

# MOLEKULÁRIS CÉLPONTOK A DAGANATOKBAN

Kopper László

az MTA doktora, igazgató, Semmelweis Egyetem  
I. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet  
kopper@korb1.sote.hu

A daganatok biológiai (klinikai) viselkedése rendkívül széles határok között mozog. Egyesek tünetmentesek, még kozmetikai problémát sem okoznak, mások döbbenetesen rövid idő alatt elpusztítják a gazdaszervezetet. A sokfésőség azokra a malignus (rosszindulatú) daganatokra is jellemző, amelyek növekedésük mellett terjedésre, áttétképzésre is képesek. Nem egyszerű tehát olyan közös okokat és mechanizmusokat találni, amelyek amellett, hogy magyarázatul szolgálnak erre a heterogenitásra, stratégiát kínálnak a daganatok megelőzésére, felismerésére és kezelésére. Reményeink szerint a molekuláris szintű vizsgálatok közelebb visznek e kihívások megválaszolásához.

Ma már általánosan elfogadott, hogy a daganatok kialakulásáért elsősorban a genetikai állomány szerkezetében és/vagy funkciójában bekövetkező változások felelősek. A génhibák létrejöttét számos, sok esetben egyénileg eltérő tényező befolyásolja: pl. a DNS-hibajavítás (DNS-repair), a különböző molekulák (többek között karcinogének, gyógyszerek) felvételének és metabolizációjának képessége. A daganatok kialakulása és növekedése szempontjából elsősorban a sejtek proliferációját, pusztulását (apoptózisát) és a környezetével (szomszédos sejtekkel/matrixszal) való kapcsolatát szabályozó gének hibája a meghatározó. Ezek a szabályozási utak értelemszerűen, egymással több ponton összefüggenek, egymást befolyásolni, sokszor he-

lyettesíteni képesek; és ez nemegyszer a kezeléssel szembeni rezisztenciához vezet.

Elteltekintve a részletektől, az említett szabályozás azt határozza meg, hogy a sejt a belülről vagy a kívülről érkező jelekre hogyan reagál. A válasz döntést igényel, amely – általában – egy adott génprogram aktiválásából áll. Ez dönti el, hogy a sejt életképes marad-e, vagy önkezeléstől elpusztul. Ha életben marad, akkor vagy proliferál, vagy differenciált, a sejtre jellemző funkciót végez. Ez a szabályozás jellemzően több, kaszkád-szerűen működő lépcsőből áll: a jelek először receptorokat (sejtfelszíni, sejten belüli) aktiválnak, innen jelátvivő fehérjéken, fehérjekomplexeken keresztül jutnak el (utolsó lépcsőjük a transzkripciós faktorok/komplexek) a DNS-ig – a DNS-en bizonyos gének expressziója fokozódik és/vagy gátlódik, majd a program kivételéhez szükséges fehérjék szintetizálódnak. (Apoptózis esetében nem feltétlenül szükséges génválasz, mert e nélkül is aktiválódhatnak a sejtpusztuláshoz vezető proteázok.) Daganatok esetében hiba e rendkívül leegyszerűsített menetrend bármelyik szintjén bekövetkezhethet, mégpedig olyan hiba, amely az említett szabályozások elromlásához, a daganatsejtek progresszív felhalmozódásához jelentősen hozzájárul. Nyilvánvaló, hogy ezeknek a hibáknak az azonosítása kulcsfontosságú ahhoz, hogy a daganatok növekedésébe vagy terjedésébe okszerűen avatkozhatassunk be.

Ma már bizonyítottnak tekinthető, hogy számos kritikus génhibának kell jelen lennie ahhoz, hogy daganat keletkezzen. Ez persze nem egyik pillanatról a másikra történik, hiszen igen sokszor jól ismerjük a daganatkialakulás kisebb-nagyobb rizikóját hordozó daganatelőtti állapotokat, sőt, olyan génhibát vagy génhibákat is ki lehet bennük mutatni, amelyet azonosíthatunk a későbbi daganatban. Krónikus betegségről van tehát szó, olyanról, amelyben a változó sebességgel növekedő és terjedő szövet egyre inkább kikerül a környezete és így a szervezet szabályozása alól. (Ez nem azt jelenti, hogy – sajnos igen ritkán – spontán visszafejlődés vagy kидifferenciálódás nem fordulna elő.) Az egyik legnagyobb problémát az jelenti, hogy a daganatot felépítő sejtek, bár rendszerint egy klónból származnak, a génhibákat nem teljesen egyformán „gyűjtik össze”, egyesek el is pusztulnak, míg mások alkalmassá válnak arra, hogy a számukra igen mostoha körülmények között, idegen mikrokozmoszban is képesek legyenek az életben maradásra, sőt szaporodásra. Ez a heterogenitás és az ezt kihasználó szelekció a kemo- vagy sugárterápiás beavatkozásokkal szembeni rezisztenciát is eredményezheti.

Az elmúlt években igen sok daganattípus esetében ismertünk meg olyan génhibákat, amelyek terápiás célpontként is felhasználhatók. Elméletileg. Ha az adott génhiba csak a daganatsejtekben található és a normális sejtekben nem, akkor a „célzás” elég specifikus és szenzitív lehet. Más esetekben a helyzet nem ilyen ideális, hiszen olyan hibás géneket vagy termékeiket kell megtámadnunk, amelyekhez hasonló vagy éppen ugyanolyan a normális sejtekben is előfordul. Ennek ellenére szaporodik azoknak a preklinikai és klinikai vizsgálatoknak a száma, amelyek a célzott terápia eredményességéről számolnak be. A továbbiakban néhány példán mutatom be azt a stratégiai megközelítést, amelyre a daganat elleni gyógyszerek fejlesztését a jelenben és közeljövőben alapozni fogják (juk). Hangsúlyozom, ezek kiragadott példák, és messze nem fedik le azt a sokszínűséget (eredményeket és kudarcokat egyaránt), amelyet e területen napjainkban tapasztalhatunk.

*A növekedési faktorok és receptorai*

#### *A növekedési faktorok és receptorai*

A daganatellenes kezelés talán legkedveltebb molekuláris célpontjaivá váltak a sejtfelszíni növekedési faktorok és receptorai, utóbbiak közül a tirozin-kináz-receptorok (TKR). E receptoroknak és ligandjaiknak igen fontos szerepet tulajdonítanak a daganatok keletkezésében, géneik hibája (mutáció, amplifikáció vagy a receptor csökkent lebontása) a normális szabályozástól függetlenül állandó növekedéstimulálást eredményezhet, azaz biztosíthatja a daganatok autonóm növekedését.

A sejtfelszíni TKR-családnak kb. 58 tagja van. Ide tartoznak például az EGFR-család tagjai, az ISNR, az ILGFR, a PDGFR, a VEGFR, a KIT és az FMS gének által kódolt receptorok stb. A TKR-ok több mint 50 %-uknál mutatták ki túltermelésüket vagy mutációikat humán hiper- vagy hipoproliferatív betegségekben. Érthető tehát, hogy daganatellenes célpontként szolgálhatnak. A sejtben a felszíni receptorokon kívül még igen sok, a jelátadásban aktív szerepet játszó tirozin-kináz található. (A tirozin-kináz képesség a saját vagy más fehérje tirozinjának foszforilálását jelenti.)

A TKR-ok sokszor nem egy, hanem több jelutat is aktiválhatnak. Az EGFR-ről indulnak ki például a GRB2-SOS-RAS-RAF-MEK-ERK, a PI3K-AKT-mTOR, a PCLY és a JAK-STAT utak. Az EGFR az EGF-en kívül egyben támadási pontja a G-fehérjékhez kötődő receptorok, a citokinreceptorok, az integrinek felől érkező, a membránpolarizáció vagy a sejtet érő stressz hatására kialakuló heterológ jeleknek is. Nem csodálható, hogy az EGFR kulcsfontosságú olyan sejtfunkciók szabályozásában, mint a túlélés biztosítása, ezen belül a sejtproliferáció, a differenciáció és a motilitás.

Közel húsz évvel ezelőtt fedezték fel az EGFR-klonozási projekt melléktermékeként a humán EGFR-hez igen hasonló kinázt, a HER2-t (ERBB2 vagy patkányoknál neu), amelyről később kiderült, hogy az invazív emlőrákos betegek kb. 30 %-ában túltermelődik, illetve hogy ez rossz prognosztikai tényező emlő- és prosztatarákokban. A HER2 ligandja nem ismert, de feltételezik, hogy heterodimerizációs partnerként szolgál az EGFR és társai (HER3, HER4) számára és segíti elő aktiválódásukat. A génkutatásokon alapuló első antikináz terápiás szer a HER2 ellen kifejlesztett humanizált monoklonális antitest a trastuzumab (Herceptin) volt. (Az FDA 1998-ban engedélyezte a HER2-t túltermelő metasztatikus emlőrákkal szemben.) A trastuzumab a daganatsejtek felszínén kötődik a HER2-höz, a receptor internalizálódik, a sejtciklus gátlódik, immuneffektorok mobilizálódnak. Klinikai vizsgálat alatt áll az az antitest (Omnitarg, Petuzumab), amelyet a HER2-HER3 heterodimer ellen alakítottak ki.

Az EGFR gátlására tervezett kis molekulák között szerepelnek a quinazolinok, amelyeknek egyik tagját (gefitinib, Iressa) nem-kissejtésű tüdőrák ellen engedélyezték (2002). A klinikai vizsgálatok bebizonyították, hogy a gefitinibbel szemben bizonyos betegcsoportok jobban reagáltak, mint mások. Az újabb adatok szerint az EGFR gén TK doménje ATP-t kötő régiójában a 18-21 exon területén kialakult szomatikus mutáció felelős lehet a gefitinibbel szembeni nagyobb érzékenységgért. Ilyen mutációk gyakoribbak voltak nem dohányzó japán nőkben, adenocarcinoma esetén (nem-kissejtésű tüdőrákokat vizsgáltak) (Paez et al., 2004), de ez természetesen nem korlátozódik az említett betegcsoportra. Mutáns vagy amplifikált EGFR gén jelenlétét hazánkban is kimutatták, és a bevezetett gefitinib kezelés eredményesnek mutatkozott. (Schwab et al., 2005). Valószínű, hogy mutáns EGFR jelenlétében a gefitinib a daganatsej-

tek apoptózisát is elősegíti. Érthető, hogy a mutáció kimutatása a terápia tervezéséhez, a kezelendő betegek kiválasztásához rendkívül fontos (lenne). A kérdés természetesen nem ilyen egyszerű, hiszen sok olyan beteg is észlelték, akiknél a tünetek javultak, a betegség stabilizálódott, de mutációt nem tudtak kimutatni, ezért egyéb mechanizmusok jelenlétével is számolni kell (Herbst et al., 2004). A gefitinibbel kapcsolatban megemlíthető egyrészt, hogy folyamatban van kipróbálása például a fej-nyak régió, az emlő és a vastagbél rákjaival szemben is, másrészt az, hogy klinikai alkalmazásának engedélyét néhány országban visszavonták (ami persze nem jelenti a vizsgálatok megszüntetését, sőt). Ugyancsak az EGFR-t gátló kis molekulák közé tartozik az erlotinib (Tarceva) is, amely a TKR autofoszforilációját gátolja. Klinikailag ezt a szert is a nem-kissejtésű tüdőrákok ellen engedélyezték.

A 2-fenilaminopirimidin (imatinib, Glivec, az USA-ban Gleevec) is eredményes karriert fut be. Célpontjai között elsőként a BCR/ABL fúziós fehérjét (a CML-ben, krónikus mieloid leukémiában a t:9;22 eredményeként túltermelt nem receptor TK-t) azonosították. (Ezt a transzlokációt a CML-es betegek 95 %-ában kulcsfontosságú génhibának gondolják.) Kiderült, hogy az imatinib hatékonyan gátolja a PDGFR-t és a KIT-et is. Utóbbi a gasztrointesztinális stromális tumorok (GIST) patogenezisében játszik fontos szerepet, és az eddig a konvencionális szerekkel alig vagy nem befolyásolható esetekben az imatinib kezelés látványos javulást, sokszor gyógyulást eredményezett. Az imatinib klinikai alkalmazását a CML ellen 2001-ben, a GIST ellen 2002-ben engedélyezték. A krónikus mieloid leukémia (CML) kezelése, különösen a blasztos krízis esetén, igen nehéz feladat, ekkor a leukémiás sejtek rezisztenssé és még agresszívebbé válnak. Kimutatták, hogy a BCR/ABL1 célpontjai közül a krízis során a LYN (ugyancsak protein-kináz) aktiválódik,

melynek fontosságát az is tükrözi, hogy a LYN mRNS-ével szemben kialakított rövid, interferáló RNS (siRNS) – imatinibrezisztens és nem rezisztens betegekből származó – primer leukémiás sejtek több mint 90 %-ában apoptózist indukált. (Plaszniak et al., 2004). Kipróbálás alatt áll az imatinib alkalmazása dermatofibroszarkóma protuberans esetén is, ahol az egyik jellegzetes génhiba a kollagén 1A1 és a PDGFRB gének transzlokációja (t:17;22), ami fúziós fehérjét eredményez.

A molekuláris célpontok azonosítása és ellenük a megfelelő vegyületek kialakítása, gyógyszerre fejlesztésük rögzös utakat járhat be. Erre példa az előrehaladt metasztatikus kolorektális daganatokkal szemben adható humanizált monoklonális antitest, a Cetuximab (Erbix) engedélyezése (2004), amelyet még az 1980-as évek elején terveztek az EGFR extracelluláris doménjeivel szemben. Remélhető, hogy a kísérleti eredmények klinikai hasznosítása („transzlációja”) a jövőben sokkal gyorsabbá válik. Ezt segíti elő például az a vizsgálat, melynek során nagyteljesítményű szelekciós technikák bioinformatikával párosítva analizálják vastagbélrákokban a tirozin-kinomot (a TK családot) (Bardelli et al., 2003). Ezzel számos, idáig nem ismert mutációt azonosítottak TK génekben, amelyek a jövőben ugyancsak terápiás célpontok lehetnek.

ATKR (és így az EGFR) gátlók hatása sokszor átmenetinek bizonyul, vagy azért, mert a receptor újabb mutációja révén érzéketlenné válik a gátlószert iránt, vagy a daganat alternatív növekedési utat talál a jeltovábbító számára (a jel „kikerül”) például az EGFR-t, vagy aktiválódik a receptorról kiinduló jelút távolabbi lépcsője). A lehetséges problémák sokszínűségét jelzi, hogy például a neuroblasztoma sejtekben a TRKA (ugyancsak TKR, a neutrofin receptor-család tagja, ligandja a *nerve growth factor*, ami elengedhetetlen a központi és perifériás idegrendszer fejlődésében) növekedést gátló, egyben differenciációt serkentő fómája helyett

a mRNS-nek olyan *splicing* variánsa keletkezik, amely a daganatsejtek növekedését serkentő – tehát a normális funkcióval éppen ellentétes hatású – fehérjét kódol (Tacconelli et al., 2004).

A hatékonyság növelésének egyik útja lehet, ha egyszerre több kinázgátlót alkalmaznak, vagy olyan kinázgátlókat fejlesztenek, amelyek több jelutat támadnak egy időben. Ilyen például az EE788, amely az EGFR mellett a VEGFR2-t is gátolja (Yigitbasi et al., 2004).

#### *A daganatsejtek életképességét biztosító lipid-kináz út*

A daganatok növekedése során számos olyan szelekciós mechanizmusnak kell érvényesülnie, amelyek a „túlélést” támogatják. (Lényegében az életképesség – *survival* – megőrzéséről van szó.) A túlélési jel túlsúlya azt jelentheti, hogy még normális apoptózis mechanizmus jelenlétekor sem sikerül a gyógyszerek sejtihalált indukálnia, mert a túlélési jel gátolja az apoptózist. Fokozottabb a kudarcs esélye, ha az apoptózishoz vezető molekuláris utak is gátoltak. Feltételezzük, hogy ha sikerül a túlélést biztosító jelutakat gátolni, akkor több esélyük lesz a konvencionális – részben vagy zömmel az apoptózis indukálásán keresztül ható – gyógyszereknek.

Az egyik igen fontos, túlélést biztosító jelutat a lipid-kinázok alkotják, amelyeket a növekedési faktorok a receptorokon – például TKR-on – keresztül aktiválhatnak. Az út egyik kulcseleme a foszfatidil-inozitol 3-OH kináz (PI3K), amely központi szerepet játszik például olyan jelátvivő foszforilációjában, mint az AKT (protein-kináz B). Az AKT kialakulását gátolja a PTEN. Az AKT-ból legalább hét jelút indul ki, amelyek mindegyike végső soron az apoptózis létrejöttét akadályozza. Valószínű tehát, hogy az AKT gátlása több úton is elősegíti az apoptózis indukálhatóságát, ha nem is egyforma hatékonysággal.

Humán daganatokban igen gyakran károsodnak a lipid-kináz út tagjai. Ezek a hibák fontosak a daganatsejtek túlélése szempontjából, ezért gátlásuk olyan kis dózisban is terápiás lehet, amely a normális sejteket nem károsítja. Ilyen hiba például a TRK-túltermelésén vagy mutációján kívül a PI3K katalitikus alegységének (p110) amplifikációja, a PTEN foszfatáz működésének csökkenése vagy elvesztése, az AKT2 amplifikációja, a TSC1 vagy TSC2 mutációi, az eIF4E vagy S6K1 túltermelése vagy amplifikációja. Ezek a hibák ismereteink szerint a kemoterápia iránti rezisztencia (az apoptózis indukálásának elégtelensége) oki tényezői közé tartoznak. A fő utak mellett számos, részben egymást keresztező „mellékút” is ismertté vált, ami sokszor érthetővé teszi, hogy miért nem sikerül a várt hatást elérni. (Némi cinizmus: néha az az érthetetlen, hogy ennek az igen összetett szabályozási hálózatnak az aktivitását hogyan lehet mégis céljainknak megfelelően módosítani.)

Az AKT a feltételezések szerint a sclerosis tuberosa komplexen keresztül szabályozza az mTOR aktivitását (TSC1: hamartin, TSC2: tuberin), amelyhez egy kis GTP-kötő fehérje (RHEB) is csatlakozik. (Humán daganatokban RHEB-bel és TOR-ral kapcsolatban génhibáról nincs tudomásom.) A TSC1 és TSC2 kiesése a TSC-szindrómához vezet, amely ritkán szövődik humán daganatokkal, leggyakrabban a világossejtes veserákkal. Feltehetően ilyenkor a TSC inaktivációja *per se* nem vezet daganat kialakulásához, hanem a génhiba az angiogenezist befolyásolja, ugyanis a TSC2 az egyik legfontosabb angiogén tényezőt, a VEGF-et szabályozza TOR-függős és -független úton. A TSC génhibája esetén a VEGF aktiválódik.

Az utóbbi évben fokozott figyelem fordult a PI3K-AKT útvonalon az mTOR felé (TOR – *target of rapamycin*, szerin/treonin kináz). Az mTOR normálisan a növekedési faktorokra adott „transzlációs választ” sza-

bályozza a fehérjeszintézis szereplőinek (például riboszomális fehérje S6-kináz és a 4E-BP fehérjék) foszforilációjával. Az mTOR – sejttypustól függően és feltehetően a sejtek értelem eredményeként – változtatja sejten belüli lokalizációját. Kimutatták a sejtmagban és a citoplazmában is (itt a mitokondriumokban, endoplazmás retikulumban). A rapamycin olyan szernek bizonyult, amellyel ezt az utat szelektíven lehetett gátolni, míg az AKT által befolyásolt többi útra ilyen szer még nem áll rendelkezésre. Hans-Guido Wendel és munkatársai (2004) egér B sejt limfóma modellen mutatták ki, hogy olyan tumorokban, amelyekben a túléléshez AKT-ra volt szükség, és amelyek konvencionális szerekre (például doxorubicin, cytoxan) rezisztensek voltak, az AKT-utat rapamycinnel gátolva a tumorok az említett szerekkel szemben érzékenyekké váltak. Ha viszont a túléléshez BCL2-re volt szükség, akkor a rapamycin hatástalannak bizonyult.

Az mTOR tehát elsősorban a mRNS-ről történő fehérjeátírást szabályozza. Ez a hatás a 4EBP1-en keresztül érvényesül, gátolva az elongációt elkezdő faktort (eIF4E – elongation initiation factor). A rapamycin feltehetően olyan fehérjék szintézisét blokkolja, amelyek a túléléshez, a sejtproliferációhoz szükségesek. Valószínű, hogy az eIF4E-nek apoptózist gátló hatása is van (főleg a cMYC-indukálta apoptózist függeszti fel, megakadályozva a citokrómmal c kiszabadulását a mitokondriumokból). Megerősítést igényel az a lelet is, hogy az eIF4E a ciklin D1 szintéziséhez szükséges mRNS-t szállítaná a sejtmagból a citoplazmába. Az kétségtelen, hogy Wendel és munkatársai az eIF4E túltermelésével a rapamycin apoptózist elősegítő hatását ki tudták kapcsolni, ami igazolja ennek a lépésnek biológiai fontosságát. A különböző vizsgálatokból bizonyosnak látszik, hogy az AKT-mTOR-eIF4E út klinikailag ígéretes célpont, feltéve, ha ez az út biztosítja a sejt

számára a túlélést. Nyilván eredménytelen a rapamycin – vagy más hasonló vegyület – adása, ha a túlélésért más mechanizmus a felelős, vagy az eIF4E más módon (nem az mTOR-on keresztül) aktiválódik.

Bár az NCI szűrőprogramjában a rapamycin jelentős antitumor-aktivitást mutatott, a stabilitási és az oldékonysági problémák miatt parenterális formulálása nem volt megfelelő, ezért a klinikai vizsgálatokat már az analógiáival végezték. A CCI-779 (i. v. és *per os* adásra alkalmas) fázis III-ban, a RAD001 (csak orálisan adható) és AP23573 fázis I-ben, az AP23841 preklinikai fejlesztés alatt áll. Az egyik legfontosabb feladat – mint minden más hasonló terápiánál – azoknak a betegeknek a kiválasztása, akik valószínűleg reagálni fognak az mTOR gátlására. Az is biztos, hogy az mTOR-gátlók használatára elsősorban kombinációkban fog sor kerülni.

Az mTOR másik célmolekulája az S6-kináz (S6K) (a foszforilált S6 ugyancsak a fehérjesszintézis szabályozásában vesz részt). Fokozott aktivitása nem ritka a daganatsejtekben, ami feltételezeten nem kívánt fehérjék túltermelését támogatja. Azt is feltételezik, hogy az mTOR hatása az angiogenezistámogatásával – is – érvényesül (befolyásolhatja a HIFa és ezen keresztül a VEGF aktivitását).

Az mTOR által szabályozott tényezők közül az S6K1 és a 4EBP1 konstitutívan foszforilált a BCR/ABL-t expresszáló CML sejtekben, ami a PI3K-TOR út részvételét jelzi, és egyben okot adhatna az ezt gátló szerek és a BCR/ABL-gátlók (például imatinib/Glivec) kombinációjára.

#### *A sejten belüli fehérjék lebontása*

A normális sejtfunkciók fenntartásának egyik kulcsa az, hogy a működést szabályozó fehérjék megfelelő időben, mennyiségben és formában keletkezzenek (ezt teszi lehetővé a transzkripció, a fehérjesszintézis és a keletkezett fehérjék védelme), valamint

az, hogy megfelelő ütemben távolítódjanak el a sejtből. Az utóbbiért – leegyszerűsítve – két mechanizmus felelős: (a) a lizoszómák, amelyek az extracelluláris és transzmembrán fehérjéket bontják le, és (b) a proteaszómák, amelyek az intracelluláris fehérjéket távolítják el. Míg a lizoszómák (amelyek citoplazmatikus vezikulumként membránjukkal körülvesszik a proteolitikus enzimeket, megakadályozva azt, hogy a fehérjelebontás szabályozatlanul történjen) régi szereplői a tankönyveknek, addig a proteaszóma-rendszert csak most kezdjük megismerni.

A funkcionálisan aktív 26S proteaszóma 2.4 MDa ATP-függő proteolitikus komplex, amely sejtípusonként a citoplazmában vagy a sejtmagban helyezkedik el. Egy 20S cilinderalakú (hengeres) katalitikus komplexből és ennek mindkét végén 19S szabályozó alegységekből áll. Azokat a fehérjéket, amelyeket el kell távolítani, általában a fehérjét megjelölő ubikvitin „zászló” alapján azonosítja (bár az ubikvitinálás nem előfeltétele minden fehérje eltávolításának). A proteaszómák feladata számos olyan fehérjének a lebontása vagy átalakítása, amelyek a sejtciklus vagy az apoptózis fontos szabályozói: például ciklinek/ciklinfüggő kinázok/ciklinfüggő kinázgátlók, p53, kaszpázok, BCL2, NFκB, CDC25A/B/C. A p53 szabályozásának fontos eleme az, hogy a p53 saját gátlójának, az MDM2-nek (amely egy ubikvitinligáz E3) az expresszióját fokozza. Ezért az MDM2 génhiba miatti túltermelése megakadályozhatja a p53 sejtciklust gátló vagy apoptózist indukáló képességét. A proteaszómagátlás a p53 aktivitását helyreállíthatja.

Az NFκB-t az IκB tartja komplexben, azaz gátlás alatt. A sejtet érő stressz (amit okozhat például kemo- vagy sugárterápia) hatására az IκB foszforilálódik és ubikvitinálódik, majd a proteaszóma lebontja, és így felszabadul az NFκB. Az NFκB pedig – az esetek többségében – multifunkcio-

nális transzkripciósi faktorként elősegíti a túlélést szolgáló különböző sejtfunciókat (elősegítve növekedési faktorok, sejtadhéziós molekulák, multidrogrezisztencia fehéjéjk, angiogén faktorok, antiapoptotikus faktorok – például IAP-család tagjai, BCL2 stb.) expresszióját. Az NFκB aktivitásának felfüggesztése, például az IκB proteaszómális lebontásának megakadályozásával gátolhatja a daganatsejtek életképességét.

A proteaszómák daganatellenes célpontként való felhasználásának problémáját nyilván az jelentheti, hogy a kezelések igen sok normális sejtet is érinthetnek, így a proteaszómagátlás hatásának specificitása (a terápiás index biztosítása) igen kérdéses. Mégis, számos tapasztalat utal arra, hogy a proliferáló daganatsejtek sokkal érzékenyebbek a proteaszómákkal szemben, mint a normális sejtek. (Ennek pontos magyarázatát még kutatják, számos elmélet született, az is elképzelhető, hogy az ok sejtípustól függő.) Ezek a megfigyelések lendítették előre a proteaszómagátlók tervezését, amelyekből klinikai kipróbálásig jutott például a bortezomib (mint daganatgátló) és a PS519/MLN519 (mint gyulladásgátló). A bortezomib (Velcade, PS341) a fent említett gátlásokat okozza (így az NFκB és a BCL2 aktivitásának csökkenését), és igen sok daganatsejtípussal szemben mutatkozott hatékonynak. Talán a hematológiai daganatokban, különösen a refrakter vagy relapszusban levő mielóma multiplexes betegen gyűlt össze a legtöbb tapasztalat, de fázis III vizsgálatok folynak szolid daganatos betegekben is. A megválaszolendő kérdések között például nagyon fontos annak eldöntése, hogy a bortezomib egyedül vagy kombinációban hatékonyabb-e.

A proteaszómákat a lebontandó fehérjékről az ubikvitinálás tájékoztatja. Ebben számos enzim vesz részt. Míg az E1-ből rendszerint egy, az E2-ből több, az E3-ből viszont igen sok áll rendelkezésre, így ha az

ubikvitinálást specifikusan akarjuk gátolni, akkor az E3 a megfelelő célpont. Ilyen stratégiára akkor lehet szükség, ha ennek az útnak az aktivitása felelős például az apoptózist elősegítő fehérje fokozott lebontásáért. Ilyen lehet a már említett MDM2 E3 ligáz gátlása, amely a p53 működőképességét biztosíthatja.

Előfordulhat, hogy a daganatnövekedést támogató fehérjék felhalmozódását és ezzel fokozott aktivitását az segítheti elő, hogy „megvédik” őket a hőszokkfehérjék. (A HSP90-nek kb. száz kliensfehérjeje van.) Ilyen elv alapján kutatnak például HSP90 elleni szerek után, melyek közül a geldamycint (17-AAG) fázis I-ben vizsgálják. A hőszokkfehérjékhez hasonló *chaperon* a clusterin, amelynek fokozott termelését találták prosztatarákban. A clusterin ellen kialakított antiszenz (OGX011) a prosztatektómia előtt kombinációban adva (például flutamid, buszerelin, OGX011) feltehetően fokozza a hormon- és kemoszenzitivitást (fázis I vizsgálat).

#### *A génexpresszió szabályozási zavara*

A (tumor) szuppresszor gének funkcióját a daganatsejtekben vagy inaktíváló mutációk, vagy epigenetikai mechanizmusok (például DNS-metiláció, hiszton-deacetiláció) gátolják.

A gének CpG-ben gazdag promotereinek hipermetilációja – amely a gének expresszióját gátolja – a humán daganatok egyik jellegzetesége. A hipermetiláció kialakulása – miért, hol, mikor – azonban még magyarázatra szorul. Az érintett gének egy része a korral metilálódik (age-related), de vannak olyan daganatok is, amelyek különösen kiterjedten metilálódtak (CpG sziget metilátor fenotípust – CIMP – mutatnak). A CIMP fő jellegzetessége, hogy több gén metilációja együttesen fordul elő (metilációs mintázat). Valószínű, hogy kezdetben a *de novo* metiláció és terjedése replikációtól, azaz lényegében kortól függő esemény. Néhány gén azonban védett a foko-

zatosan terjedő metilációval szemben, és csak akkor hipermetilálódik, ha a metiláció alapján szelektálódik, vagy ha a védő mechanizmus (a védő gén) károsodik. Ilyen károsodás egyszerre több gén metilációját okozza – ezt a helyzetet jeleníti meg a CIMP. CIMP-et eredményezhet a jelentősen fokozott „metilációs nyomás” is, például a DNS-metiltransferázok vagy hiszton-módosító fehérjék hatására.

Gyökeresen eltérő magyarázatot keres az az elképzelés, amely szerint a CIMP nem igényel specifikus génhibákat, hanem az „epimutagének”-kel történő ismételt expozíció eredménye. Ezek forrása pedig a környezet, és valóban, megfigyelések szerint a környezeti hatások befolyásolhatják a metilációt normális („korosodó”) és daganatos szövetben egyaránt. Ez az epigenetikai koncepció nyilván további vizsgálatokat igényel, de mindenképpen figyelemre méltó. Mint az is, hogy a DNS-metiláció általános elősegítője a krónikus gyulladás, amely számos esetben daganatelőtti állapotot jelent (Issa, 2004).

A hipermetilációt napjainkban igen kiterjedten vizsgálják, legkoroszerűbben metilációspecifikus PCR-ral. Feltételezik, hogy a metilációs mintázat tájékozathat a prognózistól, sőt bizonyos gének működését a metiláció gátlásával igyekeznek visszaállítani.

A génextpresszió gátlásában a hisztonok deacetylálása is részt vesz. (Az acetyláció eltávolítja a hiszton a DNS-től, ezzel könnyíti a transzkripciót.) Xenograft daganatokon a hiszton-deacetylázok (HDAC) gátlása elsősorban az apoptózis elősegítésével mutatott terápiás hatást. Számos HDAC-gátlóval folynak klinikai fázisvizsgálatok.

### Következtetések

A fenti példák is azt mutatják, hogy a daganatokkal kapcsolatos ismereteinket egyre inkább gyakorlati kérdések megválaszolására használjuk. A kritikus génhibák azonosítása lehetőséget teremt olyan gyógyszerek kifejlesztésére, amelyek a daganatok esetében az oki kezelést jeleníthetik meg. A valóság már több mint lehetőség, hiszen ilyen gyógyszereket már alkalmazunk, és igen sok már a biztató preklinikai fázis után klinikai kipróbálás alatt áll. A génhibák változatossága előbb vagy utóbb elengedhetetlenné teszi, hogy genomikára alapozott diagnosztikus módszerek, mint a gén-*array*, a *tissue-array*, az SNP (single nucleotide polymorphism) segítsenek azonosítani azokat a betegeket, akik a jelátvivő molekulákkal szemben kifejlesztett anyagokra – nagy valószínűséggel – reagálni fognak. Szinte bizonyos, hogy a daganatsejtek genomjának nagy plaszticitása miatt olyan kombinációk (kis molekulák és antitestek kocktélja) kialakítására lesz szükség, amelyekben a résztvevők eltérő és egymást kiegészítő mechanizmussal működnek.

Nem szabad azonban elfelejteni, hogy a molekuláris célpontokra alapozott eljárásaink igen friss keletűek, és az alkalmazásukkal kapcsolatos olyan fontos kérdések, mint az öt éves túlélés vagy a gyógyultak arányának változása, a rezisztenciák és a mellékhatások fellépésének gyakorisága és ezek befolyásolásának lehetőségei, csak bizonyos idő távlatából válaszolhatók meg. Ennek ellenére nem kétséges, hogy a daganatok elleni harc új korszakba lépett.

Kulcsszavak: *onkológia, terápia, molekuláris célpont*

### IRODALOM

Bardelli, Alberto et al. (2003): Mutational Analysis of the Tyrosine Kinome in Colorectal Cancer. *Science*. 300, 949. <http://www.sciencemag.org/cgi/reprint/300/5621/949.pdf>  
Herbst Roy S. – Fukuoaka M. – Baselga J. (2004): Gefitinib – A Novel Targeted Approach to Treating

Cancer. *Nature Reviews. Cancer*. 4, 956–965.

Issa, Jean-Pierre (2004): CpG Island Methylator Phenotype in Cancer. *Nature Reviews. Cancer*. 4, 988–993

Paez, J. Guillermo et al. (2004): EGFR Mutations in Lung Cancer: Correlation with Clinical Response to Gefitinib Therapy. *Science*. 304, 1497–1500.

Ptasznik, Andrzej et al. (2004): Short Interfering RNA (siRNA)



- Targeting of the Lyn Kinase Induces Apoptosis in Primary, and Drug-Resistant, BCR-ABL1+ Leukemia Cells. *Nature Medicine*. 10, 1187–1189.
- Schwab Richárd – Peták I – Pintér F. – Szabó E. – Kánya M. – Tamási A. – Várkonyi E. – Almási A. – Szokolóczy O. – Pápay J. – Moldvay J. – Kéri Gy. – Kopper L. (2005): Epidemális növekedési faktor receptor (EGFR): célpont a tüdő adenocarcinómájának kezelésében. *Orvosi Hetilap*. 146, 2335–2342.
- Tacconelli, Antonella et al. (2004): TrkA Alternative Splicing: A Regulated Tumor-Promoting Switch in Human Neuroblastoma. *Cancer Cell*. 6, 347–360.
- Yigitbasi, Orhan G. – Younes, M. N. – Doan, D. – Jasser, S. A. – Schiff, B. A. – Bucana, C. D. – Bekele, B. N. – Fidler, I. J. – Myers, J. N. (2004): Tumor Cell and Endothelial Cell Therapy of Oral Cancer by Dual Tyrosine Kinase Receptor Blockade. *Cancer Research*. 64, 7977–7984.
- Wendel, Hans-Guido – Stanchina, E. de – Fridman, J. S. – Malina, A. – Ray, S. – Kogan, S. – Cordon-Cardo, C. – Pelletier, J. – Lowe, S. W. (2004): Survival Signalling by Akt and eIF4E in Oncogenesis and Cancer Therapy. *Nature*. 428, 332–337.

