



**ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ

Δρ. Α. ΓΑΛΑΝΗΣ
agalanis@mbg.duth.gr

Κεφάλαιο 30

Ογκογονίδια και καρκίνος

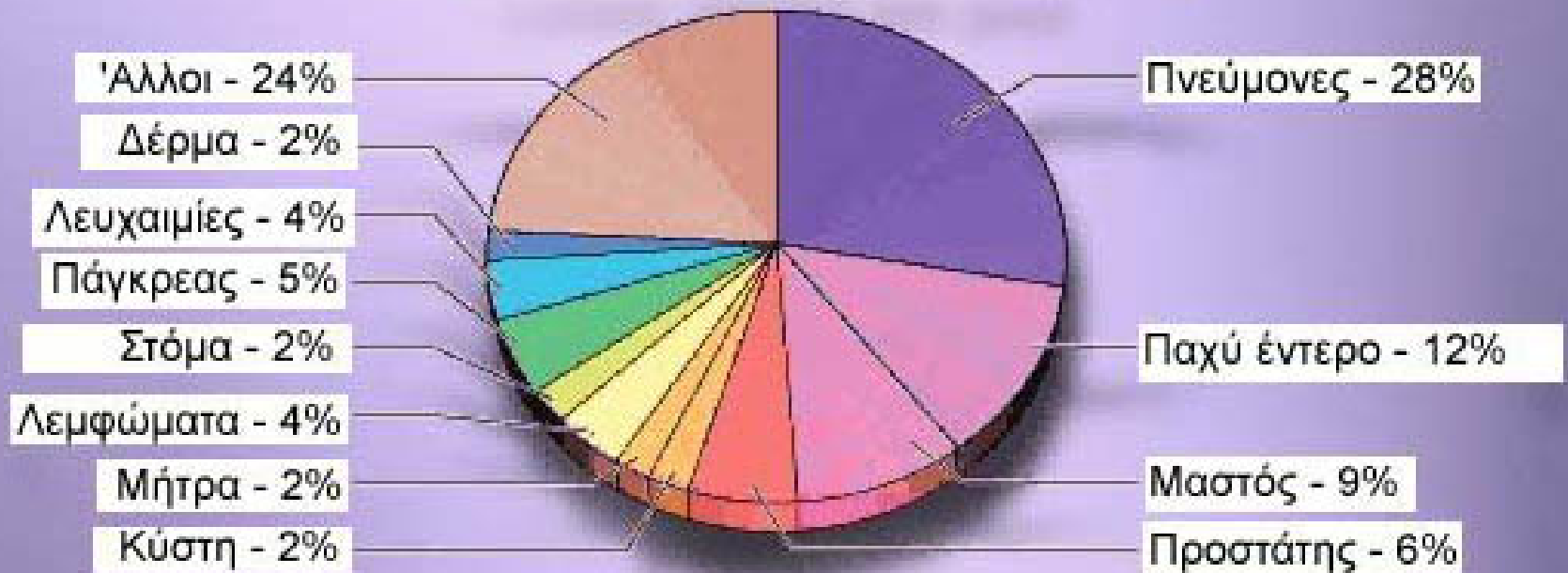
- | | | | |
|-------|--|-------|---|
| 30.1 | Εισαγωγή | 30.16 | Η Src αποτελεί το αρχέτυπο των πρωτο-ογκοπρωτεϊνών που είναι κυτταροπλασματικές κινάσες τυροσίνης |
| 30.2 | Τα κύτταρα των όγκων είναι αθανатоποιημένα και μετασχηματισμένα | 30.17 | Η πρωτεΐνη Src ρυθμίζεται με φωσφορύλιωση |
| 30.3 | Τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια έχουν αντίθετες δράσεις | 30.18 | Οι ογκοπρωτεΐνες μπορεί να ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση |
| 30.4 | Οι μετασχηματιστικοί ιοί φέρουν ογκογονίδια | 30.19 | Η RB είναι μια ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη που ελέγχει τον κυτταρικό κύκλο |
| 30.5 | Τα πρώιμα γονίδια των μετασχηματιστικών DNA είναι πολυλειτουργικά ογκογονίδια | 30.20 | Η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53 καταστέλλει την κυτταρική αύξηση ή προκαλεί απόπτωση |
| 30.6 | Οι ρετροϊοί προκαλούν κυτταρικό μετασχηματισμό με διάφορους μηχανισμούς | 30.21 | Η πρωτεΐνη p53 προσδένεται στο DNA |
| 30.7 | Τα ογκογονίδια των ρετροϊών έχουν κυτταρικά ομόλογα | 30.22 | Η p53 ελέγχεται από άλλα ογκοκατασταλτικά γονίδια και ογκογονίδια |
| 30.8 | Πώς μετατρέπεται ένα πρωτο-ογκογονίδιο σε ογκογονίδιο; | 30.23 | Διαφορετικά μονοπάτια ενεργοποίησης της p53 τροποποιούν διαφορετικά αμινοξέα της |
| 30.9 | Τα πρωτο-ογκογονίδια <i>ras</i> μπορούν να ταυτοποιηθούν με διαμόλυση | 30.24 | Η βράχυνση των τελομερών προκαλεί κυτταρική γήρανση |
| 30.10 | Τα πρωτο-ογκογονίδια <i>ras</i> μπορεί να ενεργοποιηθούν από μεταλλάξεις σε ειδικές θέσεις | 30.25 | Η αθανατοποίηση εξαρτάται από την απώλεια της p53 |
| 30.11 | Οι μη ελαττωματικοί ρετροϊοί ενεργοποιούν πρωτο-ογκογονίδια | 30.26 | Τα ογκογονίδια που σχετίζονται με την αθανατοποίηση είναι διαφορετικά από αυτά που ενέχονται στο μετασχηματισμό |
| 30.12 | Τα πρωτο-ογκογονίδια μπορεί να ενεργοποιηθούν από μια μετατόπιση | 30.27 | Η p53 μπορεί να επηρεάσει τη γήρανση |
| 30.13 | Η μετατόπιση Philadelphia δημιουργεί ένα νέο ογκογονίδιο | 30.28 | Η γενετική αστάθεια είναι ένα γεγονός-κλειδί στην εκδήλωση καρκίνου |
| 30.14 | Τα ογκογονίδια κωδικοποιούν συστατικά στοιχεία των μονοπατιών μεταγωγής σημάτων | 30.29 | Η αναποτελεσματικότητα των συστημάτων επιδιόρθωσης προκαλεί συσσώρευση μεταλλάξεων και δημιουργία όγκων |
| 30.15 | Οι υποδοχείς αυξητικών παραγόντων-κινάσες μπορεί να μεταλλαχθούν σε ογκογονίδια | 30.30 | Περίληψη |

Διατροφή και καρκίνος

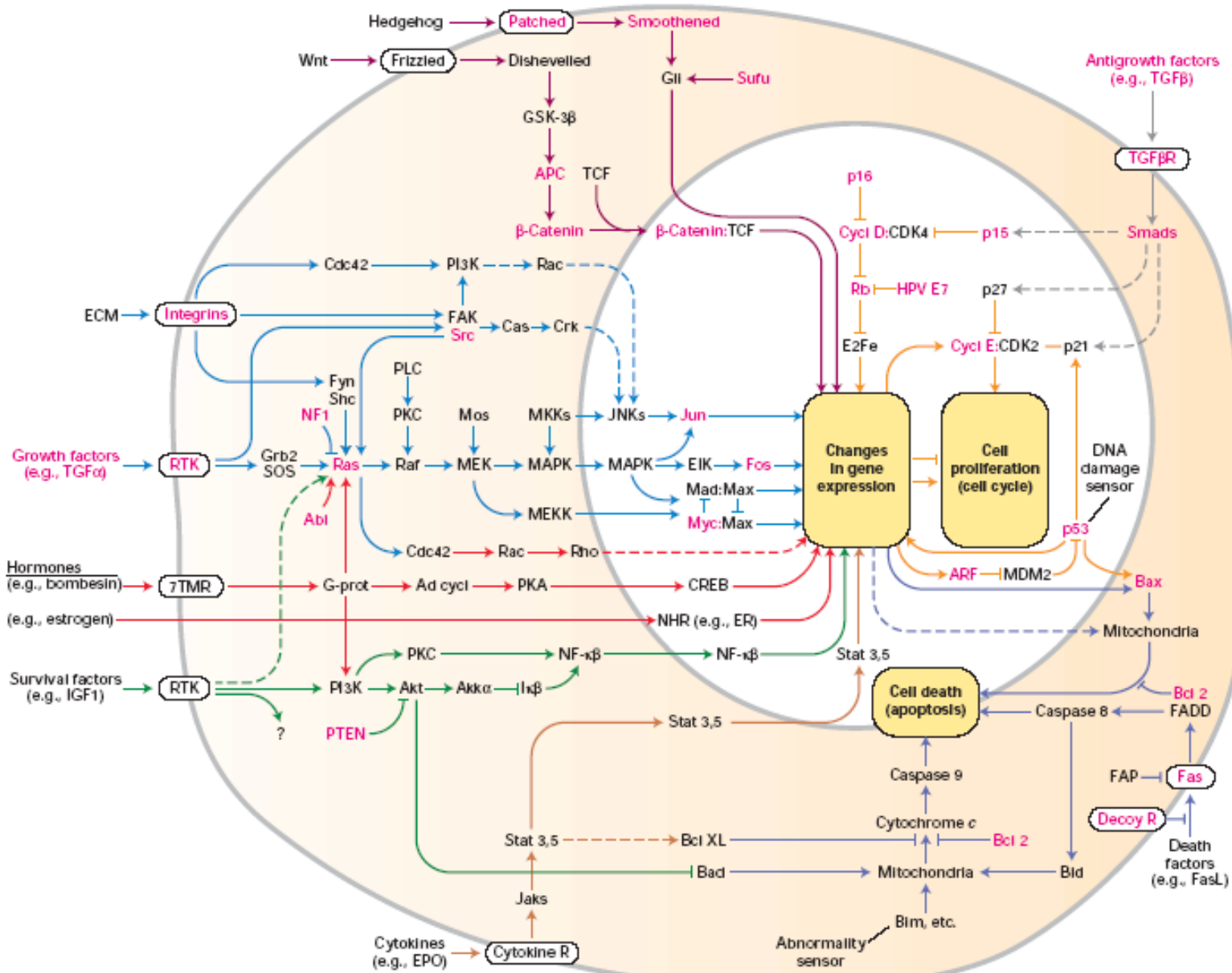


Κάπνισμα και καρκίνος

Ετήσιοι θάνατοι από καρκίνο



Σηματοδοτικά μονοπάτια και καρκίνος



Το όριο του Hayflick και η κυτταρική γήρανση

Όταν παίρνουμε φυσιολογικά κύτταρα από ένα σπονδυλωτό οργανισμό και τα καλλιεργούμε *in vitro*, αυτά αναπτύσσονται για καθορισμένο αριθμό διαιρέσεων και στη συνέχεια η ανάπτυξή τους σταματά λόγω φυσικής **γήρανσης**. Τελικά τα κύτταρα υφίστανται κάποια **κρίση** (crisis), κατά την οποία τα περισσότερα πεθαίνουν. Το πλήθος των κυτταρικών διαιρέσεων που συμβαίνουν πριν από την κρίση ονομάζεται **όριο του Hayflick** (Hayflick limit), προς τιμήν του ερευνητή που ανακάλυψε το φαινόμενο αυτό.

Τα πρωτογενή κύτταρα και οι κυτταρικές σειρές

Τα **πρωτογενή κύτταρα** (primary cells) είναι οι άμεσοι απόγονοι των κυττάρων που απομονώθηκαν από τον οργανισμό. Τα κύτταρα αυτά μιμούνται πιστά τον *in vivo* φαινότυπο διατηρώντας τα χαρακτηριστικά του ιστού από τον οποίο προέρχονται, αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις επιβιώνουν μόνο για μια σύντομη σχετικά περίοδο που λήγει κατά την κρίση.

Τα κύτταρα τα οποία επιβιώνουν και ανακάμπτουν μετά την κρίση συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται επ' άοριστον και εγκαθιδρύουν μια (μη ογκογόνο) **κυτταρική σειρά** (established cell line). Όμως οι ιδιότητές τους έχουν αλλάξει με την αθανατοποίηση τους και μπορεί να συνεχίσουν να αλλάζουν κατά τη διάρκεια της προσαρμογής τους στην καλλιέργεια.

Τα χαρακτηριστικά των κυτταρικών σειρών

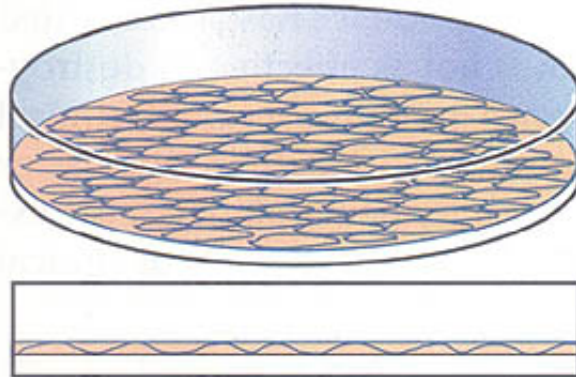
- Η **αναγκαιότητα προσκόλλησης** (anchorage dependence) – τα κύτταρα μεγαλώνουν δημιουργώντας στοιβάδες προσκολλημένες σε μια σταθερή επιφάνεια.
- Η **εξάρτηση από την παρουσία ορού ή αυξητικών παραγόντων** (serum or growth factor dependence) – η προσθήκη ορού στο καλλιεργητικό μέσο είναι απαραίτητη σαν πηγή βασικών αυξητικών παραγόντων.
- Η **αναστολή ανάπτυξης της καλλιέργειας όταν αυτή φτάσει σε αυξημένη κυτταρική πυκνότητα** (density-dependent inhibition). Μετά από διαδοχικές κυτταρικές διαιρέσεις, τα κύτταρα φτάνουν σε ένα βαθμό πυκνότητας που αναστέλλει την περαιτέρω ανάπτυξή τους, ίσως με τη διαδικασία της αναστολής εξ'επαφής.
- Η **κυτταροσκελετική οργάνωση** (cytoskeletal organization). Τα κύτταρα είναι επίπεδα, εκτείνονται στην επιφάνεια όπου μεγαλώνουν και διαθέτουν ένα δίκτυο ινών μηχανικής υποστήριξης (stress fibers), που αποτελείται από ινίδια ακτίνης.

Οι μετασχηματισμένες κυτταρικές σειρές

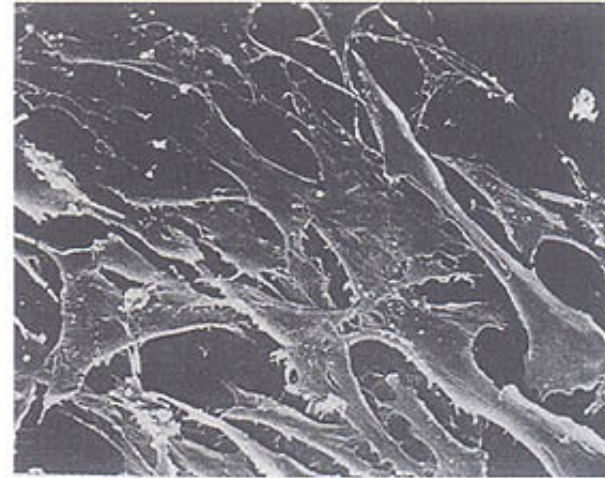
Τα κύτταρα που προέρχονται από όγκους και όχι από φυσιολογικούς ιστούς, παρουσιάζουν αλλαγές σε μερικές ή σε όλες τις παραπάνω ιδιότητες όταν μεγαλώνουν σε καλλιέργεια. Οι κυτταρικές σειρές που δημιουργούν, ονομάζονται **μετασχηματισμένες** (transformed) και αναπτύσσονται με πολύ λιγότερους περιορισμούς. Έχουν ελαττωμένη εξάρτηση από την παρουσία ορού και από την προσκόλληση σε στερεή επιφάνεια (έτσι γίνονται σφαιρικά αντί να είναι πεπλατυσμένα), και αντί να αναπτύσσονται σε μονοστοιβάδα, δημιουργούν μια παχιά πολυστοιβαδική μάζα κυττάρων που ονομάζεται **εστία** (focus). Επιπρόσθετα, τα κύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα να δημιουργούν όγκους όταν ενεθούν σε κατάλληλα πειραματόζωα. Ο συνδυασμός των κυτταρικών αλλαγών της αθανατοποίησης και του μετασχηματισμού σε *in vitro* καλλιέργεια προσφέρει ένα μοντέλο προσομοίωσης και μελέτης της ογκογένεσης.

Φυσιολογικά vs Καρκινικά κύτταρα

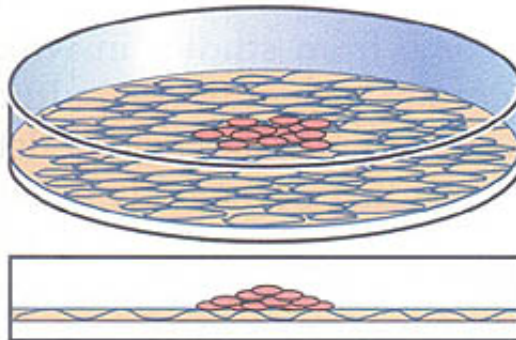
Κανονικά κύτταρα



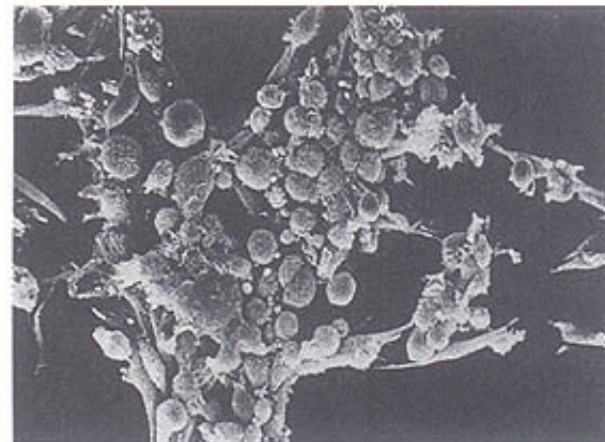
Τα κανονικά κύτταρα αυξάνονται σχηματίζοντας μονοστρώβδα



Καρκινικά κύτταρα



Τα καρκινικά κύτταρα αυξάνονται σχηματίζοντας συσσωματώματα

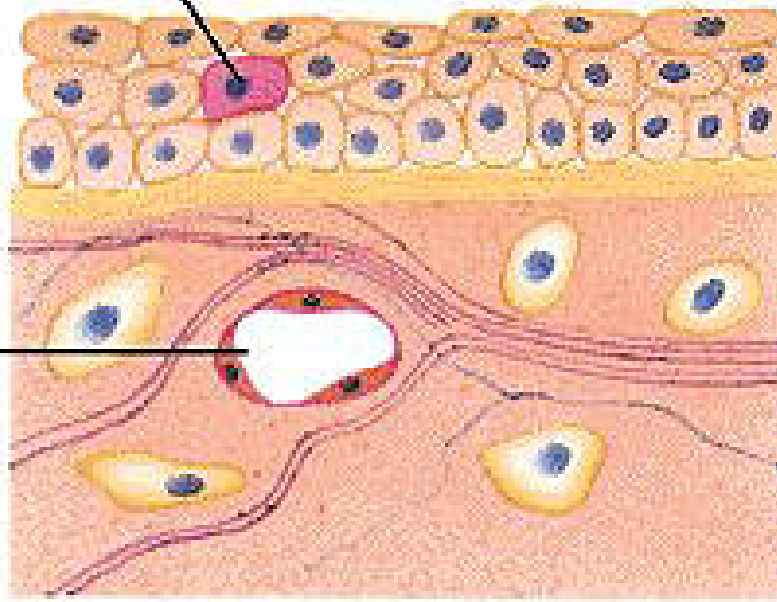


Καλοήθεις και κακοήθεις όγκοι

Τα καρκινικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα. Αρχικά συνιστούν μία μάζα και αργότερα ένα συμπαγή όγκο (tumor) ή νεόπλασμα (neoplasm), που αυξάνεται απεριόριστα. Μερικά κύτταρα του όγκου, έχουν την ικανότητα να αποσπώνται και με την κυκλοφορία του αίματος και της λέμφου να μεταφέρονται σε άλλους ιστούς και όργανα. Εκεί συνεχίζουν την ανεξέλεγκτη διαίρεση τους και σχηματίζουν νέους όγκους. Η διαδικασία αυτή καλείται **μετάσταση** (metastasis) και οι όγκοι που έχουν την ικανότητα μετάστασης χαρακτηρίζονται ως **κακοήθεις** (malignant). Οι όγκοι που δεν προσβάλλουν τους παρακείμενους ιστούς και δεν έχουν ικανότητα μετάστασης ονομάζονται **καλοήθεις**.

A

Αρχικό καρκινικό κύτταρο

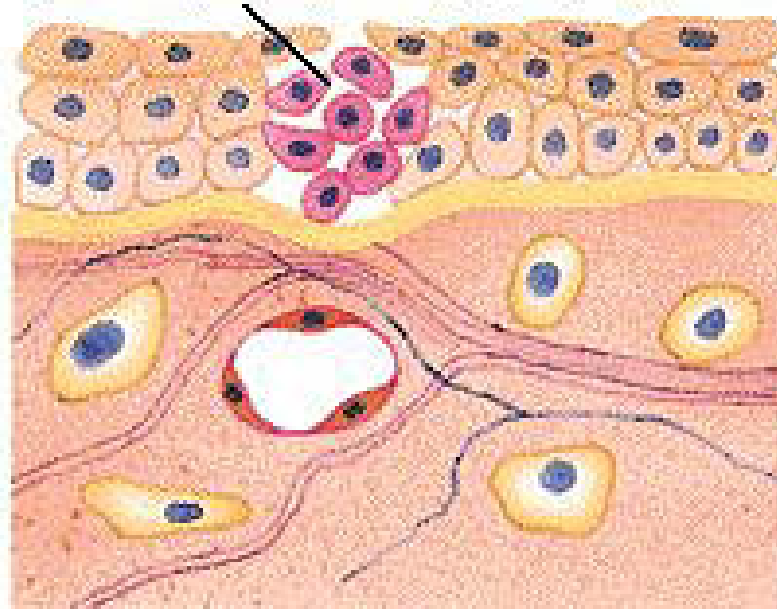


**Βασική
μεμβράνη**

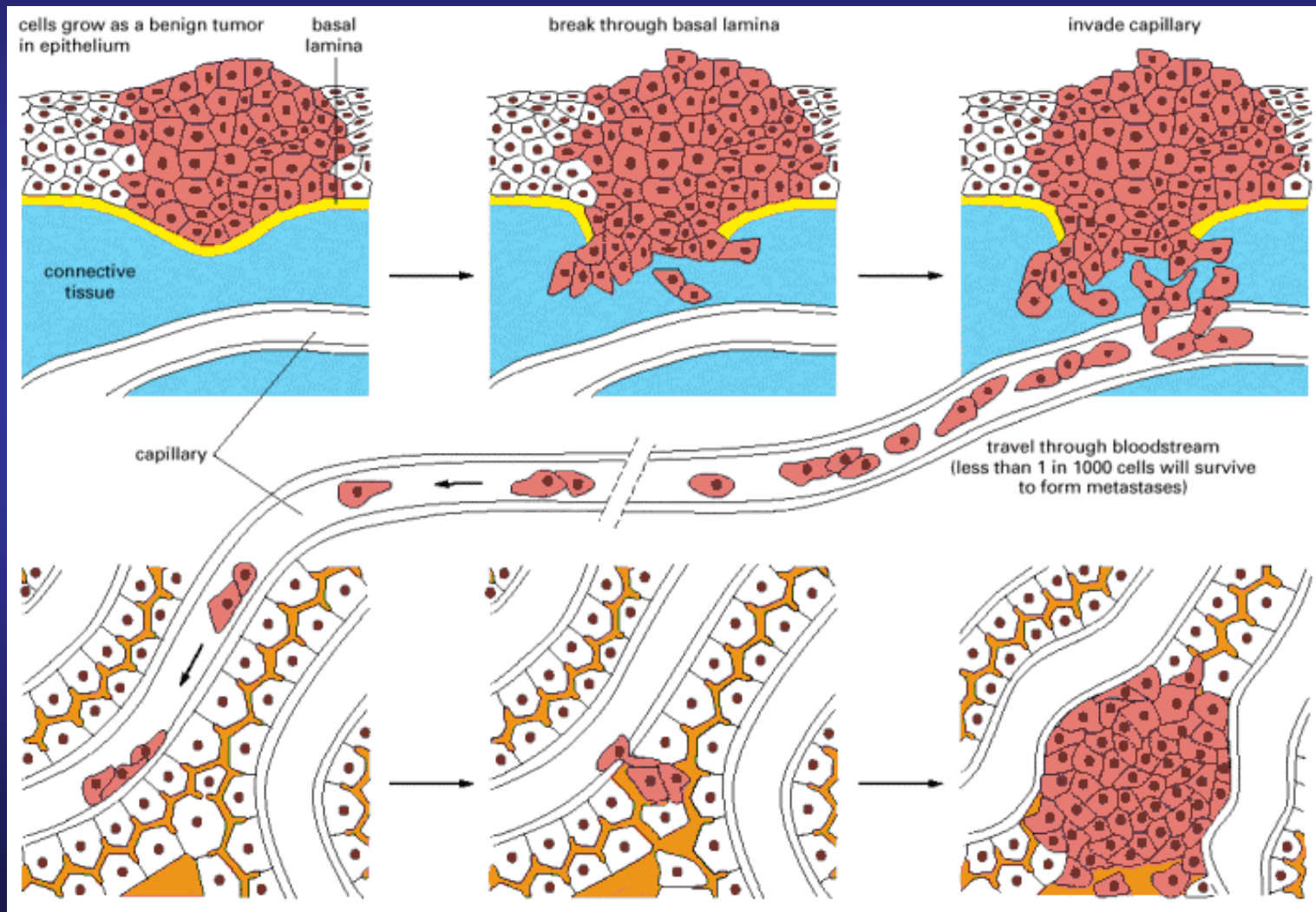
**Αγγεία
αίματος**

B

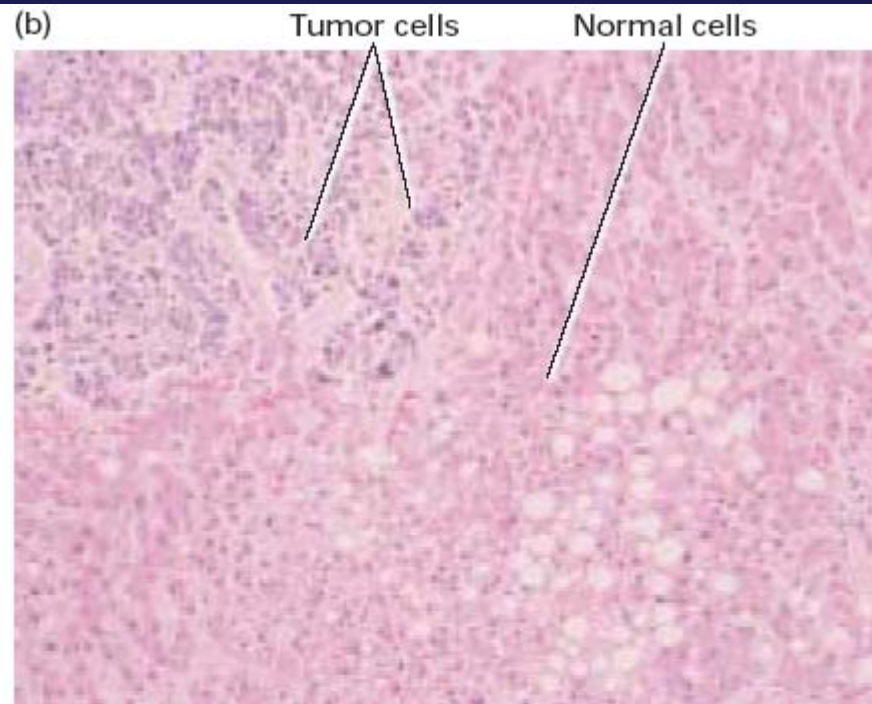
**Μάζα καρκινικών κυττάρων
(εντοπισμένος καλοήθης όγκος)**



Τα στάδια της μετάστασης



Προσβολή ηπατικών κυττάρων από καρκινικά κύτταρα



Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Τα **ογκογονίδια** (oncogenes) αρχικά ταυτοποιήθηκαν σε ιούς ως τα γονίδια εκείνα που προκαλούν μετασχηματισμό στα κύτταρα-ξενιστές. Εν συνεχεία αποκαλύφθηκε ότι στα κύτταρα των ευκαρυωτικών οργανισμών υπάρχουν ομόλογα τέτοιων ιικών ογκογονιδίων που ενέχονται σε φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες. Τα γονίδια αυτά καλούνται **πρωτο-ογκογονίδια** (proto-oncogenes). Η δημιουργία ενός ογκογονιδίου χαρακτηρίζεται ως κέρδος λειτουργίας (gain-of-function) ενός κυτταρικού πρωτο-ογκογονιδίου που φυσιολογικά θα παρέμενε ανενεργό. Αντίστροφα, οι υπολειπόμενες μεταλλάξεις (loss-of-function) που οδηγούν σε απώλεια της λειτουργίας του προσβεβλημένου γονιδίου μπορεί να εξαλείψουν ή να αδρανοποιήσουν **ογκοκατασταλτικά γονίδια** (tumor – suppressor genes), των οποίων τα φυσιολογικά προϊόντα είναι απαραίτητα για τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

Οι ογκογόνοι DNA ιοί

Όλοι οι ιοί τύπου **πολυόμα** είναι γενικά μικροί. Ο κοινός ιός πολυόμα βρίσκεται συχνά σε ποντικούς, ενώ ο ανάλογος SV40 (Simian Virus 40) απομονώθηκε από κύτταρα πιθήκων ρέζους. Πιο πρόσφατα χαρακτηρίστηκαν οι ανθρώπινοι ιοί BK και JC. Όλοι οι ιοί τύπου πολυόμα μπορούν να προκαλέσουν όγκους όταν ενεθούν σε νεογέννητα τρωκτικά.

Οι ιοί των θηλωμάτων (**papillomaviruses**) είναι μικροί DNA ιοί που προκαλούν όγκους των επιθηλίων. Υπάρχουν ~75 τέτοιοι ιοί του ανθρώπου (HPV, Human papillomavirus) και παρότι οι περισσότεροι δημιουργούν καλοήθεις όγκους όπως τα κονδυλώματα, ορισμένοι έχουν συσχετισθεί με κακοήθεις νεοπλασίες και συγκεκριμένα με καρκίνους του τραχήλου της μήτρας. Δύο ιικά προϊόντα που έχουν βρεθεί σε καρκίνους του τραχήλου (οι πρωτεΐνες E6 και E7) είναι ικανά να αθανατοποιήσουν κύτταρα-στόχους.

Οι **αδενοϊοί** απομονώθηκαν αρχικά από αδενοειδείς εκβλαστήσεις (adenoids) ανθρώπου. Αποτελούν μια μεγάλη ομάδα συγγενικών ιών, με >80 διαφορετικά μέλη. Οι ανθρώπινοι αδενοϊοί που παραμένουν οι καλύτερα χαρακτηρισμένοι, προκαλούν ασθένειες του αναπνευστικού και μπορούν να μολύνουν ευρύ φάσμα κυττάρων από διαφορετικά είδη.

Οι πρωτεΐνες E1A δρουν με την πρόσδεση τους σε διάφορες κυτταρικές πρωτεΐνες, οι οποίες στη συνέχεια καταστέλλουν ή ενεργοποιούν τη μεταγραφή των κατάλληλων γονιδίων στόχων. Σ' αυτούς τους στόχους περιλαμβάνονται οι CBP και p300, ο TBP και οι RB και p27.

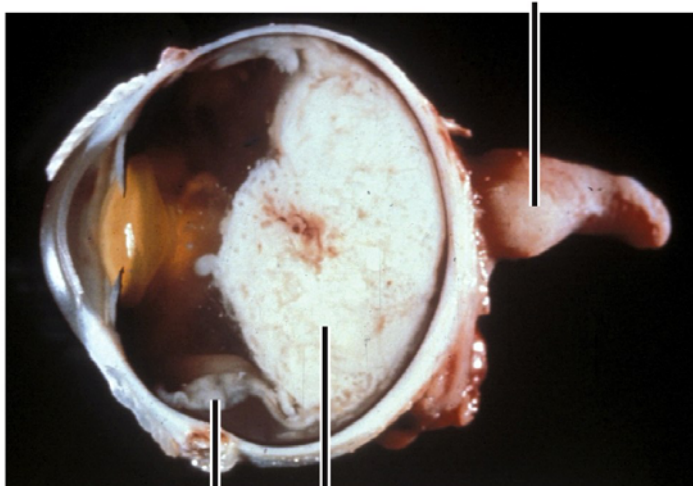
↓
Ρυθμιστής του
κυτταρικού κύκλου

↓
Συνενεργοποιητές

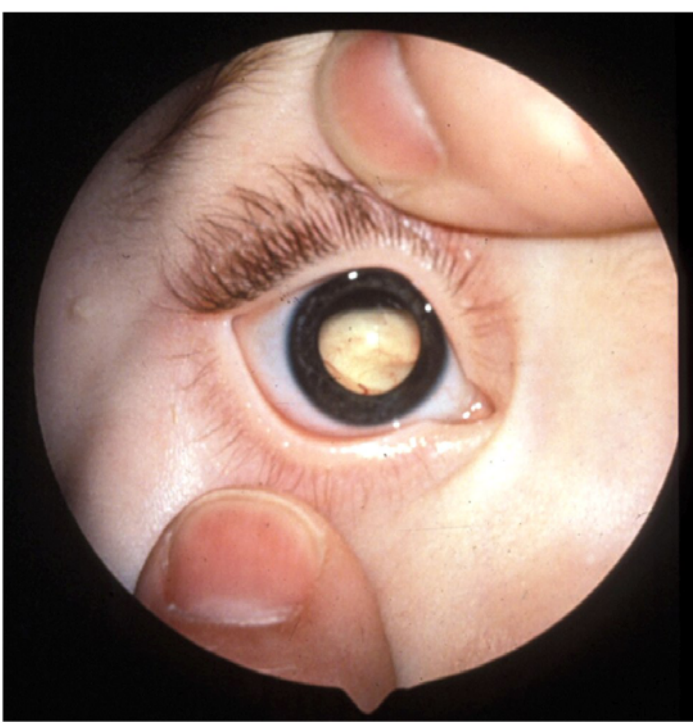
↓
Βασικός μεταγραφικός παράγοντας

↓
Αναστολέας κυκλινο-εξαρτώμενης κινάσης (CKI)

thickening of optic nerve
due to extension of tumor



displaced normal retina
retinoblastoma



Η RB είναι μια ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη που ελέγχει τον κυτταρικό κύκλο

Το ρετινοβλάστωμα είναι μία ανθρώπινη ασθένεια που εμφανίζεται στην παιδική ηλικία και χαρακτηρίζεται από όγκο στον αμφιβληστροειδή χιτώνα του ματιού. Μπορεί να παρουσιάζεται είτε ως κληρονομικό χαρακτηριστικό είτε σποραδικά (από σωματική μετάλλαξη). Συχνά σχετίζεται με ελλείμματα της ζώνης q14 του χρωμοσώματος 13. Το γονίδιο *RB* έχει εντοπιστεί σε αυτή τη θέση με κλωνοποίηση.

Επομένως η αιτία του ρετινοβλαστώματος είναι η απώλεια της λειτουργίας της πρωτεΐνης RB, συνήθως ως αποτέλεσμα μεταλλάξεων που εμποδίζουν την έκφραση του γονιδίου (σε αντιδιαστολή προς τις μεταλλάξεις σημείου που επηρεάζουν τη λειτουργία του πρωτεϊνικού προϊόντος). Η απώλεια του *RB* ενέχεται και σε άλλες μορφές καρκίνου, όπως το οστεοσάρκωμα (osteosarcoma) και ο μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (small cell lung cancer).

Οι πρωτεΐνες E1A δρουν με την πρόσδεση τους σε διάφορες κυτταρικές πρωτεΐνες, οι οποίες στη συνέχεια καταστέλλουν ή ενεργοποιούν τη μεταγραφή των κατάλληλων γονιδίων στόχων. Σ' αυτούς τους στόχους περιλαμβάνονται οι CBP και p300, ο TBP και οι RB και p27.

Έχει βρεθεί ότι ο έλεγχος της κυκλίνης D είναι ιδιαίτερα σημαντικός στον καρκίνο του μαστού.

Το γονίδιο της κυκλίνης D1 έχει πολλαπλασιαστεί στο 20% των περιπτώσεων όγκων του μαστού στον άνθρωπο, ενώ η πρωτεΐνη υπερεκφράζεται σε >50% των καρκινωμάτων του μαστού. Ο ρόλος της κυκλίνης D1 έχει επιβεβαιωθεί σε μοντέλα ποντικών, αποδεικνύοντας ότι η αυξημένη έκφραση της D1 αυξάνει τη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ενώ έλλειψη του γονιδίου της κυκλίνης D1 παρεμποδίζει ορισμένα ογκογονίδια να τον προκαλέσουν.

Ο μετασχηματισμός φυσιολογικών κυττάρων μπορεί να είναι το αποτέλεσμα μόλυνσης από ογκογόνο ιό

Rous, P. (1911) A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from tumor cells. J. Exp. Med. 13, 397-411.

Halberstaedter, L., Doljanski, L. and Tenenbaum, E. (1941). Experiments on the cancerization of cells *in vitro* by means of Rous sarcoma agent. Brit. J. Exp. Pathol. 22, 179-187.

Lo, W. H. Y., Gey, G. O., and Shapras, P. (1955). The cytopathogenic effect of the Rous sarcoma virus on chicken fibroblasts in tissue cultures. Bull. Johns Hopkins Hosp. 97, 248-256.

Manaker, R. A., and Groupe, V. (1956). Discrete foci of altered chicken embryo cells associated with Rous sarcoma virus in tissue culture. Virology 2, 838-340.

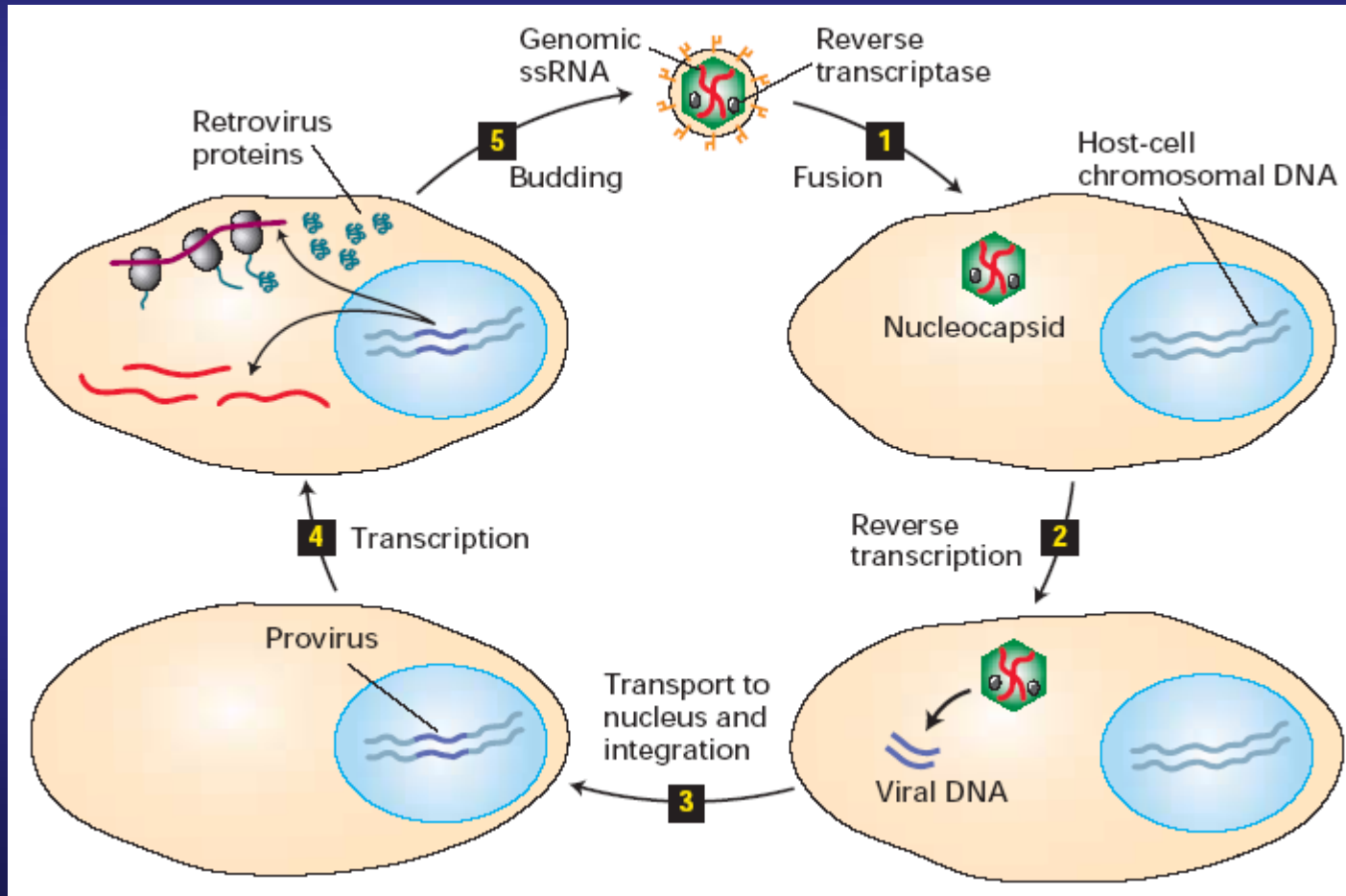
Brugge, J. S. and Erikson, R. L. (1977). Identification of a transformation-specific antigen induced by an avian sarcoma virus. Nature 269, 346-348.

Levinson, A. D., Oppermann, H., Levintow, L., Varmus, H. E., and Bishop, J. M. (1978). Evidence that the transforming gene of avian sarcoma virus encodes a protein kinase associated with a phosphoprotein. Cell 15, 561-572.

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Τα **ογκογονίδια** (oncogenes) αρχικά ταυτοποιήθηκαν σε ιούς ως τα γονίδια εκείνα που προκαλούν μετασχηματισμό στα κύτταρα-ξενιστές. Εν συνεχεία αποκαλύφθηκε ότι στα κύτταρα των ευκαρυωτικών οργανισμών υπάρχουν ομόλογα τέτοιων ιικών ογκογονιδίων που ενέχονται σε φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες. Τα γονίδια αυτά καλούνται **πρωτο-ογκογονίδια** (proto-oncogenes). Η δημιουργία ενός ογκογονιδίου χαρακτηρίζεται ως κέρδος λειτουργίας (gain-of-function) ενός κυτταρικού πρωτο-ογκογονιδίου που φυσιολογικά θα παρέμενε ανενεργό. Αντίστροφα, οι υπολειπόμενες μεταλλάξεις (loss-of-function) που οδηγούν σε απώλεια της λειτουργίας του προσβεβλημένου γονιδίου μπορεί να εξαλείψουν ή να αδρανοποιήσουν **ογκοκατασταλτικά γονίδια** (tumor – suppressor genes), των οποίων τα φυσιολογικά προϊόντα είναι απαραίτητα για τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

Ο κύκλος ζωής ενός ρετροϊού



Οι ογκογόνοι ρετροϊοί κατατάσσονται σε δύο γενικές κατηγορίες με κριτήριο τον τύπο της ογκογονικότητά τους:

- **Μη ελαττωματικοί ιοί** (nondefective viruses)
- **Ιοί οξέος μετασχηματισμού** (acute transforming viruses)

Οι **μη ελαττωματικοί ιοί** (nondefective viruses) ακολουθούν το συνηθισμένο κύκλο ζωής των ρετροϊών. *Η ογκογονικότητά τους δε βασίζεται σε ιικά ογκογονίδια αλλά στην ικανότητα τους να ενεργοποιούν ένα ή περισσότερα κυτταρικά πρωτο-ογκογονίδια.*

Η ικανότητα τους αυτή παρατηρήθηκε αρχικά κατά την ανάλυση λεμφωμάτων που προκλήθηκαν με μετασχηματισμό Β-λεμφοκυττάρων από τον ιό της λευχαιμίας των πτηνών ALV (**A**vian **L**eukemia **v**irus). Παρόμοια φαινόμενα παρατηρούνται κατά την επαγωγή λεμφωμάτων Τ-κυττάρων από τον ιό της λευχαιμίας των ποντικών MuLV (**M**urine **L**eukemia **V**irus). Και στις δύο περιπτώσεις, ο μετασχηματισμός οφείλεται στην ικανότητα της περιοχής LTR (**L**ong **T**erminal **R**epeat) του ρετροϊού να επάγει την έκφραση κάποιων κυτταρικών γονιδίων.

άλλα δύο κωδικοποιούν την πρωτεΐνη c-Myc. Στις πιο απλές περιπτώσεις, ο ιός ενσωματώνεται στο πρώτο ιντρόνιο και η περιοχή του ιικού γονιδιώματος LTR παρέχει έναν υποκινητή για τη μεταγραφή των δύο κωδικών εξονίων. Η μεταγραφή του *c-myc* υπό ιική ρύθμιση είναι πολύ αυξημένη σε σχέση με τη φυσιολογική (επειδή η περιοχή LTR παρέχει έναν ισχυρό υποκινητή). Η έκφραση δεν μπορεί να διακοπεί ως απόκριση στα συνήθη σήματα διαφοροποίησης των Β και Τ κυττάρων, και

ος συνήθως μειώνει την έκφραση). Όλες αυτές οι αλλαγές οδηγούν αθροιστικά στην ιδιοστατική υπερέκφραση του γονιδίου.

Η ενεργοποίηση του γονιδίου *c-myc* στους άλλους δύο τύπους ενσωμάτωσης γίνεται με διαφορετικούς μηχανισμούς. Το ρετροϊικό γονιδίωμα μπορεί να ενσωματωθεί μέσα ή ανοδικά του πρώτου ιντρόνιου, αλλά με αντίστροφο προσανατολισμό, έτσι ώστε ο υποκινητής να έχει αντίθετη κατεύθυνση. Το ρετροϊικό γονιδίωμα μπορεί επίσης να ενσωματωθεί καθοδικά του γονιδίου *c-myc*. Σε αυτές τις περιπτώσεις, ίσως ο ιικός ενισχυτής LTR να ευθύνεται για την ενεργοποίηση της μεταγραφής του *c-myc*, επηρεάζοντας είτε τη λειτουργία του δικού του (κανονικού) υποκινητή είτε κάποιας άλλης τυχαίας αλλη-

Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις, η κωδική αλληλουχία του c-myc παραμένει αμετάβλητη. Έτσι, το ογκογόνο δυναμικό αποδίδεται στην απώλεια του φυσιολογικού ελέγχου και τελικά στην υπερέκφραση του γονιδίου.

Οι ιοί οξέος μετασχηματισμού (acute transforming viruses) των οποίων η ογκογονικότητα βασίζεται σε ένα *κυτταρικό ογκογονίδιο* που έχουν αποσπάσει από τον ξενιστή τους με το φαινόμενο της μεταγωγής (transduction) κατά τη διάρκεια ενός μολυσματικού κύκλου. Το γονίδιο αυτό αποτελεί νέα γενετική πληροφορία, την οποία δεν είχε ο προγονικός (μη μετασχηματιστικός) ιός. Συνήθως τέτοιοι ιοί επιφέρουν το σχηματισμό όγκων *in vivo* σχετικά γρήγορα και μπορούν να μετασχηματίσουν καλλιέργειες κυττάρων *in vitro*. Δεδομένου ότι κάθε ιός οξέος μετασχηματισμού εξειδικεύεται σε ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρων-στόχων, αυτοί οι ιοί χωρίζονται σε κατηγορίες σύμφωνα με τον τύπο του όγκου που προκαλούν στα ζώα: λευχαιμία, σάρκωμα, καρκίνωμα κτλ.

Δύο γενικές θεωρίες θα μπορούσαν να εξηγήσουν τις διαφορετικές ιδιότητες των γονιδίων *v-onc* και *c-onc*:

Το ποσοτικό μοντέλο προτείνει ότι τα ιικά γονίδια δε διακρίνονται λειτουργικά από τα κυτταρικά γονίδια, αλλά είναι ογκογόνα είτε επειδή εκφράζονται σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες ή σε ακατάλληλους κυτταρικούς τύπους, είτε επειδή δεν μπορεί να διακοπεί η έκφρασή τους (*c-myc*).

Το ποιοτικό μοντέλο υποθέτει ότι τα αρχικά γονίδια *c-onc* δεν έχουν εγγενείς ογκογόνες ιδιότητες, αλλά μετατρέπονται σε ογκογονίδια μετά από μεταλλάξεις, όπως ακριβώς τα πρωτο-ογκογονίδια μετατρέπονται σε ογκογονίδια. Η ογκογονικότητά τους οφείλεται είτε στις νέες ιδιότητες που αποκτούν είτε στην απώλεια των παλιών (*c-ras*).

Ο χαρακτηρισμός των μετασχηματιστικών ρετροϊών έπαιξε σημαντικό ρόλο στην κατανόηση της δράσης των ογκογονιδίων. Ωστόσο, στους περισσότερους καρκίνους στον άνθρωπο, τα ογκογονίδια δημιουργούνται με διαφορετικούς μηχανισμούς, χωρίς τη μεσολάβηση ιών. Πάντως, η άποψη ότι τα ογκογονίδια προκύπτουν από την ενεργοποίηση των πρωτο-ογκογονιδίων αποτελεί ένα σημαντικό βήμα στην κατανόηση των μηχανισμών ογκογένεσης στα ζώα.

Η **διαμόλυνση** (transfection) των ευκαρυωτικών κυττάρων είναι η απόκτηση νέων γενετικών δεικτών μέσω ενσωμάτωσης DNA που προστίθεται.

Η δοκιμή της διαμόλυνσης έδωσε νέα ώθηση στη κατανόηση των μηχανισμών ογκογένεσης.

Graham, F. L. and van der Eb, A. J. (1973). Transformation of rat cells by DNA of human adenovirus 5. *Virology* 54, 536-539.

The idea here was to use the gene transfer procedure to test whether the DNAs of cancer cells harbored genes that programmed their transformed growth. In principal, transfer of the DNA and thus the hypothetical transforming genes from the cancer cells should convert untransformed recipient cells to a transformed phenotype. Success in this effort would prove that transforming genetic information resides in the genomes of the cancer cells, and could be transferred via naked DNA from this cell into hitherto normal recipients. Furthermore, this would indicate that the transformed growth properties of cancer cells derived from genetic mechanisms. This would diminish the candidacy of an alternative theory that was popular at the time—that cancerous growth is only a reflection of some epigenetic changes in the cells, which rearrange their gene expression programs to mimic normal processes that occur during differentiation.

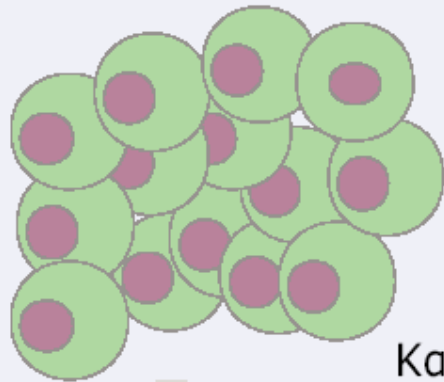
Οι μετασχηματιστικές ιδιότητες των ρετροϊών καθορίζονται από τα *v-onc* που φέρουν

Προέλευση ιού	Ονομασία	Είδος	Όγκος	Ογκογονίδιο
Σάρκωμα του Rous	RSV	κοτόπουλο	σάρκωμα	<i>src</i>
Σάρκωμα των <i>Muridae</i> του Harvey	Ha-MuSV	αρουραίος	σάρκωμα & ερυθρολευχαιμία	<i>H-ras</i>
Σάρκωμα των <i>Muridae</i> του Kirsten	Ki-MuSV	αρουραίος	σάρκωμα & ερυθρολευχαιμία	<i>K-ras</i>
Σάρκωμα των <i>Muridae</i> του Moloney	Mo-MuSV	ποντικός	σάρκωμα	<i>mos</i>
Οστεοσάρκωμα FBJ των <i>muridae</i>	FBJ-MuSV	ποντικός	χονδροσάρκωμα	<i>fos</i>

Η ομάδα του E. Scolnick έδειξε ότι το ογκογονίδιο *ras* βρίσκεται στο γονιδίωμα του ρετροϊού Harvey sarcoma. Το *v-ras* έχει αποκτηθεί με ανασυνδυασμό και μεταγωγή και προέρχεται από την ενεργοποίηση του φυσιολογικού πρωτο-ογκογονιδίου *c-ras*.

Ellis, et al (1980). Dual evolutionary origin for the rat genetic sequences of Harvey murine sarcoma virus. *J. Virol.* 36, 408-420.

Το DNA των καρκινικών κυττάρων μετασχηματίζει φυσιολογικά κύτταρα



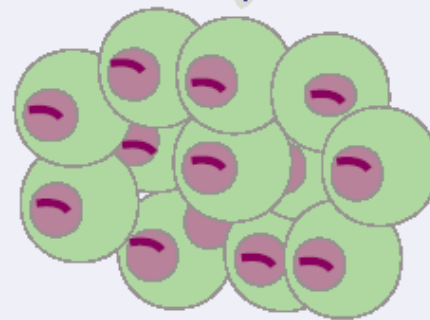
Καρκινικά κύτταρα



Εκχύλιση DNA και μεταφορά του σε καλλιέργεια φυσιολογικών κυττάρων



Το μετασχηματιστικό γονίδιο ενσωματώνεται στο κύτταρο



Απομόνωση αποικίας μετασχηματισμένων κυττάρων



Απομόνωση ειδικού DNA

©virtualtext www.ergito.com

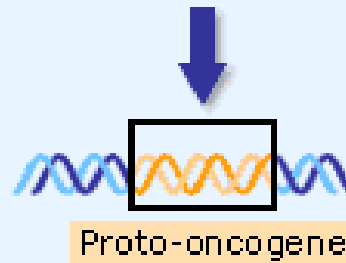
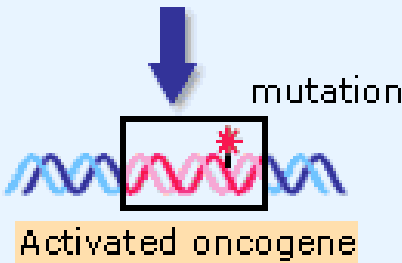
Parada, L. F., Tabin, C. J., Shih, C., and Weinberg, R. A. (1982). Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. *Nature* 297, 474-478.

Το DNA των καρκινικών κυττάρων μετασχηματίζει φυσιολογικά κύτταρα

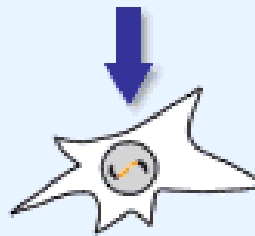
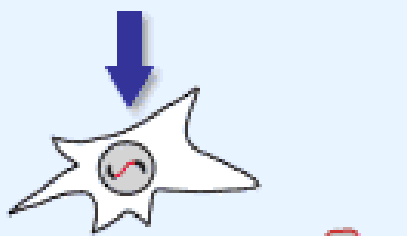
Isolate DNA

Chemically-treated mouse cell line

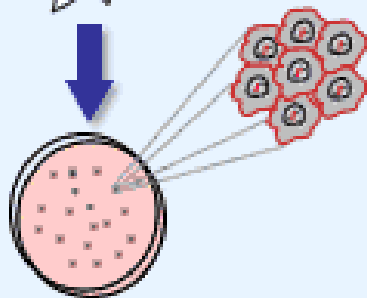
Untreated mouse cell line



Transfect DNA into NIH3T3



Focus formation assay



Transformation due to mutated genes

No transformation

Results

	Total foci/Experiment	
	Treated	Untreated
Exp 1	48	≤1
Exp 2	5	0
	8	
	0	
	0	

Shih, C., *et al* (1979). Passage of phenotypes of chemically transformed cells via transfection of DNA and chromatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 5714-5718.
(Το γενετικό υπόβαθρο της ογκογένεσης)

Χαρακτηρισμός του πρωτο-ογκογονιδίου *ras*

This discovery was exciting! The excitement came from the resulting conclusion that the same normal cellular gene could be activated into a potent oncogene either by a retrovirus or by a somatic mutation of the sort inflicted by mutagenic carcinogens.

Reddy, E. P., Reynolds, R. K., Santos, E., and Barbacid, M. (1982). A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature* 300, 149-152.

Tabin, C. J., Bradley, S. M., Bargmann, C. I., Weinberg, R. A., Papageorge, A. G., Scolnick, E. M., Dhar, R., Scolnick, R., Lowy, D. R., and Chang, E. H. (1982). Mechanism of activation of a human oncogene. *Nature* 300, 143-149.

Taparowsky, E., Suard, Y., Fasano, O., Shimizu, K., Goldfarb, M., and Wigler, M. (1982). Activation of the T24 bladder carcinoma transforming gene is linked to a single amino acid change. *Nature* 300, 762-765.

Η γενική αρχή που έχει διαμορφωθεί από αυτές τις παρατηρήσεις είναι ότι η μετάλλαξη μιας κωδικής αλληλουχίας μπορεί να μετατρέψει ένα κυτταρικό πρωτο-ογκογονίδιο σε ογκογονίδιο το οποίο σχετίζεται με την εμφάνιση ενός σποραδικού όγκου στον οργανισμό. Ένα τέτοιο ογκογονίδιο μπορεί επίσης να φέρεται από ένα ρετροϊό. Στην περίπτωση αυτή, ο όγκος προκαλείται μετά από ιική μόλυνση.

Τα γονίδια *ras* αποκτούν ογκογονικότητα πολύ εύκολα: σχεδόν κάθε μετάλλαξη που οδηγεί σε αμινοξική υποκατάσταση στις θέσεις 12 ή 61 μπορεί να μετατρέψει ένα πρωτο-ογκογονίδιο *c-ras* σε ενεργό ογκογονίδιο:

- ▶ Και τα τρία γονίδια *c-ras* έχουν γλυκίνη στη θέση 12. Αν αυτή αντικατασταθεί *in vitro* από οποιοδήποτε από τα υπόλοιπα 19 αμινοξέα, εκτός από την προλίνη, το μεταλλαγμένο γονίδιο *c-ras* αποκτά ογκογονικότητα και η ταυτότητα του αμινοξέος που θα αντικαταστήσει τη γλυκίνη επηρεάζει το δυναμικό μετασχηματισμού.
- ▶ Στα άγριου τύπου γονίδια *c-ras* υπάρχει γλουταμίνη στη θέση 61. Η αντικατάστασή της από ένα άλλο αμινοξύ δημιουργεί συνήθως ένα γονίδιο με δυναμικό μετασχηματισμού. Μερικές αντικαταστάσεις είναι λιγότερο αποτελεσματικές από άλλες, ενώ η προλίνη και το γλουταμικό οξύ είναι οι μόνες αντικαταστάσεις που δεν έχουν καμία επίδραση.

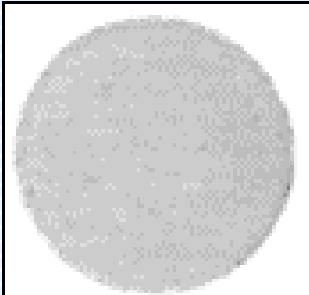
Συνοπτικά, από τα παραπάνω προκύπτει ένα σημαντικό συμπέρασμα: η ιδιοστατική ενεργοποίηση μιας κυτταρικής πρωτεΐνης μπορεί να είναι ογκογόνος. Στην περίπτωση της Ras, το αποτέλεσμα προκύπτει από την ενεργοποίηση του μονοπατιού της κινάσης ERK MAP (βλ. 28.14: *Το μονοπάτι Ras/MAPK είναι ευρύτατα συντηρημένο*) και ενδεχομένως άλλων μονοπατιών. Το επίπεδο έκφρασης βρίσκεται σε ευαίσθητη ισορροπία, δεδομένου ότι η υπερδιέγερση της Ras, είτε λόγω αυξημένης έκφρασης είτε λόγω μετάλλαξης, έχει ογκογόνες συνέπειες.

Μετάλλαξη στο *ras* = Καρκίνος ?...Τα πράγματα δεν είναι τόσο απλά...

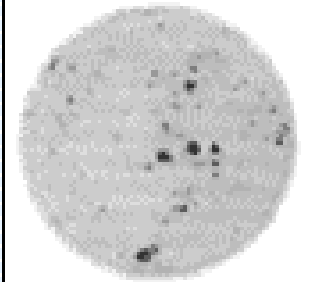
Land, H., Parada, L. F., and Weinberg, R. A. (1983).

Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. *Nature* 304, 596-602.

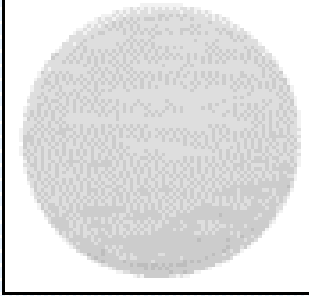
ras



ras
+
myc



myc



This oncogene collaboration indicated that cellular oncogenes did not constitute a single, analogously functioning group of genes. Instead, these two oncogenes—*ras* and *myc*—seemed to work in distinct, complementary ways on cell phenotype. We speculated that by extension, the genomes of human tumor cells also carried two or more mutated genes that collaborate to drive the cell into a malignant growth state.

So the discovery of the cellular *ras* oncogene was a start, but no more than that.

Γιατί η χιμαιρική πρωτεΐνη είναι ογκογόνος; Η πρωτεΐνη Bcr-Abl φαίνεται να ενεργοποιεί το μονοπάτι μετασχηματισμού της Ras. Υπάρχουν πολλοί τρόποι για να γίνει αυτό, ένας από τους οποίους είναι η ενεργοποίηση των προσαρμοστών Grb2 και SHC (βλ. 28.14: *Το μονοπάτι Ras/MAPK είναι ευρύτατα συντηρημένο*). Και οι δύο περιοχές της χιμαιρικής πρωτεΐνης (Bcr και c-Abl) φαίνεται να είναι σημαντικές για το μετασχηματισμό.

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Μέχρι τώρα έχουν ανακαλυφθεί 100 περίπου **ογκογονίδια**. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών συμμετέχουν σ' έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών δραστηριοτήτων και λειτουργούν ως:

- α. μεμβρανικοί υποδοχείς για ορμόνες ή αυξητικούς παράγοντες,
- β. πρωτεϊνικοί αυξητικοί παράγοντες,
- γ. πρωτεϊνικές κινάσες (προάγουν την κυτταρική διαίρεση, και ορισμένες τη μετάσταση),
- δ. G πρωτεΐνες,
- ε. υποδοχείς στεροειδών ορμονών ή ορμονών του θυρεοειδούς αδένος,
- ζ. πυρηνικές πρωτεΐνες, οι οποίες πιθανόν ρυθμίζουν την γονιδιακή δράση.

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Μέχρι τώρα έχουν ανακαλυφθεί 100 περίπου **ογκογονίδια**. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών συμμετέχουν σ' έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών δραστηριοτήτων και λειτουργούν ως:

- α. μεμβρανικοί υποδοχείς για ορμόνες ή αυξητικούς παράγοντες,
- β. πρωτεϊνικοί αυξητικοί παράγοντες,
- γ. πρωτεϊνικές κινάσες (προάγουν την κυτταρική διαίρεση, και ορισμένες τη μετάσταση),
- δ. G πρωτεΐνες,**
- ε. υποδοχείς στεροειδών ορμονών ή ορμονών του θυρεοειδούς αδένος,
- ζ. πυρηνικές πρωτεΐνες, οι οποίες πιθανόν ρυθμίζουν την γονιδιακή δράση.

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Μέχρι τώρα έχουν ανακαλυφθεί 100 περίπου **ογκογονίδια**. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών συμμετέχουν σ' έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών δραστηριοτήτων και λειτουργούν ως:

α. μεμβρανικοί υποδοχείς για ορμόνες ή αυξητικούς παράγοντες,

β. πρωτεϊνικοί αυξητικοί παράγοντες,

γ. πρωτεϊνικές κινάσες (προάγουν την κυτταρική διαίρεση, και ορισμένες τη μετάσταση),

δ. G πρωτεΐνες,

ε. υποδοχείς στεροειδών ορμονών ή ορμονών του θυρεοειδούς αδένου,

ζ. πυρηνικές πρωτεΐνες, οι οποίες πιθανόν ρυθμίζουν την γονιδιακή δράση.

Το ογκογονίδιο *v-erb* είναι μια περικομμένη έκδοση του *c-erbB*, που κωδικοποιεί τον υποδοχέα του EGF. Η ογκοπρωτεΐνη διατηρεί την περιοχή της κινάσης τυροσίνης και τις διαμεμβρανικές επικράτειες, αλλά δεν έχει το N-τελικό τμήμα της πρωτεΐνης που δεσμεύει τον EGF, ούτε το C-τελικό άκρο. Και τα δύο ελλείμματα φαίνεται να είναι απαραίτητα για την ογκογονικότητα. Η αλλαγή στην εξωκυτταρική N-τελική επικράτεια επιτρέπει στην πρωτεΐνη να διμερίζεται αυθόρμητα, ενώ το C-τελικό έλλειμμα αφαιρεί από την κυτταροπλασματική πλευρά μια περιοχή που έχει την ικανότητα να καταστέλλει το δυναμικό μετασχηματισμού. Μια άλλη μετάλλαξη ενεργοποιεί την καταλυτική επικράτεια. Έτσι, η ογκογονικότητα οφείλεται στο συνδυασμό των μεταλλάξεων που καθιστούν τον υποδοχέα ιδιοστατικά ενεργό.

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Μέχρι τώρα έχουν ανακαλυφθεί 100 περίπου **ογκογονίδια**. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών συμμετέχουν σ' έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών δραστηριοτήτων και λειτουργούν ως:

- α. μεμβρανικοί υποδοχείς για ορμόνες ή αυξητικούς παράγοντες,
- β. πρωτεϊνικοί αυξητικοί παράγοντες,
- γ. πρωτεϊνικές κινάσες (προάγουν την κυτταρική διαίρεση, και ορισμένες τη μετάσταση),**
- δ. G πρωτεΐνες,
- ε. υποδοχείς στεροειδών ορμονών ή ορμονών του θυρεοειδούς αδένου,
- ζ. πυρηνικές πρωτεΐνες, οι οποίες πιθανόν ρυθμίζουν την γονιδιακή δράση.

Ο μετασχηματισμός φυσιολογικών κυττάρων μπορεί να είναι το αποτέλεσμα μόλυνσης από ογκογόνο ιό

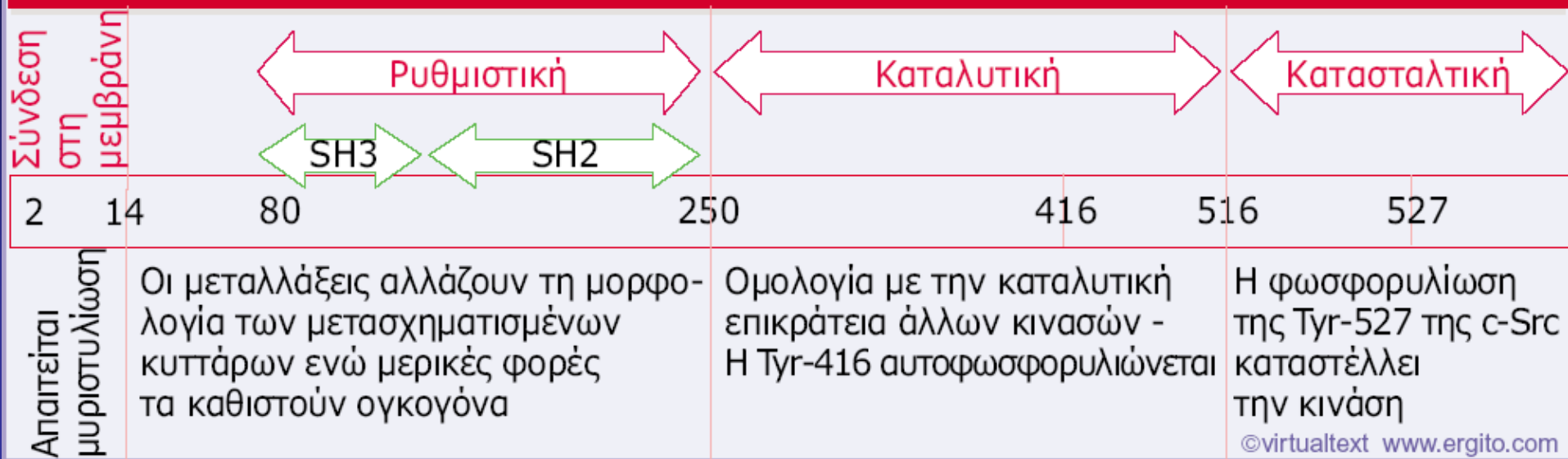
Rous, P. (1911) A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from tumor cells. *J. Exp. Med.* 13, 397-411.

Brugge, J. S. and Erikson, R. L. (1977) Identification of a transformation-specific antigen induced by an avian sarcoma virus. *Nature* 269, 346-348.

Levinson, A. D., Oppermann, H., Levintow, L., Varmus, H. E., and Bishop, J. M. (1978). Evidence that the transforming gene of avian sarcoma virus encodes a protein kinase associated with a phosphoprotein. *Cell* 15, 561-572.

Hunter, T. and Sefton, B. M. (1980). Transforming gene product of Rous sarcoma virus phosphorylates tyrosine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 1311-1315.

Η Src φέρει μοτίβα SH3 και SH2, καθώς και καταλυτικές και κατασταλτικές επικράτειες

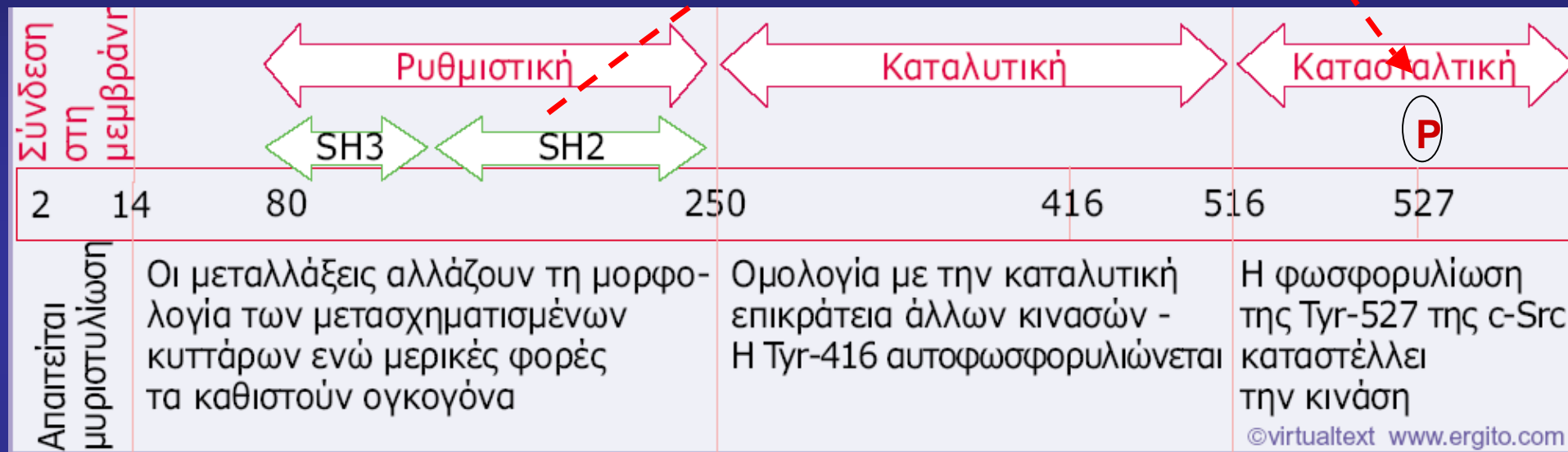


Εικόνα 30.22 Μια πρωτεΐνη Src διαθέτει μία N-τελική επικράτεια που συνδέεται με τη μεμβράνη, μία ρυθμιστική επικράτεια που περιλαμβάνει τα μοτίβα SH2 και SH3, μία καταλυτική επικράτεια κινάσης και (μόνο η c-Src) μία επικράτεια αρνητικής ρύθμισης.

Src protein-tyrosine kinase structure and regulation

Roskoski R.

Bioch. Bioph. Res. Com. 2004 324:1155-1164



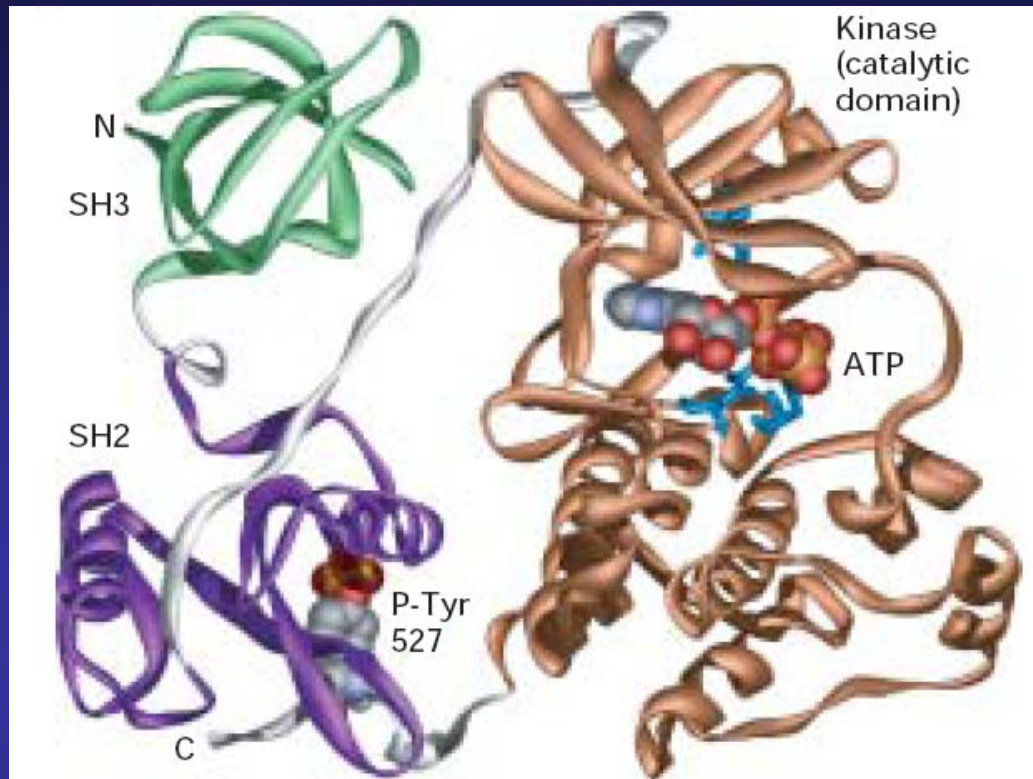
Εικόνα 30.22 Μια πρωτεΐνη Src διαθέτει μία N-τελική επικράτεια που συνδέεται με τη μεμβράνη, μία ρυθμιστική επικράτεια που περιλαμβάνει τα μοτίβα SH2 και SH3, μία καταλυτική επικράτεια κινάσης και (μόνο η c-Src) μία επικράτεια αρνητικής ρύθμισης.

Src protein-tyrosine kinase structure and regulation

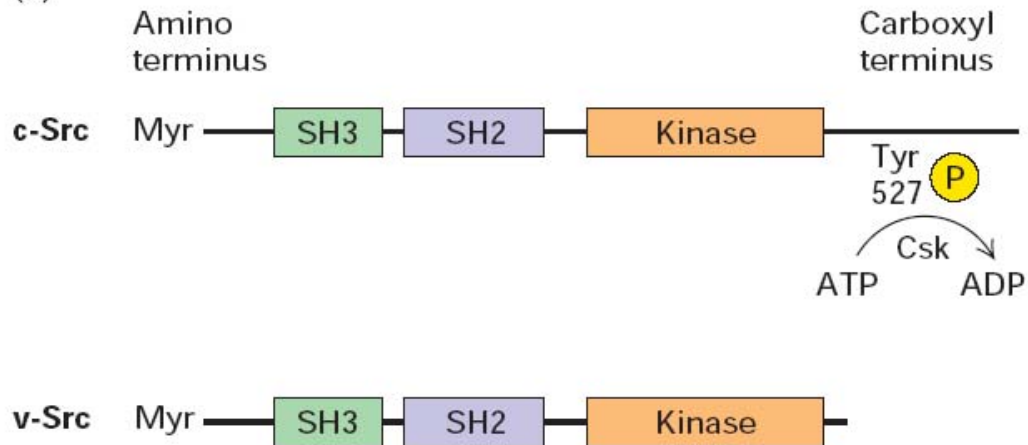
Roskoski R.

Bioch. Bioph. Res. Com. 2004 324:1155-1164

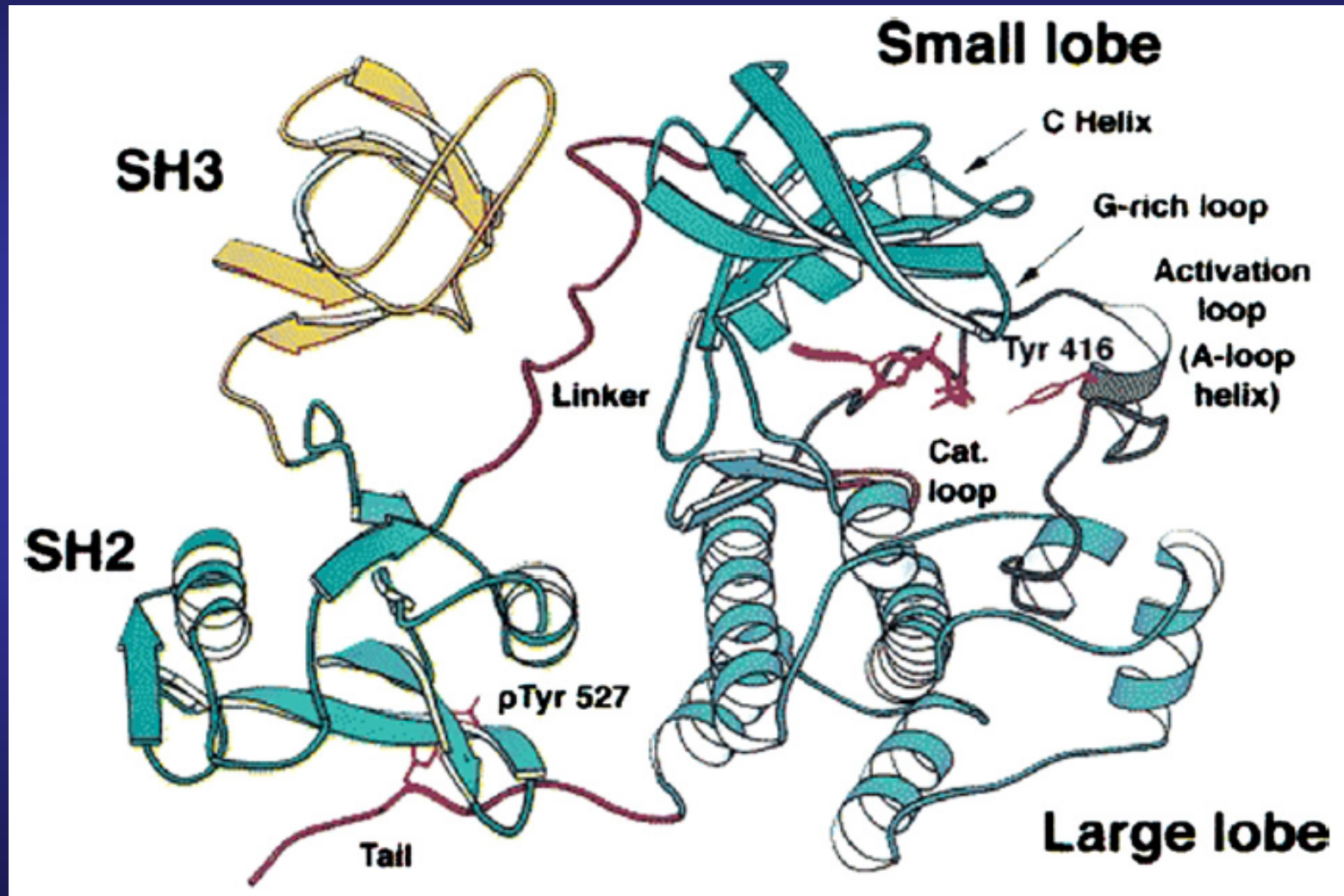
Δομή της κινάσης Src



(b)

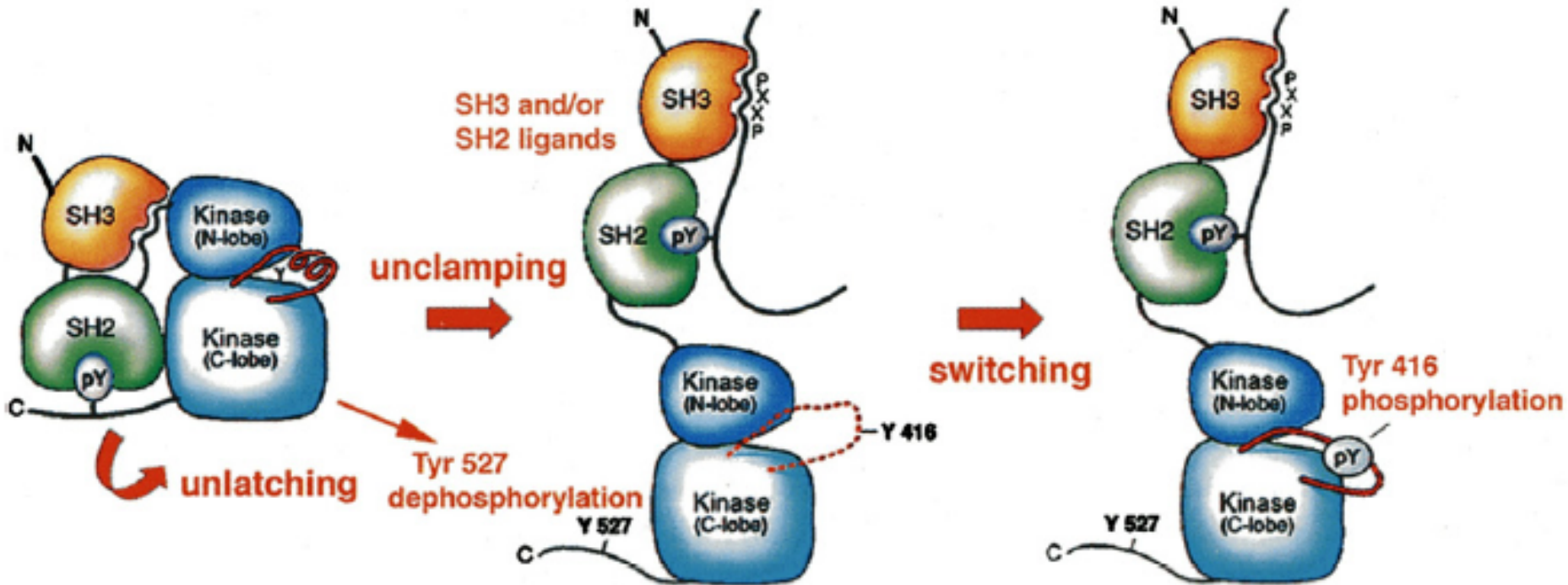


Η δομή της κινάσης Src



Ενεργοποίηση της κινάσης Src

Src



Ενεργοποίηση της κινάσης Src από άλλους παράγοντες

Η δέσμευση του μεσαίου αντιγόνου T του ιού πολυώμα στην C-τελική περιοχή της c-Src την ενεργοποιεί, αφού αποτρέπει τη φωσφορυλίωσή της στη θέση Tyr-527 που εντοπίζεται μέσα στην περιοχή δέσμευσης του αντιγόνου.

Μερικές μεταλλάξεις στην επικράτεια SH2 της c-Src μπορούν να ενεργοποιήσουν την ενεργότητα κινάσης (με ογκογόνες συνέπειες), πιθανόν επειδή την εμποδίζουν να δεσμεύσει την Tyr-527. Οι μεταλλάξεις στις επικράτειες SH2 και SH3 της c-Src μπορεί να επηρεάσουν την εξειδίκευσή της όσον αφορά το μετασχηματισμό διαφόρων τύπων κυττάρων-στόχων, που σημαίνει ότι αυτές οι περιοχές μάλλον συνδέονται με άλλες (κυτταροειδικές) πρωτεΐνες του μονοπατιού.

Ποιά είναι η λειτουργία της c-Src και πώς συνδέεται με την ογκογονικότητα των v-Src;

Η ενεργότητα της v-Src είναι ~20 φορές υψηλότερη από αυτήν της c-Src. Ως τώρα δεν έχουμε μπορέσει να εξακριβώσουμε τη φυσιολογική λειτουργία της c-Src, παρότι πολύ μεγάλος αριθμός πρωτεϊνών έχει αναγνωρισθεί ως στόχος της ενεργότητας κινάσης της. Οι περισσότερες από αυτές τις πρωτεΐνες είναι στοιχεία μονοπατιών σηματοδότησης, ενώ μερικές συμμετέχουν στους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης του κυττάρου με το περιβάλλον του. Η c-Src ενεργοποιείται από υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, όπως ο υποδοχέας του PDGF. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με την άποψη ότι η Src, όπως και άλλα ογκογονίδια, ενέχεται σε μονοπάτια σηματοδότησης που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη, των οποίων η ιδιοστατική ενεργοποίηση προκαλεί ογκογένεση.

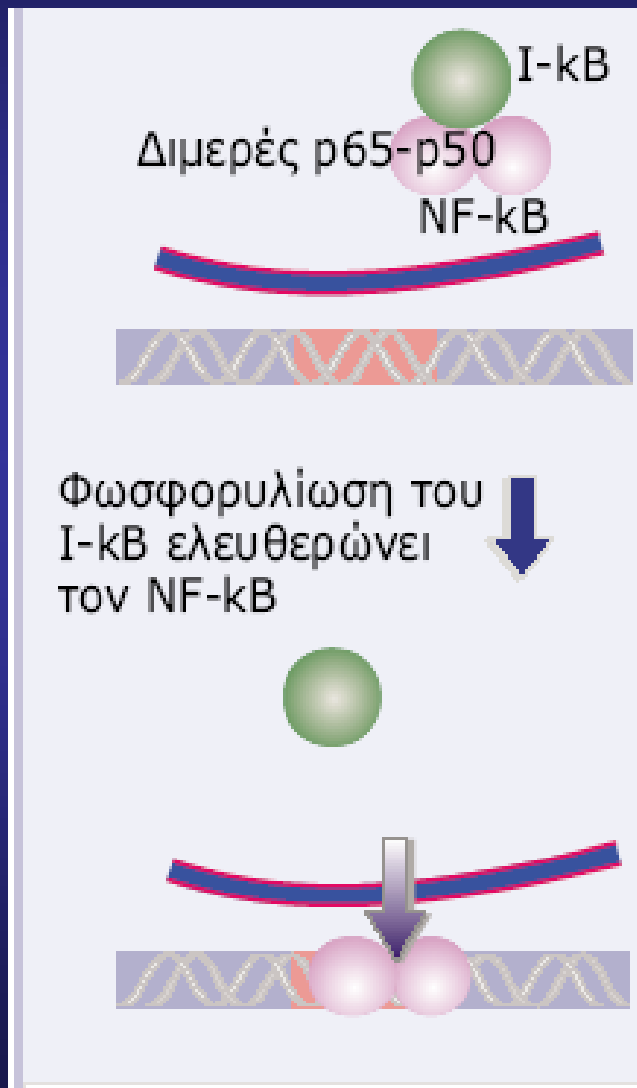
Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Μέχρι τώρα έχουν ανακαλυφθεί 100 περίπου **ογκογονίδια**. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών συμμετέχουν σ' έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών δραστηριοτήτων και λειτουργούν ως:

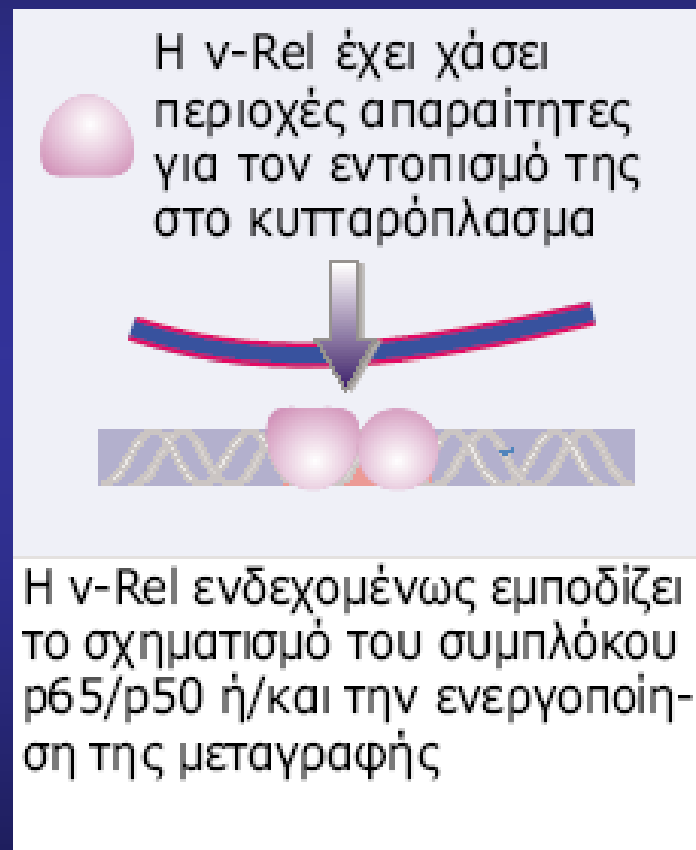
- α. μεμβρανικοί υποδοχείς για ορμόνες ή αυξητικούς παράγοντες,
- β. πρωτεϊνικοί αυξητικοί παράγοντες,
- γ. πρωτεϊνικές κινάσες (προάγουν την κυτταρική διαίρεση, και ορισμένες τη μετάσταση),
- δ. G πρωτεΐνες,
- ε. υποδοχείς στεροειδών ορμονών ή ορμονών του θυρεοειδούς αδένος,
- ζ. πυρηνικές πρωτεΐνες, οι οποίες πιθανόν ρυθμίζουν την γονιδιακή δράση.

Ένα ογκογονίδιο μπορεί να ενεργοποιεί ή να απενεργοποιεί τη μεταγραφή

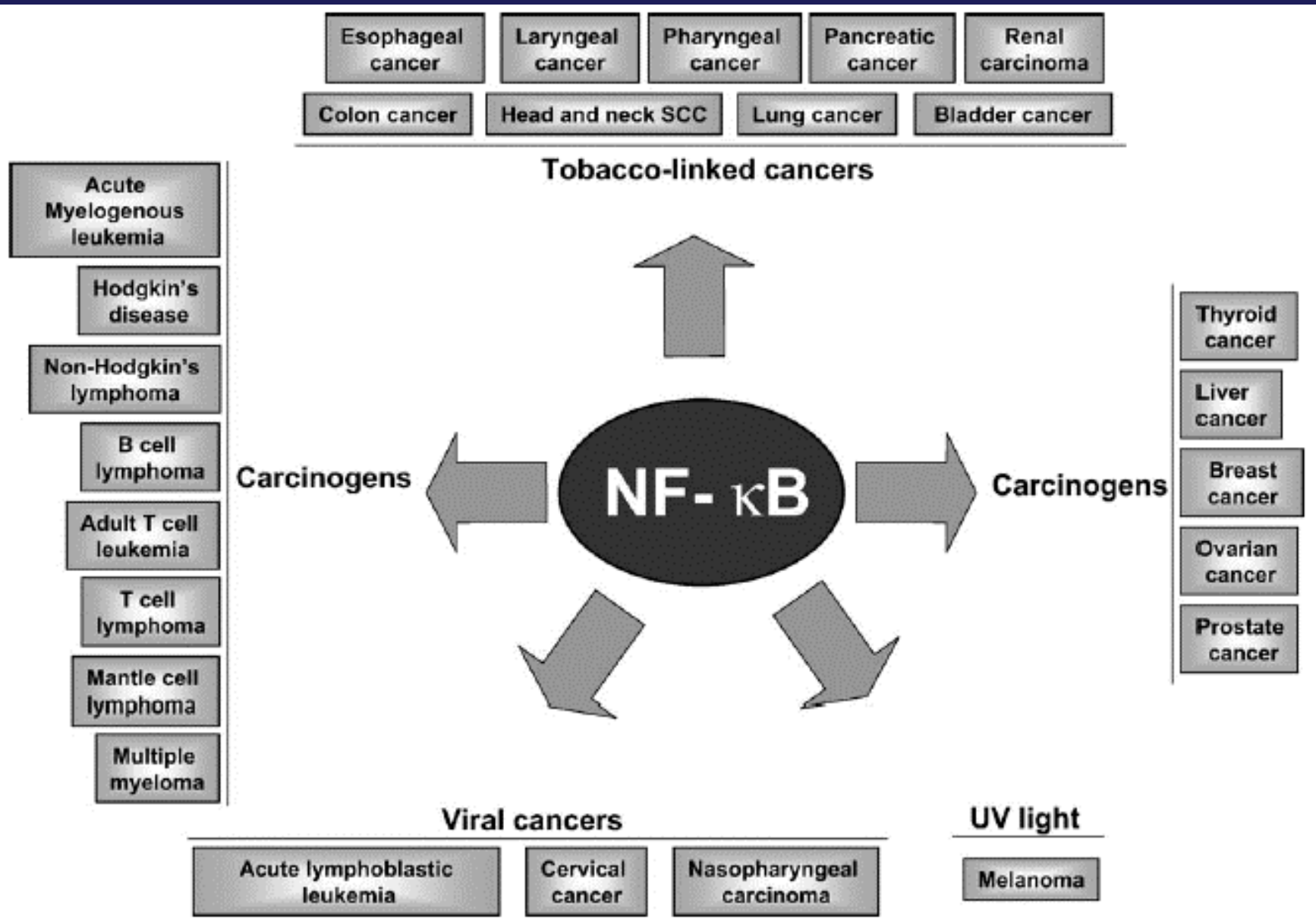
Μηχανισμός του παράγοντα



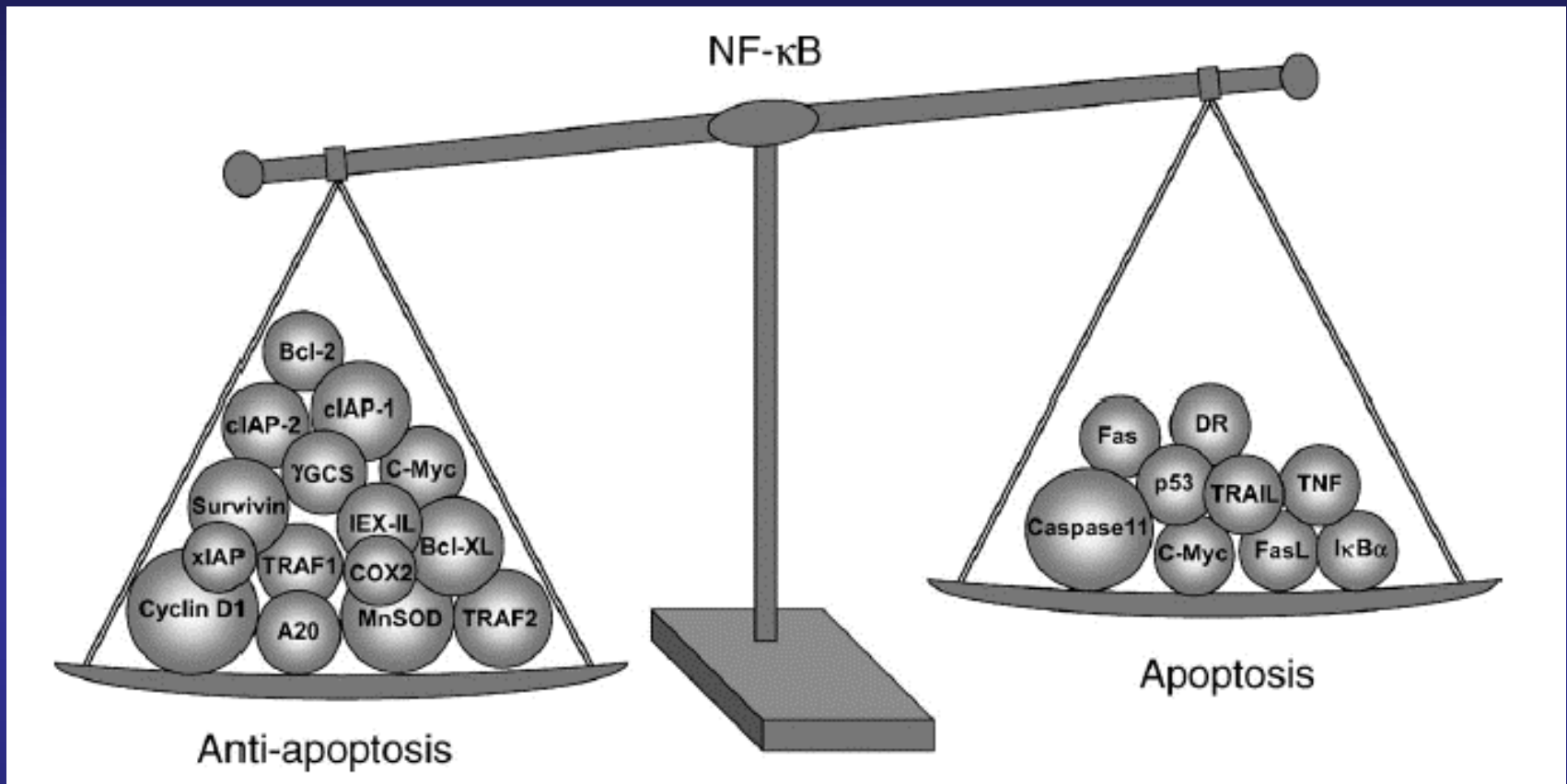
Δράση του ογκογόνου παράγοντα



Μορφές καρκίνου που έχουν συνδεθεί με την ιδιοστατική ενεργοποίηση του NF-κΒ



Προϊόντα γονιδίων που σχετίζονται με την απόπτωση και ελέγχονται από τον NF-κB



Βιβλιογραφία

Nuclear factor-κB: a friend or a foe in cancer?

Shishodia S and B. Aggarwal

Bioch. Pharmacology 2004 68:1071-1080

Η ιδιοστατική ενεργοποίηση του NF-κB μπορεί να οδηγήσει σε μετάσταση

Nuclear factor kappaB activity correlates with growth, angiogenesis, and metastasis of human melanoma cells in nude mice.

Huang S, et al. Clin Cancer Res 2000;6(6):2573–81.

12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and tumor necrosis factor alpha-mediated induction of intercellular adhesion molecule-1 is inhibited by dexamethasone.

Functional analysis of the human intercellular adhesion molecular-1 promoter.

van de Stolpe A, et al. J Biol Chem 1994;269(8):6185–92.

NF-kappaB promotes breast cancer cell migration and metastasis by inducing the expression of the chemokine receptor CXCR4.

Helbig G, et al. J Biol Chem 2003;278(24):21631–8.

Function of nuclear factor kappaB in pancreatic cancer metastasis.

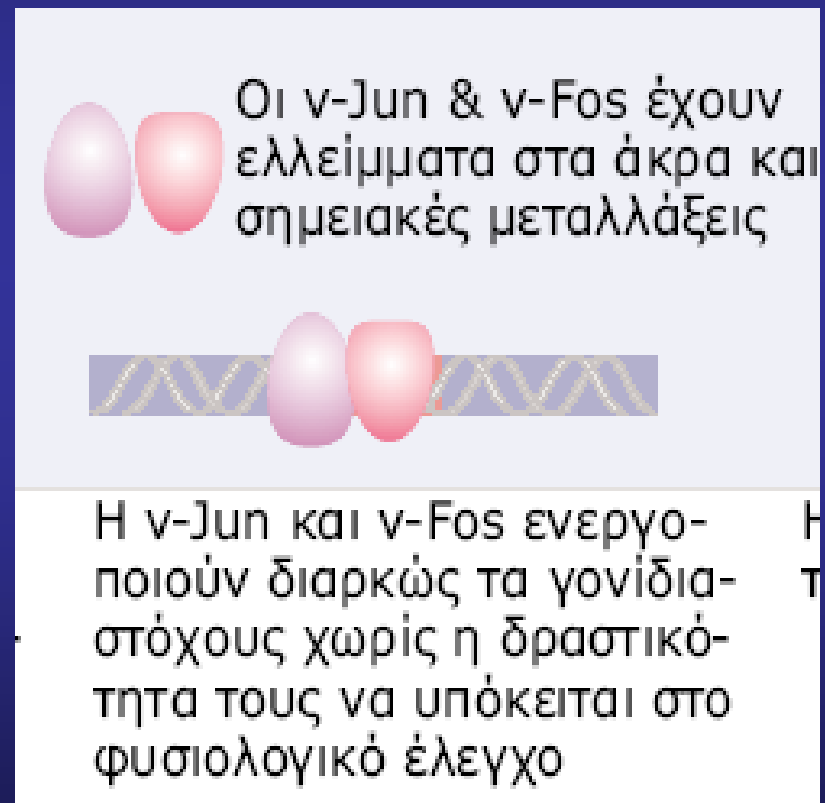
Fujioka S, et al. Clin Cancer Res 2003;9(1):346–54.

Ένα ογκογονίδιο μπορεί να ενεργοποιεί ή να απενεργοποιεί τη μεταγραφή

Μηχανισμός του παράγοντα



Δράση του ογκογόνου παράγοντα



Ο μεταγραφικός παράγοντας AP-1



FOS FAMILY

c-fos
Fra 1
Fra 2
Fos B

JUN FAMILY

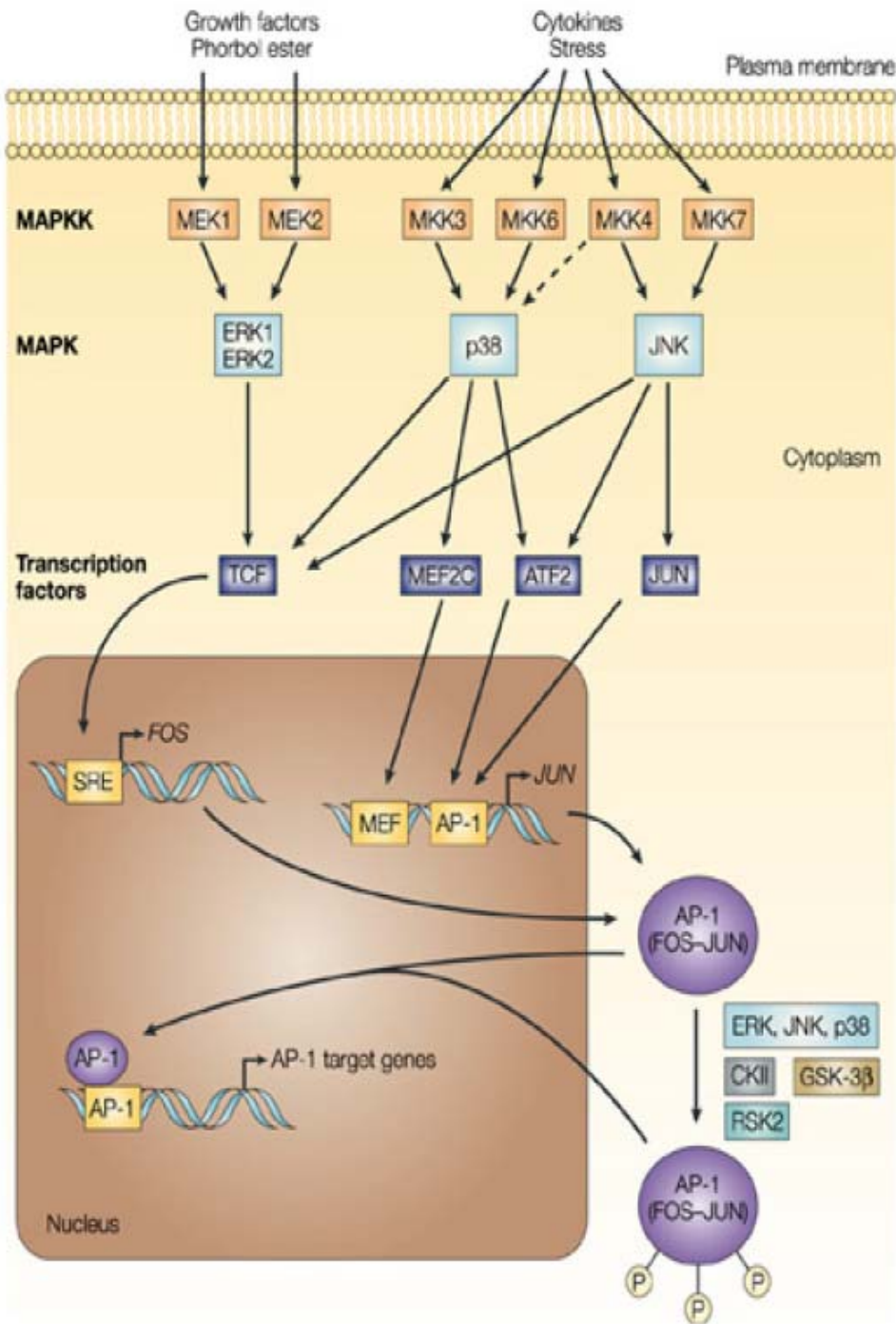
c-jun
jun B
jun D

Βιβλιογραφία

AP-1: One Switch for Many Signals

Ron Wisdom

[Exp Cell Research 1999 253:180-185](#)



Ενεργοποίηση του AP-1

AP-1 και καρκίνος

c-fos is required for malignant progression of skin tumors

Saez E, et al. Cell 1995, 82, 721-732

Cellular transformation and malignancy induced by ras require c-jun

Johnson R, et al Mol Cell Biol 1996, 16, 4504-4511.

The transactivating domain of the c-Jun proto-oncoprotein is required for co-transformation of rat embryo cells

Alani R, et al. Mol Cell Biol 1991, 11, 6286-6295.

Phenotypic alterations in fos-transgenic mice correlate with changes in Fos/Jun-dependent collagenase type I expression. Regulation of mouse metalloproteinases by carcinogens, tumor promoters, cAMP, and Fos oncoprotein

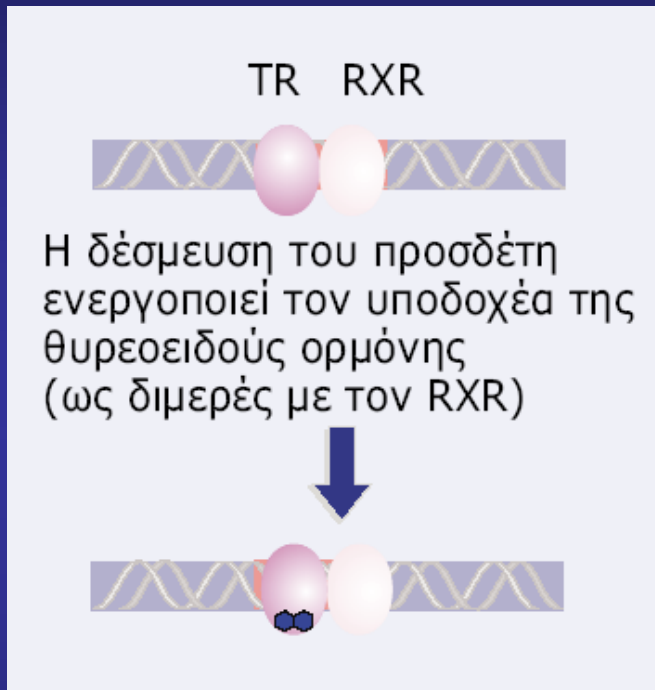
Gack S, et al. J Biol Chem 1994, 269, 10363±10369.

Fra-1 induces morphological transformation and increases in vitro invasiveness and motility of epithelioid adenocarcinoma cells

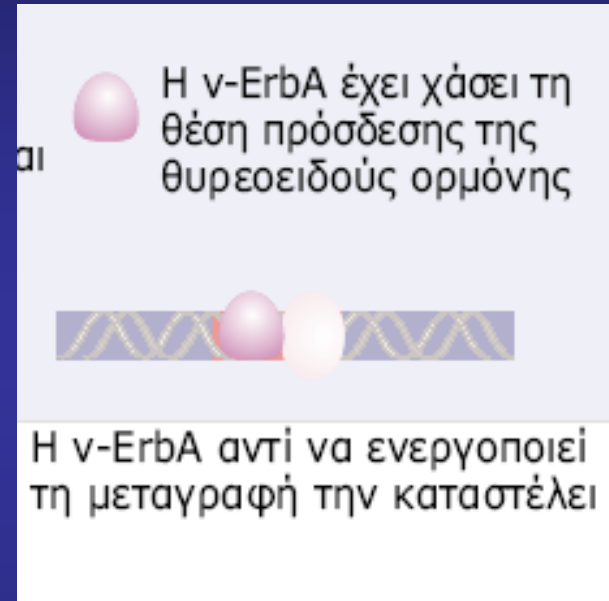
Kustikova O, et al. Mol Cell Biol 1998, 18, 7095±7105.

Ένα ογκογονίδιο μπορεί να ενεργοποιεί ή να απενεργοποιεί τη μεταγραφή

Μηχανισμός του παράγοντα



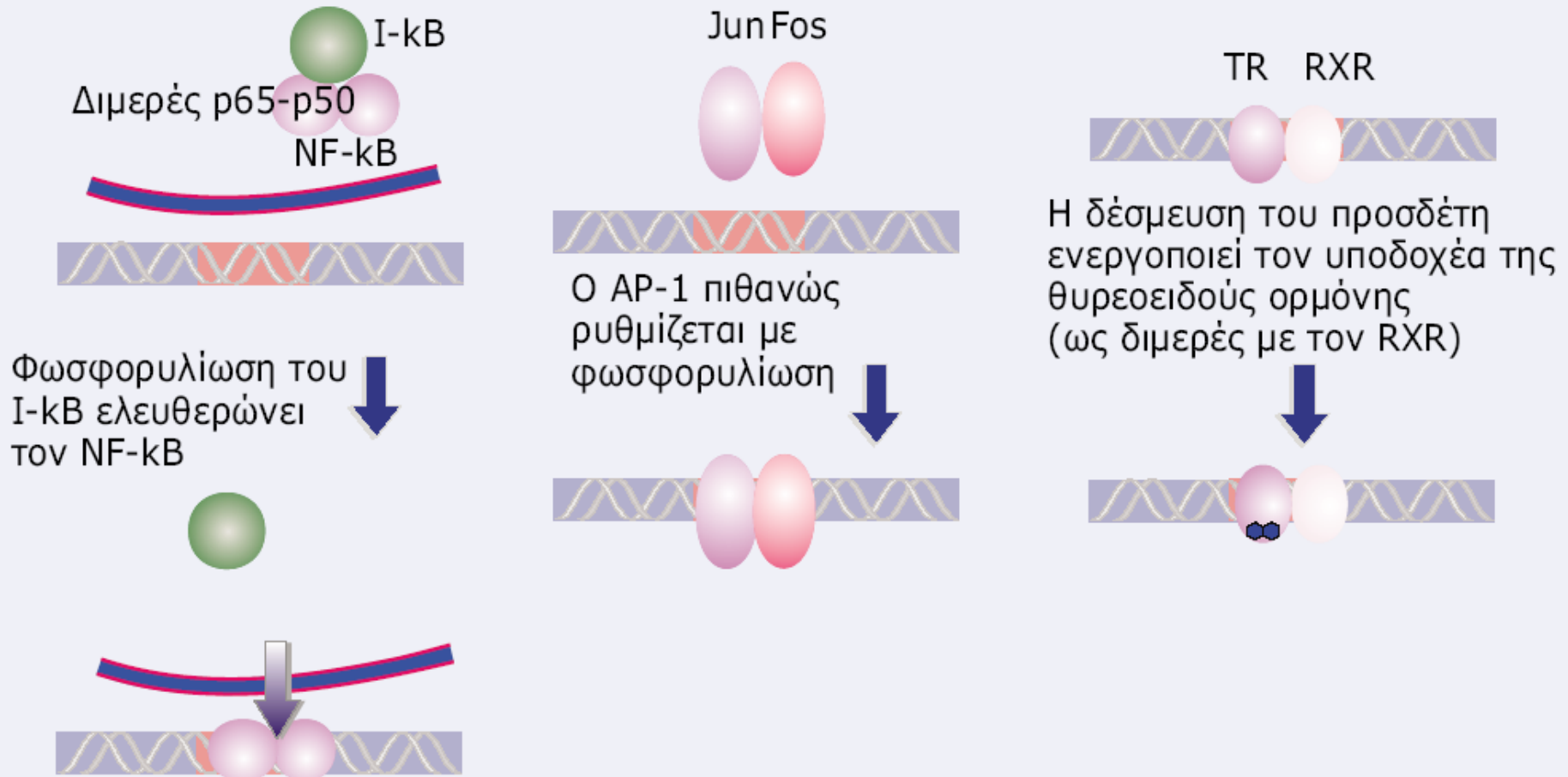
Δράση του ογκογόνου παράγοντα



Το v-erbA είναι κυρίαρχο αρνητικό ογκογονίδιο, δηλ αναστέλλει τη δράση του φυσιολογικού κυτταρικού ομολόγου του. Η λειτουργία του είναι να εμποδίζει τη μεταγραφή των γονιδίων που συνήθως ενεργοποιούνται από τη c-ErbA. Προφανώς, τα γονίδια που συνήθως ενεργοποιούνται από τη c-ErbA δρουν καταστέλλοντας το μετασχηματισμό, πιθανόν προάγοντας τη διαφοροποίηση. Παρεμπόδιση της δράσης τους, επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Ένα ογκογονίδιο μπορεί να ενεργοποιεί ή να απενεργοποιεί τη μεταγραφή

Μηχανισμός του παράγοντα



Εικόνα 30.26 Τα ογκογονίδια που κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες φέρουν μεταλλάξεις που απενεργοποιούν (*v-erbA* και πιθανόν *v-rel*) ή ενεργοποιούν (*v-jun* και *v-fos*) τη μεταγραφή.

Οι μεταγραφικοί παράγοντες ενεργοποιούνται με διάφορους τρόπους

Ανενεργή κατάσταση	Μηχανισμός ενεργοποίησης	Ενεργή κατάσταση	Παράδειγμα
Απουσία πρωτεΐνης	Σύνθεση πρωτεΐνης →		Ομοιωτικοί παράγοντες
Ανενεργή πρωτεΐνη	Φωσφορυλίωση πρωτεΐνης →		HSTF
Ανενεργή πρωτεΐνη	Αποφωσφορυλίωση πρωτεΐνης →		
Ανενεργή πρωτεΐνη	Δέσμευση προσδέτη →		Υποδοχείς στεροειδών
Ανενεργή πρωτεΐνη Καταστολέας	Απομάκρυνση καταστολέα →		NF-κB
Ανενεργή πρωτεΐνη Ανενεργός εταίρος	Αλλαγή εταίρου →		HLH (MyoD/ID)
Πρωτεΐνη συνδεδεμένη σε μιμβράνη	Απελευθέρωση του ενεργού παράγοντα με πέψη →		Απόκριση σε στερόλες

©virtualtext www.ergito.com

Εικόνα 22.12 Η ενεργότητα ενός ρυθμιστικού μεταγραφικού παράγοντα μπορεί να ελέγχεται από τη σύνθεση της πρωτεΐνης, την ομοιοπολική τροποποίηση της πρωτεΐνης, τη δέσμευση ενός προσδέτη ή, τέλος, την πρόσδεση καταστολέων, οι οποίοι αιχμαλωτίζουν την πρωτεΐνη ή επηρεάζουν την ικανότητά της να προσδέεται στο DNA.

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Μέχρι τώρα έχουν ανακαλυφθεί 100 περίπου **ογκογονίδια**. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών συμμετέχουν σ' έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών δραστηριοτήτων και λειτουργούν ως:

- α. μεμβρανικοί υποδοχείς για ορμόνες ή αυξητικούς παράγοντες,
- β. πρωτεϊνικοί αυξητικοί παράγοντες,
- γ. πρωτεϊνικές κινάσες (προάγουν την κυτταρική διαίρεση, και ορισμένες τη μετάσταση),
- δ. G πρωτεΐνες,
- ε. υποδοχείς στεροειδών ορμονών ή ορμονών του θυρεοειδούς αδένος,
- ζ. πυρηνικές πρωτεΐνες, οι οποίες πιθανόν ρυθμίζουν την γονιδιακή δράση.

Το κοινό χαρακτηριστικό είναι ότι καθεμιά από αυτές τις ομάδες πρωτεϊνών μπορεί να προκαλέσει γενικές αλλαγές του κυτταρικού φαινοτύπου, είτε πυροδοτώντας αλλαγές στη διαδικασία της κυτταρικής αύξησης είτε μεταβάλλοντας άμεσα τη γονιδιακή έκφραση.

συνήθεις στόχους του βασικού μονοπατιού. Η γενική αρχή είναι ξεκάθαρη: *η ανώμαλη ενεργοποίηση μιτογόνων μονοπατιών μπορεί να συνεισφέρει στην ογκογονικότητα*, αλλά ακόμα δεν μπορούμε να εξηγήσουμε πώς η ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών αλλάζει τις ιδιότητες των κυττάρων κατά την αθανατοποίηση ή το μετασχηματισμό.

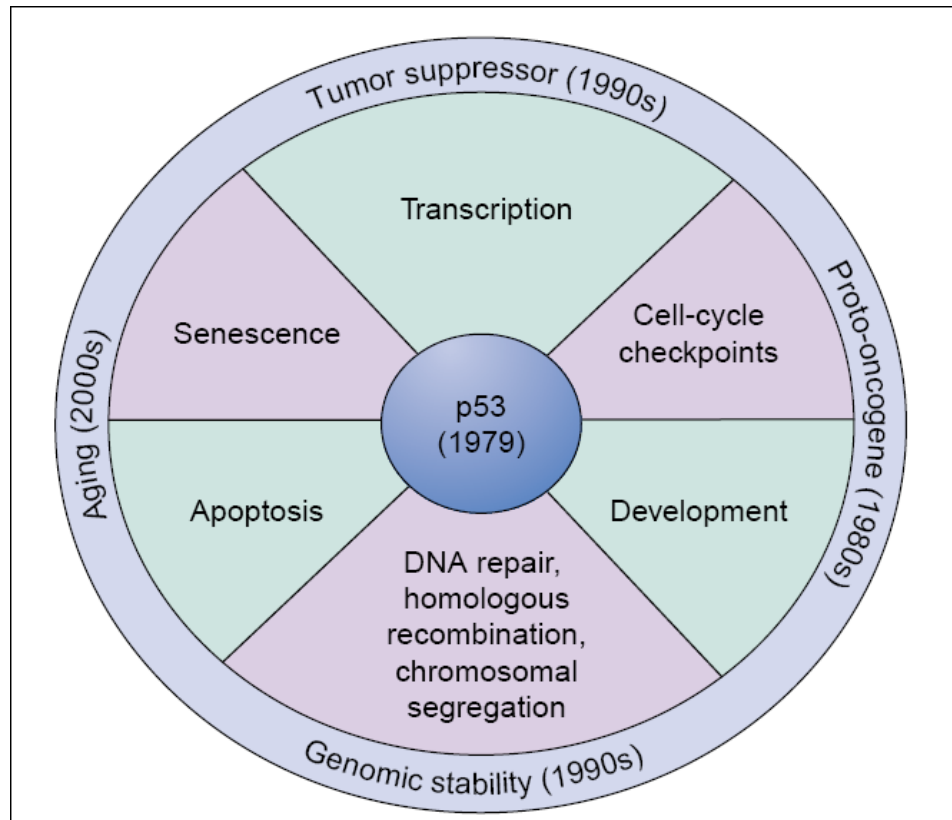
Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Τα **ογκογονίδια** (oncogenes) αρχικά ταυτοποιήθηκαν σε ιούς ως τα γονίδια εκείνα που προκαλούν μετασχηματισμό στα κύτταρα-ξενιστές. Εν συνεχεία αποκαλύφθηκε ότι στα κύτταρα των ευκαρυωτικών οργανισμών υπάρχουν ομόλογα τέτοιων ιικών ογκογονιδίων που ενέχονται σε φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες. Τα γονίδια αυτά καλούνται **πρωτο-ογκογονίδια** (proto-oncogenes). Η δημιουργία ενός ογκογονιδίου χαρακτηρίζεται ως κέρδος λειτουργίας (gain-of-function) ενός κυτταρικού πρωτο-ογκογονιδίου που φυσιολογικά θα παρέμενε ανενεργό. Αντίστροφα, οι υπολειπόμενες μεταλλάξεις (loss-of-function) που οδηγούν σε απώλεια της λειτουργίας του προσβεβλημένου γονιδίου μπορεί να εξαλείψουν ή να αδρανοποιήσουν **ογκοκατασταλτικά γονίδια** (tumor – suppressor genes), των οποίων τα φυσιολογικά προϊόντα είναι απαραίτητα για τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

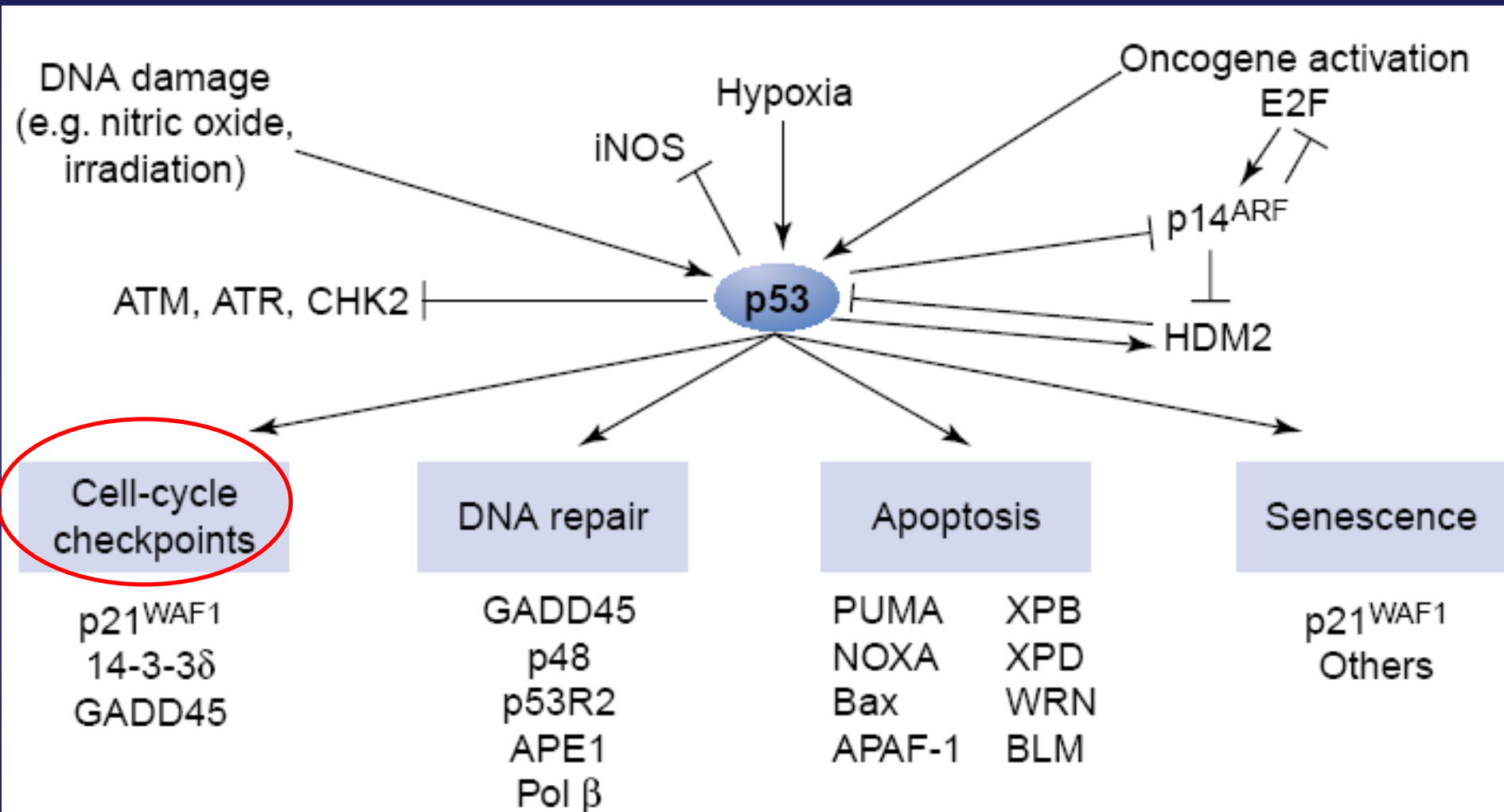
Η ανακάλυψη του p53

Lane, D. P. and Crawford, L. V. (1979). T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 278, 261-263.

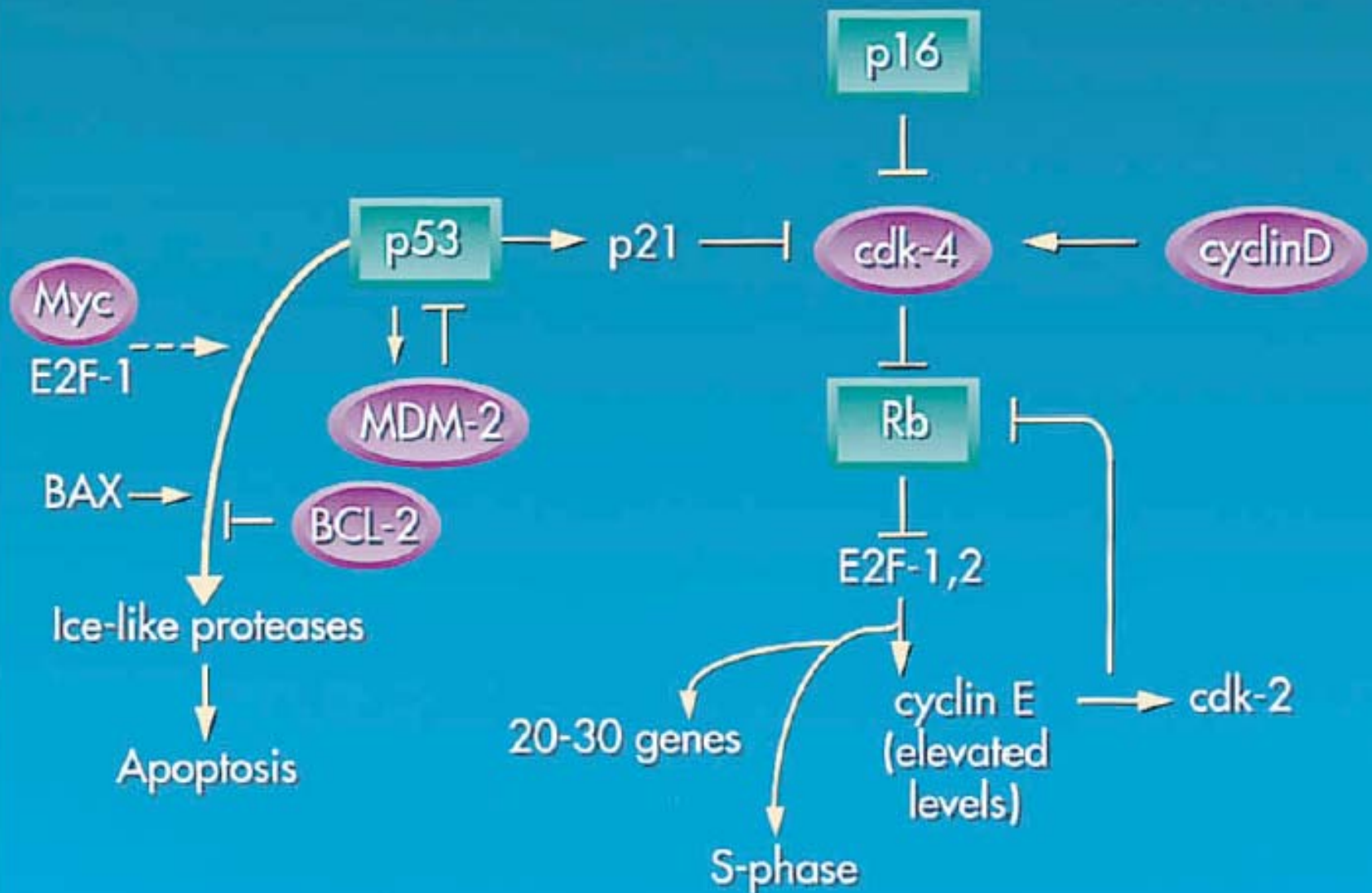
Linzer, D. I., Maltzman, W., and Levine, A. J. (1979). The SV40 A gene product is required for the production of a 54,000 MW cellular tumor antigen. *Virology* 98, 308-318.



Η p53 συμμετέχει στην ενεργοποίηση πολλών κυτταρικών μονοπατιών

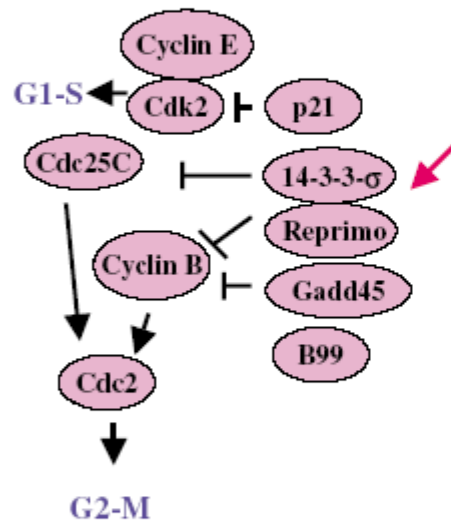


P53-Rb Pathway

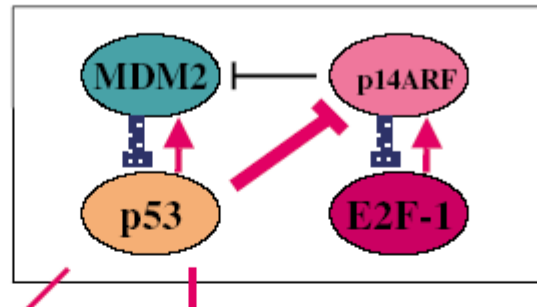


Downstream Events of p53

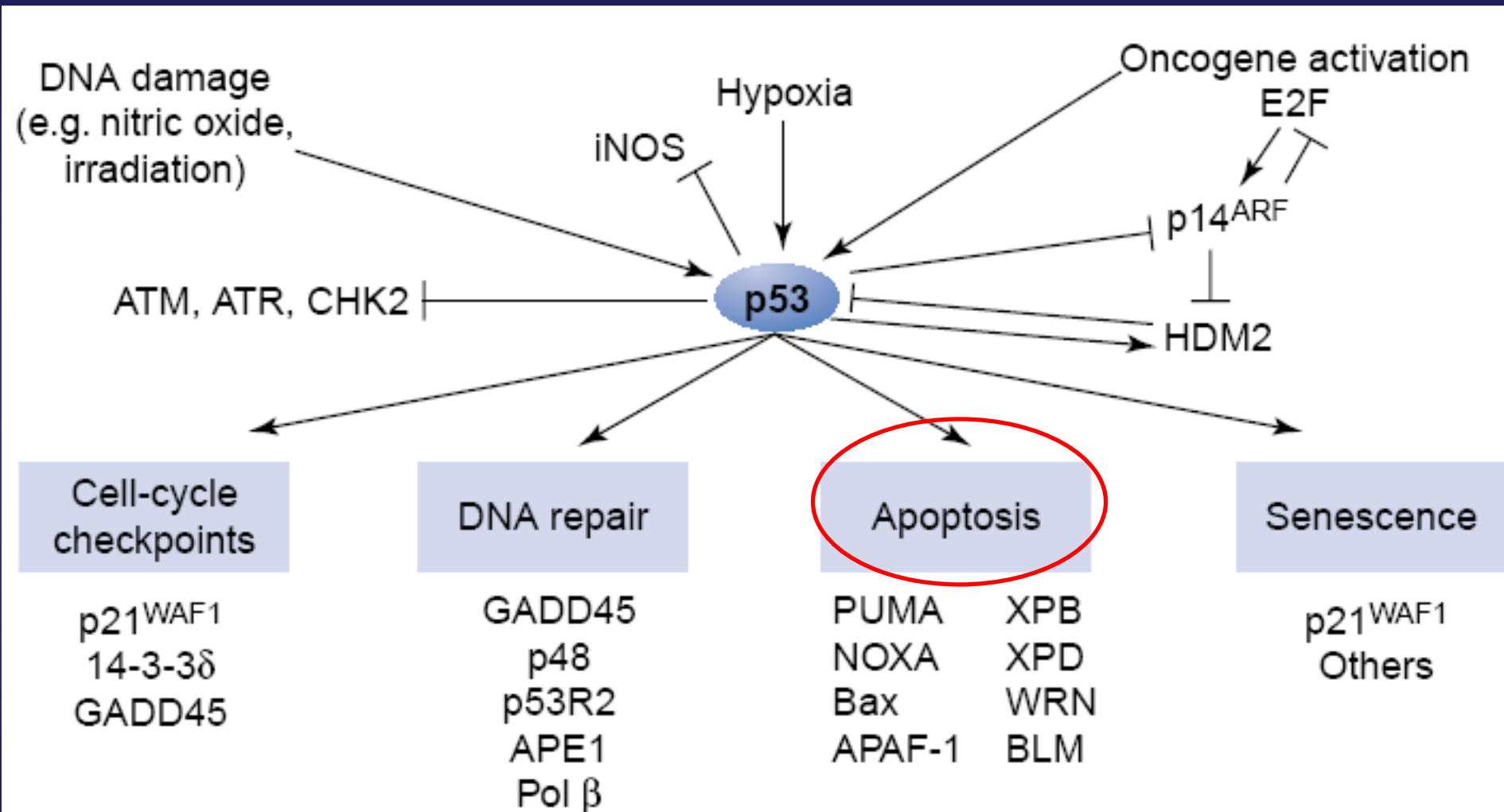
Core Regulation



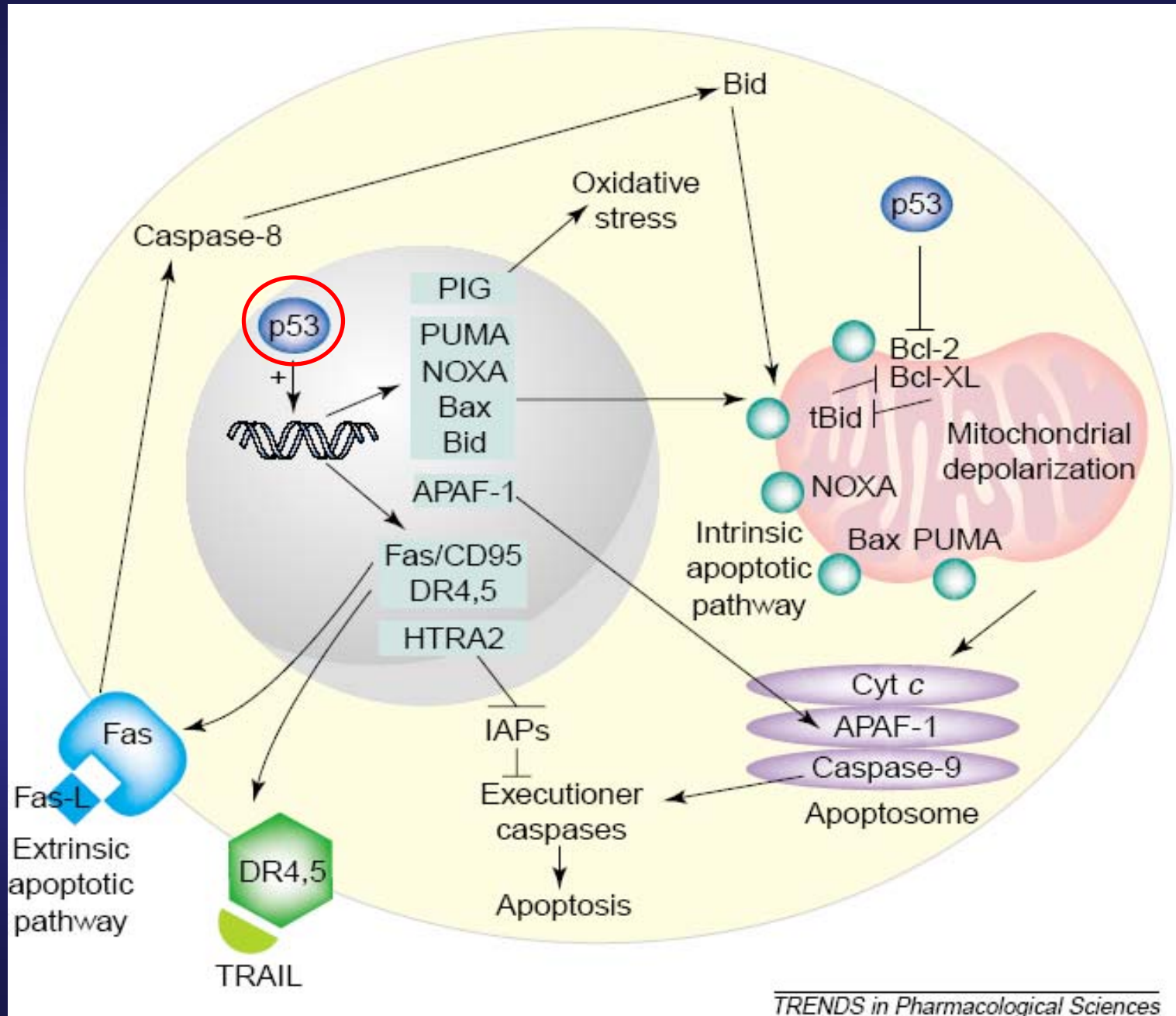
Cell Cycle Arrest



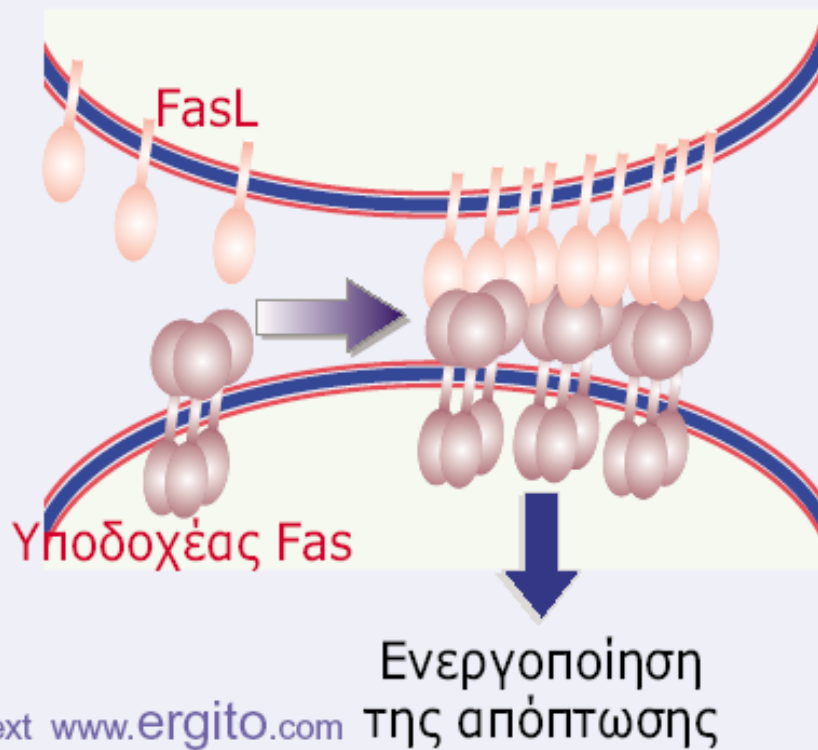
Το p53 συμμετέχει στην ενεργοποίηση πολλών κυτταρικών μονοπατιών



Ένα μοντέλο που περιγράφει την απόπτωση μέσω του p53



Ενεργοποιημένα από τον προσδέτη τριμερή του υποδοχέα σχηματίζουν συσσωματώματα



Εικόνα 29.49 Ο Fas σχηματίζει τριμερή που ενεργοποιούνται όταν η δέσμευση του FasL προκαλεί τη συσσωμάτωσή τους.

Ο Fas είναι συγγενικός με τον TNF- α R1

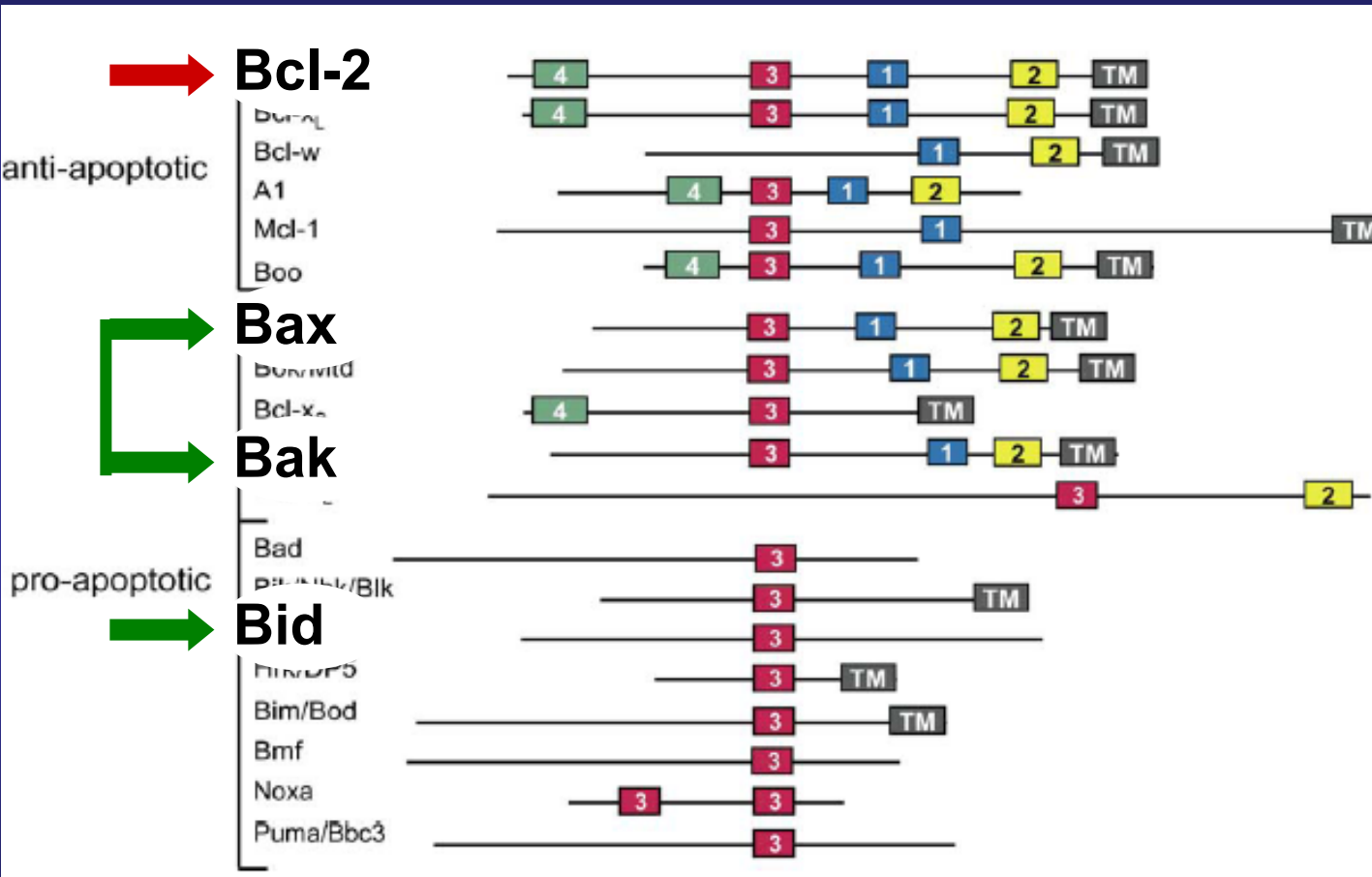
TNF- α = Tumor necrosis factor- α (Νεκρωτικός παράγοντας όγκου- α)

Death domain = Επικράτεια θανάτου

Ενδοκυτταρική περιοχή μήκους 80 α.α κοντά στο C-άκρο, 28% συντήρηση μεταξύ FasR και TNF- α R1.

Η Bcl-2 οικογένεια πρωτεϊνών

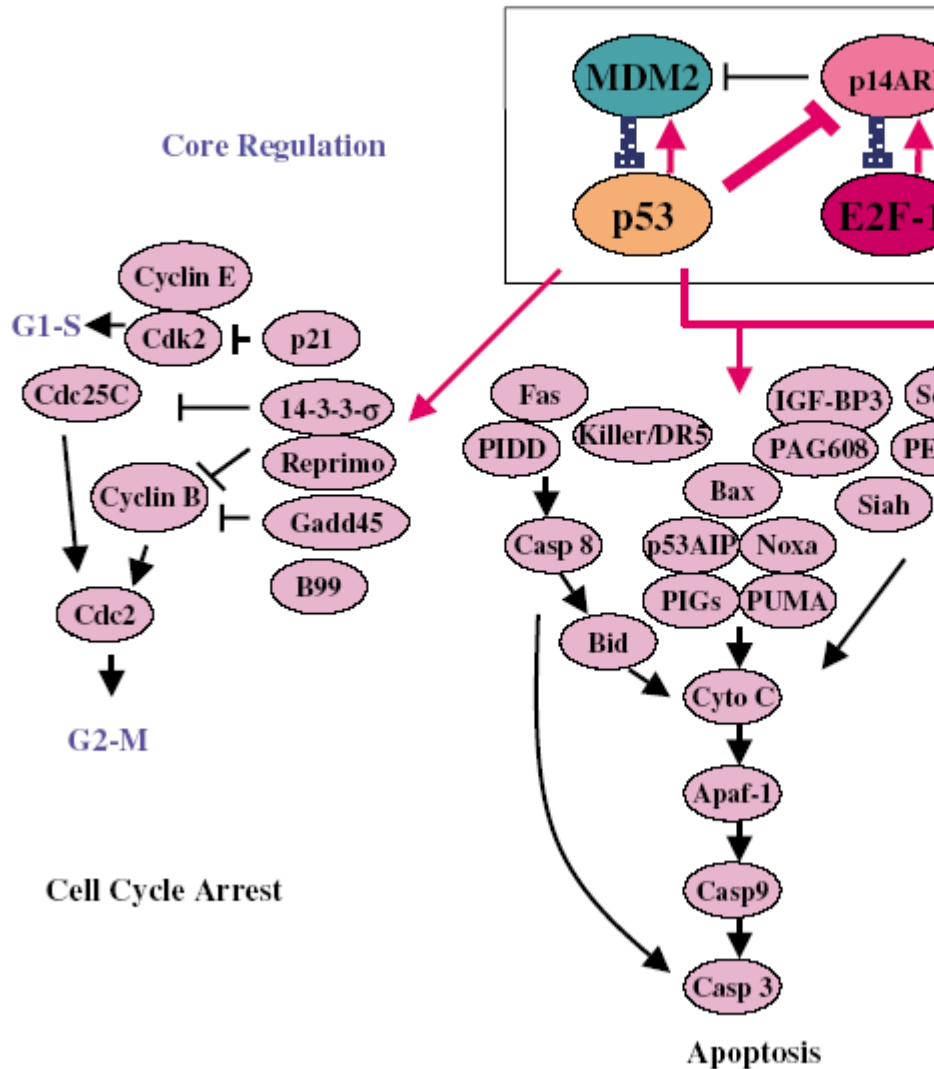
Ρυθμίζουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια. Σχηματίζουν ομοδιμερή και ετεροδιμερή.



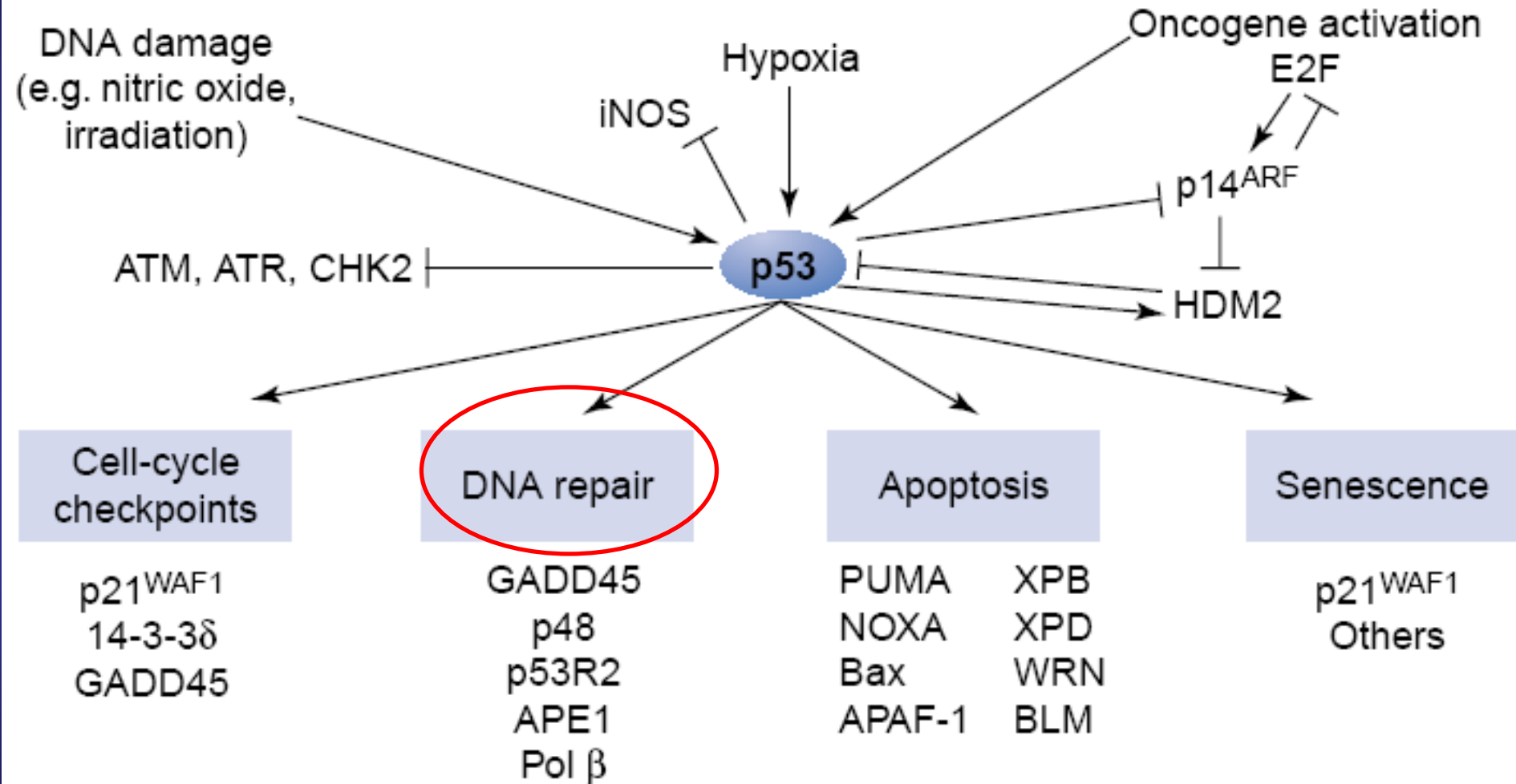
Bcl-2 homology regions 1-4

TM : transmembrane regions

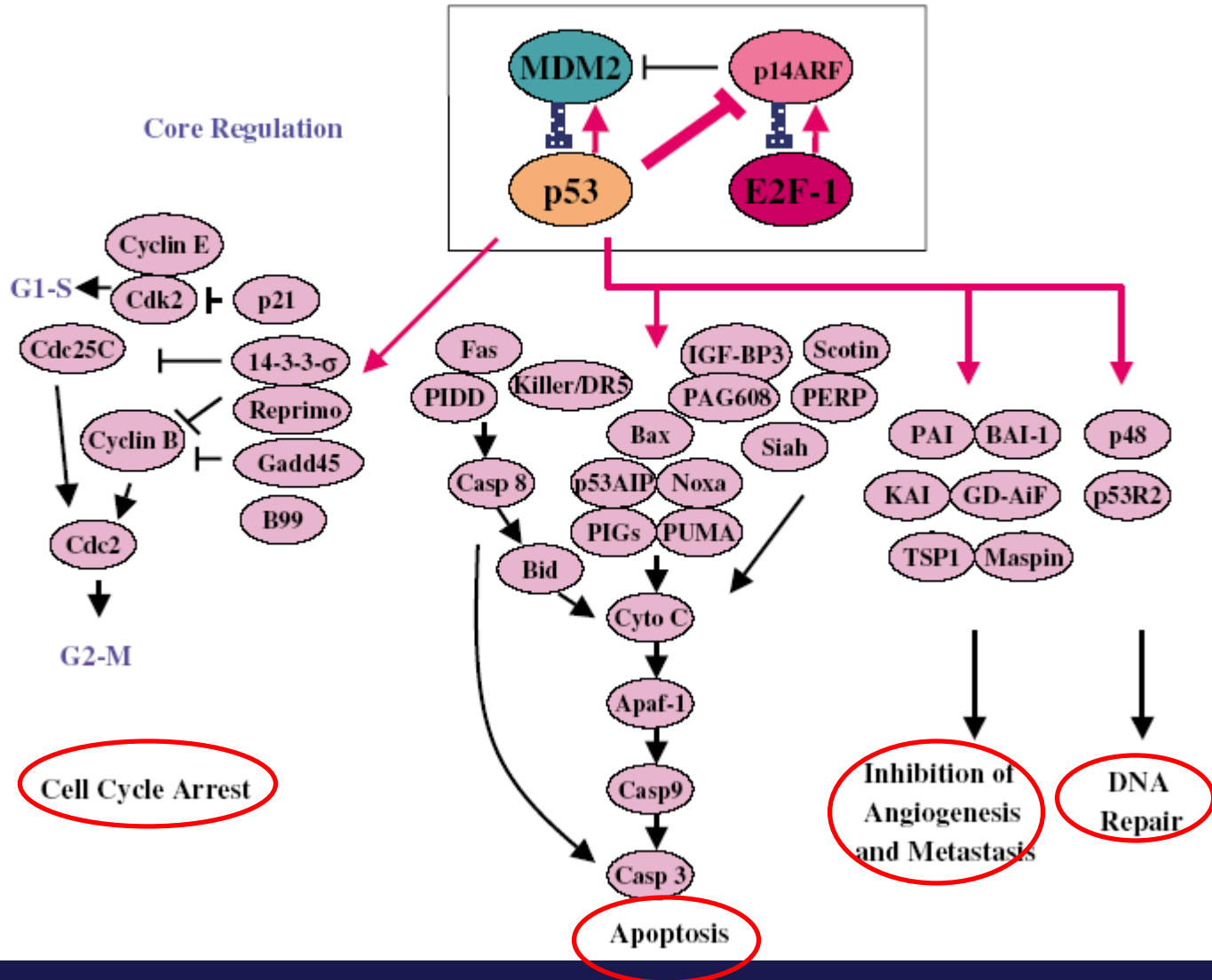
Downstream Events of p53



Το p53 συμμετέχει στην ενεργοποίηση πολλών κυτταρικών μονοπατιών



Downstream Events of p53



CKIs : Cyclin Kinase Inhibitors Αναστολείς των διμερών cdk - κυκλίνης

Δύο οικογένειες :

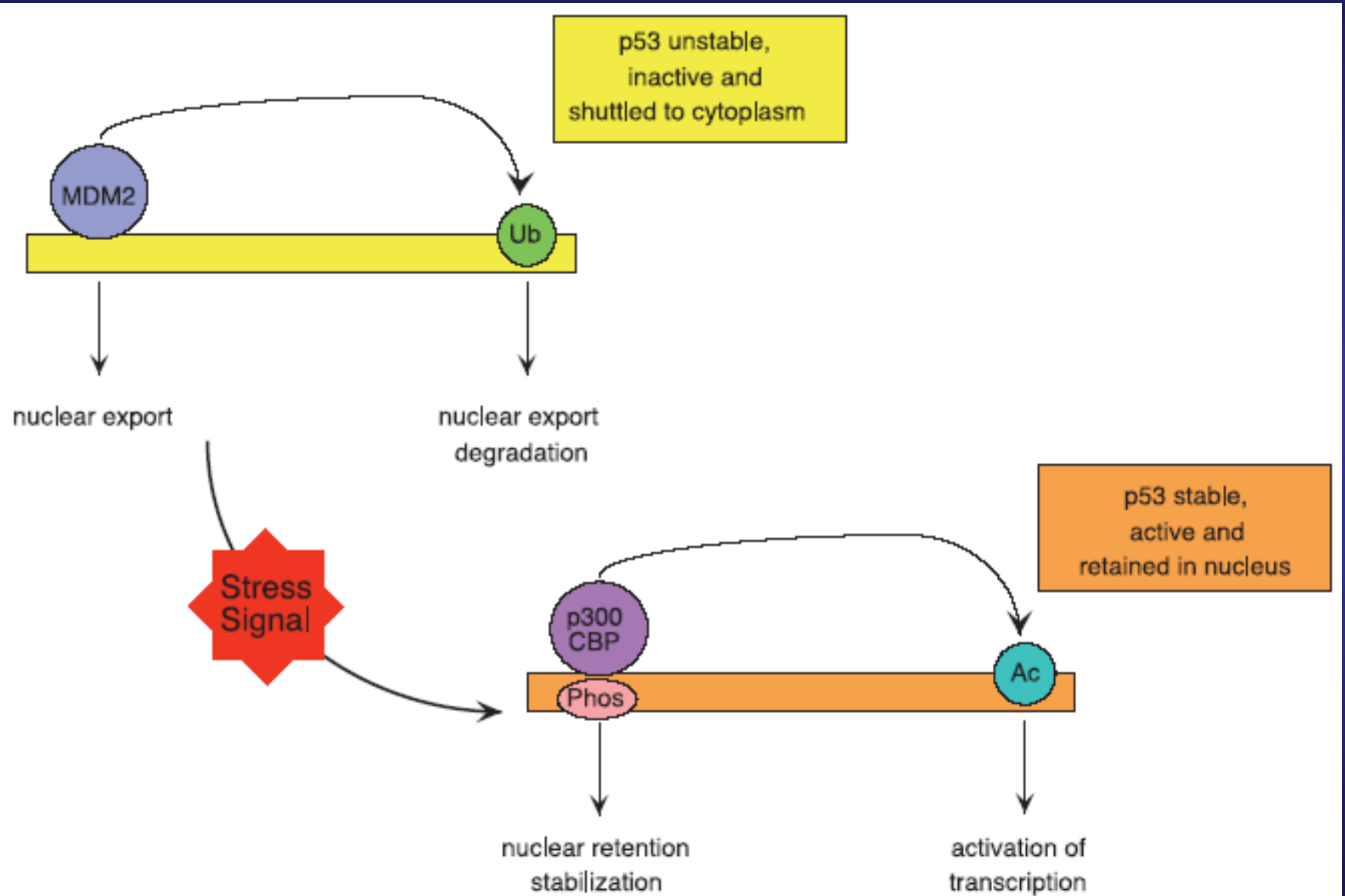
Η οικογένεια **INK4** είναι ειδική για τις **cdk4** και **cdk6**, και έχει τέσσερα μέλη: τις **p16^{INK4A}**, **p15^{INK4B}**, **p18^{INK4C}**, **p19^{INK4D}**.

Η οικογένεια **Kip** αναστέλλει όλα τα ένζυμα **cdk** των φάσεων **G1** και **S** και περιλαμβάνει τρία μέλη: τις **p21^{Cip/WAF1}**, **p27^{Kip1}**, **p57^{Kip2}**.

Ένας άλλος σημαντικός γενετικός τόπος, που ελέγχει τόσο την p53 όσο και την RB, είναι ο INK4A-ARF. Το μετάγραφο του γονιδίου INK4A-ARF υποβάλλεται σε εναλλακτικό μάτισμα και παράγει δύο mRNA τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες με αλληλουχίες που δεν έχουν καμία σχέση μεταξύ τους. Η πρώτη πρωτεΐνη, η p16^{INK4a}, βρίσκεται ανοδικά της RB. Η δεύτερη πρωτεΐνη ονομάζεται p19^{ARF} που βρίσκεται ανοδικά της p53. Τα ελλείμματα του γενετικού τόπου INK4A-ARF παρουσιάζονται συχνά στους καρκίνους του ανθρώπου (σχεδόν το ίδιο συχνά όσο οι μεταλλάξεις του p53) και έχουν εξαιρετικά σημαντικές επιπτώσεις επειδή χάνεται τόσο η p16^{INK4a} όσο και η p19^{ARF}. Επομένως οδηγούν στην απώλεια και των δύο μονοπατιών ογκοκαταστολής, της p53 και της RB.

Η p16^{INK4a} καταστέλλει την κινάση cdk4/6 και έτσι την εμποδίζει να φωσφορυλιώσει την RB. Χωρίς αυτή τη φωσφορυλίωση, καταστέλλεται η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου (και επομένως η αύξηση). Η p16^{INK4a} συνήθως καταστέλλεται από σημειακές μεταλλάξεις στους όγκους του ανθρώπου. Η p19^{ARF} προσδένεται στην Mdm2 και εμποδίζει άμεσα την ουβικιτινίωση της p53. Αυτό σταθεροποιεί την p53 και επιτρέπει τη συσσώρευσή της. Κατά συνέπεια, η p19^{ARF} λειτουργεί ως ογκοκαταστολέας, παρεμποδίζοντας τον καταστολέα του ογκοκαταστολέα p53.

Ενεργοποίηση της p53 με φωσφορυλίωση του N-άκρου



Τα προϊόντα γονιδίων που ενεργοποιούνται από την p53

Table 1. Products of Genes Transcriptionally Activated by p53

p21, WAF1, Cip1	Inhibits several cyclin–cyclin-dependent kinases; bind cdk's, cyclins, and PCNA; arrest the cell cycle
MDM2	Product of an oncogene; inactivates p53-mediated transcription and so forms an autoregulatory loop with p53 activity
GADD45	Induced upon DNA damage; binds to PCNA and can arrest the cell cycle; involved directly in DNA nucleotide excision repair
Cyclin G	A novel cyclin (it does not cycle with cell division) of unknown function and no known cyclin-dependent kinase
Bax	A member of the BCL2 family that promotes apoptosis; not induced by p53 in all cells
IGF-BP3	The insulin-like growth factor binding protein-3; blocks signaling of a mitogenic growth factor

Πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με την p53

Table 2. Proteins That Have Functional Interactions with p53

Viral proteins

SV40 T antigen

Blocks p53 DNA binding domain

AdE1B 55 kDa

Blocks p53 transcriptional activation domain

Human papilloma virus E6

Promotes the degradation of p53

Oncogene products

MDM2

Blocks p53 transcriptional activation domain

c-Abl

p53-mediated cell cycle arrest

Transcriptional factors

TATA-binding protein

Binds amino and carboxyl termini of p53

TAF70, TAF31

Binds to amino-terminal domain of p53

TFIIH

ERCC2, XPD

Helicase modulated by wild-type p53, not mutant p53

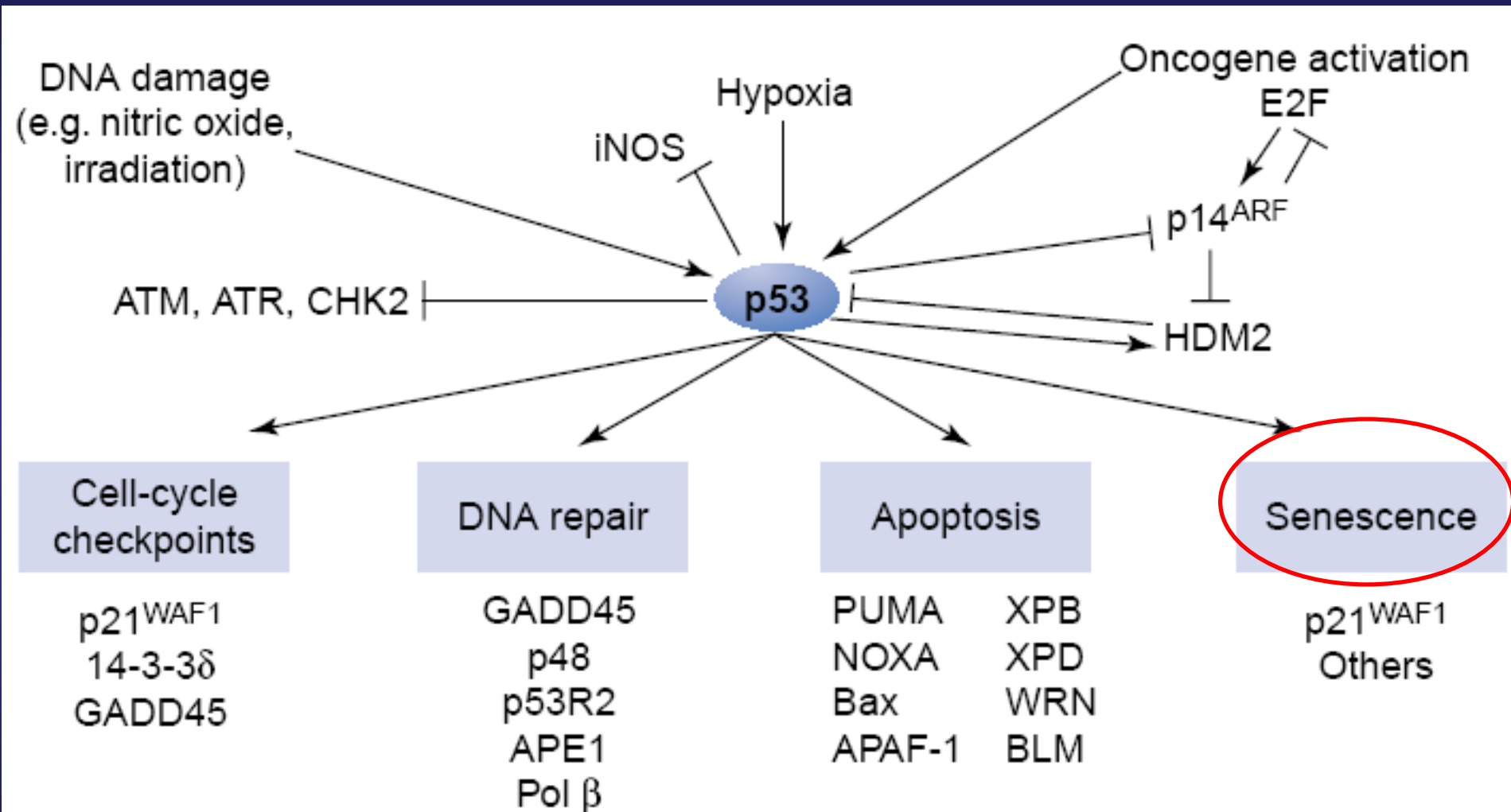
ERCC3, XPB

Helicase modulated by wild-type p53, not mutant p53

WT1 (Wilms tumor-1)

Alters p53 activities

Το p53 συμμετέχει στην ενεργοποίηση πολλών κυτταρικών μονοπατιών



Η έλλειψη τελομεράσης συνδέεται αναμφισβήτητα με την αδυναμία συνέχισης της ανάπτυξης και η επανενεργοποίησή της είναι ένας από τους τρόπους με τον οποίο τα κύτταρα μπορούν να αθανатоποιηθούν. Δεν είναι ξεκάθαρο εάν η ανεπάρκεια τελομεράσης είναι ο μόνος παράγοντας που οδηγεί τα κύτταρα στην κρίση, ούτε σε τι βαθμό μπορεί να αναπληρωθεί η έλλειψή της με άλλους μηχανισμούς. Επίσης, δεν είναι γνωστό το μονοπάτι που ευθύνεται για τη ρύθμιση του επιπέδου της τελομεράσης *in vivo*, αλλά ούτε και ο συσχετισμός του με μονοπάτια που ελέγχουν την κυτταρική ανάπτυξη.

Η ανικανότητα πυροδότησης της διακοπής της ανάπτυξης ή της απόπτωσης μπορεί να οδηγήσει σε συνεχή αύξηση. Δεν είναι γνωστό αν απαιτείται μόνο η μία ή και οι δύο ενέργειες για την αθανатоποίηση *in vitro*. Γνωρίζουμε ότι για τη συμβολή της p53 στην καρκινογένεση απαιτείται κάτι παραπάνω από το μονοπάτι της διακοπής της ανάπτυξης, επειδή ένας ποντικός p21- εμφανίζει (όπως θα αναμενόταν) ανεπαρκές σημείο ελέγχου της G1, αλλά δεν αναπτύσσει όγκους. Αντίθετα, οι ποντικοί p53- έχουν αυξημένη τάση δημιουργίας όγκων, γεγονός που δείχνει ότι και άλλες λειτουργίες της p53 (εκτός από τον έλεγχο της p21) ενέχονται στην ογκογένεση.

Η ανάγκη για συμμετοχή πολλαπλών λειτουργιών μπορεί να περιγραφεί ως προϋπόθεση **συνέργειας** (cooperativity).

Η εμπλοκή πολλαπλών δράσεων ταιριάζει με το πρότυπο που προέκυψε από τη μελέτη ορισμένων ογκογόνων DNA ιών, οι οποίοι χρειάζονται (τουλάχιστον) δύο τύπους δράσεων για το μετασχηματισμό των συνηθισμένων κυττάρων-στόχων:

- Ο **αδενοϊός** φέρει την περιοχή E1A, η οποία επιτρέπει στα πρωτογενή κύτταρα να αναπτύσσονται απεριόριστα σε καλλιέργεια, και την περιοχή E1B, η οποία προκαλεί μορφολογικές αλλαγές που χαρακτηρίζουν το μετασχηματισμένο κύτταρο.

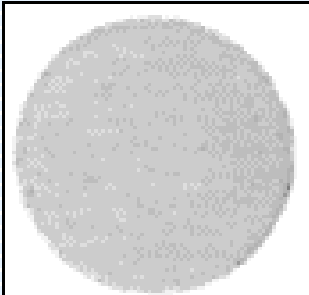
- Ο **ιός πολυόμα** παράγει τρία αντιγόνα T: το μεγάλο T επιτρέπει την απεριόριστη αύξηση, το μεσαίο T ευθύνεται για το μορφολογικό μετασχηματισμό και το μικρό T δεν έχει ακόμη γνωστή λειτουργία. Το μεγάλο και το μεσαίο T μπορούν από κοινού να μετασχηματίσουν πρωτογενή κύτταρα.

Μετάλλαξη στο *ras* = Καρκίνος ?...Τα πράγματα δεν είναι τόσο απλά...

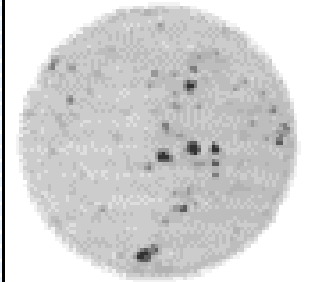
Land, H., Parada, L. F., and Weinberg, R. A. (1983).

Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. *Nature* 304, 596-602.

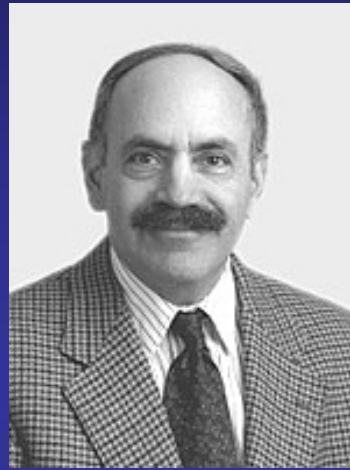
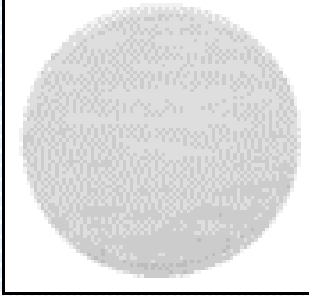
ras



ras
+
myc



myc



This oncogene collaboration indicated that cellular oncogenes did not constitute a single, analogously functioning group of genes. Instead, these two oncogenes—*ras* and *myc*—seemed to work in distinct, complementary ways on cell phenotype. We speculated that by extension, the genomes of human tumor cells also carried two or more mutated genes that collaborate to drive the cell into a malignant growth state.

So the discovery of the cellular *ras* oncogene was a start, but no more than that.

Ο συσχετισμός της ενεργοποίησης των ογκογονιδίων με την επιτυχή ανάπτυξη όγκων είναι ισχυρός σε ορισμένες περιπτώσεις, αλλά, γενικά, η φύση του αρχικού εναύσματος δεν έχει προσδιοριστεί. Είναι σαφές ότι η δράση των ογκογονιδίων υποβοηθά την ανάπτυξη του όγκου, αλλά η ενεργοποίησή τους θα μπορούσε να συμβαίνει (και να επιλέγεται θετικά) κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης του όγκου μετά από αυτό το αρχικό έναυσμα. Ελπίζουμε ότι η περαιτέρω μελέτη των γονιδίων *c-onc* θα μας εξασφαλίσει πιο λεπτομερή αντίληψη της ρύθμισης της κυτταρικής ανάπτυξης σε φυσιολογικά και μη φυσιολογικά κύτταρα, έτσι ώστε να επιτραπεί ο προσδιορισμός και η σειρά των γεγονότων που απαιτούνται για την έναρξη και την καθιέρωση των όγκων.

Βιβλιογραφία

Activation of the p53 tumor suppressor protein

K. H. Vousden

[Bio et Bio Acta \(2002\)1602:47-59](#)

p53: 25 years after its discovery

L. J. Hofseth et al

[Trends in Phar. Sci. \(2004\) 25\(4\):177-181](#)

Regulation and function of the p53 tumor suppressor protein

K. Ryan et al

[Cur Op Cell Bio. \(2001\) 13: 332–337](#)

Ενότητες 30.27 - τέλος