

## Projekt Apoaterapy: vývoj nových metod léčby rakoviny

Vědci z Lékařské fakulty UP získali grant ze 6. rámcového programu EU na vývoj a ověření nových terapeutických metod pro léčbu rakoviny. Zprávu přinesl Žurnál UP v č. 14 na str. 1. Tříletý mezinárodní projekt má název Apoaterapy a jedním z jeho vedoucích je doc. J. Ehrmann, Ph.D., z Laboratoře molekulární patologie LF UP. Požádali jsme ho, aby pověděl něco bližšího o tomto projektu.

### Proč název Apoaterapy?

Projekt vychází ze současných znalostí o signálních drahách, které vedou k programované smrti buňky, tzv. apoptóze. Cílem projektu v nejširším slova smyslu je najít chemické látky – signály (ligandy), které vyvolají zánik nádorové buňky právě cestou programované buněčné smrti. Přinutí buňku k sebevraždě apoptózou. Proto název Apoaterapy.

### Na základě čeho, respektive jak projekt vznikl?

Především na základě osobních kontaktů jednotlivých členů týmu během studijních pobytů a z diskuzí na odborných konferencích. Motívem všech výzkumných laboratoří zúčastněných na tomto projektu je společná snaha o zlepšení dosud ne zcela uspokojivých výsledků protinádorové léčby.

### Z čeho výzkum vychází?

Základní idea vychází z faktu, že na povrchu buňky mnoha nádorů je přítomen receptor CD40, po jehož aktivaci příslušným ligandem je vyvolána imunitní odpověď vedoucí k destrukci nádorové buňky apoptózou. Jak říká hlavní koordinátor projektu, prof. Aristides Eliopoulos z Laboratoře molekulární a buněčné biologie lékařské fakulty Univerzity na Krétě, jde o zásah „Achillovy paty“ nádorové buňky.

### Co je konkrétním cílem projektu?

Projekt má několik dílčích cílů: 1. Vynout vhodné a dostatečně specifické ligandy receptoru CD40, které budou schopny vyvolat přirozenou obrannou, tedy imunitní odpověď nádorových buněk a přivést je na dráhu apoptózy. 2. Protože bylo zjištěno, že útlumem aktivity bílkoviny (P13 kinázy) regulující dělení buňky se výrazně zesiluje proces aktivace CD40, budou se připravovat také látky potlačující účinnost právě této kinázy (syntetické inhibitory ze skupiny inositolfosfátů). Na vývoji těchto látek se budou podílet vědci z laboratoří Univerzity na Krétě, University College v Londýně, laboratoří Instituto Mario Negri v Miláně a Univerzity v Uppsale. Třetím neméně významným cílem projektu je zajistit, aby se příslušná látka (ligand a inhibitor) k nádorové buňce dostala. Nejzajímavějším způsobem se zdá být přenos ligandu do nádorové buňky pomocí laboratorně připravených mikročástic (liposomů).

Snadno splývají s plazmatickou membránou a ligandy do nich vložené se tak dostávají do těsné blízkosti k receptorům CD40. Druhou metodou je použití coby přenašeče viry, do nichž byla vložena genetická informace pro tvorbu příslušného ligandu (rekombinantní adenoviry). Na této problematice budou pracovat vědci z Univerzity v Helsinkách a tým německé biotechnologické firmy Novosom AG. Experimenty budou prováděny na buňkách izolovaných z různých nádorů, především vaječníku, plic a močového měchýře, pěstovaných v kultivačním médiu za laboratorních podmínek. Budou také použity myší modely těchto nádorů.

### Mohl byste co nejsrozumitelněji přiblížit funkci proteinu CD40?

Člověk se orientuje ve svém okolí podle informací ze svých smyslových orgánů. Bez nich by nepřežil, nemohl by se sám ani najíst a napít, ocitl by se na prahu smrti. Také každá buňka získává neustále ze svého okolí informace zajišťující její funkční stabilitu a také informace o tom, jak se má chovat vůči ostatním buňkám v blízkém i vzdáleném okolí. Jen tak může být účelně fungující složkou v integrovaném celku/tkání, orgánu, organismu. Naprostá většina informací je k buňce nesena signály chemické povahy – molekulami různých látek. Buňka je rozpoznává (čte), vnímá prostřednictvím receptorů. To jsou molekuly specifických bílkovin umístěné na povrchu buňky v plazmatické membráně, která buňku obaluje. Spojí-li se receptor s příslušným signálem (ligandem), je aktivován k činnosti: spouští první fázi molekulové mašinerie, kterou je informace ze signálu postupně dopravena k cílovému místu v buňce. Tam teprve je dalším molekulovým mechanismem realizována odpověď, reakce buňky na signál, např. pohyb, dělení, syntéza nukleové kyseliny, enzymu, ale i degradace nebo smrt buňky. Receptory jsou tedy něco jako „dveře“ do buňky, které se otevírají jen správným „klíčem“ (signálem) na „chodbu“ (signální dráhu) k „dílně“ (metabolické dráze), která vykoná práci podle „zakázky“ (informace ze signálu).

Signální dráha a účinek aktivace CD40 je znázorněn na obrázku. CD40 a jeho ligand CD40L hrají důležitou roli v regulaci imunitního systému a ustavení funkční rovnováhy (homeostázy) buněk, tkání a celého organismu. CD40 se významně podílí na množení a funkčním rozrušení (diferenciaci) bílých krvinek – B lymfocytů, které jsou významné pro imunitní odpověď zprostředkovanou protilátkami. CD40 se však také účastní na aktivaci dalších typů buněk imunitní soustavy – mikrofágů, cytotoxických T lymfocytů a dendritických buněk. Bylo zjištěno, že správná funkce CD40 podmiňuje uchování protinádorové a protivirové imunity. CD40 se ovšem nevyskytuje jen na buňkách imunitního systému, ale i na jiných typech buněk, včetně nádorových.

### Jak to souvisí s vaším projektem?

Normální buňky jsou vůči aktivitě ligandu CD40 rezistentní. Nereagují na něj a chovají se normálně – na rozdíl od buněk nádorových. Obsadí-li tento ligand receptory CD40 na nádorových buňkách, je blokován jejich růst a dělení a buňky jsou nasměrovány k zániku. Tento poznatek by se pravděpodobně mohl využít pro léčbu těch nádorů, které mají funkční receptor CD40. Bude-li tato hypotéza potvrzena výsledky projektu, mohlo by to vést k zahájení klinické studie zejména u pacientů s karcinomy plic, ovaria a močového měchýře.

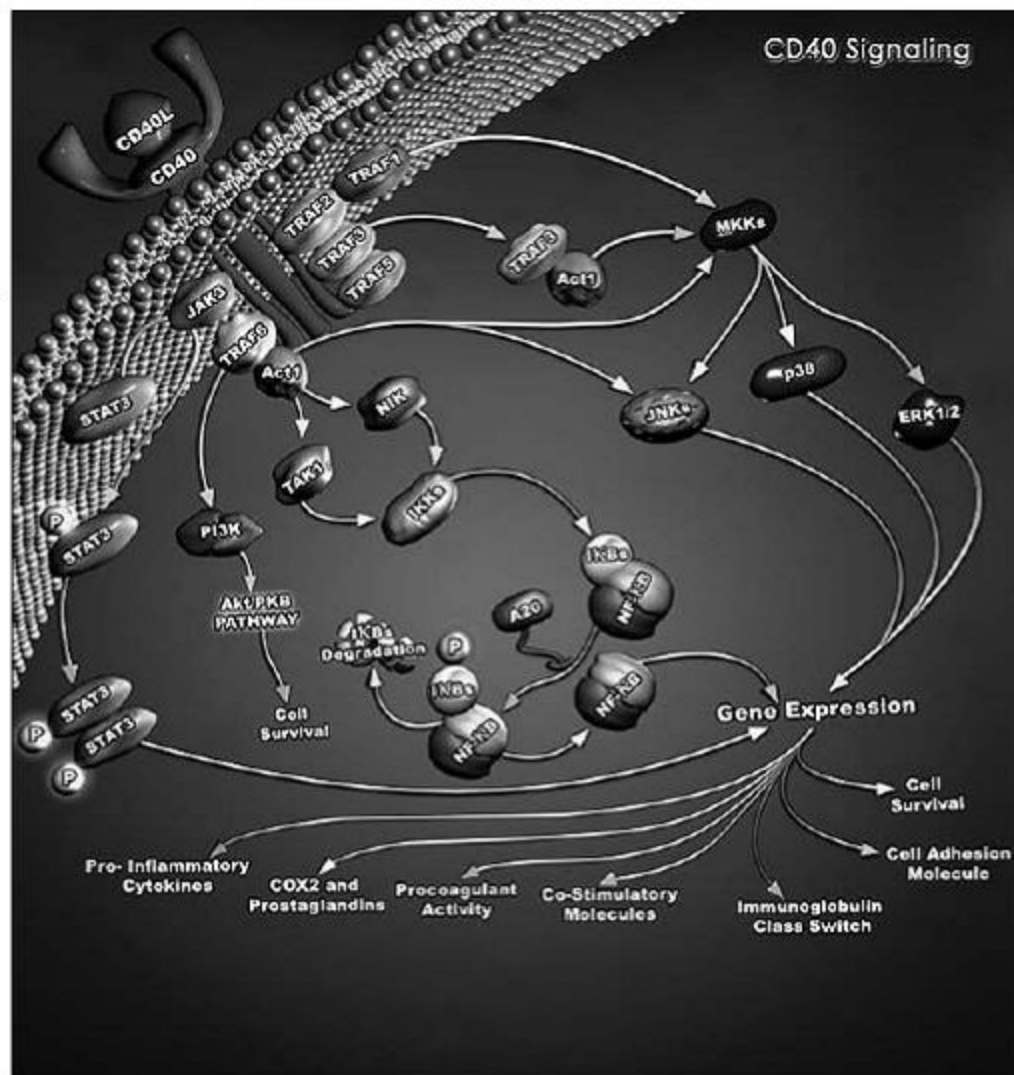
### Čím je do projektu zapojena Laboratoř molekulární patologie?

Tým naší laboratoře bude testovat efekt připravených ligandů a inhibitorů na nádorové buňky i na experimentální zvířata. Budeme provádět průkaz programované buněčné smrti různými metodikami a určovat zda se v experimentu jednalo skutečně o specifický zásah nádorových struktur, nebo o nežádoucí plošný zánik všech buněk, včetně nenádorových. Jsme tedy do jisté míry „výstupní kontrolou“ všech experimentů napříč celým projektem.

### Kolik členů Laboratoře molekulární patologie se na projektu bude podílet?

Celkem osm pracovníků, z toho čtyři vysokoškoláci, z nichž jsou dva postgraduanti a čtyři laborantky. Administrativní stránku nám velmi kvalitně zajišťuje Projektový servis UP.

Ptal se M. Hejtmánek



▲ CD40 signální dráha (Převzato z GeneAssist™ Pathway Atlas, www.ambion.com/tools/pathway.)