

Stanisław Szala

NOWY PARADYGMAT: ONKOGENY A CZYNNIKI WZROSTU

W artykule dyskutowana jest zdolność protoonkogenów do wytwarzania autonomii komórek rakowych w zależności od działania czynników wzrostu.

1. Na wstępie chciałbym wyjaśnić powody pewnych nadużyć terminologicznych swojej pracy (np. użycie w tytule pracy pojęcia "paradygmat", jako dość wieloznacznego i w odczuciu czytelników sugerującego zbyt wiele). Jeśli jednak przyjąć najprostsze wyjaśnienie terminu "paradygmat" jako "sposobu widzenia i artykułowania świata przez uczonych" (zob. m. in. T. S. Kuhn, Dwa bieguny, Warszawa 1985), to sformułowania, że: 1) "aparatus genetyczny komórek eukariotycznych zawiera szereg genów, których modyfikacje prowadzą do nowotworzenia" oraz, że: 2) "geny te biorą udział w regulacji wzrostu (prolifracji) komórek", są podstawowymi twierdzeniami umożliwiającymi "widzenie" w określony sposób etiologii (powstania) i rozwoju nowotworu.

Jest oczywiste, że w tym aparacie pojęciowym tkwią nadal takie pojęcia, jak "nie kontrolowany wzrost komórek nowotworowych" czy "ewolucja mechanizmów regulujących proliferację komórek nowotworowych". Ale jest również oczywiste, że "nie kontrolowany wzrost komórek nowotworowych" można interpretować jako "wymykanie się komórek nowotworowych spod precyzyjnej kontroli tkankowych i ogólnoustrojowych mechanizmów regulacyjnych", a "ewolucja mechanizmów regulujących proliferację komórek nowotworowych" jest wynikiem "powstania wariantów genetycznych umożliwiających komórkom nowotworowym uzyskiwanie coraz to większej autonomii wzrostu i tym samym adaptacji do zróżnicowanych warunków środowiska wewnętrznego".

Szczupłość miejsca nie pozwala na bardziej szczegółowe omówienie roli niektórych genów i ich modyfikacji w powstawaniu i rozwoju nowotworów. Chciałbym jednak zwrócić uwagę na dwa ważne, wspomniane już zagadnienia, a mianowicie na "nie kontrolowany wzrost komórek nowotworowych" i "ewolucję mechanizmów regulujących proliferację komórkową". Zamieszczony na końcu pracy spis literatury dotyczy głównie najbardziej liczących się prac przeglądowych.

2. Jedną z charakterystycznych cech komórek nowotworowych jest zdolność do nie kontrolowanego wzrostu. W procesie zwanym transformacją nowotworową komórki nabywają cech fenotypowych charakterystycznych dla komórek nowotworowych: zdolności wywoływania guzów (tzw. tumorigenności), nieograniczonej ilości cykli podziałowych (tzw. immortalizacji), wzrostu na półpłynnych podłożach z dodatkiem agaru, braku kontaktowego zahamowania wzrostu. W wyniku transformacji nowotworowej wrażliwość komórek na swoiste egzogenne czynniki wzrostowe stymulujące podziały komórkowe zostaje zmniejszona lub wręcz zniesiona, a nie kontrolowany wzrost komórek nowotworowych staje się efektem bądź tworzenia przez komórki własnych czynników wzrostowych (autokrynną regulacją podziałów komórkowych), bądź swego rodzaju "fałszywej" transmisji sygnałów mitogennych (transmisji sygnału mitogennego powstającego bez udziału czynników wzrostu). (Czynniki wzrostowe to polipeptydy, które wiążąc się ze swoistymi receptorami na powierzchni komórek stymulują ich podziały komórkowe; zob. [8, 9].

W komórkach transformowanych w miejsce pobudzonego przez swoisty czynnik wzrostu receptora pojawia się zmieniony receptor, który, mimo iż nie jest w stanie związać czynnika wzrostowego pobudza komórkę do podziałów komórkowych (gen kodujący taki zmieniony receptor nazwano umownie *erbB*). Zamiast białka biorącego udział w transmisji sygnału mitogennego od receptora ze związanym czynnikiem wzrostu do wnętrza cytoplazmy, swoistego mediatora sygnału mitogennego, pojawia się białko zmutowane, które samo staje się swego rodzaju wewnątrzkomórkowym sygnałem mitogennym (białka genów *ras*).

Permanente wchodzenie komórek nowotworowych w cykle podziałowe jest wreszcie efektem konstytutywnej aktywacji genów biorących udział w podziałach komórkowych, których transkrypcja była uprzednio kontrolowana przez czynniki wzrostu (geny, *myc*, *myb*, *fos*). Szereg wymienionych już genów (*erbB*, *ras*, *myc* itd.) nazywa się w literaturze genami *onc* (onkogenami komórkowymi lub pro-

toonkogenami), zob. [1-7, 10, 11, 14, 15, 17, 18, 20]. Geny te wyizolowane z komórek nowotworowych, w odpowiedni sposób "uaktywnione" (najczęściej zmienione mutacyjnie), posiadają zdolność transformacji nowotworowej odpowiednich prawidłowych linii komórkowych [6]. Określenie: "geny transformacyjne" ma wyłącznie sens operacyjny (definiowane jest operacyjnie) i odnosi się wyłącznie do "genów" pochodzących z preparatów DNA izolowanych z materiału nowotworowego. W komórkach prawidłowych geny te kodują białka stanowiące poszczególne elementy transmisji sygnałów mitogennych, a więc: niektóre czynniki wzrostu, ich receptory, szereg enzymów typu kinaz fosforylujących tyrozinę lub kinaz fosforylujących serynę i treoninę, białek wiążących GTP, czy też białek biorących bezpośredni udział w regulacji cyklu mitotycznego (zob. [3, 4, 8, 9, 18]). "Geny transformacyjne" pochodzące z materiału nowotworowego nazywa się często "protoonkogenami", natomiast geny transformacyjne izolowane z wirusów onkogennych (retrowirusów) - "onkogenami".

3. Zdolność do nie kontrolowanego wzrostu komórek nowotworowych, jak już wspomniano, jest niekiedy efektem wytwarzania przez komórki nowotworowe własnych czynników wzrostowych (zob. [8, 9, 13, 19]). Szereg nowotworów typu mięsaków, glejaków, raków płuca lub pęcherza wytwarza czynnik wzrostu typu płytkowego czynnika krwi (PDGF, ang. platelet derived growth factor) lub jego pochodne (czynnik wzrostowy PDGF jest kodowany przez protoonkogen *sis*).

W transformowanych liniach komórkowych, jak i w niektórych nowotworach, obserwuje się również pojawianie tzw. transformacyjnych czynników wzrostu (TGF, ang. transforming growth factors), których dodanie do hodowli komórek prawidłowych wywołuje fenotypowy efekt transformacji nowotworowej [13]. Czynnik wzrostu zwany TGF α jest czynnikiem wykazującym duże strukturalne podobieństwo do nabłonkowego (naskórkowego) czynnika wzrostu EGF (ang. epidermal growth factor) i jego pojawienie się w transformowanych komórkach jest uzależnione od "uaktywnienia" onkogenów *mos* i *Ki-ras*. Czynnik wzrostu TGF β , drugi typ transformacyjnych czynników wzrostu, w zależności od typu komórki jest albo mitogenem, albo inhibitorem wzrostu. TGF β indukuje w fibroblastach syntezę PDGF i stymuluje w ten sposób ich podziały komórkowe. Zahamowanie wzrostu komórek epidermalnych (nabłonkowych) pozbawionych receptora PDGF, ale wykazujących obecność receptora EGF i wytwarzających równocześnie TGF β , można interpretować jako negatywną regu-

lację autokrynną [19]. Szereg nowotworowych linii komórkowych wykazuje również cechy tzw. parakrynnnej regulacji wzrostu (czynnik wzrostu jest wytwarzany przez jeden typ komórek i przekazywany innemu). Ten typ regulacji występuje najczęściej wówczas, gdy wzrost transformowanych linii komórkowych, zwłaszcza pochodzenia epidermalnego, jest uzależniony od czynników wzrostu wydzielanych przez prawidłowe fibroblasty (zob. [8]).

4. Procesowi odróżnicowania funkcjonalnego komórek nowotworowych towarzyszy pogłębiająca się ich autonomizacja wzrostu. Ewolucja procesów kontrolujących proliferację komórek polega na przekształcaniu się autokrynnnych mechanizmów regulujących podziały komórkowe w systemy tworzące coraz bardziej "fałszywe" sygnały mitogenne. Zanikowi autokrynnnych mechanizmów regulacji podziałów komórkowych towarzyszy pojawianie się "zaaktywowanych" systemów genetycznych (genów onc) wymuszających permanentny stan podziałów komórkowych [8, 9]. Proces taki zaobserwowano podczas rozwoju złośliwego nowotworu węzłów chłonnych zwanego chłoniakiem Burkitta [12].

Chłoniak Burkitta rozwija się z limfocytów B. W jego powstaniu ważną rolę odgrywa wirus Epstein-Barr (wirus typu DNA), który jak się powszechnie uważa, jest odpowiedzialny za immortalizację limfocytów (w procesie zwanym immortalizacją komórki nabywają zdolności do nieograniczonej ilości cykli podziałowych, ale nie wykazują jeszcze właściwości tumorogennych, tzn. wywoływania na odpowiednich zwierzętach guzów nowotworowych). Immortalizowane przez wirusa Epstein-Barr limfocyty B w dalszym ciągu są wrażliwe na czynniki wzrostu charakterystyczne dla limfocytów B, ale aktywują swoistą pętlę autokrynną i zaczynają wytwarzać czynnik wzrostu BCGF (ang. B-cell growth factor). Zanim zainfekowane wirusem limfocyty B zostaną wyeliminowane z krwiobiegu drogą immunologiczną lub wejdą w końcowe stadium różnicowania komórkowego, przejdą cały szereg podziałów komórkowych, podczas których dochodzi prawdopodobnie do powstania wielu aberacji chromosomalnych. Niektóre z nich, zwłaszcza te, które prowadzą do translokacji jednego z kluczowych genów biorących udział w regulacji proliferacji genu myc w sąsiedztwo aktywnych transkrypcyjnie genów immunoglobulinowych powoduje, że gen myc staje się genem konstytutywnie aktywnym, genem "wymuszającym" na komórkach stan stałej kompetencji do syntezy DNA i podziałów komórkowych.

Komórki z "uaktywnionym" genem myc wykazują zmniejszoną wrażliwość na szereg sygnałów zewnętrznych, w tym również na sygna-

ły różnicowania i nabywają właściwości tumorogennych. Wprawdzie komórki wydają się nadal być wrażliwe na czynnik wzrostu typu BCGF, niemniej nie jest on już więcej potrzebny do ich wzrostu. W dalszych etapach rozwoju chłoniaka Burkitta dochodzi do "aktywacji" genu *ras* i *Blym*, których aktywność, zwłaszcza genu *ras*, wydaje się być komplementarną i (lub) synergistyczną do "zaaktywowanego" uprzednio genu *myc*. Zmutowane białko *ras* (tzw. białko p21) imituje sygnał mitogenny i pobudza komórkę do podziałów mitogennych.

"Aktywacja" kluczowych genów transformacyjnych typu *myc*, *myb*, *Ki-ras* czy *abl* przebiega również drogą amplifikacji genów [1, 4, 10, 12, 17]. W szeregu nowotworach pochodzenia nabłonkowego (np. raku sutka, odbytnicy czy płuc) obserwuje się zwielokrotnienie liczby kopii genów *myc* i przypuszcza się, że proces ten prowadzi, w końcowym efekcie, do zwiększonej ilości regulatorowego białka *myc*. Zjawisko amplifikacji onkogenów jest zjawiskiem charakterystycznym dla późniejszych stadiów rozwojowych nowotworów zwanych progresją nowotworów.

Stopniową "aktywację" różnego typu onkogenów, podobną jak w guzie Burkitta, obserwuje się również w innych typach nowotworów (np. w różnych typach białaczek, szpiczakach, raku drobnokomórkowym płuc) [12].

5. Powstanie i ewolucja populacji komórek nowotworowych przebiega drogą selekcjonowania różnych wariantów subpopulacyjnych i klonalnym rozprzestrzenianiu się wariantu o najlepiej wykształconej autonomii wzrostu. Warianty subpopulacyjne powstają w dowolnym czasie rozwoju guza i wykazują na ogół lepszą zdolność do autonomicznego wzrostu niż warianty poprzedzające. Najczęściej jednak populacja komórek nowotworowych składa się z subpopulacji mieszanych o różnych właściwościach wzrostowych [12].

Zjawisko progresji nowotworu jest niekiedy związane z przejściem z fazy wzrostu *in situ* w stan wzrostu inwazyjnego (naciekanie i niszczenie sąsiednich struktur komórkowych obserwowane np. w rozwoju raka szyjki macicy [12] o udziale tzw. genów modulatorowych w inwazyjnym wzroście nowotworów). Wydaje się, że przejście z fazy stacjonarnej przewlekłej białaczki szpikowej w fazę ostrej białaczki jest uwarunkowane pojawieniem się nowych aberracji chromosomalnych [12, 21]. Przewlekła białaczka szpikowa charakteryzuje się tzw. chromosomem Philadelphia (Ph^1) powstałym w wyniku translokacji części chromosomu 22 do chromosomu 9 i fuzyjnym genem *abl* kodującym, zmienioną pod względem aktywności enzy-

matycznej, tyrozynową kinazę. Nowe liczne aberacje chromosomalne dotyczą trisomii chromosomu 8 zawierającego m. in. gen *myc*, trisomii chromosomu 19, dodatkowego chromosomu Ph¹ lub tzw. izochromosomu 17q. Prawdopodobnie, dodatkowe aberacje chromosomalne wytwarzają szereg wariantów umożliwiających adaptację komórek nowotworowych do zróżnicowanych warunków środowiska wewnętrznego.

6. Tych kilka uwag dotyczących wzrostu komórek, roli czynników wzrostowych, nie kontrolowanego i autonomicznego wzrostu komórek nowotworowych, ewolucji systemów regulujących proliferację komórek nowotworowych nie pretenduje do wyczerpującego i monograficznego omówienia. Bardziej szczegółowe omówienie tych zagadnień można znaleźć w monograficznych opracowaniach zamieszczonych w spisie literatury. Szkic ten jest tylko skromną próbą zasygnalizowania nowej i niezwykle obiecującej interpretacji dotyczącej powstania i rozwoju nowotworów.

LITERATURA

- [1] Ascione R., Sacchi N., Watson D. K., Fisher R. J., Fujiwara S., Seth A., Papas T. S. (1986), *Gene Anal. Techn.*, 3, 25-39.
- [2] Bishop J. M. (1983), *Ann. Rev. Biochem.*, 52, 301-354.
- [3] Bishop J. M. (1985), *Trends Genet.*, 1, 245-249.
- [4] Boehm T. L. J. (1985), *Progress in Clin. Biochem.*, 2, 1-48.
- [5] Choraży M. (1985), *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 109, 159-172.
- [6] Cooper G. M., Lane M.-A. (1984), *Biochim. Biophys. Acta.*, 738, 9-20.
- [7] Duesberg P. H. (1985), *Science*, 228, 669-677.
- [8] Goustin A. S., Leof E. B., Shipley G. D., Moses H. L. (1986), *Cancer Res.*, 46, 1015-1029.
- [9] Heldin C-H., Westermark B., (1984), *Cell*, 37, 9-20.
- [10] Holliday R., Jeggo P. A. (1985), *Cancer Surveys*, 4, 557-581.
- [11] Hunter T. (1985), *Trends Biochem. Sci.*, 10, 275-280.
- [12] Klein G., Klein E. (1985), *Nature*, 315, 190-195.
- [13] Lawrence D. A. (1985), *Biol. Cell*, 53, 93-98.
- [14] Muller R., Verma I. M. (1984), *Curent Topics in Microbiol. and Immunol.*, 112, 73-115.

- [15] Müller R. (1986), Trends Biochem. Sci., 11, 129-132.
- [16] Pimentel E. (1985), Cancer Genet. Cytogenet., 14, 347-368.
- [17] Ratner L., Josephs S. F., Wong-Staal F. (1985), Ann. Rev. Microbiol., 39, 419-449.
- [18] Sefton B. M. (1985), Trends Genet., 1, 306-308.
- [19] Sporn M. B., Roberts A. B. (1985), Nature, 313, 745-747.
- [20] Varmus H. E. (1984), Ann. Rev. Genet., 18, 553-612.
- [21] Yunis J. J., Soreng A. L. (1984), Science, 226, 1199-1204.

Zakład Biologii Nowotworów
Instytut Onkologii
Śląska Akademia Medyczna
w Gliwicach

Stanisław Szala

NEW PARADIGM: ONCOGENES AND GROWTH FACTORS

In this short review the ability of protooncogenes to make cancer cells autonomous in respect to growth factors requirements has been discussed.