

ZPRÁVA ZE SYMPOZIA EACR 17 V GRANADĚ - 8.–11. ČERVNA 2002

REPORT FROM THE 17th MEETING OF THE EUROPEAN ASSOCIATION OF CANCER RESEARCH, GRANADA, SPAIN, JUNE 8–1, 2002

BOUDNÝ V.
Masarykův onkologický ústav, Brno

NOVÉ SIGNÁLNÍ MOLEKULY A NOVÉ PŘÍSTUPY K TERAPII NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Ve dnech 8. - 11. června 2002 se konalo ve španělské Granadě již XVII. sympozium mezinárodní společnosti EACR („European Association for Cancer Research“). Samotný vědecký program byl rozdělen do mnoha sekcí, z nichž nejvýznamnější se věnovaly nádorové epidemiologii, epigenetice, buněčné proliferaci a buněčnému cyklu, apoptóze, angiogenezi, mechanismům invaze a metastázování, novým přístupům v terapii, signální transdukcí a signálními dráhám, expresí genů a regulaci transkripce, opravným mechanismům DNA, imunoterapii a monoklonálními protilátkami, genomice a proteomice, mechanismům nádorové rezistence, farmakogenomice, prediktivním a prognostickým markerům, molekulární onkologii, klinické onkologii a nádorové imunologii.

Sobotní dopolední předprogram byl zahájen sympoziem španělských onkologických center (10:00–13:00) s názvem „Přítomnost a budoucnost výzkumu rakoviny ve Španělsku“. Celkem zde hovořilo 11 čelních představitelů těchto domácích ústavů. Dále následovalo ASEICA („Asociación Española de Investigación sobre el Cáncer“) edukační sympozium (14:00–15:30) s názvem „Drug resistance and molecular target technology“, kde zazněly na toto téma celkem 3 příspěvky. V těsné návaznosti následovalo satelitní sympozium firmy Merck (16:00–18:00), které mělo 2 sekce. V první části zaměřené na bioterapii nádorových onemocnění referovali Dr. Yarden z Izraele a Dr. Baselga ze Španělska o pokrocích v signálních mechanismech rodiny EGF receptorů a o protinádorové terapii zacílené právě proti EGFR. Druhá část byla zaměřena na nádorovou angiogenezi (Dr. Kerbel z Kanady) a na antagonisty integrinu (Dr. Mitjans ze Španělska).

Teprve v podvečer byl slavnostně zahájen vlastní kongres (18:30–19:00). Následovala „Mühlbock Memorial Lecture“ (19:00–20:00) profesora Bodmera z Velké Británie na téma „Somatická evoluce nádoru kolorekta“. Po zformulování Knudsonovy hypotézy, předložené před více než 30 lety, která vztahovala nádorové supresorové geny a dominantně dědičnou náchylnost k rakovině, bylo možno ukázat, že gen označovaný jako APC, mutovaný v rodinách FAP („familial adenomatous polyposis“), je klíčový první krok u 80 % všech sporadických kolorektálních karcinomů. To přináší nový pohled na porozumění základních mechanismů tvořících základ vývoje nádorových onemocnění, ze kterých budou plynout nové přístupy k prevenci, časně detekci a vývoji lépe cílených léčebných přístupů,

ne pouze pro kolorektum, ale rovněž pro mnoho dalších onkologických onemocnění. Po skončení této přednášky následoval krátký koncert a nakonec slavnostní recepcce.

Od neděle až do úterý byla struktura symposia následující: odborný program byl každé ráno zahájen plenární přednáškou významných světových odborníků (8:30–10:00) a v těsné návaznosti pokračovala přednáška udělená za významné objevy na poli výzkumu rakoviny a to včetně mladých vědců (10:00–10:30). Po krátké přestávce následovalo paralelně „Basic Science Symposium“ a „Translational Research Symposium“ (11:00–13:00), která probíhala rovněž i odpoledne (17:45–19:45). Ve 13:15–14:00 byl pravidelný čas na hlavní přednášku dne („Keynote lecture“). Kromě toho v odpoledních hodinách probíhalo paralelně několik dalších akcí (např. „Profedered papers, Microarray technology workshop, ASEICE symposium, Satellite symposium“). Nebyl problém si vybrat zajímavou přednášku, ale často spíše býval problém si „nevýbrat“. V sekci věnované výzkumu signálních drah Dr. Aznar Benitah z Madridu, který byl nakonec po zásluze oceněn „EACR-MSD Meeting Award“, prezentoval nové výsledky v oblasti regulace STAT 3 transkripčního faktoru pomocí Rho GTP-as. Rho GTP-asy patří mezi rodinu Ras, o které je známo že je zahrnuta v kritických buněčných funkcích jako je buněčný růst, vývoj, apoptóza, buněčná cytoarchitektura a buněčná adheze. Tyto enzymy byly rovněž spojeny jak s tumorigenními tak metastatickými procesy. Autoři zkoumali modulaci aktivity transkripčního faktoru STAT 3 v onkogenních buňkách transformovaných Rho a jeho význam při transformaci. Našli novou signální dráhu, kterou Rho A indukuje tyrozinovou a serinovou fosforylaci proteinu STAT 3, přičemž obě tyto aktivity jsou nutné pro jeho úplnou transkripční aktivitu. Tyrozinová fosforylace STAT 3 pomocí Rho A je nutná pro jeho DNA vazebnou aktivitu a je využívána jak JAK-2 tak i členem rodiny Src, Lck. Serinová fosforylace STAT 3 indukovaná Rho A je využívána JNK-1, avšak ne Erk-1/2 ani p38 MAPK, a je nepostradatelná pro jeho maximální transkripční aktivitu. Navíc společná exprese „wild-type“ netransformovaného STAT 3 společně s Rho A významně zvyšuje onkogenní potenciál buněk. Podobně dominantně negativní mutanty STAT 3 narušily transformaci indukovanou Rho A. Vycházejíce ze zapojení obou těchto proteinů do vzniku a vývoje lidských nádorů, tak by dráha mezi nimi mohla představovat pravděpodobný směr pro vývoj nových léčiv s antineoplastickou aktivitou.

V sekci „Cell proliferation and cell loss“ se Dr. Real ze španělského Santanderu věnoval na STAT 3 závislé zvýšené expresi proteinu Bcl-2, která může učinit metastatické nádorové prsní buňky rezistentní k taxolem indukované apoptóze. Zatím je však málo známo o molekulárních drahách, které aktivují příslušné geny na specifických místech metastáz. Autoři analyzovali lidskou nádorovou buněčnou linii prsu MDA-MB 435 a 2 metastatické linie odvozené z nádoru plic (435 L) a mozku (435 B). Hladiny Bcl-2, jak na úrovni proteinu tak i na úrovni mRNA, byly vyšší v metastatických liniích než v rodičovské linii, přičemž nejvyšší hladina byla detekována v linii 435 B. Naopak exprese Bcl-XL byla pouze mírně zvýšená a hladiny Mcl-1, Bad a Bax byly buď sniženy anebo nezměněny. Expres Bcl-2 korelovala s aktivací STAT 3, ale ne s hladinou nebo aktivací známých Bcl-2 transkripčních faktorů jako jsou CREB a WT1. V linii odvozené od nádoru mozku (435 B) byly indukovány jak hladina Bcl-2 tak i aktivace STAT 3 epidermálním růstovým faktorem (EGF) a byly přerušeny po působení inhibitorů tyrozin kináz specifických pro EGF receptor nebo JAK-2. Navíc transfekce buněk 435 B dominantně negativním STAT 3 význačně snížila hladinu Bcl-2. Kromě toho inhibice STAT 3 aktivace působením EGF receptoru a inhibitorů JAK-2 kináz nebo transfekce dominantně negativním STAT 3 senzibilizuje buňky 435 B k taxolem indukované apoptóze. Zvýšená aktivace STAT 3/Bcl-2 dráhy v metastatických prsních nádorových liniích může zajistit výhodu v přežívání těchto buněk a přispět k jejich chemorezistenci nebo metastatickému fenotypu.

V sekci věnované novým terapeutickým přístupům v léčbě nádorových onemocnění vznikla přednáška Dr. Armanda z Francie, který referoval o nových protinádorových léčivech pocházejících z moře. Jako výsledek intenzivního výzkumu a preklinické vývojové strategie byl realizován klinický program zahrnující 3 produkty získané z moře. Od května 1996 do března 2001 vstoupilo do klinických zkoušek ve fázi I a II celkem 1148 pacientů s nádorovým onemocněním, kteří byli léčeni Ecteinascidinem-743 (ET-743), Aplidinem (APL) nebo Kahalalidem F (KF). ET-743, alkaloid izolovaný z „*tunicate E. turbinata*“, je nové agens interagující s DNA, které je rovněž modelem nové třídy látek, jež interagují s nukleárními proteiny. Fáze I prokázala, že ET-743 vykazuje dlouhodobou odpověď u pacientů s pokročilými sarkomy prsu, nádory vaječníku a melanomy. Předběžné výsledky na pokročilých prsních nádorech prokázaly aktivitu u pacientů rezistentních na antiracykliny a taxany. APL je nový peptid izolovaný ze středomořského „*tunicate A. albicans*“. Jeho protinádorová aktivita koreluje s inhibicí syntézy proteinů a s interakcí s VEGF dráhou. APL je první přírodní protinádorová látka s antiangiogenními účinky. Klinické zkoušky ve fázi I prokázaly jeho aktivitu u pacientů s pokročilým nádorem kolorekta a ledvin. KF je nový cyklický peptid izolovaný z „*mollusc E. rubefescens*“. Zdá se, že lyzozomy jsou buněčným cílem tohoto léčiva. Nejnovější výsledky prokázaly interakci s dráhou HER-2/neu.

V sekci „Imunoterapie a monoklonální protilátky“ hovořil Dr. Groner z Frankfurtu na téma „Bifunkční rekombinantní proteiny v terapii onkologických onemocnění“. Informace o deregulované expresi receptorů růstových faktorů na povrchu nádorových buněk vedly k zavedení nových tříd léčiv. Monoklonální protilátky specifické pro extracelulární doménu (např. EGF nebo erbB-2 receptorů) interferují se signální transdukci a růstem nádorových buněk *in vitro* a *in vivo*. Inhibiční potenciál takového protilátka může být zvýšen jejich spojením s bakteriálními toxiny. Biotechnologické metody umožnily získat bifunkční fúzní proteiny, ve kterých je specifická rozpoznávací doména protilátky kombinována se schopností bakteriálních toxinů inhibovat buněčnou syntézu bílkovin. Takové proteiny mohou být exprimovány v bakteriích ve velkých množstvích a rovněž bylo prokázáno, že zabíjejí lidské nádorové buňky prsu a vaječníku. Pro specifickou interferenci s regulací protein-proteinových interakcí byly zavedeny peptidové aptamery, což jsou bílkoviny, do kterých byla vložena peptidová doména s afinitou pro určitý protein. Purifikované bílkoviny mohou být dopraveny s vysokou účinností do buněk a inhibovat signální dráhy. V poslední době byly nalezeny peptidové aptamery specifické pro STAT 3 a EGF receptor, které jsou schopny zastavit růst nádorových buněk.

Velice zajímavá byla „Mike Price lecture“ profesora Mendelsohna z texaského Houstonu, který podal přehled o budoucnosti vývoje protinádorových léčiv. EGF receptory jsou exprimovány ve zvýšených hladinách asi u 1/3 epitheliálních nádorů a autokrinní aktivace EGFR se zdá být kritická pro růst mnoha nádorů. Autoři hypotetizují, že blokáda vazebných míst pro EGF a TGF-alfa na EGF receptoru pomocí antireceptorové monoklonální protilátky (mAb) by mohla být efektivní protinádorová terapie. Myši mAb 225 blokovala funkci EGFR a inhibovala buněčný růst v kultuře i v myších xenograftech. C 225 je lidská-myší chimérická verze mAb 225.

Z výsledků výzkumu naší laboratoře bylo na sympoziu prezentováno sdělení:

Boudný V., Chumchalová J., Fait V., Kovařík J.: DEFECTS IN STAT 1-MEDIATED INTERFERON SIGNALING IN CANCER CELLS. Rev. Oncol., 4, suppl. 1, p. 61-62, 2002.

Příští sympozium pod označením EACR 18 (18th Meeting of the European Association for Cancer Research) se bude konat ve dnech 3. – 6. července 2004 v Innsbrucku, v nádherném okolí Tyrolských Alp.