

Κυτταρικός κύκλος και καρκίνος

1

Κ. Σέκερης

Περίληψη

Η διαταραχή της ισορροπίας κυτταρική διαίρεση-κυτταρικός θάνατος χαρακτηρίζει τον καρκίνο.

Στην εργασία αυτή γίνεται αναφορά στον κυτταρικό κύκλο και στα μόρια που συμμετέχουν σε αυτόν, στα μιτογόνα και αντιμιτογόνα σήματα και στη μεταγωγή σήματος. Περιγράφεται ο μηχανισμός αυτονόμησης του κυτταρικού κύκλου από τους φυσιολογικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς, που οφείλεται τόσο σε βλάβες των βασικών συστατικών του κυτταρικού κύκλου, όσο και σε βλάβες των μιτογόνων/αντιμιτογόνων μορίων, των υποδοχέων τους και των συστατικών του καταρράκτη μεταγωγής σήματος. Γίνεται επίσης σύντομη αναφορά στη σημασία των τελομερών και της τελομεράσης για την ικανότητα του κυττάρου για κυτταροδιαίρεση. Δεν γίνεται αναφορά στους μηχανισμούς απόπτωσης, αγγειογένεσης, διήθησης και μετάστασης, βασικών παραμέτρων της καρκινογενετικής διεργασίας.

Εισαγωγή

Η διατήρηση ενός σταθερού κυτταρικού πληθυσμού στους ιστούς και όργανα του φυσιολογικού ενήλικου οργανισμού επιτυγχάνεται με συντονισμό των ρυθμιστικών μηχανισμών που διέπουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Η διαταραχή του λόγου κυτταρικός πολλαπλασιασμός/κυτταρικός θάνατος, που είναι μεν στα-

θερός (μονάδα) αλλά με διαφορετικά μεγέθη παρανομαστή και διαιρέτη στους διαφόρους ιστούς-όργανα, είναι προϋπόθεση για την εμφάνιση του καρκινικού όγκου. Είναι απαραίτητο, επομένως, να αναλυθούν οι μηχανισμοί που διατηρούν την ισορροπία αυτή στο φυσιολογικό κύτταρο και να αναζητηθούν οι διαταραχές τους που οδηγούν στο καρκινικό φαινόμενο. Χωρίς να είναι δυνατός ο διαχωρισμός, θα επικεντρωθεί η ανάλυση στους παθολογικούς μηχανισμούς που αφορούν τον πολλαπλασιασμό και όχι την απόπτωση των κυττάρων.

Κυτταρικός κύκλος

Η πλειονότητα των κυττάρων στα περισσότερα όργανα βρίσκεται σε μια κατάσταση ηρεμίας, όσον αφορά στην πρόθεση για αναδιπλασιασμό, που καλείται G0-φάση. Η επαφή των ηρεμούντων κυττάρων με ένα μιτογόνο τα οδηγεί προς την μίτωση (M), μέσω των φάσεων G₁, S και G₂. Η διατήρηση του κυττάρου στην G0 φάση και η μετάβαση στην S φάση εμπλέκει πολλούς παράγοντες και πολύπλοκους μηχανισμούς. Βασικό ρόλο παίζουν οι κυκλίνες (A-F), πρωτεΐνες οι οποίες προσδέονται και ενεργοποιούν συγκεκριμένες φωσφοκινάσες (cdk, cyclin dependent kinases)¹, που εν συνεχεία φωσφορυλιώνουν ρυθμιστικές πρωτεΐνες του κυτταρικού κύκλου (αλλά και πρωτεΐνες με άλλους λειτουργικούς ρόλους, όπως ιστόνες, λαμίνες και συστατικά του κυτταροσκελετού). Η πιο σημαντική ρυθμιστική πρω-

τείνη είναι το προϊόν του ογκοκατασταλτικού γονιδίου Rb (γονιδίου ρετινοβλαστώματος), η RB², η οποία στη μη φωσφορυλιωμένη μορφή της σχηματίζει σύμπλοκο με τον μεταγραφικό παράγοντα EF-2, τον οποίο έτσι αδρανοποιεί. Η φωσφορυλίωση της RB, που επιτελείται από την ενεργοποιημένη με κυκλίνη D1 φωσφοκινάση cdk-4, οδηγεί στη διάσπαση του συμπλόκου RB-EF-2, οπότε ο απελευθερούμενος EF-2 μπορεί να συμμετάσχει στη μεταγραφή σειράς γονιδίων που εμπλέκονται στην αντιγραφή του DNA και στη μετάβαση του κυττάρου από την G₁ στην S φάση. Άλλες φωσφοκινάσες, όπως η cdk-2, ενεργοποιημένες από αντίστοιχες κυκλίνες (όπως κυκλίνη E), φωσφορυλιώνουν πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη μετάβαση από την S στην G₂ και περαιτέρω στην M φάση. Για την πλήρη ενεργοποίηση των φωσφοκινάσων cdk είναι απαραίτητη η δράση της πρωτεΐνης CAK (cdk-activating kinase)³. Εκτός του ρόλου τους στον κυτταρικό κύκλο, οι κυκλίνες συμμετέχουν και σε άλλες λειτουργίες, όπως μείωση, διαφοροποίηση, έναρξη μεταγραφής και απόπτωση.

Αντίθετες προς την δράση των κυκλινών/cdk είναι οι αναστολείς των cdk, οι cdk-inhibitors⁴ που παρεμποδίζουν την δράση των cdk και συντελούν στην είσοδο του κυττάρου στην φάση ηρεμίας (G₀). Για παράδειγμα, η ομάδα των πρωτεϊνών INK4 (σε αυτήν ανήκουν τα πολυπεπίδια p15, p16, p18 και p19) παρεμποδίζουν την δράση των συμπλόκων κυκλίνη/cdk4 και κυκλίνη/cdk6, επομένως και την φωσφορυλίωση της RB.

Ενεργοποίηση - Απενεργοποίηση του κυτταρικού κύκλου

Η διαδικασία του κυτταρικού κύκλου ενεργοποιείται από διάφορες μιτογόνες ουσίες, όπως αυξητικοί παράγοντες, ορμόνες, κυτταροκίνες, που παράγονται από διάφορα κύτταρα

και ενδοκρινείς αδένες και φέρονται προς τα κύτταρα με την κυκλοφορία, ή διαχέονται από κύτταρο προς κύτταρο ή ακόμη δρουν στο κύτταρο που τις παρήγαγε⁵. Μιτογόνα μηνύματα επίσης προέρχονται από συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας (θεμέλιου ουσίας) και από μόρια διακυτταρικής επαφής (ιντεγγρίνες)⁶.

Το γενικό σχήμα δράσεως των μιτογόνων παραγόντων περιλαμβάνει πρόσδεσή τους σε υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης, ένα "καταρράκτη" διαδοχικών ενεργοποιήσεων κυτταροπλασματικών φωσφοκινάσων (μεταγωγή σήματος), είσοδο φωσφοκινάσων στον κυτταρικό πυρήνα, και φωσφορυλίωση-ενεργοποίηση πυρηνικών ρυθμιστικών πρωτεϊνών (όπως κυκλίνες, και μεταγραφικοί παράγοντες).

Χαρακτηριστικά αναφέρεται η μεταγωγή σήματος από τους αυξητικούς παράγοντες TGF α και PDGF, μέσω των υποδοχέων τους, που περιλαμβάνει τις πρωτεΐνες SOS-Ras-Raf-MEK και MARK (του κυτταροπλάσματος) και τους μεταγραφικούς παράγοντες fos-jun-myc (του πυρήνα), καθώς και η μεταγωγή σήματος από την εξωκυτταρική μήτρα, μέσω ιντεγγρινών και τελικά μέσω του ήδη αναφερθέντος καταρράκτη Ras \rightarrow \rightarrow MARK. Υπάρχουν πολλά τέτοια συστήματα μεταγωγής σήματος που συχνά διασταυρώνονται και αλληλεπιδρούν.

Εκτός των διεγερτικών σημάτων, το κύτταρο δέχεται αρκετά κατασταλτικά σήματα της κυτταροδιαρρέσεως. Σημαντικό είναι αυτό του παράγοντα TGF- β , που μέσω ενεργοποίησης του υποδοχέα του και των κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών Smad⁴ και περαιτέρω της ενεργοποίησης της συνθέσεως των πρωτεϊνών p15 και p21, παρεμποδίζει τον σχηματισμό συμπλόκων μεταξύ κυκλινών και cdk, επομένως και την φωσφορυλίωση της RB⁷. Επιπλέον, ο TGF- β καταστέλλει την έκφραση του γονιδίου c-myc, που συμμετέχει στην ρύθμιση της G₁-φάσης του κύκλου⁸.

Διαταραχές των συστατικών του κυτταρικού κύκλου που οδηγούν στην ενεργοποίηση του απουσία μιτογόνων

Οι πιο σημαντικές και καλύτερα μελετημένες διαταραχές ενεργοποίησης του κυτταρικού κύκλου απουσία μιτογόνων αφορούν στην πρωτεΐνη RB, τις κυκλίνες και cdk κινάσες. Μεταλλάξεις στο γονίδιο RB² που παρατηρούνται σε πολλούς καρκίνους (κόλου, μικροκυτταρικό πνεύμονος, οισοφάγου, μαστού, προστάτη), έχουν διάφορες επιπτώσεις στην λειτουργικότητα του μορίου, όπως αδυναμία σχηματισμού συμπλόκου με τον μεταγραφικό παράγοντα E₂F-1. Σε περιπτώσεις μερικών όγκων, που οφείλονται σε DNA-ιούς (όπως καρκίνος τραχήλου μήτρας) η ιική ογκοπρωτεΐνη E₇ αλληλεπιδρά και συμπλέκεται με την RB πρωτεΐνη, απελευθερώνοντας δραστικό παράγοντα E₂F-1⁹.

Μεταλλάξεις της CDK-4¹⁰ μπορεί να την καταστήσουν ανίκανη να δεχθεί τα κατασταλτικά μηνύματα της πρωτεΐνης p15 (της οικογένειας INK4B), λόγω αλλοιώσεων στην περιοχή αλληλεπίδρασης της CDK4 με την p15 INK4B.

Μεταλλάξεις σε γονίδια μεταγραφικών παραγόντων (fos, myc κ.ά.) καθιστώντας τις ογκοπρωτεΐνες ενεργείς παρατηρούνται συχνά σε πολλούς τύπους καρκίνων.

Διαταραχές στους φυσιολογικούς μηχανισμούς ενεργοποίησης-απενεργοποίησης του κυτταρικού κύκλου που οδηγούν στην ανεξέλεγκτη υπερλειτουργία του

Χαρακτηριστικό του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων είναι η ανεξαρτοποίησή τους από εξωκυττάρους μιτογόνους παράγοντες. Αυτό επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους. Μερικά κύτταρα (γλοιοβλαστώματα και σαρκώματα) παράγουν μόνα τους αυξητικούς παράγοντες, όπως PDGF και TGF α , δημιουργώντας ένα συνεχή αυτοκρινικό κύκλο¹¹.

Σε πολλούς καρκίνους παρατηρείται διαταραχή στους υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων, είτε λόγω υπερεκφράσεώς τους, ή λόγω μεταλλάξεων. Στην πρώτη περίπτωση το κύτταρο αποκτά ευαισθησία σε συγκεντρώσεις αυξητικών παραγόντων που φυσιολογικά δεν οδηγούν το κύτταρο σε μίτωση¹¹ (σε υπερβολική παραγωγή υποδοχέων μπορεί να προκληθεί μίτωση και απουσία αυξητικών παραγόντων¹²), ενώ στη δεύτερη περίπτωση ο υποδοχέας μετατρέπεται σε ιδιοσυστατικά ενεργό μόριο, στέλνοντας μιτογόνα μηνύματα απουσία αυξητικού παράγοντα. Αυθόρμητα μιτογόνα ερεθίσματα μπορεί να προκύψουν και από μεταβολές των ιντεγγραϊνών.

Μια σημαντική κατηγορία μορίων που ενέχονται στην καρκινογόνο διεργασία είναι αυτή που συμμετέχει στη μεταγωγή του μιτογόνου ερεθίσματος από την επιφάνεια του κυττάρου στον πυρήνα του. Πολλές μεταλλάξεις αφορούν γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες αυτές, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την πρωτεΐνη Ras, που στη μεταλλαγμένη μορφή είναι σε θέση να εκπέμπει μιτογόνα σήματα, χωρίς να έχει λάβει τέτοιες εντολές από τη φυσιολογική εντολοδόχο αλυσίδα που προηγείται¹³.

Είναι πιθανό, ότι μερικές από τις διαταραχές που οδηγούν στην πρόκληση αυθόρμητων μιτογόνων σημάτων προέρχονται από κύτταρα του στρώματος⁶.

Πολλές από τις βλάβες που οδηγούν στην καρκινογένεση οφείλονται είτε στην έλλειψη κατασταλτικών εντολών για την κυτταροδιαίρεση ή στην άρση της ευαισθησίας των κυττάρων στα κατασταλτικά μηνύματα. Καλά μελετημένες είναι οι βλάβες που αφορούν τον TGF β , και περιλαμβάνουν είτε μείωση του (down-regulation)¹⁴ ή μετάλλαξη του που οδηγεί σε απώλεια λειτουργικότητας¹⁵. Επίσης η άρση της λειτουργικότητας ορισμένων ιντεγγραϊνών, που φυσιολογικά στέλνουν κατασταλτικά μηνύμα-

τα, συμβάλλει στον καρκινικό φαινότυπο⁶. Παρόμοιο αποτέλεσμα έχει και η μετάλλαξη πρωτεϊνών του καταρράκτη που μεταγει κατασταλτικά ερεθίσματα από την επιφάνεια στον πυρήνα (π.χ. μετάλλαξη της πρωτεΐνης Smad⁴).

Ο ρόλος των τελομερών και της τελομεράσης στην ικανότητα των κυττάρων για κυτταροδιαίρεση

Οι εργασίες του Hayflick¹⁶ έχουν δείξει ότι τα κύτταρα σε καλλιέργεια έχουν περιορισμένη δυνατότητα κυτταροδιαιρέσεων, που κυμαίνεται σε 60-70 διαιρέσεις για τα περισσότερα είδη κυττάρων.

Οι εργασίες των τελευταίων ετών έδειξαν ότι τα άκρα των χρωμοσωμάτων αποτελούνται από χιλιάδες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες 5-6 νουκλεοτιδίων, τα τελομερή, τα οποία εξασκούν προστατευτική δράση στα χρωμοσώματα. Σε κάθε κυτταροδιαίρεση χάνονται αλληλουχίες 50-100 νουκλεοτιδίων από τα άκρα των τελομερών αυτών.

Μετά από αριθμό κυτταροδιαιρέσεων τα τελομερή χάνουν την ικανότητά τους να προστατεύουν τα άκρα του DNA των χρωμοσωμάτων που συμφύονται μεταξύ τους και οδηγούν σε καρυοτυπικές διαταραχές και τελικά στο θάνατο του κυττάρου. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση του ενζύμου τελομεράση, η οποία προσθέτει επαναλαμβανόμενα εξανουκλεοτίδια και αποκαθιστά το μήκος των τελομερών σε βαθμό που να είναι δυνατή η χωρίς φραγμό κυτταροδιαίρεση^{17,18}. Η σημασία αυτή της τελομεράσης έχει καταδειχθεί με πειράματα εκφράσεως του ενζύμου σε κύτταρα, καθιστώντας τούτα αθάνατα¹⁹, καθώς και σε διαγονιδιακά ζώα²⁰.

Επίλογος

Η μετατροπή του φυσιολογικού κυττάρου σε καρκινικό είναι αποτέλεσμα διαταραχών –προκαλούμενων κυρίως λόγω διαφορών τύ-

πων μεταλλάξεων, που κυμαίνονται από σημειακές μέχρι γενωμικές ανακατατάξεις – σε μόρια κλειδιά που ελέγχουν την ανταπόκριση του κυττάρου σε μιτογόνα και αντιμιτογόνα ερεθίσματα, καθώς και σε μόρια που ενέχονται στη διεργασία της απόπτωσης. Ο συνδυασμός αυτονόμησης του κυττάρου από τα μιτογόνα ερεθίσματα και ελλείψεως ευαισθησίας στα αντιμιτογόνα σήματα, καθώς και η παρδάκαμψη της απόπτωσης, οδηγεί στην ανεξέλεγκτη αύξηση της κυτταρικής μάζας. Για να διατηρηθεί βιώσιμος και να επαυξηθεί ο καρκινικός όγκος είναι απαραίτητη η κινητοποίηση μηχανισμών αγγειογένεσης, ενώ για τη διήθηση και μετάστασή του απαιτείται η ενεργοποίηση διεργασιών που εμπλέκουν πλειάδα γονιδιακών προϊόντων, που ερευνώνται με εντατικούς ρυθμούς.

Βιβλιογραφία

1. Grana X and Reddy EP. Cell cycle control in mammalian cells: role of cyclins, cyclin-dependent kinases, growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors. *Oncogene*, 11, 211-219 (1995).
2. Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 81, 323-330 (1995).
3. Morgan DO. Principles of CDK regulation. *Nature* 374, 131-134 (1995).
4. Sherr CJ and Roberts JM. Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev.* 9, 1149-1163 (1995).
5. Hanahan D and Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell* 100, 57-70 (2000).
6. Aplin AE, Howe A, Alahari SK and Juliano RL. Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules and selectins. *Pharmacol. Rev.* 50, 197-263 (1998).
7. Hannon GF and Beach D. p15INK-4HB is a potential effector of TGF-beta-induced cell cycle arrest. *Nature* 371, 257-261 (1994).
8. Moses HL, Yang EY and Pietenpol JA. TGG β-stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights. *Cell* 63, 245-247 (1990).
9. Dyson N, Howley PM, Munger K and Harlow E. The

- human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 243, 934-937 (1989).
10. *Zhu L, Wager J, Yang Q, Goldstein AM, Tucker MA, Walker GJ, Hayward N and Dracopoli NC.* Germ-line mutations in the p16 INK4A binding domain of CDK4 in familial melanoma. *Nat. Genet.* 12, 97-99 (1996).
 11. *Fedi P, Tronick GR and Aaronson SA.* Growth factors in Cancer Medicine, J.F. Holland et al, eds, pp. 41-64, Williams and Wilkins, Baltimore, Md., 1997.
 12. *Difiore P, Pierce JH, Kraus MH et al.* ErbB-2 is a potent oncogene when overexpressed in NIH/3T3 cells. *Science* 237, 178-182 (1987).
 13. *Medema RH and Bos JL.* The role of p21- ras in receptor tyrosine kinase signalling. *Crit. Rev. Oncog.* 4, 615-661 (1993).
 14. *Fynan TM and Reiss M.* Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor- β and its role in oncogenesis. *Crit. Rev. Oncog.* 4, 493-540 (1993).
 15. *Markowitz S, Wang J, Meyerhoff L et al.* Inactivation of the type TGF- β receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 268, 1336-1338 (1995).
 16. *Hayflick L.* Mortality and immortality at the cellular level. A review. *Biochemistry* 62, 1180-1190 (1997).
 17. *Counter CM, Halin WC, Wei W et al.* Dissociation between telomerase activity, telomere maintenance and cellular immortalization. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 95, 14723-14728 (1998).
 18. *Bryan TM and Cech TR.* Telomerase and the maintenance of chromosomes. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 318-324 (1999).
 19. *Bodnar AG, Quetelette M, Frolkis M et al.* Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 279, 349-352 (1998).
 20. *Greenberg RA, Chin L, Femino A et al.* Short dysfunctional telomeres impair tumorigenesis in the INK4a $\Delta 2/3$ cancer-prone mouse. *Cell* 97, 515-525 (1999).