

**Prof. dr hab. Janusz Rak**

## **NOWOTWÓR JAKO NASTĘPSTWO ZABURZEŃ W HARMONII ODDZIAŁYWAŃ MIĘDZYKOMÓRKOWYCH**

### **Streszczenie wykładu**

#### *Wstęp – Pytania*

Czym jest w istocie proces nowotworowy? Jakie są jego najistotniejsze elementy? Jakie jest znaczenie odmienności molekularnej, która definiuje główne rodzaje nowotworów i ich nieustannie mnożone podtypy? Czy molekularna analiza komórek izolowanych z tych zmian wystarczy dla zrozumienia procesu chorobowego i skuteczniejszego leczenia? Dlaczego leki celowane, skierowane na produkty genów transformujących zwykle nie powodują trwałych wyleczeń? Oto pytania które nasuwają się w konfrontacji pomiędzy doświadczeniem klinicznym a wynikami molekularnych badań nad rakiem. W obecnej prezentacji dokonam przeglądu niektórych głównych koncepcji, które obecnie inspirują badania nad biologią i terapią przeciwnowotworową i podejmę dyskusje nad rolą harmonii w komunikacji międzykomórkowej jako istotnego elementu progresji choroby i potencjalnego celu terapii.

#### *Rola Genów*

Program badawczy – The Cancer Genome Project (TCGA) definiuje nowotworzenie jako proces ściśle genetyczny, który może być rozumiany w kategoriach mutacji DNA. Dla opisanego roli genów w tym procesie rozwinęła się swoista logika i terminologia genetyczna, w której odróżnia się geny o cechach dominujących (onkogeny), recesywnych (geny supresorowe), a także zmiany, które predysponują do nowotworzenia, odgrywają w nim rolę napędzającą (driver mutations) lub są jego produktem ubocznym (passenger mutations). Sekwencja tych zmian składa się na proces biologicznej progresji nowotworów, czego paradygmatem jest model raka jelita grubego, który zaproponował Vogelstein w latach osiemdziesiątych.

#### *Rola Komórek*

Zmutowane geny nie są w istocie niczym więcej niż martwymi fragmentami DNA, i jeżeli przyjąć, że są one podstawowym elementem nowotworzenia to proces odbywa się na poziomie komórki. A więc można powiedzieć, że ewolucja komórek (Nowell 1976), a w tym komórek macierzystych (stem cells) jest biologicznym nośnikiem zmian prowadzących do powstania nowotworu. Dziedziczne choroby nowotworowe wskazują, że nie wszystkie typy komórek ulegają transformacji pod wpływem określonych mutacji. Biologiczne konsekwencje tych mutacji są też inne w przypadku komórek macierzystych i bardziej zróżnicowanych, przy czym obie te populacje współistnieją w masach nowotworowych. Ponadto, ewolucja mutacyjna komórek macierzystych i klonotwórczych powoduje narastające różnicowanie (heterogeneity) komórek nowotworowych (Gerlinger 2012), które jawi się jako mozaika właściwości biologicznych.

Badania wykazują, że procesy biologiczne takie, jak wzrost nowotworowy mogą być pochodną nie tylko cech indywidualnych komórek, ale również ich wzajemnych oddziaływań (Heppner & Miller 1989). Na przykład, transformujące mutacje genów *Ras* i *scribbled* występujące w różnych komórkach oka u *Drosophila* mogą powodować nowotworzenie, podczas gdy żadna z tych mutacji występująca osobno nie jest wystarczająca dla wywołania choroby. (Wu 2010). Niektóre nowotwory ludzkie (glejaki) ‘utrzymują’ stan różnorodności komórkowej poprzez wydzielanie czynników wzrostowych i przez wzajemne oddziaływania, których istota jest nie do końca poznana (Bonavia 2011).

### ***Nisza komórkowa***

Do nowotworzenia w znacznym stopniu przyczynia się również kontekst tkankowy (‘soil’; Paget 1889). Komórki zmutowane mogą stanowić mniejszość w masach nowotworowych, a ich otoczenie podścieliskowe (‘niche’) ulega ogromnym zmianom hamującym (Mintz 1975) lub stymulującym wzrost nowotworowy (Dolberg 1993; Finak 2008). Dlatego struktura niszy, w której zachodzi proces nowotworzenia (np. w glejakach) jest przedmiotem intensywnych badań. Badania te w znacznym stopniu koncentrują się na komponentach naczyniowych dzięki ich szczególnej roli w procesach angiogenezy, wzrostu, inwazji i odpowiedzi na leczenie (Gilbertson 2007).

W badaniu procesów biologicznych o dużej kompleksowości niejednokrotnie zacierą się różnica pomiędzy przyczynami i mechanizmami obserwowanych zjawisk, w tym również czynników związanych z patogenezą nowotworów. Jakkolwiek zmiany genetyczne mogą stanowić początkowy impuls, do nowotworzenia dochodzi poprzez szereg procesów, w których istotne są oddziaływania międzykomórkowe i kontekst tkankowy oraz cały szereg zjawisk zachodzących na poziomie organizmu. Ten sposób patrzenia na nowotworzenie nie miał dotąd wielkiego wpływu na terapię przeciwnowotworową. Spośród ogromnej liczby leków przeciwnowotworowych i nacelowanych molekularnie, jedynie leki anty-angiogenne i do pewnego stopnia immunoterapia skierowane są na ten kompleksowy aspekt choroby. Jest to do pewnego stopnia wynikiem niedostatecznej wiedzy na temat procesów i mechanizmów, które powoduje ‘kolektywne’ zachowania komórek nowotworowych. Pod tym względem stosunkowo najlepiej poznane są oddziaływania z udziałem czynników wzrostowych, rozpuszczalnych mediatorów, cząsteczek adhezyjnych i enzymów (np. proteaz). Badania ostatnich lat ujawniły jednak istnienie innych mechanizmów, które mogą kierować oddziaływaniami międzykomórkowymi w rozwoju nowotworów złośliwych.

### ***‘Niekonwencjonalne’ oddziaływania komórkowe z udziałem mikropecherzyków***

Wydaje się, że jednym z najmniej poznanych i fascynujących mechanizmów wymiany informacji między komórkami jest proces określany mianem „pecherzykowania” (vesiculation). Jego produkty, pecherzyki zewnątrzkomórkowe (extracellular vesicles – EVs), takie jak egzosomy i ektosomy, są strukturami błon komórkowych zawierającymi określone konstelacje rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych cząsteczek o różnorodnej aktywności (białka, kwasy nukleinowe). EV służą jako przekaźniki informacji między komórkami, z którymi mogą oddziaływać na wiele sposobów, powodując redystrybucję regulacyjnych cząsteczek w populacjach komórek sąsiadujących ze sobą lub od siebie odległych (np. między komórkami nowotworowymi a komórkami szpiku). W przypadku komórek nowotworowych pecherzyki te mogą zawierać cząsteczki onkogenne, skąd wywodzi się nazywanie ich onkosomami (oncosomes; Al-Nedawi 2008).

Nasze badania nad onkosomami wykazały, że mogą one zawierać szereg białek transformujących, jak również odpowiadające im cząsteczki mRNA i DNA (*EGFR*, *EGFRvIII*, *RAS*). Kontakt onkosomów z niezłośliwymi komórkami nowotworowymi lub śródbłonkowymi wywołuje

zmiany pro-angiogenne, przypominające transformację nowotworową (w tym zwiększoną ekspresję VEGF). Z drugiej strony, blokowanie wymiany onkosomów opóźnia wzrost nowotworów u myszy i wpływa na zmniejszone unaczynienie guzów (Al-Nedawi 2009). Emisja onkosomów jest regulowane przez procesy transformacji oraz zmiany fenotypowe, takie jak EMT (epithelial-to-mesenchymal transition; Garnier 2012). Najnowsze badania ujawniły dalsze fascynujące właściwości egzosomów nowotworowych, w procesach tworzenia nowotworów u myszy, przerzutowania, angiogenezy i modulacji komórek macierzystych (Ratajczak 2006; Antonyak 2010; Peinado 2012).

Onkosomy stanowią również niezwykle ciekawą platformę diagnostyczną o wyjątkowych właściwościach. Jest to niemal jedyny mechanizm, który umożliwia emisję do krwi obwodowej pakietów zmutowanych białek w stanie strukturalnie nienaruszonym i w pełnej aktywności oraz odpowiadające im kwasy nukleinowe, microRNA i szereg innych cząsteczek, które mogą dostarczyć informacji na temat molekularnych cech nowotworów. Może to okazać się niezwykle cenne dla monitorowania choroby u poszczególnych pacjentów albo też charakteryzowania podtypu nowotworowego lub obecności zmian molekularnych podatnych na konkretne leki celowane. Ten aspekt produkcji onkosomów jest obiektem intensywnych badań, na przykład w glejakach oraz w innych typach nowotworów złośliwych, zwłaszcza tych, które są lepiej poznane pod względem molekularnym.

### ***Podsumowanie***

Jakkolwiek proces nowotworzenia jest zjawiskiem genetycznym, to jednak zachodzi on na poziomie wielokomórkowym i z udziałem oddziaływań pomiędzy komórkami o różnych cechach, w tym komórek stransformowanych, komórek podścieliska i naczyń krwionośnych, szpiku kostnego i innych tkanek. Nieskuteczność obecnych metod leczenia celowanego w niektórych nowotworach (np. w glejakach) może być spowodowana tym, że odnośne badania koncentrują się głównie na procesach wewnątrzkomórkowych, często z pominięciem różnorodności komórek występujących w zmianach chorobowych i wzajemnych oddziaływań między tymi komórkami. Wśród różnorodnych mechanizmów tych oddziaływań szczególnie fascynujące są procesy wymiany onkosomów. Problematyka ta jest przedstawiona w rozszerzonej wersji w szeregu ostatnio opublikowanych prac przeglądowych<sup>3,5,6</sup>, i oryginalnych<sup>1,2,4,7</sup>.

<sup>1</sup> K. Al-Nedawi, et al., "Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells," *Nat. Cell Biol.* **10**(5), 619 (2008).

<sup>2</sup> M. A. Antonyak, et al., "Cancer cell-derived microvesicles induce transformation by transferring tissue transglutaminase and fibronectin to recipient cells," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**(12), 4852 (2011).

<sup>3</sup> V. Muralidharan-Chari, et al., "Microvesicles: mediators of extracellular communication during cancer progression," *J. Cell Sci.* **123**(Pt 10), 1603 (2010).

<sup>4</sup> H. Peinado, et al., "Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET," *Nat. Med.* **18**(6), 833 (2012).

<sup>5</sup> J. Rak and A. Guha, "Extracellular vesicles--vehicles that spread cancer genes," *Bioessays.* **34**(6), 489 (2012).

<sup>6</sup> J. Ratajczak, et al., "Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication," **20**(9), 1487 (2006).

<sup>7</sup> J. Skog, et al., "Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers," *Nat. Cell Biol.* **10**(12), 1470 (2008).