

Nádorové stroma jako léčebný cíl



O správnosti článku se vede diskuse.

O obsahu článku „Nádorové stroma jako léčebný cíl“ se nyní debatuje. Více informací naleznete v diskusi.

*Cílenou léčbu zaměřenou predominantně proti samotným nádorovým buňkám lze rozdělit do **tří skupin** – jsou jimi léky inhibující sebeobnovu nádorových buněk, léky inhibující proliferaci a induktory apoptózy.*

Inhibice proliferace

1. Inhibice receptorových tyrozinkináz

Receptory s vnitřní tyrozinkinázovou aktivitou (RTK) patří mezi klíčové struktury v buněčné signalizaci. Geny, které je kódují patří k nejdéle známým a jejich mutace hraje zásadní roli v patogenezi širokého spektra malignit. Za normálních podmínek se na receptory váží **růstové faktory** – mitogeny – produkované různými buňkami mikroprostředí. Mitogenní signály jsou přes řadu **signalizačních kaskád** převedeny do jádra, kde dochází k aktivaci transkripčních faktorů nutných pro spuštění mitózy. Ve zdravých buňkách je tato signalizace fyziologická a k přenosu daného signálu dochází jen v přítomnosti určitého transkripčního faktoru (ligand-dependent signaling). Pokud však v nádorové buňce dojde k **deregulaci genů** pro RTK, může vzniknout propagace aberantního proliferativního signálu nezávislého na přítomnosti růstového faktoru (ligand-independent signaling). Tento fakt je podkladem **maligní transformace** a **proliferaci** nádorových buněk.

S cílem vyřadit aberantně aktivované RTK byly vyvinuty dvě odlišné terapeutické strategie – monoklonální protilátky zacílené na extracelulární receptorovou část RTK a dále nízkomolekulární tyrozinkinázové inhibitory (TKI) blokuující intracelulární tyrozinkinázovou doménu RTK.

Rodina EGFR/ERBB/HER

(epidermal growth factor/erythroblastosis receptor B/human epidermal growth factor receptor)

Z protilátek cílených na extracelulární receptorovou doménu v názvu uvedených receptorů se v klinické praxi používá **cetuximab** a **panitumumab** k léčbě kolorektálního karcinomu a **trastuzumab** k léčbě karcinomu prsu. Novou alternativu představují tzv. chimerické imunoreceptory, kdy se monoklonální protilátka s afinitou vůči danému mitogenu váže svým Fc fragmentem na nádorové buňky a působí jako kompetitivní inhibitor skutečných receptorů. Z nízkomolekulárních inhibitorů je ke klinickému použití schválen pouze **erlotinib**.

Rodina IGFR

(Insulin-like growth factor receptor)

Patologická aktivace IGF1R se účastní aberantní mitogenní stimulace u mnoha malignit. Ve stadiu klinického testování je celá řada monoklonálních protilátek.

PDGFRA a PDGFRB

(platelet-derived growth factor α/β)

Mezi TKI s aktivitou vůči PDGFR patří např. **imatinib**.

FLT3

(FMS-like tyrosine kinase 3)

Tato signální dráha je důležitá pro normální proliferaci hematopoetických progenitorů. Receptorová tyrosinkináza FLT3 je nejčastěji mutovaným proteinem u pacientů s AML. Mezi specifické nízkomolekulární inhibitory FLT3 patří např. **lestaurtinib**.

MET/HGFR

Tento receptor váže jediný známý ligand, kterým je růstový faktor pro hepatocyty (HGF). Jeho mutace byly popsány u karcinomu žaludku. Overexprese byly popsány u různých typů nádorů a signalizace přes tento receptor hraje podstatnou úlohu při angiogenezi a metastazování nádorových buněk. Několik blokačních monoklonálních protilátek je ve fázi klinického testování.

Váže tzv. KIT ligand (jinak také růstový faktor kmenových buněk či růstový faktor pro mastocyty-SCF). KIT hraje důležitou roli v hematopoeze a melanogenezi. Cytogenetické aberace KIT se nacházejí u pacientů s AML, systémovou mastocytózou a mezenchymálními nádory gastrointestinálního traktu. Mezi TKI s aktivitou vůči KIT patří např. **imatinib**.

FGFR

(Fibroblast growth factor receptor)

Aktivace těchto receptorů ovlivňuje proliferaci, apoptózu, motilitu a angiogenezi – vyskytuje se tudíž u různého spektra malignit. Deregulace signalizace z FGFR bývá asociována s více agresivním fenotypem nádoru, včetně vystupňované angiogeneze a časného metastazování.

2. Inhibice nereceptorových proteinů s tyrozinkinázovou aktivitou

Nereceptorové tyrozinkinázové proteiny hrají důležitou roli při **převodu signálů** z buněčných receptorů na downstream efektorové molekuly. Tyrozinkinázové proteiny (PTK) integrují řadu signálů z vnějšího prostředí a představují tak další klíčové regulátory buněčné proliferace a motility. PTK patří spolu s RTK mezi klasické onkogeny, jejichž aberantní aktivace hraje dominantní úlohu při maligní transformaci. V cílené terapii se také podobně uplatňují léky ze skupiny tyrozinkinázových inhibitorů.

SRC

(cellular Rous sarcoma viral oncogene homolog)

Tato nereceptorová kináza je vůbec **první** historicky definovaný onkogen. SRC se váže svou SH2 doménou na fosforylované tyrozinové zbytky intracytoplazmatické části dimeru aktivovaných RTK a významně se podílí na přenosu mitogenních signálů vnějšího prostředí z RTK na nitrobuněčné signální dráhy včetně MAPK či FAK (focal adhesion kinase). SRC je také hlavním mediátorem přenosu signálu z většiny integrinových receptorů, čímž zásadním způsobem reguluje buněčnou adhezi, motilitu a neovaskularizaci. Proto je dysregulace SRC u nádorů spojena s jejich větší invazivitou a metastazováním. Vzhledem k tomu, že dysregulace SRC u nádorů byla popsána u mnoha solidních tumorů i hematologických malignit, představuje SRC důležitý cíl protinádorové terapie. Mezi inhibitory SRC patří duální inhibitory **dasatinib** a **bosutinib**, které specificky váží kromě SRC též c-ABL.

FAK

(focal adhesion kinase)

FAK hraje spolu se SRC nezastupitelnou úlohu při transdukcii signálů z integrinových receptorů. Za účelem protinádorové terapie bylo vyvinuto několik nízkomolekulárních inhibitorů FAK. Farmakologická inhibice FAK sice snižovala v preklinických modelech motilitu a invazivitu nádorových linií, nicméně se ukázalo, že u zkoumaných linií často docházelo ke kompenzatornímu zvýšení exprese jiné PTK, nazývané FAK/PYK2. Proto byl navržen duální inhibitor FAK/PYK2, který v modelu prokázal výrazný protinádorový účinek, včetně inhibice neovaskularizace. Výsledky klinických studií jsou očekávány.

ABL/cABL

(Abelson tyrosine kinase)

Tato nereceptorová PTK je strukturně podobná kináze SRC. Fúze genů c-ABL a BCR je podkladem chromozomální translokace BCR-ABL u pacientů s CML, nejčastější rekurentní mutace c-ABL u lidských malignit.

3. Inhibice proteinu RAS

Rozličné somatické mutace mohou způsobit konstitutivní aktivaci proteinů RAS, jejímž výsledkem je signalizace nezávislá na ligandu a následná nekontrolovatelná proliferace nádorových buněk. RAS patří spolu s p53 mezi dva nejčastěji mutované proteiny u solidních nádorů. V preklinických studiích se jako slibné látky jeví inhibitory farnesyltransferázy (FTI) a nověji též geranylgeranyltransferázy (GGTI). Tyto látky katalyzují klíčovou posttranslační modifikaci proteinu RAS, a to prenylací (připojení izoprenylového lipidového řetězce). Prenylace umožňuje ukotvení RAS na vnitřní stranu buněčné membrány a facilituje interakce s efektorovými proteiny. FTI/GGTI tak nepřímo interferují s funkcí RAS – inaktivují ho. Mezi léky, které již prošly klinickými studiemi patří **tipifarnib** či **lonafarnib**. Mezi další látky, které inhibují prenylací patří např. **bifosfonáty**.

4. Inhibice signální dráhy RAF-MEK-ERK

V současnosti je známa více než desítka downstream efektorových molekul proteinu RAS. Mezi nejlépe prozkoumané signální dráhy spouštěné aktivací RAS patří kaskády mitogen-aktivovaných proteinkináz (MAPK), zejména kaskáda RAF-MEK-ERK (RAS-associated factor-mitogen-activated protein kinase ERK kinase 1-extracellular signal-related kinase). **Sorafenib** je inhibitor s aktivitou vůči RAF. Používá se k léčbě pokročilých forem karcinomu ledviny a u karcinomů jater.

5. Inhibice kaskády JAK-STAT

Receptory spřažené s **JAK-STAT** (Janus kinase-signal transducers and activators of transcription) představují druhou velkou skupinu receptorů pro celou řadu cytokinů. Na tento typ receptorů se váže většina interleukinů, hematopoetické růstové faktory (EPO, TPO, GM-CSF) a všechny interferony. Proteiny JAK patří mezi **nereceptorové PTK**, jejichž aktivace probíhá downstream od cytokinem agregovaných receptorů. Aktivované proteiny JAK fosforylují specifická intracytoplazmatická místa cytokinových receptorů, což vede k atrakci cytoplazmatických proteinů STAT, které jsou po ukotvení na receptor fosforylovány aktivními kinázami JAK. Fosforylované STAT proteiny vytvářejí homo- a heterodimery a translokují do jádra, kde nasedají na specifické promotory v DNA a regulují transkripci cílových genů. Proteiny STAT mohou být navíc aktivovány dalšími nereceptorovými PTK, např. SRC či ABL. V preklinickém a klinickém testování je několik inhibitorů JAK-STAT signální dráhy. Superantagonista receptoru pro IL-6, monoklonální protilátka **Sant7**, vykazuje protinádorový účinek v preklinických modelech blokádou JAK-STAT signální dráhy. Další strategií je inhibice PTK downstream od receptorů. **Tryphostin** a **lestaurtinib** patří mezi inhibitory JAK2, dosatinib a bosutinib inhibují SRC. Oba přístupy vedou k účinné supresi transkripčních faktorů STAT.

6. Inhibice proteinkinázy C

Proteinkináza C zahrnuje skupinu **serin/threoninových kináz**. Klíčovou roli v aktivaci PKC hraje fosfolipáza C (PLC), která na vnitřní straně membrány štěpí PIP-2 na IP3 a DAG. Zatímco DAG zůstává součástí membrány, odštěpený IP3 difunduje cytoplazmou a aktivuje kalciové kanály endoplazmatického retikula, což vede ke zvýšení intracelulární koncentrace kalcia. Klasické PKC potom k aktivaci potřebují jak kalciové ionty, tak DAG. Deregulace PKC má v onkogenezi význačnou úlohu. Zvýšená exprese PKC vede k aktivaci RAS-RAF-MEK-ERK, což stimuluje zvýšenou transkripci antiapoptotických molekul, zrychlený buněčný růst a proliferaci. Přírodní inhibitory PKC jsou např. bakteriální produkt staurosporin či produkt mořského měkkýše bryostatin. Kromě přirozených inhibitorů byly syntetizovány nízkomolekulární inhibitory PKC, které však mají výrazné vedlejší účinky, neboť inaktivují i jiné substráty. Patří sem např. **midostaurin** nebo **enzastaurin**.

7. Inhibice proteasomu

Proteasom je multiproteinový katalytický komplex zodpovědný za řízenou degradaci intracelulárních proteinů. Proteiny určené k degradaci jsou označeny polyubikvitinovým řetězcem a následně v proteasomu degradovány na oligopeptidy. Tento způsob degradace intracelulárních proteinů se označuje jako ubikvitin-proteasomový systém. Degradace proteinů v proteasomu umožňuje všem buňkám likvidaci starých, poškozených, nefunkčních či patologických proteinů a vystavení jejich peptidů v komplexu s HLA molekulami 1. třídy na buněčném povrchu. Kromě této likvidačně-přeznační úlohy patří ubikvitin-proteasomový systém mezi další fyziologické regulátory exprese celé řady proteinů. Proteasom reguluje úroveň exprese důležitých mediátorů buněčného růstu, proliferace, apoptózy či angiogeneze. Mezi substráty proteasomu patří například některé protiapoptotické proteiny. Zvýšená aktivita proteasomu tudíž může vést k inhibici apoptózy a zrychlenému průchodu buněčným cyklem. Mezi reverzibilní inhibitory proteasomu patří bortezomib, mezi ireverzibilní patří carfilzomib či další tzv. inhibitory proteasomu nové generace.

Inhibice sebeobnovy

1. Inhibice telomeráz

Telomery jsou koncové struktury chromozomů charakterizované opakující se sekvencí nukleotidů (TTAGGG)_n. Dostatečně dlouhé telomery vytvářejí na koncích chromozomů ochranné struktury se specifickou trojrozměrnou konformací – tzv. **zavřené telomery** – které brání tomu, aby byl konec DNA rozpoznán jako dvojitý zlom a docházelo tak aberantním chromozomálním fúzím. Průměrná délka telomer je 1000 bází a s každým dělením dochází k jejich zkracování o 30-100 kbp. Telomeráza je reverzní transkriptáza, která má schopnost prodlužovat telomery. Fyziologicky je telomeráza exprimována pouze v subpopulaci kmenových a zárodečných buněk, čímž se jejich počet udržuje konstantní. Buňky, které vstoupily do procesu diferenciaci a u buněk diferencovaných telomeráza exprimována není. U tumorů ve více než 90 % případů dochází k její **aberantní reexpresi**, čímž nádorové buňky získávají schopnost nekonečné obnovy, tedy nesmrtnost. Telomery a telomeráza představují potenciální cíle v experimentální terapii malignit. Existuje řada terapeutických přístupů zaměřených na telomery či telomerázy – nízkomolekulární inhibitory, antisense oligonukleotidy, RNA interference, genová terapie či imunoterapie. Je důležité si uvědomit, že vysoce specializované inhibitory telomerázy indukují smrt nádorových buněk se značným zpožděním, neboť u nádorových buněk musí nejprve dojít ke kritickému zkrácení telomerů – k tomu dojde až po několika buněčných děleních. Jinou strategií působící na aberantně aktivované telomerázy u nádorů je vnesení tzv. **sebevražedných genů** (GDEPT, gene-directed enzyme prodrug therapy) do nádorových buněk.

2. Inhibice signálních kaskád podílejících se na regulaci sebeobnovy

Deregulace signálních drah, které hrají roli v při udržování homeostázy kmenových buněk vede např. k jejich nekonečné sebeobnově a poruchám diferenciaci. Cílená inhibice těchto drah by mohla představovat nový účinný nástroj protinádorového boje. Patří sem např. inhibice signální dráhy NOTCH, která hraje důležitou roli v embryogenezi, regulaci kmenových buněk a jejich následné diferenciaci či blokáda TGFβ, BMP a SMAD – negativních regulátorů hematopoetických kmenových buněk.

Indukce apoptózy

1. Přímá indukce apoptózy

Agonisté death receptorů

Vazba tzv. smrtících ligandů na specifické receptory vede ke spuštění vnější (extrinrické) apoptotické dráhy. Mezi **smrtící ligandy** patří přirozené transmembránové cytokiny typu II z rodiny TNF, např. TNF α , FAS ligand a TNFSF10/TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing factor). TNF α patří mezi nejdéle známé cytokiny a má výraznou proapoptotickou aktivitu. Systémové podání však už v preklinických modelech vyvolávalo závažnou alteraci testovaných zvířat podobnou septickému šoku. V současné době se TNF α používá pouze v lokální terapii u pacientů se sarkomy měkkých tkání či končetinovými metastázami maligního melanomu. Vzhledem k tomu, že systémové nasazení FASLG znemožnila pro změnu jeho extrémní hepatotoxicita, v současnosti se z výše zmíněných smrtících ligandů používá pouze **TNFSF10/TRAIL**, a to u celé řady malignit. TRAIL selektivně zabíjí nádorové buňky, zatímco normální, zdravé buňky jsou vůči TRAILu rezistentní.

Indukce ROS a oxid arzenitý

Cílená indukce tvorby reaktivních kyslíkových radikálů v nádorových buňkách představuje možnou protinádorovou strategii. Mezi klinicky testované induktory patří elesklomol. **Oxid arzenitý** se používá k terapii promyelocytární leukémie. Ve vyšších koncentracích spouští apoptózu indukci oxidativního stresu.

2. Nepřímá indukce apoptózy

Inhibice antiapoptotických BCL2 proteinů

Proteiny rodiny BCL2 patří mezi základní **regulátory** programové buněčné smrti. Na základě znalosti struktury a funkční interakce BCL2 proteinů byla syntetizována řada nízkomolekulárních látek, které funkčně napodobují protiapoptotické BCL2 proteiny ze skupiny tzv. **BH3-mimetik**. Ty se váží na BH3 vazebné místo BCL2 antiapoptotických proteinů, což způsobí uvolnění efektorových proapoptotických proteinů **BAX** a **BAK** z vazby na BCL2 antiapoptotické proteiny. To vede k přímému apoptotickému účinku. Patří sem např. nespecifický **gossypol** či **obatoclox** nebo specifické ABT-737.

Inhibice proteinů tepelného šoku

Proteiny tepelného šoku (HSP) tvoří skupinu příbuzných proteinů, jejichž exprese je **indukována** různými **stresovými signály** z vnějšího prostředí. HSP působí v buňce jako tzv. **chaperony** – proteiny schopné vázat jiné, tzv. klientské proteiny a měnit jejich konformaci. Za fyziologických podmínek pomáhají chaperony skládat nově syntetizované proteiny a účastní se jejich transportu mezi organelami. Kromě toho mají HSP důležitou cytoprotektivní úlohu, neboť stabilizují stresem poškozené proteiny. Zvýšená exprese HSP nalezená u mnoha malignit má tudíž výrazný antiapoptotický efekt. Z farmakologických inhibitorů HSP jsou ve stadiu klinického testování **inhibitory HSP90**.

Indukce p53

p53 je důležitým proapoptotickým mediátorem genotoxického stresu a onkogenní signalizace. Mezi hlavní induktory genotoxického stresu patří většina konvenčních cytostatik. Hlavním negativním fyziologickým regulátorem exprese p53 je E3 ubikvitin ligáza MDM2, která stimulací ubikvitin proteasomální degradace p53 udržuje jeho expresi na nízké úrovni. Celá řada malignit (leukemie, sarkomy) vykazuje patologickou overexpresi MDM2 s následnou funkční supresí p53 signální dráhy, což má srovnatelný efekt jako genové aberace p53. Za terapeutickým účelem byly vyvinuty nízkomolekulární **inhibitory MDM2** zvané **nutliny** (např. Nutlin-3).