

# Úvod do nádorové biologie

Stjepan Uldrijan

Biologický ústav  
Lékařská fakulta  
Masarykova Univerzita Brno



uldrijan@med.muni.cz

## Nádorová onemocnění

- Nádorové bujení mohou poskytnout mnoho různých orgánů a tkání
  - Existuje více než 100 různých typů nádorů
- Chování jednotlivých typů nádorů se může velice lišit - Některé nádory zůstávají často lokalizovány v původní tkáni (např. nádory prostaty) a jiné se naopak velice agresivně šíří (např. karcinom slinivky)
- V roce 2000: 10 milionů lidí na celém světě onemocnělo rakovinou a 6.2 milionu lidí této nemoci podlehl
- V roce 2020: očekáváme 16 milionů nových případů rakoviny

## Benigní a maligní nádory

- **Benigní (nezhoubné) nádory**

- Rostou lokalizovaně a neinvadují přilehlé tkáně
- Epiteliální nádory považujeme za nezhoubné, pokud nejsou schopny penetrovat **bazální membránu** (specializovaný typ buněčné matrix, který odděluje epitheliální buňky od podpůrné vrstvy pojivové tkáně - stroma)
- I nezhoubné nádory mohou představovat vážný problém, např. pokud svým růstem tlačí na důležité orgány a ovlivňují jejich funkci
- Některé nezhoubné nádory se mohou rozvinout v nádory maligní

- **Maligní (zhoubné) nádory**

- **Prorůstají do okolních tkání a mohou se šířit ve formě metastáz**
- **Primární nádor x metastázy**
- Metastázy maligních nádorů jsou příčinou asi 90% všech úmrtí na nádorová onemocnění

## Příklady metastáz do různých orgánů

A



Figure 2-2b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

B

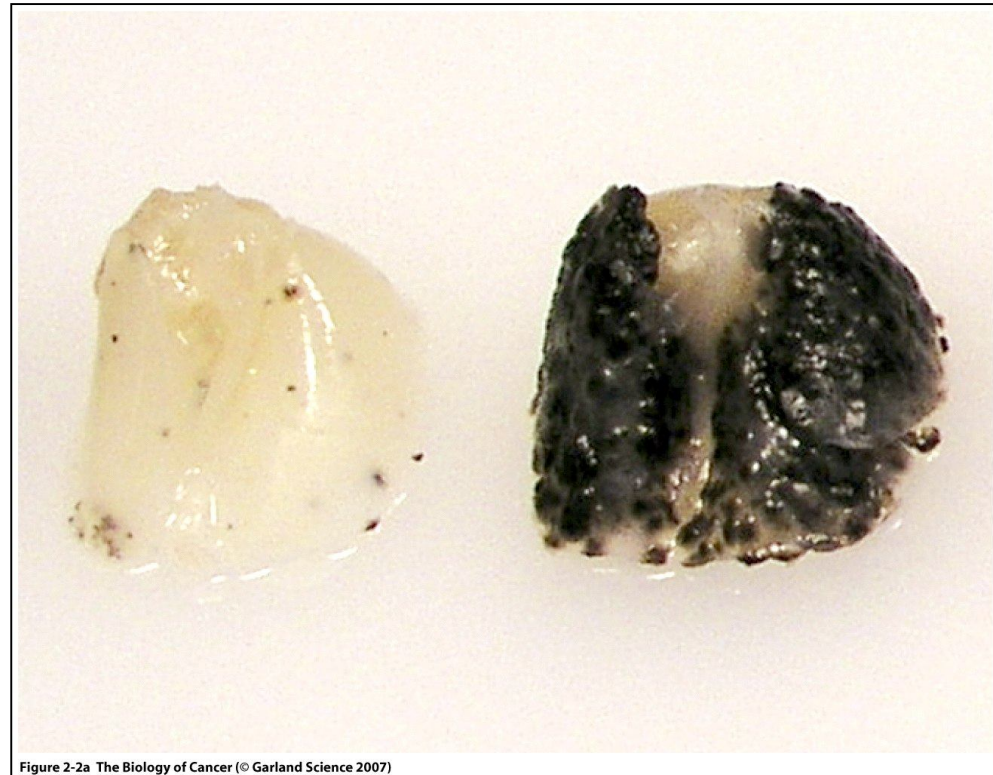
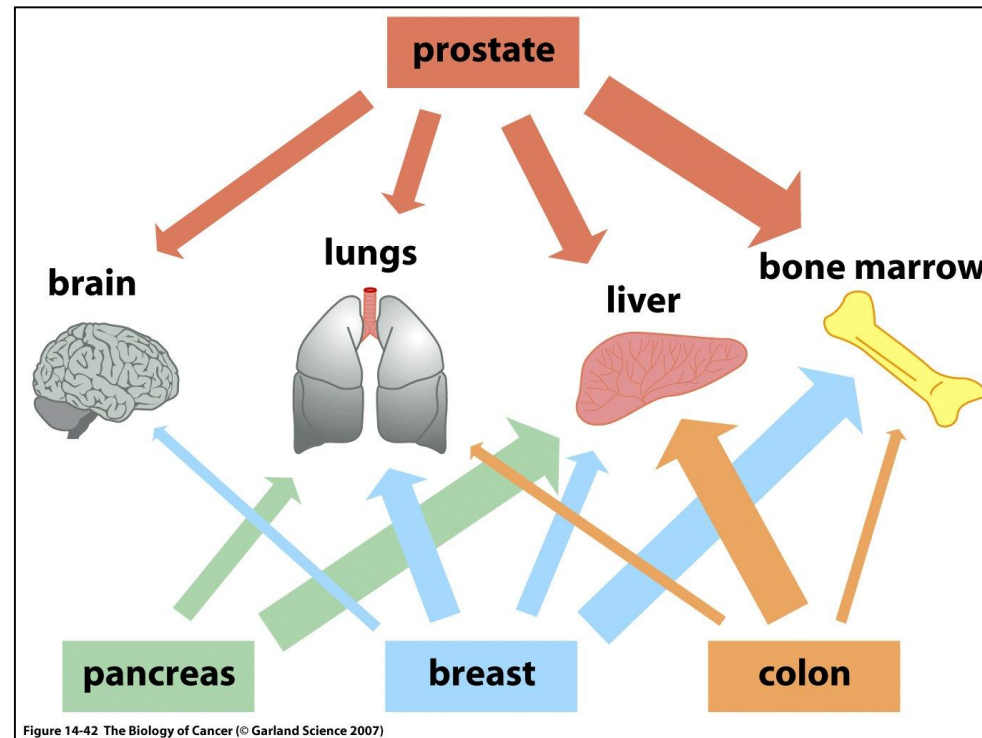


Figure 2-2a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

**A: Jaterní metastázy karcinomu tlustého střeva**

**B: Metastázy maligního melanomu do plic (myší model)**

## Různé primární nádory přednostně metastazují do různých orgánů



## Geny nejčastěji postižené mutacemi v nádorových buňkách

Karcinogeny často působí jako mutageny - způsobují poškození genetické informace buňky

**1. Proto-onkogeny / Onkogeny** - v nádorových buňkách dochází k jejich aktivaci.

- Kódují proteiny, které se účastní přenosu různých signálů v buňce (signal transduction) a regulují buněčné dělení nebo diferenciaci.
- Mutace nebo zvýšená exprese (produkce) těchto proteinů vede k nadměrnému zvýšení jejich aktivity v buňce (proto-onkogen se mění na onkogen)

Příklady: EGFR, Ras, Raf, Src, Myc

**2. Nádorové supresory** - v nádorech dochází k vyřazení jejich funkce

- Zabraňují množení poškozených nebo neregulovaně rostoucích buněk.
- Jiné n.s. se podílí na opravách poškozené DNA a zabraňují akumulaci mutací v buňkách.

Příklady: p53, p16, Rb, APC, MLH1, MSH2, BRCA1, BRCA2

## Mutace vedoucí ke vzniku nádorů

1. **Somatické mutace** – vynikají *de novo* v somatických buňkách a mění jejich vlastnosti. Přenáší se do dceřiných buněk, ale nedědí se.
2. **Zárodečné mutace** – vznikají v genomu spermie nebo vajíčka, nebo jejich prekursorů v gonádách. Mutace se mohou přenášet na potomstvo a mohou je predisponovat k různým typům nádorů.

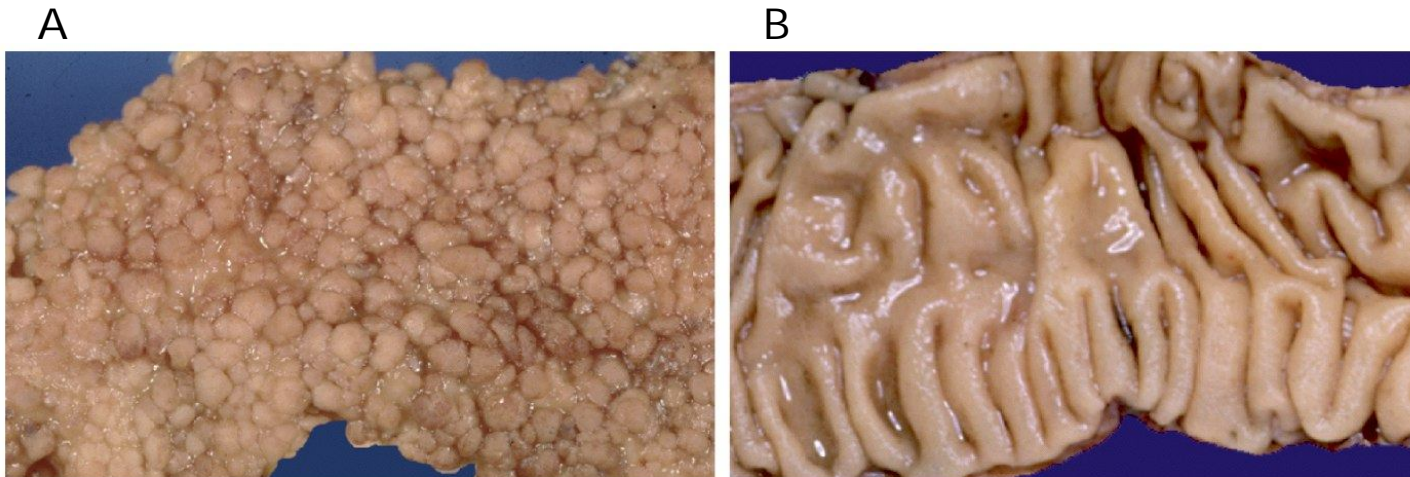


Figure 7-22 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

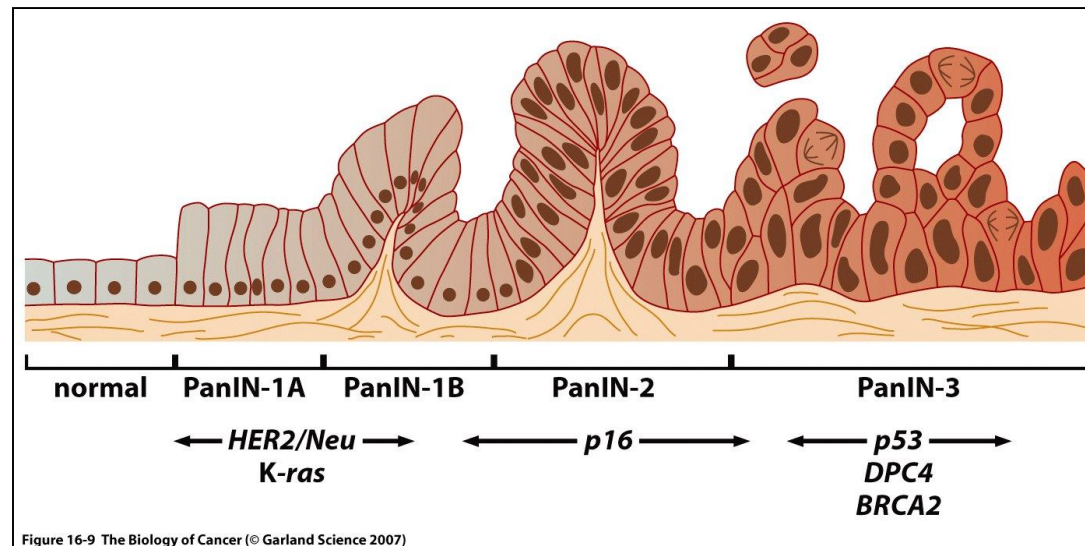
- A: Stěna tlustého střeva jedince postiženého familiální adenomatózní polypózou (obvykle způsobena zárodečnými mutacemi v nádorovém supresoru APC).**
- B: Normální tlusté střevo**



## Vznik rakoviny je postupný pomalý proces

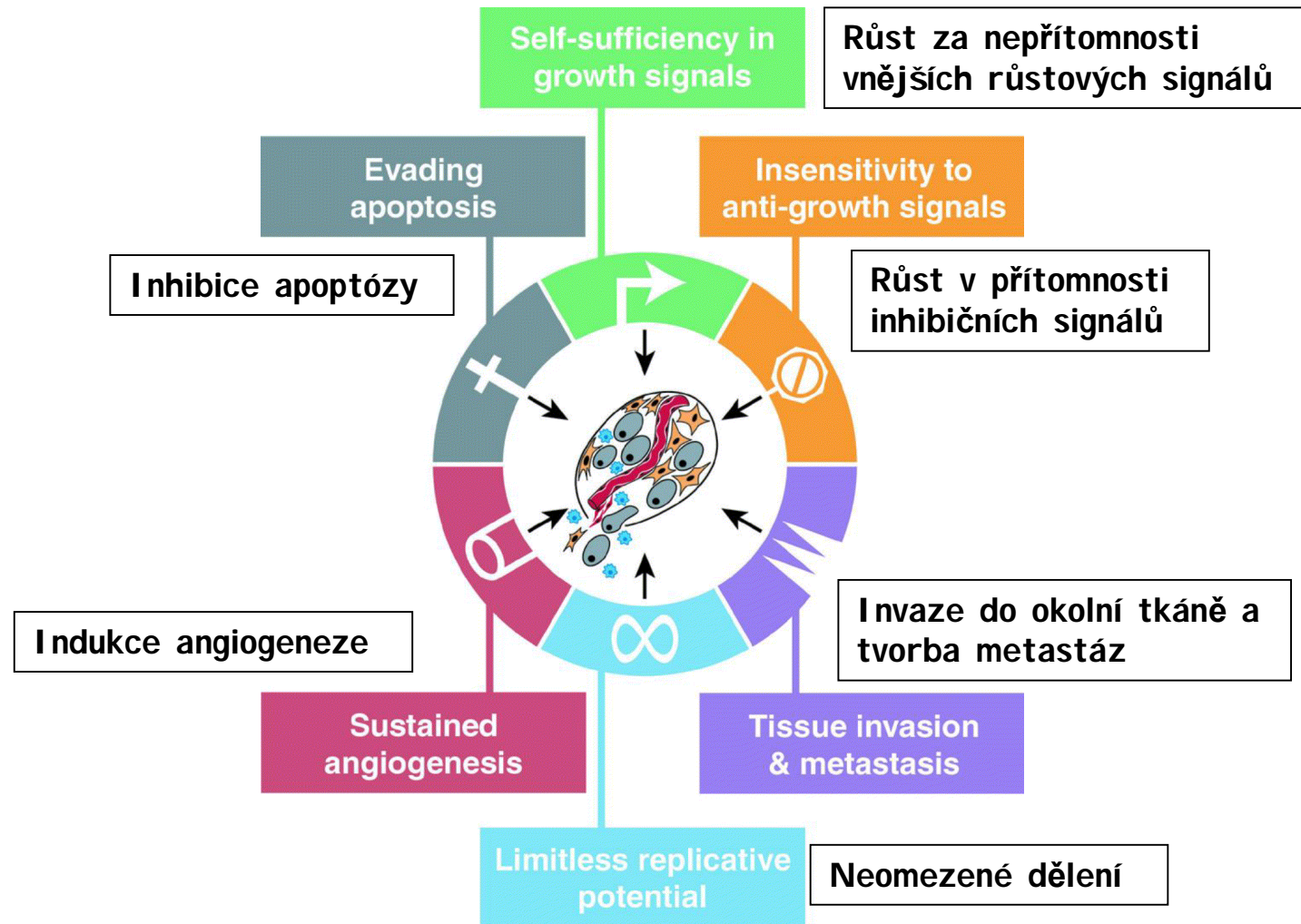
- Buňky kumulují mutace, které jim poskytují určité růstové výhody

Příklad: progresse karcinomu slinivky  
(PanI N = pankreatická intraepiteliální neoplázie)











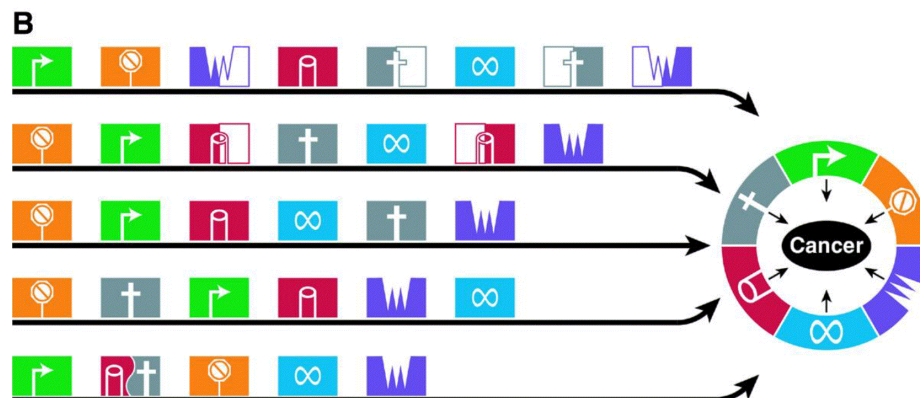
# Všechny maligní nádory musely ve svém vývoji získat několik důležitých vlastností a schopností



# Všechny maligní nádory musí získat všech šest schopností, ale mohou je získávat v různém pořadí a různými mechanismy

**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

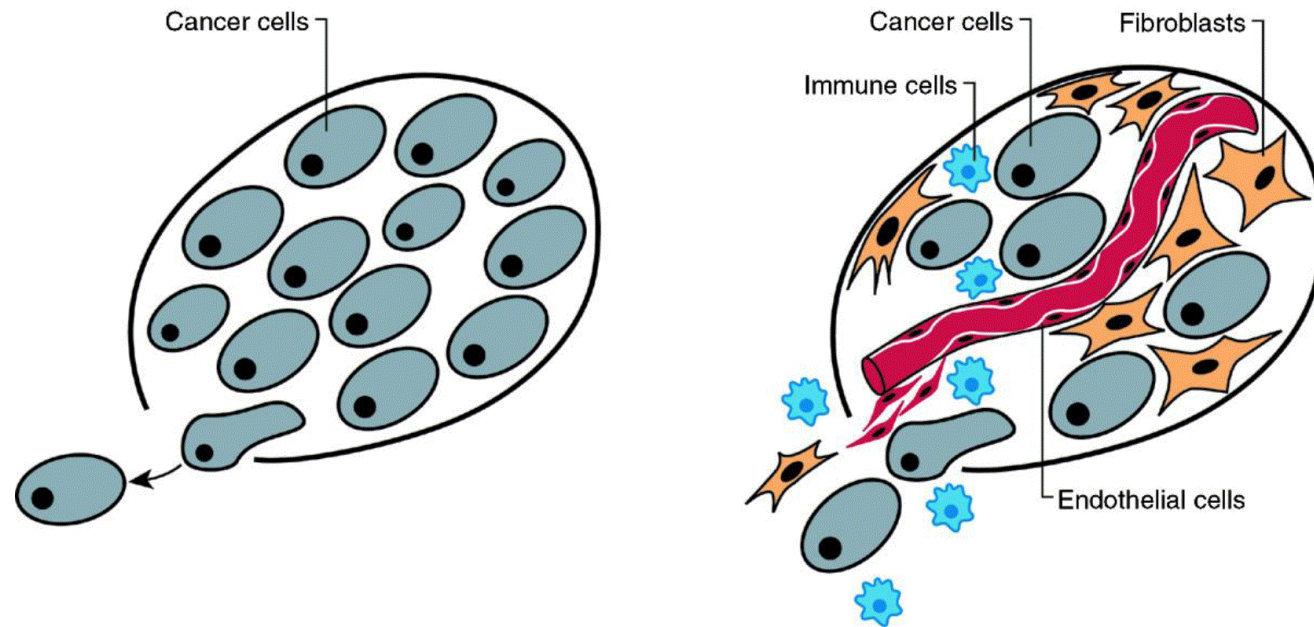


- Někdy je třeba několika mutací aby nádor získal danou vlastnost.
- Jindy může jedna jediná mutace vést k získání několika těchto vlastností současně.

## **1. Růst v nepřítomnosti vnějších růstových signálů**

## Nádorové buňky nejsou izolovány od okolní tkáně

- Interagují s mnoha dalšími buněčnými typy a ze svého okolí dostávají mnoho různých signálů



U normálních buněk tyto signály rozhodují o tom, jestli se v  $G_1$  fázi buněčného cyklu zastaví, nebo budou pokračovat do S fáze

prophase, metaphase, anaphase, telophase

A

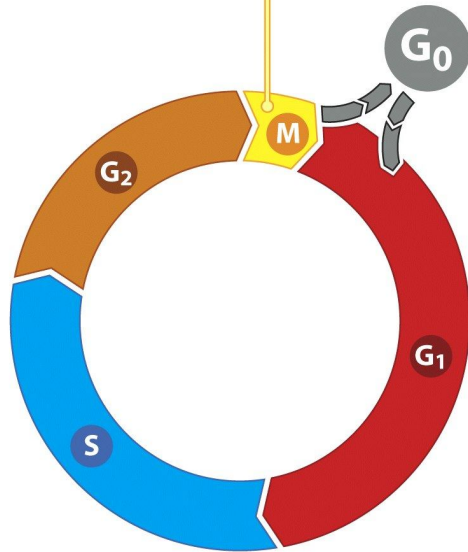
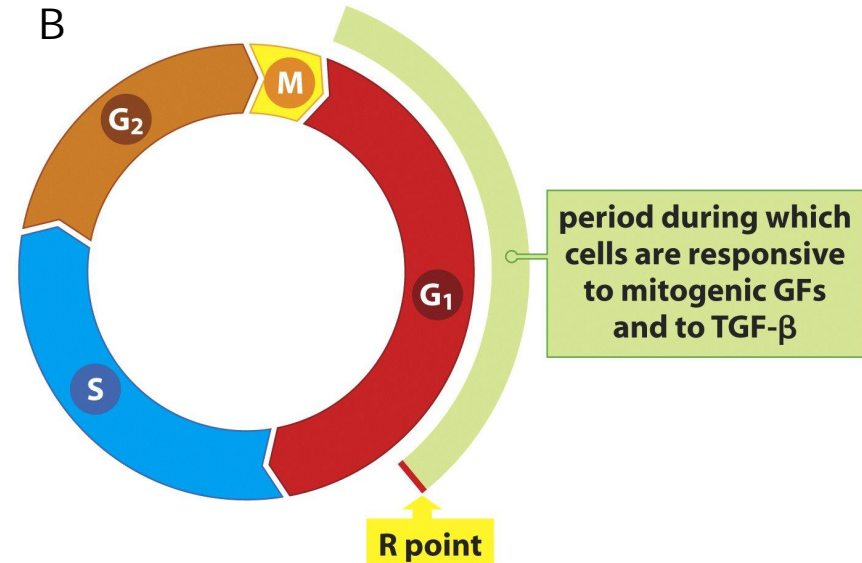


Figure 8-3b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

B

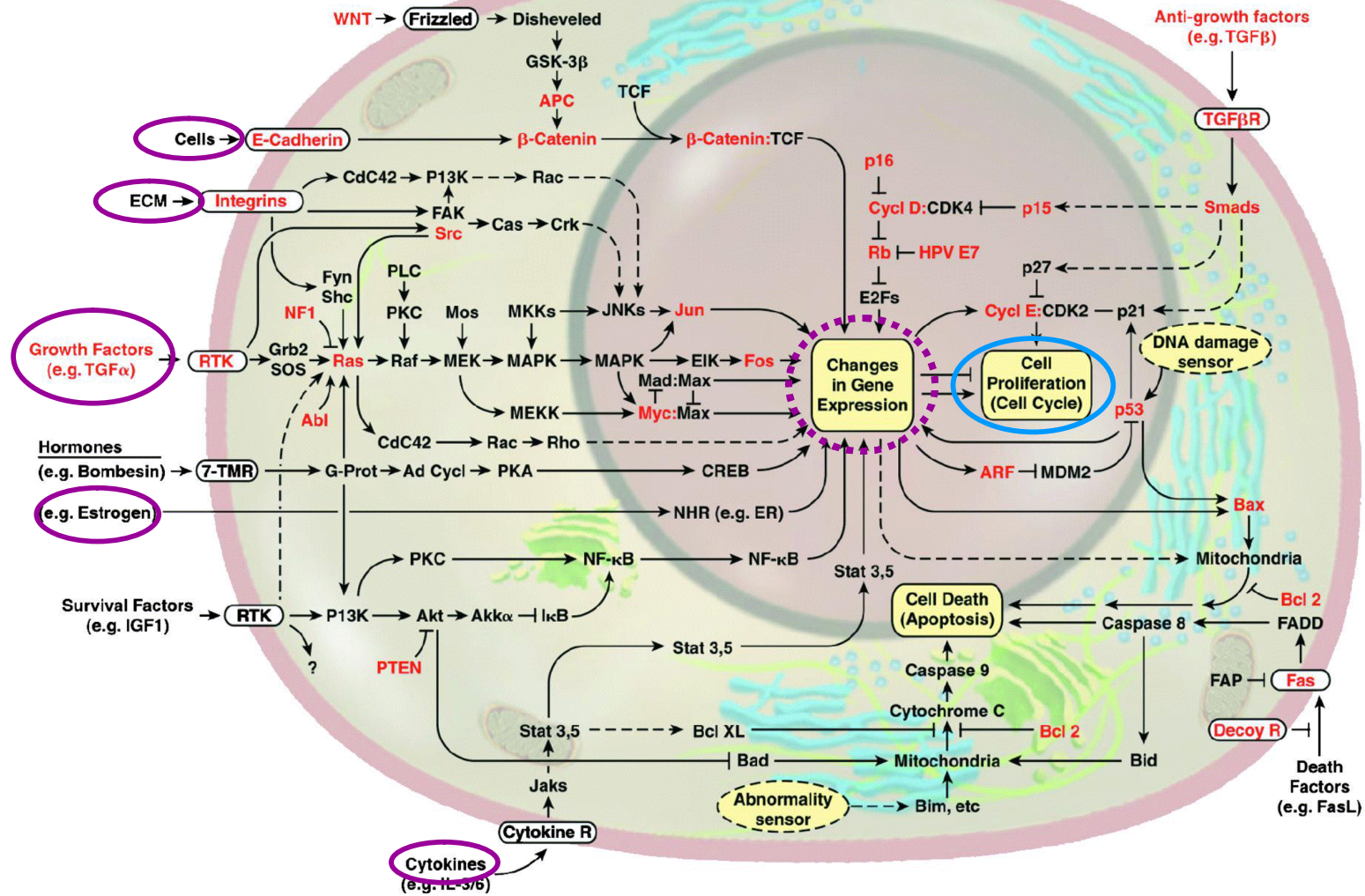


A: Přítomnost růstových signálů umožní normální buňce ukončit  $G_1$  a přejít do S fáze. Za absence růstových (mitogenních) faktorů nebo v přítomnosti faktorů inhibujících růst (např. TGF $\beta$ ) buňky opustí buněčný cyklus a vstupují do tzv.  **$G_0$  fáze**

B: K tomuto rozhodnutí dochází vždy ve stejném bodě v  $G_1$  fázi, říká se mu **bod restrikce (R-point)**



# Příklady signálních drah, které regulují buněčnou proliferaci



## Aktivace receptoru v nádorových buňkách i bez přítomnosti vnějších růstových faktorů I.

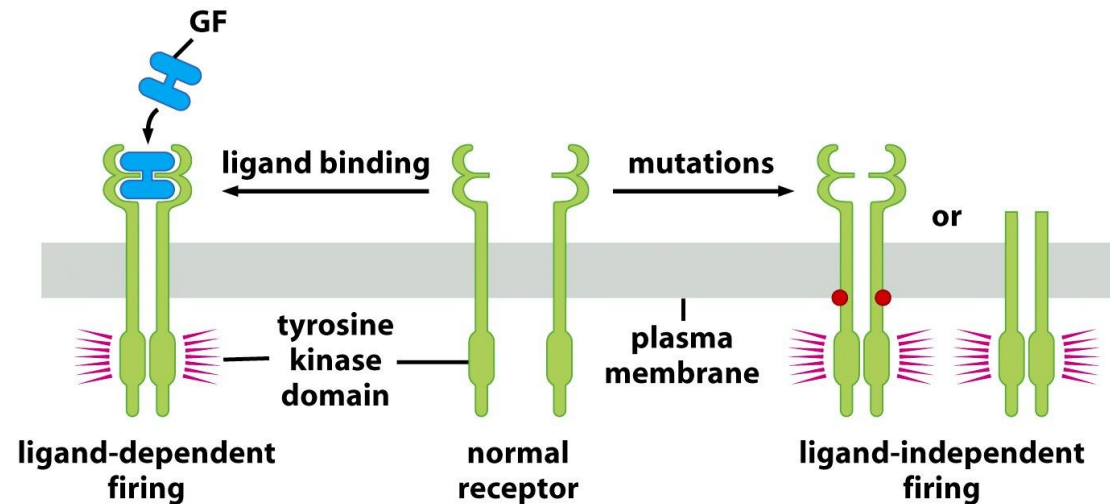


Figure 5-12a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

- Za normální situace receptor aktivuje buněčné signální dráhy jen pokud je na něj navázaný specifický ligand (růstový faktor, growth factor -GF)
- Mutace v genu kódujícím receptor mohou způsobit, že receptor je aktivní neustále, i za nepřítomnosti růstového faktoru



## Aktivace receptoru v nádorových buňkách i bez přítomnosti vnějších růstových faktorů II.

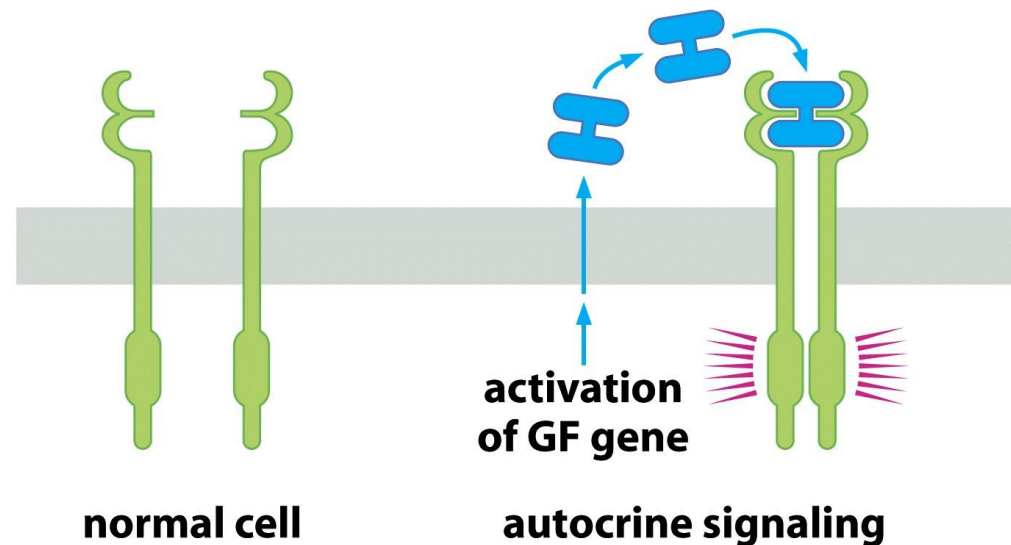


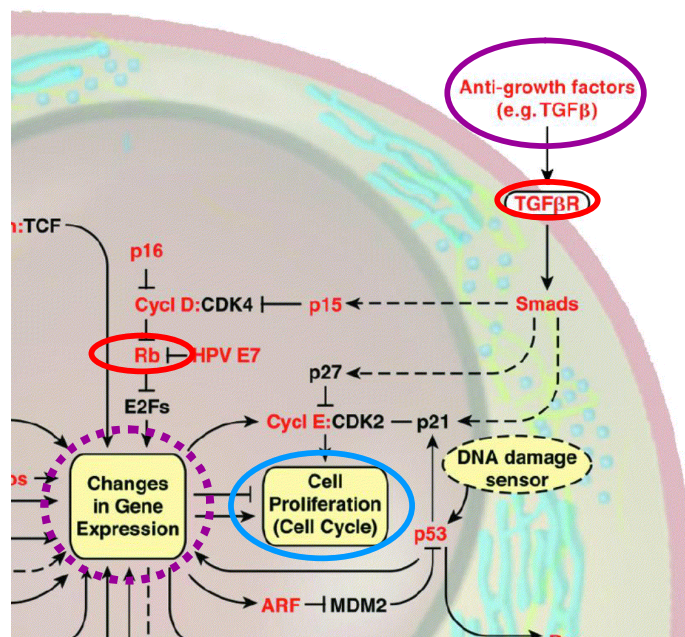
Figure 5-12b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

- Normální buňky obvykle neprodukují růstový faktor, jehož receptor nesou na svém povrchu
- Nádorové buňky někdy aktivují expresi genu, jenž takový růstový faktor kóduje a začnou jej produkovat. Tím samy sebe stimulují k růstu a dělení (autocrine signalling).

## **2. Růst v přítomnosti inhibičních signálů**

## Příklady inhibičních signálních drah

V normální tkáni působí mnoho různých antiproliferačních signálů, které zajišťují vnitřní rovnováhu a udržování buněk v  $G_0$ . Také tyto signály působí přes receptory v buněčné membráně, které jsou napojeny na intracelulární signální dráhy.



Mutace v receptoru pro **TGF $\beta$**  (TGF $\beta$ R) or nebo ztráta nádorového supresoru **Rb** činí buňky necitlivými k těmto inhibičním signálům

### 3. Schopnost neomezené replikace

Buňky musí překonat **senescenci** a ztrátu funkce **telomer**

**Normální buňky mají omezený replikační potenciál,**  
tzn. že se nemohou dělit do nekonečna

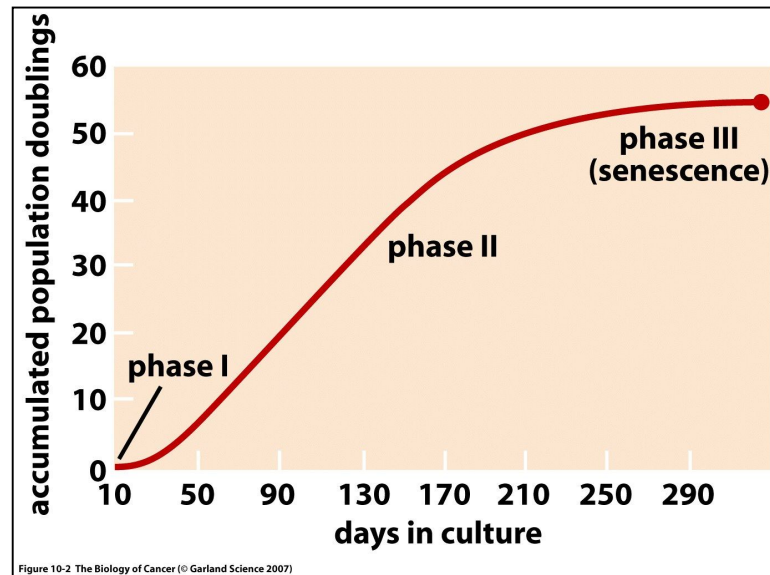


Figure 10-2 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

Např. lidské fibroblasty se v kultuře intenzivně dělí po asi 60 generacích a pak se dělit přestanou a vstoupí do stavu, kterému se říká (replikativní) **senescence**, kdy sice zůstávají životaschopné po velice dlouhou dobu, ale buněčný cyklus navždy opustily.

## Senescence vede k výrazné změně morfologie buňky

A

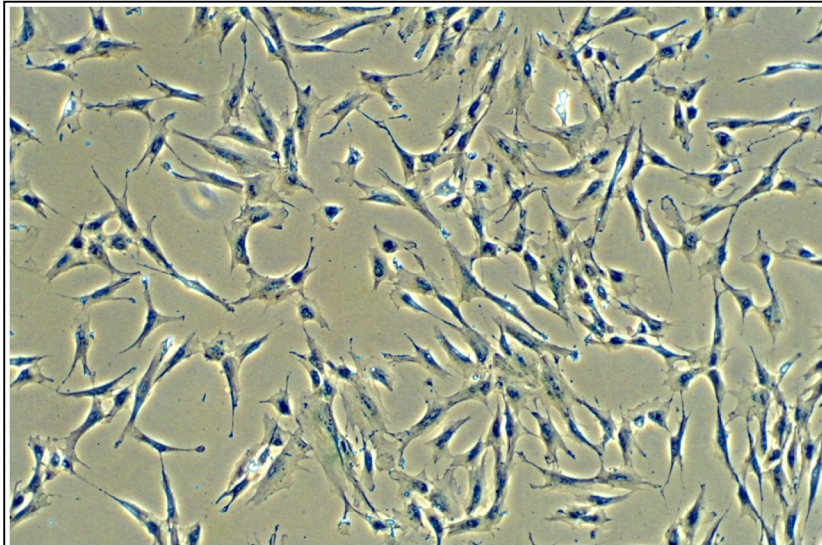


Figure 10-3a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

B

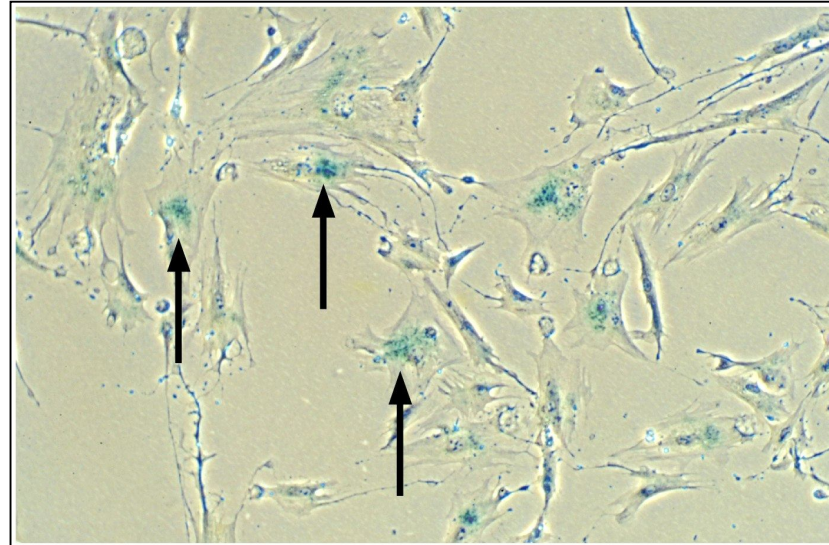


Figure 10-3b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

A: Pre-senescentní lidské fibroblasty, které se normálně dělí

B: Senescentní buňky změny tvar a začnou produkovat některé markery senescence, například zvláštní formu  **$\beta$ -galactosidázy**, enzymu, jehož přítomnost můžeme v buňkách snadno detekovat pomocí chromogenního substrátu (modré zbarvení buněk)

## K senescenci zřejmě vede postupné zvyšování exprese některých nádorových supresorů

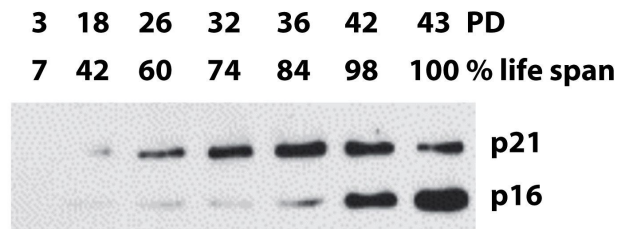


Figure 10-7a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

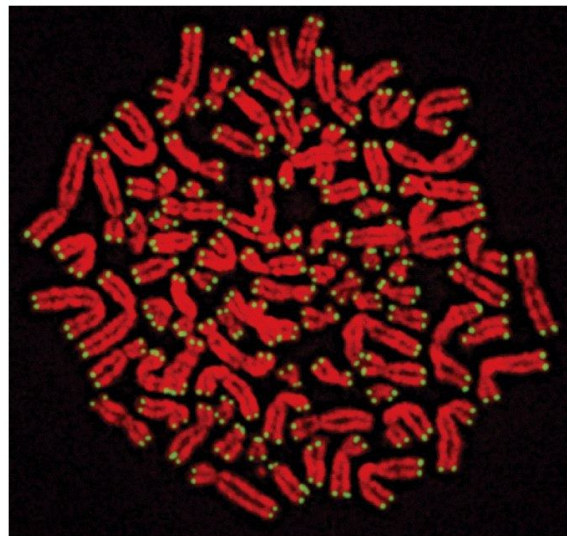
Např. fibroblasty v kultuře začínají produkovat dva důležité inhibitory cyklin-dependentních kináz, které jsou schopny inhibovat dělení buněk: p21 a p16

- Uměle indukovaná exprese proteinu p16 ve fibroblastech vede u těchto buněk ke stejným změnám, jaké pozorujeme při replikativní senescenci.
- Nádorové buňky obvykle inaktivují signální dráhy v nichž p21 a p16 působí (p53, Rb) a zřejmě právě tímto způsobem dokáží senescenci zabránit

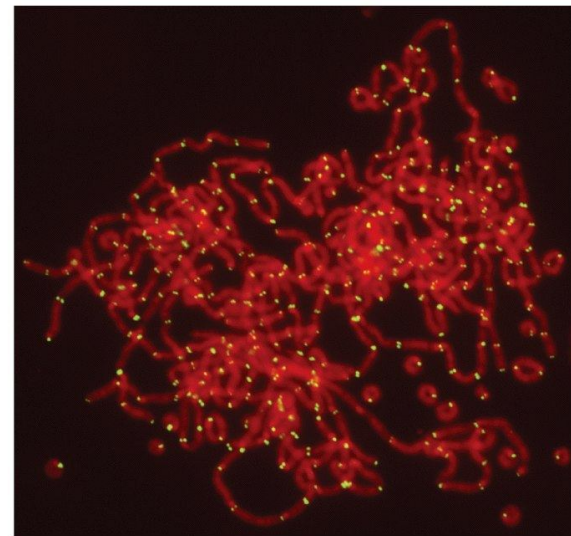


## Počet dělelní buněk také omezuje délka jejich telomer

- **Telomery jsou tvořeny několika tisíci opakováními krátké sekvence DNA (6 bp)**
- Funkcí telomer je **ochrana konců chromozomů (A)**
- DNA polymeráza nedokáže účinně replikovat konce chromozomů a tak **dochází při každém rozdělení buňky ke ztrátě asi 50-100 bp z konce telomer**
- Příliš krátké telomery nedokáží plnit svou ochrannou funkci a **chromozomy začínají fúzovat (B)** a vstupují do stavu, kterému se říká anglicky **crisis**.
- **Fúzované chromozomy se nedokáží oddělit během mitózy a dochází ke zlomům, které vedou k velkým změnám karyotypu a obvykle končí programovanou smrtí buňky (apoptózou)**



(A)



(B)

Figure 10-11 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

## Krátké telomery mohou vést k opakovaným fúzím a zlomům chromozomů

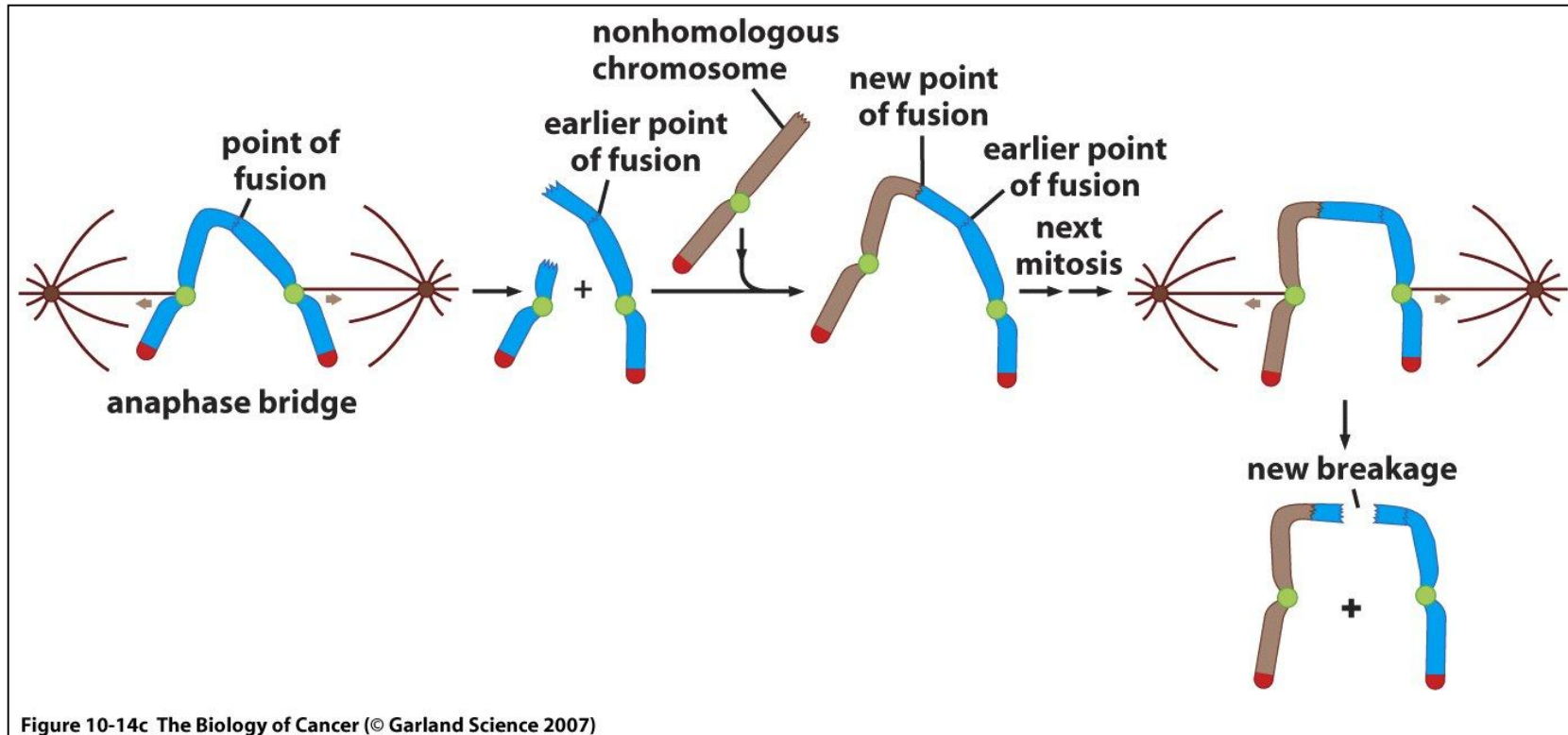
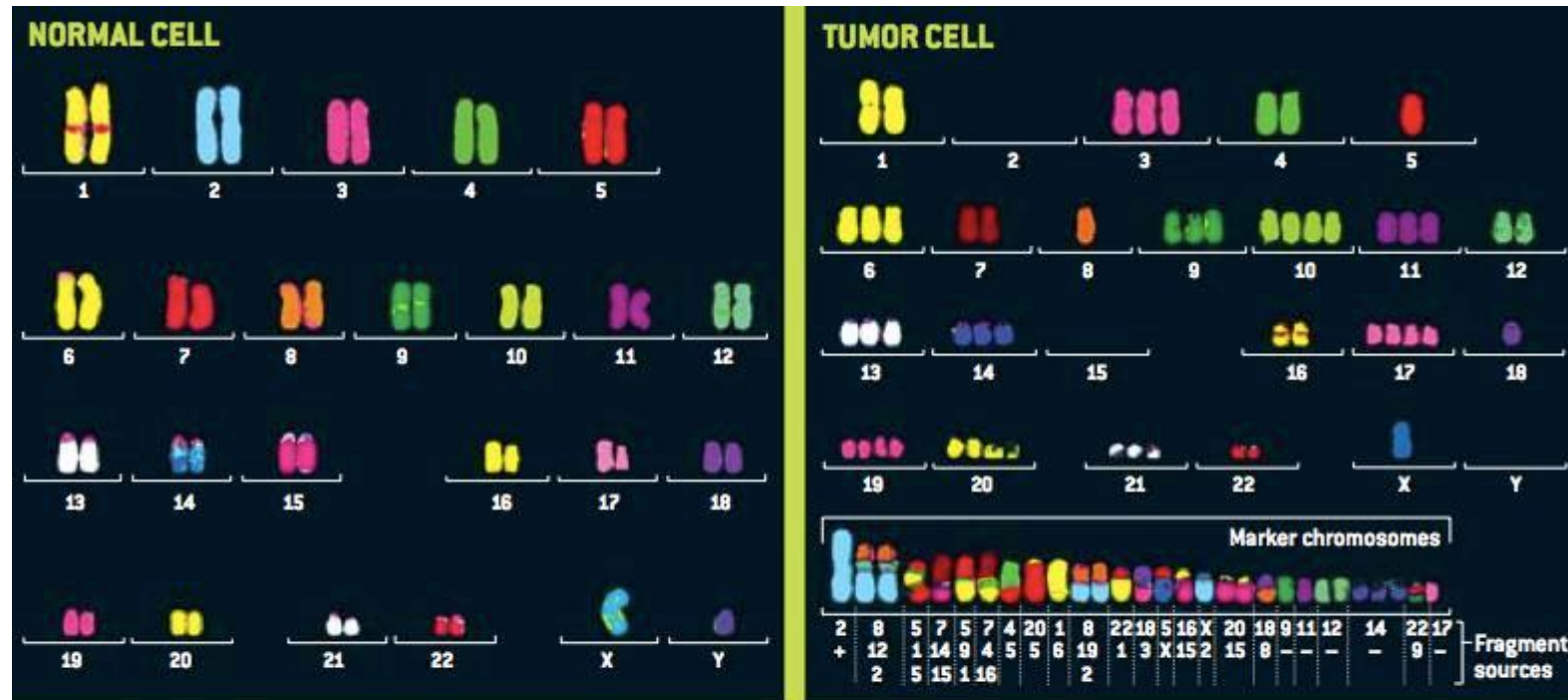


Figure 10-14c The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

## Příklad karyotypu normální a nádorové buňky



**ORDER AND ANARCHY:** A normal human cell's chromosome set, or karyotype (*left*), includes pairs of 23 standard chromosomes, whereas a tumor cell, like all cancers, exhibits the irregular karyotype (*right*) described as aneuploid: some whole chromosomes are missing, extra copies of others are present, and many have traded

fragments. Among these are so-called marker chromosomes, whose distinctive structural rearrangements are seen in all the tumor's cells, indicating changes that originated in the cell that spawned the cancer. Numbers under each one specify the sources of its fragments; plus and minus signs identify those that are larger or smaller than usual.

## Telomeráza

- Buňky mohou „crisis“ přežít, pokud začnou produkovat **telomerázu**, enzym, jehož funkcí je **prodlužování telomerické DNA**
- Telomeráza je **silně exprimována v embryonálních buňkách**, ale během diferenciací tkání dochází, až na několik málo výjimek, ke ztrátě její exprese
- Telomerázová aktivita je přítomna v **85-90% vzorků lidských nádorů!**

## **4. Inhibice apoptózy**

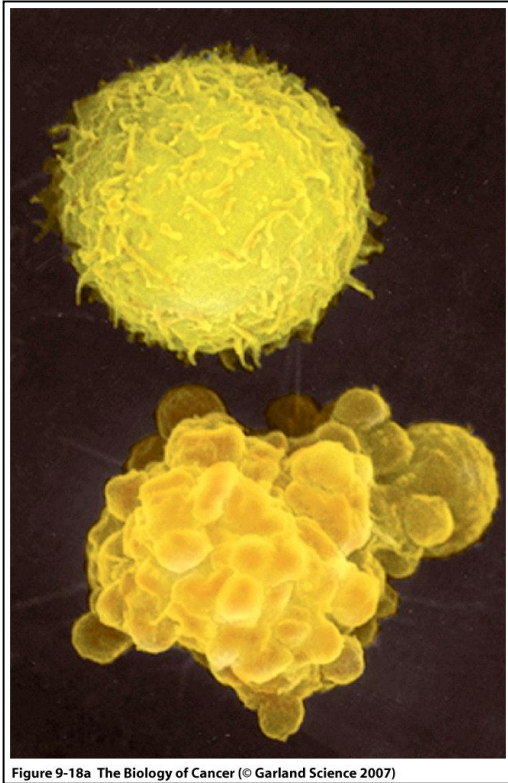
## Apoptóza

- **Programovaná buněčná smrt**
- **Koordinovaný proces**, který zahrnuje aktivaci skupiny specifických proteáz (enzymů štěpících proteiny), kterým se říká **kaspázy** (angl. caspases)
- Charakteristické **morfologické změny buňky** – kondenzace chromatinu, sraštění jádra i celé buňky, fragmentace jádra, „blebbing“. Buňka se nakonec rozpadne na menší fragmenty obalené membránou, které jsou pohlceny okolními buňkami nebo makrofágy.
- Indukuje se během normální morfogeneze
- Důležitá pro normální funkci řady tkání (střevo, kostní dřeň, involuce mléčné žlázy, atd.)
- Nádorový supresor **p53 indukuje apoptózu** při poškození buněčné DNA (např. UV nebo ionizujícím zářením) a vyřazuje tak aberantní buňky, u nichž by mohlo dojít k **maligní transformaci**, tj. přeměně na buňku nádorovou.



# Apoptóza

A



B



A: Lymfocyty: normální x apoptotický

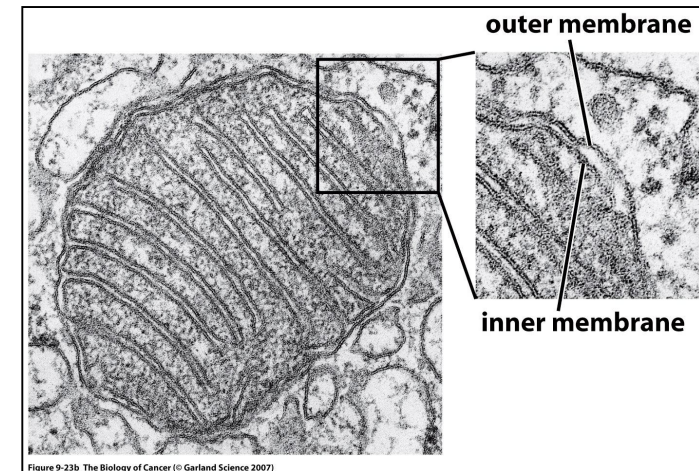
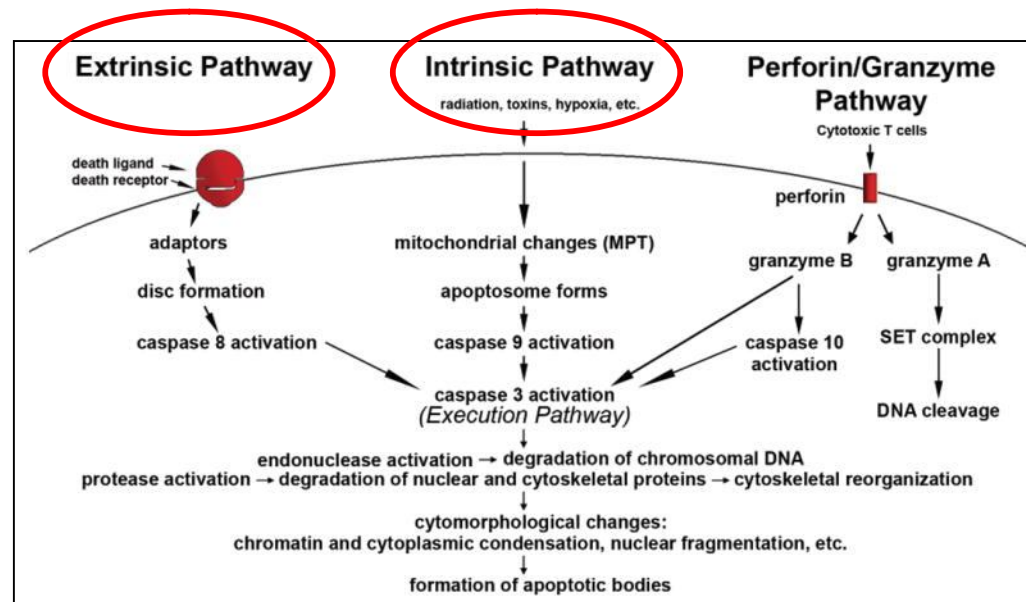
B: Apoptóza během normálního vývoje myši (tmavě označené buňky)



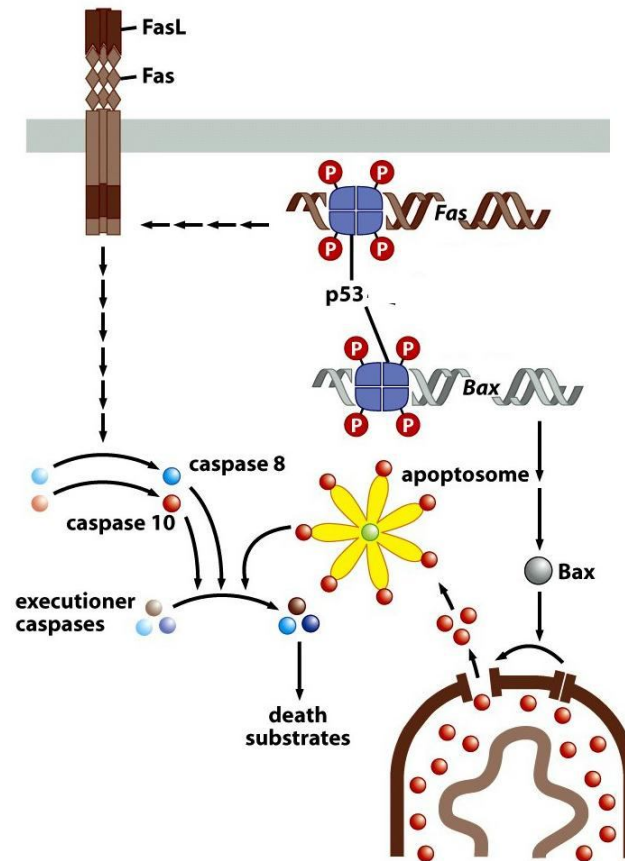
# Apoptóza

U většiny buněk najdeme dvě základní apoptotické dráhy:

1. **Vnitřní (Intrinsic pathway)** - vyžaduje **permeabilizaci vnější membrány mitochondrií a uvolnění cytochromu C** do cytoplazmy, kde se podílí na sestavení **apoptozómu** - komplexu, který aktivuje **kaspázy**
2. **Vnější (Extrinsic pathway)** - permeabilizace mitochondrií není nutná. Tato dráha je **aktivována vazbou ligandu na specifický receptor**

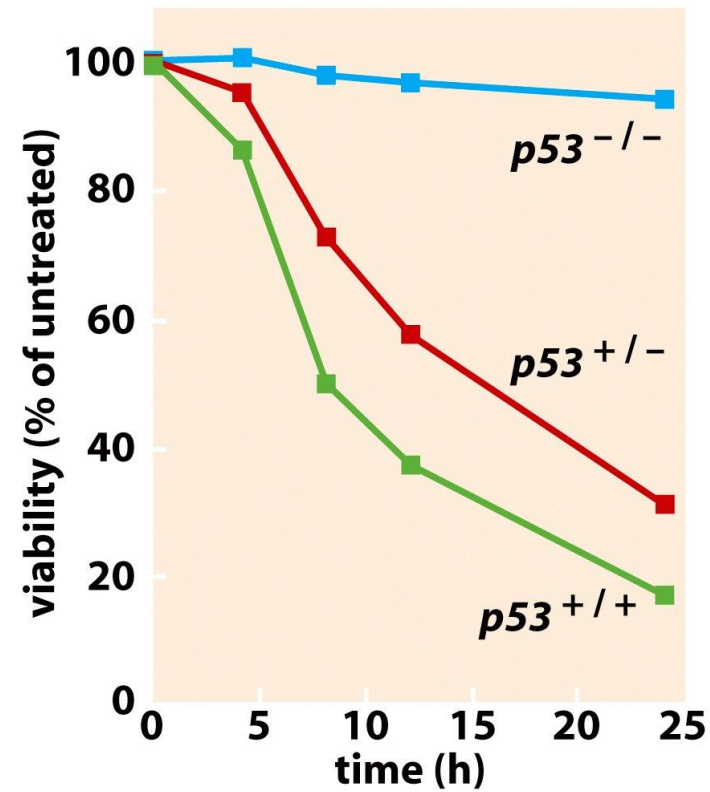


## Aktivace apoptózy působením proteinu p53



Protein p53 indukuje expresi genů, které se účastní jak vnitřní (např. Bax, Noxa, Puma) tak i vnější apoptotické dráhy (např. Fas)

Thymocyty (leukocyty v brzlíku) myši s vyřazeným genem p53 jsou rezistentní k apoptóze vyvolané ionizujícím zářením



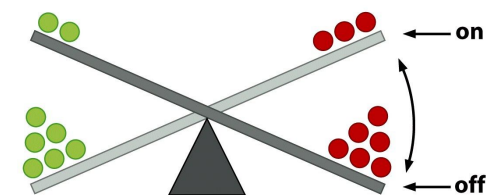
## **5. Angiogeneze**

= proces tvorby nových krevních cév

## VEGF

- **Kyslík se v tkáních přenáší difuzí účinně do vzdálenosti asi 0,2 mm.** Buňky, které rostou ve větší vzdálenosti od krevní vlásečnice přestávají růst protože trpí nedostatkem kyslíku (**hypoxie**) a živin. Pokud není přísun kyslíku zajištěn, buňky odumřou.
- **Primární nádor nebo metastáza**, která dosáhne objemu asi **2 mm<sup>3</sup>** si musí zajistit **napojení na krevní oběh**, aby mohla pokračovat v růstu.
- **Buňky v hypoxii vysílají signál ve formě VEGF** (vascular endothelial growth factor).
- **VEGF se váže na specifický receptor na povrchu buněk cévního endotelu a indukuje jejich proliferaci a migraci směrem k nádoru.**

VEGF ale není zdaleka jediný regulátor angiogeneze. Např. nádorový supresor p53 indukuje expresi thrombospondinu-1, který působí jako inhibitor angiogeneze. Rozsah tvorby nových krevních cév záleží na rovnováze těchto faktorů v dané tkáni.



- |                     |                           |
|---------------------|---------------------------|
| <b>● activators</b> | <b>● inhibitors</b>       |
| VEGF-A              | thrombospondin-1, -2      |
| VEGF-B, -C          | interferon $\alpha/\beta$ |
| FGF1 (aFGF)         | angiostatin               |
| FGF2 (bFGF)         | endostatin                |
| other FGFs          | collagen IV fragments     |
| etc.                | etc.                      |



## Uspořádání cév zásobujících nádor je velmi chaotické

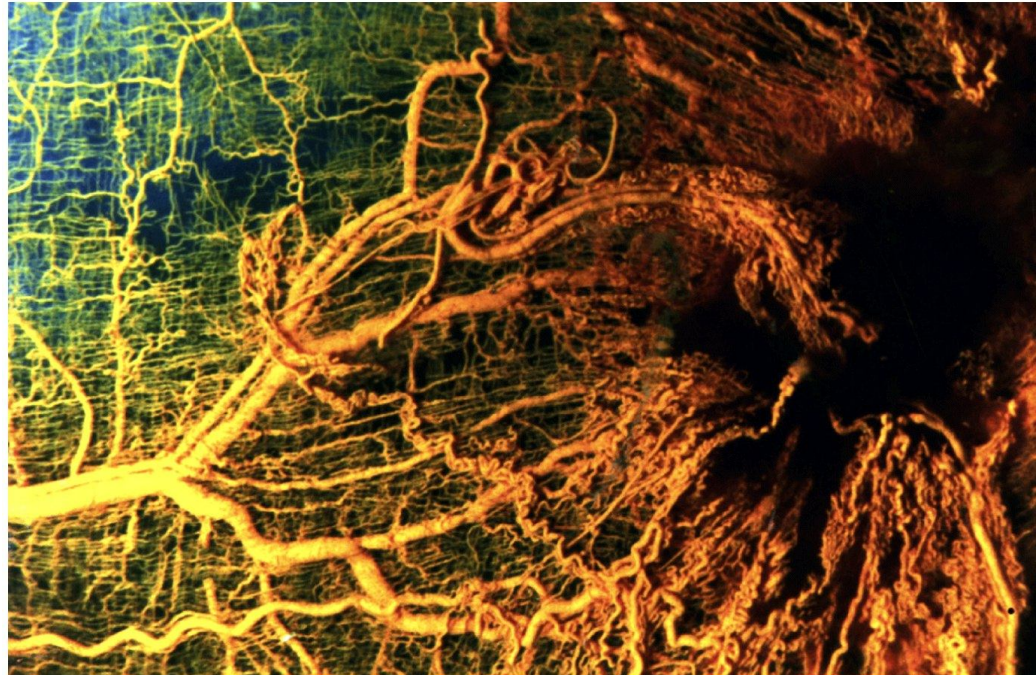
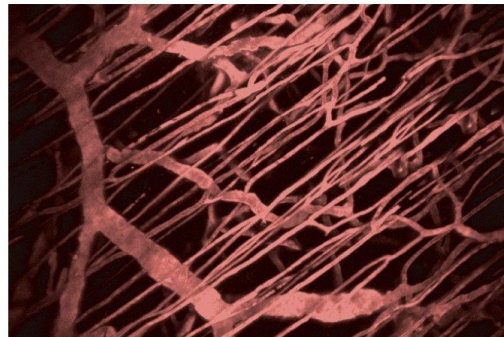
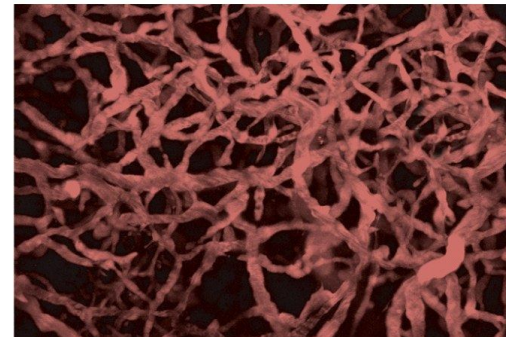


Figure 13-34a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)



**normal tissue**



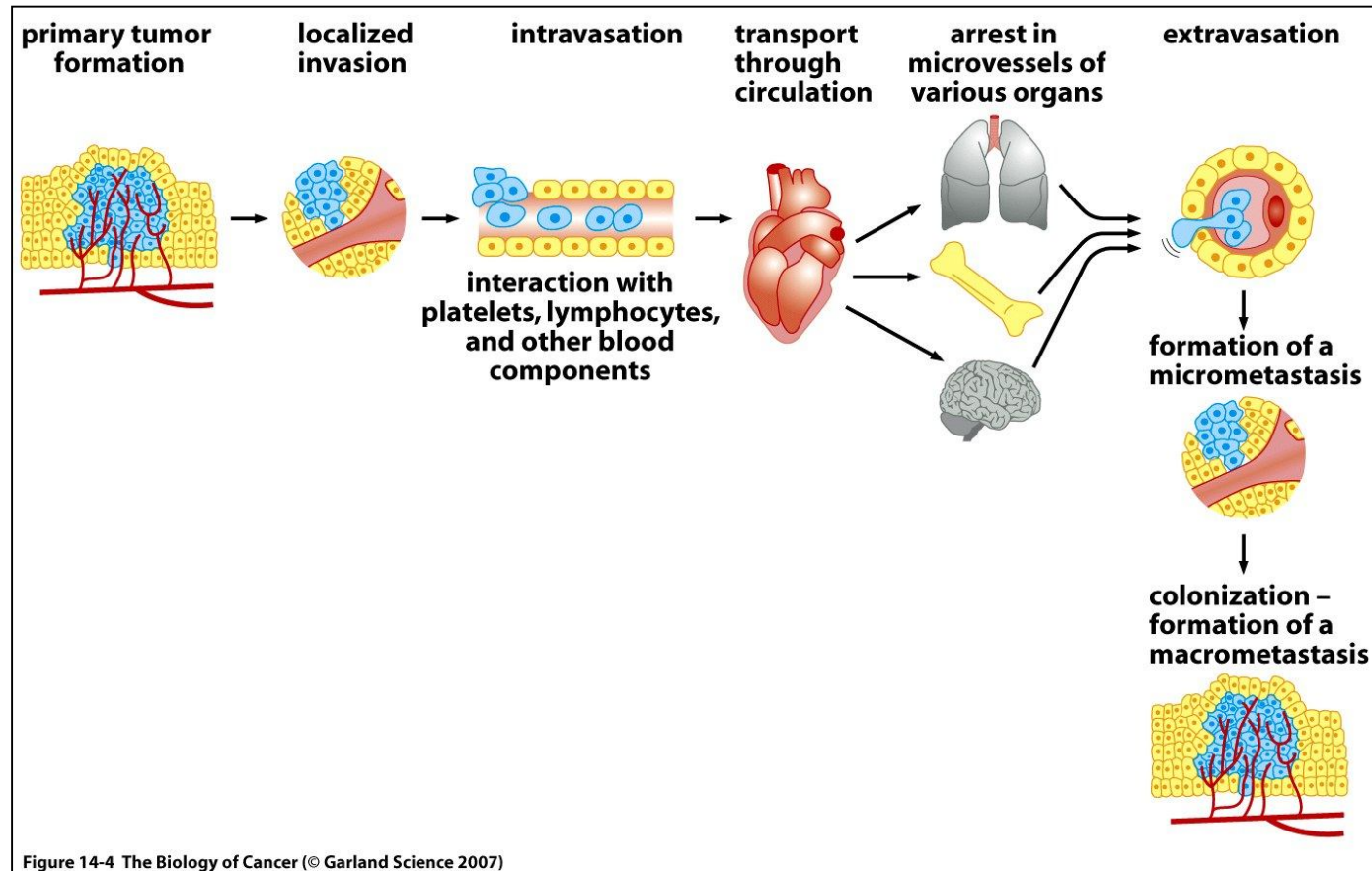
**tumor**

Figure 13-34b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

## **6. Invaze do okolních tkání a tvorba vzdálených metastáz**



## Metastáza je výsledkem sekvence několika dílčích kroků



Celou sekvenci se podaří ukončit jen malému procentu buněk, které opustí nádor. Zdá se, že poslední krok, tj. kolonizace, je tím nejméně účinným a jen velice málo mikrometastáz dá vznik metastáze, tj. sekundárnímu nádoru.

## EMT („Epithelial-mesenchymal transition“)

- Buňky **karcinomů**, tj. **zhoubných nádorů epitelální tkáně**, mohou účinně **metastazovat**, pokud se jim podaří spustit **EMT**, tj. **buněčný program**, který je za normálních podmínek **aktivován pouze v embryogenezi a při hojení ran**.
- Epiteliální buňky, které spustí EMT, **změní expresi řady genů** a začnou produkovat proteiny, které jsou **charakteristické pro mezenchymální buňky**. To jim umožní snadněji se pohybovat, opustit epitel a invadovat podpůrnou tkáň - stroma.

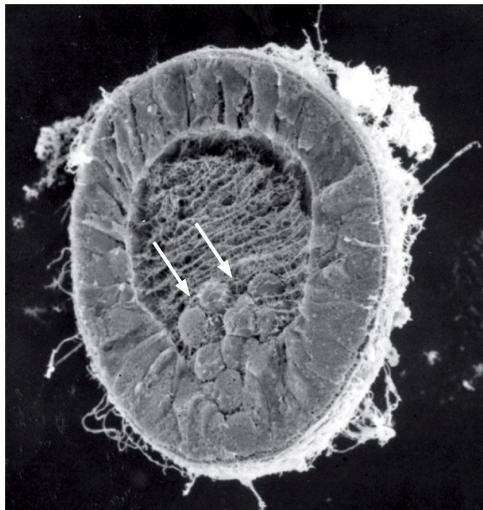


Figure 14-13a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

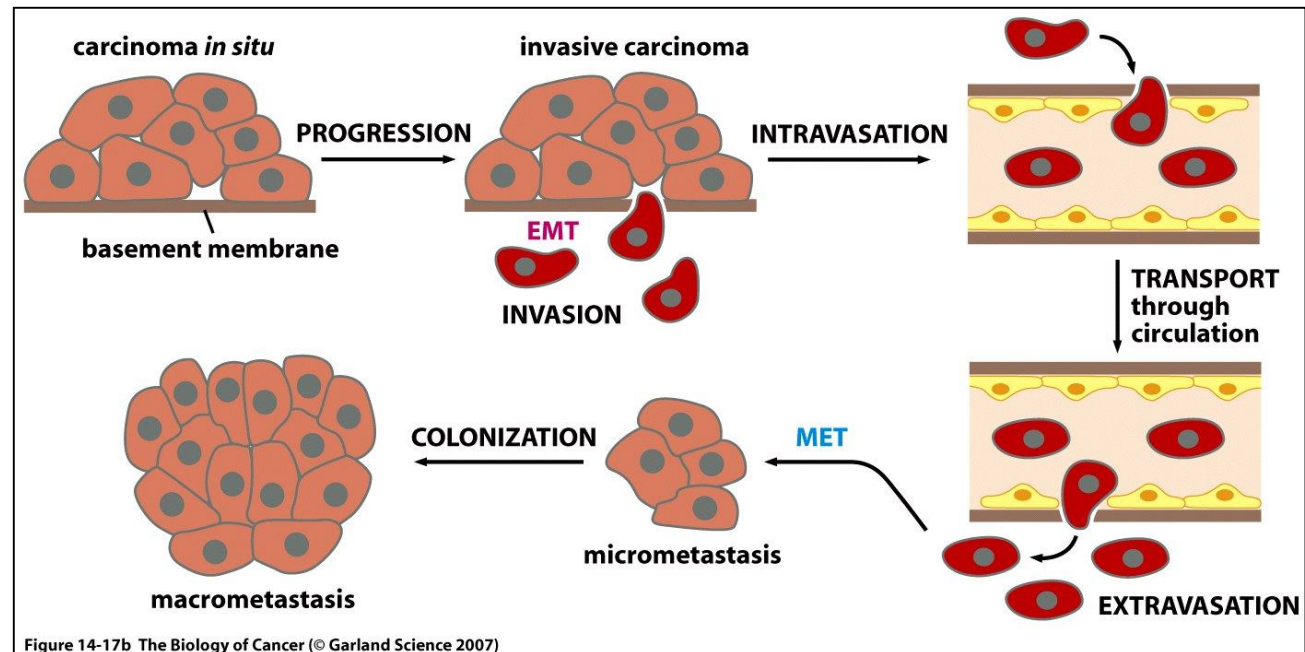


Figure 14-17b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

Některé onkogenní viry kódují proteiny, které inhibují nádorové supresory pRb a p53

Virus	Onkoprotein inhibující pRb	Onkoprotein inhibující p53
<b>Adenovirus</b>	E1A	E1B
<b>SV40</b>	Velký T antigen	Velký T antigen
<b>Papilomavirus (HPV16, HPV18)</b>	E7	E6

