

# Úvod do nádorové biologie

Stjepan Uldrijan

Biologický ústav  
Lékařská fakulta  
Masarykova Univerzita Brno

[uldrijan@med.muni.cz](mailto: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
- Eiteliální nádory považujeme za nezhoubné, pokud nejsou schopny penetrovat **bazální membránu** (specializovaný typ buněčné matrix, který odděluje epiteliální buňky od podpůrné vrstvy pojivové tkáně - stroma)
- I nezhoubné nádory mohou představovat vážný problém, např. pokud svým růstem negativně ovlivňují funkci důležitých orgánů
- 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)**

# 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 prekurzorů v gonádách. Mutace se mohou přenášet na potomstvo a mohou je predisponovat k různým typům nádorů.

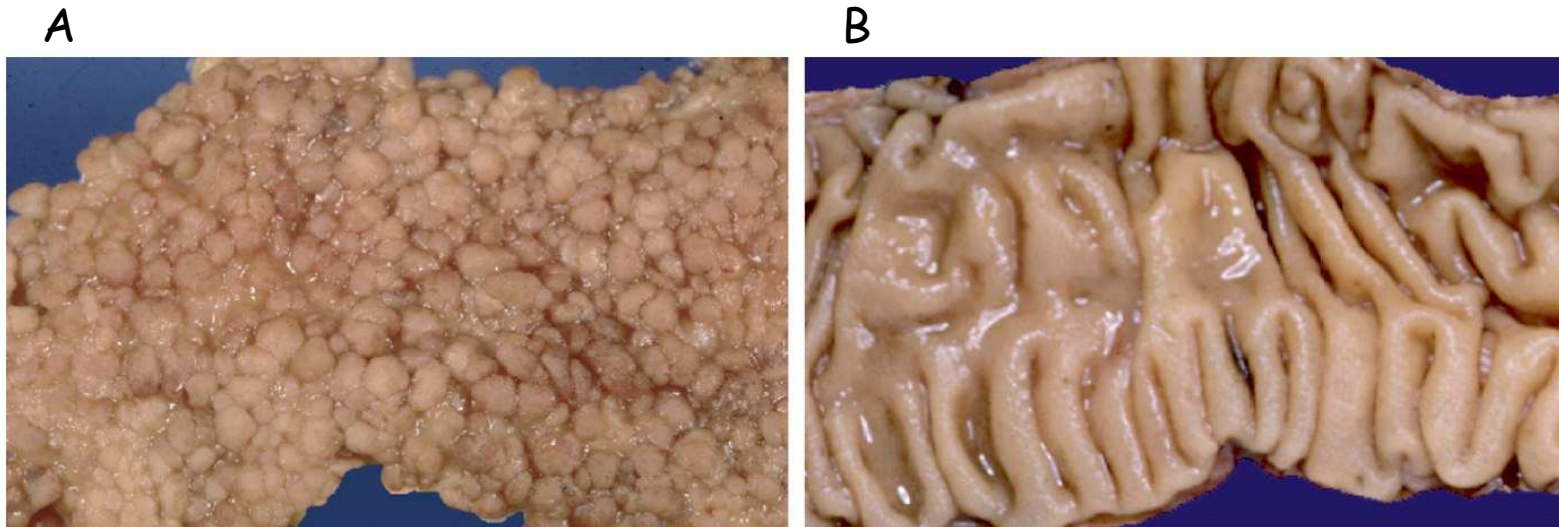


Figure 7-22 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

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

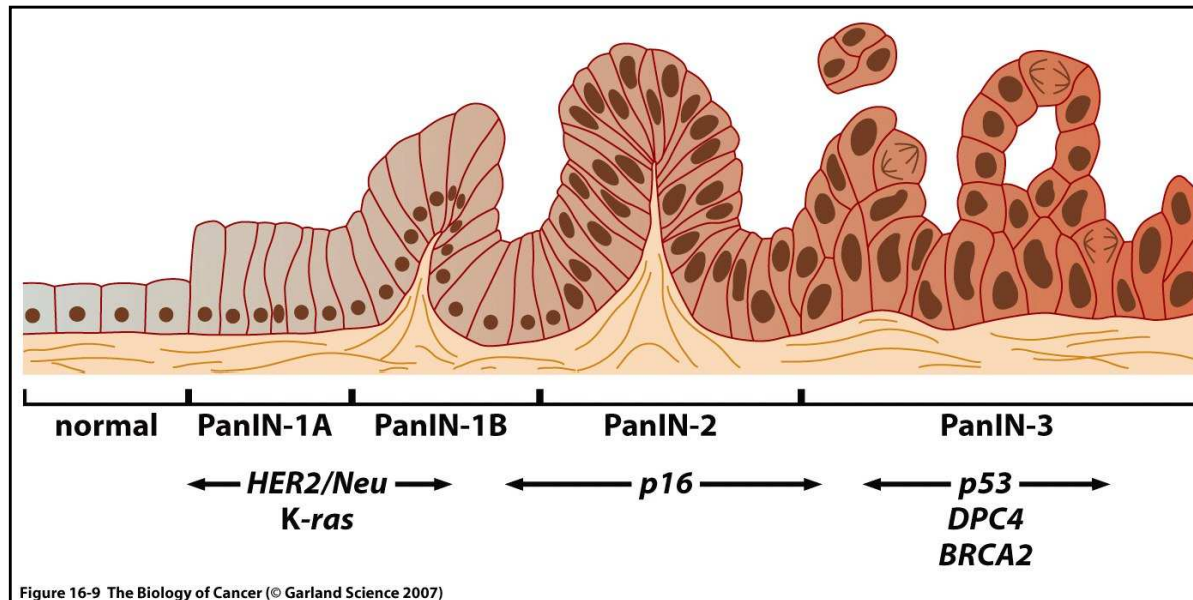
**B:** Normální tlusté střevo



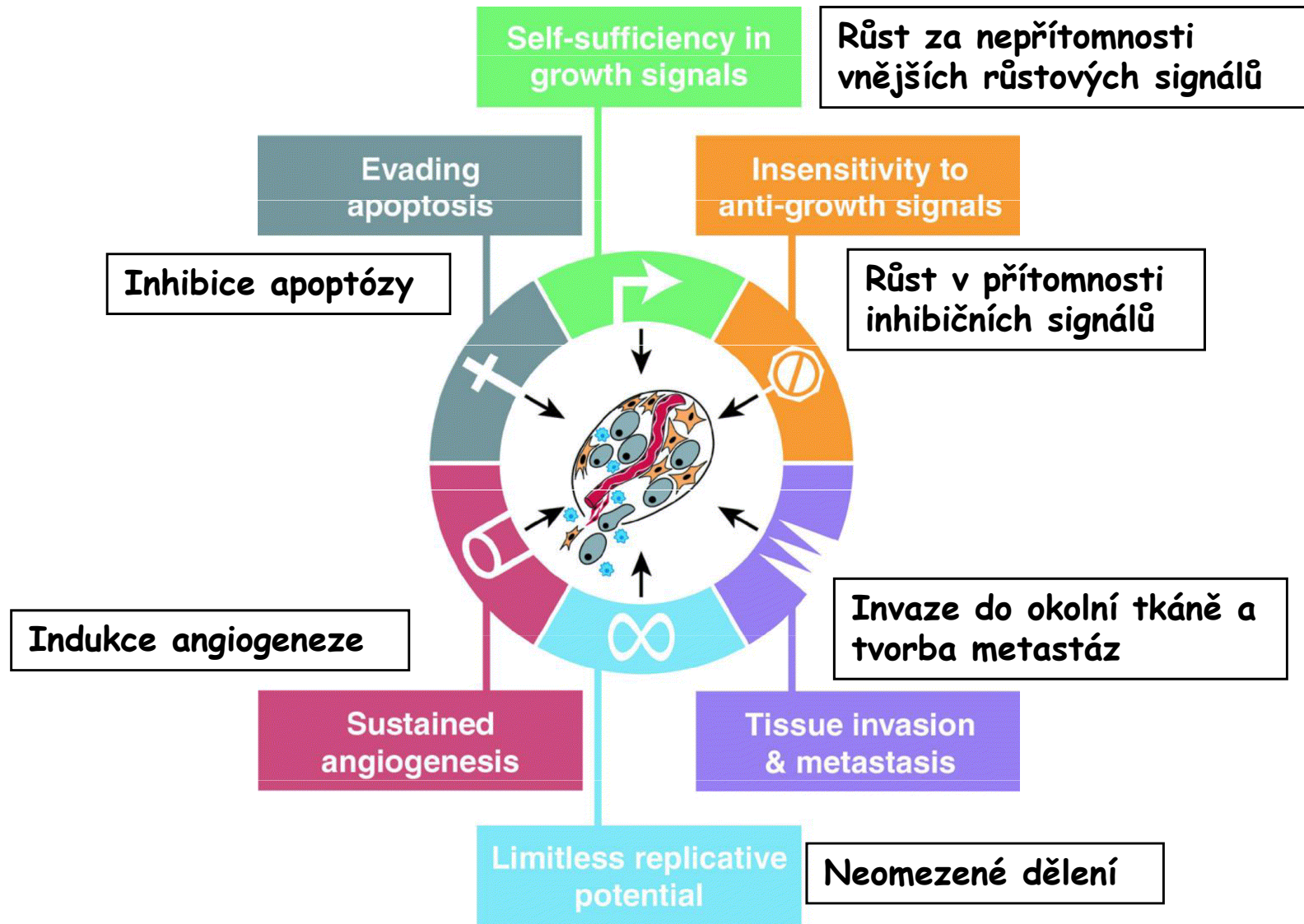
## Vznik rakoviny je postupný pomalý proces

- Buňky kumulují mutace, které jim poskytují určité růstové výhody

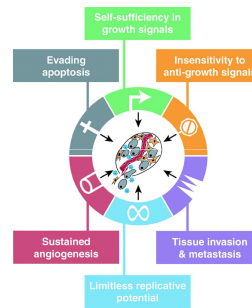
Příklad: progresse karcinomu slinivky  
(PanIN = pankreatická intraepiteliální neoplázie)



# Všechny maligní nádory musely během svého vývoje získat několik důležitých vlastností



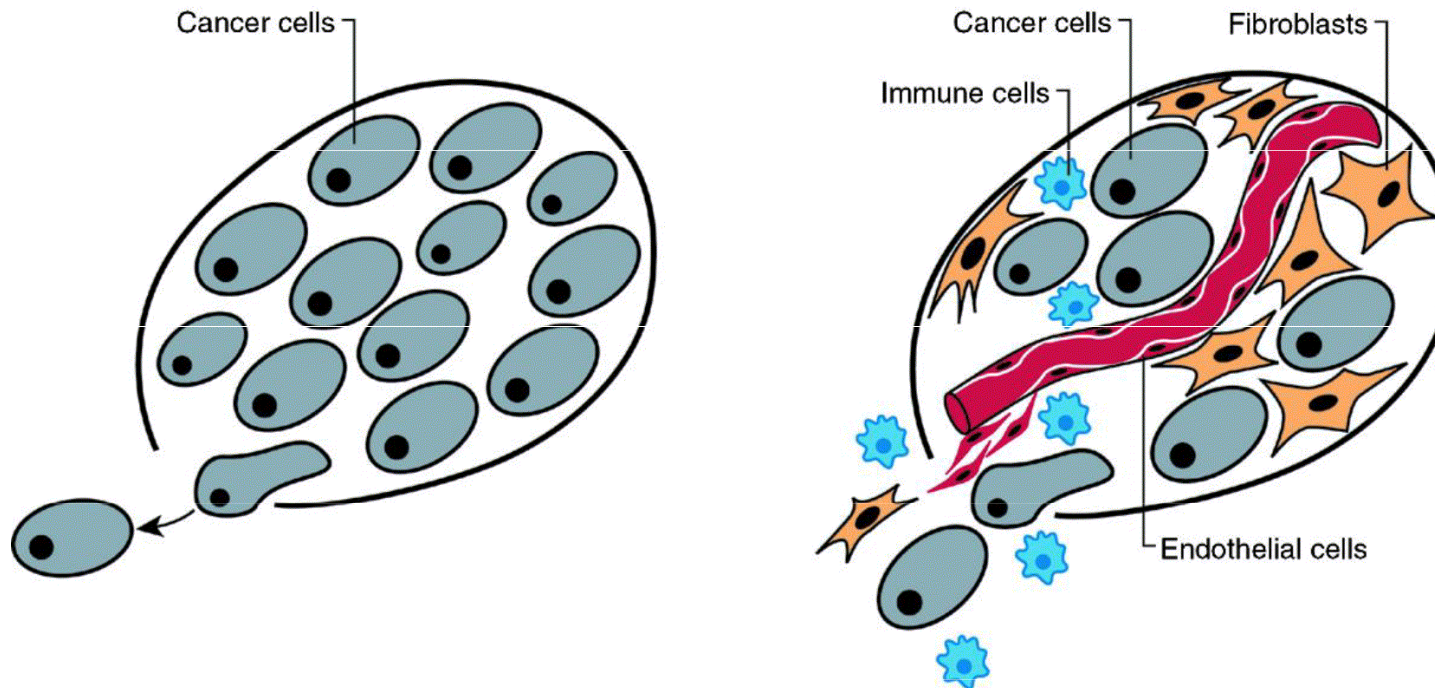




# 1. Růst v nepřítomnosti vnějších růstových signálů

## 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

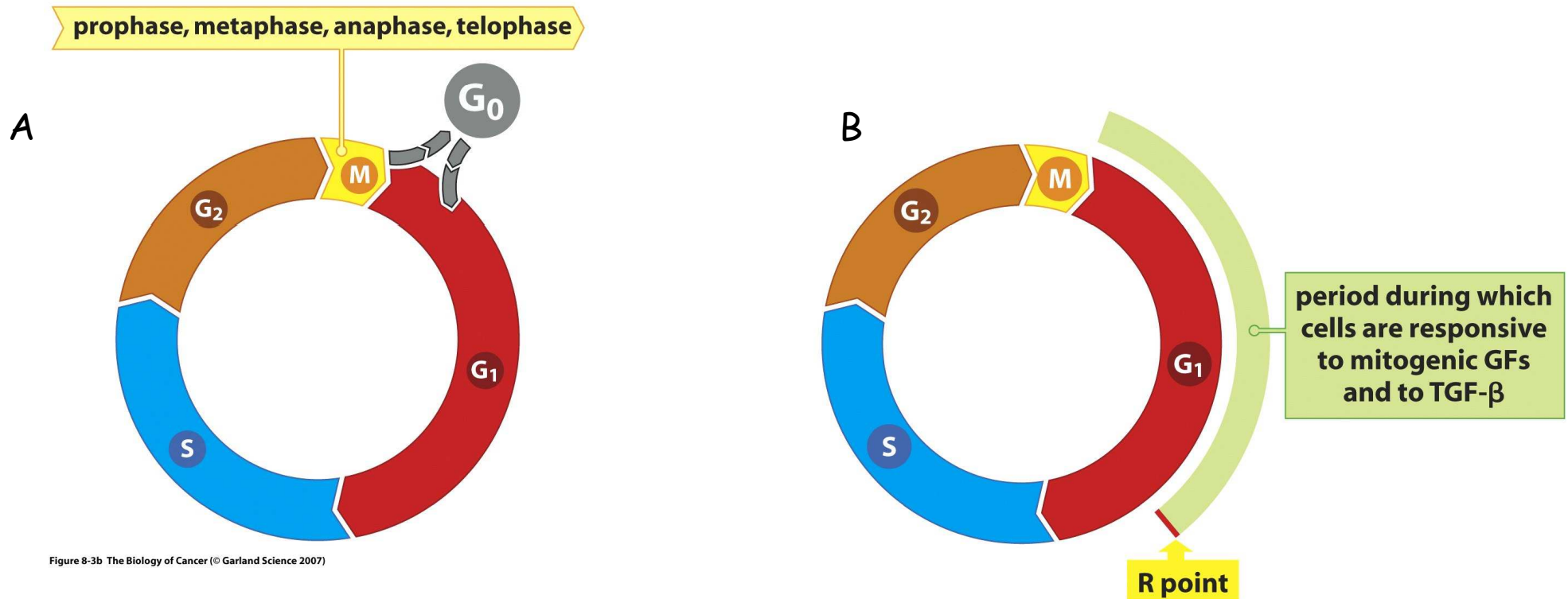
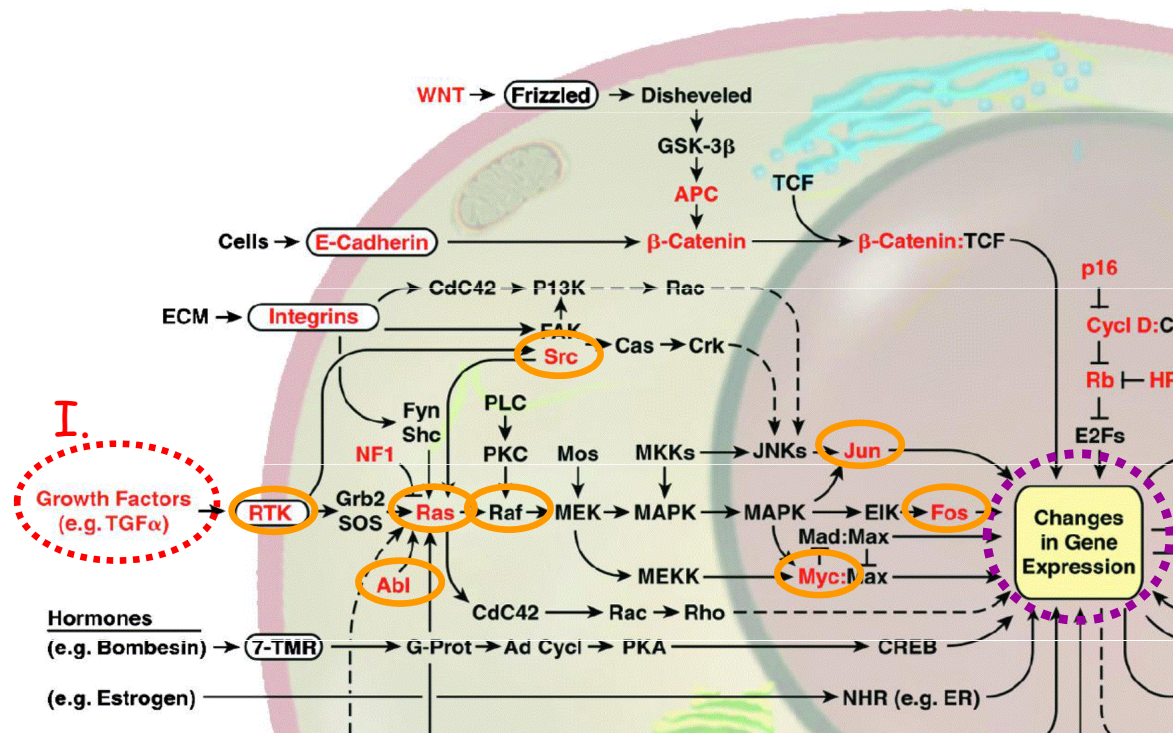


Figure 8-3b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

APřítomnost 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 buněčných onkogenů



## I. Autokrinní růstové faktory

# Autokrinní stimulace růstovými faktory

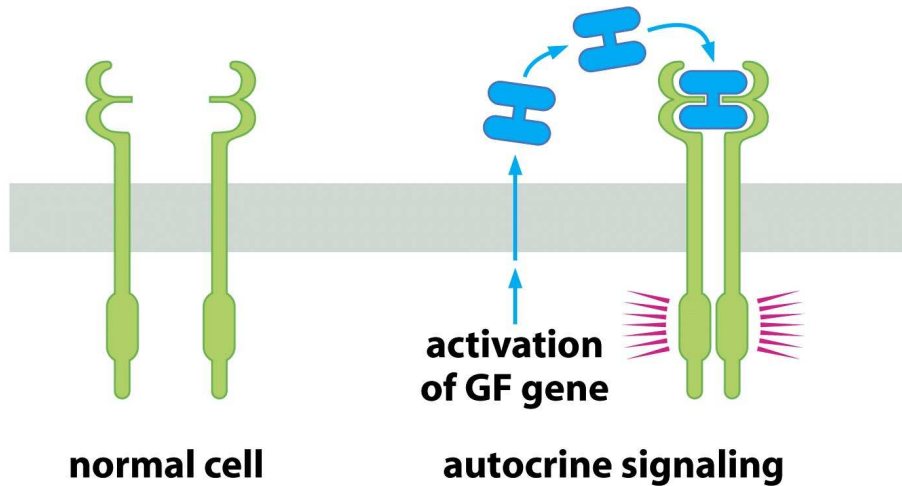


Figure 5-12b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

Table 5.3 Examples of human tumors making autocrine growth factors

Ligand	Receptor	Tumor type(s)
HGF	Met	miscellaneous endocrinal tumors, invasive breast and lung cancers, osteosarcoma
IGF-2	IGF-1R	colorectal
IL-6	IL-6R	myeloma, HNSCC
IL-8	IL-8R A	bladder cancer
NRG	ErbB2 <sup>a</sup> /ErbB3	ovarian carcinoma
PDGF-BB	PDGF-R $\alpha/\beta$	osteosarcoma, glioma
PDGF-C	PDGF- $\alpha/\beta$	Ewing's sarcoma
PRL	PRL-R	breast carcinoma
SCF	Kit	Ewing's sarcoma, SCLC
VEGF-A	VEGF-R (Flt-1)	neuroblastoma, prostate cancer, Kaposi's sarcoma
TGF- $\alpha$	EGF-R	squamous cell lung, breast and prostate adenocarcinoma, pancreatic, mesothelioma
GRP	GRP-R	small-cell lung cancer

<sup>a</sup>Also known as HER2 or Neu receptor.

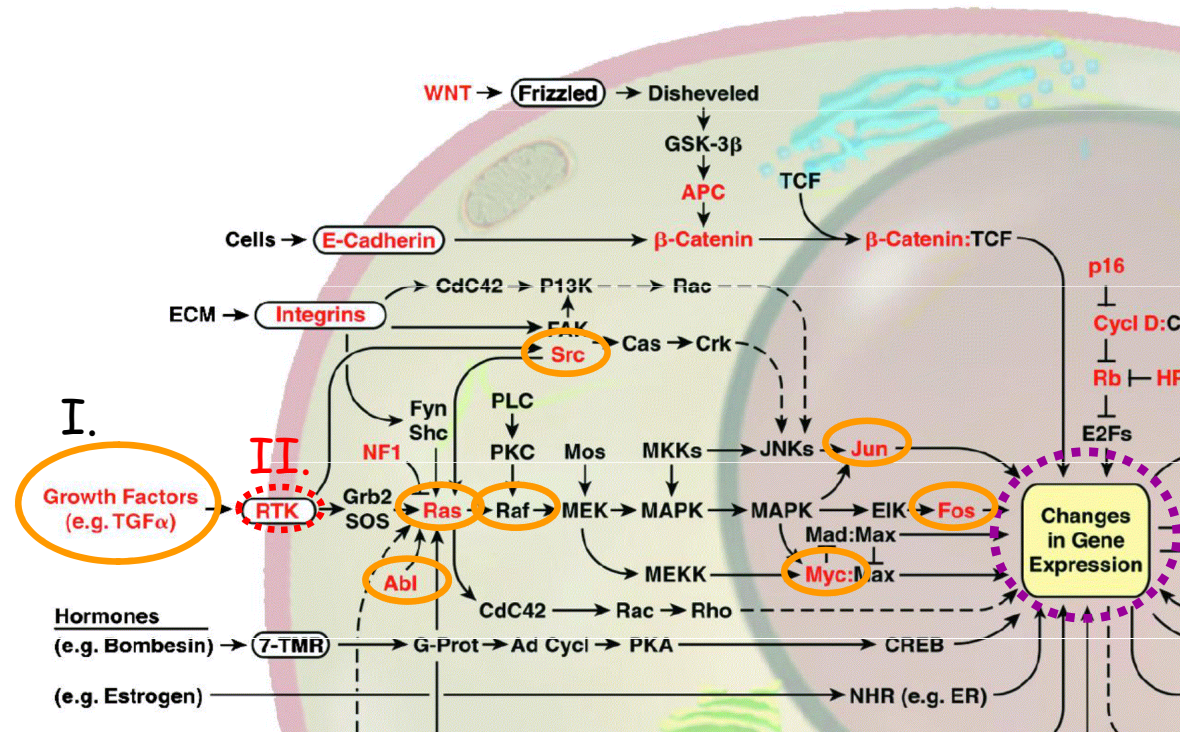
Table 5-3 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

- 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 (autokrinní signalizace).

Příklad: Zvýšená exprese HGF (růstový faktor hepatocytů - hepatocyte growth factor) a receptoru pro HGF (c-Met) u invazivního karcinomu prsu



# Příklady buněčných onkogenů



## II. Receptorové tyrosin kinázy



# Mutace receptorových tyrosin kináz

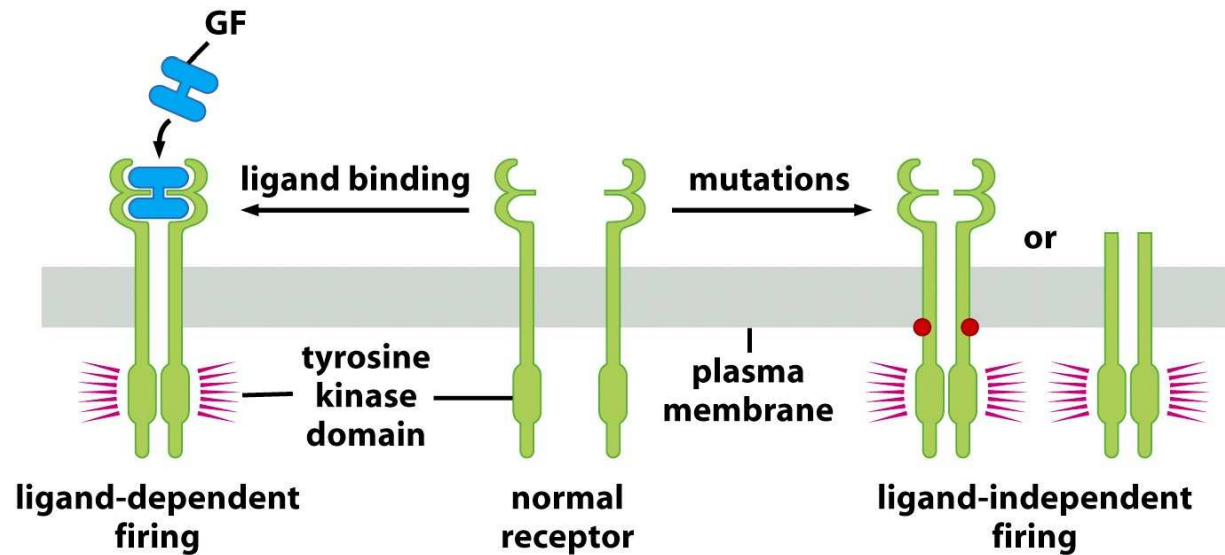


Figure 5-12a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

- 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

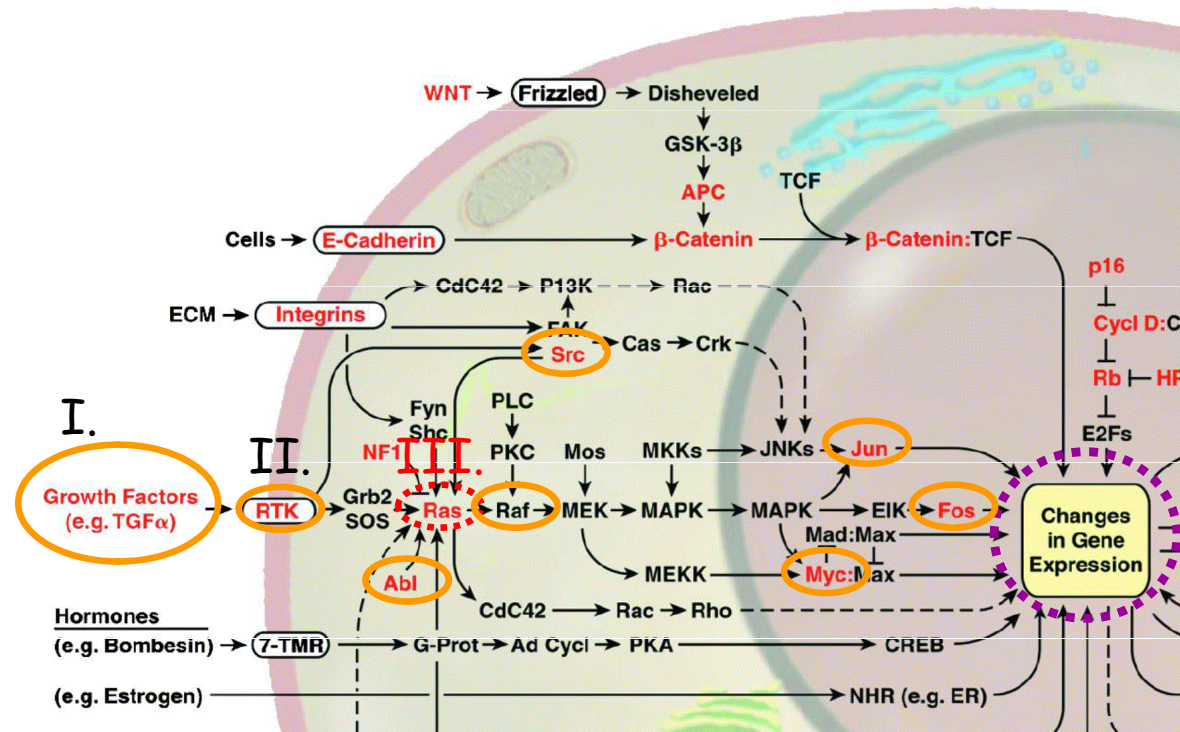
**Table 5.2 Tyrosine kinase GF receptors altered in human tumors<sup>a</sup>**

Name of receptor	Main ligand	Type of alteration	Types of tumor
EGF-R/ErbB1	EGF, TGF- $\alpha$	overexpression	non-small cell lung cancer; breast, head and neck, stomach, colorectal, esophageal, prostate, bladder, renal, pancreatic, and ovarian carcinomas; glioblastoma
EGF-R/ErbB1		truncation of ectodomain	glioblastoma, lung and breast carcinomas
ErbB2/HER2/Neu	NRG, EGF	overexpression	30% of breast adenocarcinomas
ErbB3, 4	various	overexpression	oral squamous cell carcinoma
Flt-3	FL	tandem duplication	acute myelogenous leukemia
Kit	SCF	amino acid substitutions	gastrointestinal stromal tumor
Ret		fusion with other proteins, point mutations	papillary thyroid carcinomas, multiple endocrine neoplasias 2A and 2B
FGF-R3	FGF	overexpression; amino acid substitutions	multiple myeloma, bladder and cervical carcinomas

<sup>a</sup>See also Figure 5.17.

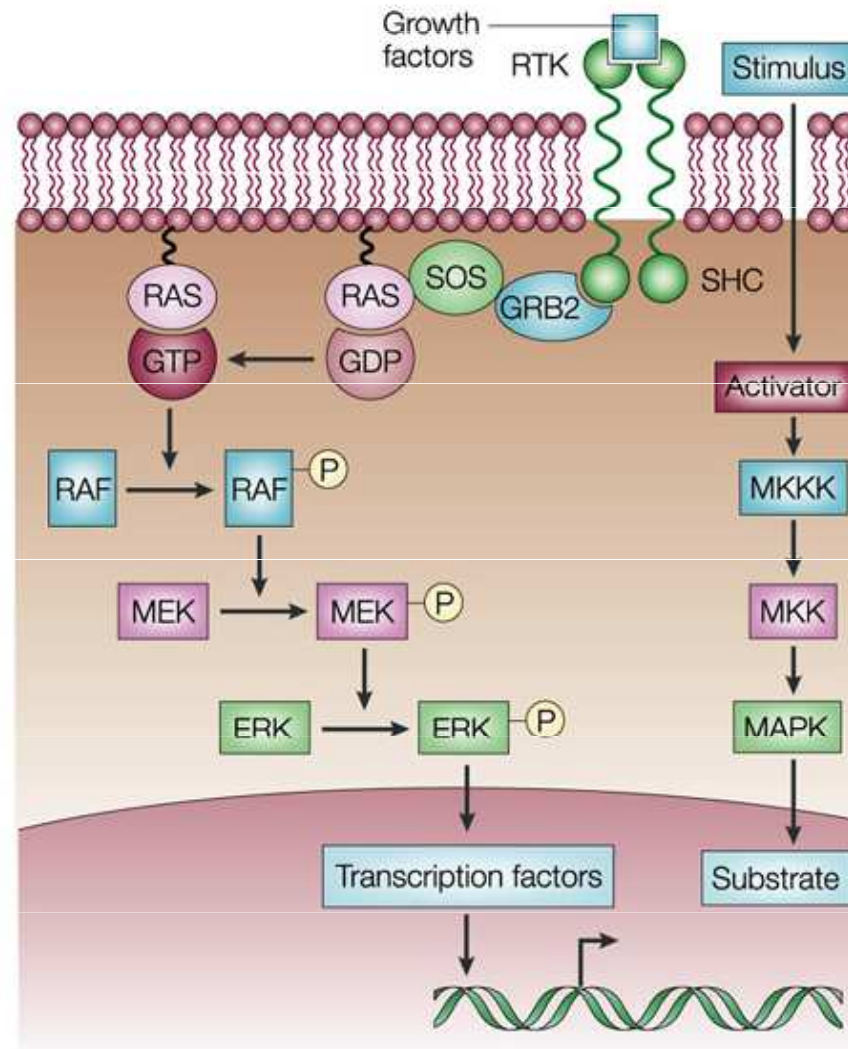
Table 5-2 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

# Příklady buněčných onkogenů



## III. Onkogen Ras

Autofosforylace receptorové tyrozin kinázy umožní sestavení proteinového komplexu, který aktivuje protein Ras





## Aktivace proteinu Ras vyžaduje uvolnění GDP a navázání GTP

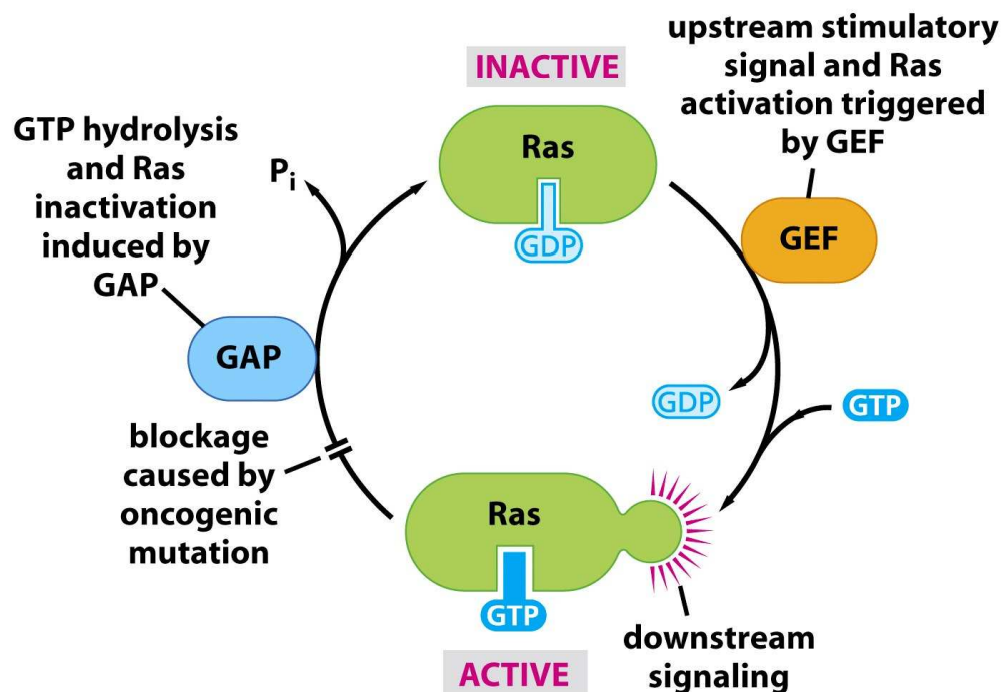


Figure 5-30 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

**Neaktivní protein Ras váže GDP, aktivní GTP.**

Neaktivní Ras je aktivován působením proteinu SOS, který způsobí uvolnění GDP a navázání GTP (SOS = GEF - guanine nucleotide exchange factor). Tento **aktivní stav trvá jen krátce**, než je GTP hydrolyzován na GDP. **Onkogenní mutace mohou způsobit, že Ras není schopen GTP hydrolyzovat a zůstává neustále aktivní.**

**Table 4.2** A list of point-mutated *ras* oncogenes carried by a variety of human tumor cells

Tumor type	Proportion (%) of tumors carrying a point-mutated <i>ras</i> gene <sup>a</sup>
Pancreas	90 K
Thyroid (papillary)	60 (H, K, N)
Thyroid (follicular)	55 (H, K, N)
Colorectal	45 (K)
Seminoma	45 (K, N)
Myelodysplasia	40 (N, K)
Lung (non-small-cell)	35 (K)
Acute myelogenous leukemia	30 (N)
Liver	30 (N)
Melanoma	15 (K)
Bladder	10 (K)
Kidney	10 H

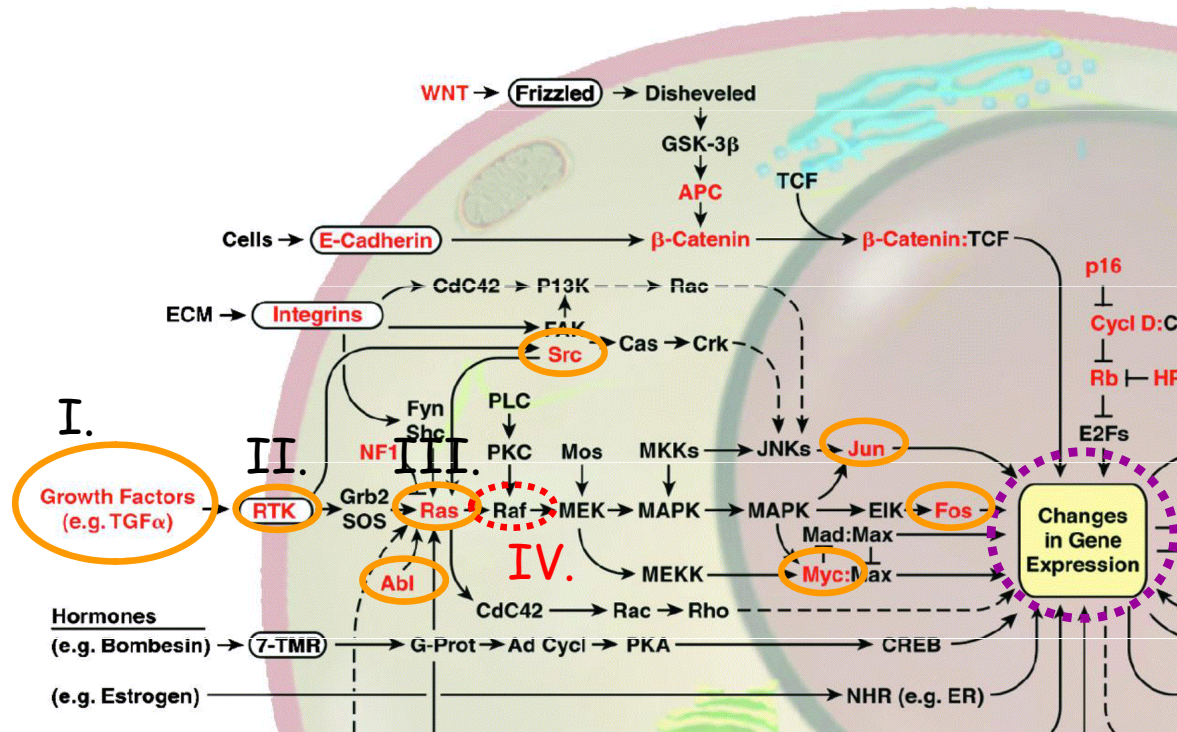
<sup>a</sup>H, K, and N refer to the human *H-RAS*, *K-RAS*, and *N-RAS* genes, respectively.

Adapted from J. Downward, *Nat. Rev. Cancer* 3:11–22, 2003.

Table 4-2 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

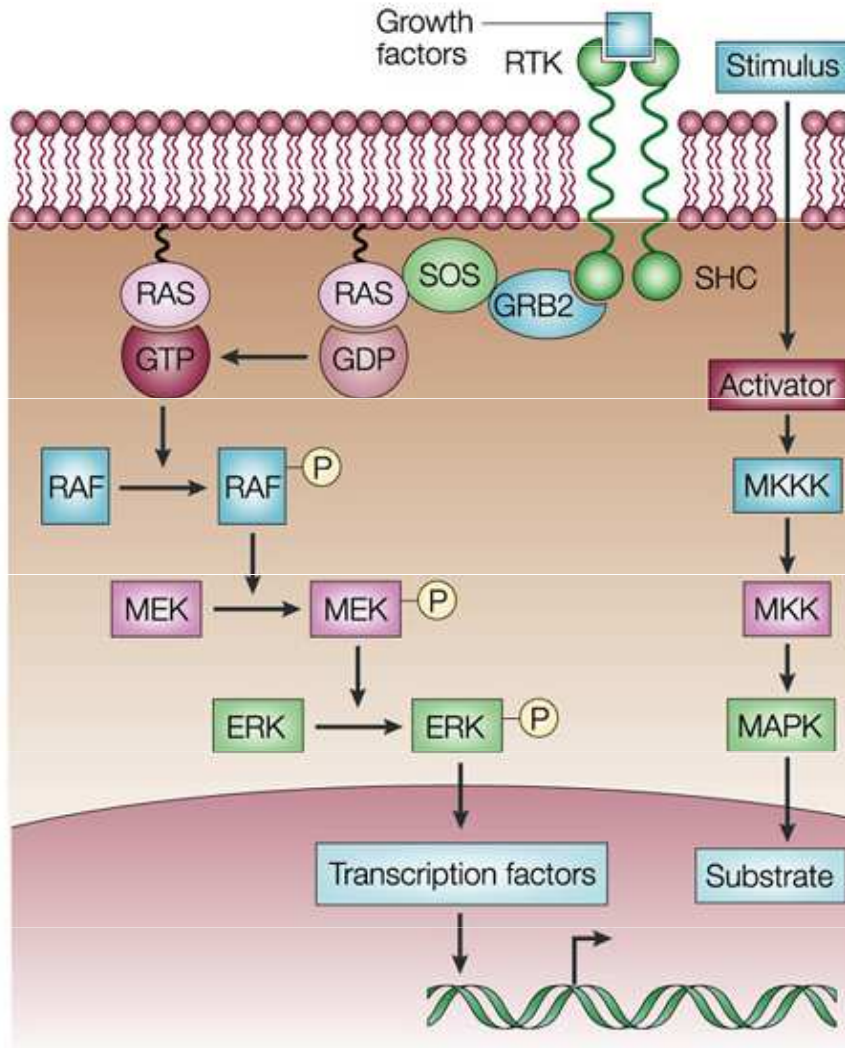


# Příklady buněčných onkogenů



## IV. Kináza Raf

## B-Raf

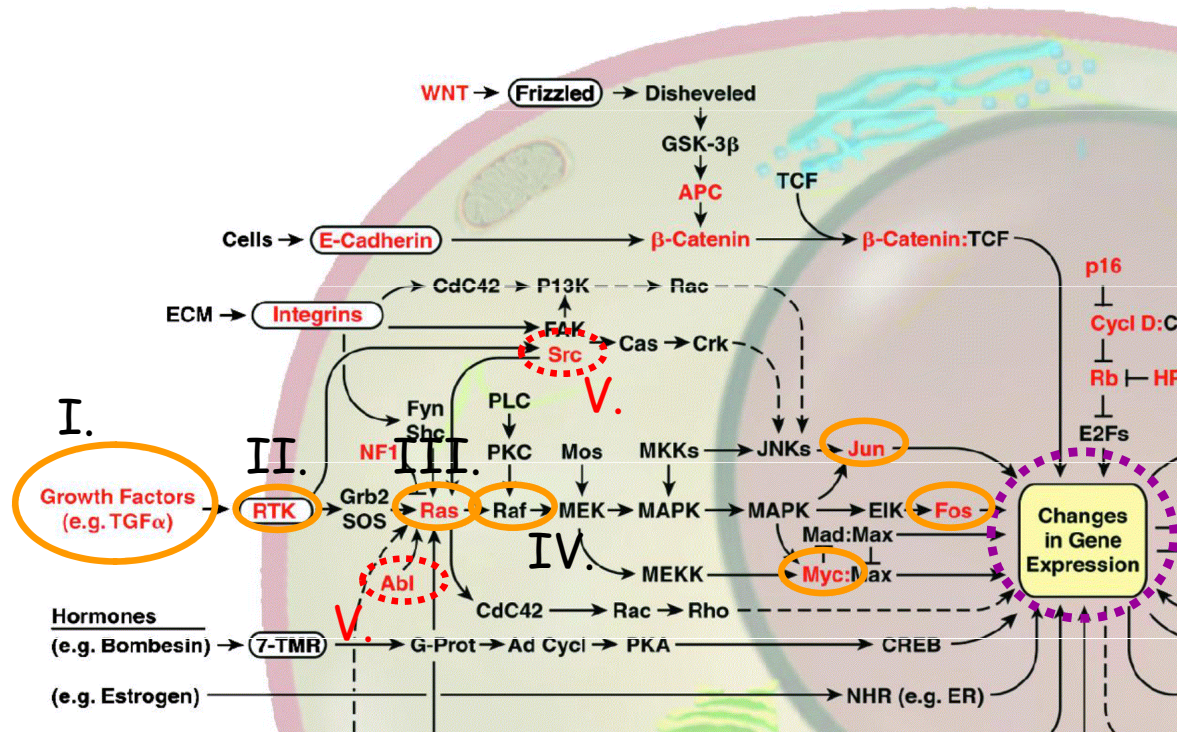


- serin/threonin kináza, která se podílí na přenosu mitogenních signálů v buňce

- mutován v různých typech nádorů, např. karcinomu ovarií, štítné žlázy, kolorektálním karcinomu a zejména v asi 70 % případů maligního melanomu

- k mutacím v genu *B-raf* dochází již v rané fázi vývoje maligního melanomu (jsou přítomny v asi 80% benigních névů)

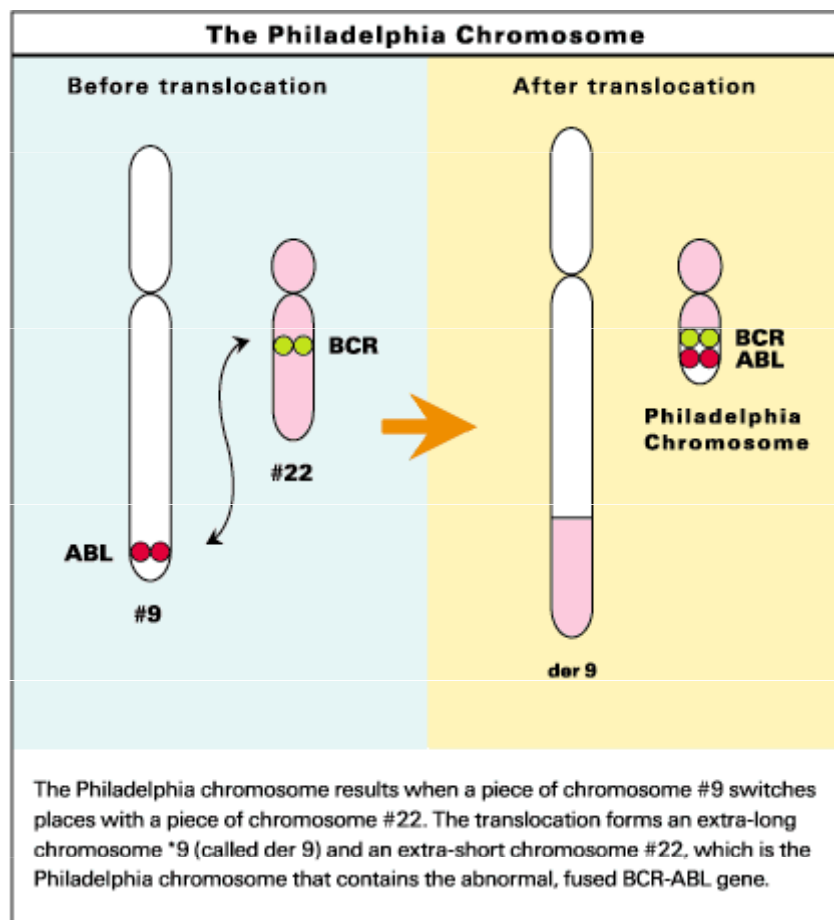
# Příklady buněčných onkogenů



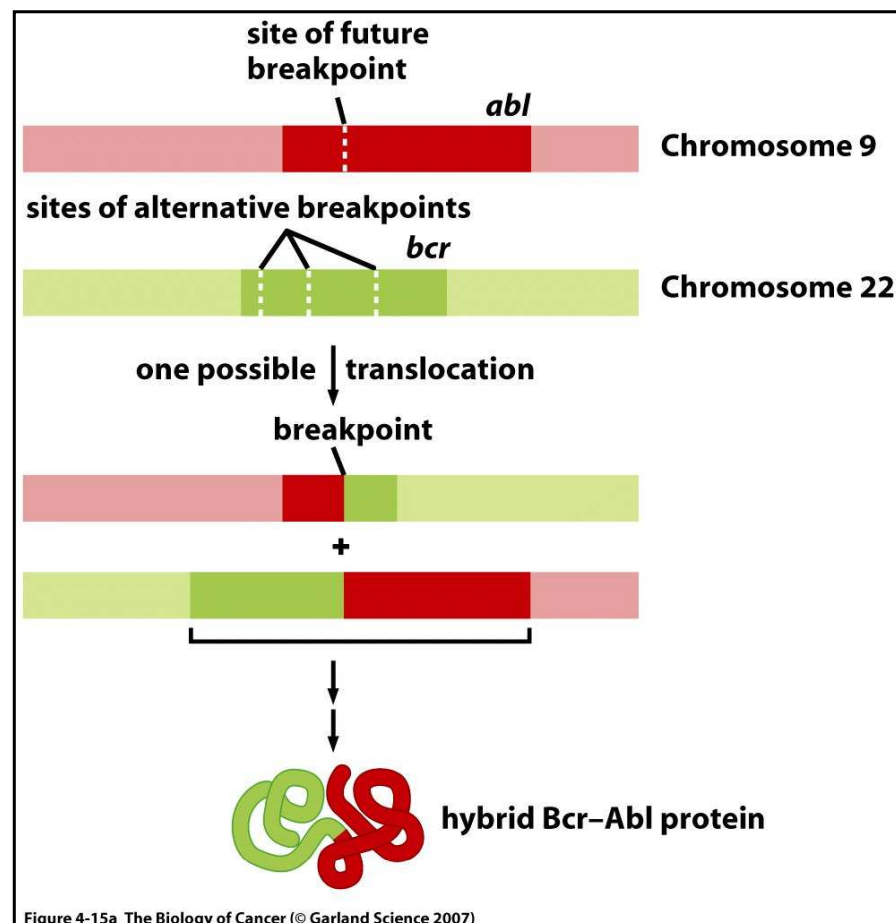
## V. Nereceptorové tyrozin kinázy



## Nereceptorové tyrozin kinázy - *Abl*, *Src*



[www.antigenics.com/diseases/cml.html](http://www.antigenics.com/diseases/cml.html)

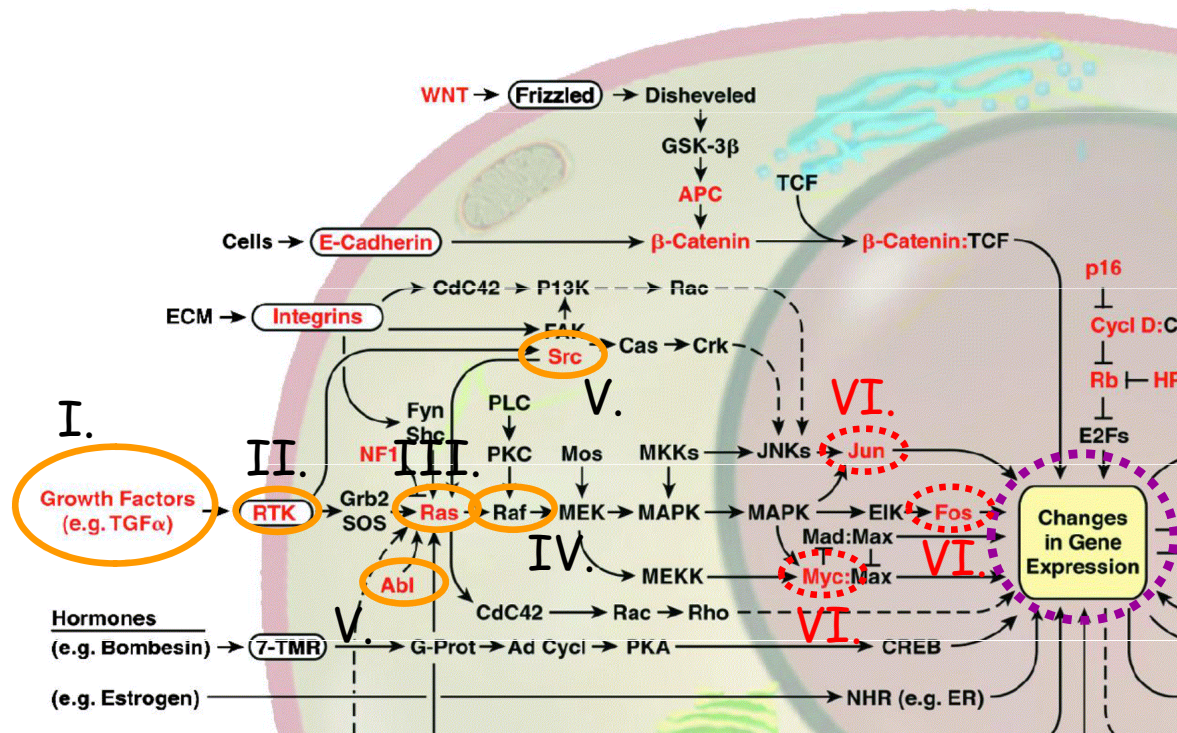


Weinberg RA. The biology of cancer, Garland Science 2007

Tzv. **Filadelfský chromozóm** je detekován ve více než **95% případů chronické myeloidní leukémie (CML)**.

**Reciproční translokace mezi chromozomy 9 a 22 vede k tvorbě fúzního proteinu Bcr-Abl, který si zachovává svoji kinázovou aktivitu, ale tato aktivita není správně regulována.**

# Příklady buněčných onkogenů



## VI. Transkripční faktory

## Exprese transkripčních faktorů je v nádorových buňkách často zvýšena genovou amplifikací

Při detekci onkogenů v genomu nádorové buňky pomocí specifických sond můžeme vidět

1. homogenně se barvící oblast na chromozómu ("homogeneously staining region")
2. autonomně se replikující acentrické fragmenty chromozomů ("double minutes")

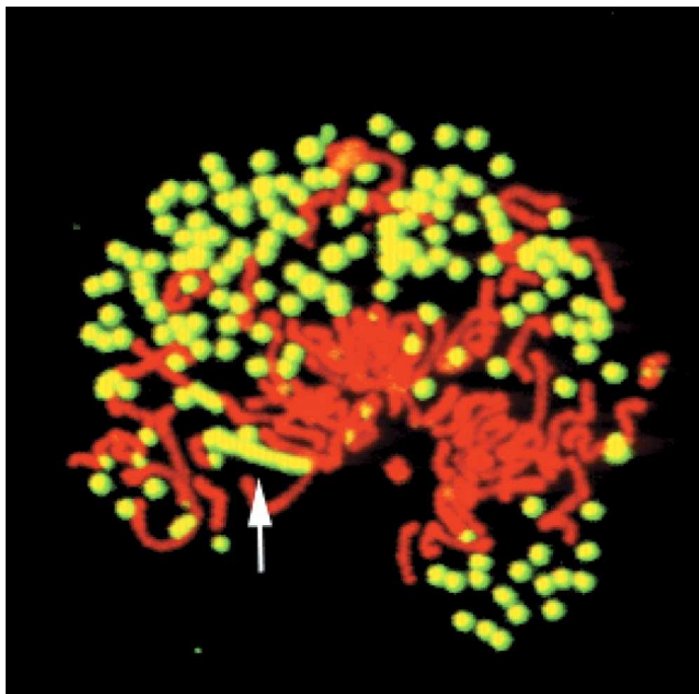


Figure 1-12c The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

**Příklad amplifikace onkogenu *myc* (žlutě) v lidské nádorové buňce. Homogenně se barvící oblast označena šipkou.**



**Table 4.3** Some frequently amplified chromosomal regions and the genes they are known to carry

Name of oncogene <sup>a</sup>	Human chromosomal location	Human cancers	Nature of protein
<i>erbB1</i>	7q12–13	glioblastomas (50%); squamous cell carcinomas (10–20%)	RTK
<i>cab1–erbB2–grb7</i>	17q12	gastric, ovarian, breast carcinomas (10–25%)	RTK, adaptor protein
<i>k-sam</i>	7q26	gastric, breast carcinomas (10–20%)	RTK
<i>FGF-R1</i>	8p12	breast carcinomas (10%)	RTK
<i>met</i>	7q31	gastric carcinomas (20%)	RTK
<i>K-ras</i>	6p12	lung, ovarian, bladder carcinomas (5–10%)	small G protein
<i>N-ras</i>	1p13	head and neck cancers (30%)	TF
<i>c-myc</i>	8q24	various leukemias, carcinomas (10–50%)	TF
<i>L-myc</i>	1p32	lung carcinomas (10%)	TF
<i>N-myc–DDX1</i>	2p24–25	neuroblastomas, lung carcinomas (30%)	TF
<i>akt-1</i>	14q32–33	gastric cancers (20%)	ser/thr kinase
<i>cyclin D1–exp1–hst1–ems1</i>	(11q13)	breast and squamous cell carcinomas (40–50%)	G1 cyclin
<i>cdk4–mdm2–sas–gli</i>	12q13	sarcomas (40%)	CDK, p53 antagonist
<i>cyclin E</i>	19q12	gastric cancers (15%)	cyclin
<i>akt2</i>	(19q13)	pancreatic, ovarian cancers (30%)	ser/thr kinase
<i>AIB1, BTAK</i>	(20q12–13)	breast cancers (15%)	receptor co-activator
<i>cdk6</i>	(19q21–22)	gliomas (5%)	CDK
<i>myb</i>	6q23–24	colon carcinoma, leukemias	TF
<i>ets-1</i>	11q23	lymphoma	TF
<i>gli</i>	12q13	glioblastomas	TF
<i>FGFR2</i>	10q26	breast carcinomas	RTK

<sup>a</sup>The listing of several genes indicates the frequent co-amplification of a number of closely linked genes; only the products of the most frequently amplified genes are described in the right column.

Courtesy of M. Terada, Tokyo, and adapted from G.M. Cooper, *Oncogenes*, 2nd ed. Boston and London: Jones and Bartlett, 1995.

Table 4-3 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

RTK = receptorová tyrozin kináza, TF = transkripční faktor

## Amplifikace genu *N-myc* a prognóza neuroblastomu

A

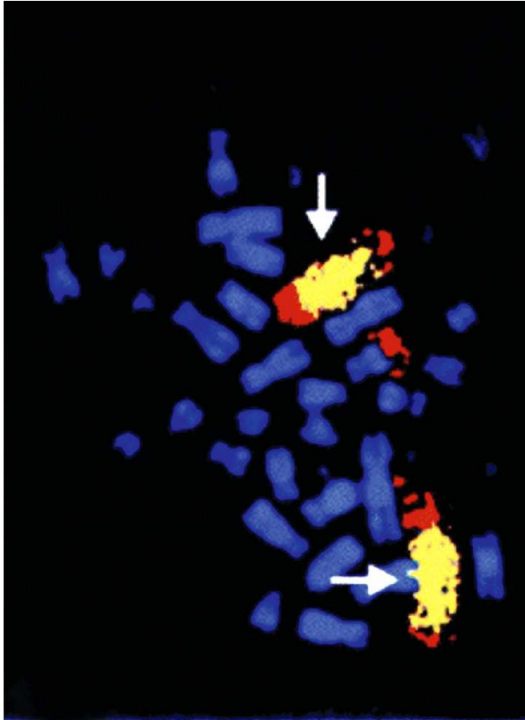


Figure 4-11a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

B

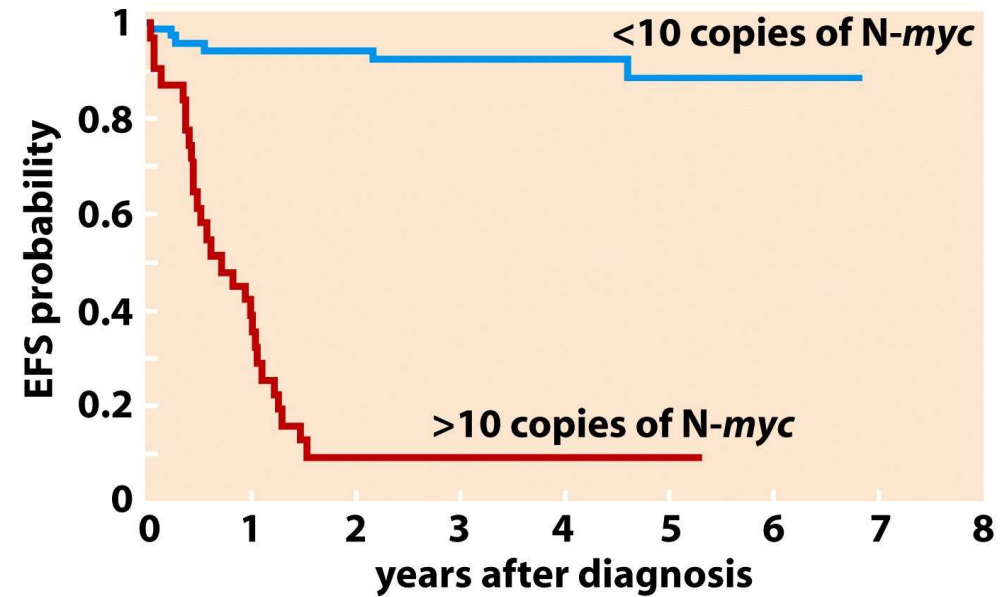


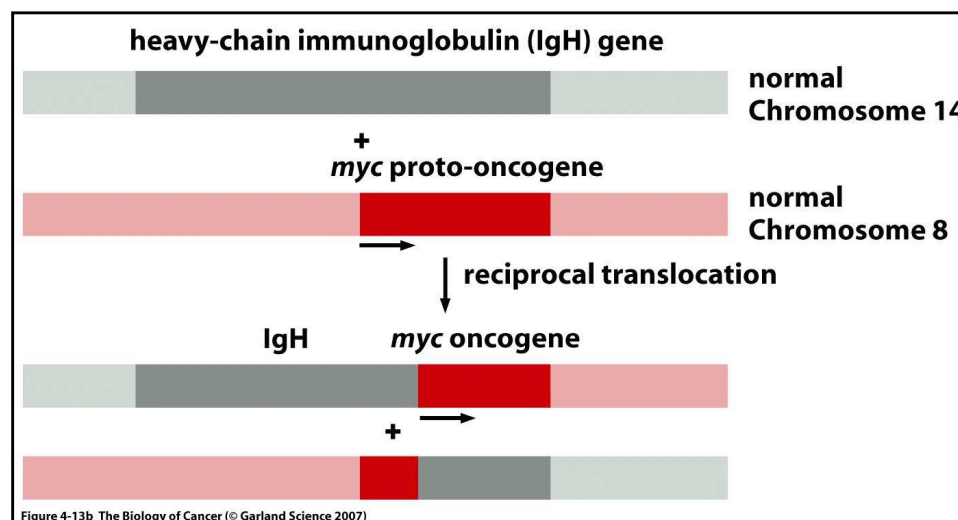
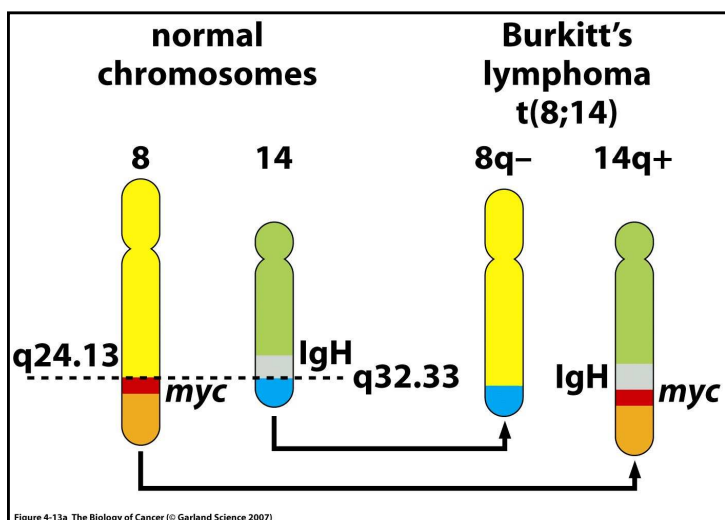
Figure 4-11b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

**A** Gen *N-myc* je amplifikován v asi 40% případů neuroblastomu dětí.

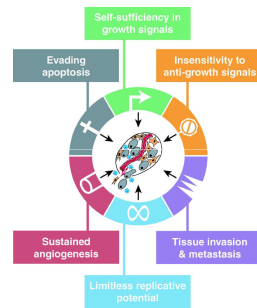
**B:** Prognóza onemocnění je velmi dobrá u dětí, které mají v buňkách neuroblastomu jen minimální nebo vůbec žádnou amplifikaci genu *N-myc*. Naopak pacienti s výraznou amplifikací genu *N-myc* mají výrazně horší prognózu.

## Nadměrná exprese genu *c-myc* u Burkittova lymfomu

- Maligní nádor B-lymfocytů
- Nejčastější dětský nádor v rovníkové Africe
- Na vzniku choroby se podílí chronická infekce virem Epstein-Barrové (EBV = lidský herpesvirus 4, způsobuje infekční mononukleózu) a současně parazity způsobujícími malárii

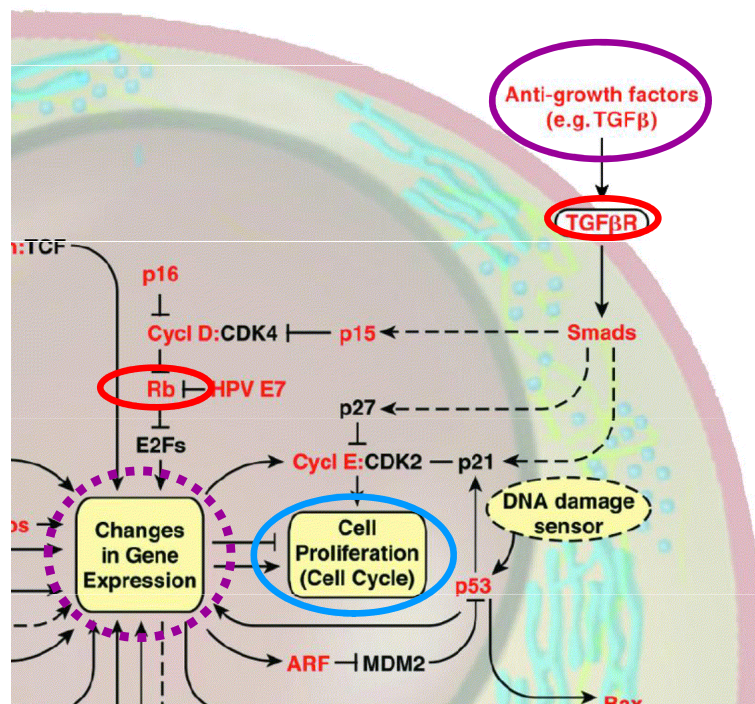


V genomu buněk Burkittova lymfomu je **exprese genu *c-myc* řízena regulačními sekvencemi DNA, které normálně zajišťují silnou expresi těžkého řetězce imunoglobulinu. Příčinou je reciproká translokace mezi chromozómy 8 a 14.**

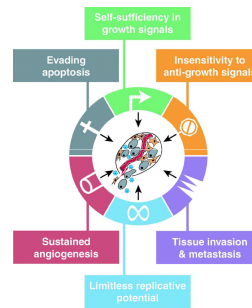


## 2. Růst v přítomnosti inhibičních signálů

V normální tkáni působí také antiproliferační signály, 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.



Inaktivující mutace v receptoru pro **TGFβ** (TGFβR) 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

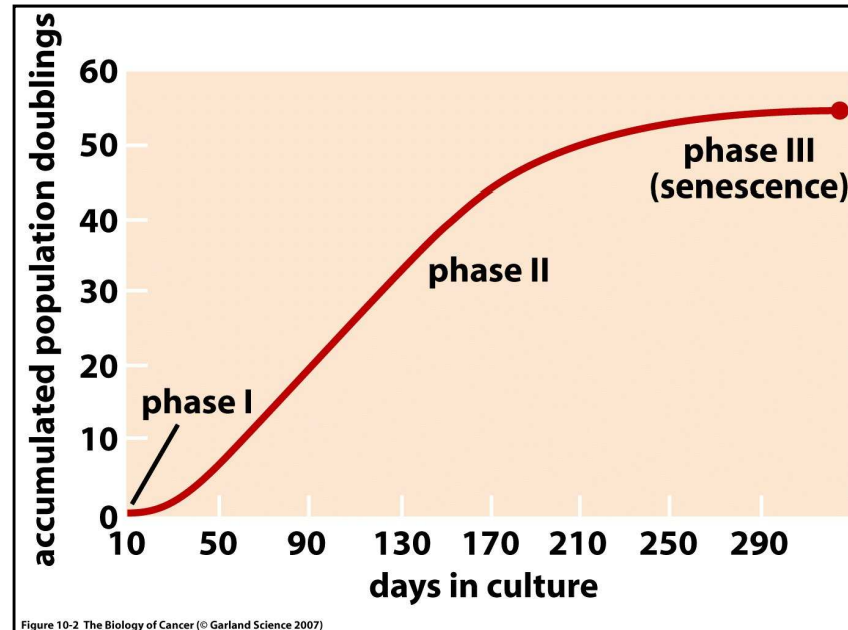


Figure 10-2 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

Např. lidské fibroblasty se v kultuře intenzivně dělí po asi 60 generací 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

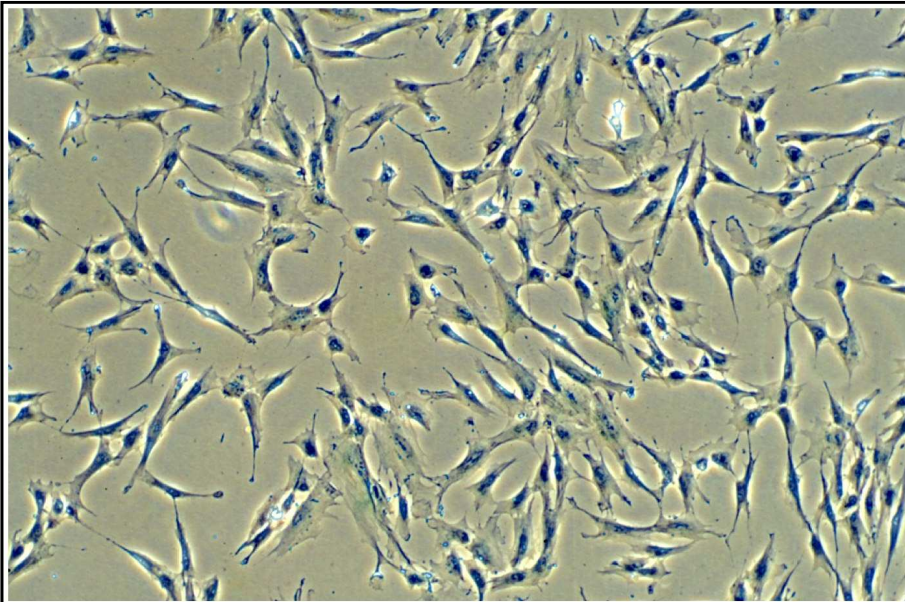


Figure 10-3a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

B

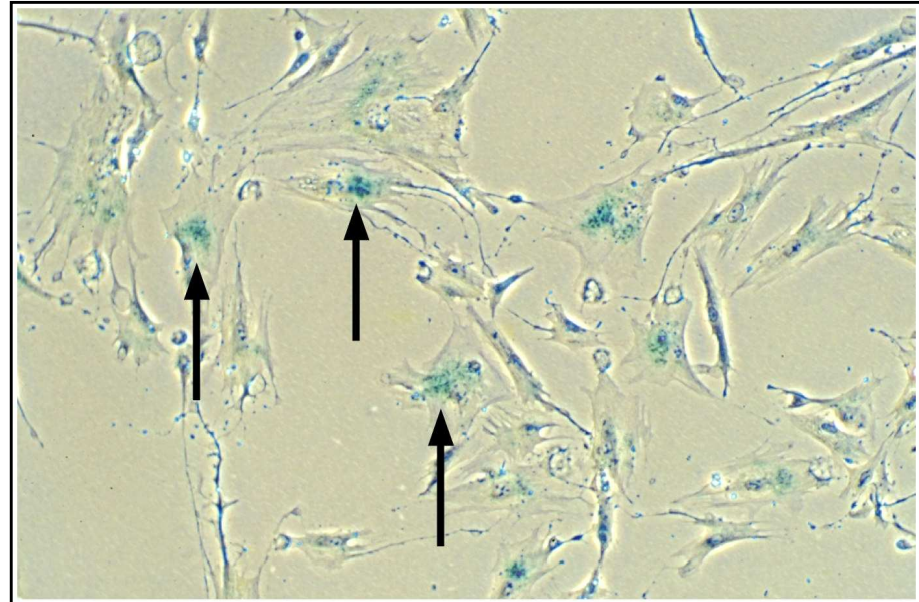


Figure 10-3b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

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

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

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



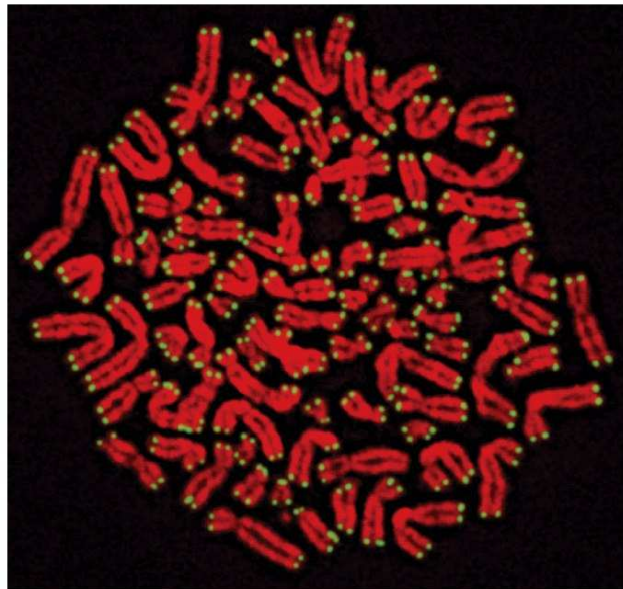
Figure 10-7a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

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

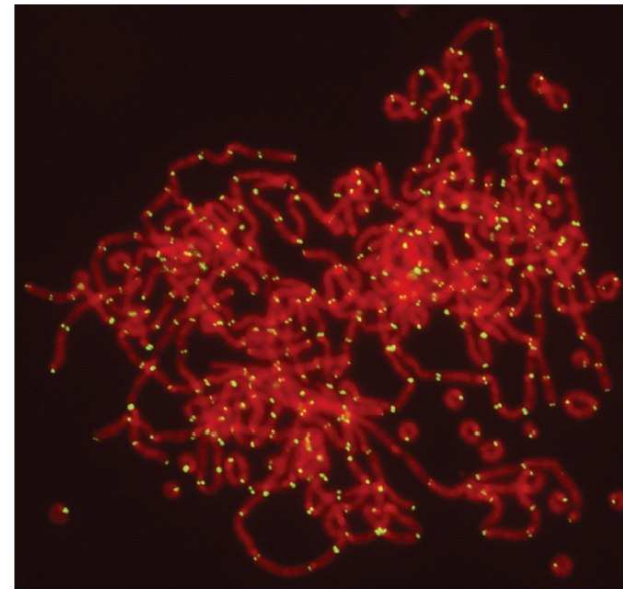
- Uměle indukovaná exprese proteinu p16 ve fibroblastech vede u těchto buněk ke stejným změnám, jaké pozorujeme při replikativní senescenci.
- Nádorové buňky obvykle inaktivují signální dráhy v nichž p21 a p16 působí (p53, Rb) a zřejmě právě tímto způsobem dokáží senescenci zabránit

## 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)
- DNAPolymeráza 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

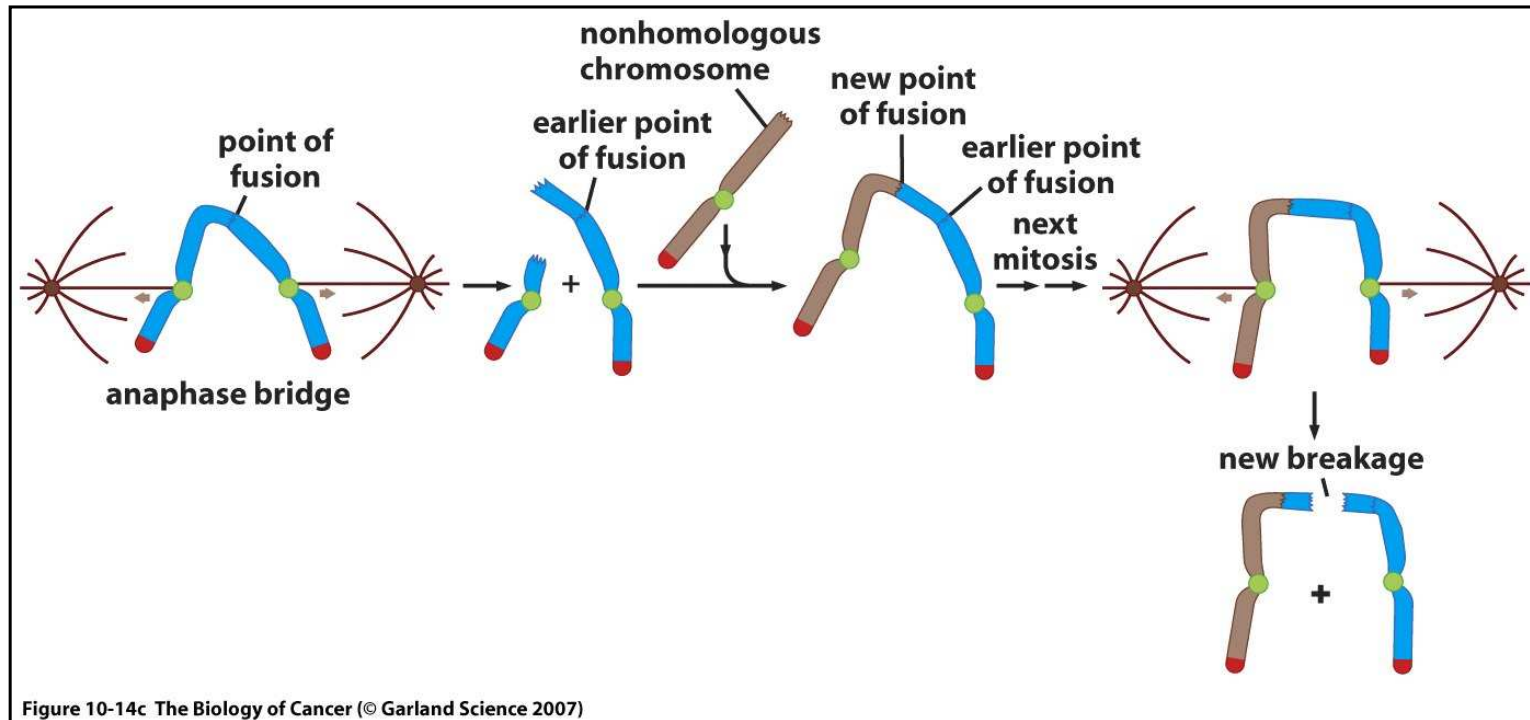
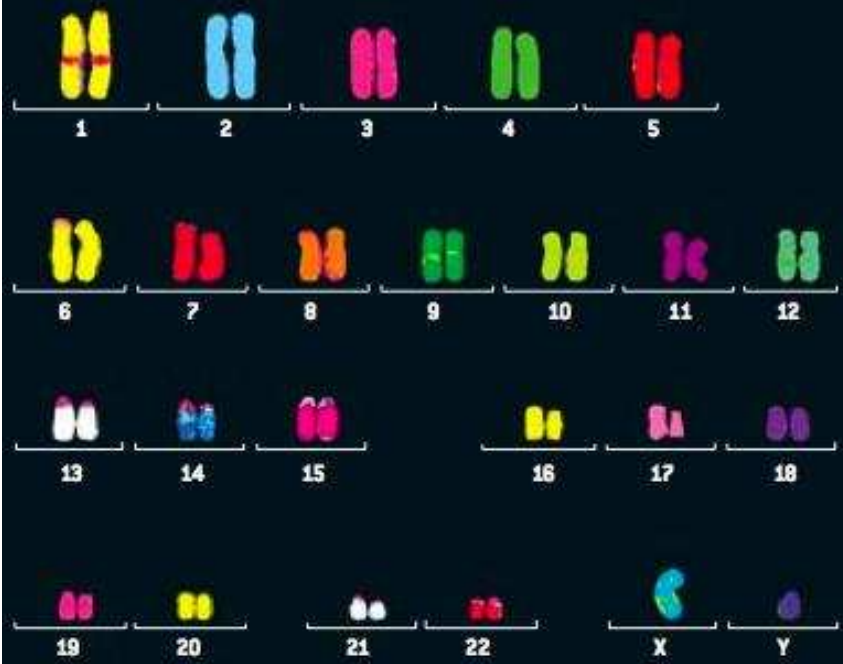


Figure 10-14c The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

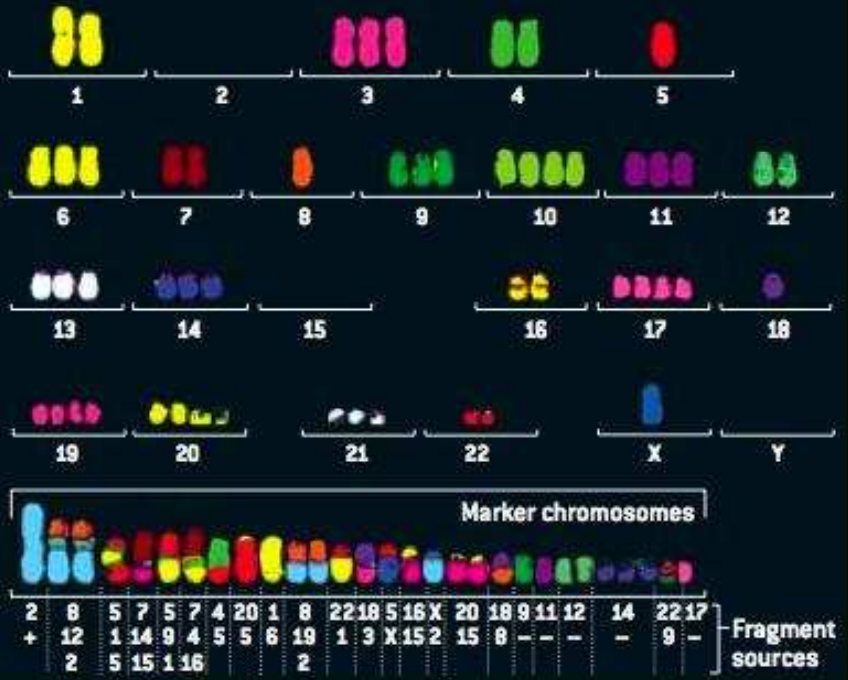


# Příklad karyotypu normální a nádorové buňky

## NORMAL CELL



## TUMOR CELL

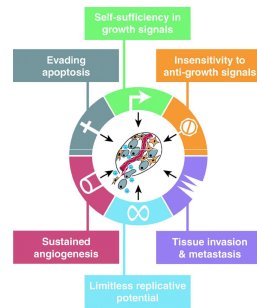


ORDER AND ANARCHY: A normal human cell's chromosome set, or karyotype (left), includes pairs of 23 standard chromosomes, whereas a tumor cell, like all cancers, exhibits the irregular karyotype (right) described as aneuploid: some whole chromosomes are missing, extra copies of others are present, and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

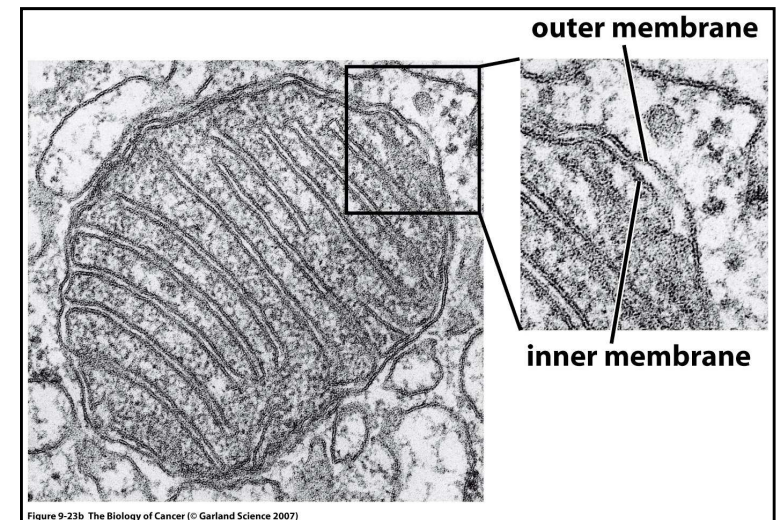
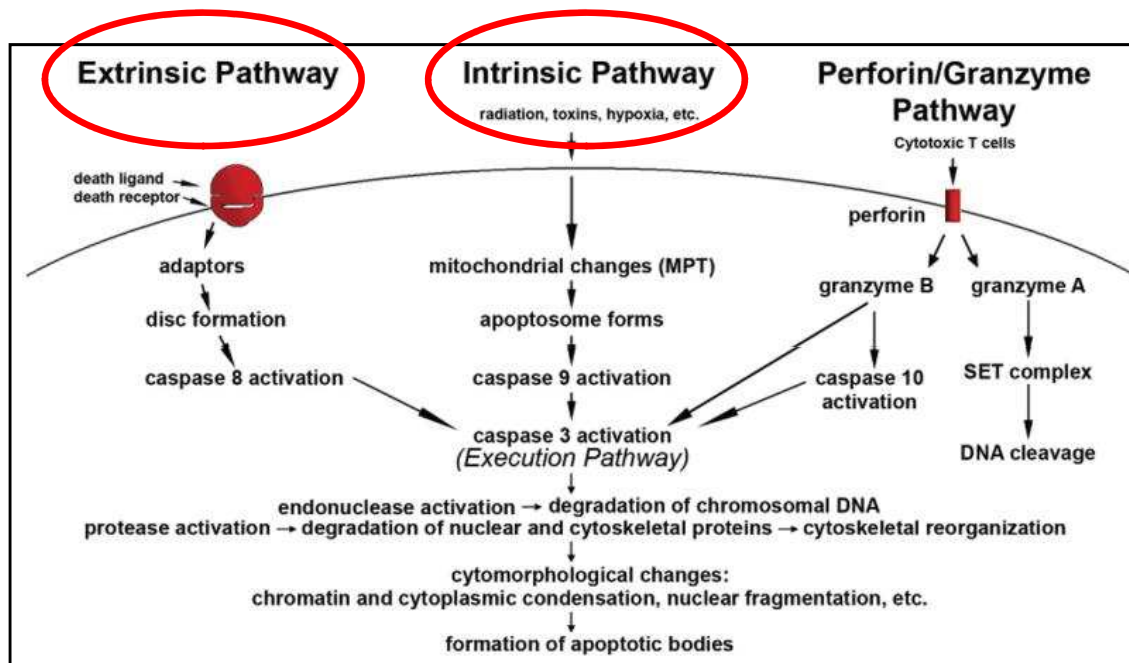
## Apoptóza

- **forma programované buněčné smrti**
- **Koordinovaný proces**, který zahrnuje aktivaci skupiny specifických proteáz (enzymů štěpících proteiny), kterým se říká **kaspázy** (angl. caspases)
- Charakteristické **morfologické změny buňky** - kondenzace chromatinu, svraštění 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

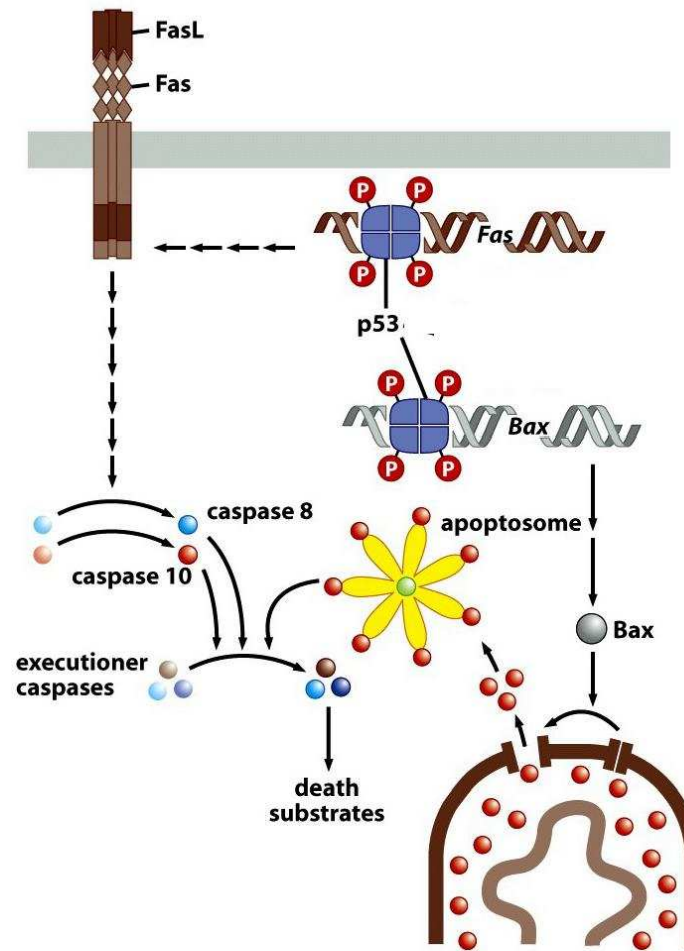
U většiny buněk najdeme dvě základní apoptotické dráhy:

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**



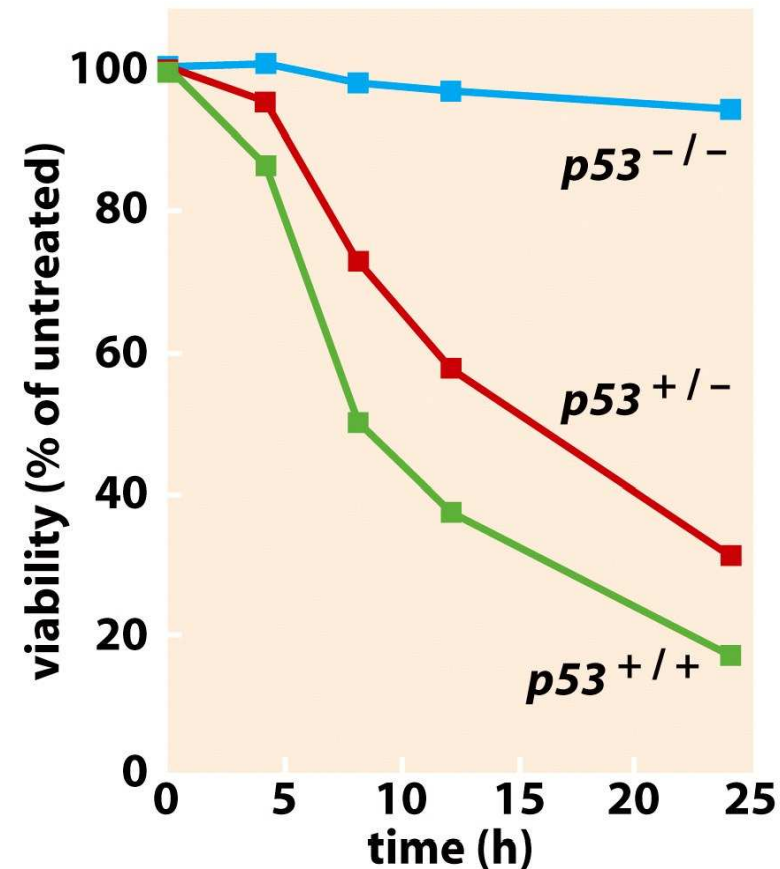


# Aktivace apoptózy působením proteinu p53

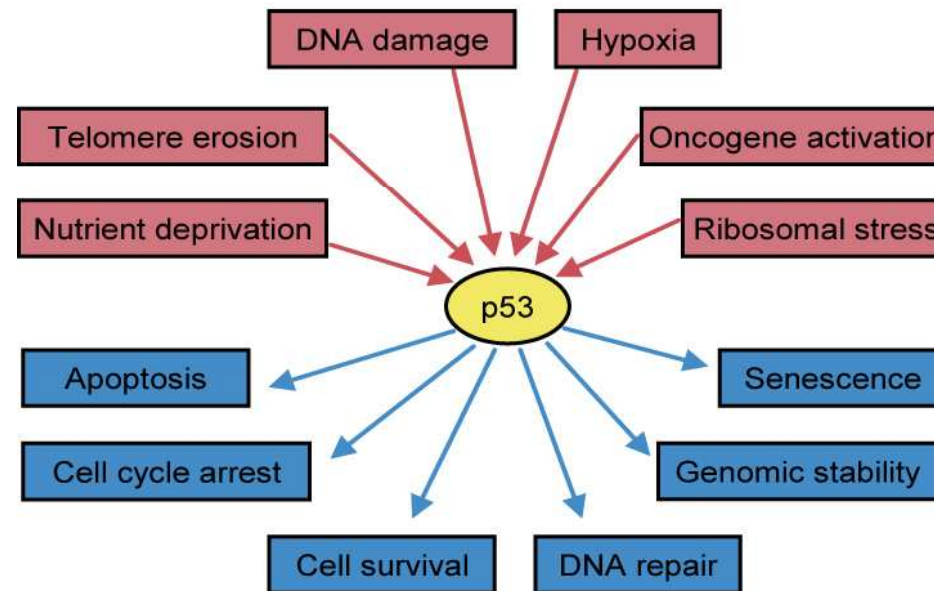


Protein p53 indukuje expresi genů, které se účastní jak vnitřní (např. Bax, Noxa, Puma) tak i vnější apoptotické dráhy (např. Fas)

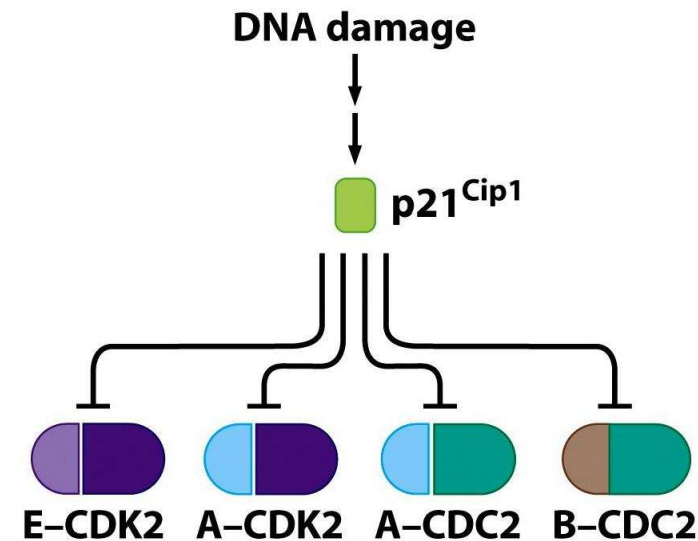
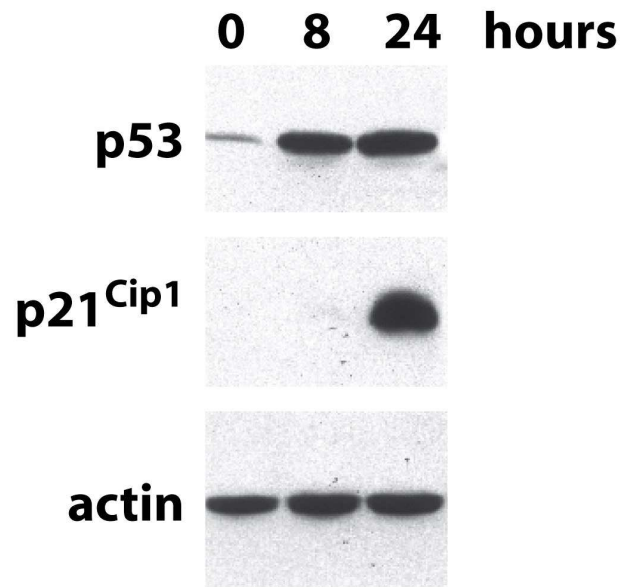
Thymocyty (leukocyty v brzlíku) myši s vyřazeným genem p53 jsou rezistentní k apoptóze vyvolané ionizujícím zářením



p53 je transkripční faktor, který reguluje odpověď na různé stresové podněty



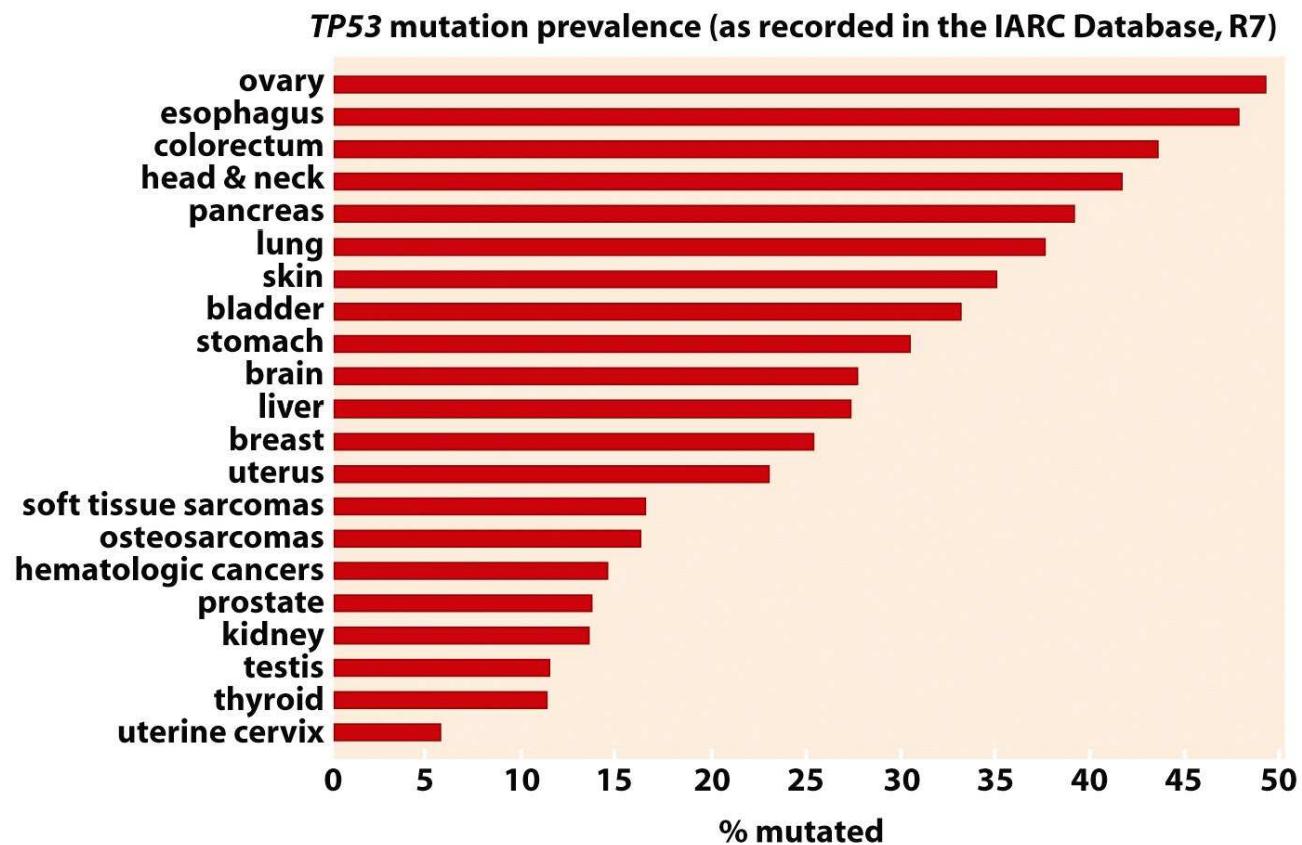
# Indukce p53 a zástava buněčného cyklu při poškození DNA ionizujícím zářením



Poškození DNA indukuje rychlou stabilizaci p53 a indukci exprese cílových genů, např. inhibitoru CDK p21, což vede k zástavě buněčného cyklu, která umožní opravy poškozené DNA

V nádorových buňkách obvykle dochází k vyřazení funkce p53

1. mutací v genu pro p53 (asi 40-50% lidských nádorů)





V nádorových buňkách obvykle dochází k vyřazení funkce p53

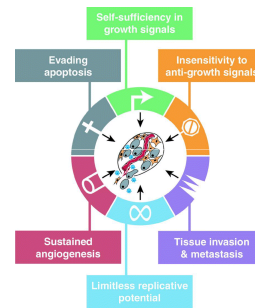
1. mutací v genu pro p53 (asi 40-50% lidských nádorů)

2. Expresí virových proteinů

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

3. Nadměrnou expresí buněčných inhibitorů p53 (např. Mdm2, MdmX)

- negativně ovlivňují stabilitu a transkripční aktivitu p53



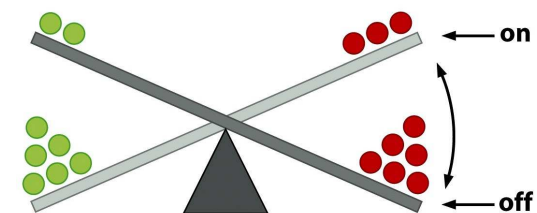
## 5. Indukce angiogeneze

= aktivace 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

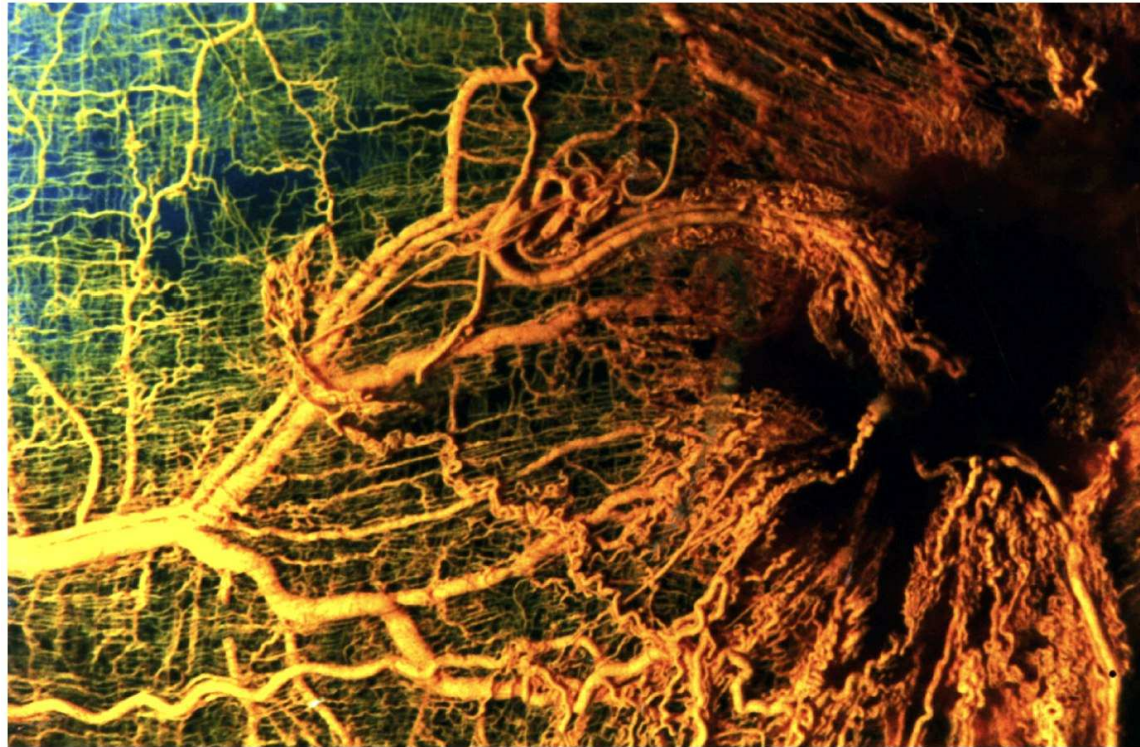
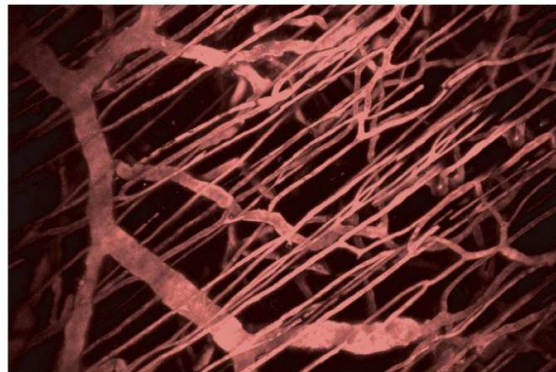
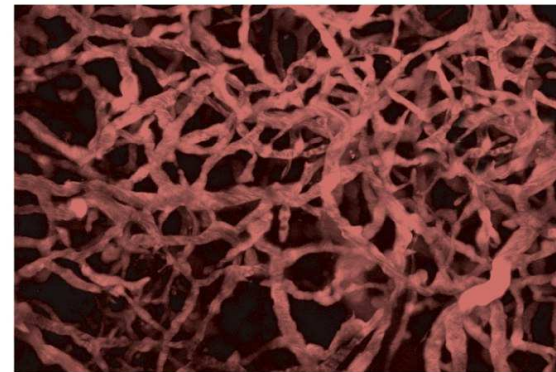


Figure 13-34a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

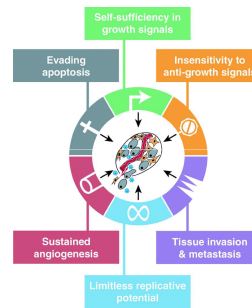


**normal tissue**



**tumor**

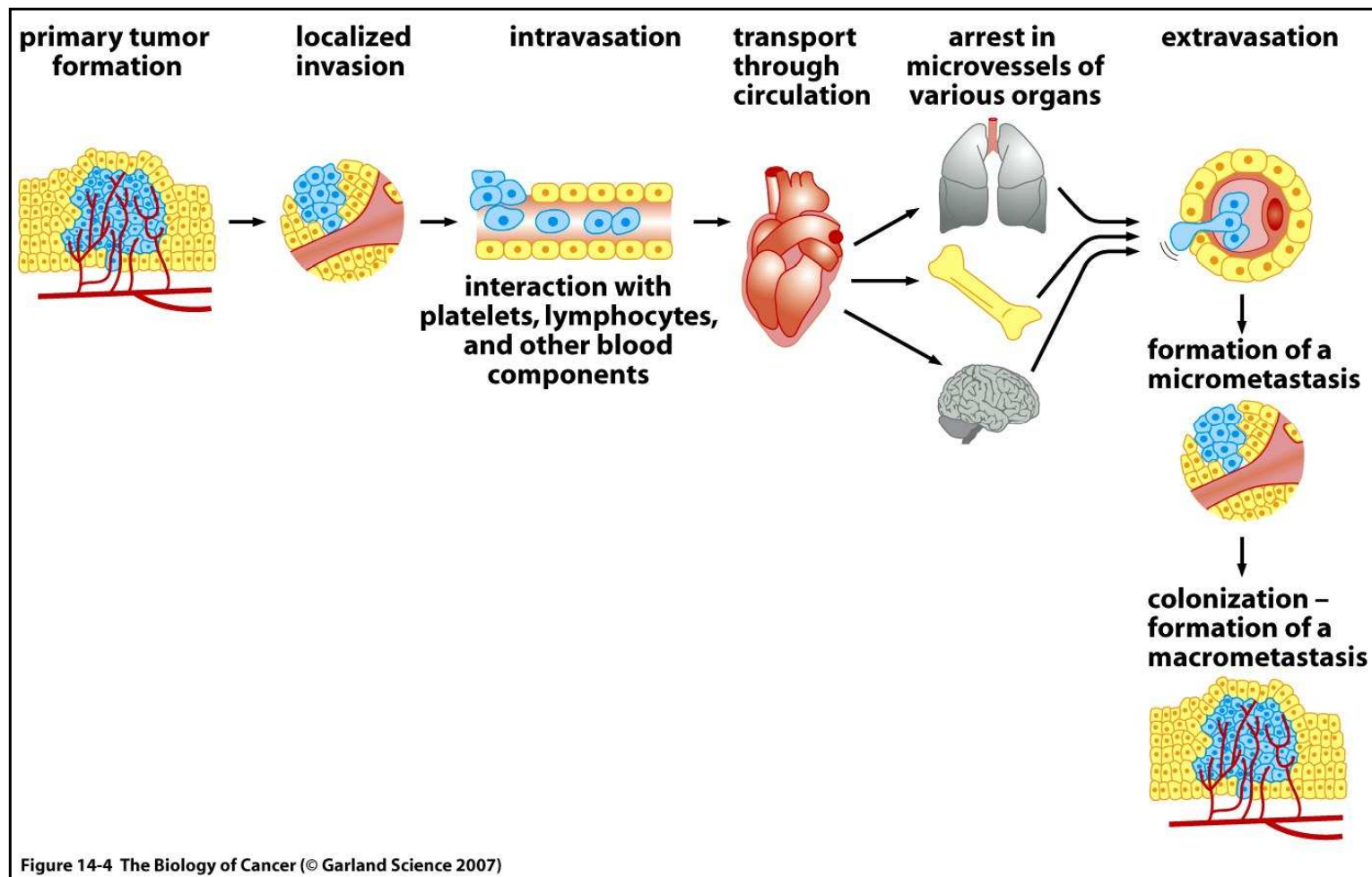
Figure 13-34b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)



## 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 epiteliální 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, změni 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.

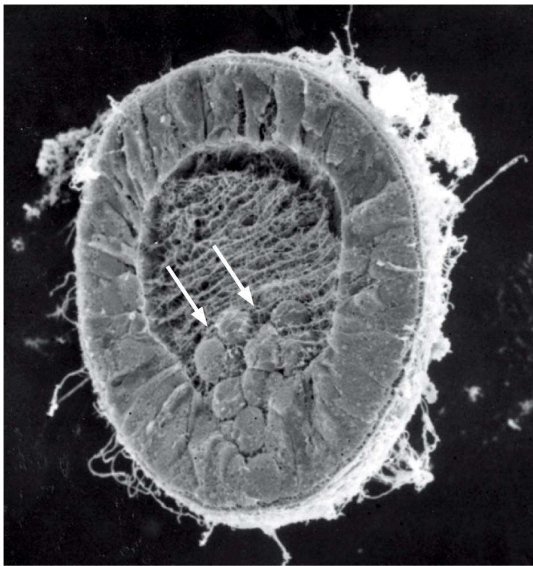


Figure 14-13a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

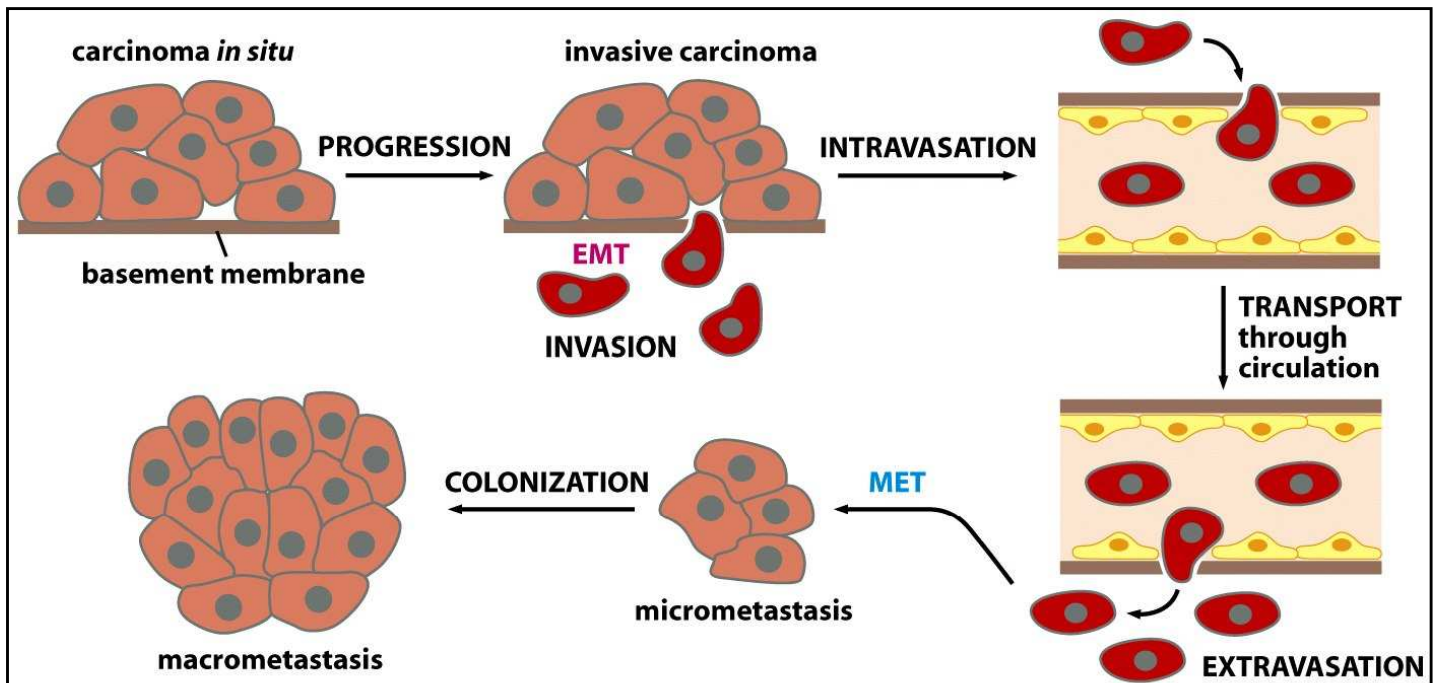


Figure 14-17b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

# Onkogenní retroviry (RNAviry)

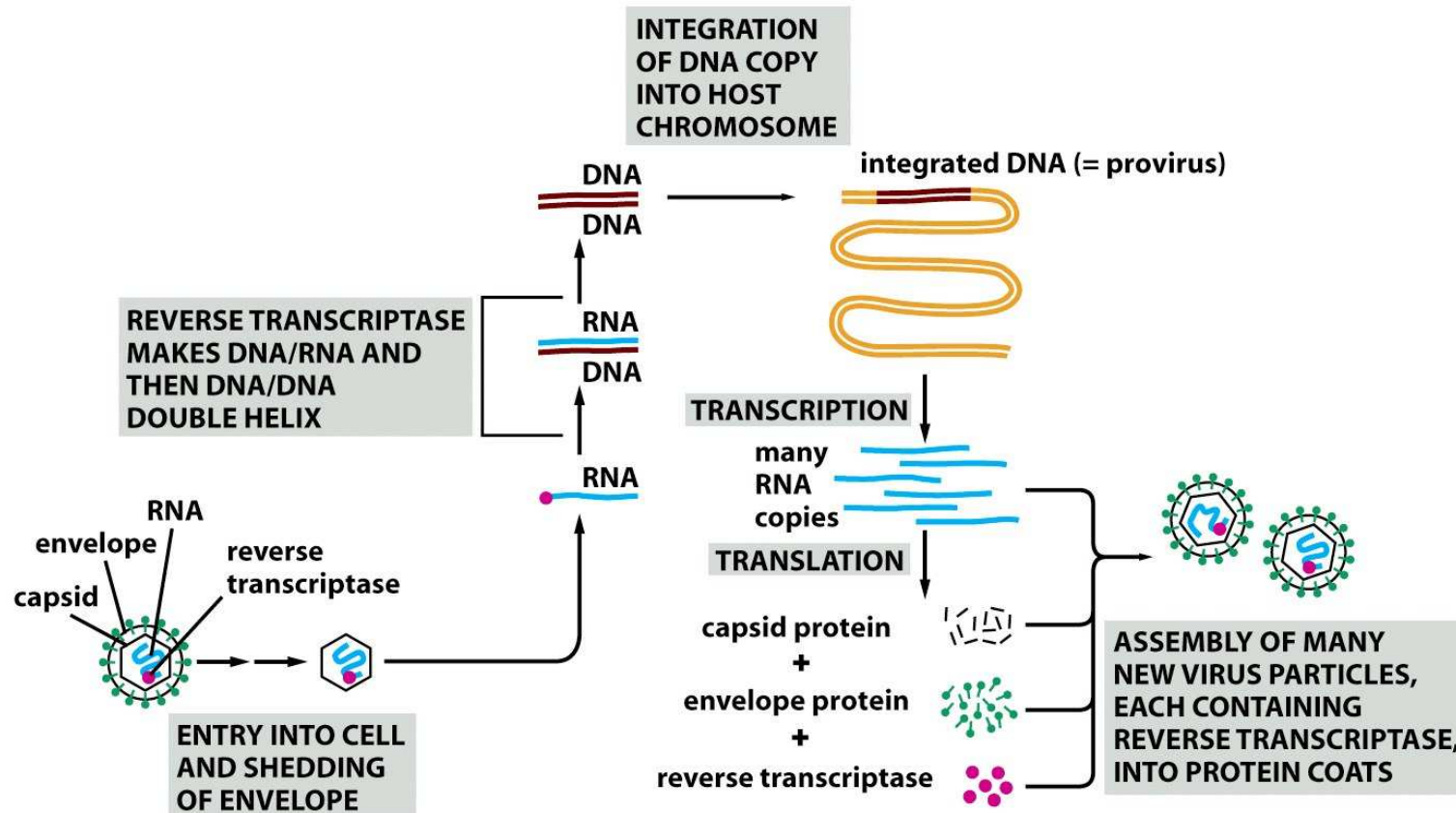


Figure 3-17 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

Genetická informace retroviru je uložena v RNA V infikovaných buňkách je sekvence RNA přepsána do DNA reverzní transkriptázou a tato DNA se začlení do chromozómu buňky (vzniká tzv. provirus).

## Inzerční mutagenese

**Retroviry mohou indukovat nádory pokud se ve formě proviru začlení do blízkosti buněčného protoonkogenu. Toto začlenění totiž může způsobit expresi protoonkogenu řízenou silným, konstitutivně aktivním virovým promotorem.**

**Příklad: Virus ptačí leukózy (Avian leukosis virus - ALV) indukuje u kuřat B-lymfomy. Analýza mnoha těchto lymfomů ukázala, že se provirus ALV často začleňuje do protoonkogenu *c-myc*, většinou mezi první nekódující exon a druhý kódující exon tohoto genu.**

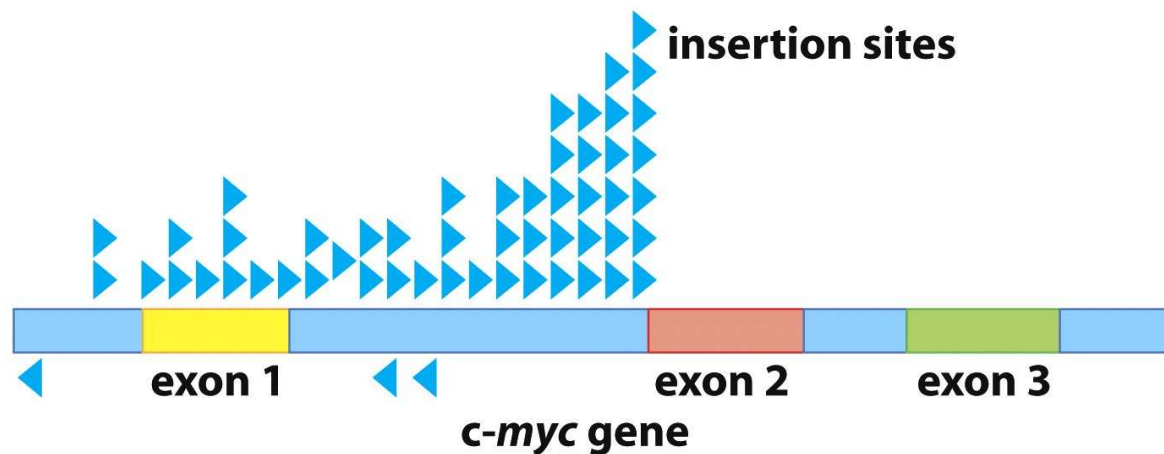


Figure 3-23a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)



**Table 3.4** Examples of cellular genes found to be activated by insertional mutagenesis

Gene	Insertional mutagen	Tumor type	Species	Type of oncoprotein
<i>myc</i>	ALV	B-cell lymphoma	chicken	transcription factor
<i>myc</i>	ALV, FeLV	T-cell lymphoma	chicken, cat	transcription factor
<i>nov</i>	ALV	nephroblastoma	chicken	growth factor
<i>erbB</i>	ALV	erythroblastosis	chicken	receptor TK
<i>mos</i>	IAP	plasmacytoma	mouse	ser/thr kinase
<i>int-1<sup>a</sup></i>	MMTV	mammary carcinoma	mouse	growth factor
<i>int-2<sup>b</sup></i>	MMTV	mammary carcinoma	mouse	growth factor
<i>int-3</i>	MMTV	mammary carcinoma	mouse	receptor <sup>c</sup>
<i>int-H/int-5</i>	MMTV	mammary carcinoma	mouse	enzyme <sup>d</sup>
<i>pim-1</i>	Mo-MLV	T-cell lymphoma	mouse	ser/thr kinase
<i>pim-2</i>	Mo-MLV	B-cell lymphoma	mouse	ser/thr kinase
<i>bmi-1</i>	Mo-MLV	T-cell lymphoma	mouse	transcription repressor
<i>tpl-2</i>	Mo-MLV	T-cell lymphoma	mouse	non-receptor TK
<i>lck</i>	Mo-MLV	T-cell lymphoma	mouse	non-receptor TK
<i>p53</i>	Mo-MLV	T-cell lymphoma	mouse	transcription factor
<i>GM-CSF</i>	IAP	myelomonocytic leukemia	mouse	growth factor
<i>IL2</i>	GaLV	T-cell lymphoma	gibbon ape	cytokine <sup>e</sup>
<i>IL3</i>	IAP	T-cell lymphoma	mouse	cytokine
<i>K-ras</i>	F-MLV	T-cell lymphoma	mouse	small G protein
<i>CycD1</i>	F-MLV	T-cell lymphoma	mouse	G1 cyclin
<i>CycD2</i>	Mo-MLV	T-cell lymphoma	mouse	G1 cyclin

<sup>a</sup>Subsequently renamed *Wnt-1*.

<sup>b</sup>Subsequently identified as a gene encoding a fibroblast growth factor (FGF).

<sup>c</sup>Related to notch receptors.

<sup>d</sup>Enzyme that converts androgens to estrogens.

<sup>e</sup>Cytokines are GFs that largely regulate various types of hematopoietic cells.

Abbreviations: ALV, avian leukosis virus; FeLV, feline leukemia virus; F-MLV, Friend murine leukemia virus; GaLV, gibbon ape leukemia virus; GF, growth factor; IAP, intracisternal A particle (a retrovirus-like genome that is endogenous to cells); Mo-MLV, Moloney murine leukemia virus; MMTV, mouse mammary tumor virus; ser/thr, serine/threonine; TK, tyrosine kinase.

Adapted in part from J. Butel, *Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease*, *Carcinogenesis* 21:405–426, 2000; and from N. Rosenberg and P. Jolicoeur, *Retroviral pathogenesis*, in J.M. Coffin, S.H. Hughes and H.E. Varmus (eds.), *Retroviruses*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. Also in part from G.M. Cooper, *Oncogenes*, 2nd ed. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 1995.

**Table 3-4** The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)



# Virus Rousova sakomu (RSV) a onkogen *v-src*

A

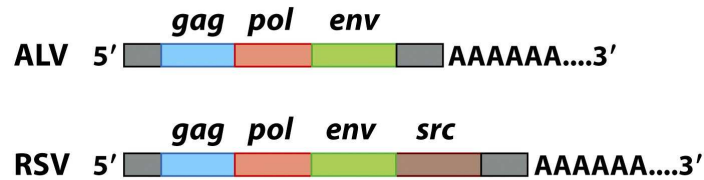


Figure 3-19 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

**AGenom RSV je velice podobný genomu ALV. Kromě běžných retrovirových genů *gag*, *pol* a *env* nese navíc gen *src* (*v-src*), který kóduje protein Src vyvolávající nádorovou transformaci infikovaných buněk.**

**B: Virový gen *src* (*v-src*) byl původně buněčným protoonkogenem (*c-src*), který byl přenesen do genomu viru. Pravděpodobně k tomuto začlenění došlo tím, že se ALV provirus náhodou začlenil vedle genu *c-src* v infikované kuřecí buňce. Gen *c-src* kóduje nereceptorovou tyrozin kinázu.**

B

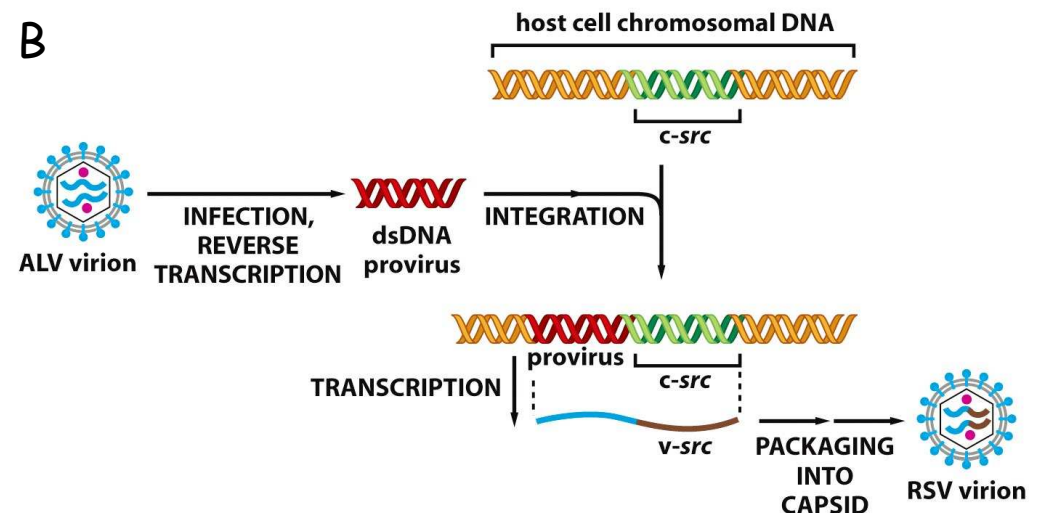


Figure 3-22 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

# Transformace kuřecích fibroblastů virem Rousova sarkomu

A

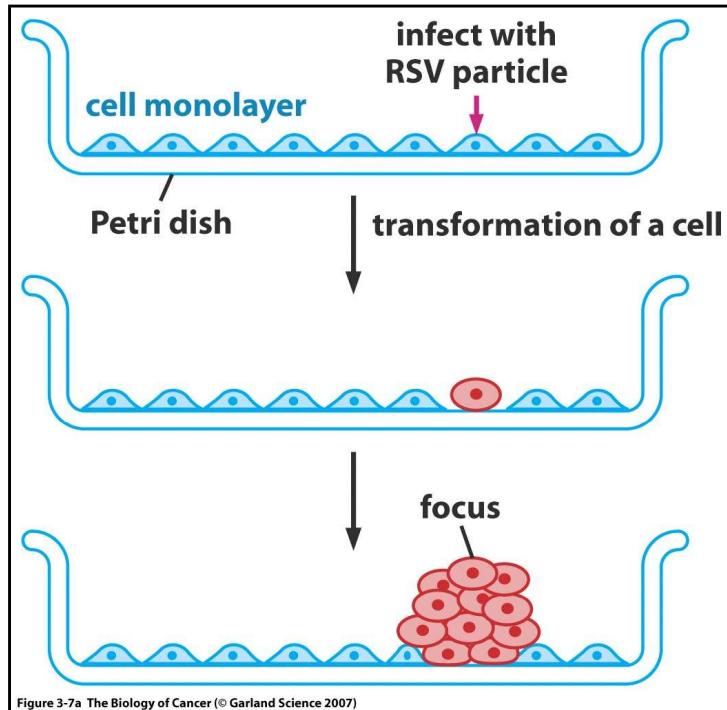


Figure 3-7a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

B

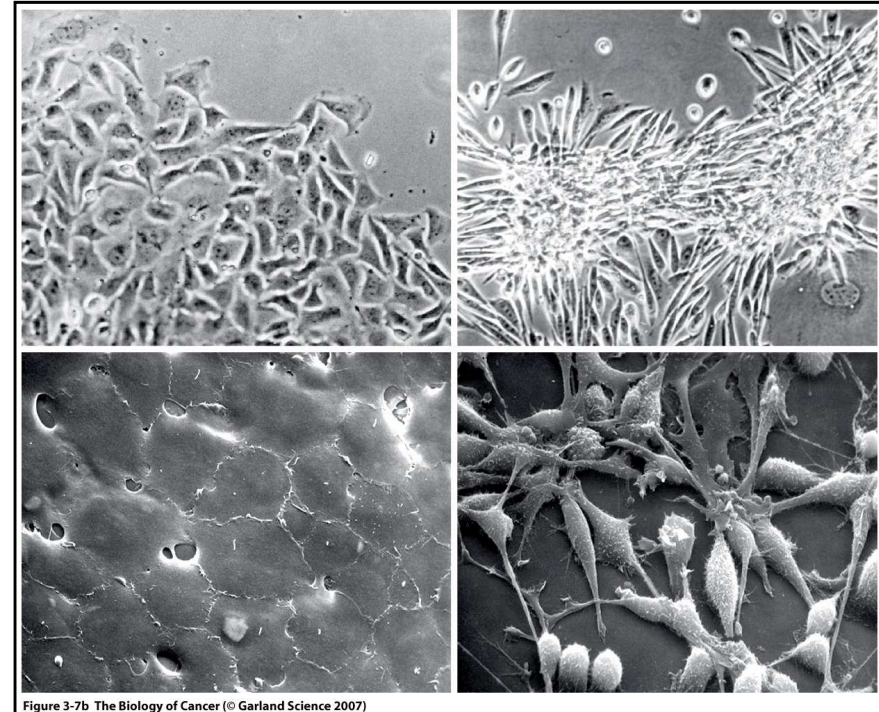


Figure 3-7b The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

A Normální fibroblasty rostou pouze v jedné vrstvě ("monolayer"). Je tomu tak proto, že u nich funguje tzv. **kontaktní inhibice**, tj. zástava dělení vzájemně se těsně dotýkajících buněk. Naproti tomu fibroblasty infikované RSV se zakulatí a ztrácí kontaktní inhibici, tj. dělí se dále, přestože se vzájemně těsně dotýkají.

B: Transformace indukovaná RSV (normální fibroblasty vlevo, fibroblasty transformované RSV vpravo)

**Table 3.3** Acutely transforming retroviruses and the oncogenes that they have acquired<sup>a</sup>

Name of virus	Viral oncogene	Species	Major disease	Nature of oncoprotein
Rous sarcoma	<i>src</i>	chicken	sarcoma	non-receptor TK
Y73/Esh sarcoma	<i>yes</i>	chicken	sarcoma	non-receptor TK
Fujinami sarcoma	<i>fps</i> <sup>b</sup>	chicken	sarcoma	non-receptor TK
UR2	<i>ros</i>	chicken	sarcoma	RTK; unknown ligand
Myelocytomatosis 29	<i>myc</i>	chicken	myeloid leukemia <sup>c</sup>	transcription factor
Mill Hill virus 2	<i>mil</i> <sup>d</sup>	chicken	myeloid leukemia	ser/thr kinase
Avian myeloblastosis E26	<i>myb</i>	chicken	myeloid leukemia	transcription factor
Avian myeloblastosis E26	<i>ets</i>	chicken	myeloid leukemia	transcription factor
Avian erythroblastosis ES4	<i>erbA</i>	chicken	erythroleukemia	thyroid hormone receptor
Avian erythroblastosis ES4	<i>erbB</i>	chicken	erythroleukemia	EGF RTK
3611 murine sarcoma	<i>raf</i> <sup>e</sup>	mouse	sarcoma	ser/thr kinase
SKV770	<i>ski</i>	chicken	endothelioma (?)	transcription factor
Reticuloendotheliosis	<i>rel</i>	turkey	immature B-cell lymphoma	transcription factor
Abelson murine leukemia	<i>abl</i>	mouse	pre-B-cell lymphoma	non-receptor TK
Moloney murine sarcoma	<i>mos</i>	mouse	sarcoma, erythroleukemia	ser/thr kinase
Harvey murine sarcoma	<i>H-ras</i>	rat, mouse	sarcoma	small G protein
Kirsten murine sarcoma	<i>K-ras</i>	mouse	sarcoma	small G protein
FBJ murine sarcoma	<i>fos</i>	mouse	osteosarcoma	transcription factor
Snyder–Theilen feline sarcoma	<i>fes</i> <sup>f</sup>	cat	sarcoma	non-receptor TK
McDonough feline sarcoma	<i>fms</i>	cat	sarcoma	CSF-1 RTK
Gardner–Rasheed feline sarcoma	<i>fgr</i>	cat	sarcoma	non-receptor TK
Hardy–Zuckerman feline sarcoma	<i>kit</i>	cat	sarcoma	steel factor RTK
Simian sarcoma	<i>sis</i>	woolly monkey	sarcoma	PDGF
AKT8	<i>akt</i>	mouse	lymphoma	ser/thr kinase
Avian virus S13	<i>sea</i>	chicken	erythroblastic leukemia <sup>g</sup>	RTK; unknown ligand
Myeloproliferative leukemia	<i>mpl</i>	mouse	myeloproliferation	TPO receptor
Regional Poultry Lab v. 30	<i>eyk</i>	chicken	sarcoma	RTK; unknown ligand
Avian sarcoma virus CT10	<i>crk</i>	chicken	sarcoma	SH2/SH3 adaptor
Avian sarcoma virus 17	<i>jun</i>	chicken	sarcoma	transcription factor
Avian sarcoma virus 31	<i>qin</i>	chicken	sarcoma	transcription factor <sup>h</sup>
AS42 sarcoma virus	<i>maf</i>	chicken	sarcoma	transcription factor
Cas NS-1 virus	<i>cbl</i>	mouse	lymphoma	SH2-dependent ubiquitylation factor

Abbreviations: CSF, colony-stimulating factor; EGF, epidermal growth factor; G, GTP-binding; PDGF, platelet-derived growth factor; RTK, receptor tyrosine kinase; ser/thr, serine/threonine; SH, src-homology segment; TK, tyrosine kinase; TPO, thrombopoietin.

<sup>a</sup>Not all viruses that have yielded these oncogenes are indicated here.

<sup>b</sup>Ortholog of the mammalian *fes* oncogene.

<sup>c</sup>Also causes carcinomas and endotheliomas.

<sup>d</sup>Ortholog of the mammalian *raf* oncogene.

<sup>e</sup>Ortholog of the avian *mil* oncogene.

<sup>f</sup>Ortholog of the avian *fps* oncogene.

<sup>g</sup>Also causes granulocytic leukemias and sarcomas.

<sup>h</sup>Functions as a transcriptional repressor.

Adapted in part from S.J. Flint, L.W. Enquist, R.M. Krug et al., Principles of Virology. Washington, DC: ASM Press, 2000. Also in part from G.M. Cooper, Oncogenes. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 1995.

**Table 3-3 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)**



## Kmenové buňky nádorů

(identifikovány u leukémií, karcinomu prsu, maligního melanomu atd.)

Ne každá nádorová buňka je schopna dát vznik novému nádoru - pouze tzv. kmenové buňky.

Kmenové buňky mají ve srovnání s ostatními nádorovými buňkami obvykle značně odlišné vlastnosti - standardní terapie je často nedokáže úplně zničit.

