	Fragments of secreted protein, acid and rich in cysteine (62)
Osteopontin cleavage product	Thrombin-generated fragment containing an RGD sequence (65)
Interferon α/β	Well known anti-viral proteins (56)
Meth 1 and Meth 1	Proteins containing <i>metalloprotease</i> and <i>thrombospondin</i> domains, and <i>disintegrin</i> domains in NH_2 termini (65)
Angiopoietin-2	Antagonist of angiopoietin-1 which binds to tie-2 receptors (39,44)
Anti-thrombin III fragment	A fragment missing C-terminal loop of anti-thrombin III (a member of the serpin family) (64)

Inhibitory angiogeneze v klinických zkouškách

Phase I

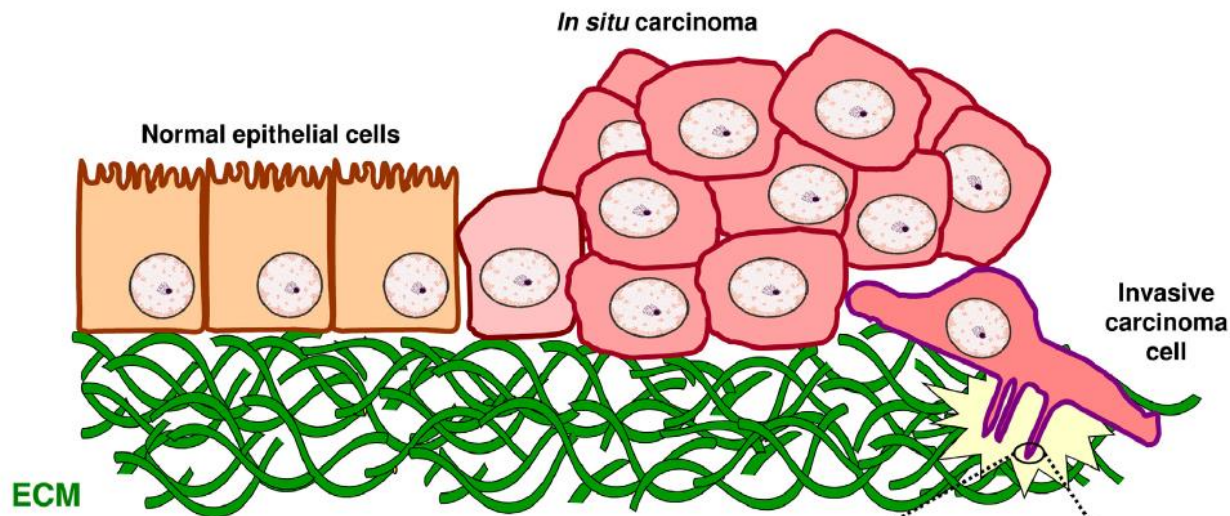
Drug	Sponsor	Mechanism
COL-3	Collagenex, NCI	Synthetic MMP inhibitor; tetracycline derivative
Squalamine	Magainin	Inhibits Na/H exchanger
Combretastatin	Oxigene	Apoptosis in proliferating endothelium
PTK787/ZK2284	Novartis	Blocks VEGF receptor signaling
Endostatin	NCI/EntreMed	Induction endothelial cell apoptosis <i>in vivo</i>
CAI	NCI	Inhibitor of calcium influx
PTK787/2K22584	Novartis	Small molecule inhibitor of VEGF receptor

Phase II

CGS-27023A	Novartis	Synthetic MMP inhibitor
TNP-470	TAP Pharm.	Fumagilin analogue; inhibits endothelial proliferation
Thalidomide	Celgene	Unknown
SUS416	Sugen	Blocks VEGF receptor signaling
Vitaxin	Ixys	Antibody to integrin on endothelial surface
Interleukin-12	Genetics Inst.	Induces IFN-gamma and IP-10
EMD121974	Merck, Germany	small molecule integrin antagonist

Phase III

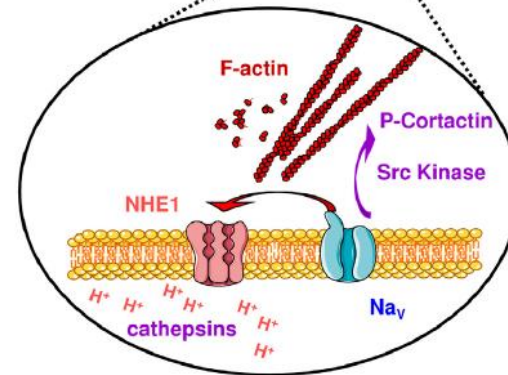
Marimastat	British Biotech	Synthetic MMP inhibitor
AG3340	Agouron	Synthetic MMP inhibitor
Neovastat/AE941	Aeterna	Natural MMP and VEGFR inhibitor
Anti-VEGF Ab	NCI	Monoclonal antibody to VEGF
Interferon-alfa	Commercially available	Inhibition of bFGF production
IM852	Cytran	unknown mechanism



Loss of apico-basal polarity
 Loss of cell-cell adhesions
 Remodelling of actin cytoskeleton
 Secretion of ECM-degrading proteases
 New distribution / over-expression of ion channels and transporters

↓
 Rear/Leading-edge polarity
 Invadopodial structures
 Increased cell migration and ECM proteolysis

Mesenchymal Invasion



α-actinin (α-actinin) and increases of the H⁺ efflux activity of NHE1, the resulting in the acidification of the extracellular microenvironment and protease activation. Invadopodia formation and ECM proteolytic activity (through the zinc-dependent bromelain-like protease cathepsin (CatL)) resulting in cells. Invasive carcinoma cells that undergo EMT also over-express some ion channels and transporters such as voltage-gated sodium channels (Nav) in invadopodia. Nav activity promotes extracellular pH (NHE1) which is expressed at the basal-lateral side of normal epithelial cells and is translocated to the leading edge of invasive carcinoma cells. Invasive carcinoma cells that undergo EMT also express cathepsin B and cathepsin L, which are secreted into the ECM and degrade the ECM. The resulting in the formation of invadopodia and increased cell migration and ECM proteolysis.

↓

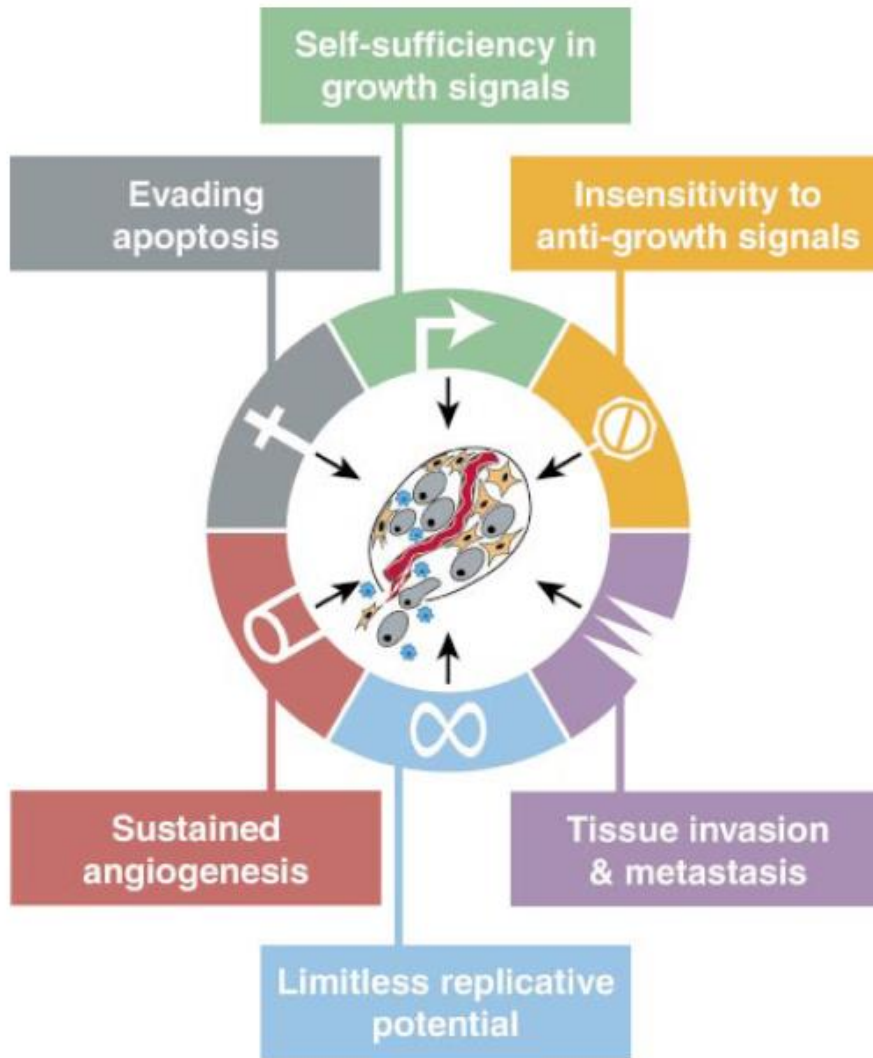
Mesenchymal Invasion

α-actinin (α-actinin) and increases of the H⁺ efflux activity of NHE1, the resulting in the acidification of the extracellular microenvironment and protease activation. Invadopodia formation and ECM proteolytic activity (through the zinc-dependent bromelain-like protease cathepsin (CatL)) resulting in cells. Invasive carcinoma cells that undergo EMT also over-express some ion channels and transporters such as voltage-gated sodium channels (Nav) in invadopodia. Nav activity promotes extracellular pH (NHE1) which is expressed at the basal-lateral side of normal epithelial cells and is translocated to the leading edge of invasive carcinoma cells. Invasive carcinoma cells that undergo EMT also express cathepsin B and cathepsin L, which are secreted into the ECM and degrade the ECM. The resulting in the formation of invadopodia and increased cell migration and ECM proteolysis.

The slide features a white background with decorative elements consisting of several overlapping circles in shades of orange and yellow. One large orange circle is in the top-left corner, another large orange circle is in the top-right corner, and a cluster of smaller orange and yellow circles is in the bottom-left corner. A single orange circle is in the bottom-right corner.

Nádory jako komplexní tkáň

Získané vlastnosti nádoru









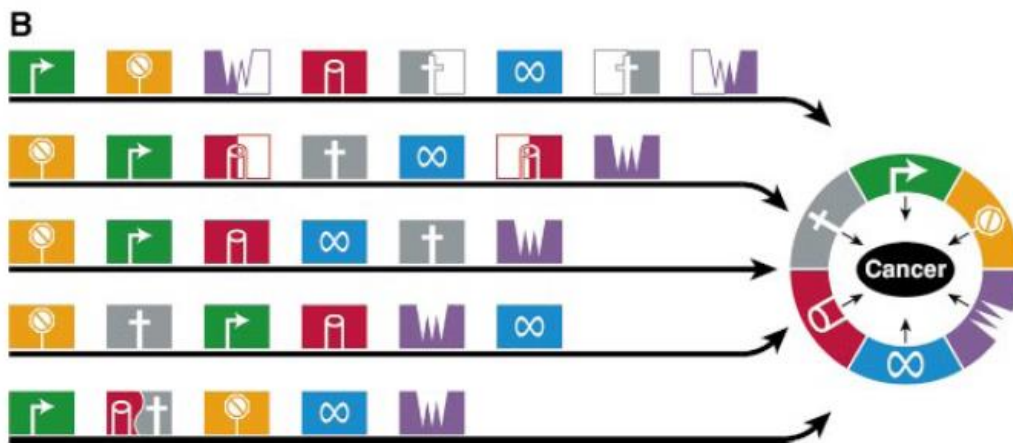
Většina nádorů získává během vývoje stejný soubor funkčních vlastností, i když různými mechanismy.

- Samostatnost s ohledem na růstové signály
- Necitlivost k růstově inhibičním signálům
- Neomezený proliferační potenciál
- Poruchy apoptózy
- Zachování angiogeneze
- Tkáňová invaze a tvorba metastáz

Paralelní dráhy vzniku a rozvoje nádorového onemocnění

A

Component	Acquired Capability	Example of Mechanism
	Self-sufficiency in growth signals	Activate H-Ras oncogene
	Insensitivity to anti-growth signals	Lose retinoblastoma suppressor
	Evading apoptosis	Produce IGF survival factors
	Limitless replicative potential	Turn on telomerase
	Sustained angiogenesis	Produce VEGF inducer
	Tissue invasion & metastasis	Inactivate E-cadherin



Obecně všechny nádory získávají stejných 6 charakteristických znaků.

Různé typy nádorových typů a subtypů se však liší způsobem jak je získávají i chronologickým pořadím.

U některých nádorů může genetická porucha vybudit několik těchto znaků současně.

Např. ztráta funkce p53 usnadňuje jak angiogenezi tak rezistenci k apoptóze a vyvolává genomovou nestabilitu (5 krokový model).

U jiného nádoru dochází k souhře 2 a více různých genetických změn, čímž se zvyšuje počet kroků vedoucích k dokončení nádorové progrese (8 krokový model).

Další znaky a charakteristiky nádorů

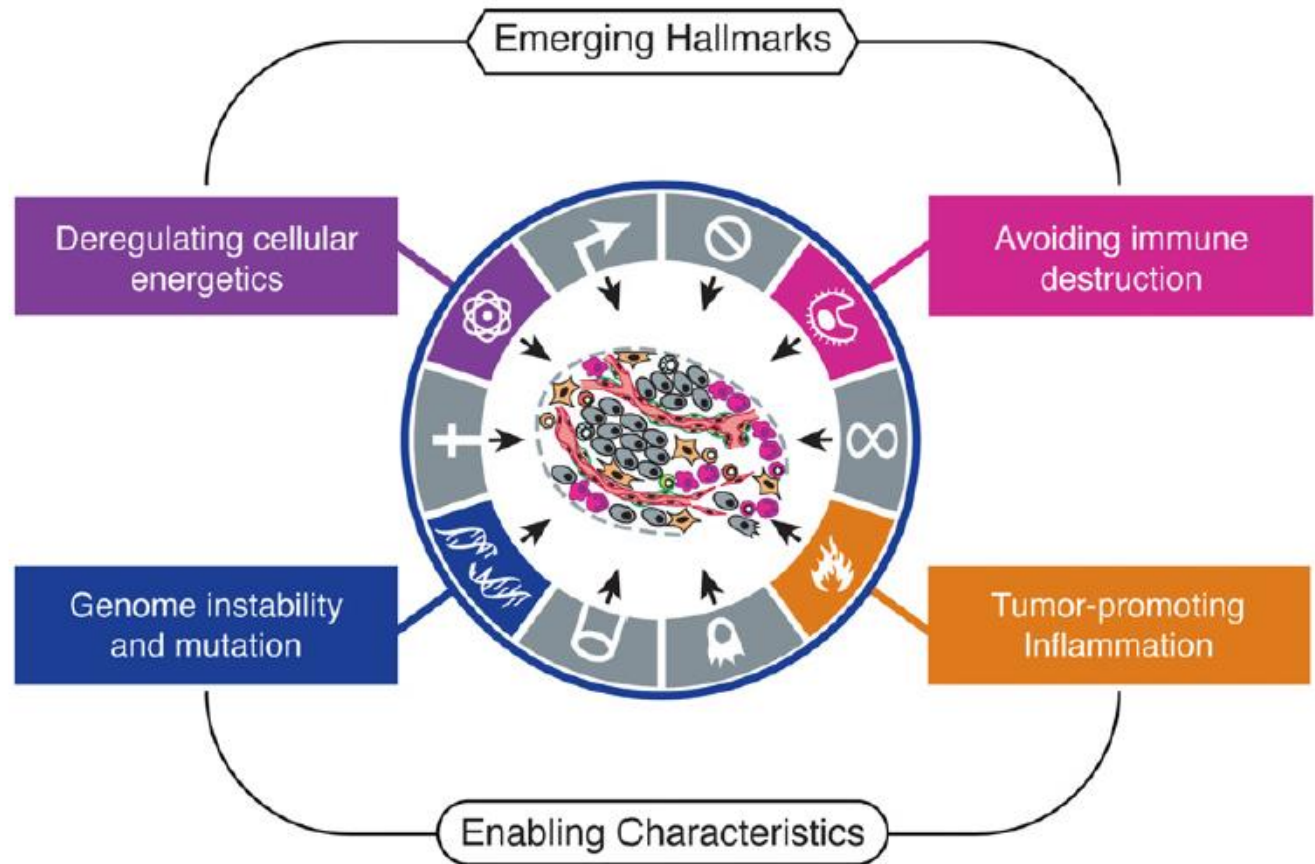


Figure 3. Emerging Hallmarks and Enabling Characteristics

An increasing body of research suggests that two additional hallmarks of cancer are involved in the pathogenesis of some and perhaps all cancers. One involves the capability to modify, or reprogram, cellular metabolism in order to most effectively support neoplastic proliferation. The second allows cancer cells to evade immunological destruction, in particular by T and B lymphocytes, macrophages, and natural killer cells. Because neither capability is yet generalized and fully validated, they are labeled as emerging hallmarks. Additionally, two consequential characteristics of neoplasia facilitate acquisition of both core and emerging hallmarks. Genomic instability and thus mutability endow cancer cells with genetic alterations that drive tumor progression. Inflammation by innate immune cells designed to fight infections and heal wounds can instead result in their inadvertent support of multiple hallmark capabilities, thereby manifesting the now widely appreciated tumor-promoting consequences of inflammatory responses.

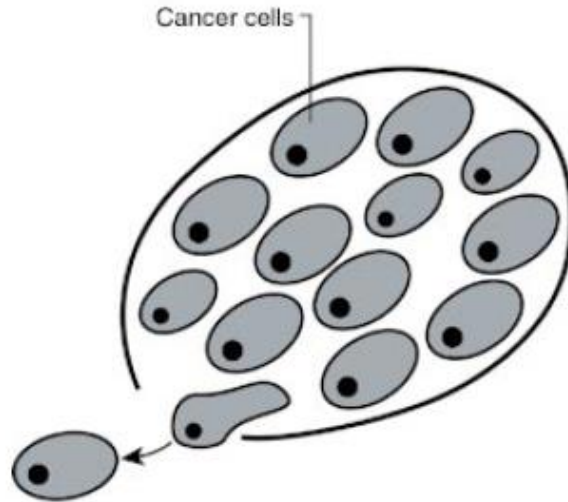
Změny buněčného metabolismu (podpora nádorové proliferace)

Únik před imunologickou destrukcí.

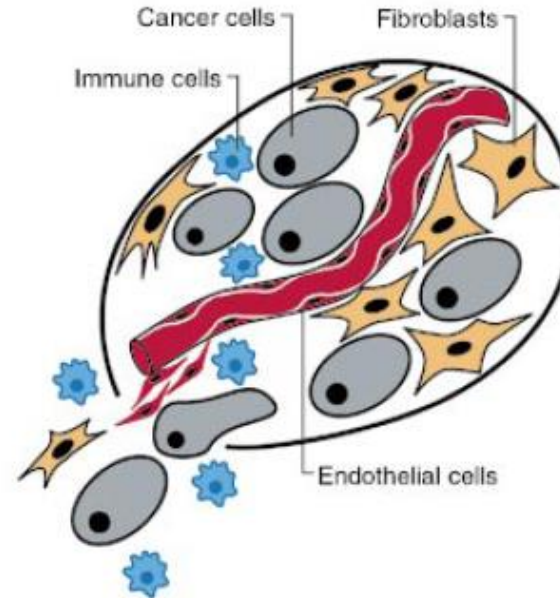
Genetická nestabilita a zánět podporují progresi nádoru

Nádory jako komplexní tkáně

The Reductionist View



A Heterotypic Cell Biology



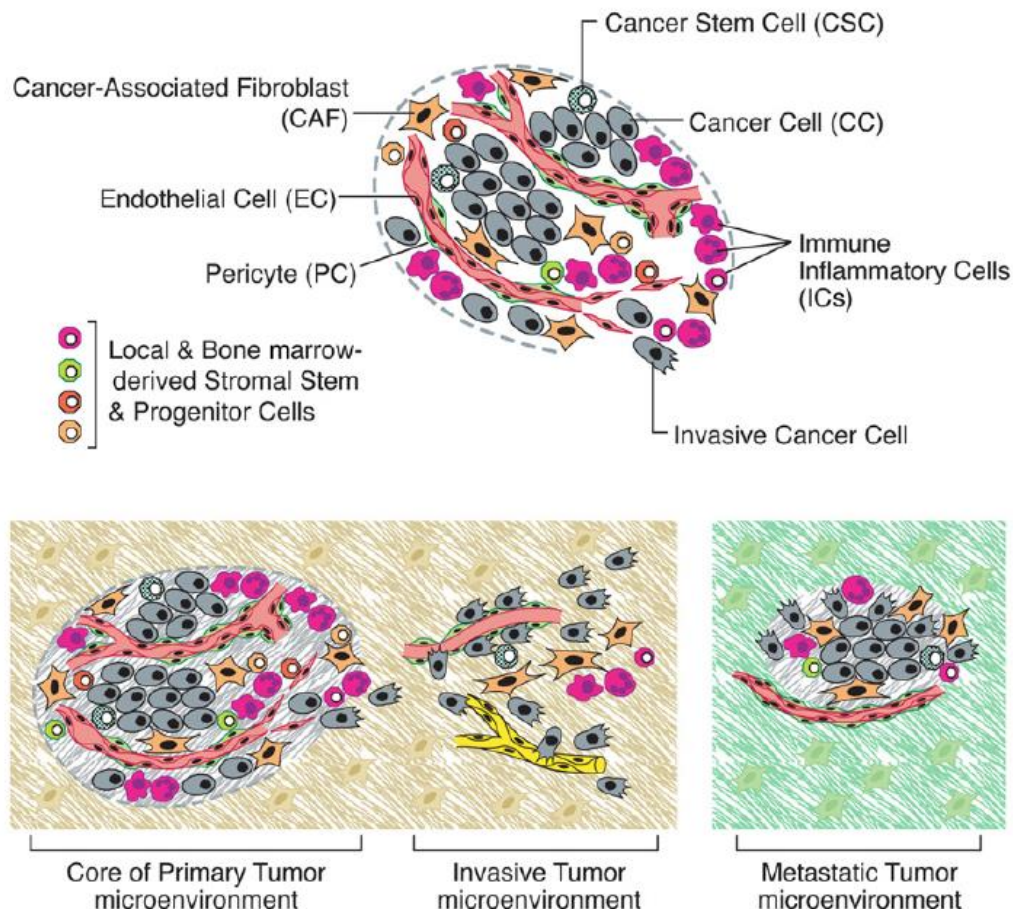
V nádorech mutované nádorové buňky přeměňují normální buněčné typy tak, aby s nimi spolupracovaly v dalším rozvoji onemocnění. Objasnění **interakce mezi nádorovými geneticky změněnými a normálními buňkami** je zásadní pro porozumění rozvoje nádorů a pro vývoj nových efektivních terapeutických přístupů.

Nádorové mikroprostředí

Figure 4. The Cells of the Tumor Microenvironment

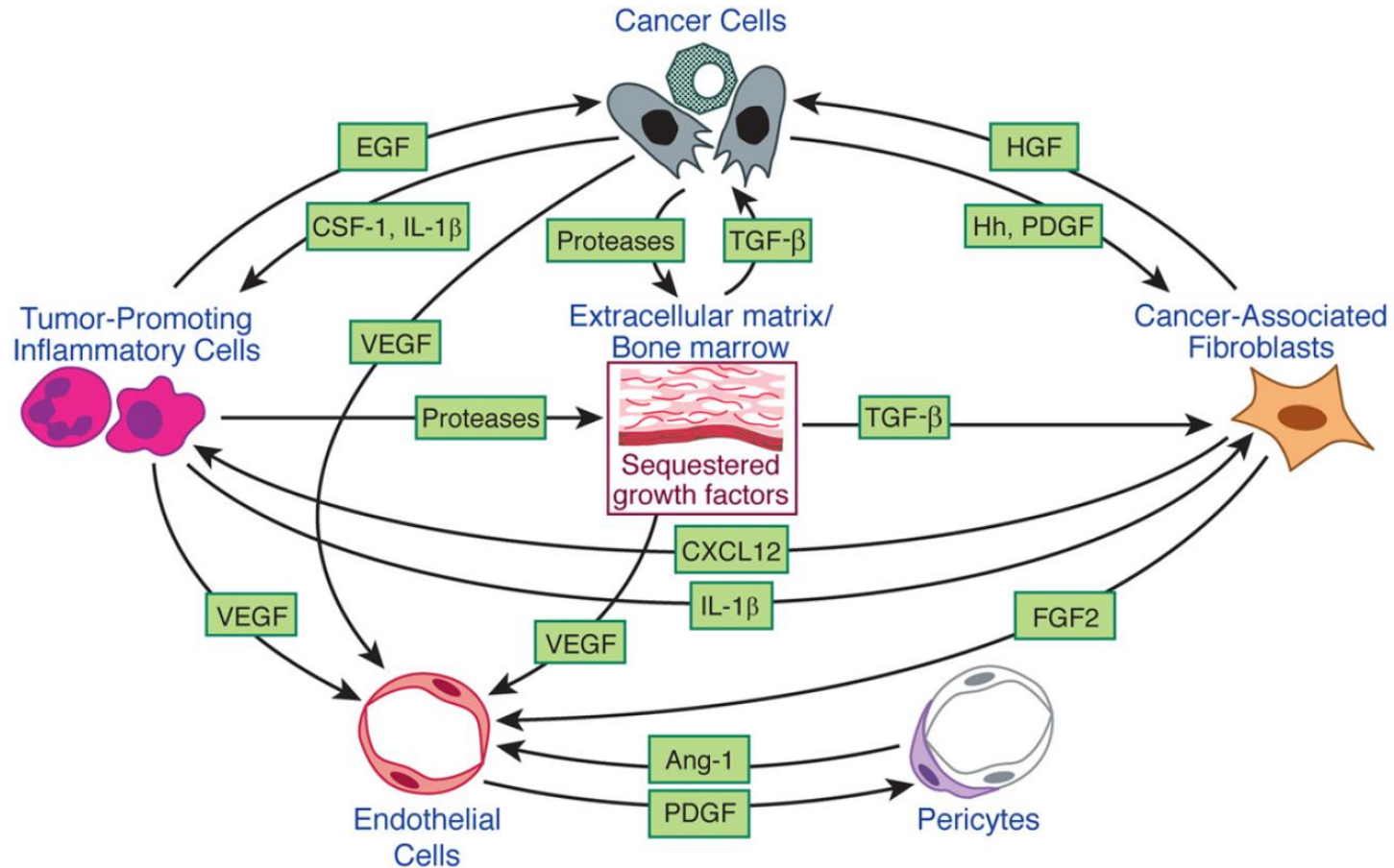
(Upper) An assemblage of distinct cell types constitutes most solid tumors. Both the parenchyma and stroma of tumors contain distinct cell types and subtypes that collectively enable tumor growth and progression. Notably, the immune inflammatory cells present in tumors can include both tumor-promoting as well as tumor-killing subclasses.

(Lower) The distinctive microenvironments of tumors. The multiple stromal cell types create a succession of tumor microenvironments that change as tumors invade normal tissue and thereafter seed and colonize distant tissues. The abundance, histologic organization, and phenotypic characteristics of the stromal cell types, as well as of the extracellular matrix (hatched background), evolve during progression, thereby enabling primary, invasive, and then metastatic growth. The surrounding normal cells of the primary and metastatic sites, shown only schematically, likely also affect the character of the various neoplastic microenvironments. (Not shown are the premalignant stages in tumorigenesis, which also have distinctive microenvironments that are created by the abundance and characteristics of the assembled cells.)



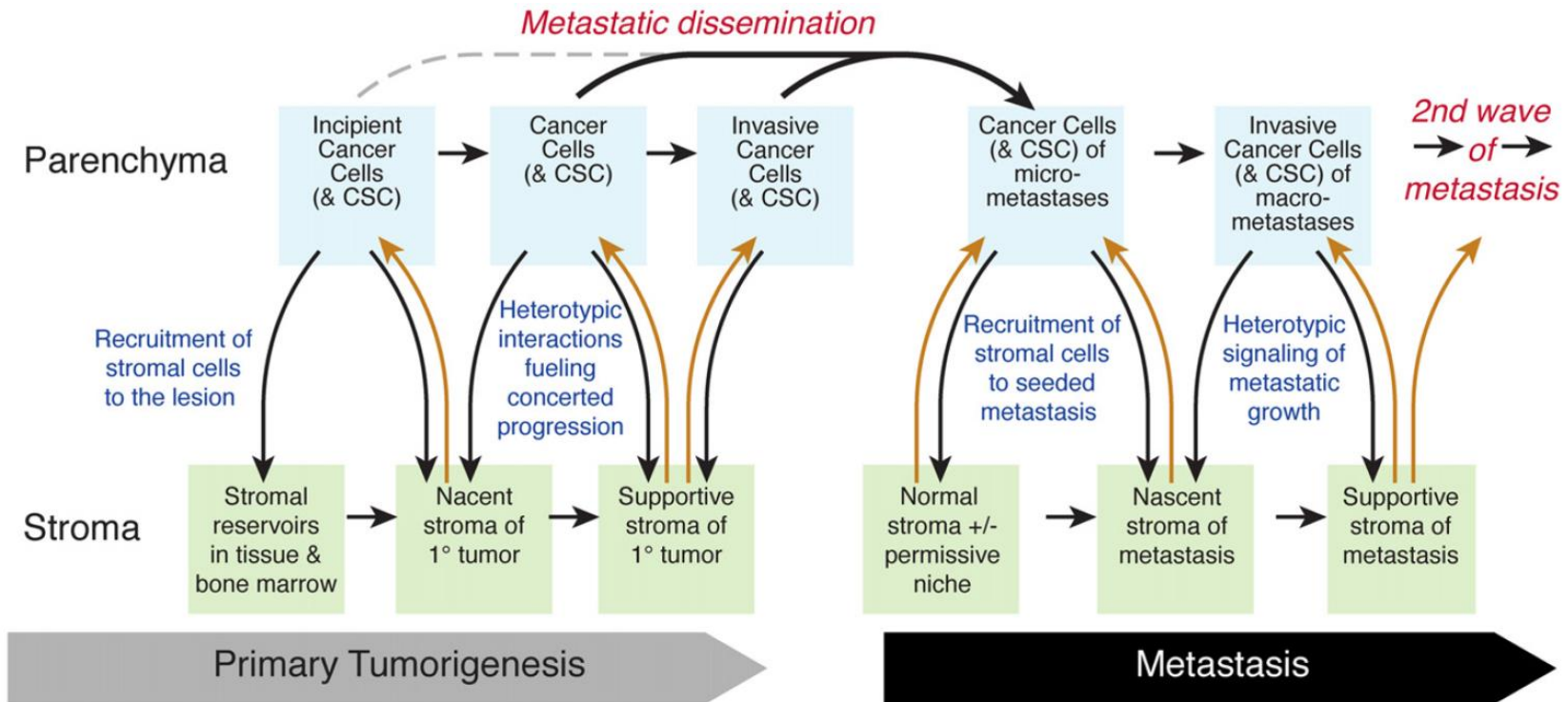
Různé typy buněk nádorového parenchymu a stromatu podporují růst nádoru a progresi. Imunitní zánětlivé buňky přítomné v nádoru mohou jak podporovat tak brzdit rozvoj nádoru.

Signální interakce v nádorovém mikroprostředí



Spolupráce a kolektivní příspěvek různých bun. typů tvořících nádorové mikroprostředí a jejich reciproční heterotypické signální interakce

Změny signální interakce během progresu nádoru



Reciproční heterotypické signální interakce mezi nádorovými buňkami a buňkami parenchymu a stromatu vytváří vzrůstající agresivní fenotyp (růst, invazivitu, diseminaci metastáz). Predispozice k metastázám se objevuje brzy a je ovlivňována diferenciačním programem původní normální buňky nebo onkogenními změnami. Určitá místa v orgánech („fertile soil“, metastatic niches“) jsou obzvláště vhodná pro kolonizaci určitými buňkami. **CSC (nádorové kmenové buňky)** mohou být různě zahrnuty v některých nebo všech stádiích primární tumorigeneze a metastázování.

Heterotypické interakce jako cíl terapie

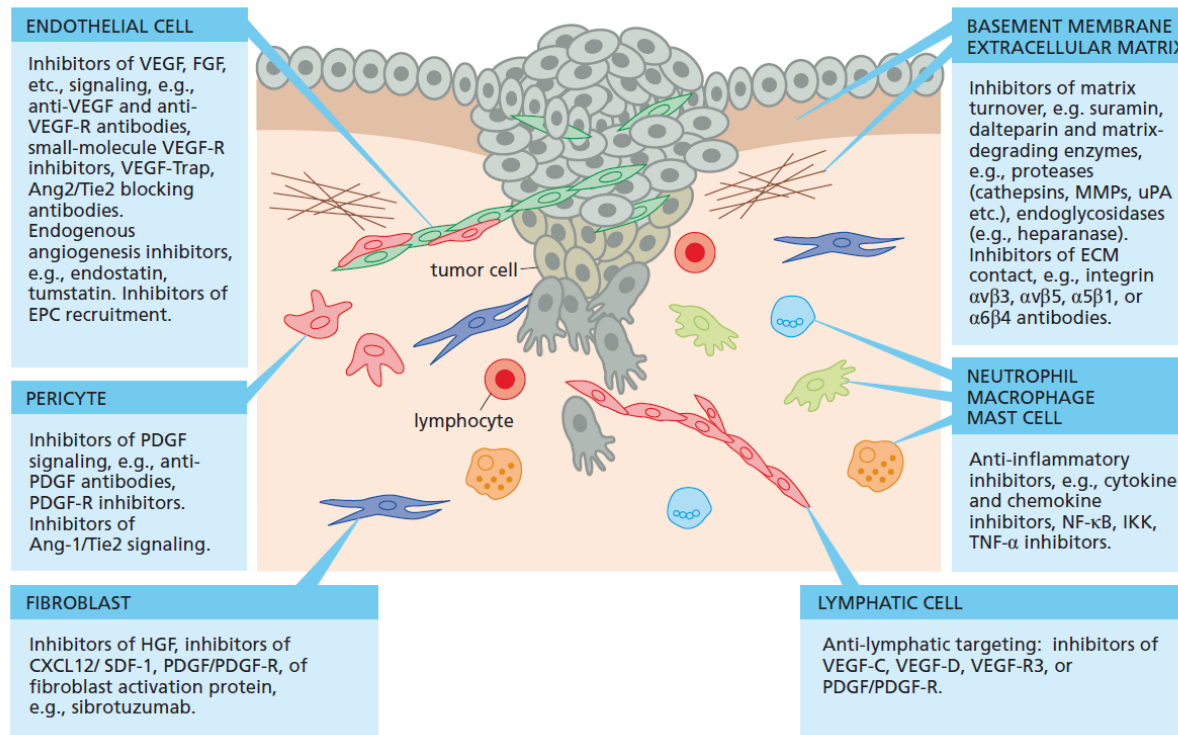
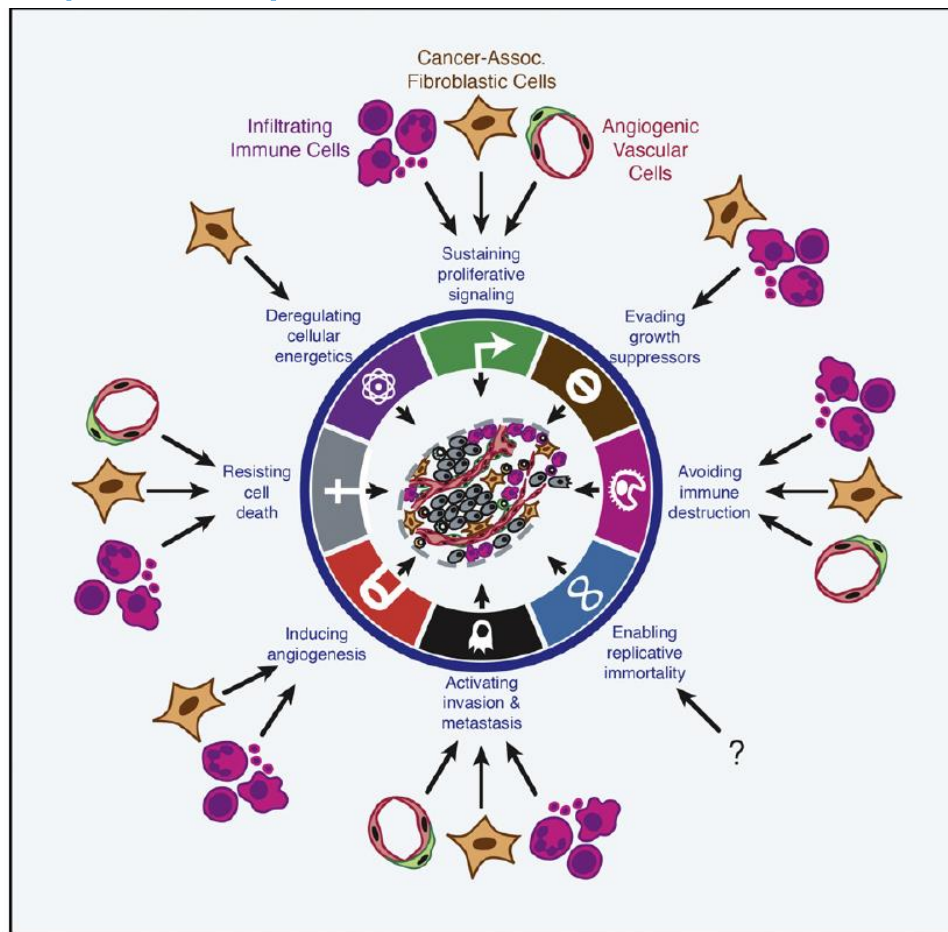


Figure 13.49 Heterotypic interactions as targets for therapeutic intervention As described in this chapter, cancer cells are dependent on the nearby stromal microenvironment for a variety of cell-physiologic supports. This dependence on heterotypic interactions has inspired development of new types of cancer therapy, some of which has been featured in this chapter. Instead

of focusing on the intracellular signaling defects within cancer cells, this new type of therapy is directed toward interrupting heterotypic signaling, thereby depriving cancer cells of essential stromal support. This scheme indicates some of the anti-tumor therapies that are being developed or under consideration. (From J.A. Joyce, *Cancer Cell* 7:513–520, 2005.)

Multifaktoriální příspěvek aktivovaných stromálních buněk pro znaky nádorů



3 hlavní skupiny - infiltrující imunitní buňky, asociované fibroblasty a angiogenní cévní buňky. Důležitost se liší u různých orgánů a nádorových typů a závisí i na onkogenních změnách v primárním nádoru. Různé buněčné typy a subtypy mohou hrát různou úlohu při získávání jednotlivých vlastností nádoru, někdy i působit proti nim.

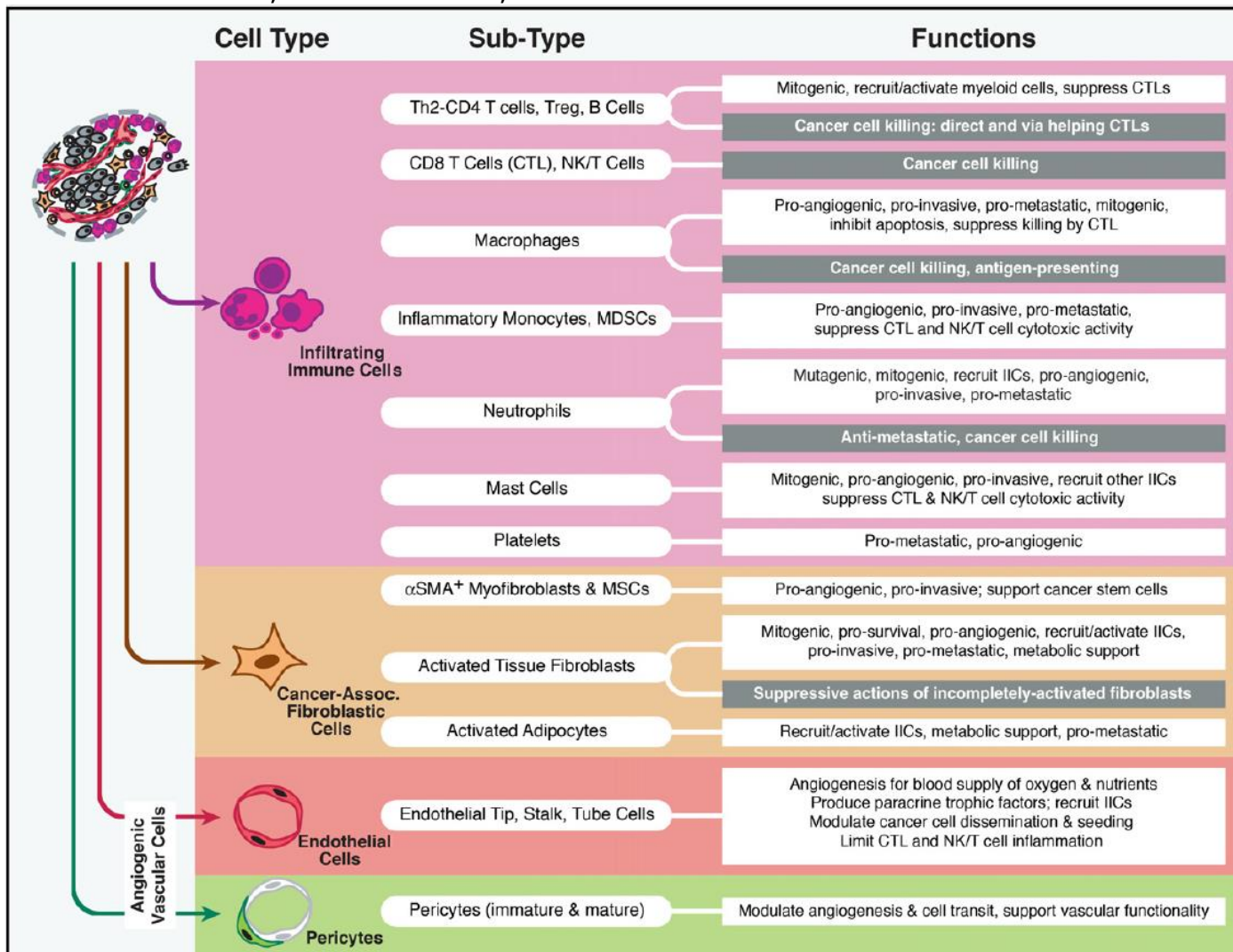
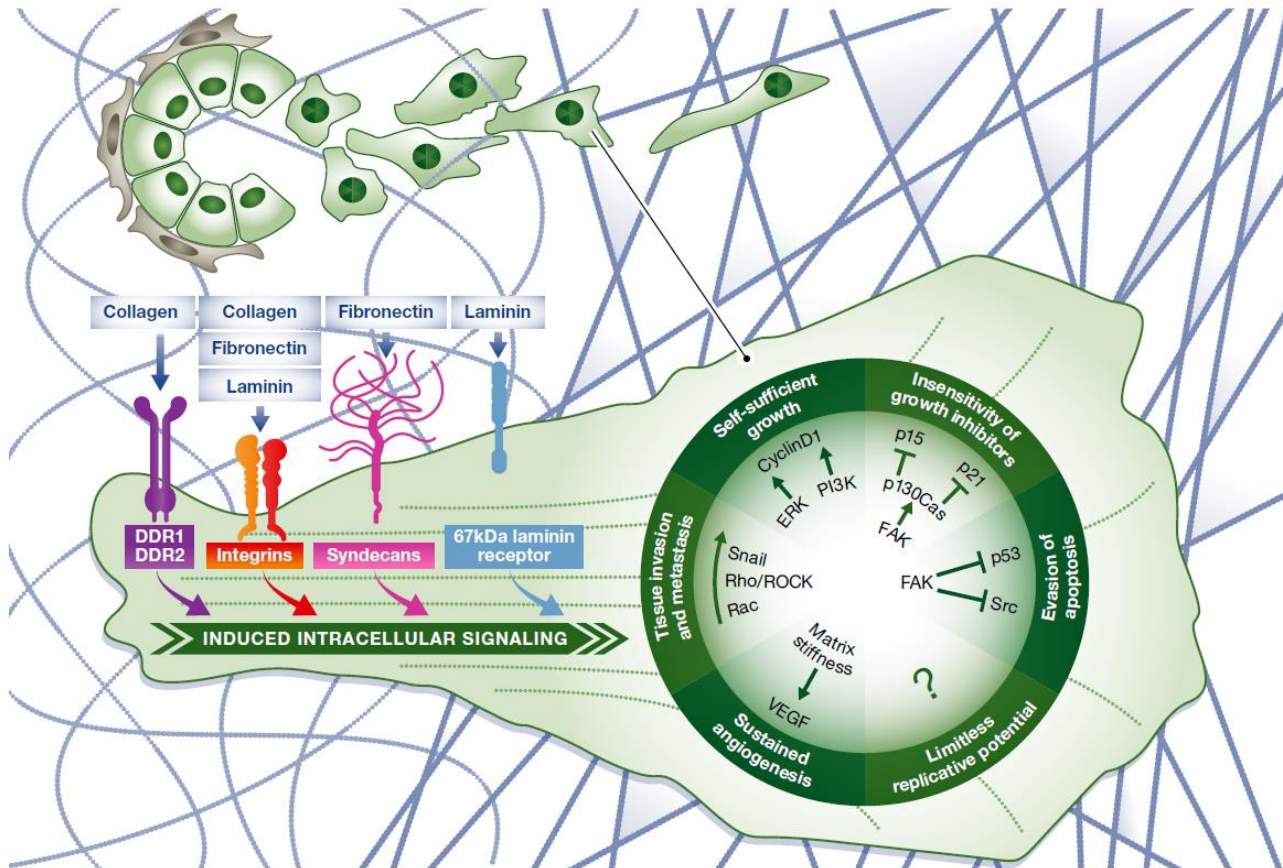
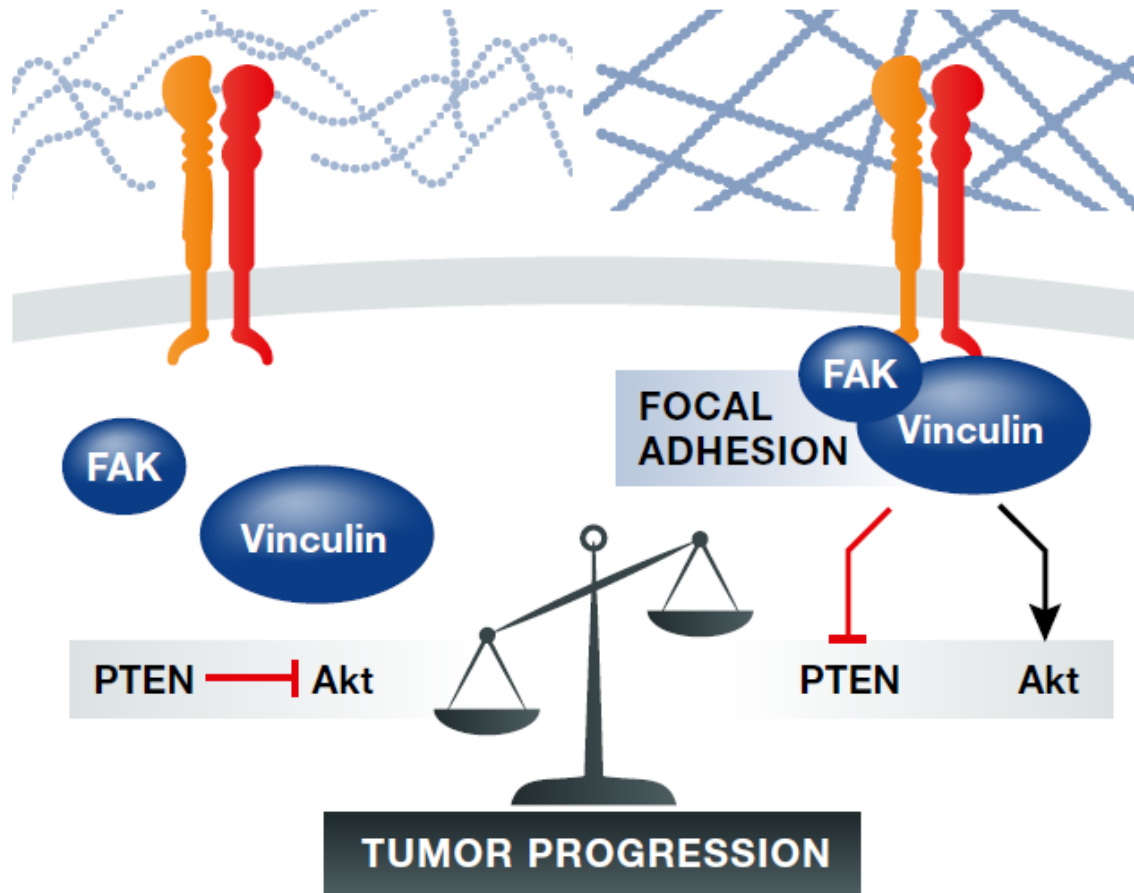


Figure 2. Multiple Stromal Cell Types and Subcell Types of the Tumor Microenvironment Can Variably Contribute to, or in Some Cases Oppose, Acquisition of the Seven Hallmark Functional Capabilities in Different Organ Sites, Tumor Types and Subtypes, and Stages of Progression

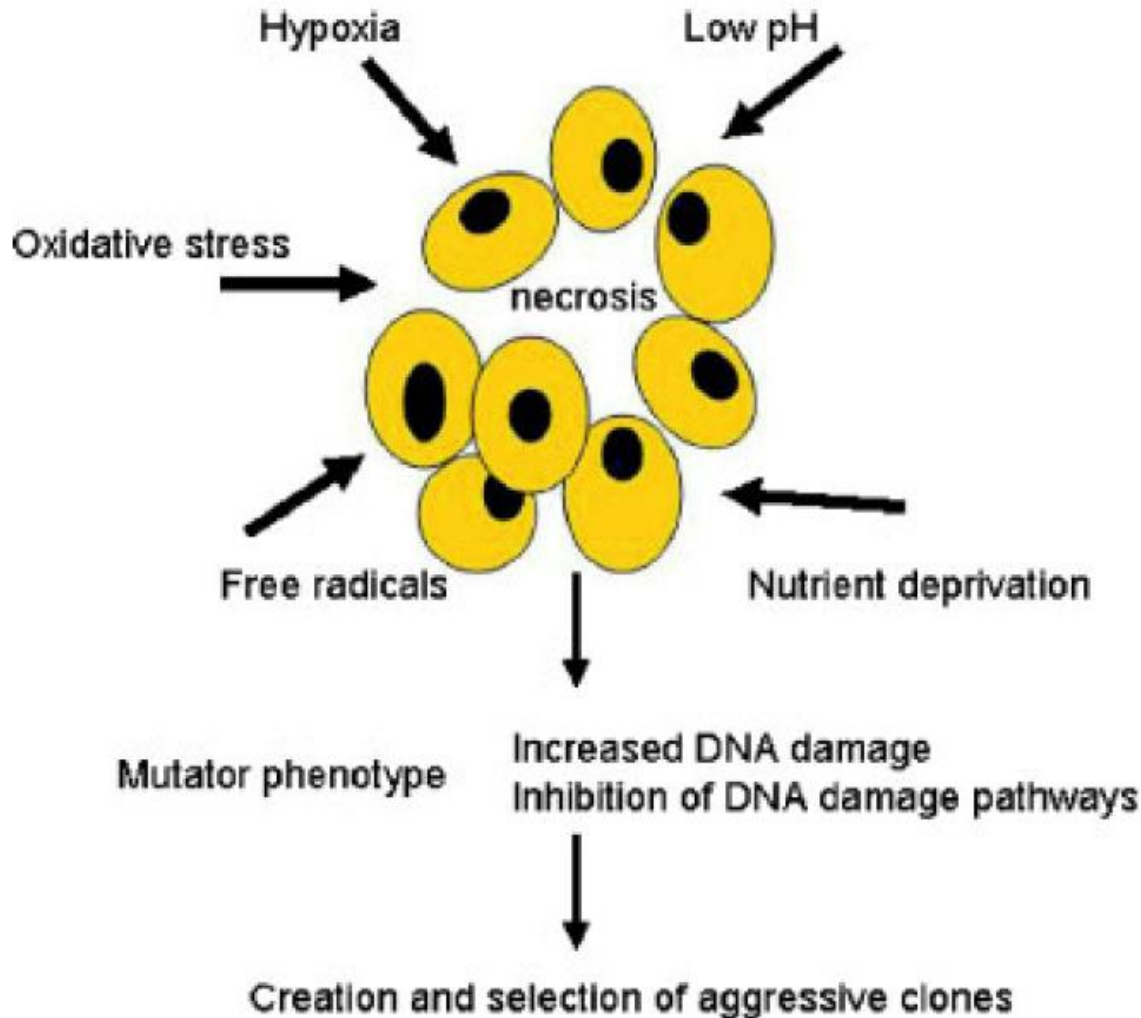
Major stromal cell subtypes are indicated, along with a synopsis of key functional contributions that such cell subtypes can make. The antagonistic functions of certain subcell types are highlighted in gray. The lists of subtypes and of their key functions are not comprehensive, but rather prominent examples. Not listed are molecular regulatory signals for, and effector agents of, the noted functions. Both lists will certainly be refined in coming years. Also not shown are the crucial cancer cells and cancer stem cells, with which these stromal cells dynamically interact to manifest cancer phenotypes (Hanahan and Weinberg, 2011). Th2, helper type 2; CD4 T cell, CD4-positive lymphocyte; Treg, regulatory T cell; CTL, cytotoxic T lymphocyte; NK/T, natural killer and natural killer T cell; MDSCs, myeloid-derived suppressor cells; α SMA, alpha smooth muscle actin; MSCs, mesenchymal stem cells.

Vliv mimobuněčné matrix (ECM) na vlastnosti nádorů





Nádorové mikroprostředí - podpora nádorového stromatu



Nádorové stroma přispívá ke genetické nestabilitě nádorových buněk.

Hypoxie, nedostatečná výživa, snížené pH a tvorba volných radikálů ve stromatu jako důsledek nedostatečného přísunu krve a faktory uvolňované zánětlivými buňkami a aktivovanými fibroblasty podporují mutace DNA a tlumí reparační mechanismy.

Mutátorový fenotyp nádorových buněk dovoluje tvorbu a **selekcí agresivních klonů s velkým metastatickým potenciálem.**

Výukovou pomůcku zpracovalo **Servisní středisko pro e-learning na MU**

<http://is.muni.cz/stech/>

Technické řešení této výukové pomůcky je spolufinancováno Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky.



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ