

ZPRÁVA Z KONFERENCE "29TH ESMO CONGRESS" POŘÁDANÉ VE VÍDNI VE DNECH 29.10.-2.11.2004

ADÁMKOVÁ L., BOUDNÝ V.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Ve dnech 29.10.-2.11.2004 se konala ve Vídni v Rakousku mezinárodní konference nazvaná „29th ESMO Congress“ a pořádaná společností ESMO (European Society for Medical Oncology). Konference probíhala v Austria Center Vienna, což je rozsáhlá čtyřpatrová budova čítající čtyři velké a několik menších sálů umožňujících paralelní průběh několika přednášek a seminářů. Bohatý program konference byl rozdělen do tematických bloků v jejichž rámci přednášeli vybraní řečníci svá sdělení. Nedílnou součástí konference byla také posterová sekce. Námí byl prezentován poster „STAT 1 PHOSPHORYLATION INDUCED BY INTERFERONS IN HUMAN MALIGNANT MELANOMA“ autorského kolektivu Boudný V.¹, Adámková L.¹, Kovařík A.², Fojtová M.², Lauerová L.¹, Kocák I.³, Kovařík J.¹ (¹Základna experimentální onkologie, ³Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, Brno 656 53; ²Biofyzikální ústav AV ČR, Královopolská 135, Brno 612 65).

Současný stupeň znalostí molekulární podstaty signálních drah, které zprostředkovávají biologické efekty cytokinů a růstových hormonů a podílejí se na kontrole fyziologických procesů buňky, jako je růst, diferenciace, senescence a apoptóza, vymezuje tři hlavní skupiny proteinů, které zprostředkovávají přenos vnějších signálů z povrchu membrány k cílovým genům v jádře. Mezi tyto proteiny patří Janus tyrosinkinázy (JAK), signální transduktory a aktivátory transkripce (STAT) a jejich endogenní inhibitory z rodiny SOCS. Jejich nesprávná funkce a defektní vzájemná komunikace souvisí s několika lidskými chorobami.

Hromadící se důkazy ukazují na to, že poruchy v těchto proteinech mohou souviset s patogenezi lidských malignit a mohou sloužit jako nové nádorové markery a slibné cíle pro nádorovou terapii. Navíc se předpokládá, že defektní dráhy JAK/STAT/SOCS spojené s nádorovým onemocněním mohou negativně ovlivnit léčebnou odpověď na interferony a jiné cytokiny.

Klíčová úloha v komplexních signálních procesech je připisována proteinům rodiny JAK (např. JAK 1, JAK 2, JAK 3, TYK 2) a dosud poznaným sedmi členům rodiny STAT. Avšak jejich fyziologická a patologická funkce *in vivo* nebyla dosud zcela objasněna. JAK/STAT signální paradigma bylo velmi dobře charakterizováno pro mnoho ligandů. Po vazbě ligandu receptor dimerizuje. Důsledkem molekulárních procesů, které následují po interakci ligandu s receptorem, je iniciace aktivity proteinkináz rodiny JAK spojených s receptorem prostřednictvím jejich autofosforylace na tyrozinových zbytcích. Aktivované JAK proteiny fosforylují konzervovaný tyrozin na cytoplazmatickém konci receptoru, čímž vzniká "docking site" pro STAT proteiny. Tyto receptorové tyrozinové struktury jsou rozpoznávány SH2 doménami STAT proteinů, čímž zprostředkovávají příjem příslušných STATů do receptorového komplexu. Nefosforylované STATy navázané na receptor jsou fosforylovány proteiny JAK na tyrozinových zbytcích. Aktivované STAT proteiny se poté uvolňují z receptorů a dimerizují díky interakci SH2 domény jednoho STAT proteinu s fosfotyrozinem druhého. Dimery jsou translokovány do jádra, kde se váží na specifické DNA sekvence v promotorech responzivních genů a následně ovlivňují jejich expresi. Ačkoli fosforylace STAT proteinů na tyrozinu se zdá být klíčovou pro přenos signálu, výzkum mechanismů regulujících aktivitu transkripce zprostředkovanou STATy ukázal, že fosforylace

STAT 1, STAT 3 a STAT 5 na serinových zbytcích se také aktivně podílí na signálních drahách potenciací transkripční aktivity a exprese cílových genů.

Jednotlivé STAT proteiny se liší fyziologickými důsledky své aktivity. Konečný výsledek závisí především na typu vnějšího signálu a skupině cílových genů, které jsou přepisovány. Například výsledek STAT 1 nebo STAT 3 aktivity může být pozitivní či negativní v závislosti na podnětu a buněčném typu, zatímco STATy 4, 5 a 6 byly popsány převážně jako přenášející pozitivní růstové signály. Studie na myších s deficitními STAT proteiny a na modelech se STAT 1 proteinem vyřazeným z funkce ("STAT 1 knock-out") poskytly přesvědčivé důkazy o prvořadé úloze, kterou hrají STAT proteiny v přenosu buněčné odpovědi na interferony (IFN).

V souvislosti se studiem regulace signální funkce STAT proteinů bylo v nedávné době identifikováno několik nových proteinů, které působí jako negativní supresory JAK/STAT signalizace a které za fyziologických podmínek inhibují STAT aktivaci a připravují tak buňku pro odpověď na následující signál. Nyní již existují důkazy nejméně o třech hlavních rodinách přirozených inhibitorů: (1) supresory cytokinové signalizace (SOCS); (2) proteinové inhibitory aktivovaných STATů (PIAS); a (3) fosfatázy obsahující SH2 doménu (SHP).

Proteiny SOCS představují největší a zřejmě i nejdůležitější skupinu faktorů v klasické negativní zpětnovazební smyčce, které regulují JAK/STAT signalizaci iniciovanou nejméně 35 různými polypeptidovými ligandy včetně cytokinů. Transkripce většiny, ne-li všech genů kódujících SOCS proteiny, je indukována nebo regulována samotnými cytokiny, pravděpodobně přes aktivované STAT proteiny. SOCS proteiny obsahují centrální SH2 doménu, C-terminální box a N-terminální oblast velmi proměnlivé délky. Ačkoli bylo popsáno 20 členů této rodiny, které kódují běžný "SOCS box", pouze ty podskupiny obsahující zároveň C-terminální SOCS box a centrální Src homologní doménu (SH2), byly zahrnuty do signální dráhy cytokinových signálů.

Je známo více než 100 genů, které jsou zapojeny v JAK/STAT/SOCS signálních drahách nebo jsou těmito proteiny indukovány. Národně mohou být rozděleny do následujících tří skupin: a) geny, které jsou integrovány součástí JAK/STAT/SOCS signálních kaskád (včetně genů kódujících receptory, které interagují s příslušnými kinázami); b) geny kódující transkripční faktory interagující se STAT proteiny; c) geny indukované (aktivované) STATy. Třetí, zjevně největší kategorie, obsahuje geny, které dohlížejí na základní fyziologické procesy a udržují buněčnou homeostázu. Různé STATy jsou, i když ne zcela absolutně, nutné k regulaci genové exprese *cdc2*, cyklinů A a B, inhibitorů cyklin-dependentních kináz *p21^{WAF1/CIP1}* a *INK4*, kaspáz nebo molekul *Fas* a *FasL*. Navíc transkripce mnoha, ne-li všech interferonů regulovaných genů (IRG) zodpovědných za imunomodulační a proliferativní odpovědi, je také pod kontrolou STAT proteinů. Jako příklad můžeme uvést geny kódující MHC I. třídy, beta 2-mikroglobulin, transaktivátor třídy II (CIITA), intracelulární adhezivní molekulu 1 (ICAM-1), interferon-regulační faktor 1 (IRF1), polypeptid 2 s nízkou molekulovou hmotností (LMP2) a přenašeč spojený se zpracováním antigenu 1 (TAP1). Cílem naší studie byl výzkum inducibility aktivity (fosforylace) proteinu STAT 1 pomocí interferonů α a γ v buňkách maligního melanomu. Byly použity buňky 21 stabilizovaných melanomových linií a 59 primárních kultur odvozených z melanomových metastáz. Ke zjištění hladiny STAT1 proteinu a inducibility jeho aktivovaných forem jsme využili metodu Western blotu.

Studie poskytla jasný důkaz o tom, že funkční abnormality STAT1 proteinu souvisí s lidským maligním melanomem. Poruchy STAT1 převažovaly jak u stabilizovaných buněčných linií tak i u primokultur maligního melanomu.