

zprávy

AKTUÁLNÍ TÉMATA HORMONÁLNÍ REGULACE NÁDOROVÉHO RŮSTU

9A: 6th International Congress on Hormones and Cancer, Jerusalem, Israel, 5.-9.9.1999

J. ŽALOUĐÍK

Univerzitní onkologické centrum Brno

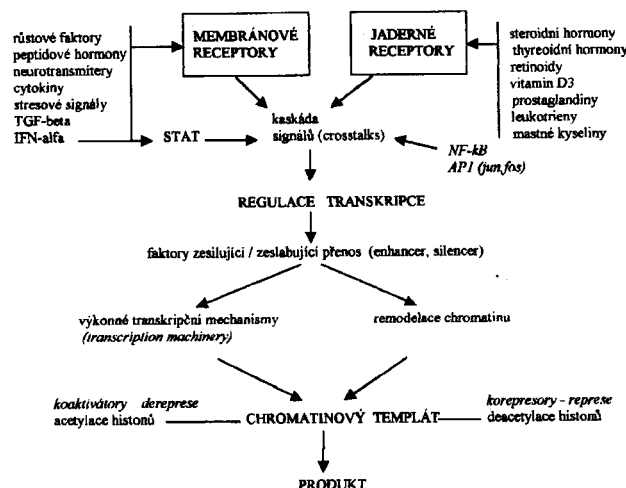
Vnímání světa jako ploché desky s nebem shora a peklem vespod bylo báječné svou jednoduchostí a přehledností. Také onkologii si lze usnadnit rozdělením nádorů na hormonálně dependentní a independentní, s pozitivitou a negativitou hormonálních receptorů, odpovídající a neodpovídající na hormonální léčbu. Svět je našťastí složitější a také pojem hormonální regulace nádorů se stává mnohem širším než jak byl dříve interpretován. Nejde již pouze o závislost nádorů prsu, prostaty a endometria na účinných endogenních nebo terapeutických pohlavních hormonech nebo antihormonálních zásahů a prostředků. V jistém smyslu je každý nádor hormonálně dependentní. Klasické pojetí hormonů jako endokrinních produktů žláz s vnitřní sekrecí je doplňován celou řadou regulatorů produkovaných parakrinne či autokrinne na místní tkáňové úrovni nebo nádorem samotným, ať již jde o cytokiny, růstové faktory nebo biologicky aktivní metabolity mastných kyselin. K samotné produkci hormonu endokrinní žlázou přistupuje významná modulace jeho účinku v cílové tkáni nebo dokonce alternativní produkce nádorovou tkání. To je třeba případ aromatázové aktivity některých karcinomů. Rozhodující pro konečný efekt je ovšem vzájemná provázanost receptorových systémů, výměna informací mezi signály z membránových a nukleárních receptorů (crosstalks) a mechanismy zajišťující transkripci příslušných genů jako integrál všech zúčastněných signálů.

Regulace genové transkripce je v současnosti hlavním tématem hormonální regulace nádorového růstu. Individualita jedince i nádoru, syntéza specifických struktur i spuštění určitých funkcí jsou podmíněny spuštěním komplexů a kombinací genů. Podle základního dogmatu molekulární genetiky musejí být tyto geny z DNA přepsány (transkribovány) do RNA a poté teprve realizovány v podobě nově syntetizovaného proteinu. Regulace transkripce je tedy klíčovou oblastí buněčné fyziologie i patologie a všech jejích aplikací včetně endokrinologie a onkologie. Hormony a jejich receptory jsou v regulaci transkripce faktory významnými, zdaleka však ne jedinými. Jednou z nejkoumanějších oblastí jsou *crosstalks* čili komunikace mezi signalizací předávanou přes membránové a jaderné receptory, mimo jiné třeba vztahy mezi regulací růstovými faktory a pohlavními hormonech. Zjednodušeně je vzájemné propojení receptorových signálů podílejících se na regulaci transkripce znázorněno na připojeném schématu (Chambon, Francie) (obr. 1).

Pozornost je věnována také *koaktivátorům* a *korepresorům* hormonální regulace transkripce (Parker, USA). Jsou zkoumány účinky nové třídy koaktivátorů steroidních receptorů SRC1-3 a SRA (O'Malley, USA). Koaktivátory a korepresory fungují jako rovnovážné komplexy regulačních faktorů, které jsou nazývány *koregulatorsomy*. Různé *koregulatorsomy* mají odlišnou afinitu k různým receptorům a v řadě případů se přímo podílejí na regulaci mechanismů v linii receptor – promotor – transkripce – specifická funkce v cílové tkáni. Situace může být ovšem dále komplikována existencí více promotorů pro spuštění transkripce jednoho genu jako je tomu v případě genu pro estrogenový receptor alfa, kdy ze dvou promo-

torů se výrazněji uplatňuje vliv vzdálenějšího promotoru B, zároveň však jde o poměrně instabilní oblast vstupující do dalších interakcí (Hayashi, Japonsko). Spolu s *transaktivací* mechanismy jsou takto dány důvody pro značnou fenotypickou a funkční diverzitu hormonálních receptorů i v rámci jednoho onemocnění. Praktickým důsledkem může být také skutečnost, že účinky tamoxifenu se diametrálně liší u fenotypu ER+/PgR+ a ER-/PgR+. Zatímco u ER+/PgR+ funguje tamoxifen jako typický antagonist estrogenní stimulace, v případě ER-/PgR+ není neúčinný či indiferentní, jak bychom očekávali, nýbrž stává se nežádoucím agonistou stimulujícím nádorovou proliferaci (Becker, Belgie). Receptorovou podstatu mají také účinky karcinogenních polycyklických halogenovaných uhlovodíků, které se vážou na AhR (*arylový receptor*), jehož signál je zprostředkován specifickými transkripčními faktory TFIIB a TFIIE (Jalaquier, Francie). *Ekotoxikologie* a mechanismy kancerogeneze se tak dostávají do oblastí podobných či shodných s regulací transkripce účinky hormonů a nejsou spojeny pouze s přímým toxickým vlivem a molekulou DNA jak se dříve soudilo.

Obr. 1: Přenos signálů a regulace transkripce.



Dalším aktuálním tématem je heterogenita steroidních receptorů. Po progesteronových receptorech typu A a B je v posledních letech věnována pozornost také estrogenovým receptorům alfa a beta. Jde o dva geneticky odlišné receptory. ER alfa je kódován genem na chromosomu 6 a sestává z 595 aminokyselin, zatímco ER beta o 530 aminokyselinách je kódován samostatným genem z chromosomu 14. Struktura obou receptorových molekul je ovšem podobná s doménou C vážící DNA doménou E a obvyklým *alfa helixem* 12 spojeným s aktivacíní funkcí typu 2. (Alfa helix 12 je konzervovaný úsek společný pro všechny jaderné receptory, který prodělává konformační změny v souvislosti s aktivací.) Význam objevu ER beta před několika lety je značný. Především jde o receptor s výraznou afinitou k *fytoestrogenům* (Genistein aj.). Exprese ER beta byla nalezena v ledvinách, tlustém střevu a buňkách hladké svaloviny cévních stěn. Přítomnost ER beta v cévní stěně může souviset s ochranným účinkem estrogenů na kardiovaskulární systém. Výskyt ER alfa i beta v různých proporcích v mozku, kůži, hypothalamu, ovšem i v gangliích mozkového kmene otevírá prostor pro širší pochopení neurohumorálních regula-

cí. ER beta se nachází hojně také v tkáni prostaty a připisuje se mu spoluúčast v rozvoji prostatické hyperplasie. Zdá se, že ER beta je na rozdíl od ER alfa přítomen ve většině, ne-li u všech, karcinomů prsu. To podporuje hypotézu, že estrogenní receptory jsou v podstatě stabilním fenotypickým znakem všech karcinomů prsu (Robertson, Br.J.Cancer, 1996). ER beta je patrně výhodnější cílovou strukturou pro antihormonální léčbu karcinomu prsu. Kromě častější exprese, je jím zprostředkováná stimulace přímá, zatímco v případě ER alfa probíhá za spoluúčasti některých růstových faktorů. Oba receptory jsou aktivovány buď vazbou ligandu (estrogenu) na doménu E (aktivační funkce 2. typu, AF2) nebo fosforylací domén A/B (aktivační funkce 1. typu, AF1).

Funkci jednotlivých steroidních receptorů lze v současnosti studovat i izolovaně, a to na myších, jímž byl gen pro daný receptor genetickou manipulací vyřazen. Jde o takzvané *knock-out* myši. Existují tedy myši AERKO (alfa estrogen receptor knock-out), BERKO (beta estrogen receptor knock-out), ale i ARKO (androgen receptor knock-out) a další (Korach, USA). I přes nástup celé řady *selektivních inhibitorů (modulátorů) estrogenových receptorů (SERM)* nejen se skupiny triphenylethylenových látek typu tamoxifenu, toremifenu či droloxifenu, nýbrž benzothiophenů jako raloxifenu, benzpyrenů SERM III a 57050 či čistých steroidních antiestrogenů jako ICI 182780 (Faslodex), zůstává pozice tamoxifenu v klinických aplikacích u karcinomu zatím neotřesená. Důvodem je zejména skutečnost, že není možno v krátké době opakovat celou řadu studií v komparaci s tamoxifenem na tak četných souborech, aby se prokázaly drobné rozdíly spočívající více než v samotném protinádorovém efektu ve snížení rizika nežádoucích kardiovaskulárních účinků, snížení rizika indukovaného karcinomu endometria a podobně. Jde totiž o komplikace máločetné a průkaz rozdílu bude vyžadovat mnohatisícové soubory (Howell, UK). Ani účinky tamoxifenu samotného však nejsou dosud dostatečně objasněny. Kromě kompetitivní inhibice na estrogenovém receptoru tamoxifen také ruší stimulační účinky estradiolu na produkci VEGF a tedy nádorovou neoangiogenezu (Bogin, Izrael). Estrogeny zvyšují v nádorových buňkách expresi Fas ligandu (FasL), což má za důsledek spuštění apoptózy a zánik infiltrujících lymfocytů v nádoru, které jsou vybaveny Fas receptorem. Tamoxifen expresi FasL v nádorových buňkách snižuje a zasahuje tím příznivě také do interakcí imunitních a nádorových buněk (Mor, USA). Zajímavá je také otázka *rezistence nádorů vůči tamoxifenu*. Vzhledem k tomu, že 40-60% nádorů rezistentních k tamoxifenu stále exprimuje estrogenové receptory (ER+), nejde o selekci buněk s negativními receptory jak se předpokládalo. V mechanismu rezistence se spíše uplatňuje změna reakce na zprvu inhibiční signál, aktivace transkripce, *aktivní acetylase histonů acetyltransferázami* a podobně. Je přitom klinicky varující, že nárůst rezistence na tamoxifen nemusí být spojen se ztrátou jeho účinku, nýbrž s jeho konverzí z antagonisty v agonistu. Neúčinný tamoxifen může být tedy v medikaci i nebezpečný. Disociace účinku tamoxifenu užívaného v adjuvanci a zároveň substituci jako HRT se může projevit snížením rizika osteoporózy, avšak zároveň stimulačními účinky v endometriu a vaskulárním systému. Tato disociace zbyla dosud pozorována u raloxifenu.

V klinických studiích hormonoterapie se stále více projevuje úsilí podrobněji stratifikovat soubory podle *prediktorů léčebného efektu*. Nestor organizace kontrolovaných klinických studií a ředitel projektu NSABP Bernard Fisher shrnuje svoje více než čtyřicetileté zkušenosti se závěrem, že klinické trialy sice přispěly nalezení statisticky optimalizovaných léčebných postupů, to však neznamená, že jde o postupy optimální pro každého jednotlivého pacienta. Je například zřejmé, že dlouhodobá *chemoprolaxe karcinomu prsu tamoxifenem* po provedené léčbě může být zdůvodněná a úspěšná především v jasně definované skupině vyššího rizika s mutacemi v BRCA genech a s prokázaným nálezem atypické duktální hyperplasie či dokonce CLIS

nebo DCIS v mladším věku. Tamoxifen je již pokládán za účinnou alternativu bilaterální profylaktické subkutánní mastectomie i u vysoce rizikových nemocných. V případě karcinomu narůstá počet klinicky využívaných prediktivních parametrů, nicméně sporé jsou zatím pokusy o jejich multidimensionální interpretace. Například flow cytometrická S fáze (SPF) se stává vysoce signifikantním prediktorem intervalu bezchoreb (disease-free survival) pouze u PgR pozitivních nádorů a má různou prediktivní sílu nepřímou úměrou velikosti nádoru. Do predikce DFI tak vstupuje nejen SPF, ale zároveň stav PgR a velikost nádoru. Mnozí upozorňují, že DNA microarrays nebo DNA chips, které analyzují stovky amplifikací či delecí stovek a tisíců genů komparativní genovou hybridizací během jedné analýzy již brzy odsunou jakékoli interpretace založené na jednom či několika faktorech mezi historické reminiscence.

Výsledky klinických studií zabývajících se hormonoterapií karcinomu prsu také mění některé klasifikační zvyklosti. Ukazuje se, že skupina nemocných se stabilizovanou chorobou (SD) hodnocená po třech měsících podle kritérií UICC v sobě skrývá při hodnocení po 6 měsících dvě podskupiny. Skupina s SD více než 6 měsíců se při konečném hodnocení podobá skupině s parciální remisí, zatímco skupina s SD pod 6 měsíců je prakticky totožná se skupinou od počátku progredující (PG) (Van Klíjn, Holandsko). Stejný autor také ve velkém holandském souboru nachází po osmi letech lepší výsledky adjuvance operovaného karcinomu prsu s kombinací LHRH agonisty a tamoxifenu než při aplikaci tamoxifenu samotného. Význam ovariální ablace v adjuvanci u premenopauzálních žen, který byl i u nás opakovaně opomíjen a zpochybňován tak získává novou podloženou argumentaci.

Klinické pohledy na léčbu nádorů ovlivněním hormonální regulace se v jednom bodě zcela shodují. Potřebujeme mnohem více poznatků o fyziologii a patofyziologii hormonální regulace transkripce a více informací o každém jednotlivém nádoru zahrnujících markery celého spektra regulátorů, včetně exprese řady onkogenů, abychom byli schopni racionálně cílit léčbu i stratifikovat nemocné. Cesta k účinnější léčbě zhoubných nádorů vede především přes hlubší poznání jejich molekulární patologie.