

Molekularne podstawy ONKOLOGII



Lek. mgr Mirosława Püsküllüođlu

Klinika Onkologii UJ CM

Wykład 3

Immunologia
nowotworu

Antygeny komórek nowotworowych

- **MHC**- Major histocompatibility complex antigens
- **TATA**- Tumor associated transplantation antigen
 - Występują zarówno na komórkach guza jak i komórkach prawidłowych
 - **TADA**- Tumor associated developmental antigen
 - Obecne na komórkach płodu i komórkach nowotworowych
 - Nie wywołują odpowiedzi immunologicznej
 - Patrz wykład 2
 - **TAVA**- Tumor associated viral antigen

Antygeny komórek nowotworowych

- **TSTA**- Tumor specific transplantation antigen
 - Specyficzne dla nowotworu
 - Rozpoznawane przez układ odpornościowy (odrzucanie nowotworu)
- Ag związane z tkanką, z której rozwija się nowotwór
 - Ig w nowotworach z limfocytów B
 - MART-1 w czerniaku
- Nadekspresja prawidłowo obecnych antygenów- rodzina EGFR

Organizm w walce z guzem

- Komórki zaangażowane w walkę z nowotworami:
 - **Bezpośredni** atak:
 - NK
 - Cytotoksyczne limfocyty T
 - **Pośredni** atak:
 - Pomocnicze limfocyty T
 - Limfocyty B (odpowiedź typu humoralnego: Abs)
 - CDC- aktywacja układu dopełniacza
 - ADCC- cytotoksyczność zależna od przeciwciał

Organizm w walce z guzem

- Limfocyty pomocnicze Th:
 - Th1: produkcja IL2, IFN gamma, IL12

Odpowiedź **Komórkowa**

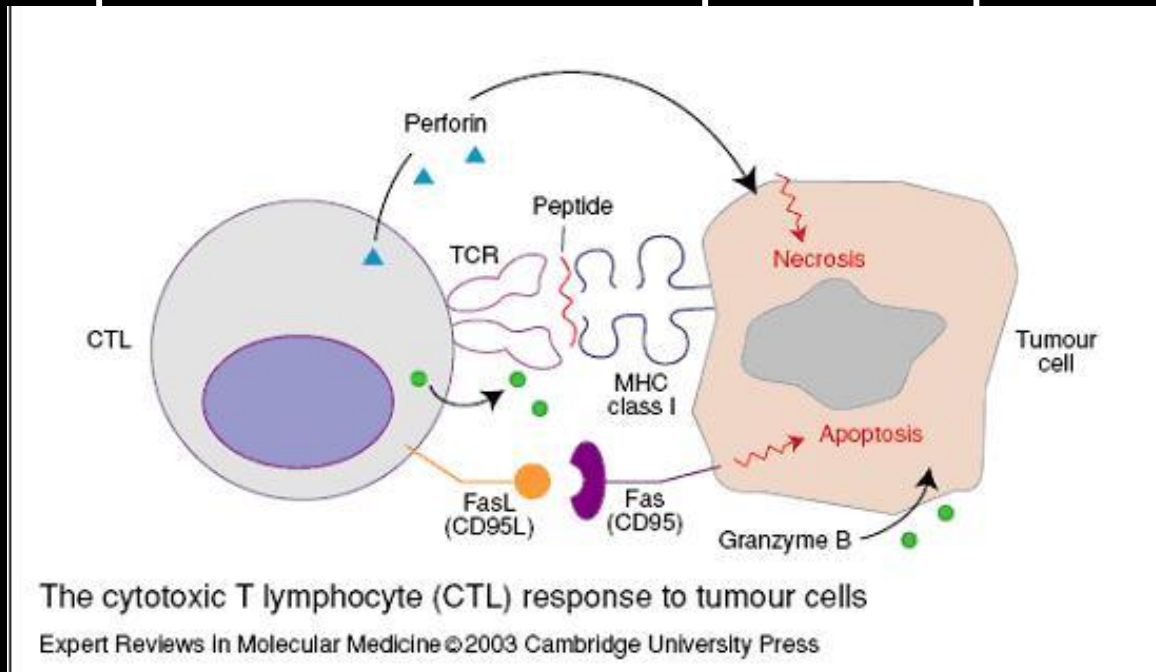
- Th2: produkcja IL4, 5, 6, 10

Odpowiedź **Humoralna**

Jak nowotwory się maskują?

- Zmniejszenie poziomu lub nieobecność **MHC klasy I** oraz **MHC klasy II**

W ten sposób niemożliwe rozpoznanie przez **CTLs**



Jak nowotwory się maskują?

- Zmniejszenie ekspresji antygenów lub molekuł kostymulujących na powierzchni komórek nowotworowych
- Produkcją przez guzy czynników immunosupresyjnych
 - TGF- β
 - Interleukina 10
 - PGE2
- Nieprawidłowa ekspresja molekuł adhezyjnych
- Defekt komórek nowotworowych w przetwarzaniu i prezentowaniu antygeny (nieprawidłowe „obrabianie” antygeny w komórce): nieprawidłowo funkcjonujące proteasomy lub białka transportujące

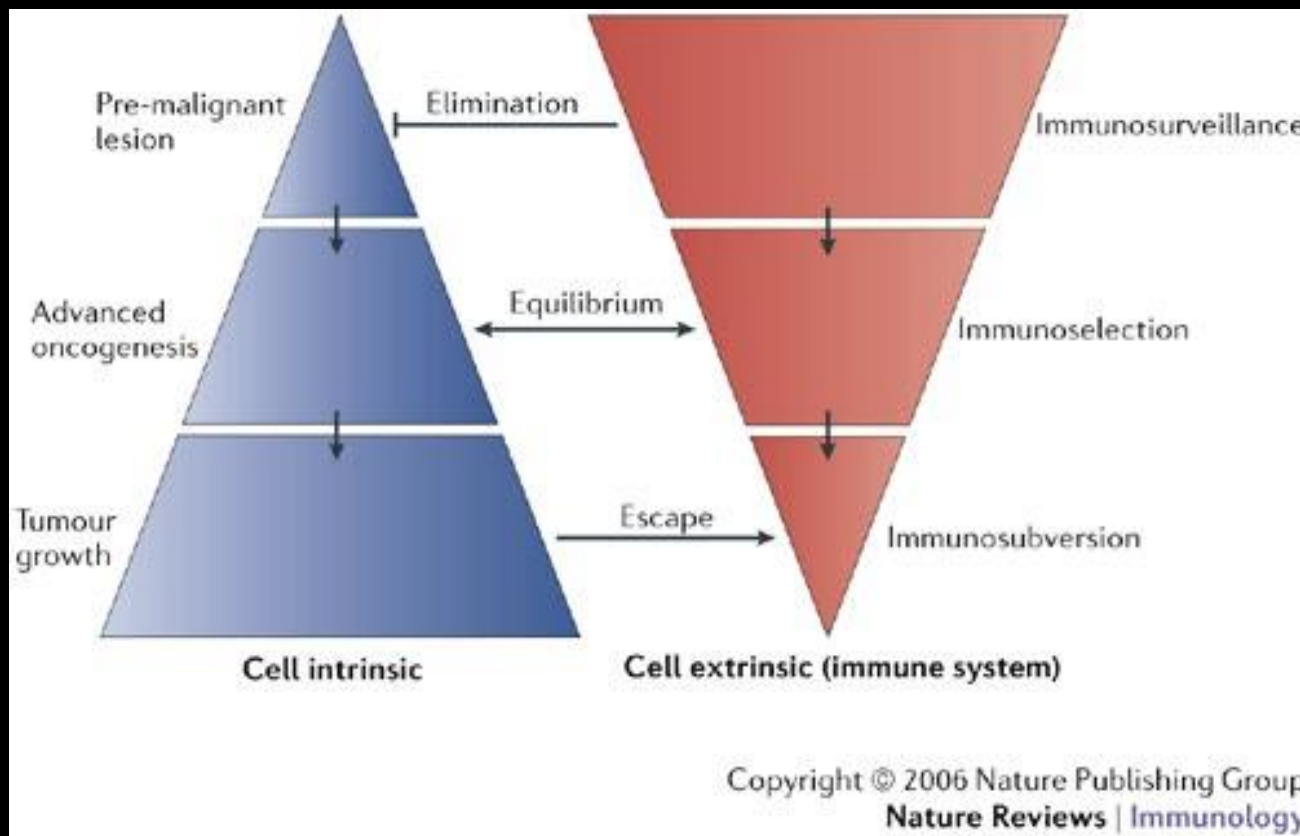
Jak nowotwory się maskują?

- **Blokowanie** receptorów na limfocytach T przez specyficzne kompleksy obecne na komórkach guza (zapobiega rozpoznawaniu nowotworu przez inne komórki)
- Indukcja specyficznej **tolerancji immunologicznej** przez niektóre antygeny guzów
 - Ekspresja TRAIL (apoptoza limfocytów T)
- Przewlekła **stymulacja** limfocytów T (klonalne wyczerpanie lub śmierć)
- Maskowanie antygenów na powierzchni guza przez specyficzne substancje
 - Mukopolisacharydy zawierające kwas sialowy

Wykład 3
Nadzór
immunologiczny

Nadzór immunologiczny

Immunoediting



Układu immunologiczny wykrywa i niszczy komórki nietypowe zanim staną się szkodliwe i zdolne do ucieczki spod nadzoru (**immunosurveillance**)

Nadzór immunologiczny

Eliminacja

Równowaga

Ucieczka

Nadzór immunologiczny

- Faza **eliminacji**:
 - Indukcja zapalenia wskutek rozpoznania obecności komórek nowotworowych (wrodzone mechanizmy odporności): NK, limfocyty T, makrofagi, komórki dendrytyczne, produkcja IFN-gamma
 - Śmierć niektórych komórek guza (wskutek produkcji IFN-gamma, produkcja chemokin)
 - Blokowanie rozwoju naczyń
 - Resztki obumarłych kom. guza pochłaniane przez kom. dendrytyczne, które wędrują do węzłów chłonnych
 - Rekrutacja nowych komórek, produkcja reaktywnych form tlenu
 - Rozwój limfocytów T CD8+
 - Limfocyty T CD4+ i CD8+ niszczą kom guza z obecnymi Ag.

Nadzór immunologiczny

- Faza **równowagi**:
 - Komórki guza dzięki zdobyтым mutacjom są genetycznie niestabilne
 - Komórki te są nadal atakowane przez układ immunologiczny (limfocyty, IFN gamma)- ale potrafią się już „bronić”
 - Proces długotrwały
- Faza **ucieczki**:
 - Komórki guza rosną w niekontrolowany sposób, mała wrażliwość na IFN gamma, niska ekspresja MHC klasy I
 - Wynik zahamowania układu immunologicznego (zablokowania)

Układ odpornościowy a nowotworzenie

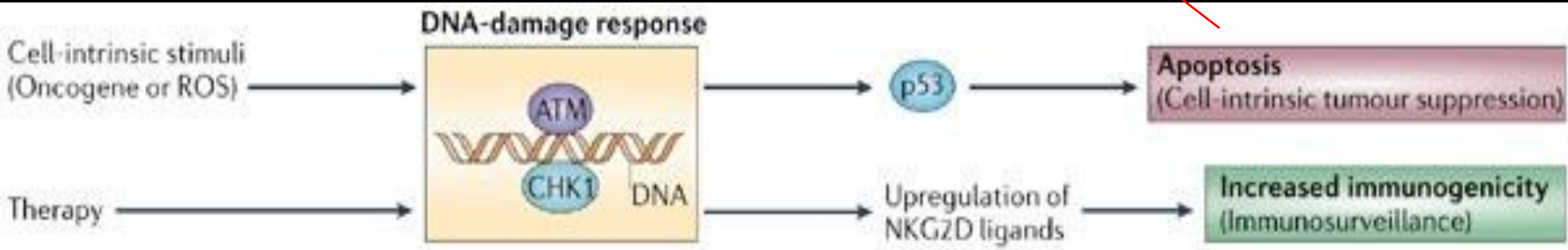
- + niszczy komórki nowotworowe *
- umożliwia immunosupresję

* Działa zewnątrzkomórkowo

Do mechanizmów wewnątrzkomórkowych niszczenia komórek nowotworowych należą m.in.: apoptoza czy naprawa uszkodzeń materiału genetycznego

Układ odpornościowy a nowotworzenie

WEWNĄTRZKOMÓRKOWO



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Immunology

ZEWNĄTRZKOMÓRKOWO

Dowody na immunologiczną odpowiedź organizmu na obecność nowotworów

- **Regresja** nowotworów:
 - Spontaniczna
 - Po usunięciu guza pierwotnego
 - Po zastosowaniu immunomodulatorów
- Obecność licznych **komórek zapalnych** w otoczeniu komórek guza i w węzłach chłonnych (limfocyty, makrofagi)
- U pacjentów z wdrożoną immunosupresją: większa częstość występowania nowotworów
 - Po zabiegach transplantacji
 - W chorobach z niedoborami immunologicznymi (AIDS)
- Mutacje genów kodujących białka biorące udział w odpowiedzi immunologicznej -> częstsze pojawianie się nowotworów

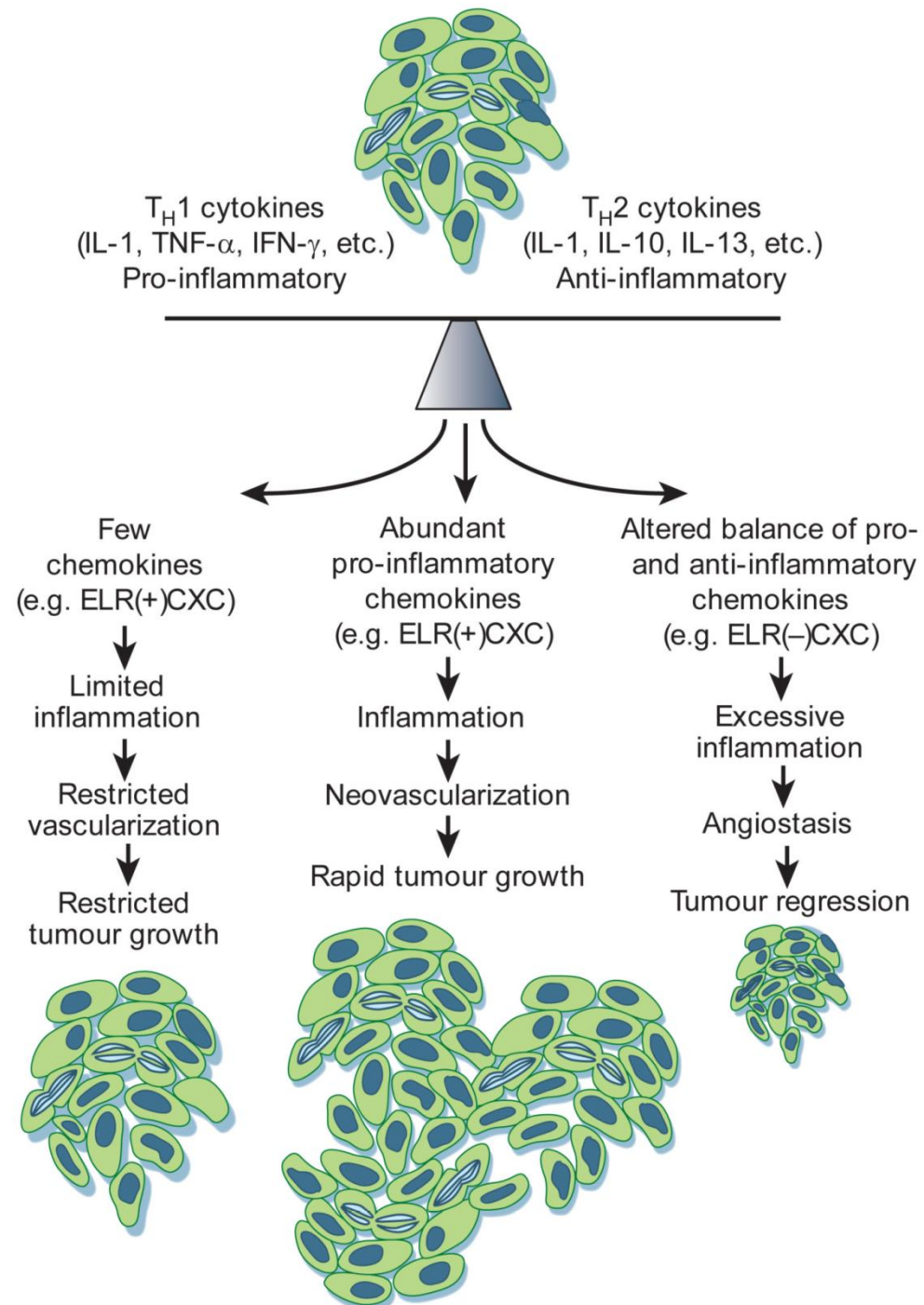
Wykład 3

Immunoterapia -
wstęp

Immunoterapia- wykład 4

- Nieswoista , bierna
 - Cytokiny lub aktywowane komórki np.:
 - INF gamma: wpływ na migrację leukocytów, zahamowanie podziałów komórek guza
 - INF alfa: hamowanie podziałów komórek guza
 - IL 2: aktywacja NK

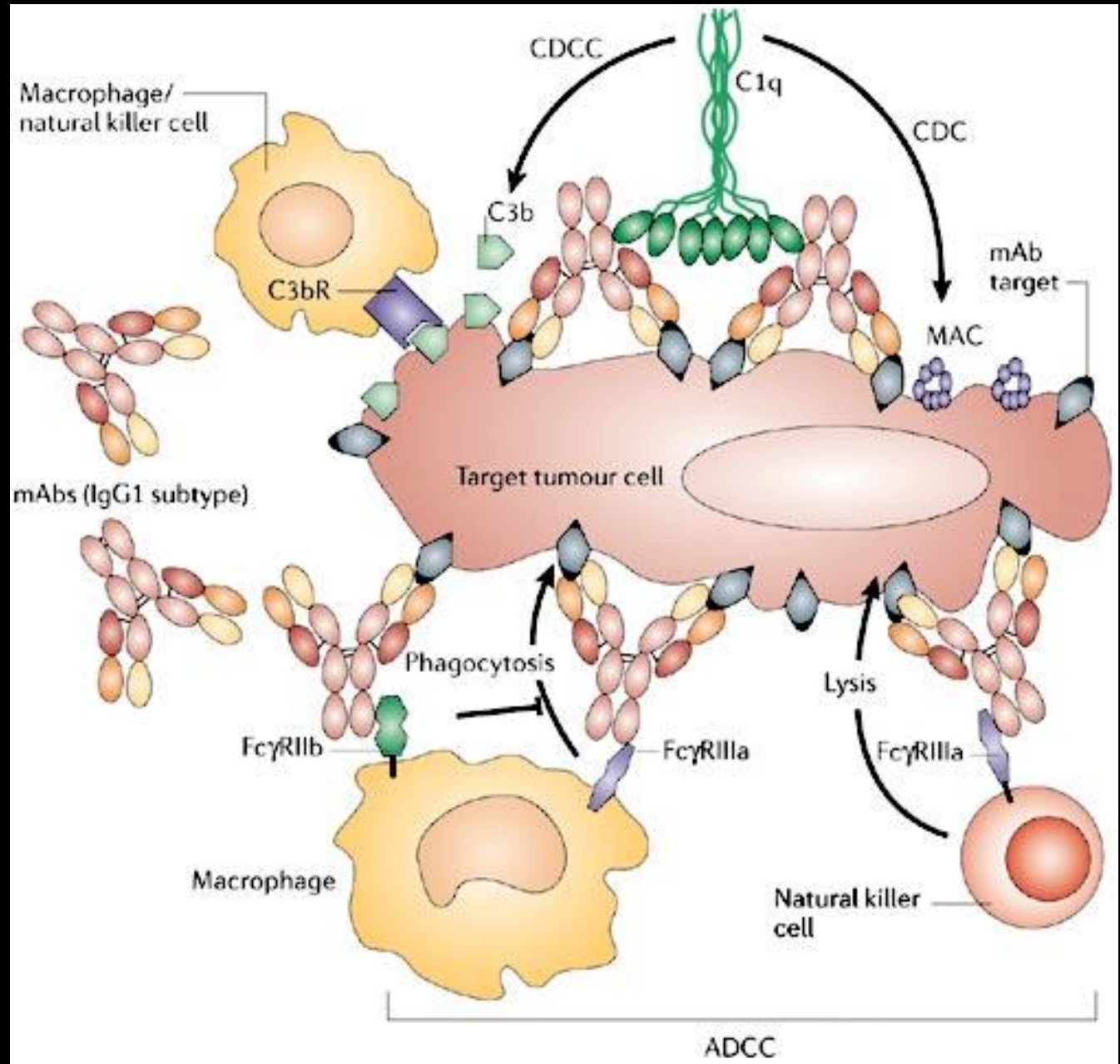
Cytokiny i chemokiny a rozwój guza



Immunoterapia- wykład 4

- Swoista, bierna

- Komórki lub molekuly swoiście skierowane przeciw określonym komórkom złośliwym np.:
 - mAbs przeciw antygenom nowotworowym (wywołują ADCC i CDC lub blokują receptory przekazujące sygnał)
 - Limfocyty ex vivo aktywowane i podawane do organizmu (czasem wraz z czynnikiem stymulującym)



Immunoterapia

- **Nieswoista, czynna**
 - Pobudzanie układu immunologicznego różnymi antygenami np.
 - Drobnoustrojami
 - Hormonami

Te „pobudzacze” dzielimy na

- Immunostymulujące (np.: elementy ściany BCG)
- Immunomodulujące (np.: wyciąg z grasicy)

(Bez istotnej roli we współczesnej terapii)

Immunoterapia- wykład 4

- Swoista, czynna
 - Pobudzanie układu immunologicznego swoistymi antygenami dla konkretnych nowotworów:
 - „Szczepionki” nowotworowe

KOMÓRKOWE

NIEKOMÓRKOWE

Wykład 3

Reakcje zapalne a nowotworzenie

Czynniki wywołujące nowotworzenie

- Czynniki **chemiczne**
- **Zakażenia** – wykład 1
- **Promieniowanie**

Stan zapalny



Przewlekły stan zapalny i związany z nim proces gojenia stymulują proliferację i predysponują do złośliwej transformacji

Ostry stan zapalny i związany z nim proces gojenia są zwykle procesami samoistnie ograniczającymi się

Stan zapalny a nowotworzenie

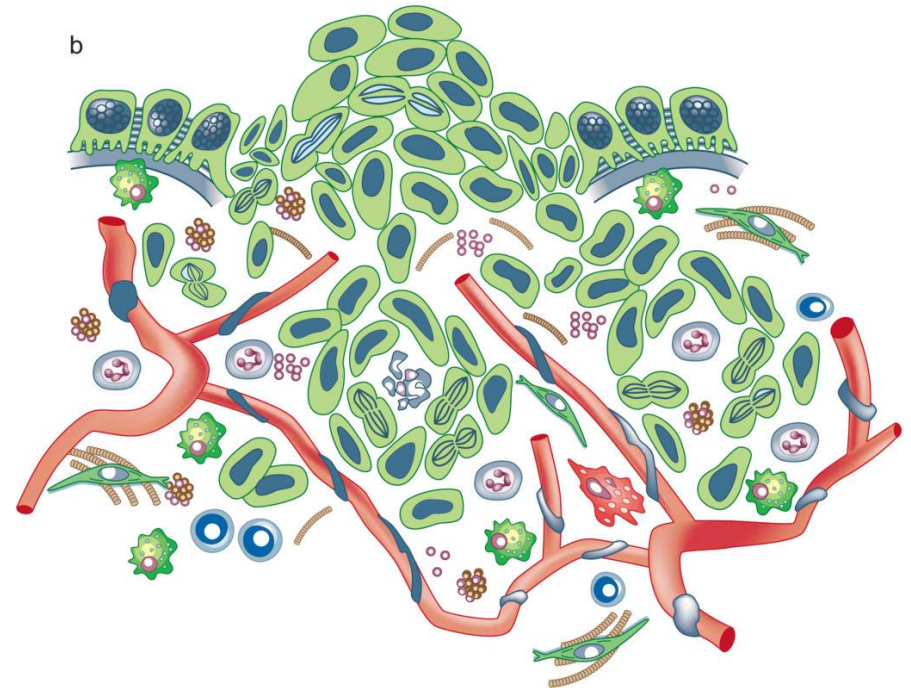
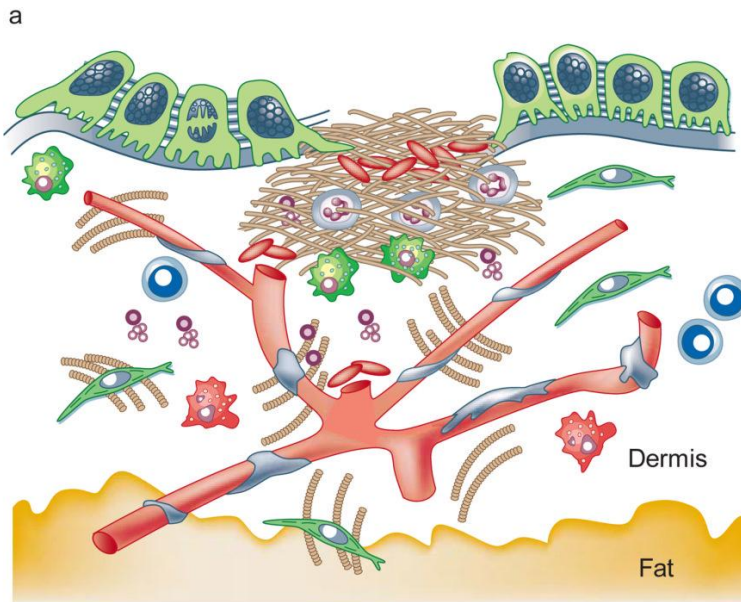
- Przykłady:
 - Infekcja WZW typu B a rak wątrobowokomórkowy (patrz wykład 1)
 - Wrzodziejące zapalenie jelita grubego lub choroba Leśniowskiego-Crohna a rak jelita grubego
 - Przełyk Barreta a rak gruczołowy przełyku
- Leki przeciwzapalne obniżające ryzyko rozwoju chorób nowotworowych (obniżają tempo proliferacji i stymulują apoptozę)

Stan zapalny a nowotworzenie

NF- κ B – łącznik między zapaleniem a nowotworzeniem

- Rodzina czynników transkrypcyjnych
- Aktywowane w większości guzów litych
- Czynniki odpowiedzialny za aktywację reakcji zapalnej w odpowiedzi na czynnik infekcyjny
- Hamuje apoptozę i promuje proliferację
- Sprzyja ekspresji molekuł prozapalnych oraz podziałom komórkowym (w tym komórek nowotworowych np. szpiczaka)

Nowotwór jako niegojąca się rana



Epithelial cell and basement membrane



Neutrophils



Lymphocytes



Macrophage/monocyte



Endothelial cells and capillary support cells
(pericytes, smooth muscle cells)



Mast cells/eosinophils/basophils



Fibroblasts and fibrillar collagens



Platelets and fibrin clot



Cytokines/chemokines



Malignant epithelial cells

Wykład 3

Ucieczka przed apoptozą

Apoptoza- śmierć programowana

- Cechy apoptozy:
 - Nie jest związana z reakcją zapalną
 - Związana jest z nakładem energii i koniecznością **ekspresji wielu genów**
 - „Uporządkowane” samobójstwo komórki
- Apoptoza eliminuje uszkodzone komórki (uszkodzone= podatne na mutacje) → rola p53
- Niski poziom czynników **antyapoptotycznych** lub wysoki czynników **proapoptotycznych**
- Komórki nowotworowe: **oporność** na apoptozę

Dwie drogi ku apoptozie

Receptory śmierci

Ścieżka mitochondrialna



Aktywacja kaskady kaspaz

Destrukcja białek koniecznych do funkcjonowania komórki

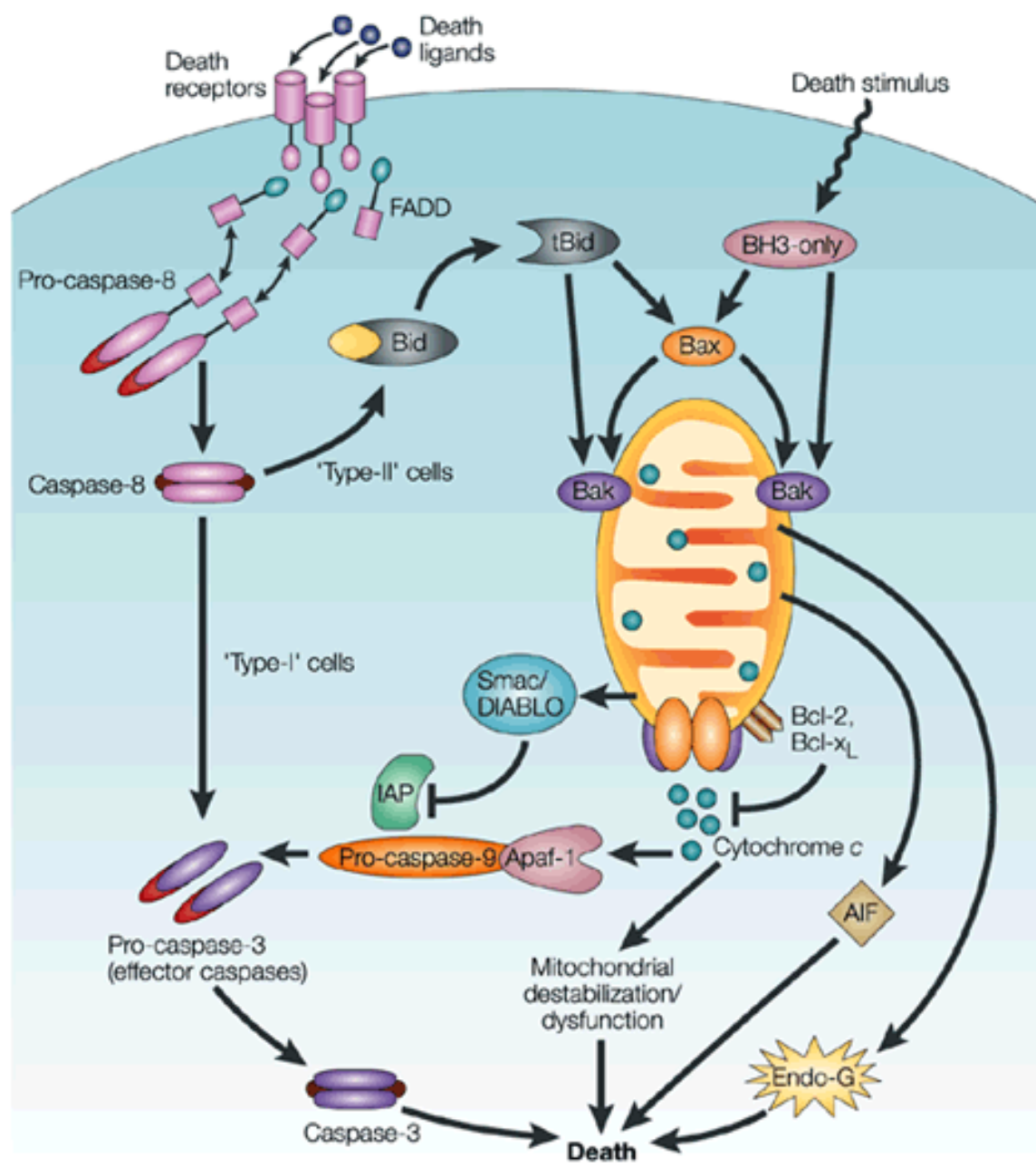
APOPTOZA

Szlak mitochondrialny (wewnętrzny)

- Wewnątrzkomórkowe czynniki stresowe
- Translokacja **Bad** i **Bax** do zewnętrznej błony mitochondrialnej
- Uwolnienie **Cytochromu C** do cytoplazmy
- Uwolnienie **DIABLO** do cytoplazmy
- Związanie **Cytochromu C** z **Apaf-1** i **Prokaspazą-9**
- Formowanie apoptosomu i aktywacja **Kaspazy 9**

Szlak receptorowy (zewnątrzny)

- Receptory:
 - TNF (ma domenę wewnątrzkomórkową zwaną domeną śmierci)
- Aktywacja receptorów przez przyłączenie ligandu
- Przyłączenie białek cytoplazmatycznych
 - FADD
 - TRADD
- Powstanie kompleksu DISC
- Aktywacja Kaspazy 8



Białka Bcl-2

```
graph TD; A[Białka Bcl-2] --> B[Proapoptotyczne:]; A --> C[Antyaoptotyczne:]; B --- B1[- Bax]; B --- B2[- Bcl-Xs]; B --- B3[- Bak]; B --- B4[- Bad]; C --- C1[- Bcl-2]; C --- C2[- Bcl-XL]; C --- C3[- Mcl-1];
```

Proapoptotyczne:

- **Bax**
- **Bcl-X_S**
- **Bak**
- **Bad**

Antyaoptotyczne:

- **Bcl-2**
- **Bcl-X_L**
- **Mcl-1**

Apoptoza w kom. nowotworowych

- Komórki nowotworowe: **oporność na apoptozę**
 - Nadekspresja BCL-2
 - Mutacja p53
- Apoptoza w komórkach nowotworowych?
 - TRAIL (niekonieczne p53)
 - Blokada receptorów związanych z przeżyciem
- Chemioterapia
 - Indukcja apoptozy przez szlak mitochondrialny
 - Oporność na leczenie w przypadku niektórych mutacji genów proapoptotycznych (utrata funkcji)

Wykład 3
Komórki
macierzyste

Komórki macierzyste

Prawidłowe

Komórki zdolne do samoodnowy

Odpowiadają za odnowę wszystkich komórek w obrębie danego organizmu

Są rzadkie

Nowotworowe

Komórki zdolne do samoodnowy

Odpowiadają za odnowę populacji komórek nowotworu (guza)

Są rzadkie

Komórki macierzyste- SC

- Konieczne do **odnowy** komórek całego ciała
 - W pewnych warunkach podlegają podziałom
 - Najlepiej opisane podziały w komórkach krwi
- Konieczne do przeżycia
- Niewyspecjalizowane, plastyczne (?)
- Niezróżnicowane
- Samoodnawialne
- Żyją wystarczająco długo by nagromadzić wystarczająco dużo mutacji do stworzenia komórki nowotworowej
- **Pamiętaj:** większość komórek dorosłego organizmu nie powstaje z SCs ale w wyniku mitozy kom. zróżnicowanych

Komórki macierzyste- cechy wspólne

- Komórki macierzyste- SC (stem cells)
- Regulowane przez **te same szlaki sygnalizacyjne** (w komórkach nowotworowych- zaburzona regulacja)
- Podobna organizacja **hierarchii**, **różnicowanie** w kierunku komórek bardziej dojrzałych
- Dają początek **heterogenicznej populacji** komórek tworzących narząd/guz
- Podlegają **samoodnowie**, przechodzą **asymetryczny** podział
- Są małą częścią całej populacji komórek

SC- samoodnowa

- Możliwość **nieograniczonej** liczby podziałów
- W określonym czasie **b.nieliczne** komórki ulegają jednoczesnemu podziałowi
- Czas między podziałami jest relatywnie **długi**
- Komórka matka zachowuje stary chromosom- komórka córka dostaje nowy (mniejsze ryzyko mutacji)
- Zapewnia regenerację tkanek

SC- organizacja hierarchii

Komórki totipotentne

- Każda komórka może utworzyć cały organizm
- 1-4 dzień po zapłodnieniu



Komórki pluripotentne

- Zdolność do tworzenia każdego typu komórek we wszystkich organach i tkankach organizmu
- Komórki blastocysty

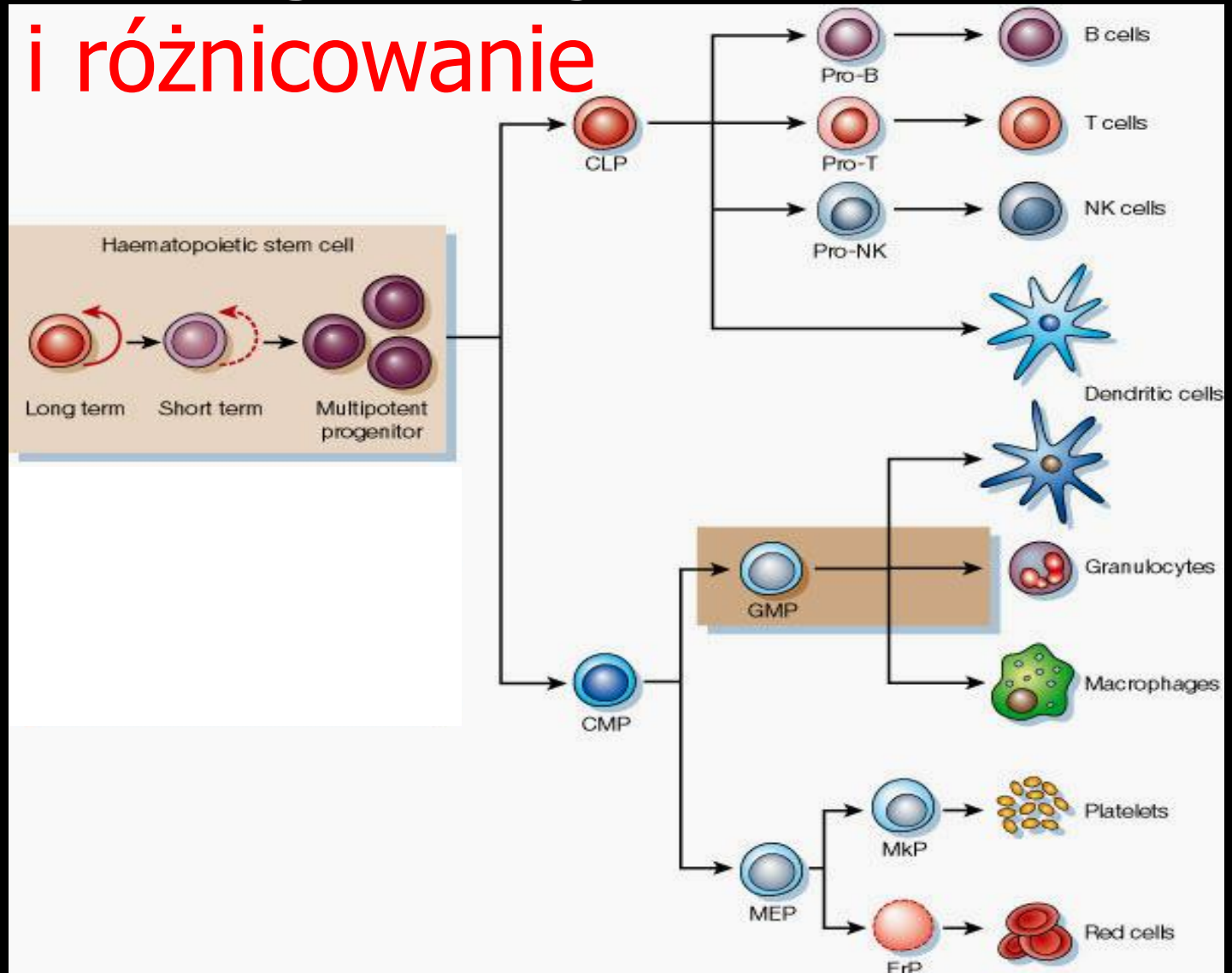


Komórki multipotentne

- Niezróżnicowane komórki egzystujące w okresie poembrionalnym
- Naprawa organów i tkanek (rozwój konkretnych linii komórkowych)
- Utrzymywana stała liczba mimo podziałów (wolnych podziałów)

SC- organizacja hierarchii

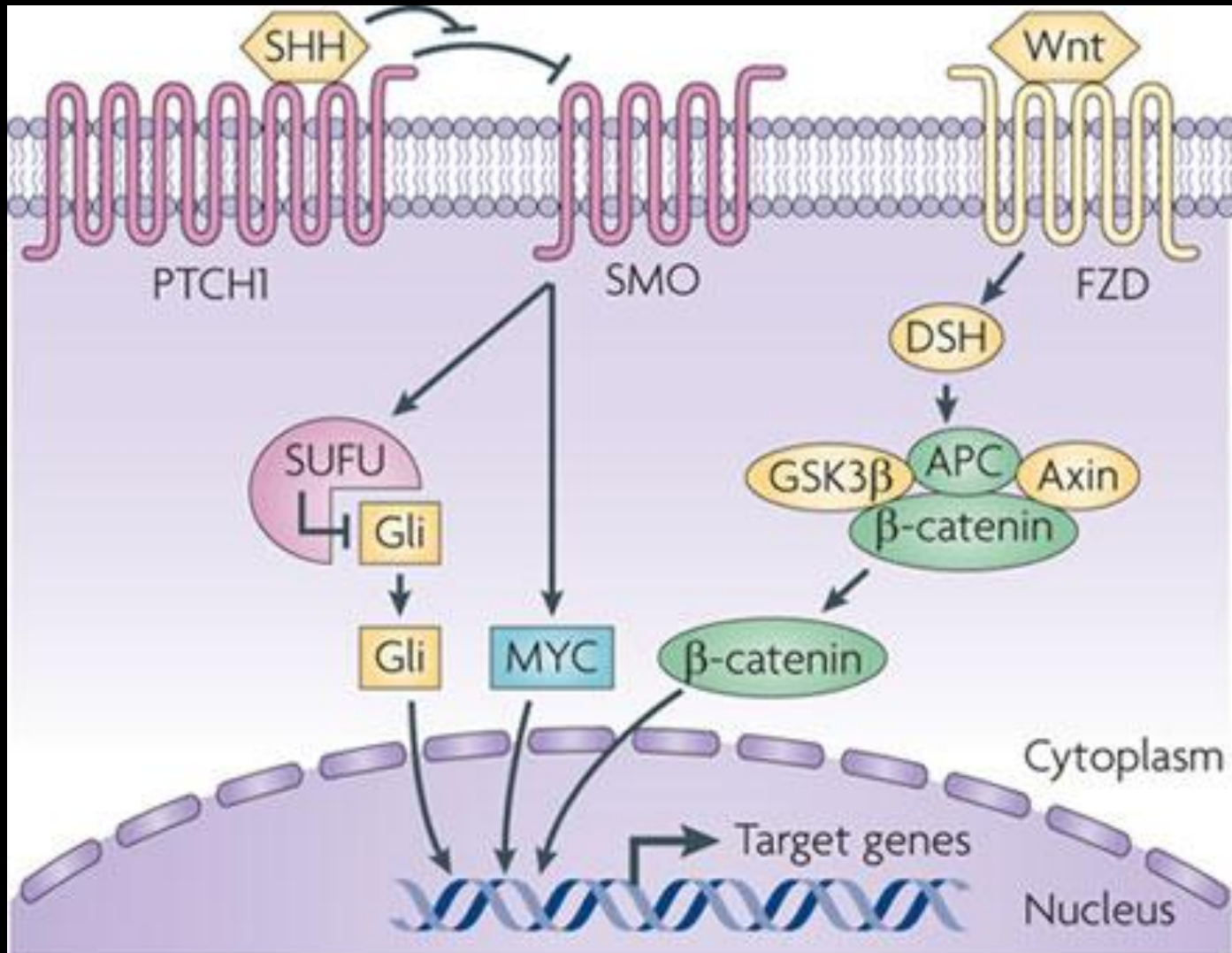
i różnicowanie



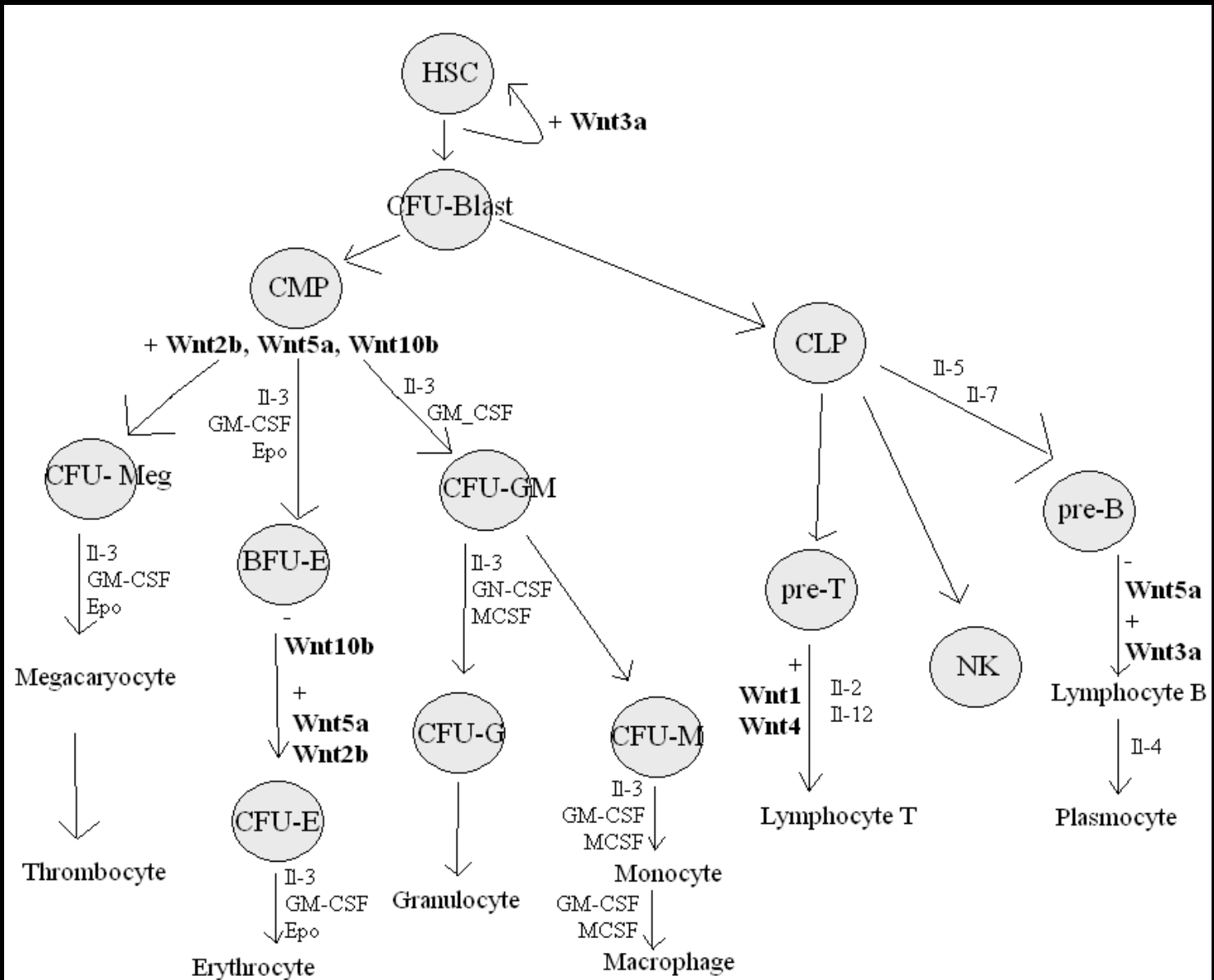
Wykład 3

Szlaki
sygnalizacyjne

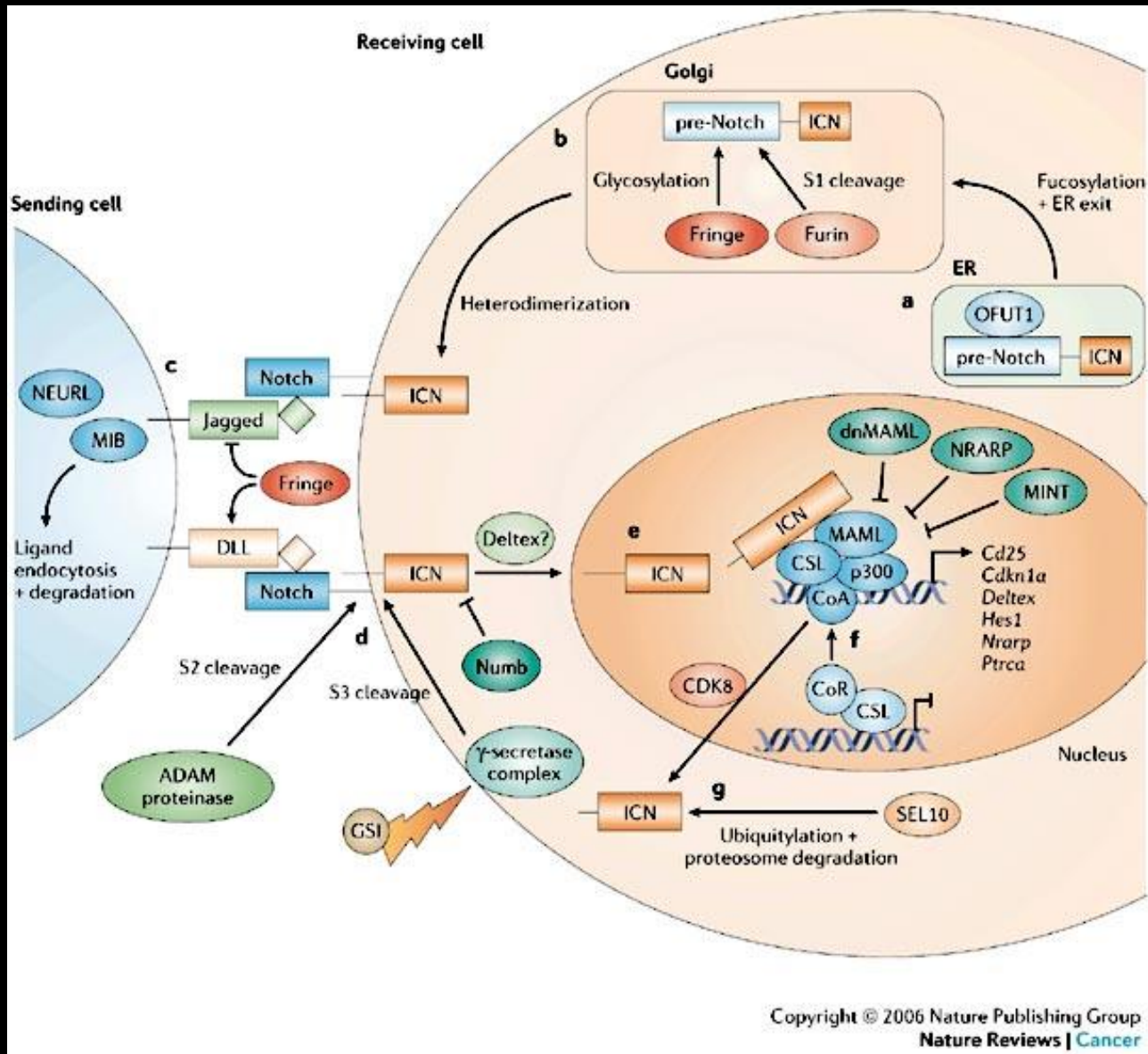
Szlak: Hedgehog/ BMI1 i WNT/ β -Katenina



Szlak WNT/ β -Katenina



Szlak NOTCH



Wykład 3

Nowotworowe komórki macierzyste

Transformacja nowotworowa (wykład 1)

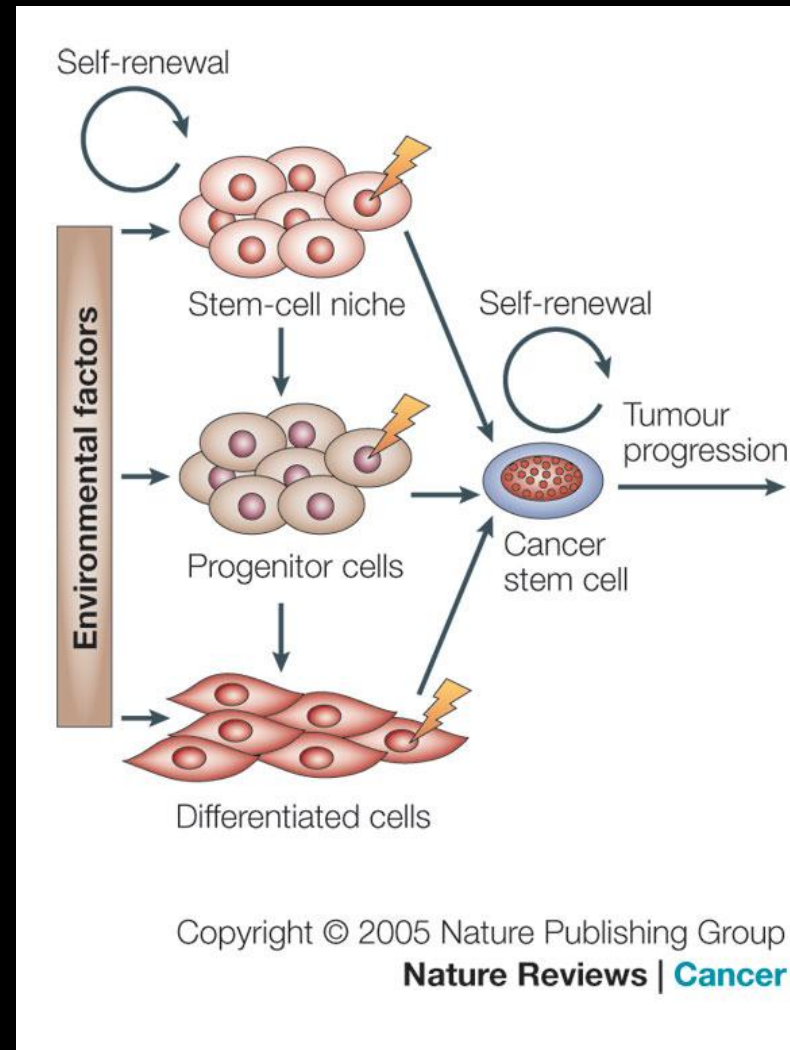
- Teoria nowotworowych komórek macierzystych
- Teoria klonalna

Nowotworowe komórki macierzyste

- Gromadzą mutacje pozwalające na rozwój nowotworu
- 1:1 000-5 000 komórek nowotworowych w guzach litych może tworzyć nowe kolonie
- Ten odsetek jest jeszcze mniejszy w nowotworach hematologicznych (1:10 000)
- CSCs są odpowiedzialne za wznowy i tworzenie przerzutów
- Nowotworowe komórki macierzyste (CSCs) nie służą tym samym celom co komórki macierzyste (np. medycynie regeneracyjnej)

Nowotworowe komórki macierzyste

- Teorie „**niejednorodności**” komórek w guzie:
 - Wszystkie komórki nowotworowe mają potencjał stania się CSCs (identyczna tumorogenność, różne warunki środowiska)
 - Tylko mały % komórek w guzie to CSCs
- **Jak powstają CSCs?**
 - Zmutowane SC?
 - Komórki nowotworowe, które nabierają cech CSC?
 - Komórki zróżnicowane, które nabierają cech CSC?



Nowotworowe komórki macierzyste

- CSCs wytworzyły **mechanizmy ochronne**, są **oporne** na leczenie (ekspresja genów antyapoptotycznych, geny oporności na leczenie)
- Teorie wyjaśniają czemu niektóre nowotwory nie reagują na stosowane terapie
- Nowe podejście do terapii?
- Aby wdrożyć nowe terapie trzeba wiedzieć, które elementy sygnałowania/geny są **zaburzone** w CSCs
- Mikromacierze → identyfikacja aktywnych genów
- Nowe leki celowane

Wykład 3

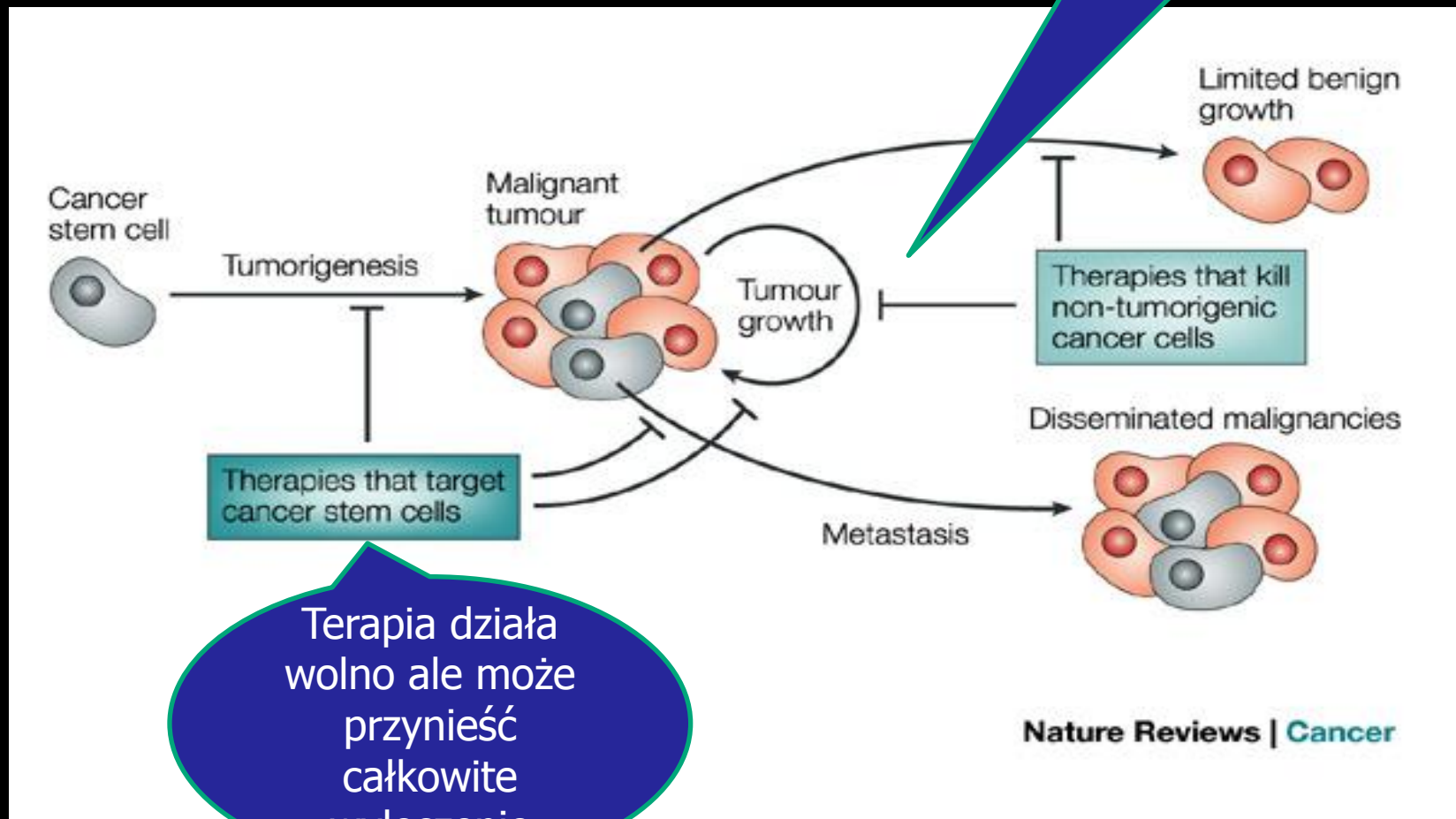
CSCs

Terapia

CSCs- terapia

- Nieprawidłowy cel dotychczasowych terapii
- Chemioterapia zabija komórki zróżnicowane, komórki szybko dzielące się

Efekty widoczne szybciej, ale możliwe wznowy i oporność na leczenie po wstępnej odpowiedzi



Terapia działa wolno ale może przynieść całkowite wyleczenie

CSCs- terapia

- Terapia przeciwnowotworowa dotycząca komórek macierzystych może obejmować:
 - **Prawidłowe** komórki macierzyste (patrz wykład 4: chemoprotekcja)
 - **Nowotworowe** komórki macierzyste
- Nowe badania kliniczne w chorobach nowotworowych powinny brać pod uwagę **oddziaływanie leków na CSCs**
- Ze względu na podobieństwa między SCs i CSCs oraz fakt, że komórki te pozostają najczęściej w fazie G0- terapia celowana skierowana przeciw CSCs może być bardzo trudnym zadaniem

Wykład 3
CSCs
Nowotwory

Nowotwory z udowodnioną obecnością CSCs

Szpiczak
mnogi

AML

Guzy mózgu

Rak prostaty

Rak
piersi

Rak
kolczystokom.
skóry

Rak płuc

Rak jelita
grubego

Przykład: CSCs w raku jelita grubego

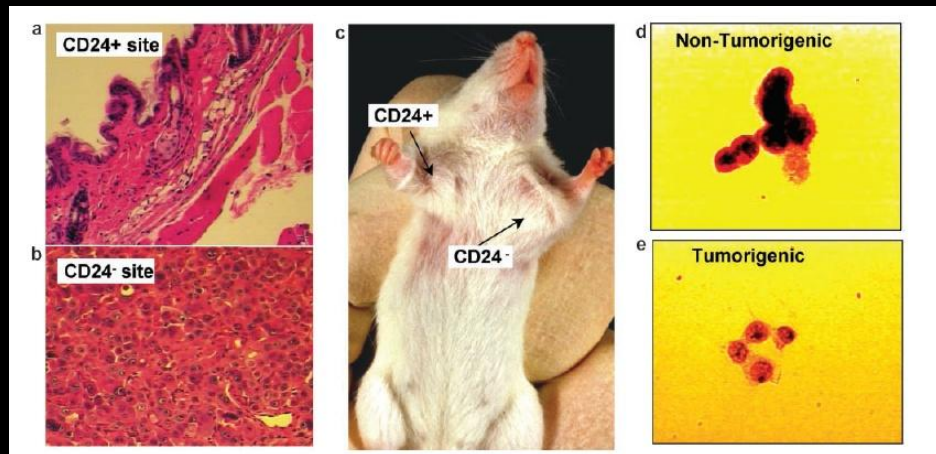
- Markery dla CSCs w raku jelita grubego:
 - Pozytywne pod względem **CD133** *
 - Negatywne pod względem **CK20** **
- Te komórki były zdolne do formowania guzów
- 1:5000
- Komórki otoczenia CSCs regulują aktywność CSCs poprzez szlak **Wnt/ β -katenina**

* Marker błonowy komórek progenitorowych (neurony, komórki hematopoetyczne, epithelialne), białko 5cio domenowe, bierze udział w regulacji wzrostu i różnicowania się SCs,

** Cytokeratyna , charakterystyczna dla nabłonka dróg moczowych, jelit i żołądka

Przykład: CSCs w raku piersi

- Markery dla CSCs w raku piersi:
 - Pozytywne pod względem **CD44** *
 - Negatywne pod względem **CD24** **



* Receptor powierzchniowy dla hialuronianu, odpowiada za interakcje międzykomórkowe, adhezję i migrację,

** Ligand dla Selektyny P, obecny na niedojrzałych limfocytach, kom. nabłonkowych i neuronach; rola w dojrzewaniu kom. hematopoetycznych

CSCs- cele

Znalezienie różnic między SCs a CSCs

Identyfikacja CSCs

Znalezienie kluczowych punktów w ścieżkach niewłaściwie funkcjonujących w CSCs

Rozwój leków skierowanych przeciw CSCs

Dziękuję