

ZPRÁVA ZE SYMPOZIA ISOBM 1999 REPORT FROM THE XXVII MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR ONCODEVELOPMENTAL BIOLOGY AND MEDI- CINE 1999

KOVÁŘÍK J., LAUFEROVA L.
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Ve dnech 31. 10. až 4. 11. 1999 se konalo v Kyotu již XXVII. sympozium mezinárodní společnosti ISOBM (International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine). V posledních několika letech se aktivita členů této společnosti a témata každoročních sympozij orientuje výlučně na onkologickou problematiku jak základního tak i klinického výzkumu. Dokladem toho je i nosná téma kyotského jednání s názvem „From Tumor Biology to Clinical Oncology“.

Sympozia v Kyotu se účastnilo více než 200 odborníků z 21 evropských i zámořských zemí. Odborní sympozia byla každý den zabíjena přednáškami „review“ přednáškou významných světových odborníků. Nejhlavnějšími byly přednášky věnované problematice apoptózy, molekulárním aspektům karcinogeneze, genové diagnostice nádorů a perspektivám genové terapie neoplázií.

V oblasti apoptózy prof. Shigekazu Nagata z Osaky prezentoval, kromě známých mechanismů indukce apoptózy Fas systémem za spoluúčasti kaskády kaspázových enzymů a jejich substrátů, zejména výsledky o modelové indukci apoptózy bezboněným supernatantem z buněk s exprimovaným Fas receptorem, nebo Fas ligandou. Pozornost vysílaly vlastní experimenty přednášejícího, které ukázaly, že důsledkem poruch apoptózy v nádorech jsou v mnoha případech časté mutace ve Fas genu. O tom, že apoptóza se může poúlet na eliminaci imunitou svědčí pozorování, že interakce T-lymfocytů exprimujícího Fas ligand s B-lymfocytem exprimujícím aktivní Fas receptor má za následek smrt obou elementů apoptózou. Vyznačuje se o tom, že v tomto mechanismu se může poúlet na inaktivaci cytotoxických lymfocytů a tedy na „lámku“ nádorové populace z imunitní dozoru. V souvislosti s indukci apoptózy cytostatiky, bylo v několika sděleních prokázováno, že apoptóza je zříteltem především nízkých dávek cytostatik, zatímco dlouhodobé působení vysokých dávek způsobí převážně nekrozu, což může mít význam pro chemoterapeutickou strategii.

V další přednášce se prof. Takashi Sugimura z Tokya věnoval molekulárním mechanismům mnohastupňové karcinogeneze a komplexní faktorizaci, které ji způsobují. Poznání z této oblasti jsou intenzivně využívány v Japonsku pro prevenci malignit. Za největší induktory genových poruch je považována řada xenobiotů typu heterocyklických aminů a nichl včísnu přijímané s jídlem, ale i antibiotik jako jsou např. kyslíkové radikály a oxidy dusíka. Z epigenetických faktorů, které mohou vést k inaktivaci řady genů, jsou v poslední době stále více akcentovány poruchy v procesech hypometylace a hypermetylace.

Skupina genetiků z NCI podala přehled o současném stavu výzkumu genové léčby nádorů. Nadějně strategii zahrnují mechanismy imunologické, které byly dokladovány slibnými účinky přenosu genů pro některé cytostatiky do autologických buněk nemocného. Z mechanismů neimmunologických byly prezentovány první slibné klinické výsledky se zavedením sebezraňedných genů (gen pro thymidin kinázu viru HS, cytozin-deaminázu, purin-nukleozid-fosforylázu), ale i strasfektí proapoptotických genů. Nadějná, byť zatím jen v experimentu, je genová antiangiogenní terapie, ale i cílené ovlivnění genové aktivity transdukcí antisense oligonukleotidů. Zvláštní pozornost byla věnována několika pilotním studiím, v nichž je nemocným s inoperabilním bronchialeolárním karcinómem aplikován vektor nesoucí gen pro funkční p53 protein. Dosavadní výsledky ukázaly, že došlo ke stabilizaci onemocrnění a u několika nemocných dokonce k objektivnímu zlepšení. Tato přednáška vyvolala rozsáhlou diskusi, která byla především směřována na obecná rizika genové manipulace a etické problémy.

Pozornost se zasloužil sympozium věnované molekulárními příčinami invazivity a metastazování. Zešléstím přednášek amerických, japonských a finských odborníků byl průkaz degradace lamininu 5-metalooproteinázou MT1-MMP v nádorech. Experimentální modelové studie ukázaly, že blokáda MT1-MMP antisense oligonukleotidy inhibuje migraci buněk, brání průniku buněk přes bazální membránu a následně inhibuje invazivitu a metastazování.

Zešléstím sympozia o onkogenech a supresorových genech byly studie genových defektů, abnormalit v expresi jistých produktů v nádorech, korelace těchto změn s biologickými vlastnostmi nádorů a jejich využitelnost v klinické praxi. Je třeba zmínit, že výsledky klinických studií byly značně rozporné a nepřesvědčivé. Nejméně uvážliví sdělili v tomto sympoziu se týkalo charakteristiky několika genů, jejichž proteiny inhibují apoptózu (IAPs proteiny). Jedná se o proteiny IAP I, a IAP II, survivin a sentrin. Jsou ve zvýšené míře exprimovány v nádorových buňkách,

Na modelu lidského maligního melanomu bylo prokázáno, že právě zvýšené hladiny IAP proteinů jsou jednou z příčin chemio a radioteristence nádoru v důsledku paralyzy apoptózy.

Značná část sympozia byla věnována nádorové imunologii a imunoterapii. J.P. Mach ze Švýcarska referoval o nadějných klinických zkušebních dvou monoklonálních protilátek namířených proti CD20 a HER2 u B buňčného lymfomu rezistentního na chemoterapii a u karcinomu prsu. Zvláště účinná se jeví kombinovaná radioimunoterapie skládající se z aplikace vysoké dávky neznačené protilátky, následovaná nízkou dávkou radioaktivně značené protilátky u radiosenzitivního B buňčného lymfomu. V oblasti bioterapii byly prezentovány několik studií, které dokladovaly, že aplikace monoklonálních protilátek proti membránovým receptorům jako je např. EGF-R či HER-2 v kombinaci s chemoterapií potencuje cytotoxický účinek chemoterapeutika.

Skupina vědců z Japonska se věnuje hledání a izolaci peptidů z nádorových buněk, které mohou specificky aktivovat cytotoxické T lymfocyty. Ukázali, že některé peptidy buněk maligního melanomu indukují specifickou cytotoxicitu periferních lymfocytů vůči nádorovým buňkám. Imunoterapie tímto peptidy v pilotní studii vedla, a nemocným maligním melanomem exprimujícím HLA-A2 alelu, k regresi nádoru. Popisují i peptidy s reječní schopností pro epiteliální nádory s expresí HLA-A2b, nebo A24 alely. Tento výsledek naznačuje, že hledání s nádorem sdružených peptidů, schopných vyvolat tvorbu cytotoxických lymfocytů, může znamenat nový přístup v léčbě nádorů. Podobným problémem se zabývají belgští badatelé u karcinomu ledvin. Našli tři peptidy, „nádorové“ antigeny, které indukují specifickou cytotoxicitu T lymfocytů. Jeden z těchto nových antigenů je kódován genem RAGE. Protein není přítomen ve většině normálních tkání, ale je exprimován u některých karcinómů ledvin a několika jiných nádorů. Druhý je jedinečný antigen vznikající z bodové mutace v HLA-A2 genu nemocných karcinómem ledvin. Třetí protein je kódován genem označeným RL-2 a je exprimován nejen u karcinómu ledvin, ale i v nádorech jiného histologického typu. Byl však nalezen v malém množství i v normálním epitelu ledvin, močového měchýře a testis. V diskusi se poukazovalo na problematické využití těchto antigenů k imunoterapii karcinómů, protože mohou zároveň indukovat autoimunitu. Výzkumné skupiny Turcieho z Německa a Kavakamitů z Japonska použily, nezávisle na sobě, k izolaci nádorových antigenů složitou metodu SEREX (serological analysis of tumor antigens by recombinant cDNA expression cloning). Izolovali z různých nádorů více než 700 antigenů u nichž nyní ověřují schopnost vyvolat cytotoxicitu T lymfocytů s potenciálním využitím pro imunoterapii.

Další zajímavé pokusy s využitím interleukinů v léčbě nádorů jsou zatím prováděny na myších. W. Lasek a spol. referovali o přiznávém účinku kombinace IL-12 a IL-15 v regresi nádorů z lidské buňčné linie maligního melanomu (B16F10) rostoucího na myších. K regresi nádorů došlo u 50 % myši. Kombinace obou cytokinů má vyšší protinádorový účinek než každý samostatně. Studiem imunologických parametrů zjistili zvýšení počtu NK buněk a zvýšení cytotoxicity T lymfocytů v uzlinách drenážujících oblast nádorového ložiska. Zároveň se zvýšila hladina IFN gama v séru myši. Originální nápad realizovali S. Liao a spol. z Japonska. Izolovali gen pro IL-2 s genem produkujícím protilátku proti CEA. Vznikl fúzní gen F39scFv-IL-2, který vpravili do produkčních buněk. Získali tak protein, který purifikovali a testovali zatím pouze in vitro. Přidání proteinu ke krevním lymfocytům vede k LAK aktivitě. Protein rovněž stimuluje proliferaci buňčné linie CTLL-2 závislé na IL-2 a specificky se váže na CEA pozitivní buňky nádorů zažívacího traktu. Předpokládají využití proteinu pro léčbu karcinómů exprimujících CEA.

Učtým překvapením byla renezanace zájmu o klasické antigeny AFP a CEA nejenom po stránce znalosti o jejich fyziologické úloze, ale především o jejich praktickém významu jako cílových struktur pro terapii. V experimentálním modelu myšičí solidoárního nádoru aplikace konjugátu AFP s doxorubicinem, případně esperamycinem, měla za následek až 99 % inhibici růstu nádoru a významné zvýšení přežití až o 120 % ve srovnání se skupinou kontrolní. Za objevení je možno považovat sdělení pracovní skupiny Abeleva o AFP indukované apoptóze v nádorových buňkách aktivací proteáz ze skupiny kaspáz. Ide o zcela novou, dosud neznámou apoptotický mechanismus, nezávislý na Fas/FasL ani na TNF/RTNF signálních cestách. Dva sdělení workshops byly věnovány charakterizaci a zařazení nádorových markerů do TD systému. Je zásluhou členů této společnosti, že vedení snahou o standardní charakterizaci a srovnání názvosloví, přes již stovky nádorových antigenů a po vzoru CD nomenklatury diferenciálních antigenů lymfoproliferativního systému, vytvořili analogickou TD nomenklaturu pro klasifikaci epiteliálních antigenů.

Pracovníci MOU prezentovali na sympoziu 2 sdělení vycházející z výsledků dvou projektů IGA Ministerstva zdravotnictví ČR (Č. NC/5571-3 a č. NC/4830-3), které jsou řešeny na oddělení molekulární a buňčné onkologie ve spolupráci s Sábřevskou univerzitní nemocnicí v Göteborgu a s FN v Sv. Anny v Brně.