

# Onkogeny, nádorové supresory, onkogenní viry

MUDr. Iva Slaninová, Ph.D.

Biologický ústav LF MU

Rakovina je výsledkem porušení překážek buněčné proliferace. Jsou 2 základní skupiny genů, jejichž poruchy vedou k neomezenému buněčnému dělení:  
protoonkogeny a tumor supresorové geny.


Viry se účastní nádorové transformace, protože nesou kopii onkogenu nebo narušují expresi výše zmíněných genů.

Onkogeny **X** tumor supresorové geny  
(protoonkogeny) (antionkogeny)

U nádorové buňky:



zvýšená aktivita  
(aktivace,  
dominantní  
onkogeny - 1  
kopie)



snížená aktivita  
(inaktivace,  
recesivní onkogeny  
- 2 kopie)  
familiární

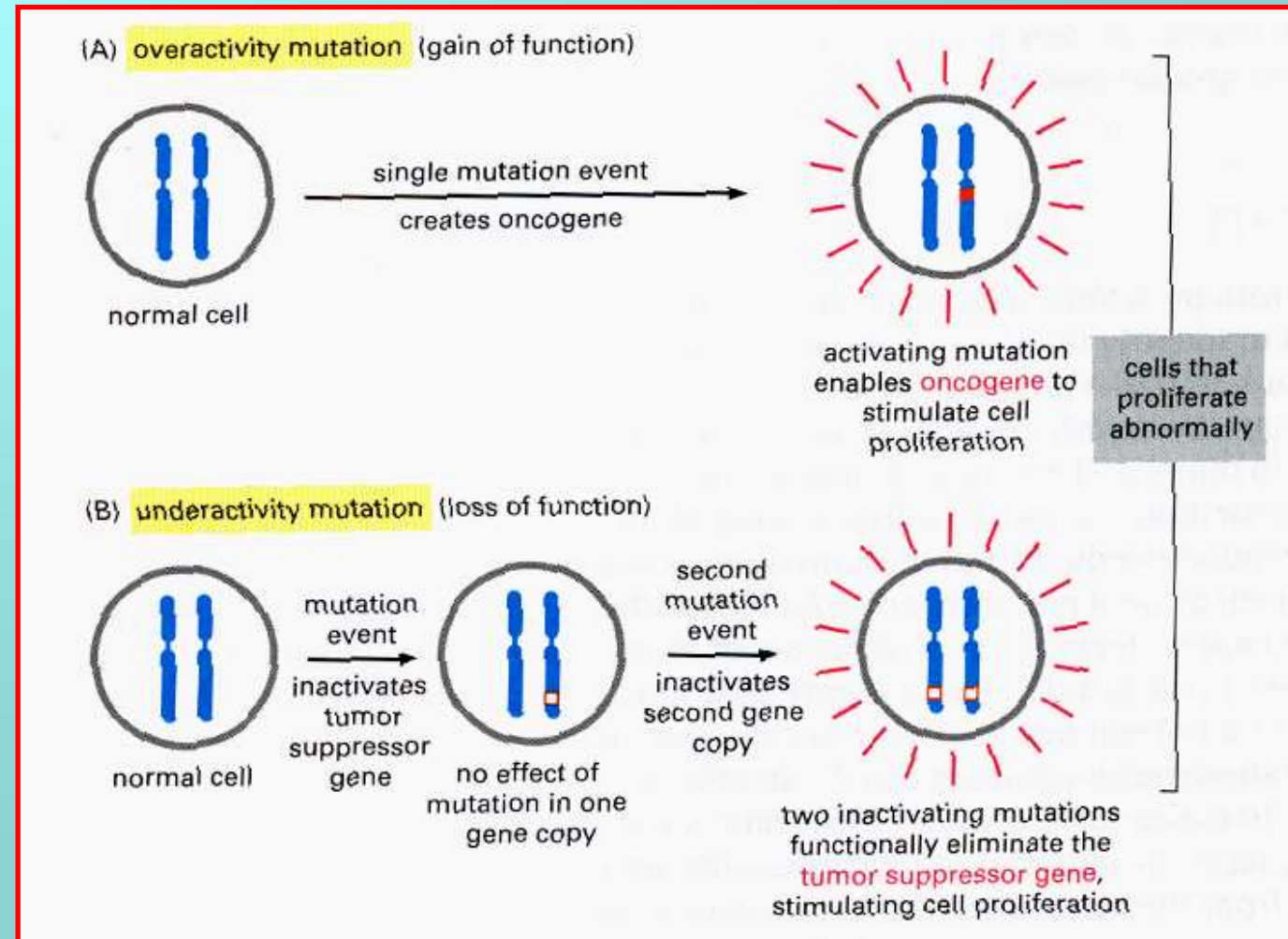
# Onkogeny x tumor supresorové geny (antionkogeny)

Onkogeny

dominantní

antionkogeny

recesivní



# Onkogeny

Byly objeveny díky retrovirům nesoucím virové analogy lidských onkogenů

Objev na viru Rousova sarkomu (RSV) - izolován z kuřecího sarkomu - transformující gen *v-src* nebyl nezbytný pro virovou replikaci

Zjistila se homologie s buněčným genem *c-src* - konzervován u všech eukaryont

Virové onkogeny jsou derivovány z lidských protoonkogenů

Dnes je známo asi 100 onkogenů



# Onkogeny

Protoonkogen je strukturní gen eukaryontní buňky, jehož produkt se podílí na regulaci dělení buněk a jejich diferenciaci.

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

Aktivace protoonkogenu proces přeměny protoonkogenu na onkogen.

Mutace protoonkogenů:

- aktivující
- dominantní

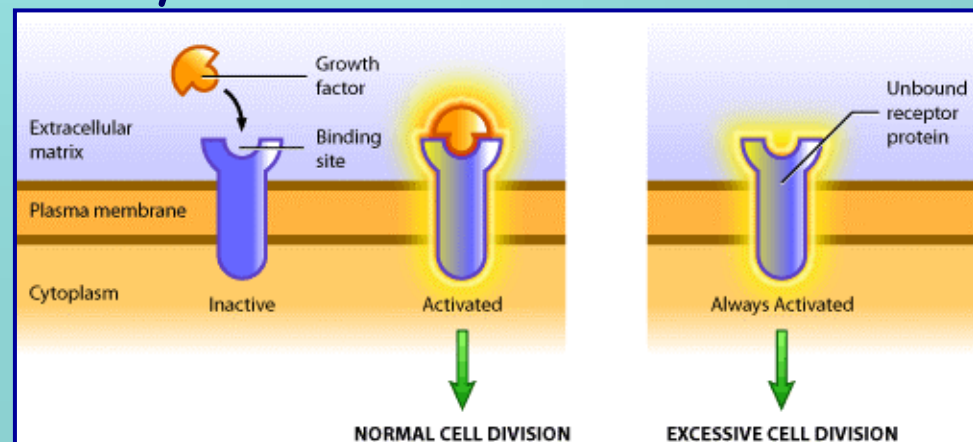
# Funkce protoonkogenů

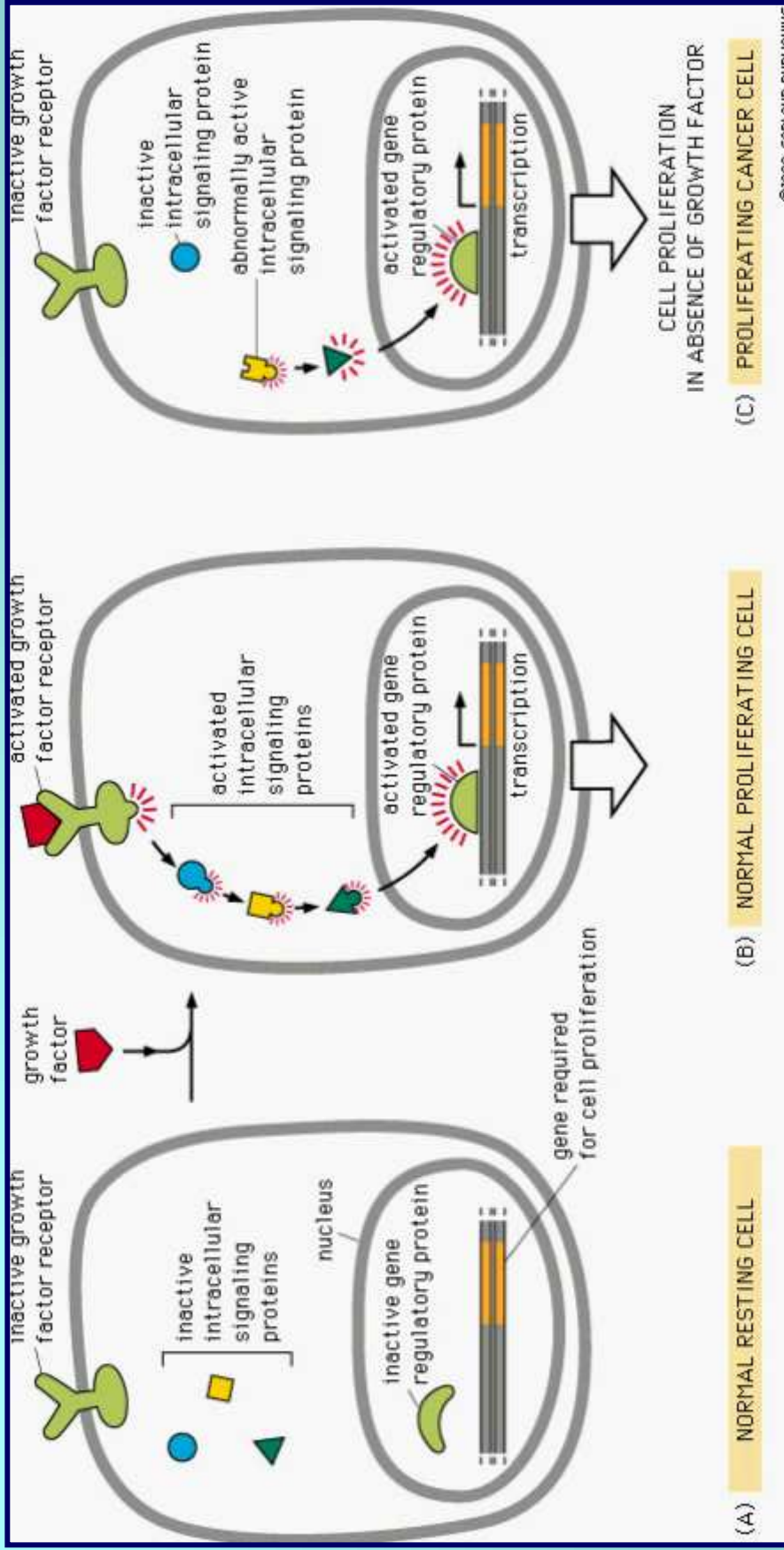
Kontrola buněčného růstu a dělení

1. Růstové faktory - PDGF (*sis* - simian sarcoma virus), EGF, FGF
2. Receptory růstových faktorů - tyrozin kinázová aktivita - *erb B* epidermal growth factor receptor
3. Signální transduktory (proteiny signálních kaskád) - *src, ras*

Nereceptorové proteinkinázy - *abl, lck, src, raf1, mos, pim1*

G- proteiny - *gsp, gip, ras*



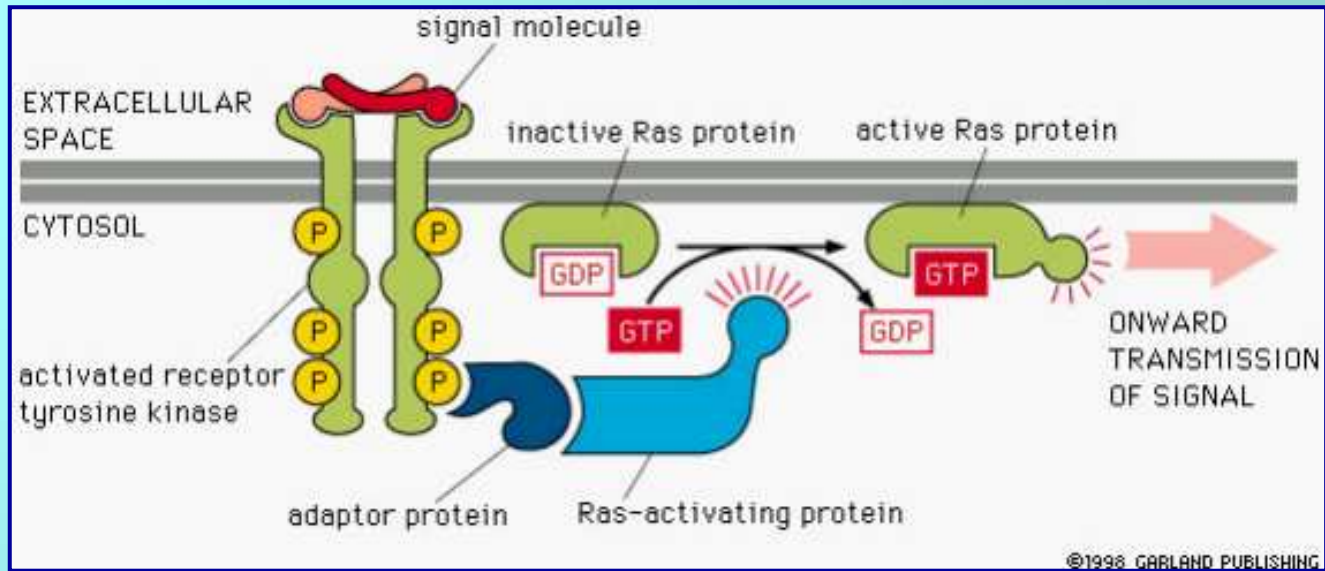


(A) NORMAL RESTING CELL

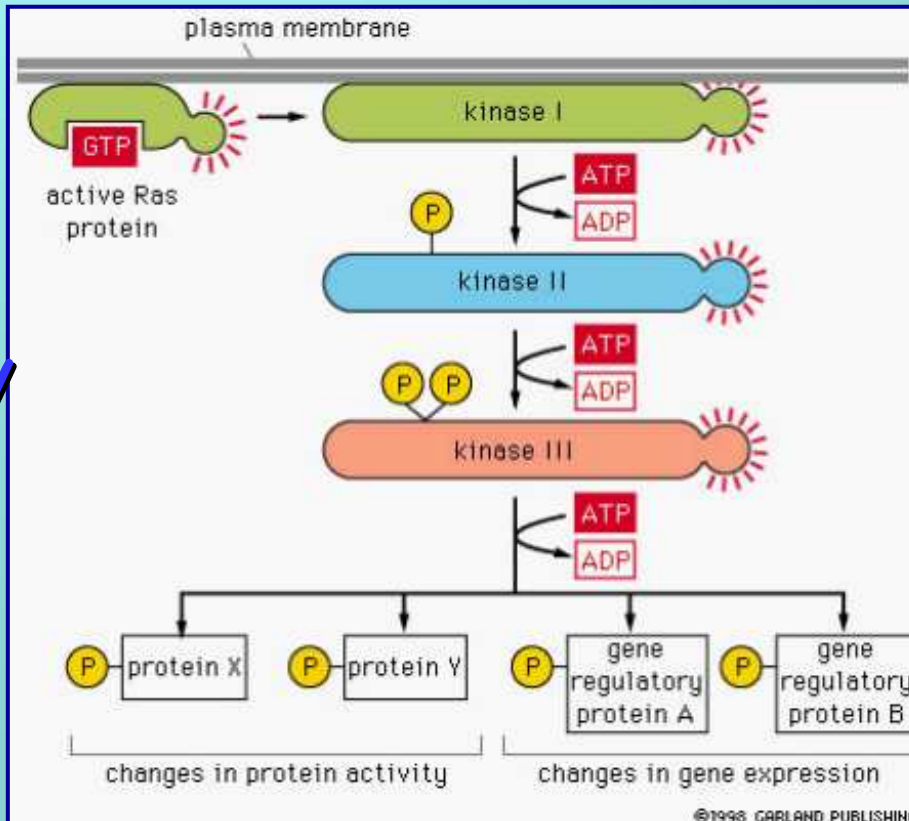
(B) NORMAL PROLIFERATING CELL

(C) PROLIFERATING CANCER CELL





# Signální transduktory



# Funkce protoonkogenů

4. Transkripční faktory - *jun, myb, c-myc, fos*,  
...většinou aktivovány chromozomálními translokacemi  
u hematologických malignit, fúzní proteiny *c-myc*-  
zúčastněný v proliferaci (leukémie, lymfomy)

5. Regulátory programované buněčné smrti -  
apoptózy - *bcl2* antiapoptotický gen

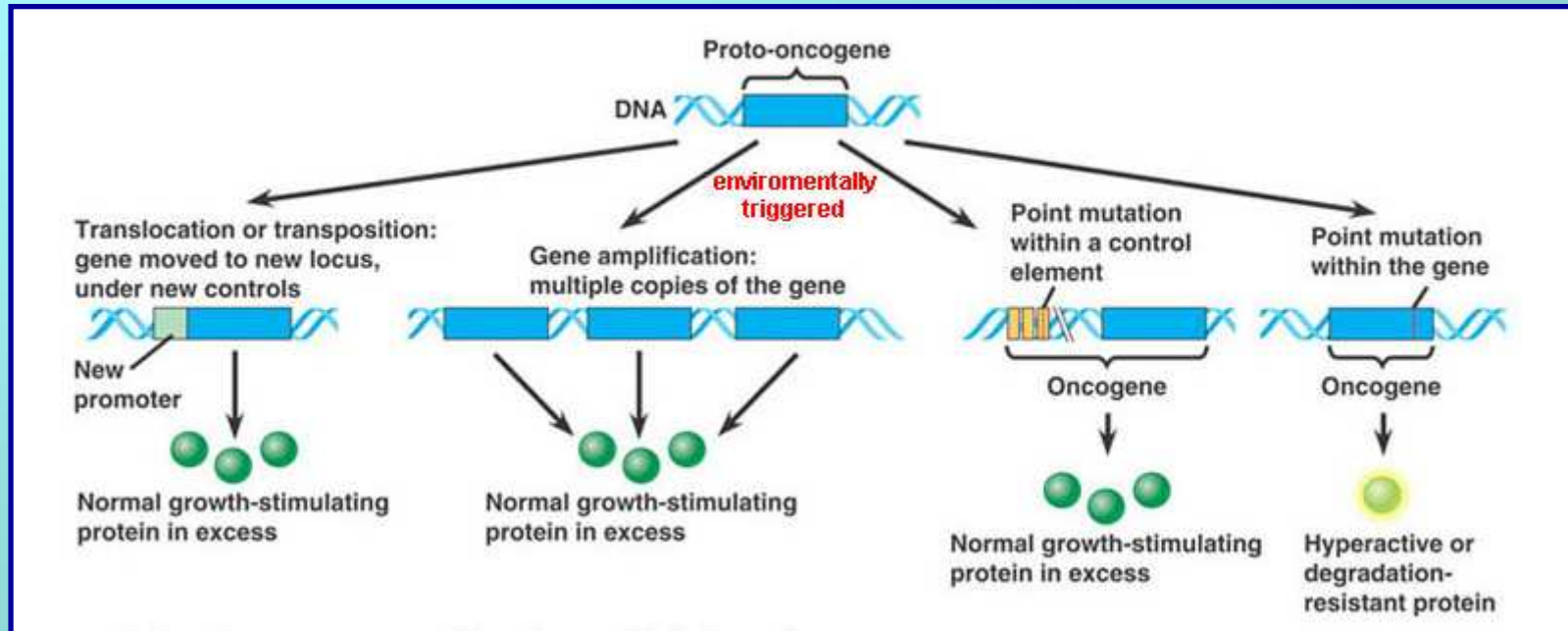
# Mechanismy aktivace protoonkogenů



1. Retroviry
2. Mutace
3. Genové amplifikace
4. Chromozomální přestavby

- narušení struktury protoonkogenů, nebo zvýšení jejich exprese

# Mechanizmy aktivace protoonkogenů

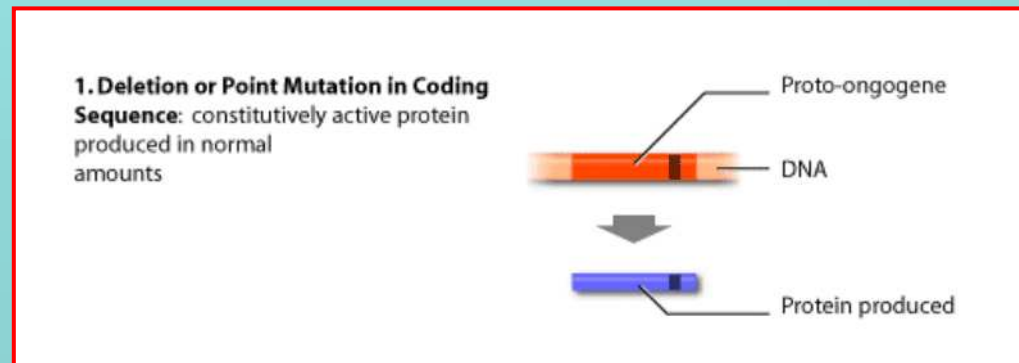


# Mutace

*ras* rodina protoonkogenů - bodové mutace 15-20% lidských nádorů nese mutaci v *ras*

*K-ras* - 30% plicních adenokarcinomů, 50% Ca tlustého střeva, 90% Ca pankreatu

*N-ras* - hematologické malignity





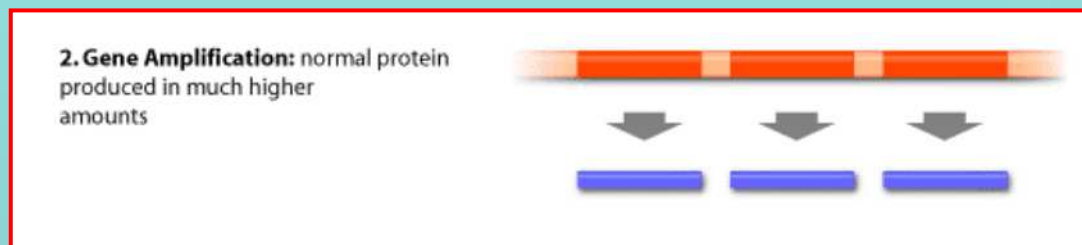
# Genové amplifikace

**Stovky kopií genu** - redundantní replikace DNA -  
nadbytečná exprese

**double minute chromosomes (DMs)** - minichromozomy  
bez centromer

**homogenous staining regions (HSRs)** - segmenty ch.  
postrádající typické pruhování

**myc, erb, ras**



# Chromozomální přestavby

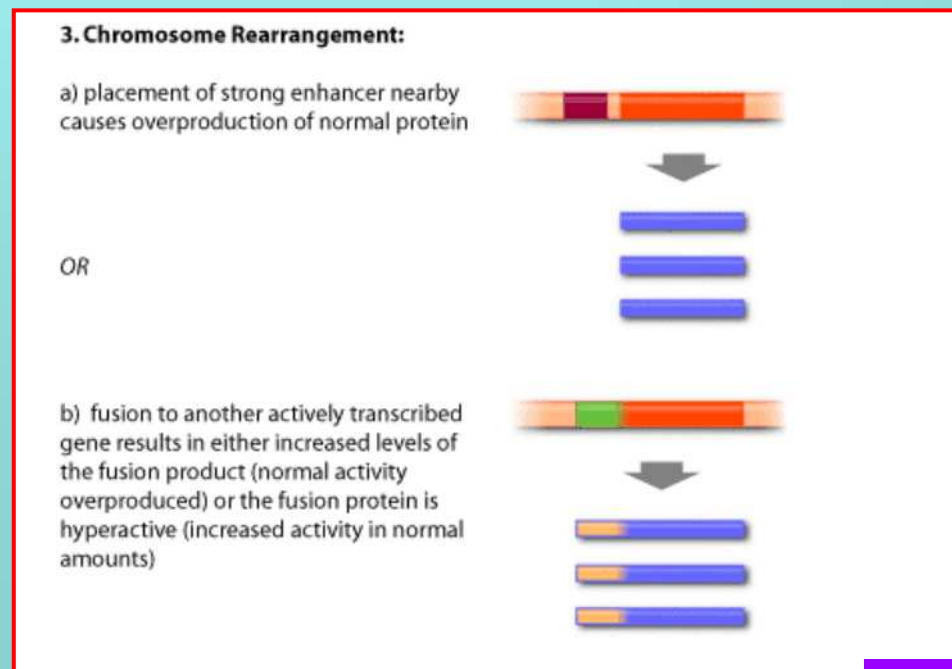
Abnormality karyotypu - chromozomální přestavby, ztráty chromozomů nebo jejich částí - malé ch. (CML)

1. Transkripční aktivace protoonkogenu - translokace přesune protoonkogen do blízkosti genů pro imunoglobuliny nebo T-receptory - exprese

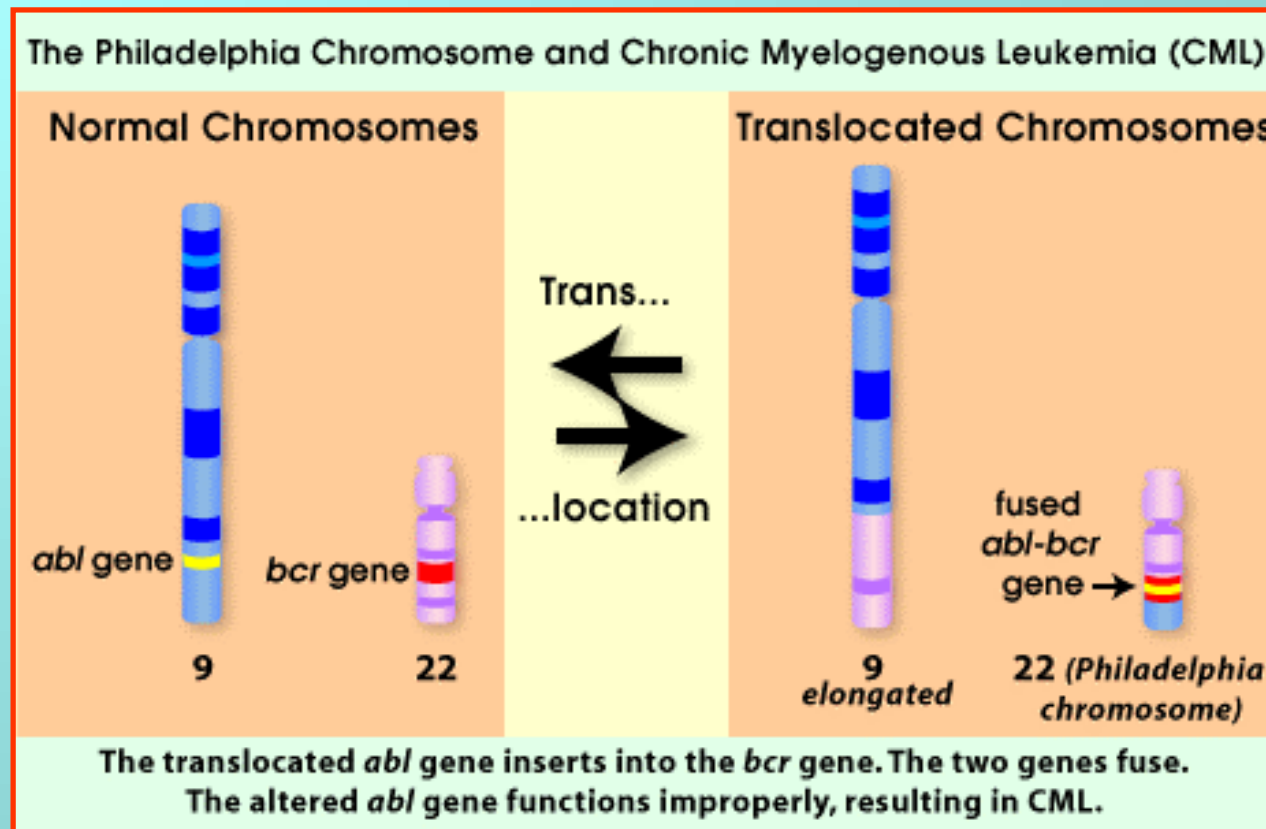
**Burkitův lymfom** -v 85%  $t(8;14)(q24;q32)$  *c-myc* lokalizovaný na 8q24 se dostane pod kontrolu regulačních elementů lokusu těžkých řetězců imunoglobulinů na 14q32

## 2. Tvorba fúzních genů pokud ke zlomům dojde v místech 2 různých genů - chimérodní proteiny

Philadelphský ch. CML - **t(9;22)(q34;q11)** -  
translokace vede k fúzi *c-abl/9q34* s *bcr* na 22q11-  
*bcr/abl*-kóduje chimerický protein 210 kD s vyšší  
tyrozinkinázovou aktivitou a abnormální buněčnou  
lokalizací



# Philadelphský chromozom



# Tumor supresorové geny (antionkogeny)

Brzdí buněčné dělení, účastní se oprav DNA, podporují apoptózu, účastní se buněčné diferenciace

I dědičné rakoviny

Asi 40 genů

Mutace tumor supresorových genů:

- inaktivující
- recesivní (spojeno s LOH loss of heterzygosity
- ztráta heterzygosity) („recesivní onkogeny“)
- vyskytují se v somatických a také v zárodečných buňkách



# Tumor supresorové geny (antionkogeny)

Retinoblastom - delší raménko 13.ch

Protein Rb1 - fosfoprotein o  $M_r=110\text{kDa}$  - v jádrech všech bb, stupeň fosforylace závisí na fázi BC (začíná G1/S, vrcholí G2/M), fosforylace inaktivuje - regulace BC

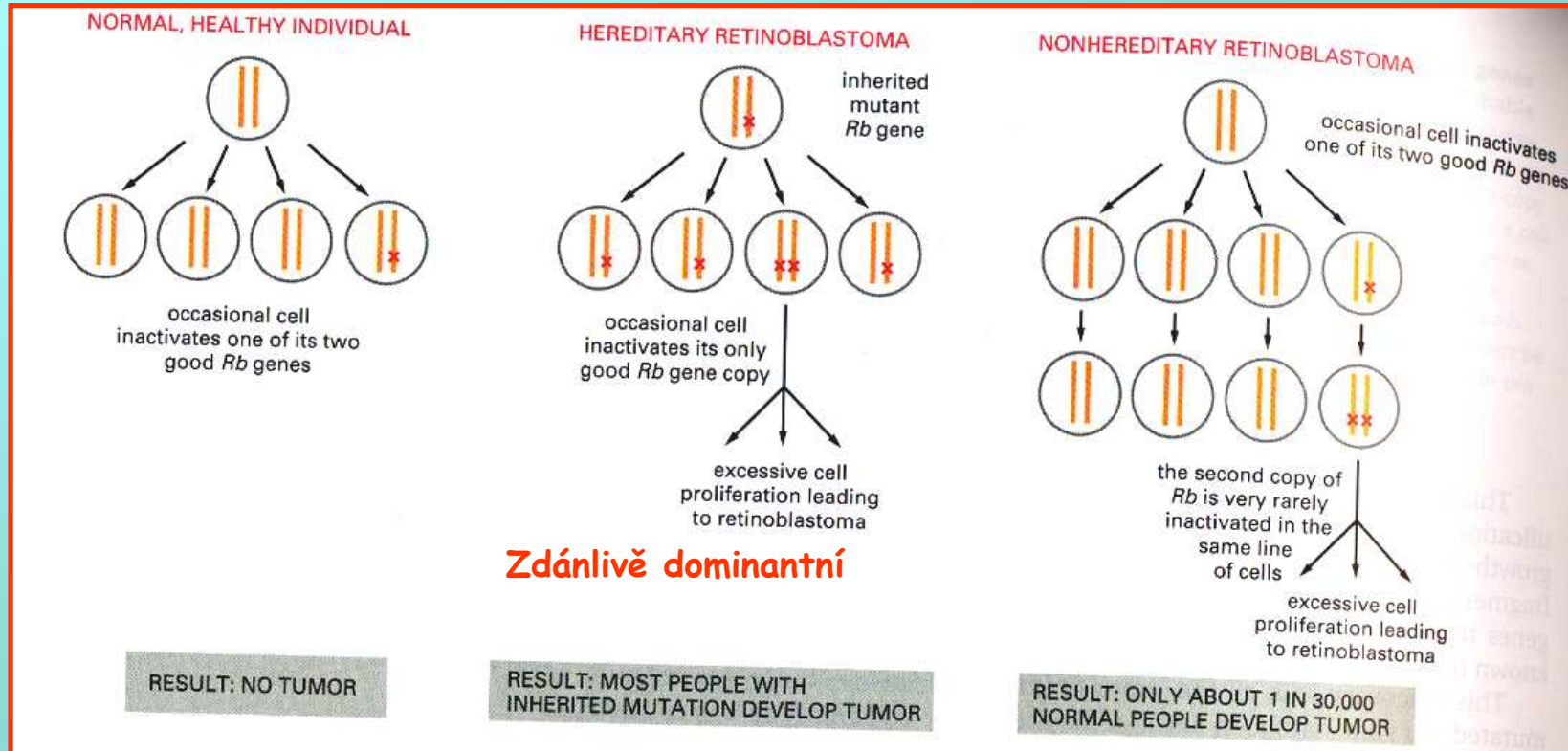
2 formy - **dědičná** (heterozygoti - stačí 1 další mutace) (výskyt 1:20 000) - postiženy obě oči, více ložisek

**Nedědičná forma** - vzácnější vyžaduje 2 mutace (na každém homologním ch) - postiženo jen 1 oko 1 nádorem

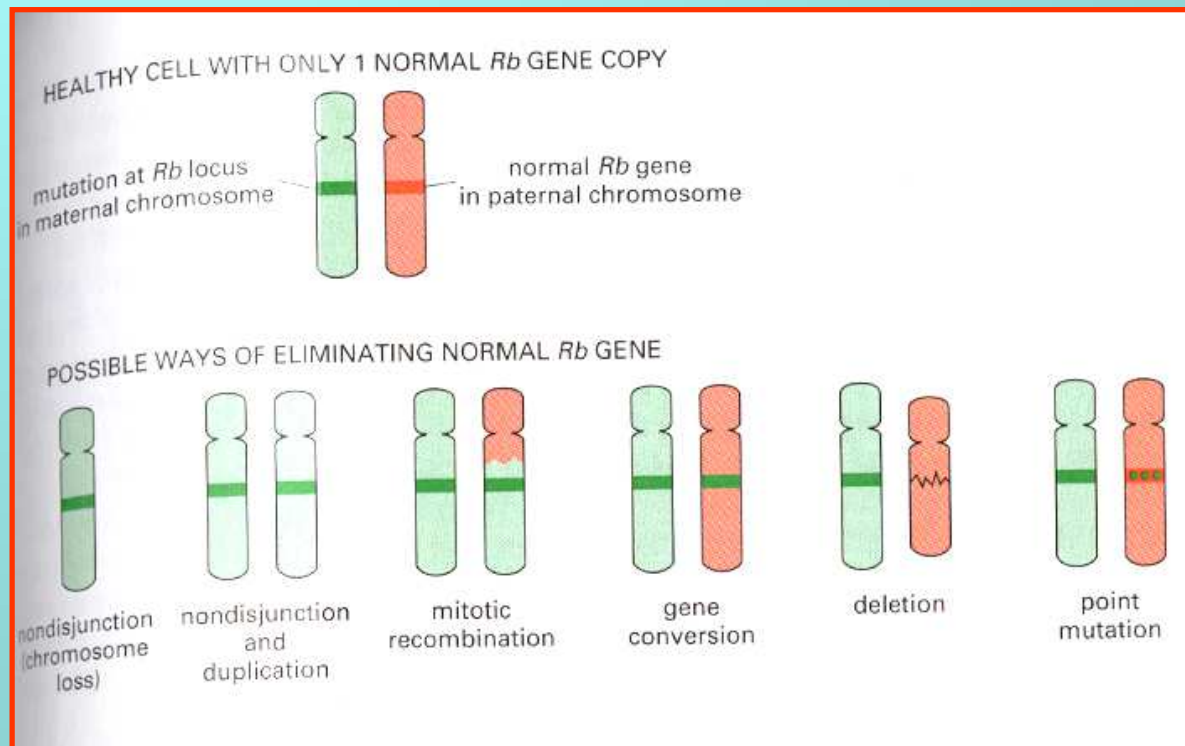
Vyskytuje se i u nádorů plic, močového měchýře prostaty, prsu



# Dědičný x nedědičný retinoblastom



# Mechanizmy mutací Rb genu



# Tumor supresorové geny (antionkogeny)

Protein p53 - krátké raménko 17. Ch - fosfoprotein - homotetramery, sekvenčně specifická vazba DNA - transkripční faktor - brzda vstupu bb do S-fáze - zástava BC v G1 fázi - umožňuje přestávku nutnou k opravám DNA

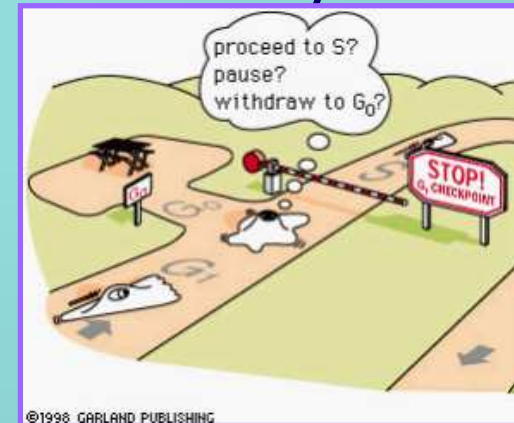
Nefunkčnost - smrt bb nebo genetická nestabilita

Mutace p53 - nejčastější genetická změna v lidských nádorech (50%)

Trojí význam - kontrola BC

apoptóza

udržení genetické stability

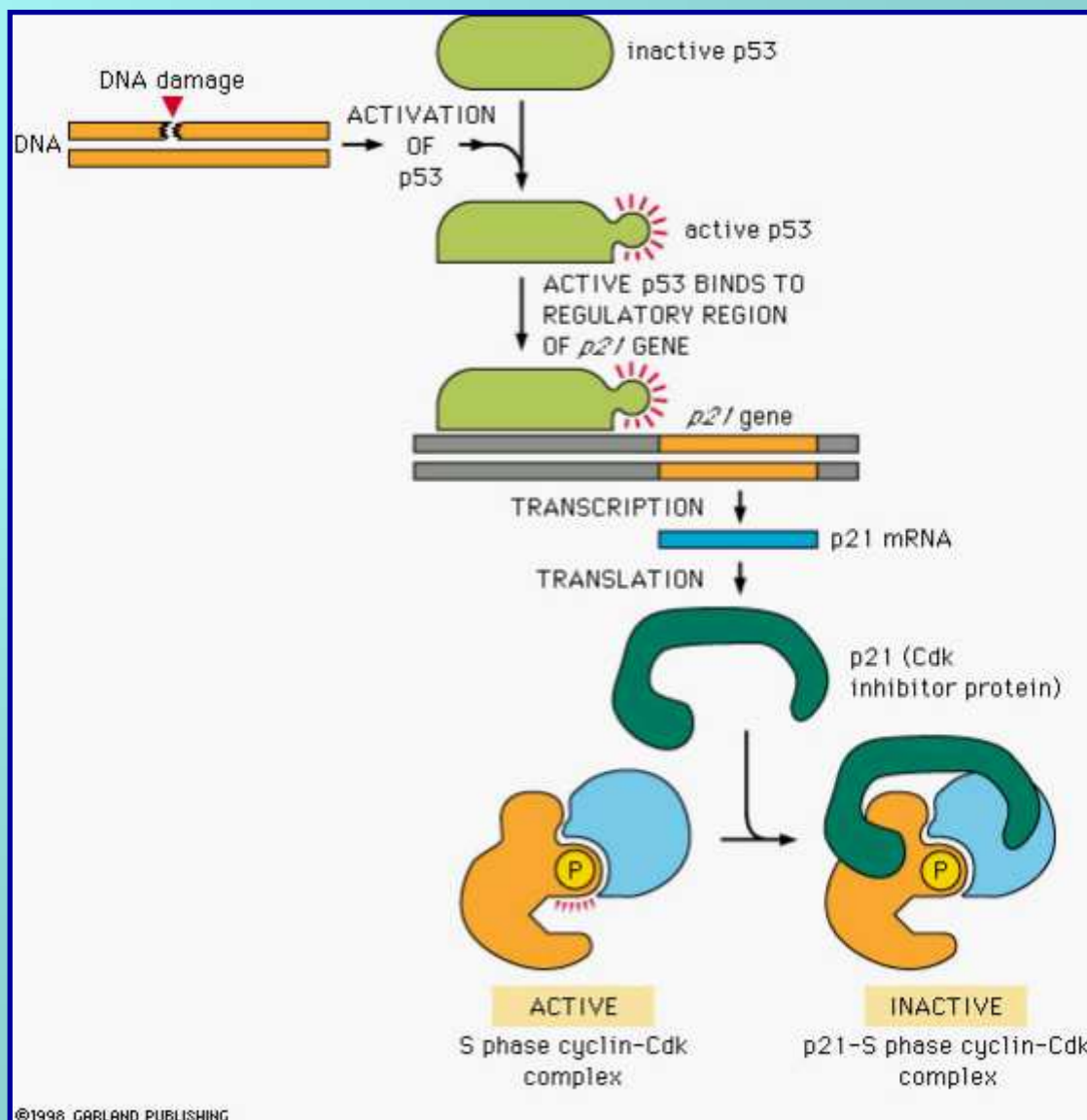


Aktivita se zvyšuje při oxidačním stresu a po UV záření a při zvýšené expresi onkogenů *Ras* a *Myc*

# Ovlivnění buněčného cyklu proteinem p53

P53 - váže se na DNA a indukuje transkripci p21 - p21 blokuje vazbou na Cdk -vstup a průchod S-fází

Pokud nefunguje nedochází k pozdržení cyklu při nutnosti oprav DNA - zlomy DNA - abnormální ch.

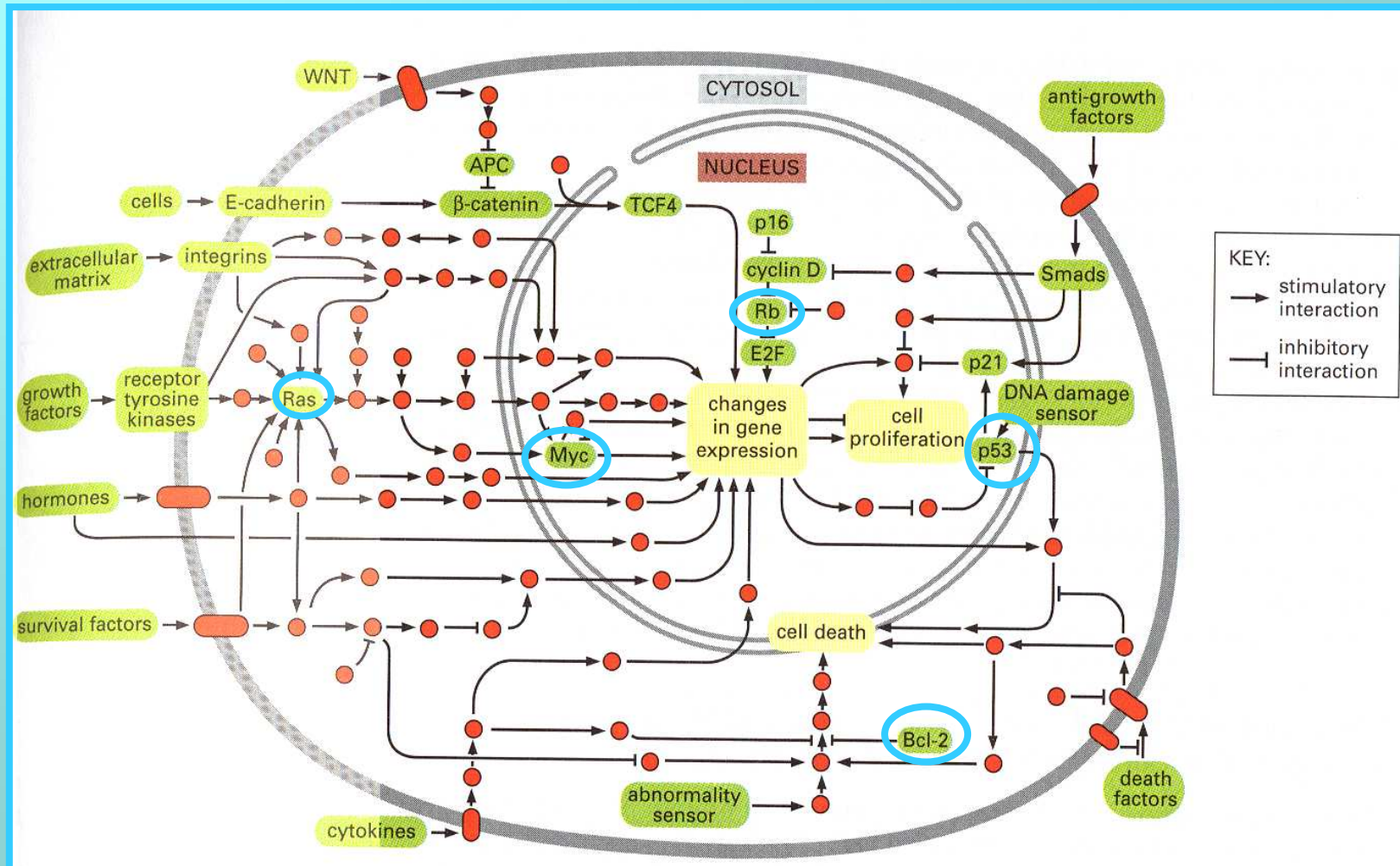




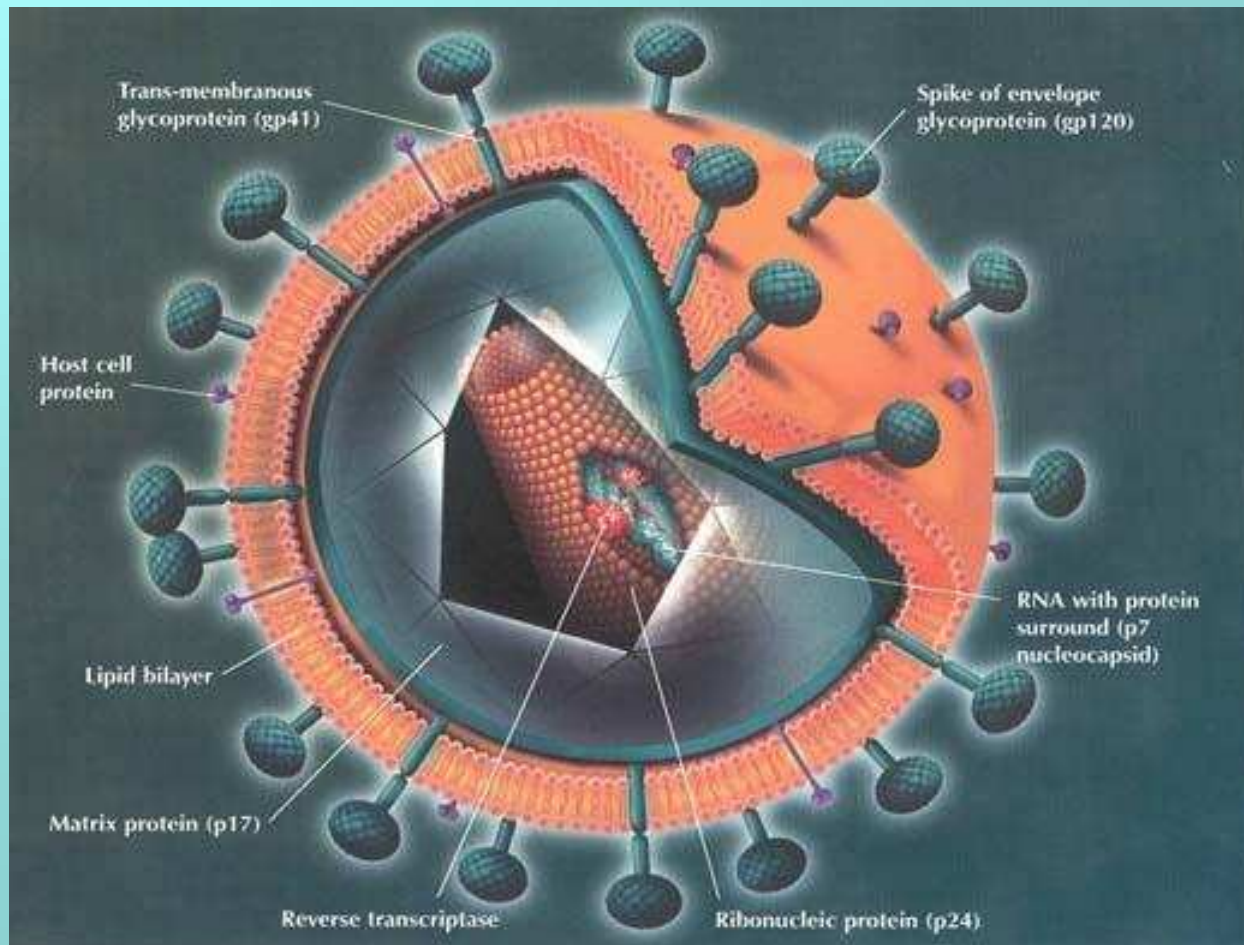
## Nefunkční p53

- 1) poškozené mutované bb pokračují v buněčném cyklu
- 2) umožní poškozeným bb vyhnout se apoptóze
- 3) vznik genetické instability, umožňující akumulaci mutací

# Mapa signálních drah se vztahem k rakovině



# Onkoviry



# RNA Onkoviry

**Retroviry** (RNA viry, onkornaviry):

Akutně transformující - nádory během několika dní po injekci vnímavému zvířeti (nesou onkogen) transformují i buňky v kultuře

Chronické (pomalu transformující retroviry) - po měsících, netransformují buňky v kulturách - nemají onkogen - inzerční mutageneze (leukemické viry)

-inzerce v blízkosti proto-onkogenu - aktivace- přepis díky virovému promotoru (*myc, myb, erb B*)

Retroviry získaly onkogeny rekombinací s hostitelskou DNA - retrovirová transdukce

# Genom retroviru

Může obsahovat i onkogen



Geny pro kapsidu, polymerázu, obal

Signál pro obalení viru

Repetitivní sekvence – obsahují enhancery, umožňují inzerci

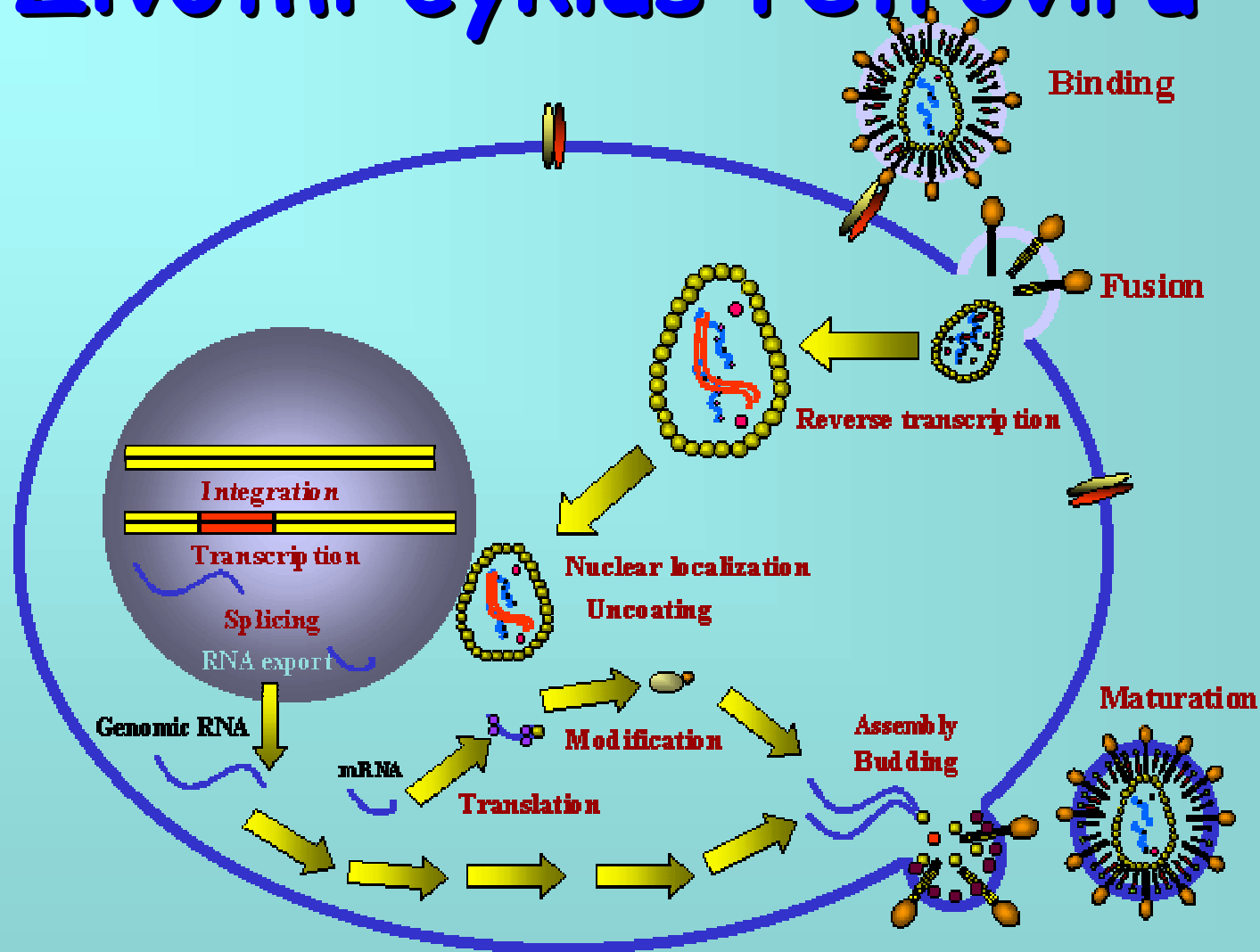
# Retroviry

Inzerce retrovirů do buněčného genomu (transdukce) ovlivňuje kontrolu buněčných genů silnými retrovirovými **promotory a zesilovači** (enhancery) což má za následek konstitutivní produkci normálního proteinu (**overexpresi**) - pokud se začlení vedle protoonkogenu (např. c-myc nebo c-erbB) vede ke vzniku **nesmrtelné buněčné linie**, ale nestačí to k zahájení kompletní maligní transformace.

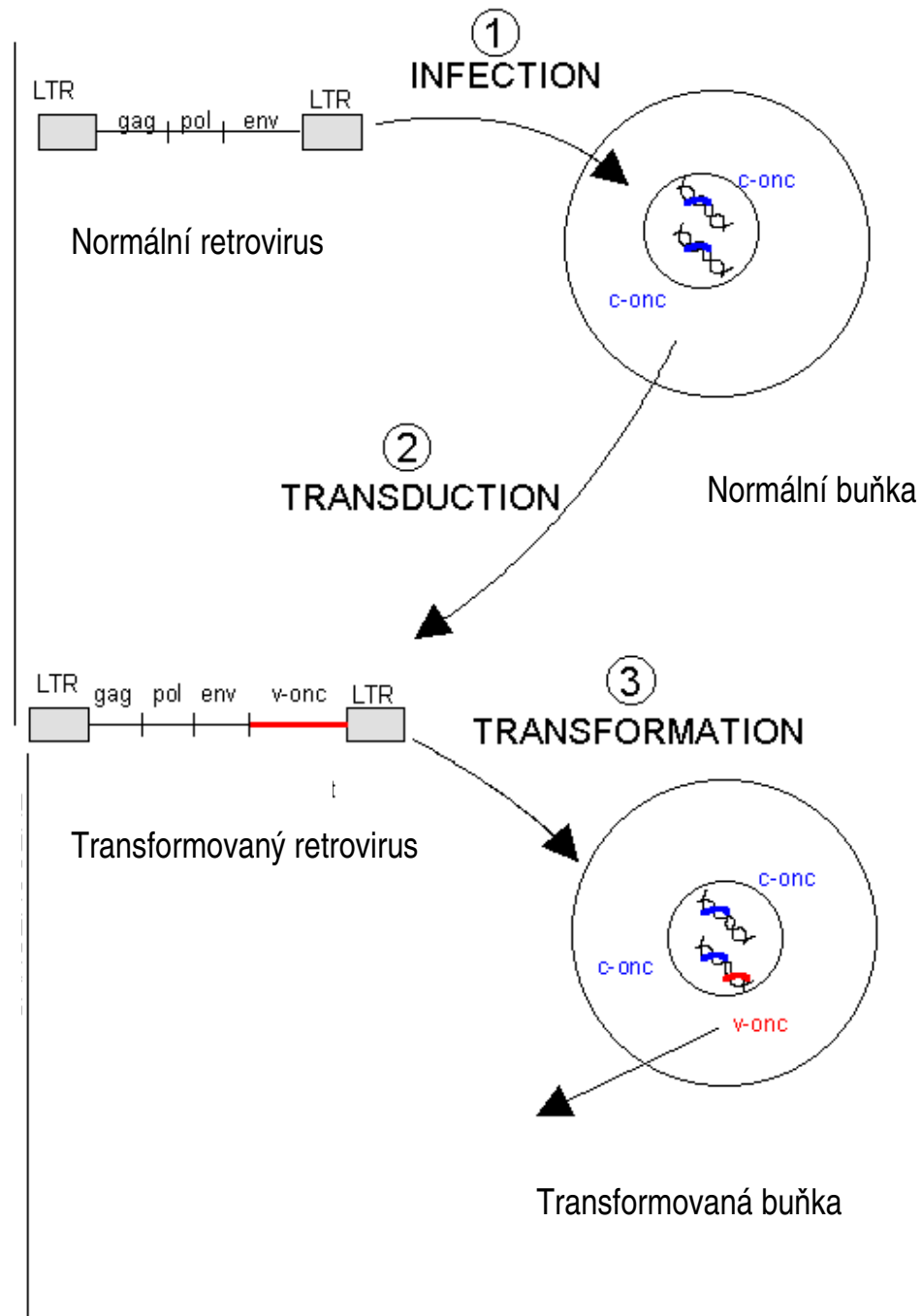
Jako **transduktory** se uplatňují zejména tzv. akutně transformující retroviry jako např. virus Rousova sarkomu.



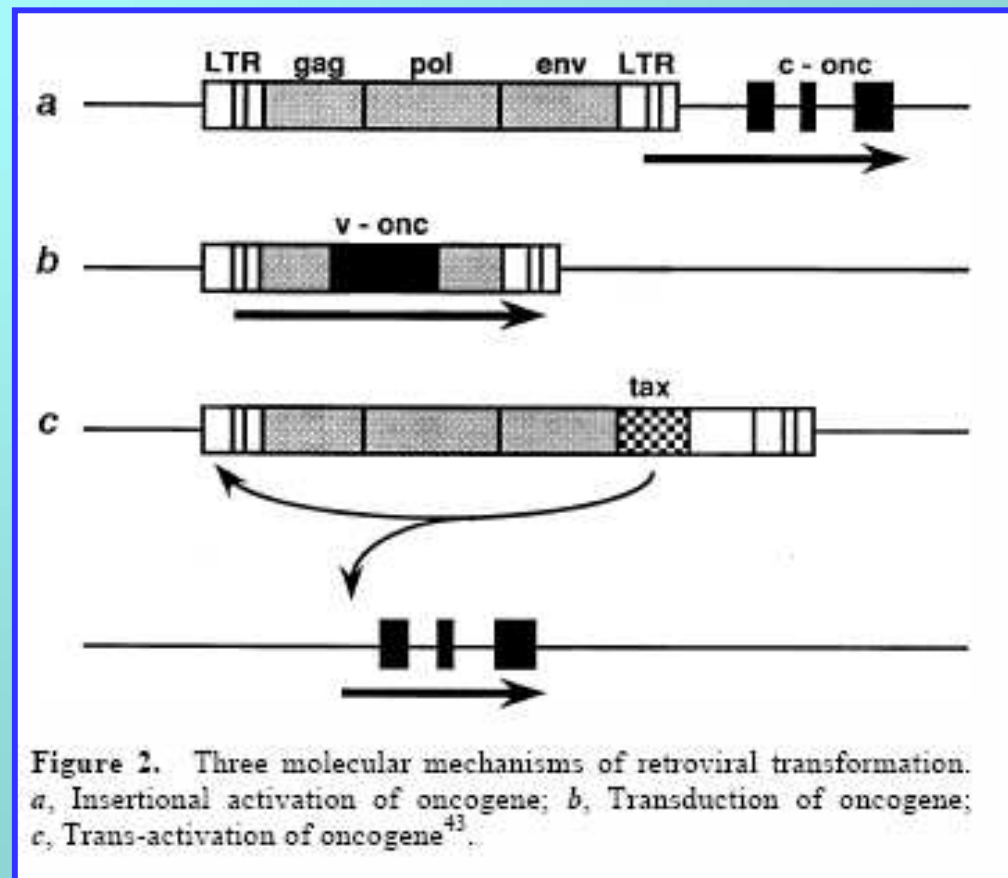
# Životní cyklus retroviru



# Retrovirová transformace



# Mechanizmy retrovirové nádorové transdukce



# Retroviry

## Oncovirinae

**lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1)** - T-leukemie (lymfom) dospělých (ATL), doba latence asi 30 let, vysoká proliferační aktivita napadených bb- větší pravděpodobnost mutací

## Lentivirinae

• **Viry HIV-1 a HIV-2** nádory spojené s jejich infekcí - non-Hodkinův lymfom, primární mozkový lymfom, Kaposiho sarkom

# DNA Onkoviry

DNA nádorové viry (onkodnaviry) - nestejnorodý soubor

Bud' proběhne v bb replikace viru, která vede k **zániku bb** - nevede k transformaci - **permisivní bb**

Nebo se virus bb přizpůsobí (**nepermisivní bb**) a **replikuje se společně s jejím genomem** - cílem viru není bb zahubit, ale řídí svou i její replikaci a v tom může nastat chyba

Extrachromozomální cirkulární DNA - episomy

**neobsahují lidské onkogeny** - kódují proteiny, které interagují s **nádorovými supresory** (RB, p53, p300/CBP) - **virové onkoproteiny, antigeny T** (tumor antigens) jsou nezbytné pro virovou replikaci

**Aktivují replikaci blokádou tumor supresorových genů, ovlivnění kontroly BC**

# DNA Onkoviry

Nesou geny kódující proteiny, které interagují s některými produkty antionkogenů a brání jejich supresivnímu účinku (pro viry je výhodné, aby buňka postupovala do S-fáze a mitózy)

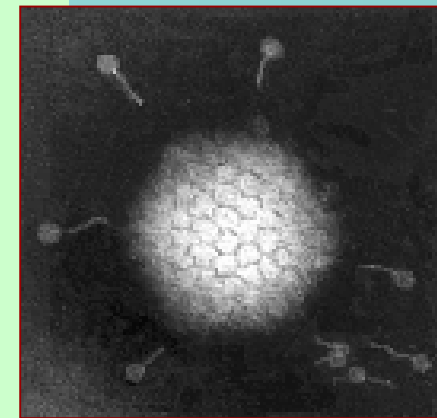
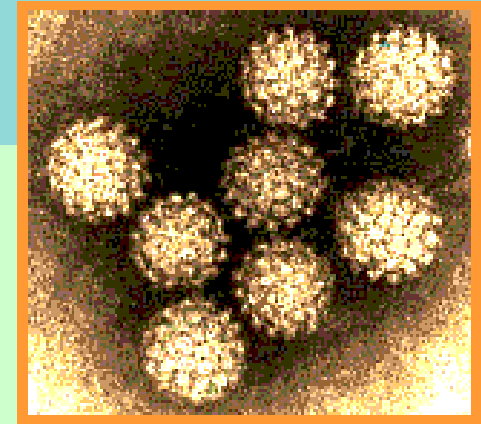
## Adenoviry:

Onkogeny E1A interaguje s Rb a p300/CBP;  
v jádře interakce s transkripčními faktory

E1B interaguje s p53

Každý kóduje 2 hlavní a několik vedlejších bílkovin - sestřih primárního transkriptu  
-regulace exprese virových i buněčných genů

Kancerogenní u zvířat





# DNA Onkoviry

## Papovaviry

- polyomaviry - 1 oblast genomu kóduje více než 1 bílkovinu -  
**SV40**: velký T antigen (90kD) různými doménami interaguje s p53, Rb, p300/CBP

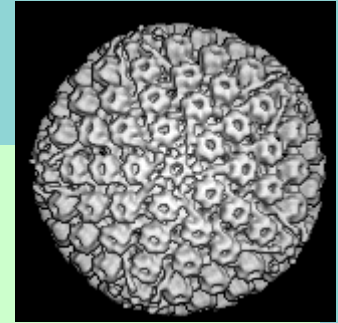
+ malý antigen T (19 kD)

Papilomaviry (HPV 16, 18,...) - několik malých bílkovin -  
**HPV-16, HPV-18**: bílkovina E6 interaguje se 2 základními tumor supresorovými geny - p53, p300/CBP; E7 interaguje s Rb + interakce s DNA - deregulace exprese genů podílejících se na proliferaci

Epiteliální bb - genitální nádory, nádory ústní dutiny, bradavice

V benigních nádorech - ve formě episomů, v maligních integrace do genomu

# DNA Onkoviry



## Herpes viry

- „Hit and run“ mechanismus onkogeneze

**EB (Epstein Barrové virus)** - nukleární antigen EBNA-1  
- není transformačním proteinem - znemožňuje dozrání viru a udržuje ho v episomálním stavu - 2 transformační proteiny - EBNA-2 - ovlivňuje příjem signálu (růstové faktory a receptory), LMP1 - transaktivátor buněčných a virových genů

- HSV-2

-- Burkittův lymfom (BL), Hodgkinův lymfom (HD),  
lymfomy, nazofaryngální karcinomy (NPC)

- Transformace lidských B-lymfocytů in vitro

Infekční mononukleóza

- u některých lidí nádory, u některých infekce!?

# DNA Onkoviry

**Lidský herpesvirus typu 8 (HHV8)** - Kaposiho sarkom (KS)

• **Herpes simplex II** - cervikální rakovina

• **Virus hepatitidy B (HBV)** - chronická infekce- integrace do chromozomu- hepatocelulární karcinom (HCC) - u mužů až 50% pravděpodobnost, po 20-30 letech od infekce

**Virus Rousova sarkomu (RSV)** obsahuje v-src

# Onkogenní viry a lidské nádory

**Table 9-2 Some Oncogenes Originally Identified Through Their Presence in Retroviruses That Cause Cells to Become Cancerous**

Oncogene	Proto-oncogene Function	Source of Virus	Virus-induced Tumor
<i>abl</i>	protein kinase (tyrosine)	mouse	pre-B-cell leukemia
		cat	sarcoma
<i>erb-B</i>	epidermal growth factor (EGF) receptor	chicken	erythroleukemia; fibrosarcoma
<i>fes</i>	protein kinase (tyrosine)	cat/chicken	sarcoma
<i>fm3</i>	macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) receptor	cat	sarcoma
<i>fos, jun</i>	associate to form a gene regulatory protein	mouse	osteosarcoma
		chicken	fibrosarcoma
<i>myc</i>	gene regulatory protein	chicken	sarcoma; myelocytoma carcinoma
<i>raf</i>	protein kinase (serine/threonine)	chicken/mouse	sarcoma
<i>H-ras</i>	GTP-binding protein	rat	sarcoma; erythroleukemia
<i>rel</i>	gene regulatory protein	turkey	reticuloendotheliosis
<i>sis</i>	platelet-derived growth factor, B chain	monkey	sarcoma
<i>src</i>	protein kinase (tyrosine)	chicken	sarcoma

The *fes*, *jun*, *myc*, and *raf* proto-oncogenes encode proteins normally located in the nucleus, where they regulate gene transcription. The *erb-B* and *fm3* proto-oncogenes encode proteins located on the outer membrane of cells that receive signals from outside the cell and transmit that information to the inside of the cell (see Chapter 15). *Abl*, *fes*, *ras*, *raf*, and *src* oncogenes encode proteins located in the cytoplasm that are components of signaling pathways (Chapter 15). The *sis* proto-oncogene encodes a secreted protein that signals other cells to divide.