

Az SZTE Kutatóegyetemi Kiválósági Központ tudásbázisának
kiszélesítése és hosszú távú szakmai fenntarthatóságának megalapozása
a kiváló tudományos utánpótlás biztosításával”



Eötvös Loránd Kollégium

Tumor escape, tumor immunológia

Duda Ernő



TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0012 projekt



A sejtciklus zavaraitól a tumorok kialakulásáig

- Tumor ellenes mechanizmusok
- A sejtosztódás szabályozása
- A sejthalál szabályozása
- Proto-onkogének, onkogének, tumor szupresszorok – virális onkogének
- Telomeráz aktivitás és telomer öregedés
- Angiogenezis
- Immun moduláció
- Genetikai instabilitás
- Áttétek kialakulása
- Multi-drog rezisztencia
- Tumor őssejtek

Tumor-ellenes mechanizmusok

A sejtciklus szigorú szabályozás alatt áll:

a sejt csak a specifikus növekedési faktor jelenlétében osztódhat szabályozott sejthalál

Genetikai károsodás esetén DNS-javító enzimek működnek,
ha javíthatatlan a hiba: apoptózisra kerül sor
telomer-szeneszencia gátolja a korlátlan szaporodást

Tumor-ellenes mechanizmusok

A sejtciklus szigorú szabályozás alatt áll:

a sejt csak a specifikus növekedési faktor jelenlétében osztódhat
szabályozott sejthalál

Genetikai károsodás esetén DNS-javító enzimek működnek,
ha javíthatatlan a hiba: apoptózisra kerül sor
telomer-szeneszencia gátolja a korlátlan szaporodást

Sejtosztódás, lokális anoxia:

komplement aktiválás,

sejthalál: TLR, lokális gyulladás

TNF-indukálta nekrozis vagy apoptózis

DC aktiválja a CTL-t

érképződés: TNF öli az endotélt

Tumor-ellenes mechanizmusok

A sejtciklus szigorú szabályozás alatt áll:

a sejt csak a specifikus növekedési faktor jelenlétében osztódhat szabályozott sejthalál

Genetikai károsodás esetén DNS-javító enzimek működnek,
ha javíthatatlan a hiba: apoptózisra kerül sor
telomer-szeneszencia gátolja a korlátlan szaporodást

Sejtosztódás, lokális anoxia:

komplement aktiválás,

sejthalál: TLR, lokális gyulladás

TNF-indukálta nekrozis vagy apoptózis

DC aktiválja a CTL-t

érképződés: TNF öli az endotélt

Az immunrendszer nem tűr „idegen” epitópokat:

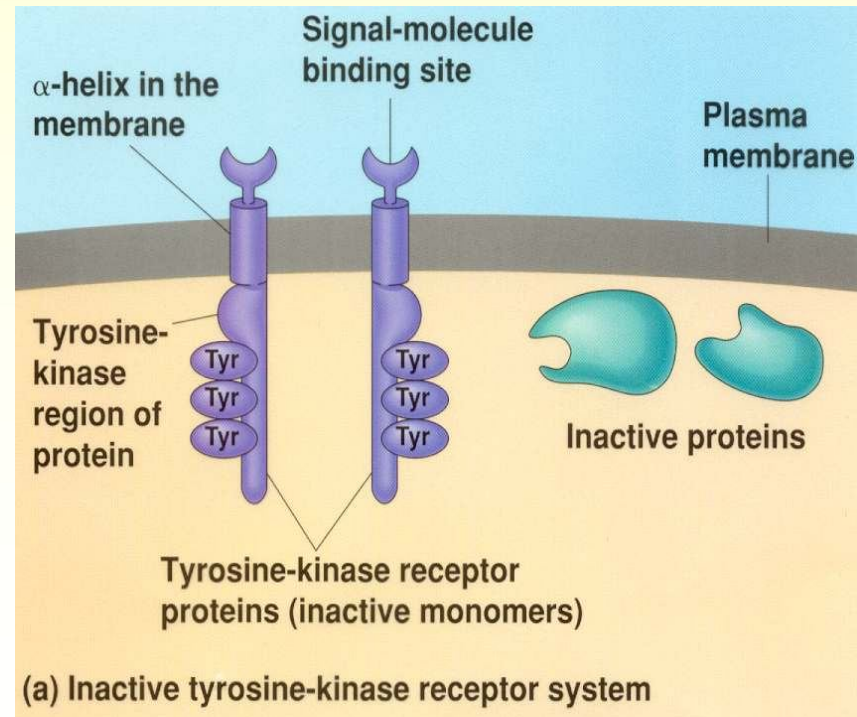
mutáns epitópok MHC bemutatása: citotoxikus T limfociták

MHC eltitkolása: NK sejtek

tumor antigén, ellenanyagok: komplement kiváltotta lízis

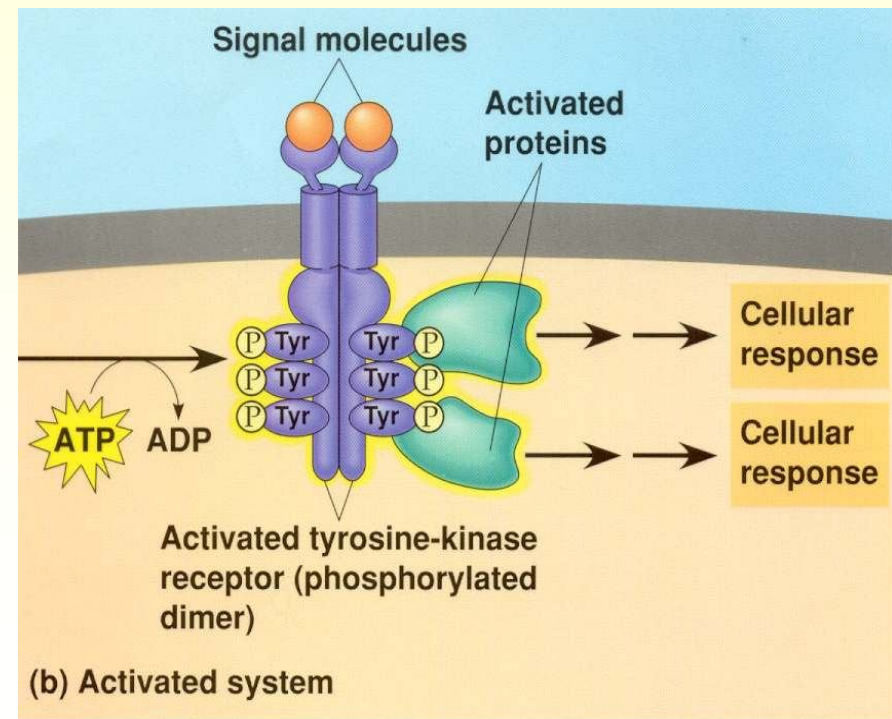
Ritkán ill. folyamatosan osztódó sejtek

- A sejtek száma az osztódás sebességétől és az illető sejtek élettartamának hosszától függ
- A szomatikus sejtek csak „engedéllyel” osztódhatnak: növekedési (túlélési) faktor igény
- A ritkán keletkező sejtek hosszú ideig élnek
- A folyamatosan osztódó sejtek rövid élettartamúak, apoptózissal elpusztulnak



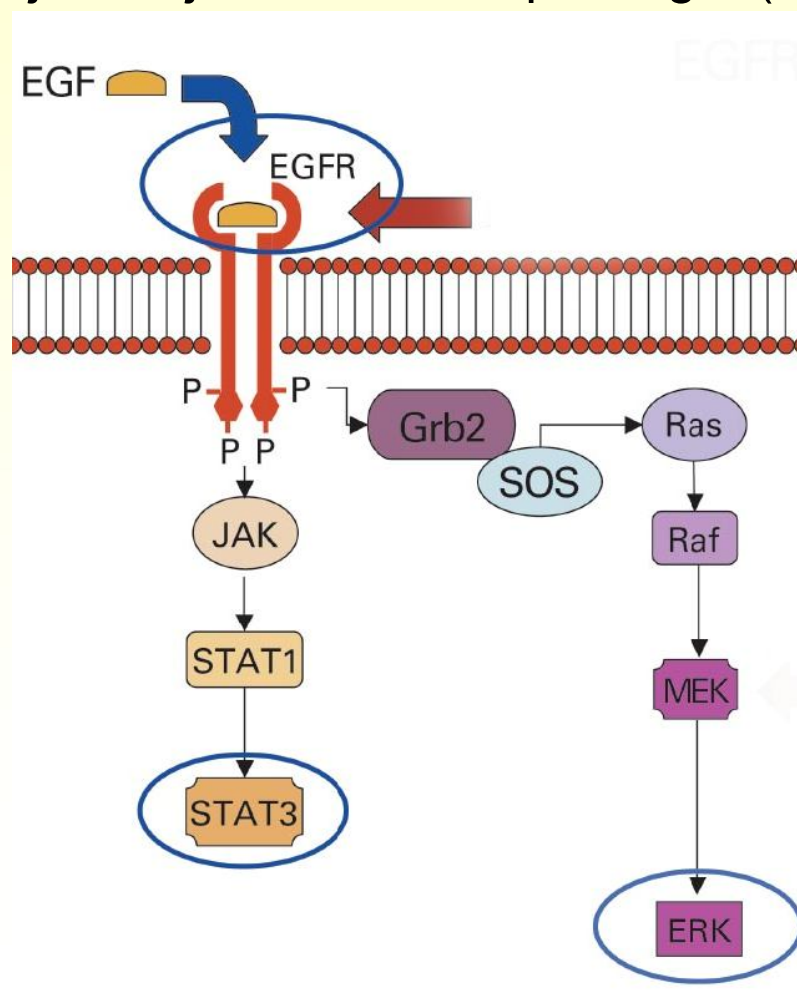
Ritkán ill. folyamatosan osztódó sejtek

- A sejtek száma az osztódás sebességétől és az illető sejtek élettartamának hosszától függ.
- A szomatikus sejtek csak „engedéllyel” osztódhatnak: növekedési (túlélési) faktor igény.
- A nem (ritkán) keletkező sejtek hosszú ideig élnek.
- A folyamatosan osztódó sejtek rövid élettartamúak, apoptózissal elpusztulnak.



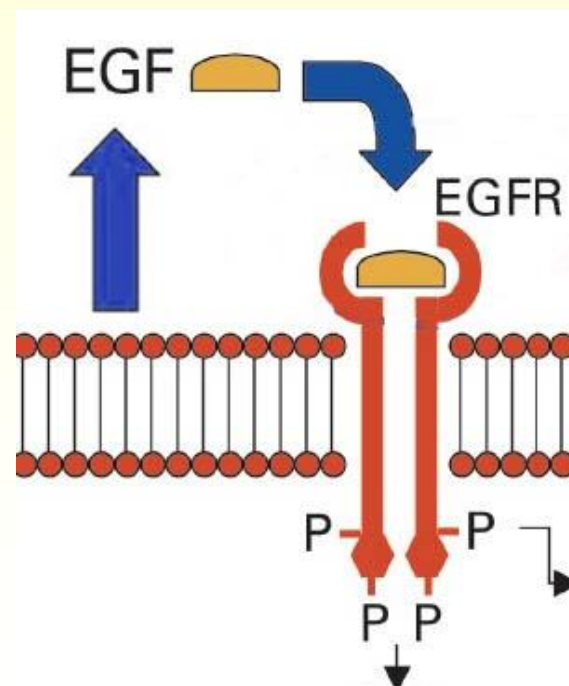
A sejtosztódás szabályozása

- Dinamikus egyensúly áll fenn az elvesztett és a keletkező sejtek száma között. Az őssejtek, progenitor sejtek pótolják az elpusztult sejteket. A nagyfokú differenciáltság általában gátolja a sejt osztódási képességét (és fordítva)
- A sejtfelszíni receptorok specifikus faktorok kötése után jelutakat aktiválva megindíthatják a sejt osztódását
- A félreérthető jelek, jelmolekulák megvonása apoptózishoz vezet. Számos sejtípus folyamatosan igényli túlélési faktorok jelenlétét (survival factors)



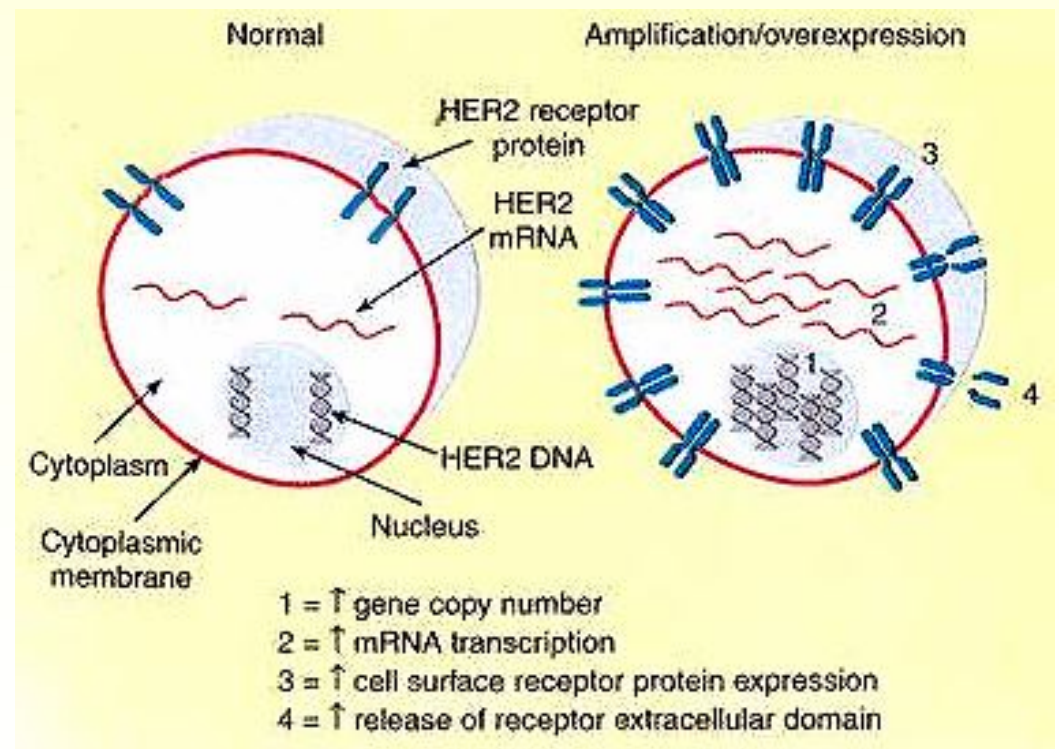
Autokrin növekedési faktorok szerepe

- Az autokrin növekedési faktorok termelése bizonyos sejttípusoknál korlátlan sejtosztódást eredményezhet
- A mutáció rendszerint a GF gén **enhancer-promoter** szakaszát érinti
- Rekombinációk következtében a gén **szabályozó régiója** kicserélődhet más gén hasonló darabjával, vagy a gén meg is sokszorozódhat
- EGF – hepatocelluláris cc, emlő cc,
gasztrin – kolorektális cc
PDGF – embrionális cc
IGF-1 – nyelőcső daganatok



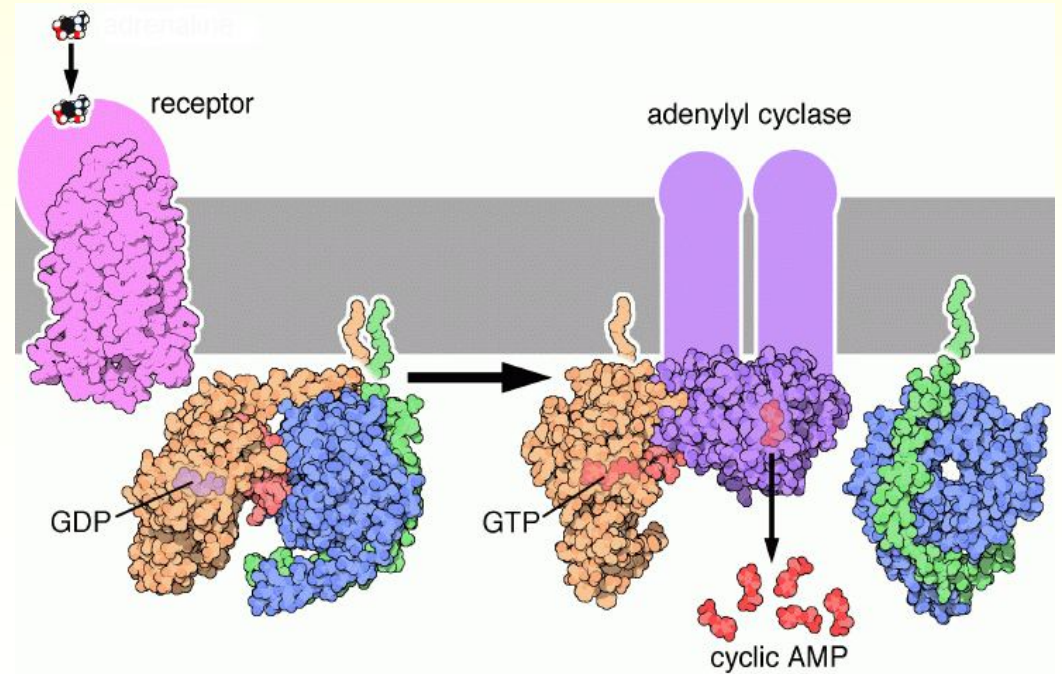
Növekedési faktor receptorok szerepe

- A receptor **szerkezetét** érintő mutációk (csak az aktív konformáció stabil, még a ligand távollétében is)
- A receptor **menyiségét** (a gén szabályozását) érintő mutációk, génszokszorozódások
- Rekombinációk miatt kicserélődött szabályozó szakaszok
- ERB B2/HER-2/neu gén amplifikáció (emlőtumor 15 %): túltermelő fehérje
- Folyamatosan aktív állapot: **szüntelen jelfolyamat**

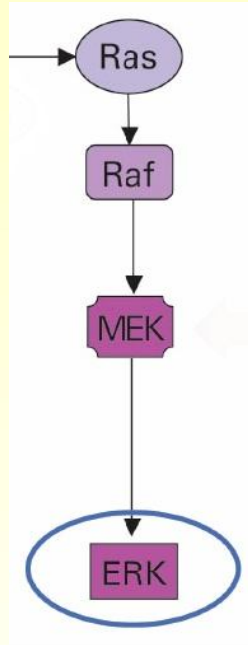


GPCR-kötött G-fehérjék szerepe

- A GTPáz aktivitást befolyásoló **szerkezeti** mutációk pl. gátolják a GTP hasítását – a G-fehérje aktív időszaka megnyúlik (folyamatos marad)
- A Ras fehérje a humán tumorok jelentős részében mutáns: rendszerint a 12. (61. vagy a 13.) aminosav cserélődött ki, elrontva a GTP-áz katalitikus helyet: **szüntelen jelfolyamat**
- A Ras mutációk hatása:
Raf (MAPK) útvonal,
PI-3K (Akt/PKB) jelösvény
RasGEF (GTP kicserélődési faktor)



Jelmolekulák szerepe

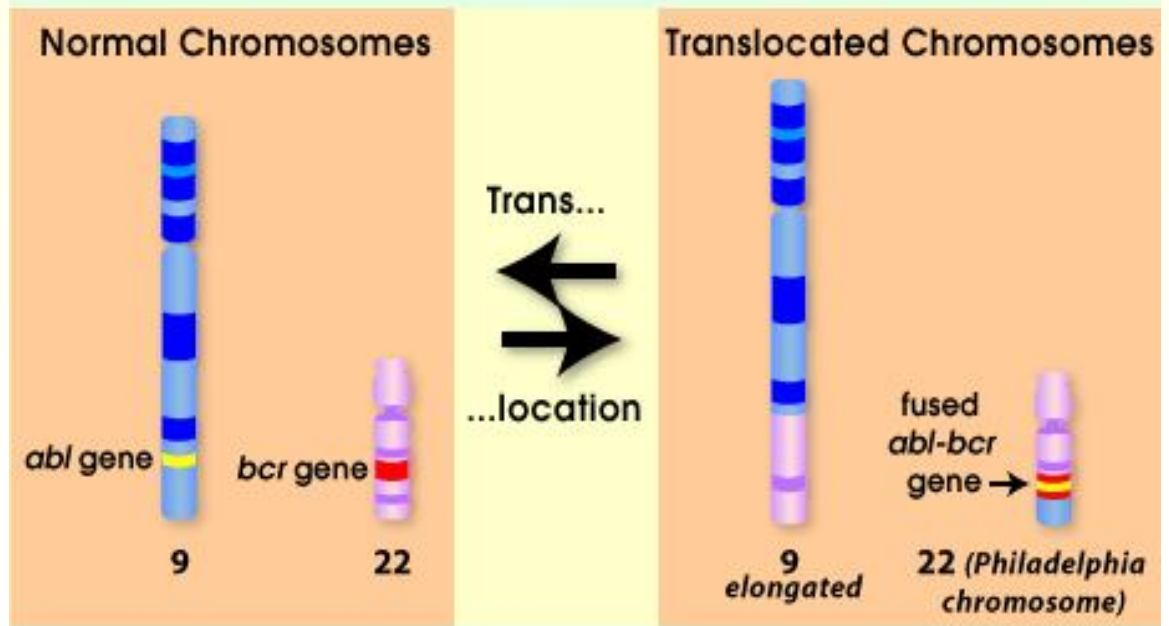


- Folyamatosan aktivált jelmolekulák, pl. kinázok, inaktív foszfatázok, ubikvitin ligázok
- Kromoszóma aberrációk, szabályozó szakaszt érintő mutációk miatti túltermelés (protein kinázok)
- Mutáns (hibás splicing) foszfatázok, specificitást-vesztett ubi ligázok

Rekombinációk miatt
kicserélődött szabályozó
szakaszok
(B sejt receptor-Abl kináz
protoonkogén)

Abl: SH3 domén deléció

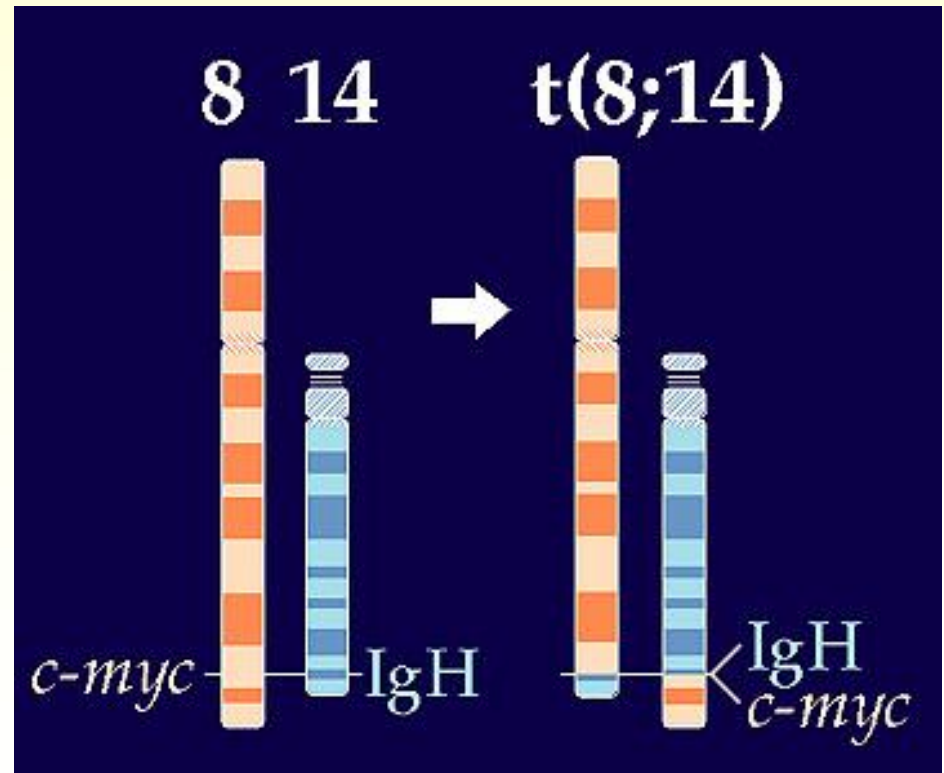
The Philadelphia Chromosome and Chronic Myelogenous Leukemia (CML)



Transzkripciós faktorok szerepe

- A mutációk egyaránt előfordulnak a reguláló és a kódoló szekvenciákban
- A TF-ok „karmester” gének: sok, különféle gén aktivitását befolyásolhatják
- A TF-ok közvetlen hatással vannak a sejtosztódásra
- Myc: akut mieloid leukémiában, hasnyálmirigy tumorokban

abnormális STAT3 aktivitás
figyelhető meg a tumorok
jelentős részében



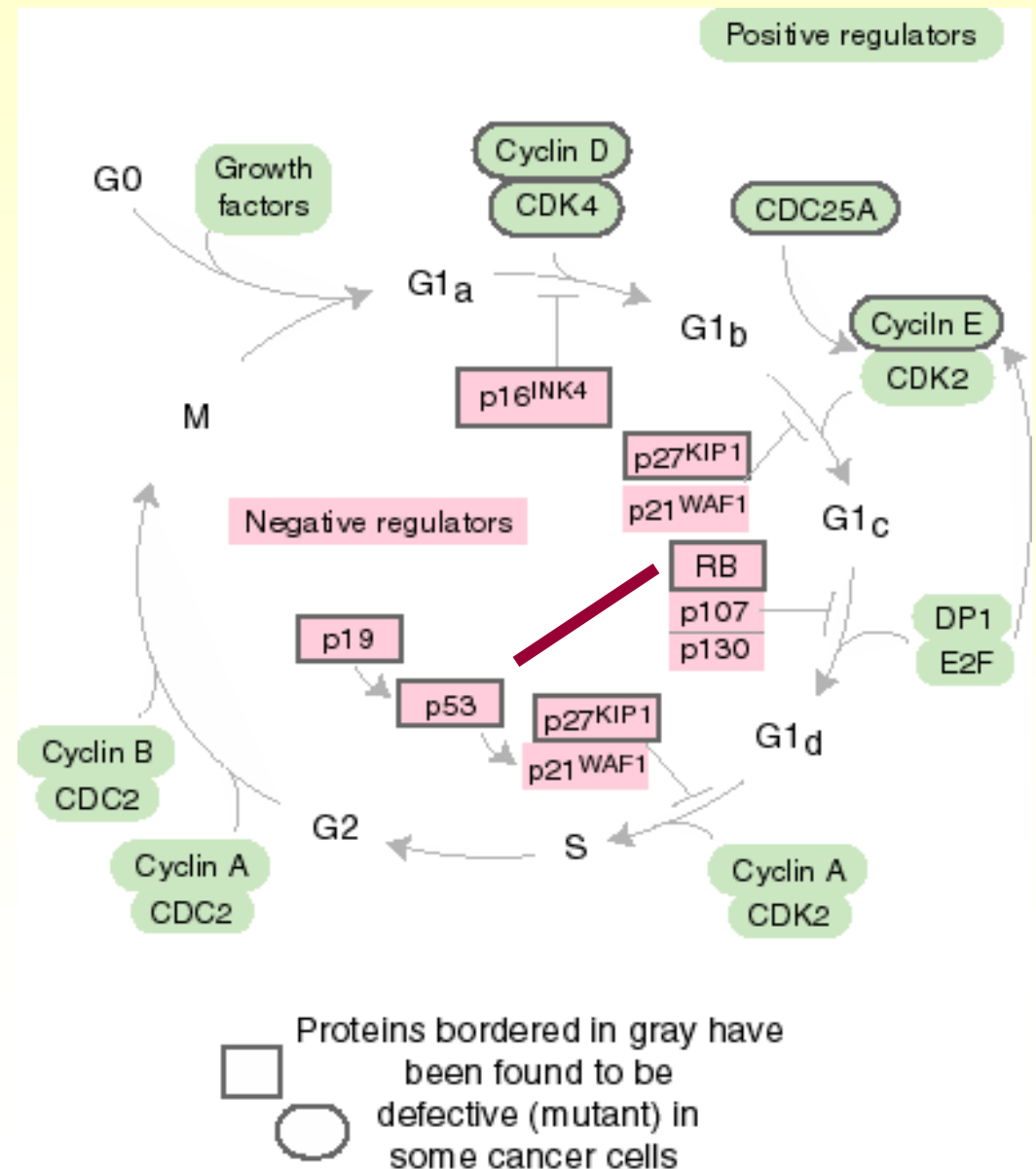
A sejtciklus szabályzás zavarai

RB és p53 tumor-szupreszorok szerepe döntő

A szabályozó fehérjék (cdk-k, ciklinek, p21, p27KIP, stb.) aktivitását, reverzibilis aktiválhatóságát befolyásoló mutációk

E fehérjék aktivitását rendszerint a MAPK-ok és transzkripciós faktorok határozzák meg

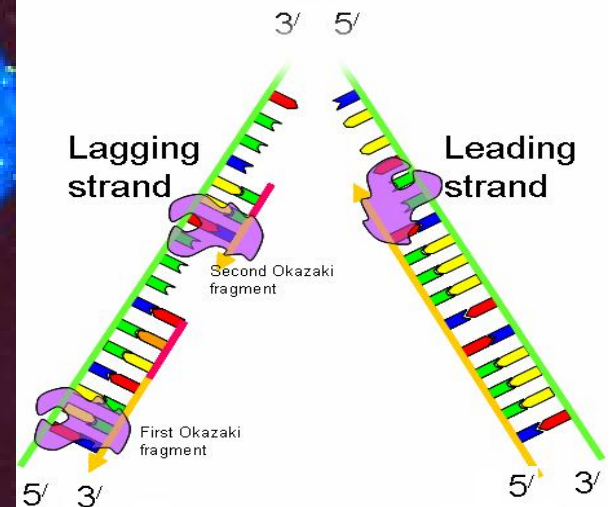
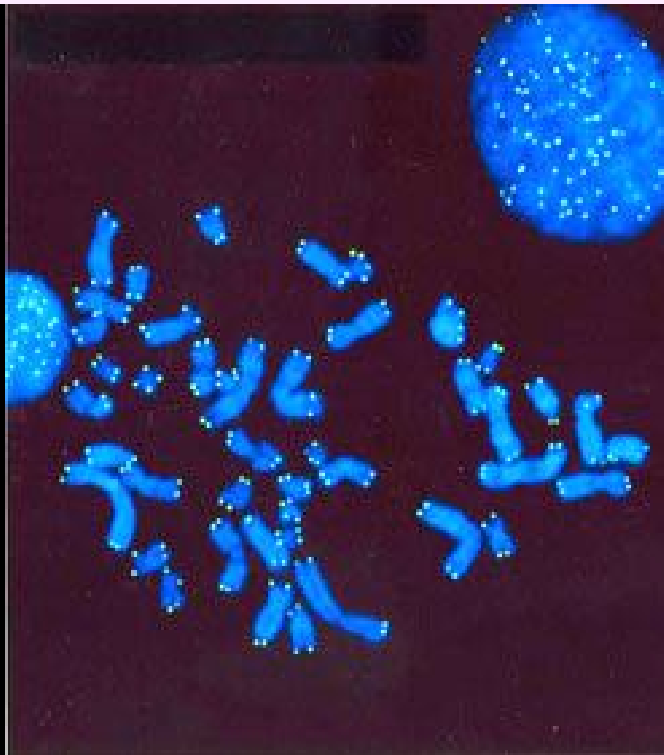
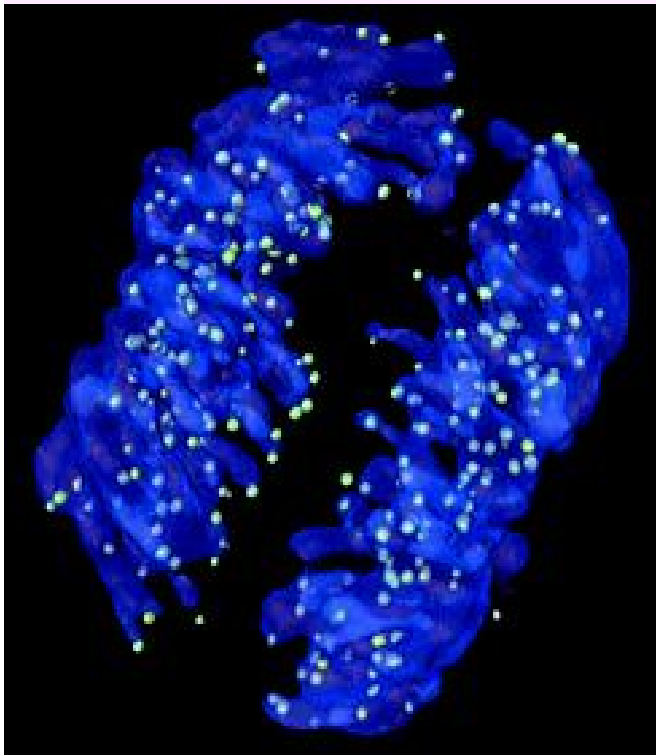
Családi örökletes hajlam



Telomerek, telomeráz

A szomatikus sejtek korlátlan szaporodását akadályozza a telomerek rövidülése (szomatikus szeneszcencia)

Csak a csírasejtekben, őssejtekben és progenitorokban találunk működő telomerázt, amely képes a telomerek karbantartására.



Az apoptózisra való hajlam elvesztése: „immortalizáció”

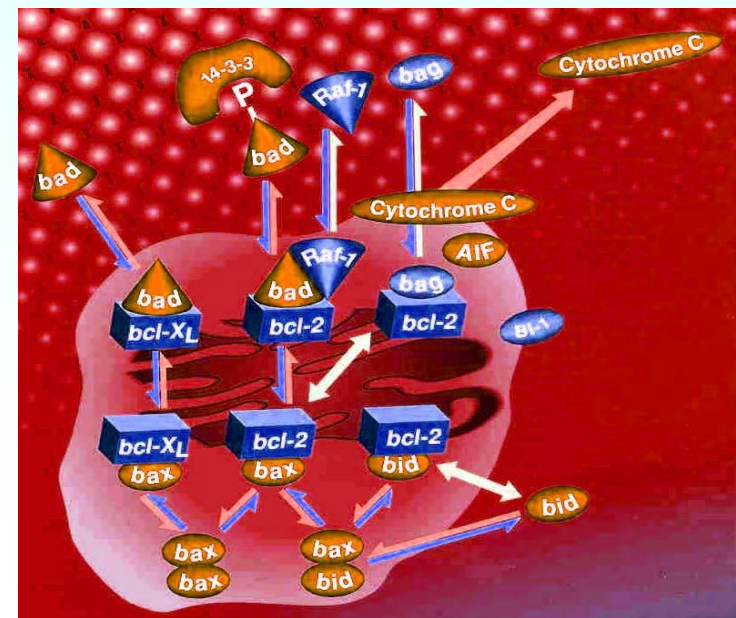
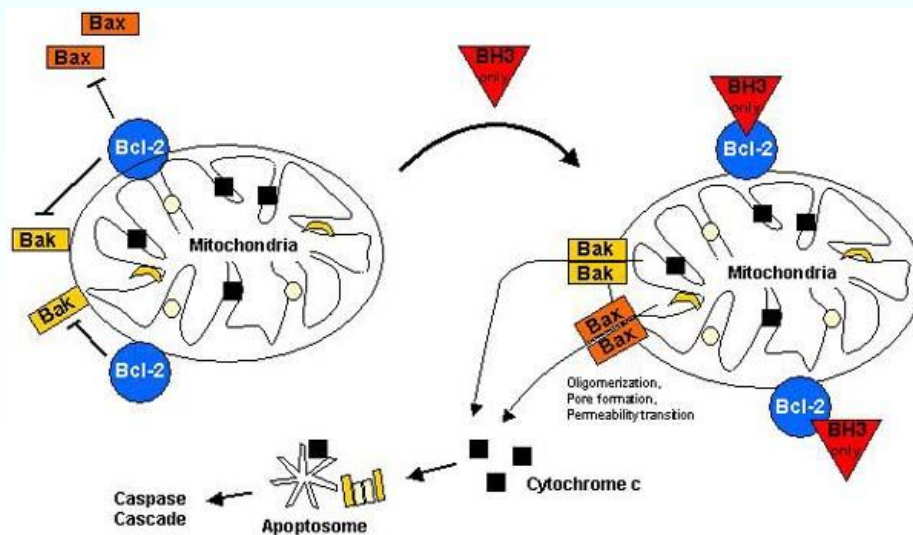
- A folyamatosan osztódó sejtek terminális differenciációja apoptotikus hajlammal jár. Ennek **elvesztése** a sejtek felszaporodását okozza.
- Túlélési faktorok abnormális szintje (ritkán), autokrin faktorok termelése (gyakran) okozza ilyen sejtek túlélését
- Túlélési faktoroktól való *függetlenséget* okozó mutációk
- ***Pro-apoptotikus faktorok hiánya, a halál-receptorok mutációi*** a sejtek felszaporodásához és egyéb súlyos tünetek (autoimmunitás) kialakulásához vezethet (*lpr/gld* mutációk egérben).

Pro- és anti-apoptotikus fehérjék egyensúlya a mitokondriumban

A *bcl2/bax* géncsalád termékei szabályozzák a halál-hajlam mértékét (citokróm C kiszabadulást, a kaszpáz-kaskád beindulását)

Human B-sejtes limfóma sejtekben a Bcl2 túltermelődik, a sejtek száma sokszorosára emelkedik

Számos tumorsejt elveszti TNF, fasL, TRAIL, RANKL, perforin érzékenységét



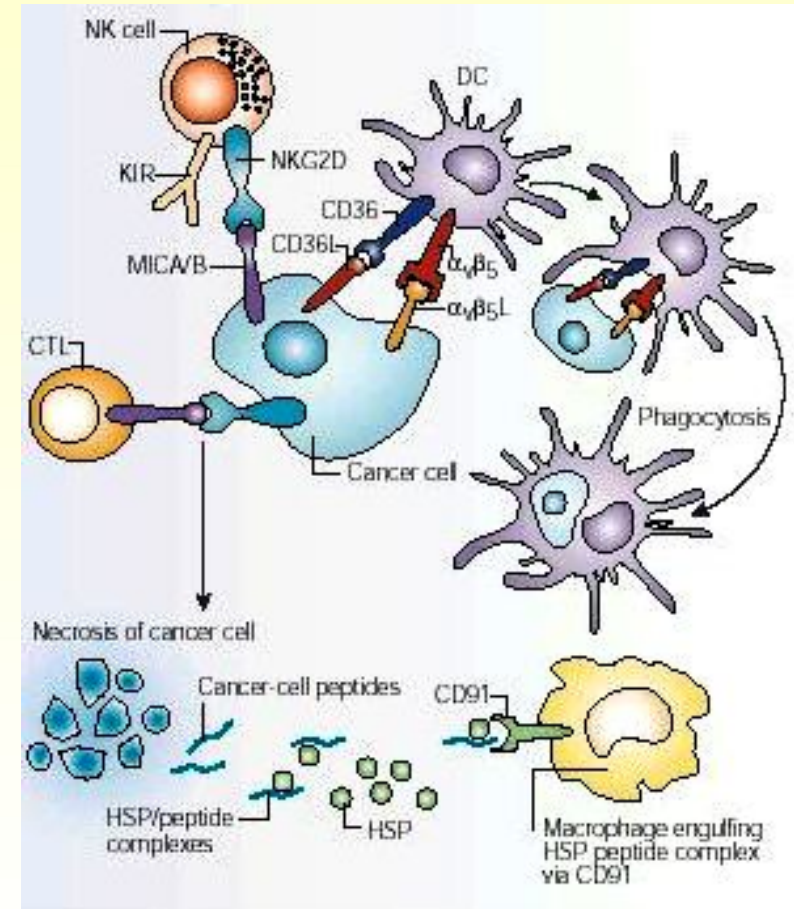
Szabályozatlan sejtosztódáshoz vezető mutációk

- Tumor szupresszor gének funkcióvesztése
(recesszív mutáció: két hibás allél kell!)
 - Proto-onkogénekből onkogének keletkezése (domináns mutáció)
 - Telomeráz aktiválódása
 - Apoptotikus hajlam elvesztése
 - „Killer” jelek iránti rezisztencia
-
- VEGF (bFGF, EGF, angiogenetikus anyagok) termelése
 - Immunmoduláció

Tumor-ellenes immunválasz, tumor- "escape"

Tumor nekrózis faktor (TNF) apoptózist
okoz a transzformált sejtekben

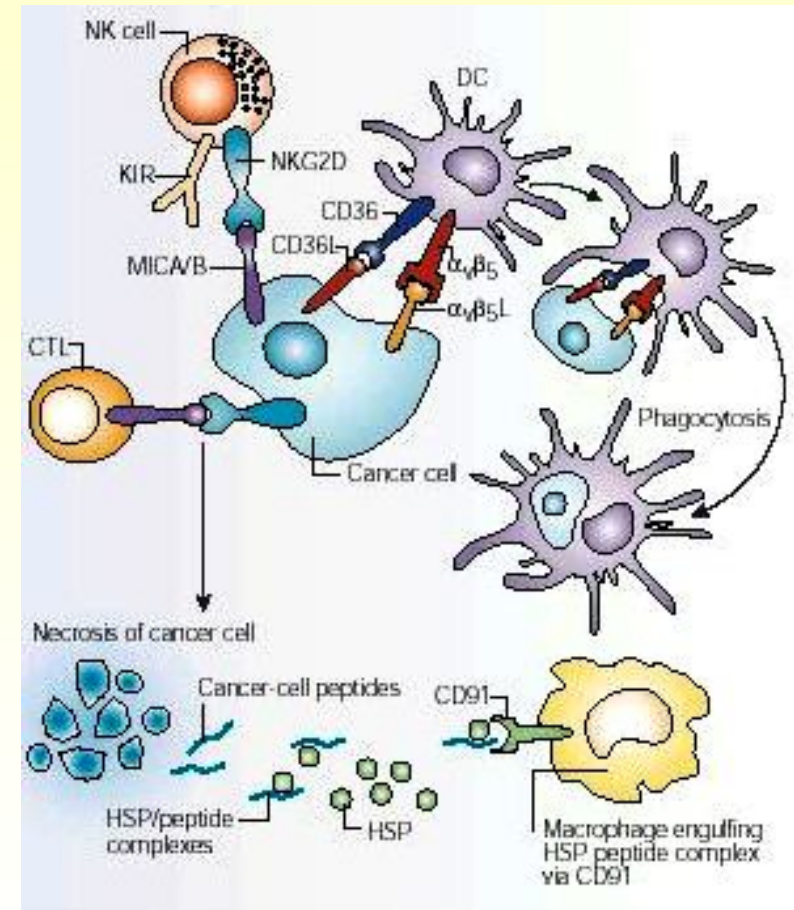
Rezisztencia alakulhat ki: elveszhet a
TNF receptor, jelmolekulák, defektívvé
válhat a kaspáz kaskád



Tumor-ellenes immunválasz, tumor-"escape"

Dendritikus sejtek bemutatják a tumor antigéneket: citotoxikus T sejtek ölik a tumor-sejteket, keringő ellenanyagok aktiválják a komplementet

Az antigén bemutatás gátlódik (proteaszóma gátlás, TAP-gátlás, MHC szint csökkenés), komplement szabályozó fehérjék túltermelődnek

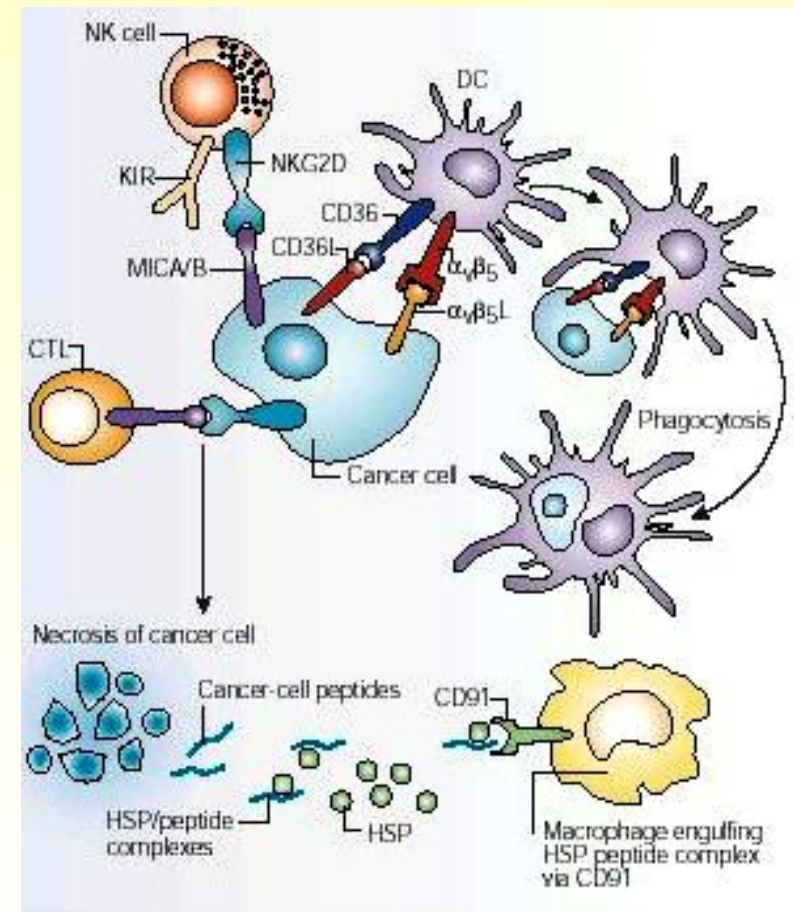


Tumor-ellenes immunválasz, tumor-"escape"

NK sejtek ölik az MHC-negatív sejteket
MHC-G kifejeződik, FasL termelésbe
kezdenek a tumor sejtek

A tumor antigének ellen termelődő
ellenanyagok aktiválják a komplement
rendszert

Komplement-kontrol fehérjék
tútermelődnek



Oxigén és vérellátás: érképződés immunmoduláció

Cisztás mikrotumorok: külső sejtréteg osztódik, belső sejtek elpusztulnak a táplálék hiánya,

Elpusztult sejtek antigénjeit dendritikus sejtek prezentálják – CTL válasz
anoxia miatt komplement aktiválódik

A tumor sejtjei **CSF-1** termeléssel akadályozzák a DC-k érését, a mieloid progenitorokból gyulladásos makrofágok (M2) kialakulását segítik elő

Ezek a makrofágok növekedési faktorokat és VEGF-et termelnek: új erek keletkeznek, a tumorsejtek gyors szaporodásnak indulhatnak

Az M2 tumor-asszociált makrofágok (TAM) fontos szerepet játszanak a tumorsejtek szóródásában, a metasztázisok kialakulásában

Immunmoduláció

A tumorsejteket vérrel ellátó erek endotélje fokozottan érzékeny az immunsejtek által termelt TNF-re, a TNF endotél-sejthalált, bevérzéses nekrozist válthat ki

A tumorsejtek immunmoduláló citokinek (TGF-béta, IL-10) termelésével gátolhatják a TNF termelést

A gyulladásos makrofágok által termelt szabadgyökök hátráltatják a CTL kialakulását és működését

A tumorsejtek által termelt IL-10 és TGF-béta elősegíti a tumor-antigén specifikus **Treg sejtek** kialakulását – teljes tolerancia alakulhat ki

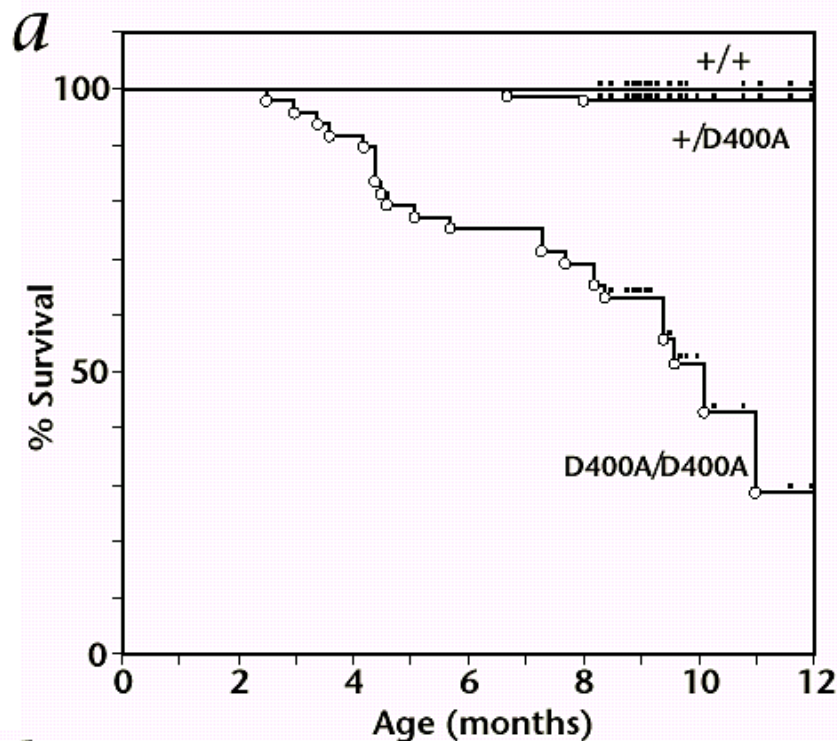
***Hogyan lehetséges ennyiféle
mutációt kialakítani
viszonylag rövid időn belül?***

Mutációs ráta

A DNS szintetizáló enzimkomplex hibájából a mutációs ráta nagyságrendekkel növekedhet.

A "proofreading" enzimek hibája is megsokszorozza a mutációk előfordulását

Ugráló gének "elszabadulása" a genom destabilizálását eredményezi

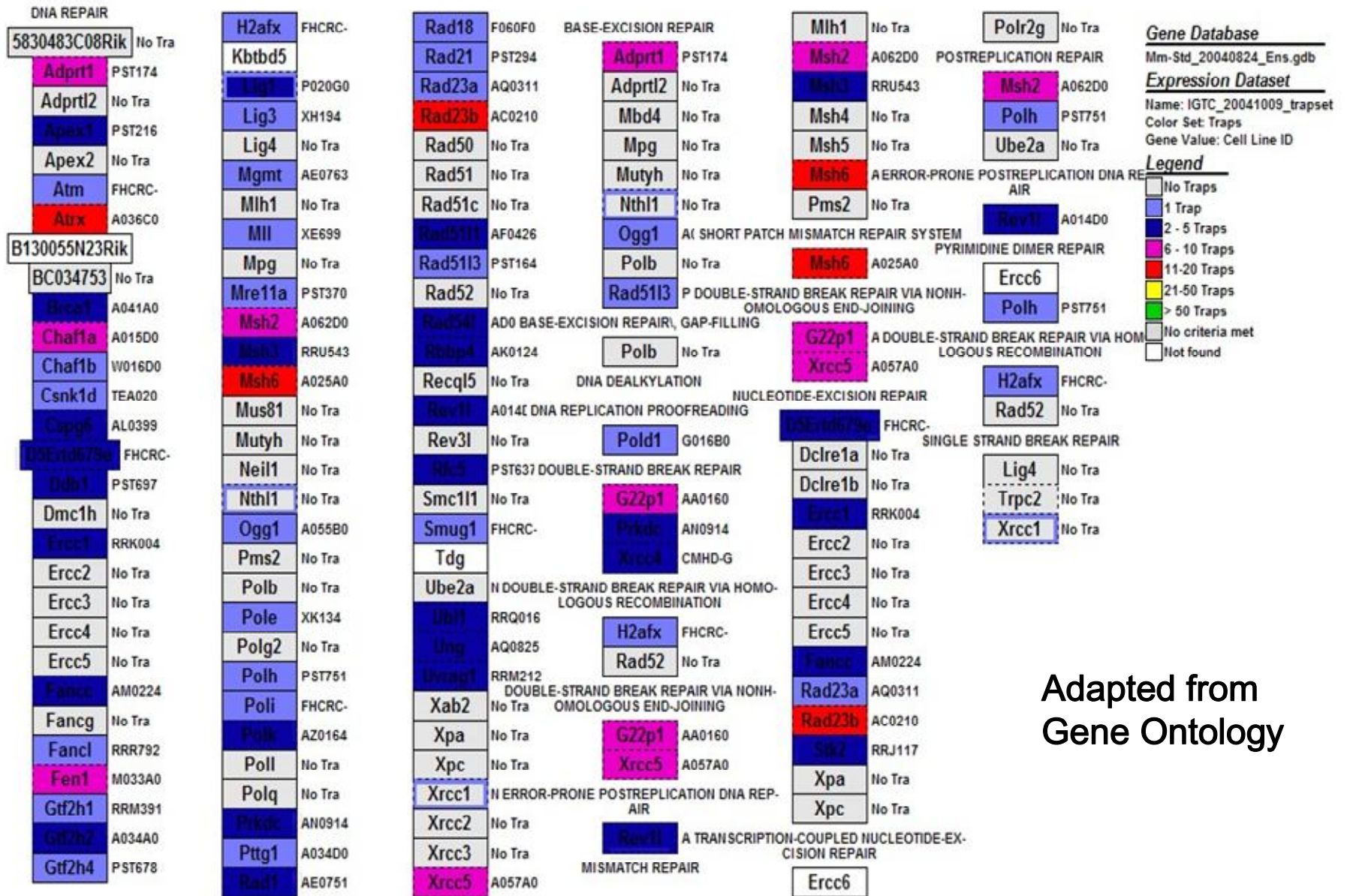


A repair enzimek kiesése megrövidíti a kísérleti állat életét

A heterozigótáknál alig van hatás – **ha nem tesszük ki őket mutagének hatásának**

100 éves dohányosok?

DNS repair gének



Adapted from
Gene Ontology

A genetikai instabilitás *ok*, nem *következmény*!

A magas mutációs ráta elengedhetetlen a tumorsejt kialakulásához

Hosszú mutagén hatás, esetleg repair-gátlókkal kombinálva

Retrovírusok képesek a sejtet immortalizálni, speciális tumorok kialakulását elősegíteni (erythroleukemia, csonttumor, szarkóma, myeloblastosis, stb.) állatmodellekben és emberekben is

Polióma vírusok sokféle tumortípus kialakulásában játszanak szerepet, főleg immunhiányos vagy legyengült szervezetekben

Számos vírus (HPV, EBV, CMV, HHV-8, HBV és HCV, HLTV) és néhány baktérium (*Helicobacter*, *Chlamydia*, stb.) ismert tumor etiológiai ágens.

A kórokozók virulencia faktora (főleg kombinálódva) elősegítik a tumorsejtek megmenekülését.

Onkogének, proto-onkogének, virális onkogének

P. Rous majd egy évszázada izolált egy „szűrhető” fertőző ágenszt

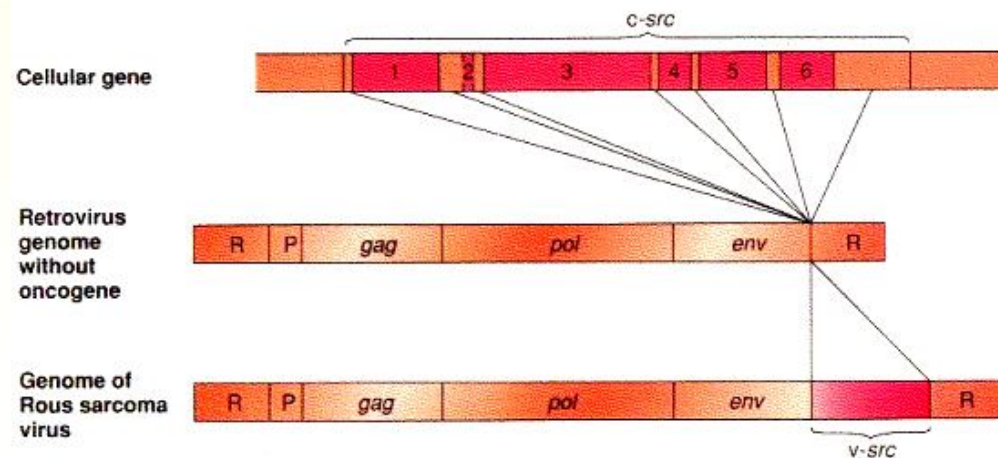
1930: az egér emlőtumort vírus okozhatja, ez az anyatejjel kerül át az utódokba.

A szarkóma vírusok **onkogéneket** hordoznak.

A retrovírus genomokban **processzált onkogéneket** találunk (v-onc).

A sejt homológ, normális génje a **proto-onkogén** (c-onc)

A retrovírus onkogén
nélkül is okozhat
tumor hajlamot:
enhancer-inszerció



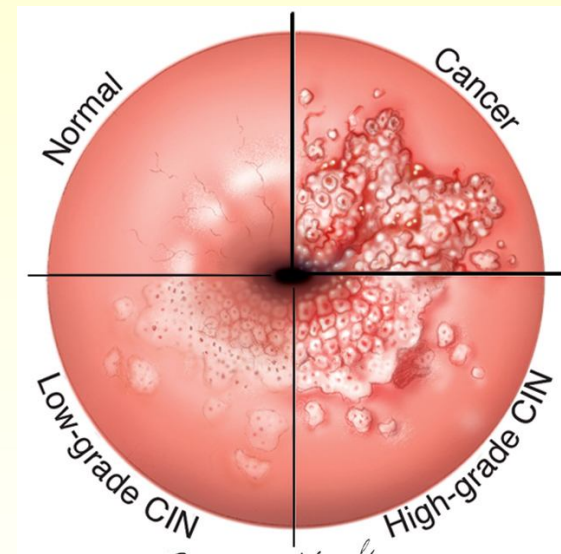
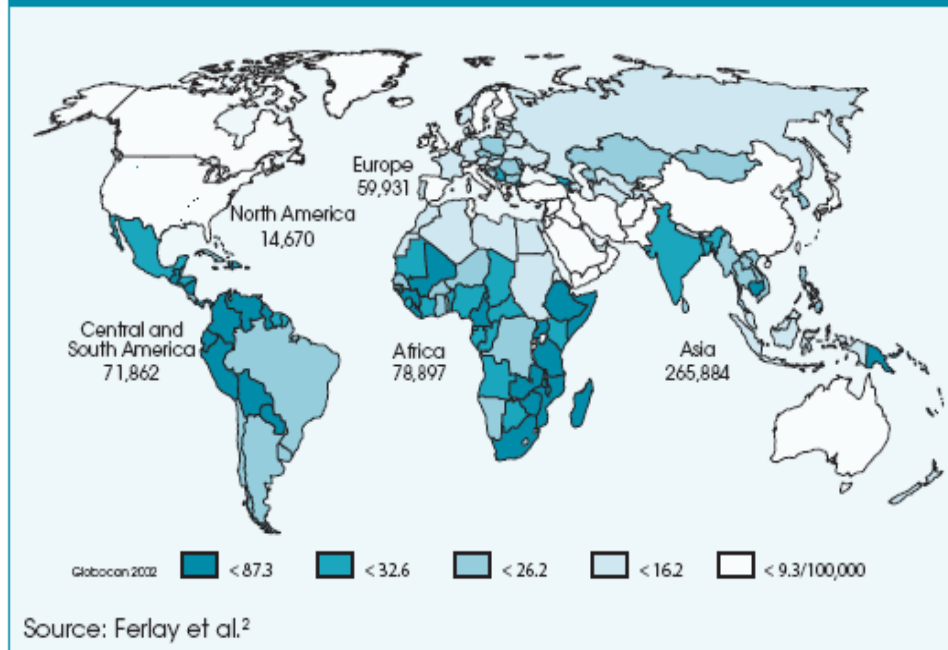
DNS vírusok virális onkogénjei

Papillomavirusok

A DNS vírusok saját onkogénnel rendelkeznek, *ezeknek nincs gazda homológja*.
A virális onkogén gyenge onkogén, csak *fokozza* a tumoros transzformáció esélyét

A papillomavírus fehérjéi gátolják a p53 és az Rb működését

Figure 1. Estimated number of cases and incidence of cervical cancer



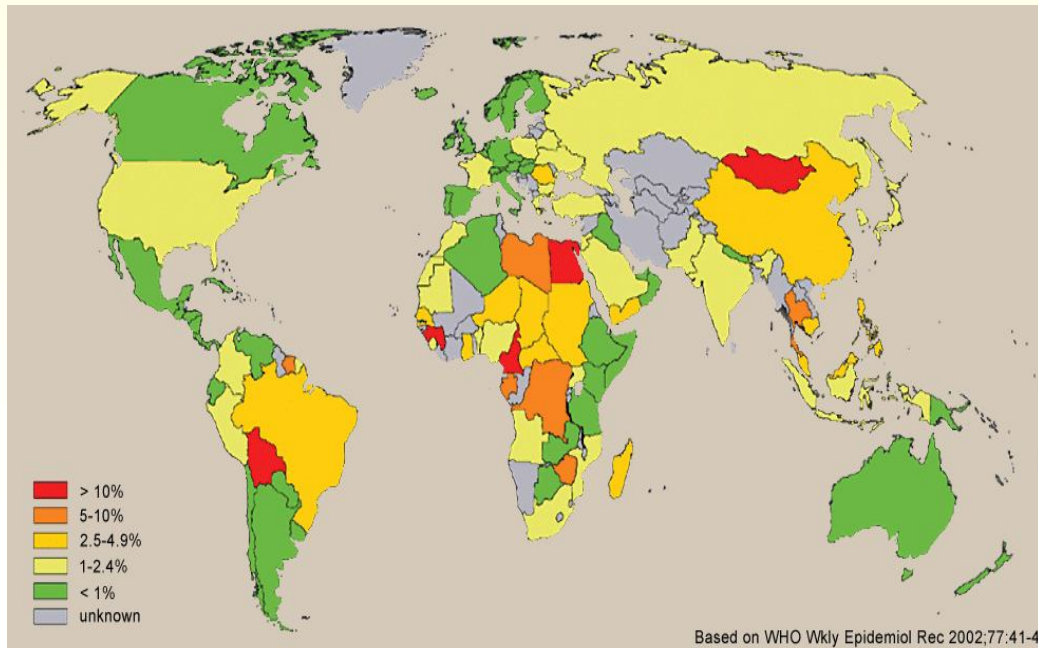
Oral papilloma

Hepatitis B és C vírusok

Hepatitis B és C vírus fertőzések gyakran vezetnek krónikus hepatítisz kialakulásához, ami idővel átalakulhat hepatocelluláris karcinómává

Mindkét vírus vérrel terjed, a B különösen fertőző (ezért még sérült nyálkahártyán át is fertőzhet)

Kitűnő vakcina áll rendelkezésre HBV ellen



How hepatitis is spread

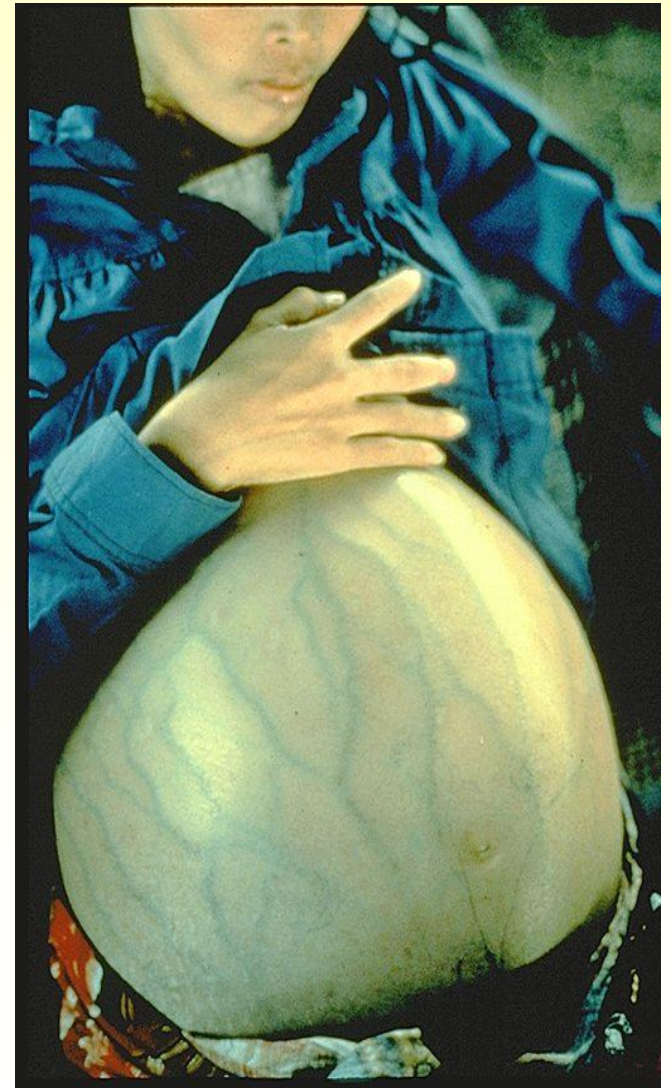
INFECTION SOURCE	TRANSMISSION PROBABILITIES		
	B virus	C virus	
	Definitely	Rarely	Suspected
Between family members	B		C
Job exposure to blood	B C		
Needle-stick injuries	B C		
IV drug use (shared needles)	B C		
Transfusions	B C		
Hemodialysis	B C		
Orally		B C	
Sexually	B	C	
Anal/oral sex	B		C
Mother to child at birth	B	C	
Body piercing	B C		
Acupuncture/tattooing	B C		
Recreational cocaine	B C		

Hepatitis B és C vírusok

Kína: 500,000 - 1 millió új hepatocelluláris cc évente!

Tajvan: a HCC relatív kockázata 217-szor magasabb a fertőzöttek, mint a nem-fertőzöttek között

A HBV elleni vakcina egy évtizednél rövidebb időre biztosít védettséget!
Ismételni kell!



Herpeszvírusok

A humán herpeszvírus (HHV) -8 retrovírusokkal (leukémia vírusok vagy HIV) karöltve – Kaposi szarkómát okozhat.



Az EBV a felnőttek többségét fertőzi, de a Burkitt limfóma csak a harmadik világ éhező, maláriában, álomkórban szenvedő gyermekei között gyakori.



Patogének hozzájárulása daganatok fennmaradásához

Kórokozók virulencia faktorai segítik a tumorsejtek kialakulását, és túlélését :

Virális onkogének,

tumor szupresszor-kötő proteinek,
virális GF-ok,
anti-apoptotikus fehérjék,
immortalizáló faktorok

- Immunszupresszív mechanizmusok: proteoszóma-gátlók, TAP-, és MHC szintézis- és transzport gátlók,
- limfocita-ölő toxinok, MHC analógok, szuperantigének
- Immunszupresszív fehérjék, komplement-regulátorok, Th2 citokinek, virokinek és -receptorok, oldható citokin-receptorok, receptor-antagonisták

Onkogén baktériumok: *Helicobacter*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*

Örökletes hajlamot okozó mutációk

Li-Fraumeni Syndrome	p53	cell cycle regulation, apoptosis
Familial Retinoblastoma	RB1	cell cycle regulation
Wilms Tumor	WT1	transcriptional regulation
Neurofibromatosis Type 1	NF1, = neurofibromin 1	catalysis of RAS inactivation
Neurofibromatosis Type 2	NF2, protein = neurofibromin 2	linkage of cell membrane to actin cytoskeleton
Familial Adenomatous Polyposis	APC	signaling through adhesion molecules to nucleus

Tumor sejtek genom analízise

minden tumor egyedi, más-más mutációs mintázatot mutat

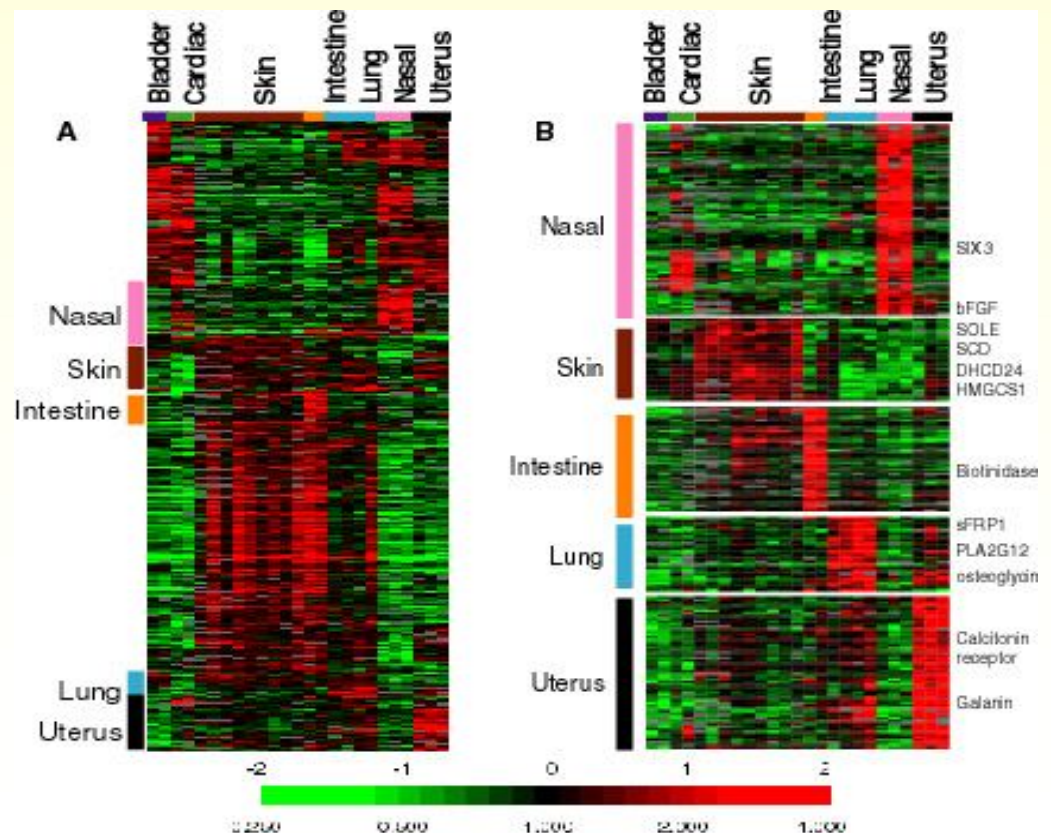
elképesztő számú (több ezer) mutáció: "**driver**" és passenger mutációk

inszerciók, deléciók, reverziók, génduplikációk és pontmutációk, kromoszóma transzlokációk

egyre több genetikai marker:

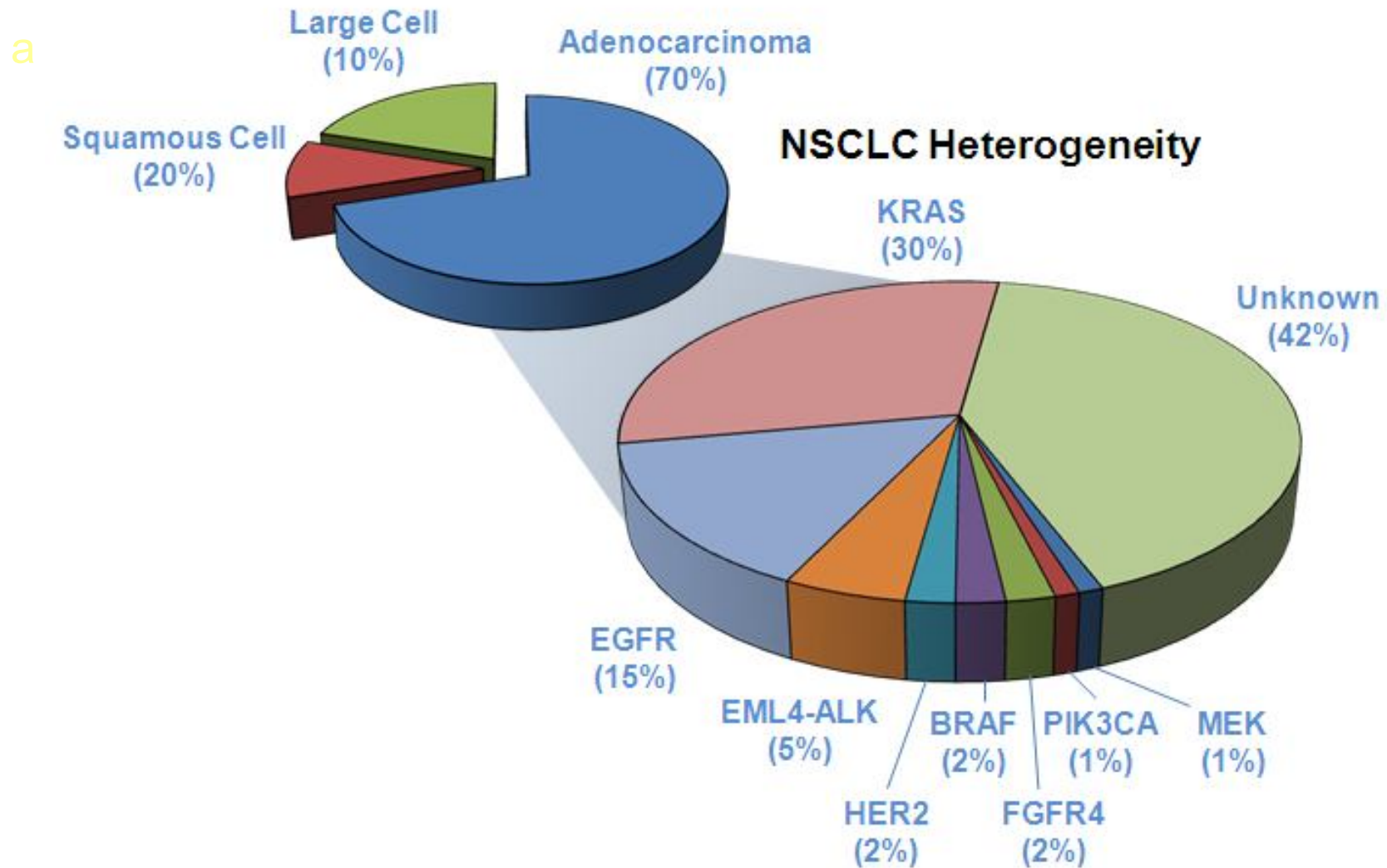
prognosztikus markerek
gyógyítási stratégiát segítő
markerek

a genetikai analízis egyre
hozzáférhetőbb lesz,
segítséget nyújthat a
gyógyítás tervezéséhez

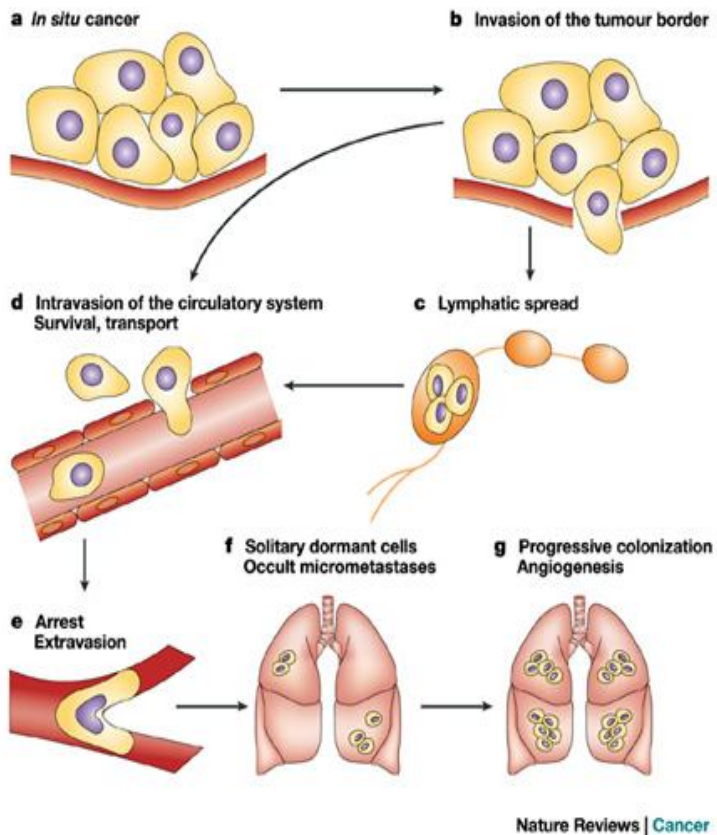


Tüdötumorok

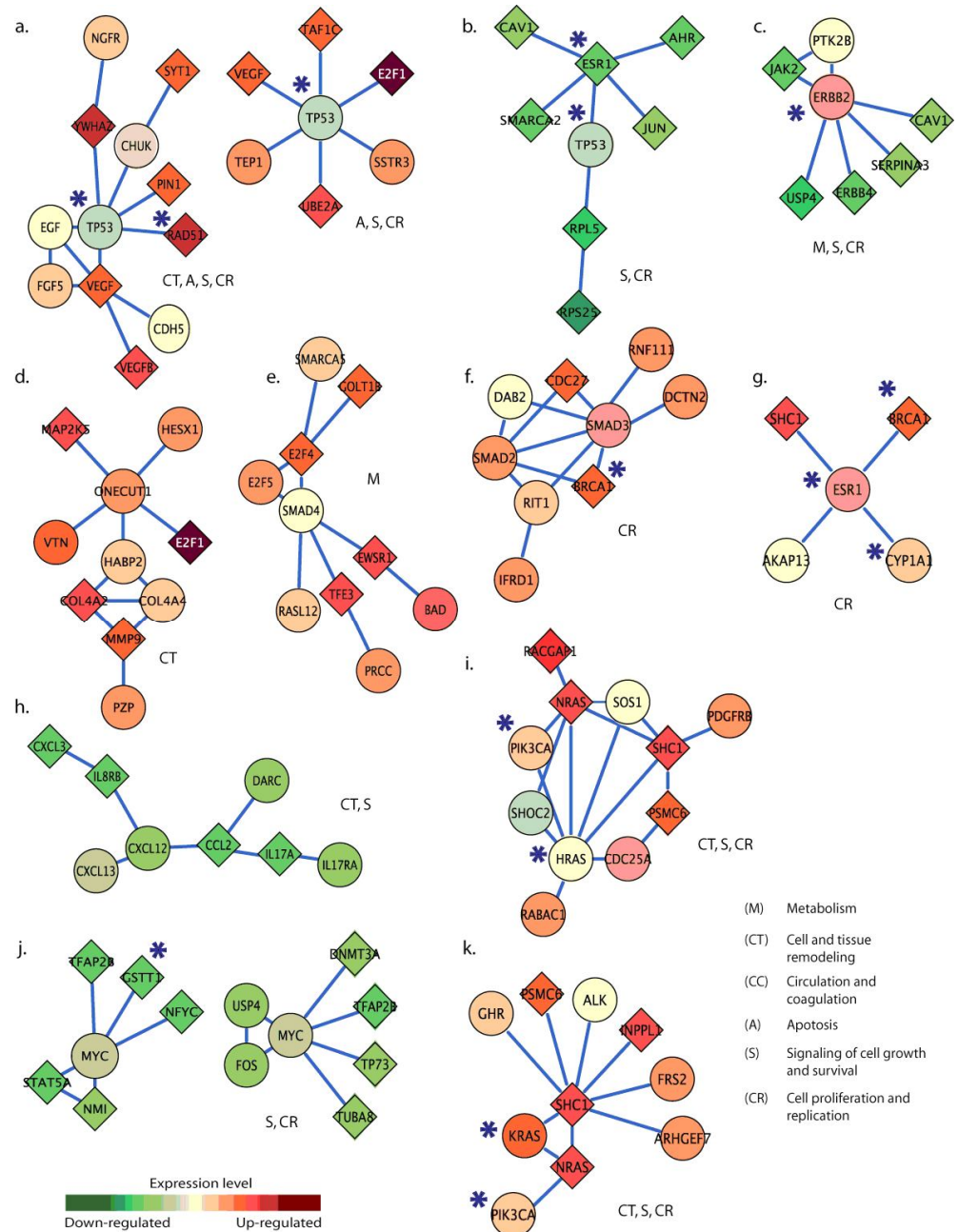
Lung Adenocarcinomas



Metasztázis



Nature Reviews | Cancer



Tumor őssejtek

Az utóbbi években ismerték fel a tumor őssejtek jelentőségét a daganatok elleni küzdelemben

Az őssejtek aszimmetrikus osztódással őssejteket és differenciálódó sejteket (progenitorokat), itt: tumor sejteket hoznak létre

Az őssejtek ritkán osztódnak, sok transzportert termelnek: nagyon ellenállóak a citosztatikus kezelésekkel szemben

A tumor őssejtek szóródása alakítja ki a mikrometasztázisokat

A tumor őssejtek esetenként (normális) differenciálódásra készíthetők – gyógyító folyamat

Speciális terápiák célpontja lehet a tumor őssejt - gyógyszerfejlesztés

Genetikai és környezeti faktorok

- Human genetikai háttér: génhibák amelyek érinthetik a
 - DNS szintézis
 - a javító enzimeket
 - a proto-onkogéneket, anti-onkogéneket
- Környezeti faktorok:
 - mutagének, UV, Röntgen sugár, stb.,
 - repair-inhibitorok
 - immunszuppresszív anyagok, hatások
 -
- Élő környezet:
 - növényi- és gomba-mutagének
 - vírusok, kórokozók
 - immunszuppresszív hatások, éhezés, öregedés,
 - szociális stressz