

Онкогени та канцер

а). Багатоетапність канцерогенезу

1). Етапи еволюції пухлини

2). Ростові характеристики клітини в культурі

б). Гени, що відповідають за туморогенез

1). Прото-онкогени та гени трансформуючих вірусів

функції прото-онкогенів

активація онкогена

2). Гени – супресори пухлинного росту

retinoblastoma

p53

Взаємодія онкобілків ДНК-вірусів та клітинних білків

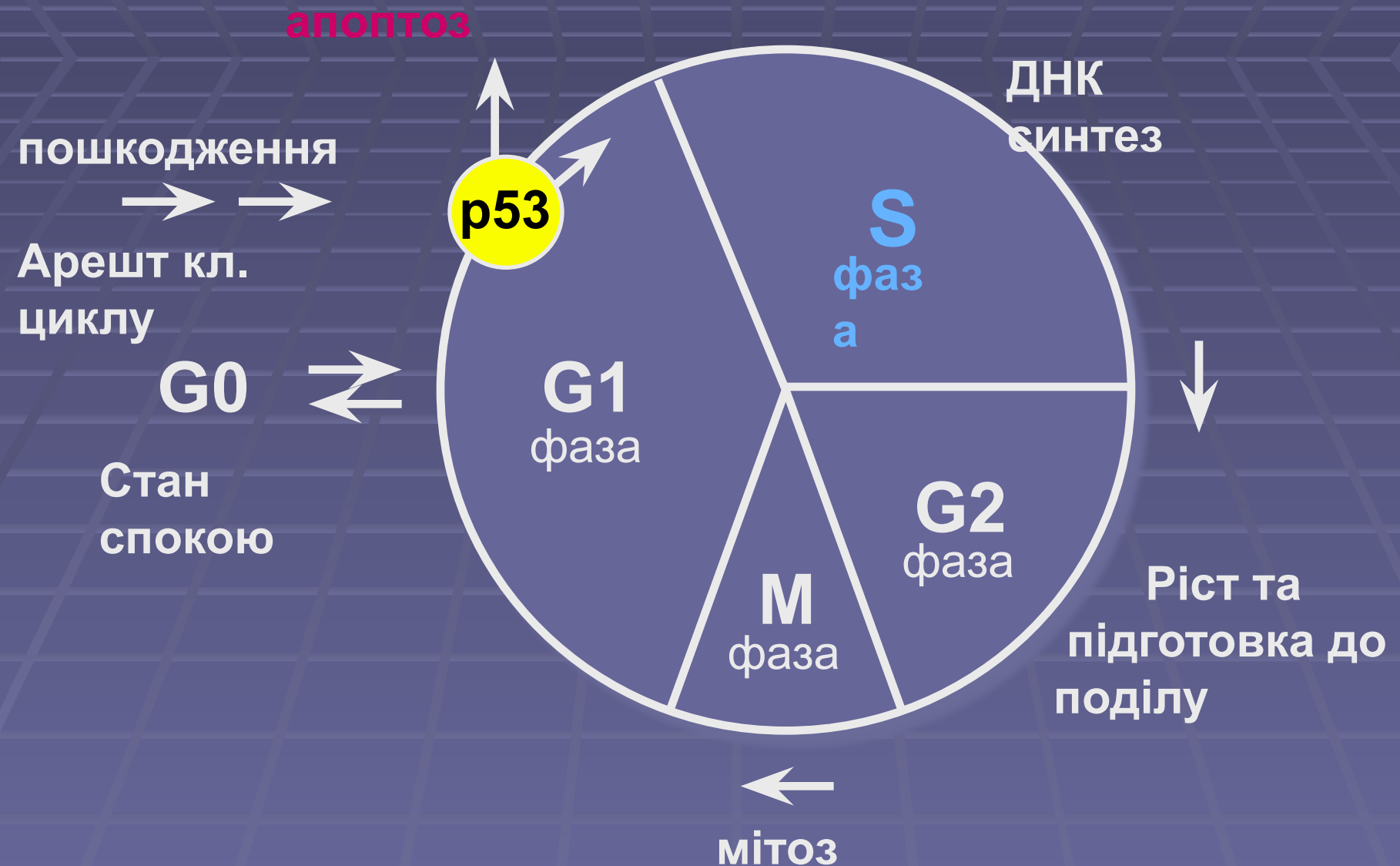
вірус	онкобілок	Кл.білок
SV40	Large T ag Small T ag	p53,pRb PP2A
HPV	E6 E7	p53 pRb
Adenovirus	E1A E1B-55K	pRb P53
EBV	LMP1	TRAFs

гени-супресори

наслідки при порушенні гені

<u>гени</u>	<u>функція</u>	<u>спадкові</u>	<u>спорадичні</u>
DCC (18q)	взаємодія з кл поверхнею	невідомі	рак прямої кишки
WT1 (11p)	транскрипція	Пухлина Вільямса	Рак легенів
Rb1 (13q)	транскрипція	ретинобластома	др-кл карцинома легенів
p53 (17p)	транскрипція	Li-Fraumeni синдром	рак мол.залози, прямої кишки,легень

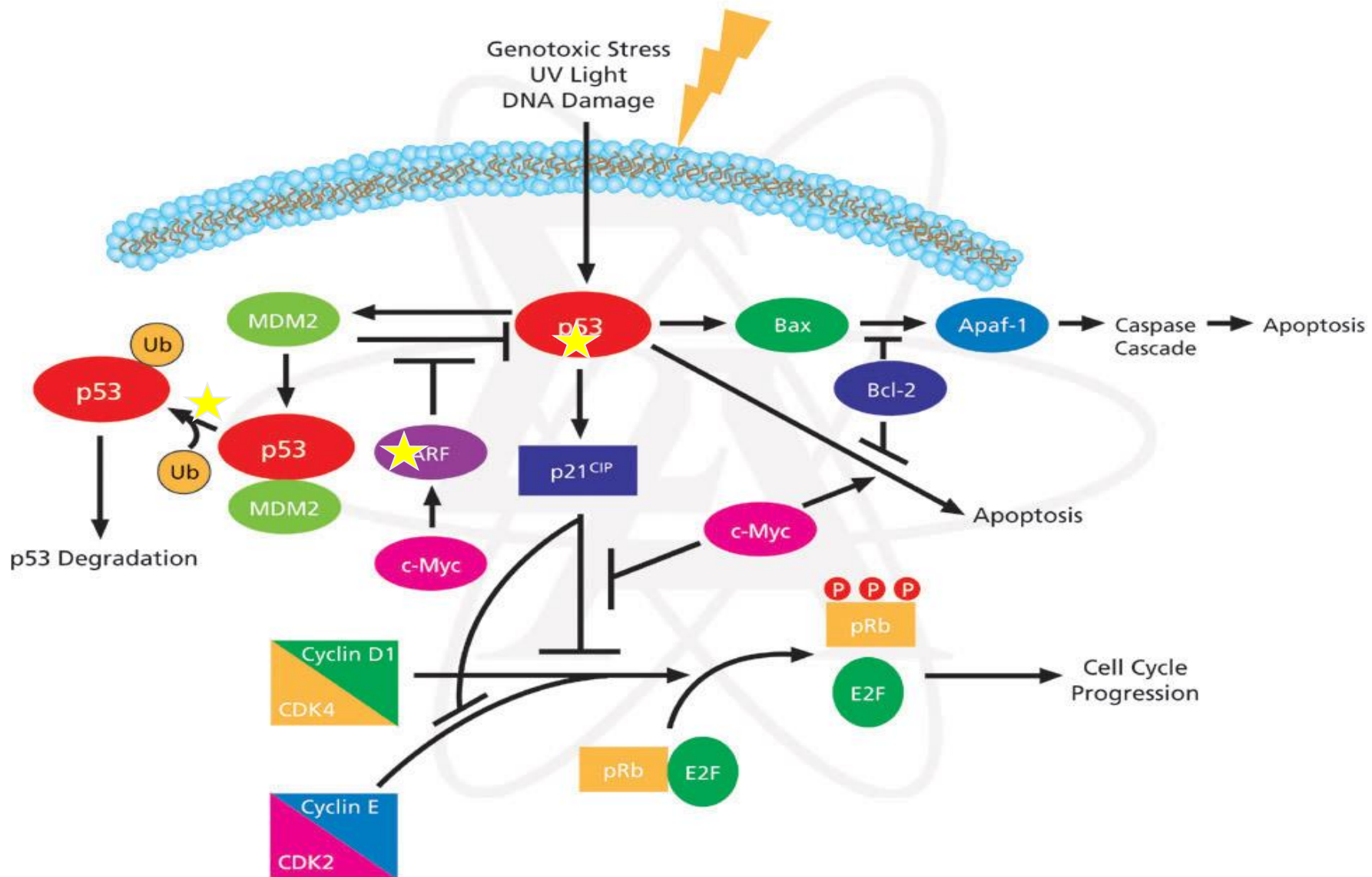
Роль p53 в клітинному циклі



p53 “охоронець геному”

- в зародкових клітинах мутації p53 призводять до синдрому Li-Fraumeni
- p53 мутації часто утворюються в пухлинах людей
- Функція білку p53 – транскрипційний фактор, що регулює клітинний цикл та репарацію ДНК
- порушення цілісності ДНК викликає арешт клітинного циклу G1, що залежить від p53;
- Клітини з мутантою формою p53 не можуть “зупинитись” та переходять в S фазу та реплікують пошкоджену ДНК

The p53 Signaling Pathway





Ionising radiation effects DNA damage and induces p53 expression

I to V Evolutionarily conserved regions
Transactivation
Oligomerisation
Binding sites on transcribed protein of gene
Mutation hotspot zones



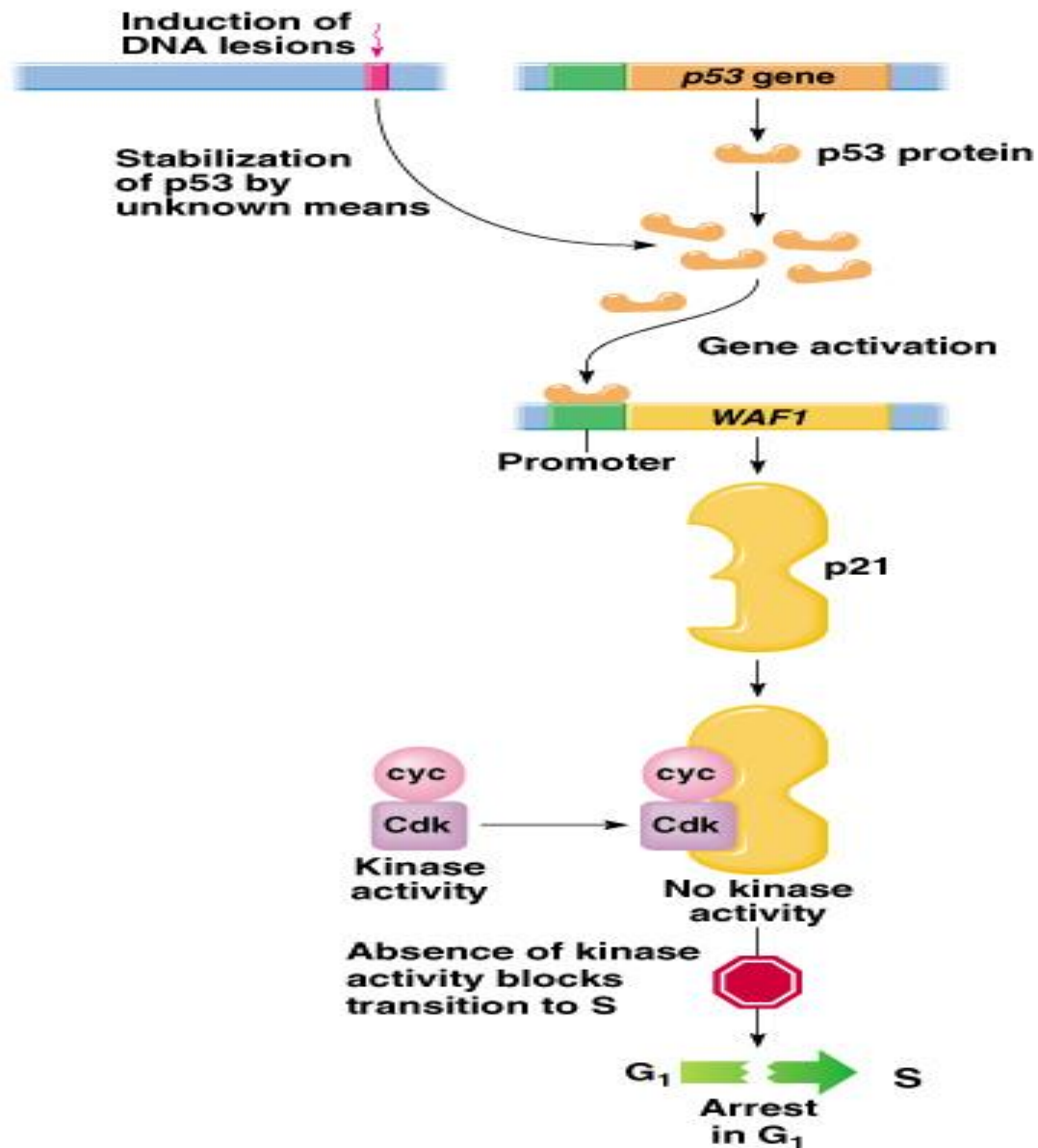
Normal cells arrest in G1 or G2 phase to effect DNA repair mechanisms



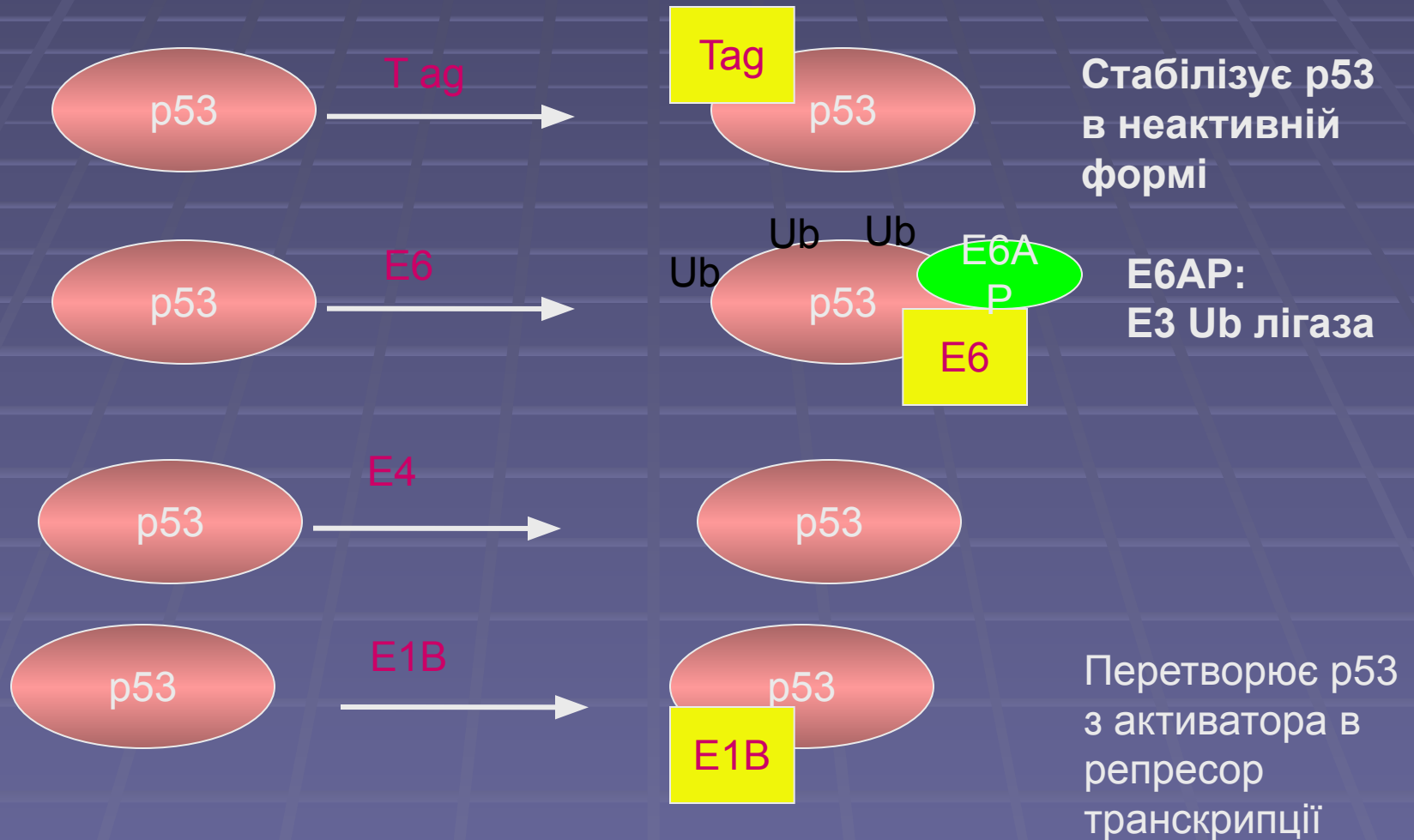
Cancer cells do not arrest in G1 or G2 phase and replication of damaged DNA results in an accumulation of mutations

<http://www.novocastria.co.uk/oapdgs.htm>

Ефект пошкодження ДНК та арешт клітинного росту p53 .



Механізми інактивації p53



Клітинний цикл залежить від фосфорилювання Rb

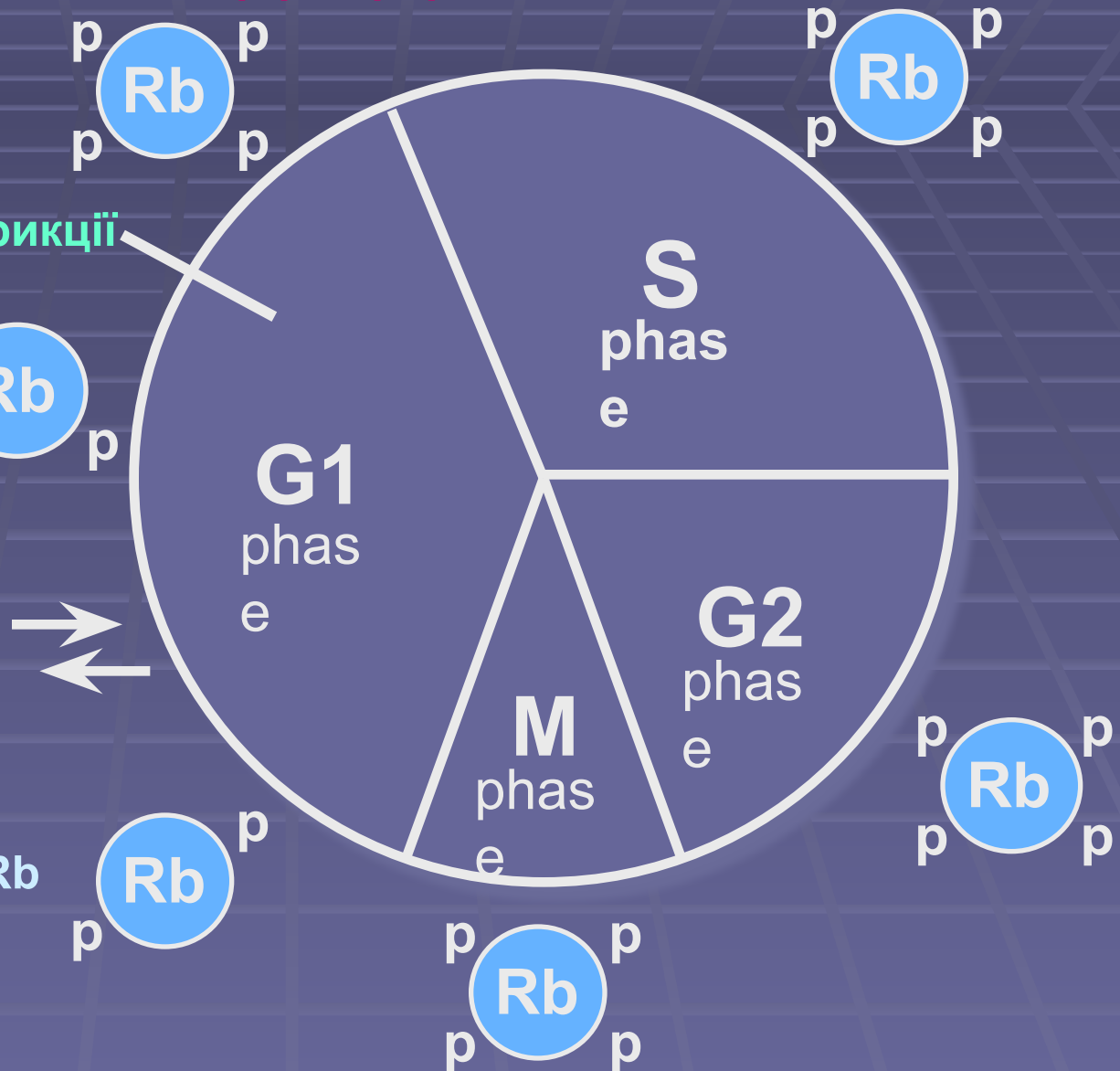
фосфорилювання Rb
дозволяє клітинам
пройти точку
рестрикції та увійти
у S фазу

Точка рестрикції

гіперфосфорилюваний Rb

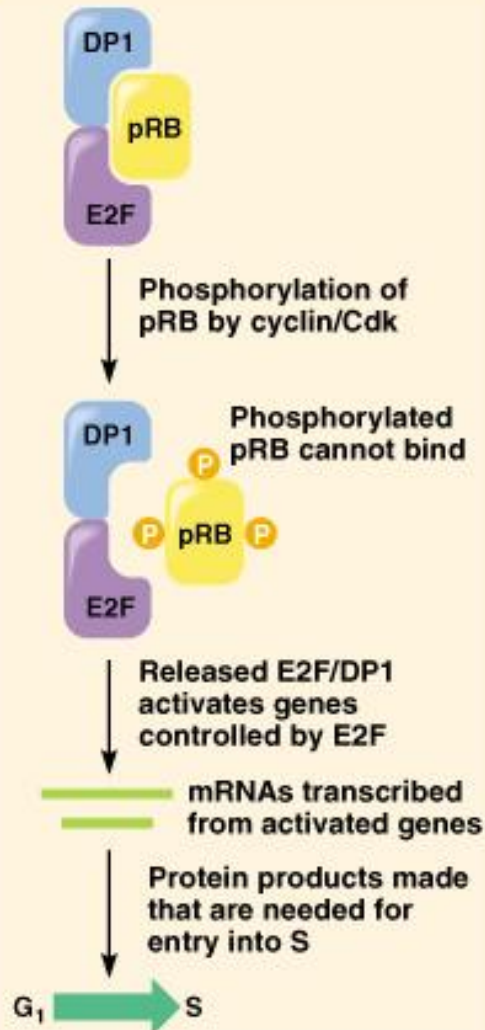
G0
спокій

гіпофосфорилюваний Rb

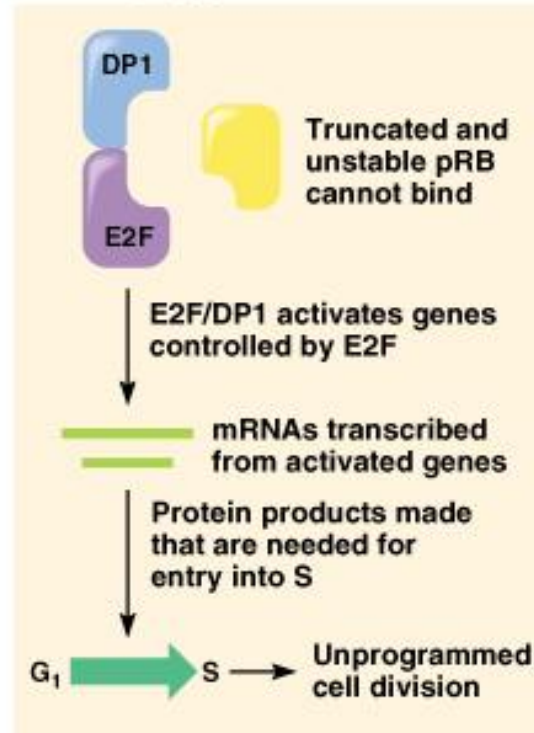


роль pRB в регуляції клітинного поділу.

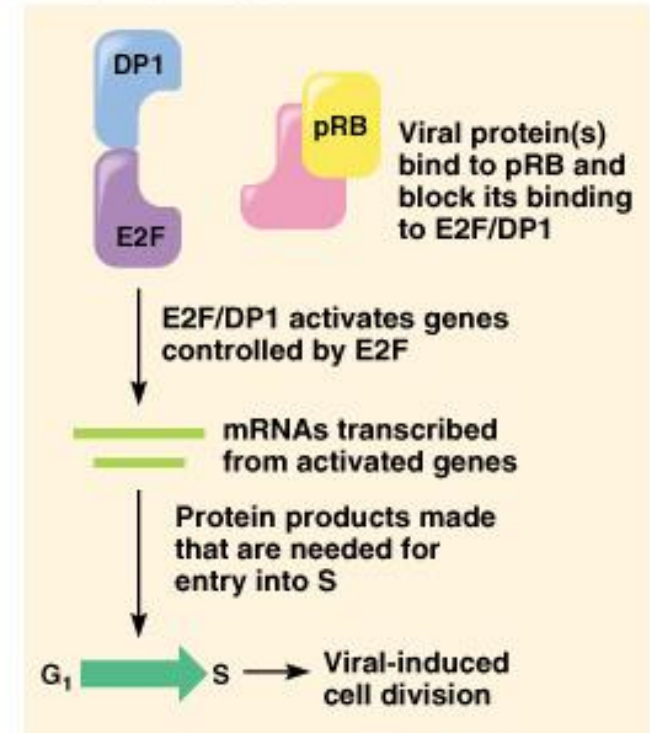
a) Normal cell



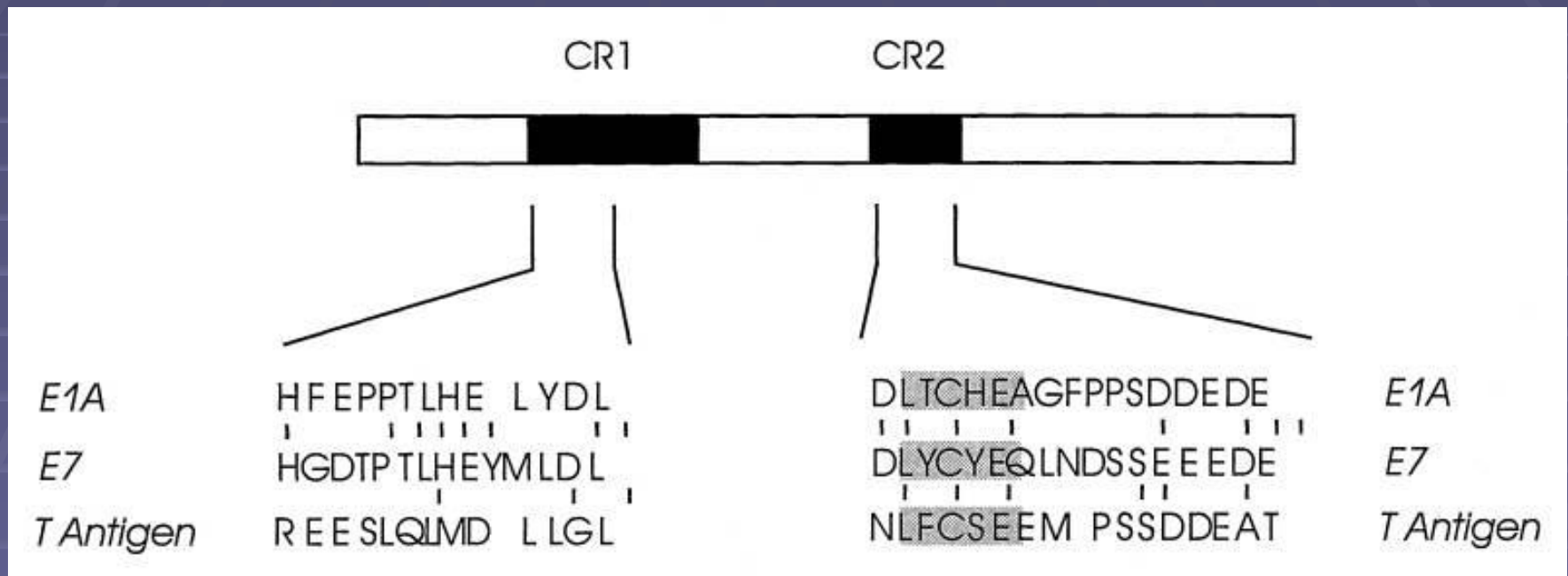
b) Cell with two mutant RB alleles



c) Cell infected with certain DNA tumor viruses

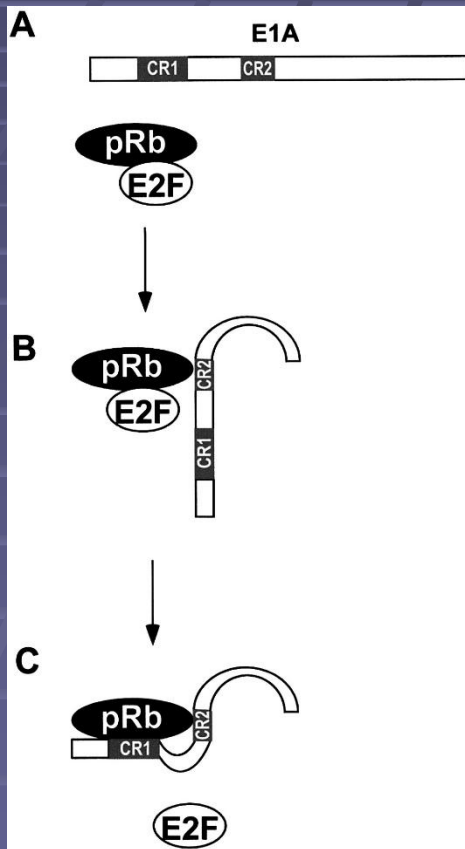


Гомологічні вірусні послідовності залучені у взаємодії з родиною білків Rb

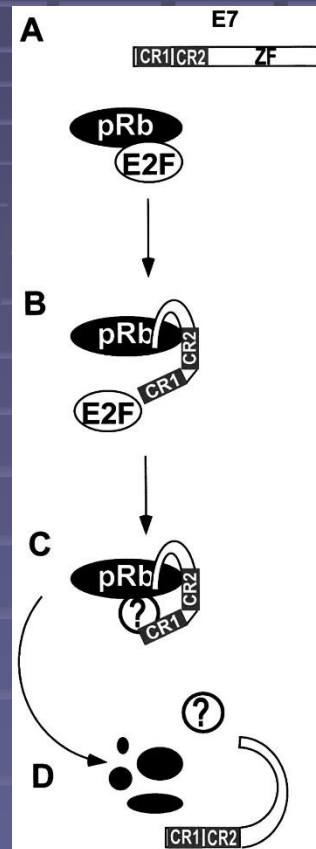


Онкобілки взаємодіють з Rb

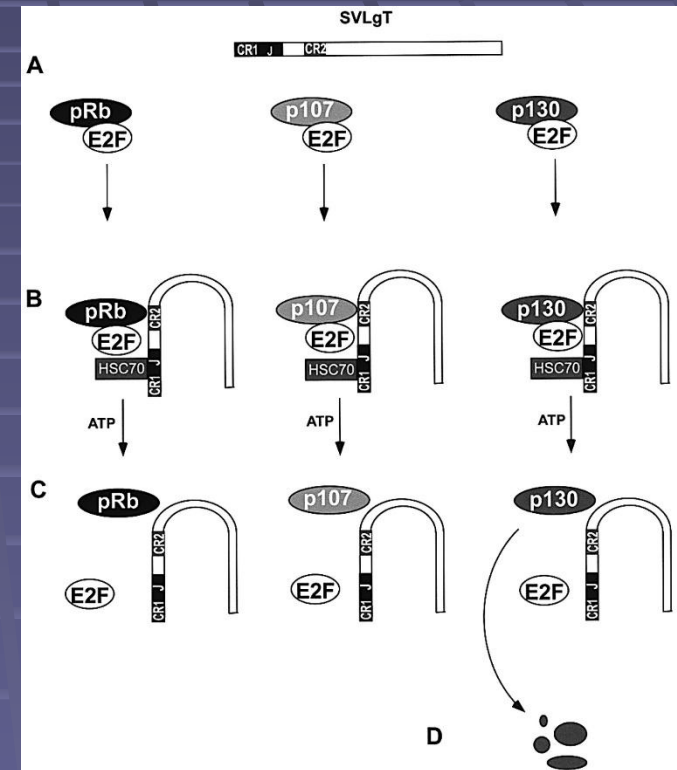
Ad E1A



HPV E7

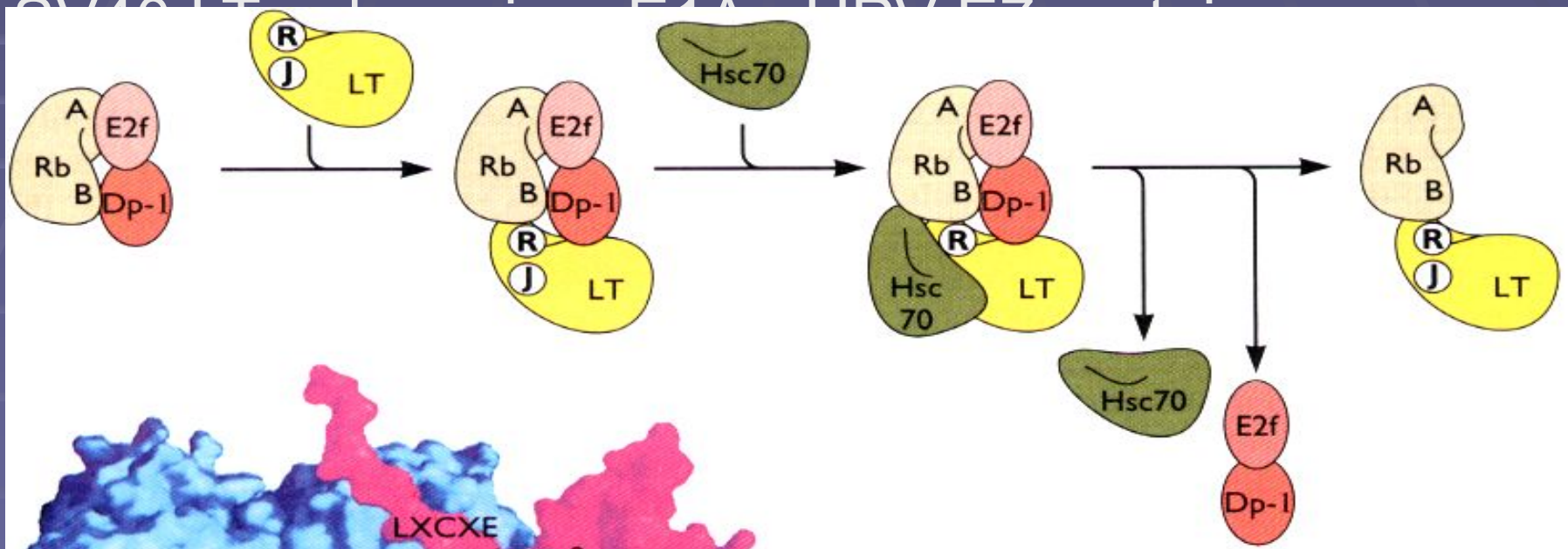


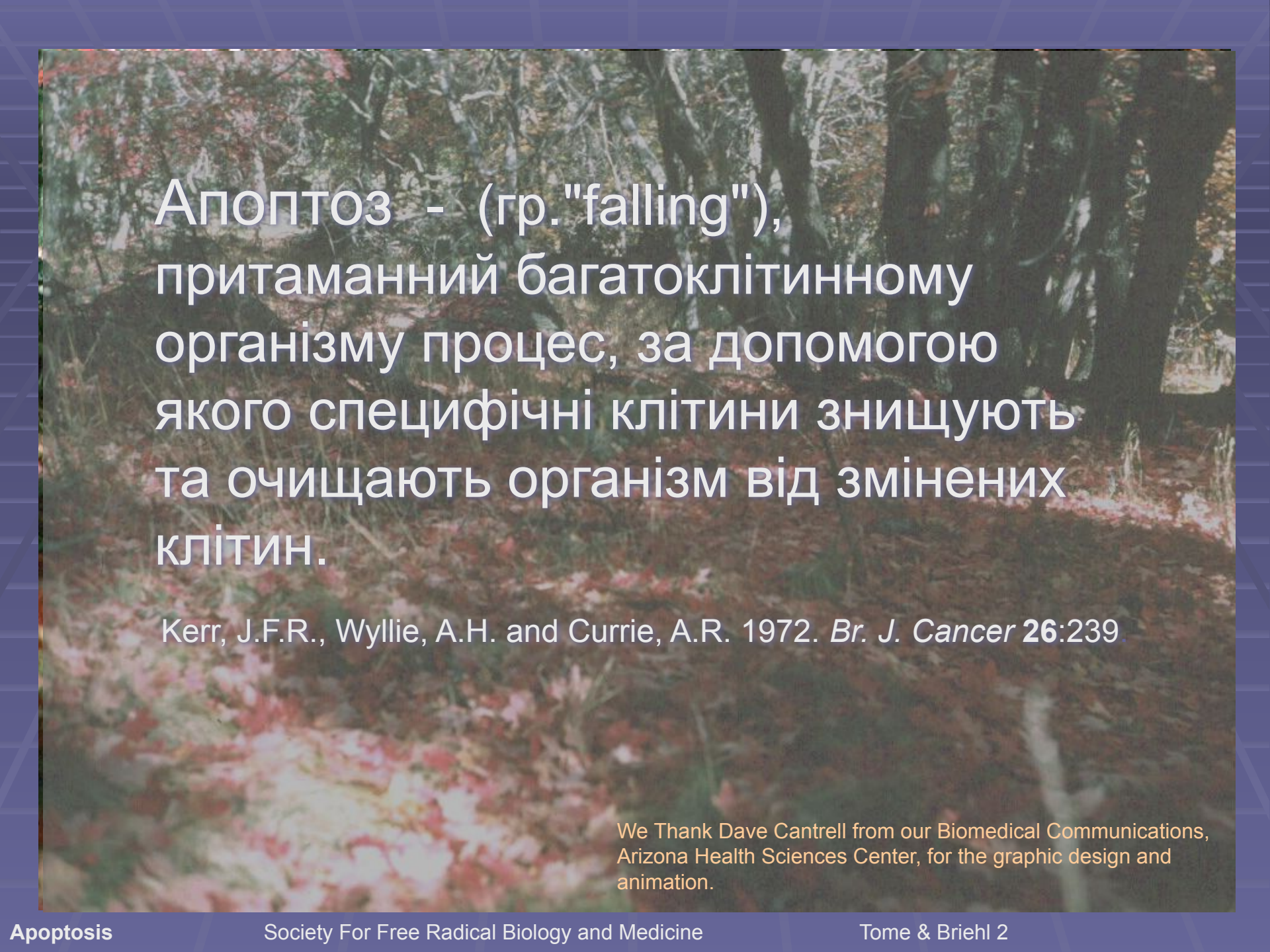
SVL Tag



Transformation via cell cycle control pathways

- Inhibition of Rb function by viral proteins Many viruses actively inhibit Rb function
- Result: bypass of restriction point control
- Passage from G1 → S phase





Апоптоз - (гр."falling"),
притаманний багатоклітинному
організму процес, за допомогою
якого специфічні клітини знищують
та очищають організм від змінених
клітин.

Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H. and Currie, A.R. 1972. *Br. J. Cancer* **26**:239.

We Thank Dave Cantrell from our Biomedical Communications,
Arizona Health Sciences Center, for the graphic design and
animation.

Біологічна суть апоптозу

- підтримка тканинного гомеостазу шляхом знищення надлишкових\ функціонально аномальних клітин, а його інгібування – один з найважливіших механізмів онкогенезу.
- Апоптоз інфікованих клітин індукується в результаті безпосередньої дії вірусних компонентів або внаслідок розпізнаванням їх клітинами імунної системи.

Некроз

Тільки патологічний

Нерегульований або
слабко регульований

Плазматична мембрана
руйнується в початковій стадії

Лейкоцитарна інфільтрація
завжди присутня

Набряк цитоплазми
та мітохондрій

Руйнування та дезинтеграція
клітин

Апоптоз

Фізіологічний або патологічний

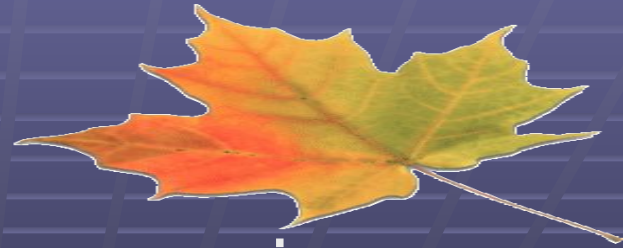
Регульований

Плазматична мембрана
інтактна до пізньої стадії

інфільтрація поліморфно-ядерними
лейкоцитами відсутня або
мінімальна

Каріопікноз, каріорексис,
фрагментація ДНК

Утворення апоптичних тілець
з наступним їх фагоцитозом
або вторинним некрозом

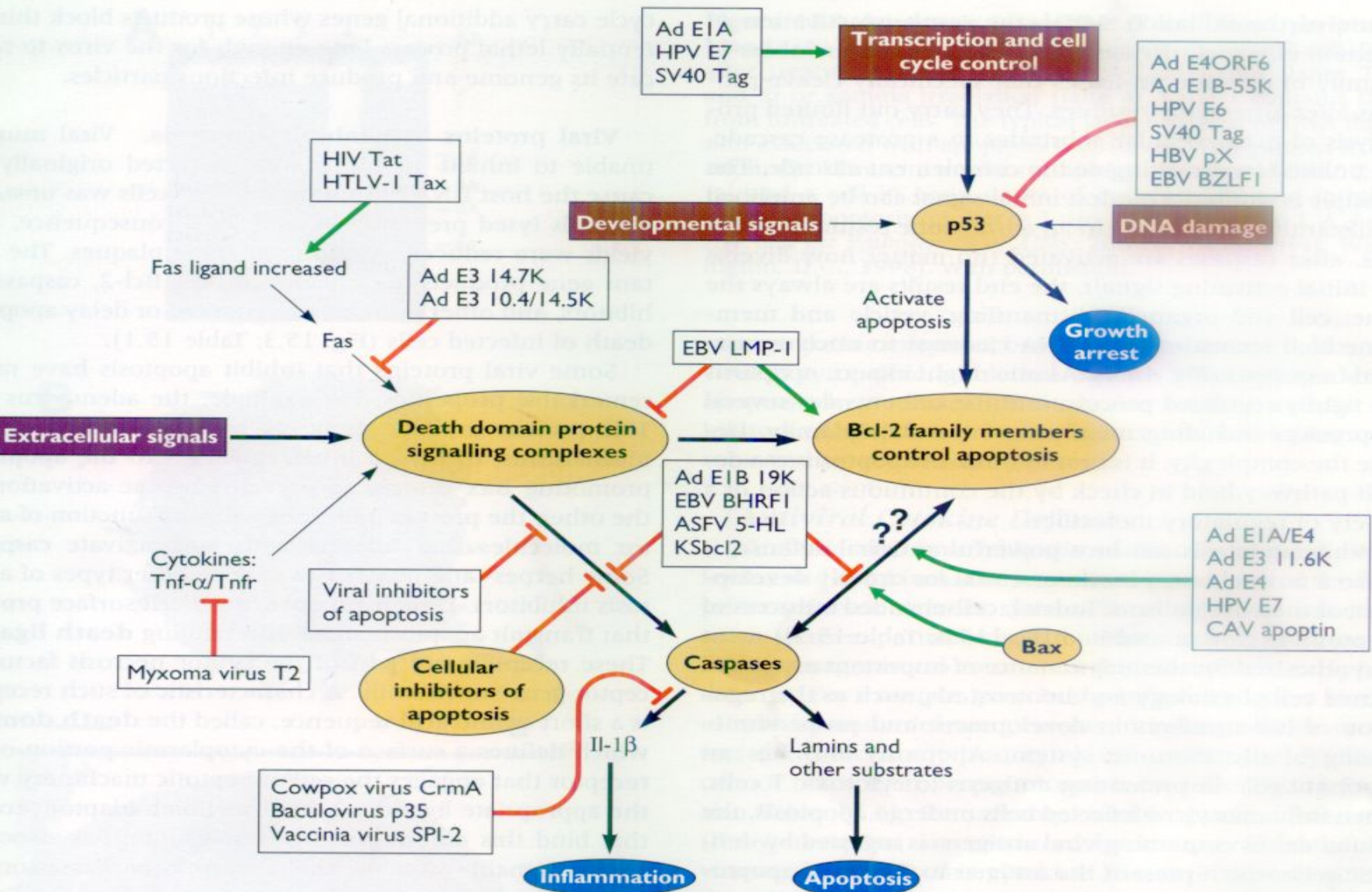


Процес апоптозу умовно розділяють на:

- сигнальну фазу, під час якої клітина отримує сигнал, що ініціює апоптоз;
- ефекторну фазу, коли активуються ефекторні внутрішньоклітинні механізми загибелі,
- фазу деградації, при якій проходить деградація ДНК та інші зміни

Шляхи апоптозу: ефектори та модулятори

- Існує два основних шляху апоптозу в клітинах ссавців
 - “Зовнішній” через «домен смерті» (DD- death domain)
 - “Внутрішній” - мітохондріальний шлях



Рецептори клітинної загибелі

Fas-рецептор (Fas-R), TNF-R1, TNF-R2, "рецептор смерті-3" (DR-3 та 4)

Найкраще вивчені Fas-R та TNF-R1.

Fas-R (APO-1/CD95) експресується на всіх ядерних клітинах
Існує 2 форми: зв'язаний з мембраною та в розчинній формі.

Розчинна форма Fas-R - для зв'язування Fas-ліганда (Fas-L) не тільки на CD8+-цитотоксичних лімфоцитах та NK-клітинах, але й CD4+-Т-лімфоцитах-хелперах 1-го типу, які проявляють цитотоксичні властивості

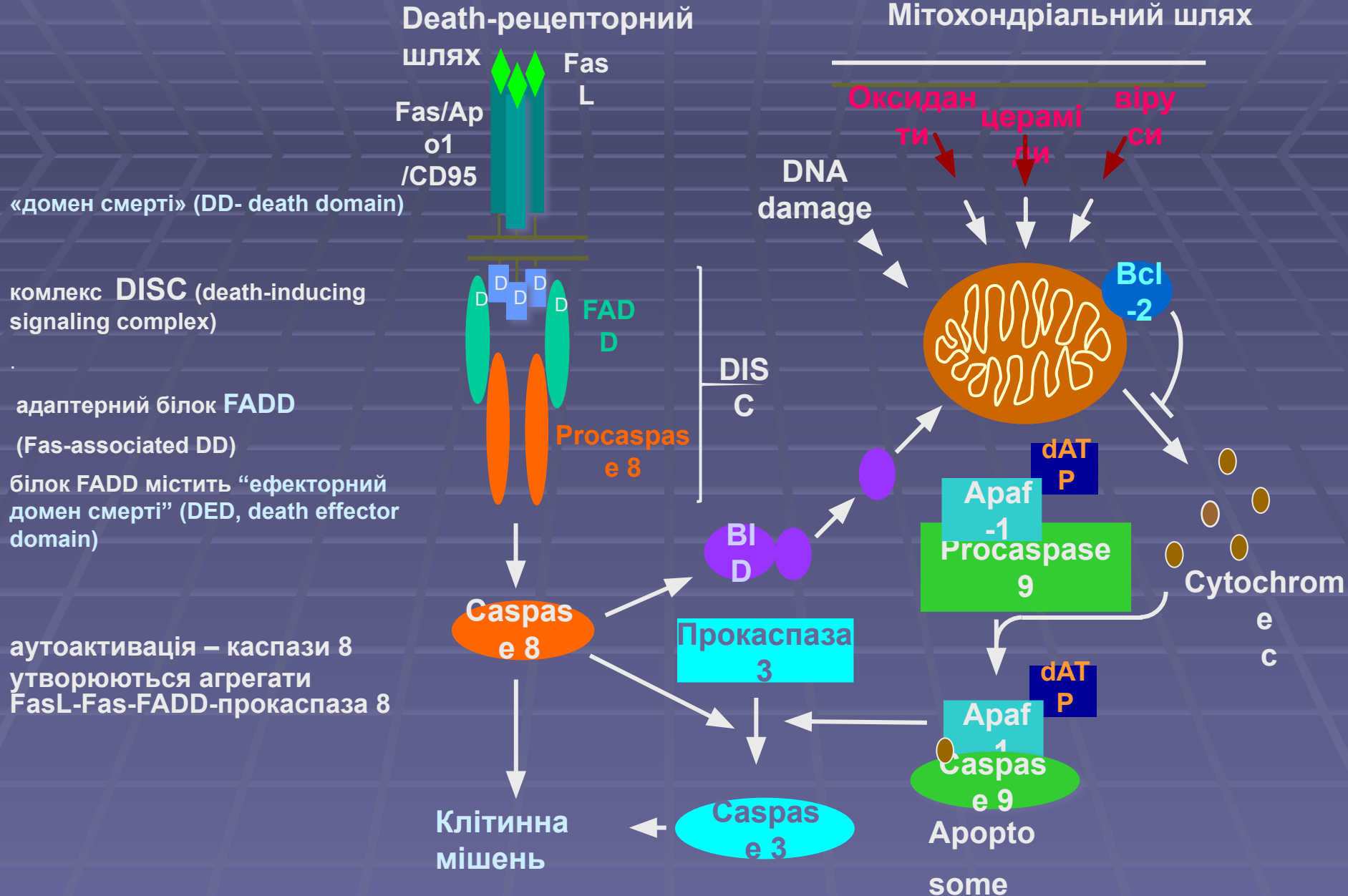
Шляхи апоптозу: ефектори та модулятори

- Експресію Fas-R на мембрані клітин індукують прозапальні цитокіни ІЛ-1, -2, -6, ИФН-γ, фактори некрозу пухлин (TNF-α)
- Запалення будь-якої природи сприяє Fas-R-залежному пошкодженню органу (печінка).
- Крім того, цитокіни стимулюють збільшення кількості молекул Fas-L на Т- та NK-лімфоцитах.

- Розвиток апоптозу може бути заблоковано активацією ряду факторів I-FLICE (ендогенна домінантно-негативна форма каспази 8), bcl-2 та X-зв'язані інгібітори апоптозу

- Апоптоз, індукований через TNF- α + TNF-R1, подібний Fas-R - Fas-L, та потребує олігомеризації рецептору та здійснюється через шлях FADD - каспаза 8, а також подібний з ним білок TRADD.
- Гіперекспресія TRADD призводить до запуску апоптозу та активації ядерного фактору κ B (NFKB), який запобігає TNF-індукованій загибелі клітин

Головний шлях апоптозу в клітинах ссавців



“Внутрішній” - мітохондріальний шлях

Bcl-2 прото-онкоген вперше був описаний при В-клітинній лімфомі

Bcl 2 родина білків (17 представників) – модулятори апоптозу:

Bcl-xL, Mcl-1, Bcl-2 - інгібітори апоптозу

Bcl-xS, Bax, Bad, Bid - промотори апоптозу

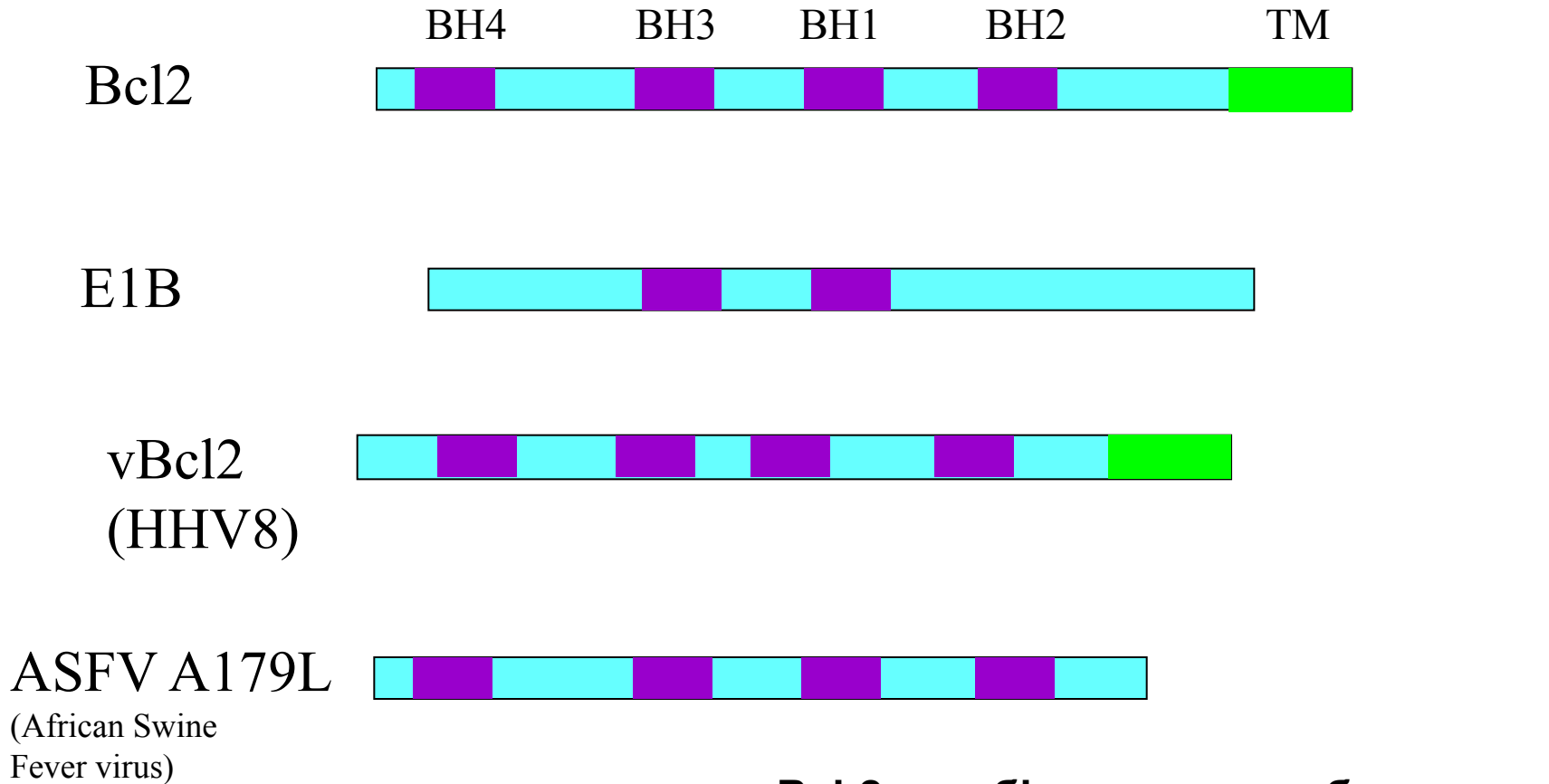
Регуляторна дія білків цієї родини здійснюється різними механізмами

- **утворення гомо- та гетеро-димерів** за допомогою наявності спільних доменів **BH1 та BH2 з Bax** і пригнічують апоптоз, а домени **BH3** задіяні в комплексуванні з білками **Bcl-2 та Bcl-xL**, що сприяють розвитку апоптозу.
- білки цієї родини мають трансмембранний домен, який дозволяє їм локалізуватись на внутрішньоклітинних мембранах

Це сприяє зміні проницкності мембран та виходу цитохрому С та інших проапоптичних медіаторів з мітохондрій.



Bcl2 та vBcl2 мають подібність



Bcl-2 запобігає апоптозу, блокуючи вивільнення цитохрому С з мітохондрій

Bcl-2

-Запуск апоптозу
Через блок Bax

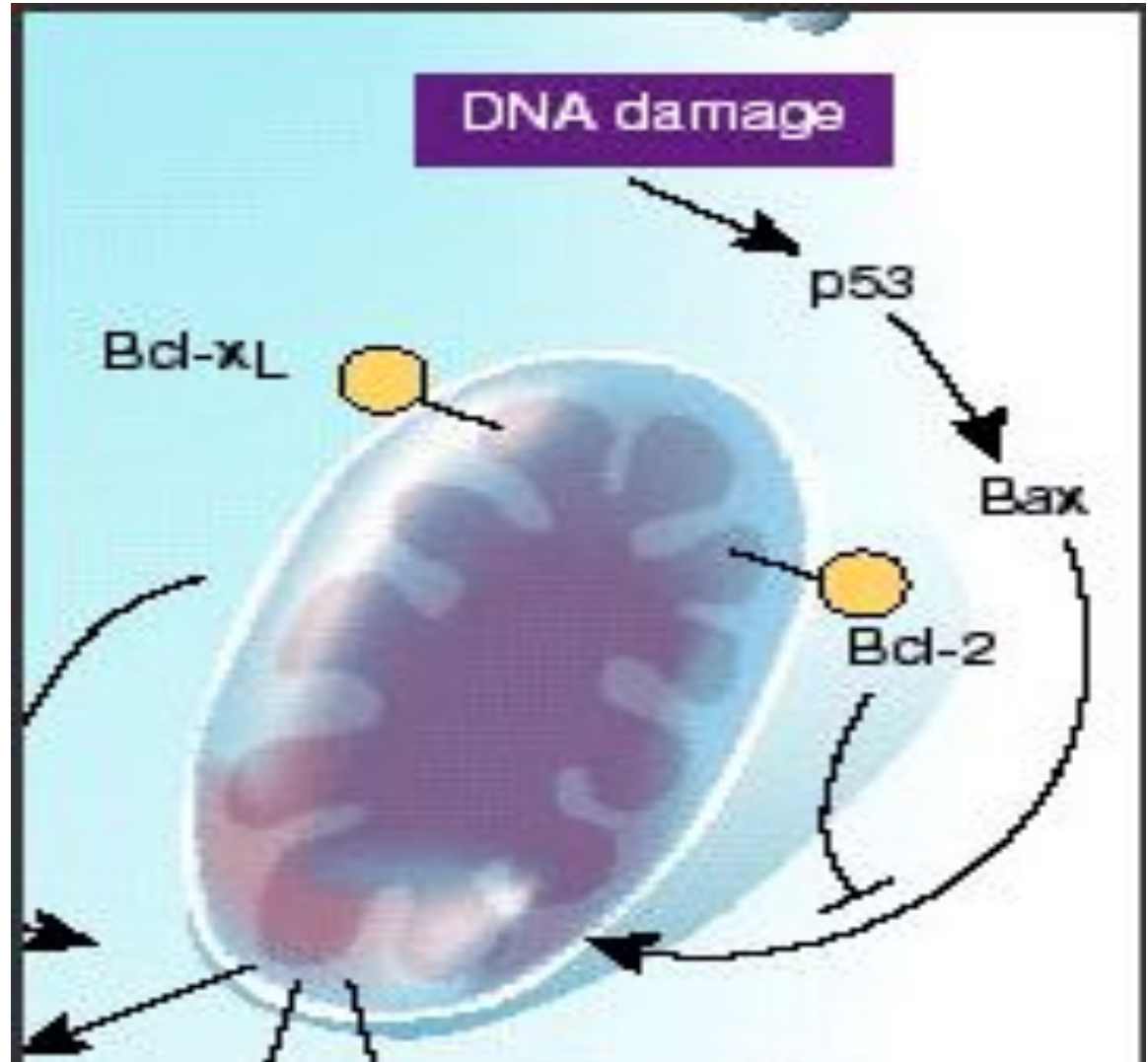
Вірусні мімікрини

Adenovirus

EBV

Herpesvirus

CMV



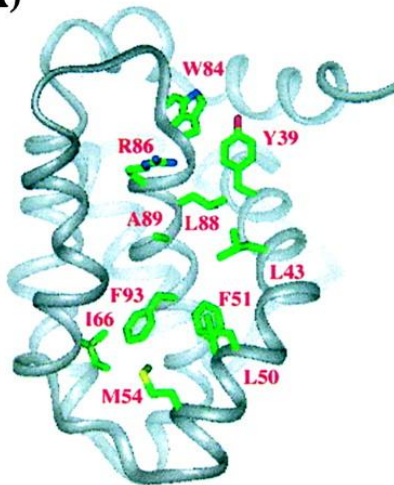
Подібність із BcL-2

HHV-8

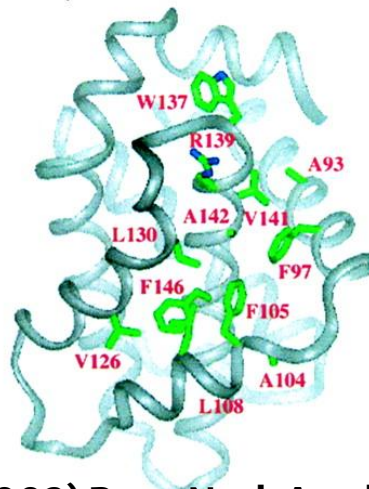
BcL-X

Bcl-2

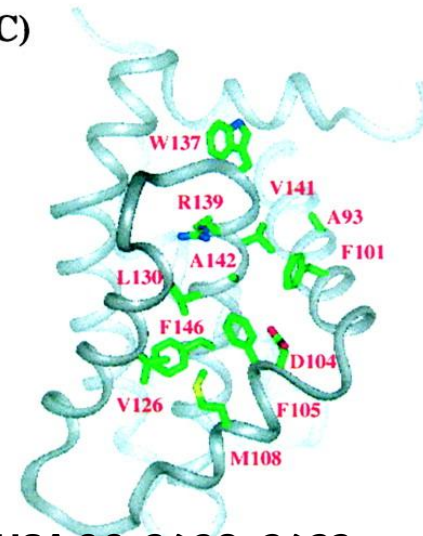
A)



B)



C)



Huang, Qiulong et al. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 3428–3433

- В результаті активації апоптичного сигналу, проапоптичні білки сприяють відкриттю мітохондріальних каналів і виходу цитохрому С (вихід цитохрому С перешкоджає перетворенню каспази-9 в активну форму – відміняють апоптичний сигнал),
- антиапоптичні білки–їх закривають.
- Таким чином, апоптоз до певної міри залежить від співвідношення білків Вах та Всі в мітохондріях.)

p53 та апоптоз

- При значних пошкодженнях ДНК активується експресія про - апоптичних генів Bax, Fas, DR5 та інших,
- p53 здатен пригнічувати експресію анти-апоптичних генів (наприклад, Bcl-2 та рецептору IGF-1).
- При недостатності p53 та надлишку Bcl-2 відбувається накопичення порушень в клітинах: подібні порушення спостерігаються при розвитку різноманітних пухлин.

Сигнал смерті
(радіація, мутація, хім.сполуки)



P53 активується



bax

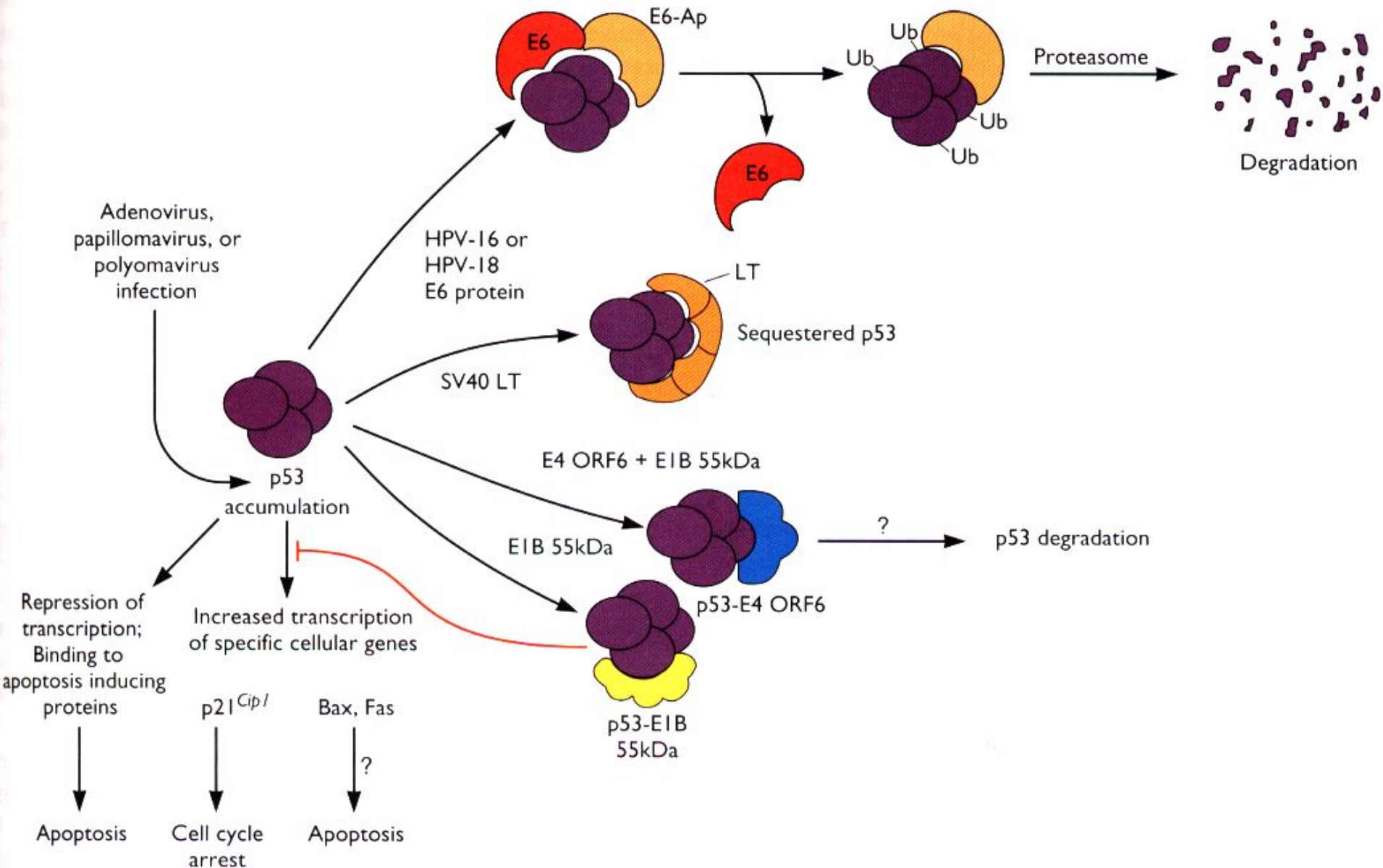


АПОПТОЗ



Bcl2
(HHV8-vBcl2)

Inhibition of p53 functions (Fig. 18.21)

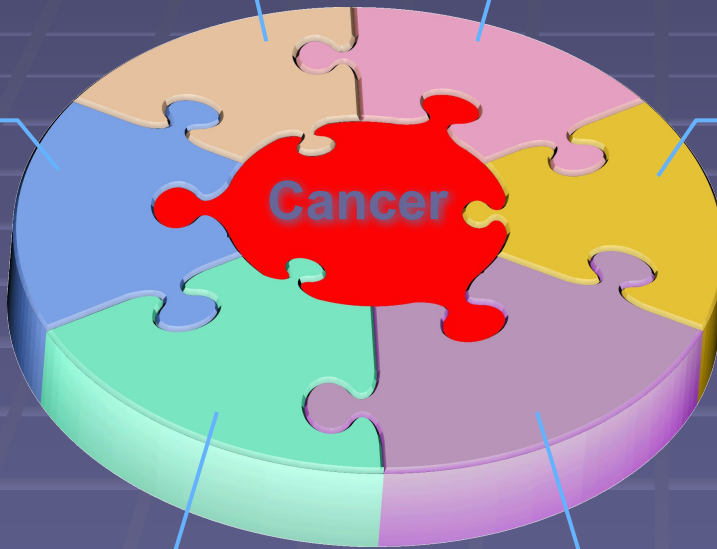


Апоптоз та рак

Аутокринна
активація

Уникнення
апоптозу

ангіогенез

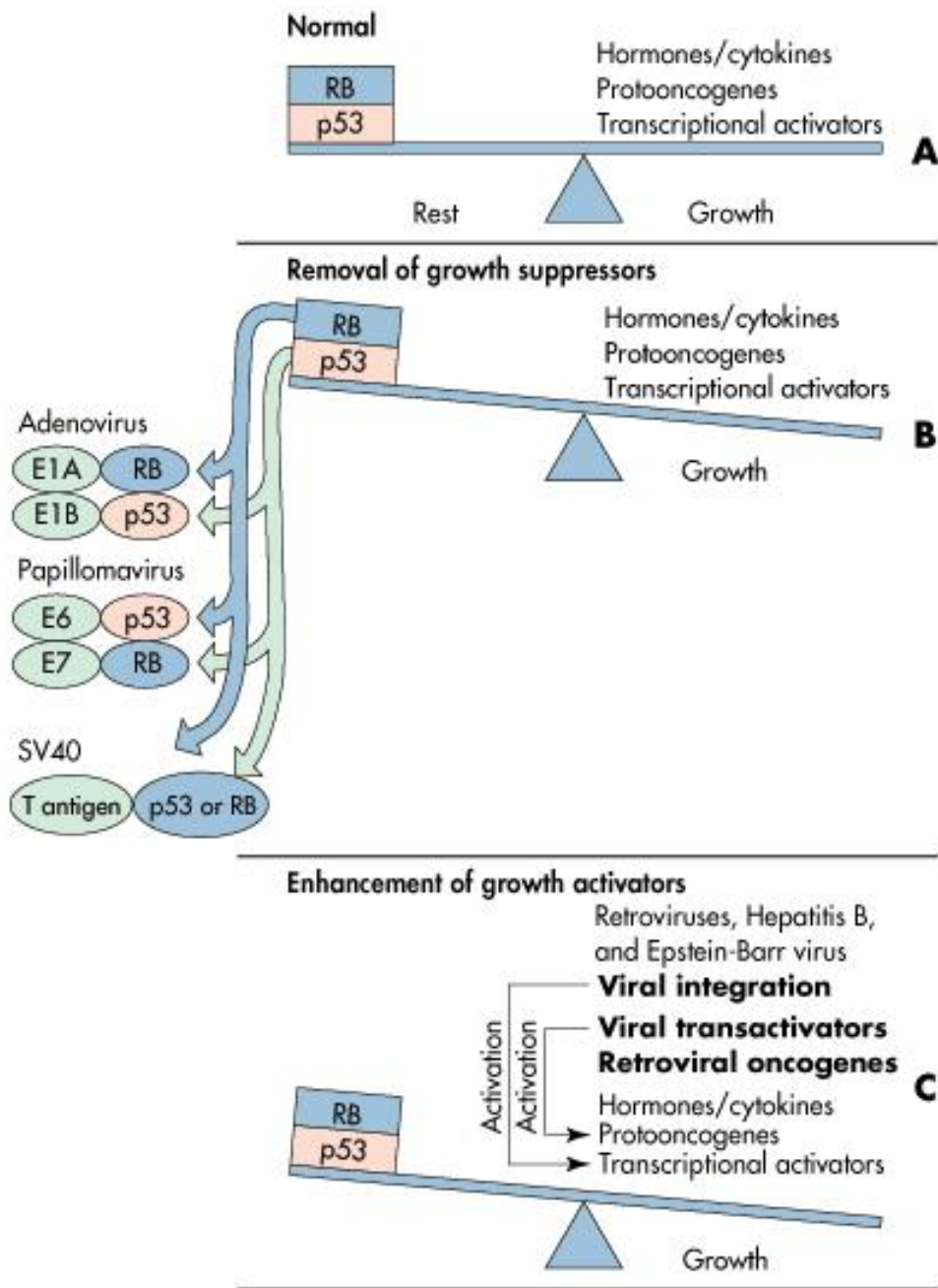


Нечутливість
до анти-
ростових
сигналів

підвищення
реплікативного
потенціалу

Інвазія та
метастази

Hanahan та Weinberg запропонували, що нормальна клітина повинна отримати **6** фенотипових ознак для становлення злоякісності. Одна з них – резистентність до апоптозу. В цій моделі в хронологічному порядку викладені механізми, завдяки яким отримуються ці ознаки. Вони можуть варіювати для кожної пухлини. Генна нестабільність посилює набдання різних фенотипів



Віруси та апоптоз

Блокування вірусними білками апоптичного сигналу і передачу його всередину клітини (аденовірусні E1B та E3-10,4K, E3-14,5 K, білок вірусу герпесу vFLIP)

Інгібування каспазної активності (E3-14,7K)

Вірусні аналоги

Вс1-2 з антиапоптичною активністю (E1B, білок герпес-вірус саймірі, SKHV- SKbcl-2, EBV- LMP1 , BHRF1)

Інгібування проапоптичної дії p53

(LT-антиген SV-40, E1A та E1B-аденовірусів, E6 та E7 папіломавірусів, білки надранніх генів CMV- IE1 та IE2).



