



ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России

Кафедра патологической анатомии с секционным курсом

Молекулярный онкогенез

Подготовила: студентка 3 курса
лечебного факультета
Шестакова А.Д.

Руководитель: Маслова А.В.

Пермь, 2016 г

ВСТУПЛЕНИЕ

Опухоли

- патологический процесс, при котором изменения генетического аппарата клетки приводят к нарушению регуляции их роста и дифференцировки

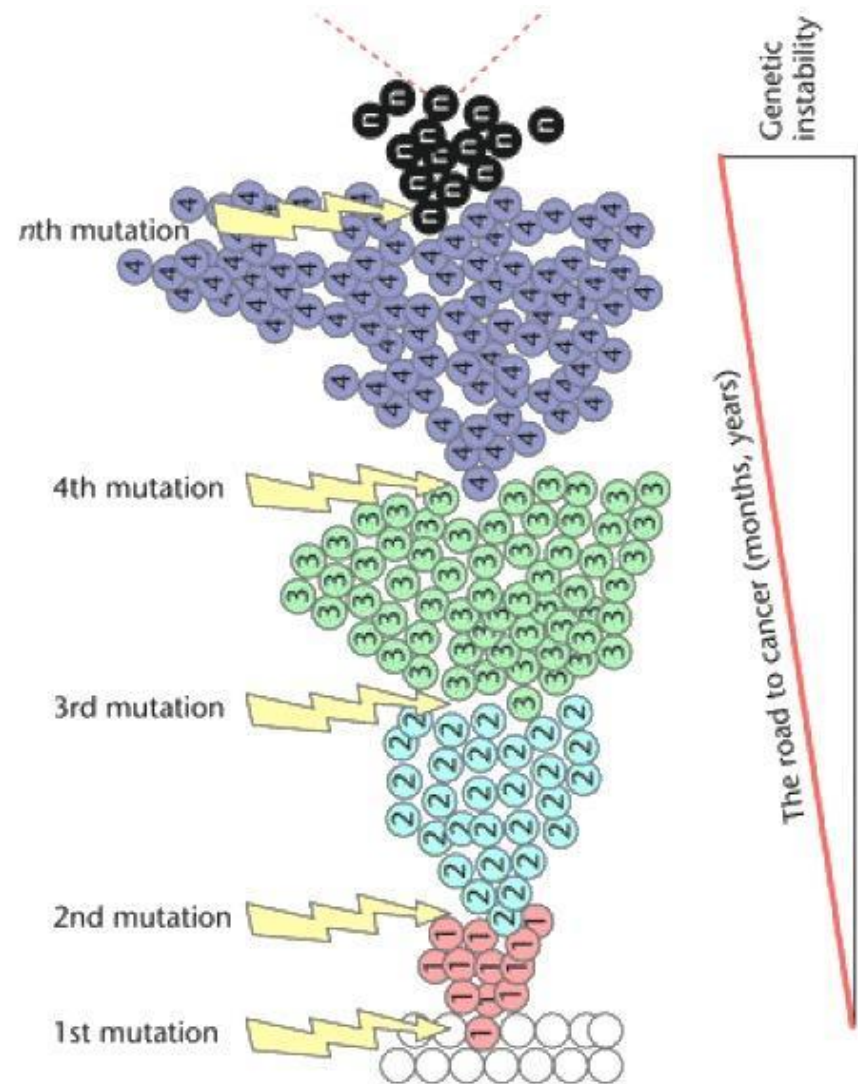
Организм

Орган

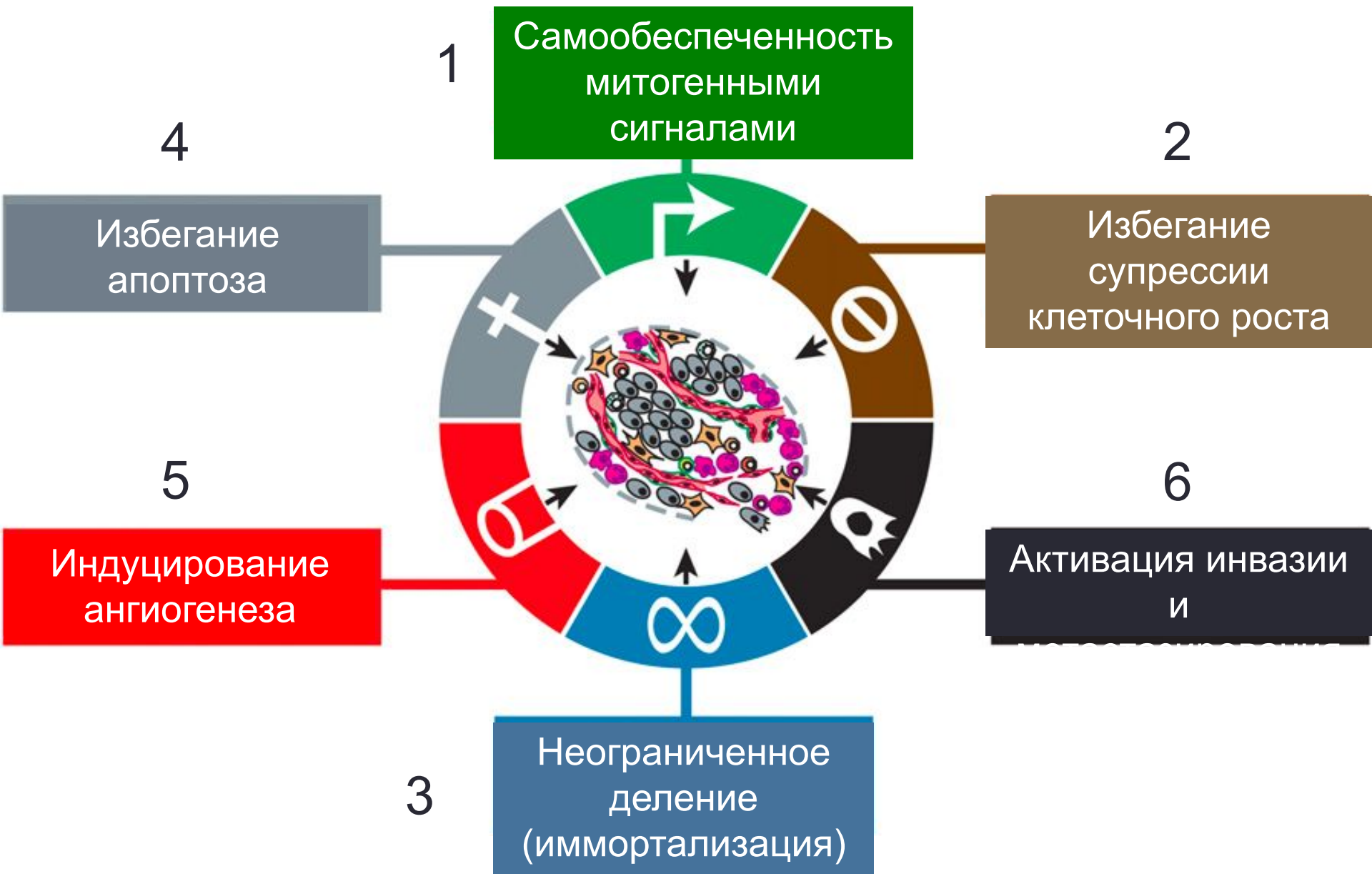
Ткань

Клетка

Молекулярный



КЛЮЧЕВЫЕ ПРИЗНАКИ ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТКИ



Факторы возникновения рака

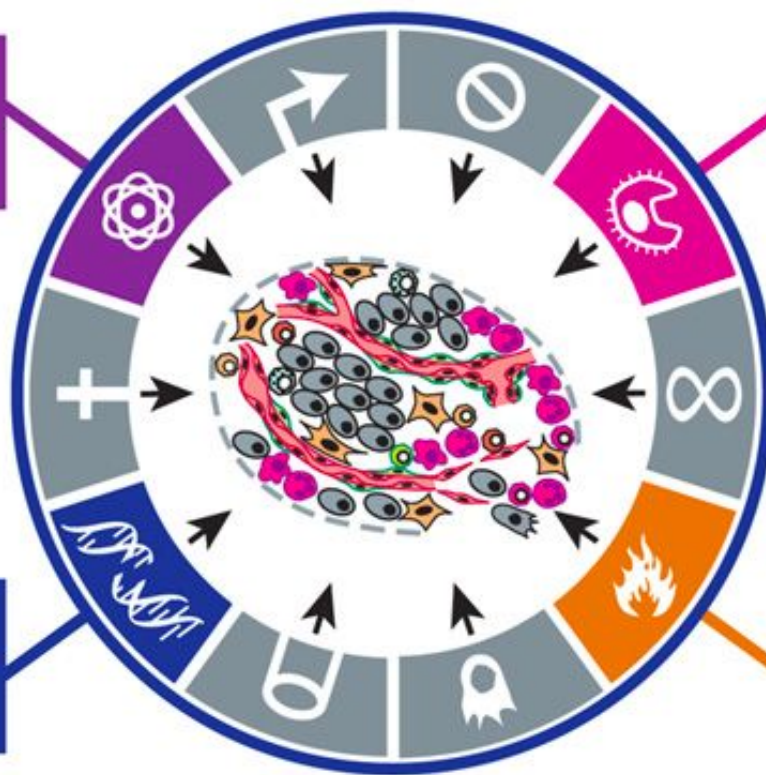
Нарушенный энергетический
метаболизм клетки

Избегание уничтожения
иммунитетом

Нестабильность генома
и мутирование

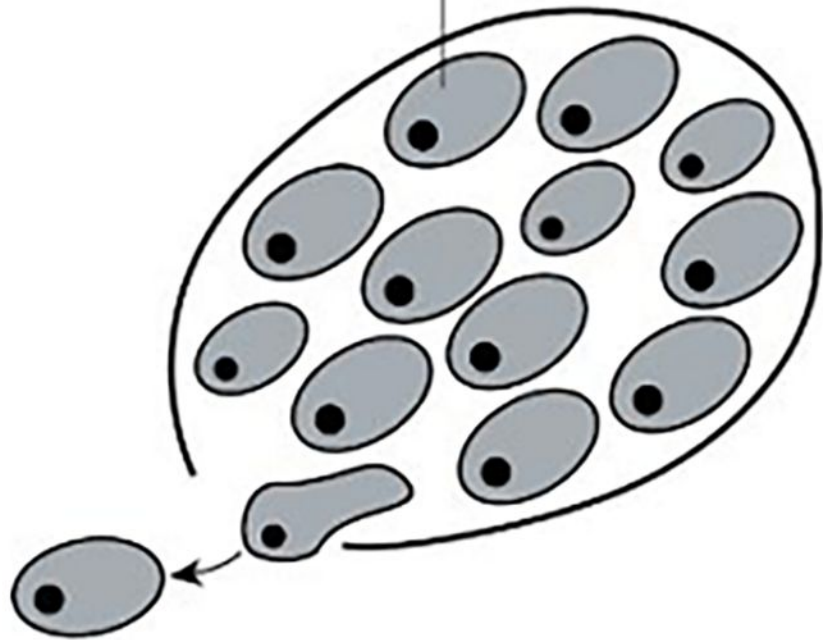
Опухоль-стимулирующее
воспаление

Проявляющиеся признаки



Упрощенный вид

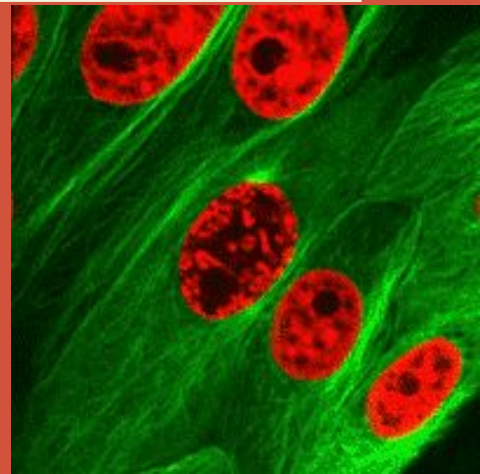
Раковые клетки



Гетеротипическая биология



КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ



Регуляция пролиферации в нормальных клетках

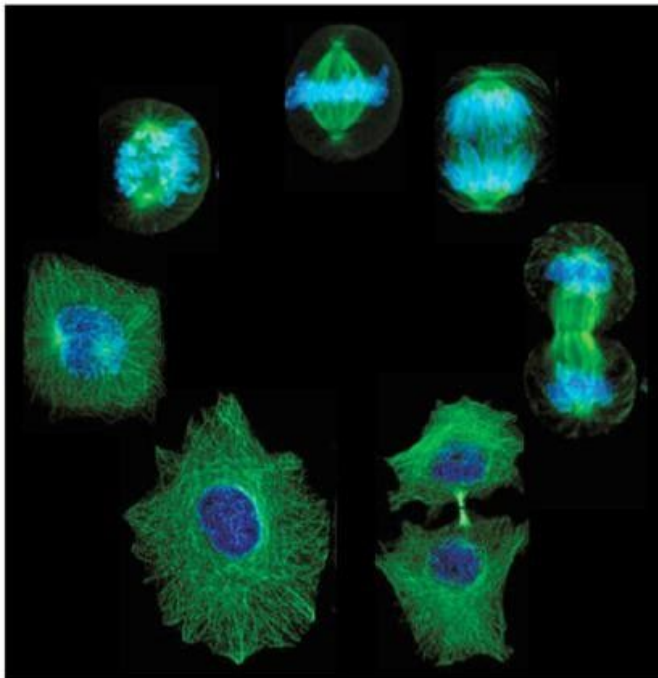
Продукция ростовых факторов



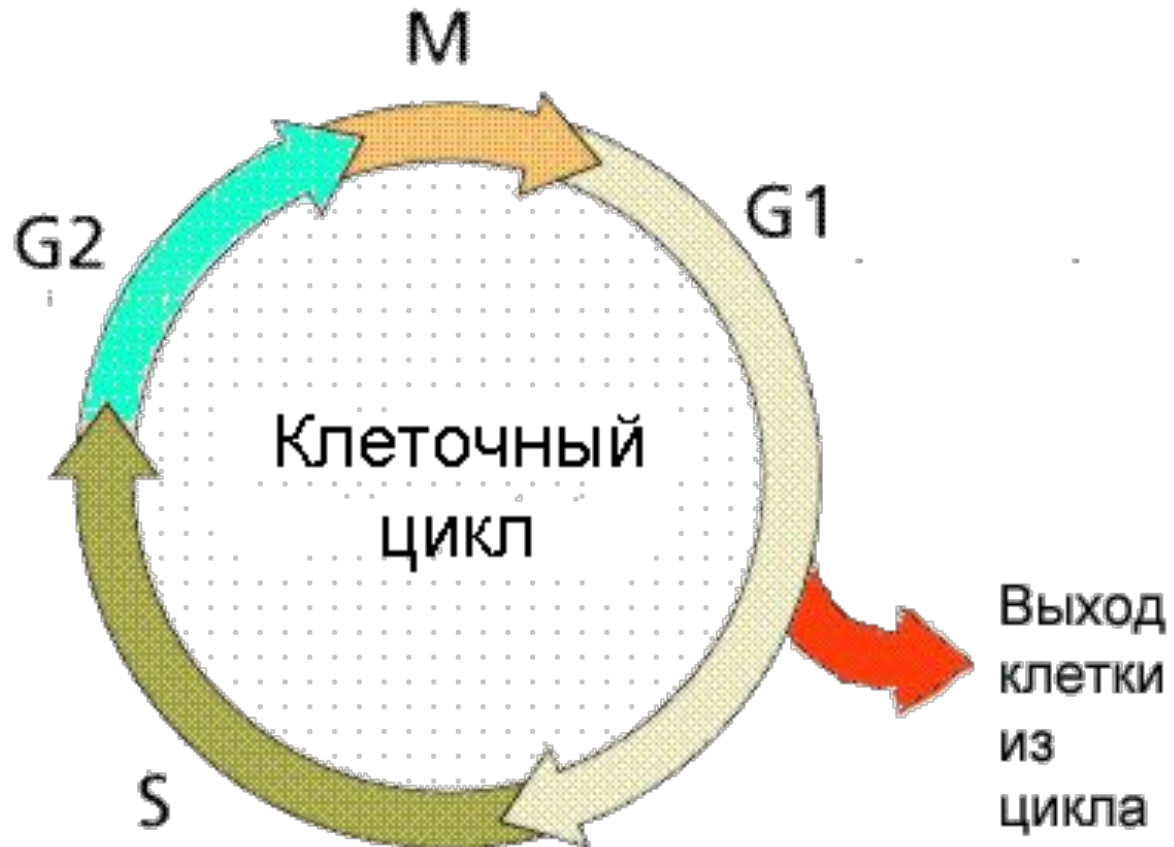
Высвобождение ростовых факторов



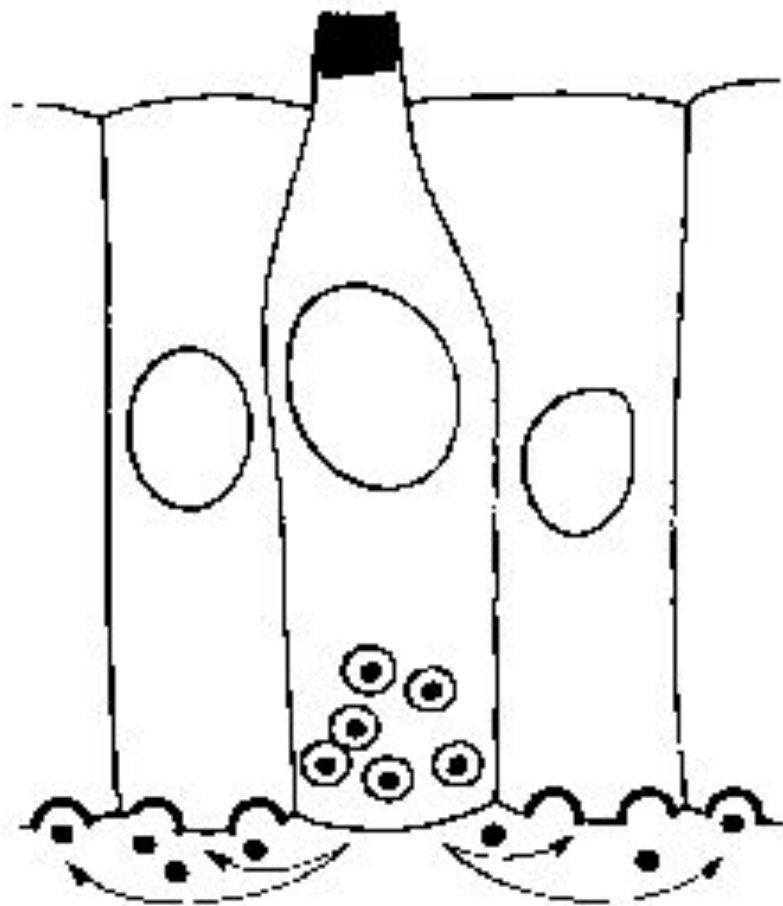
Регуляция клеточного цикла



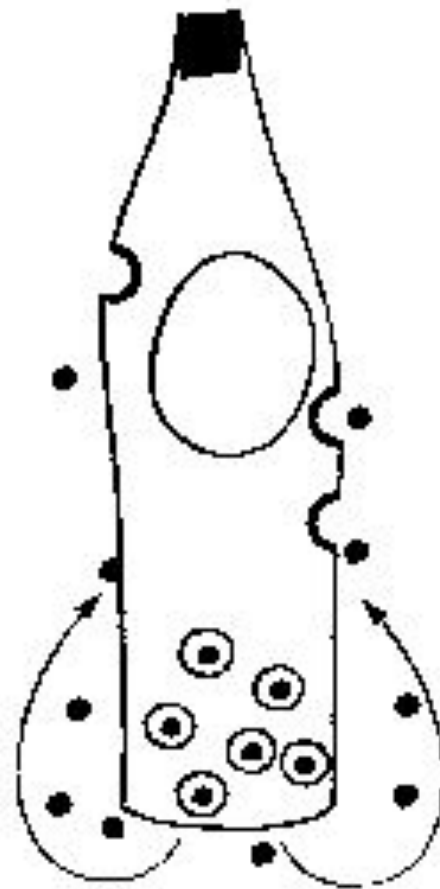
Пролиферация - это размножение клеток, т. е. увеличение числа клеток, происходящее путем митотических делений



Регуляция пролиферации в нормальных клетках

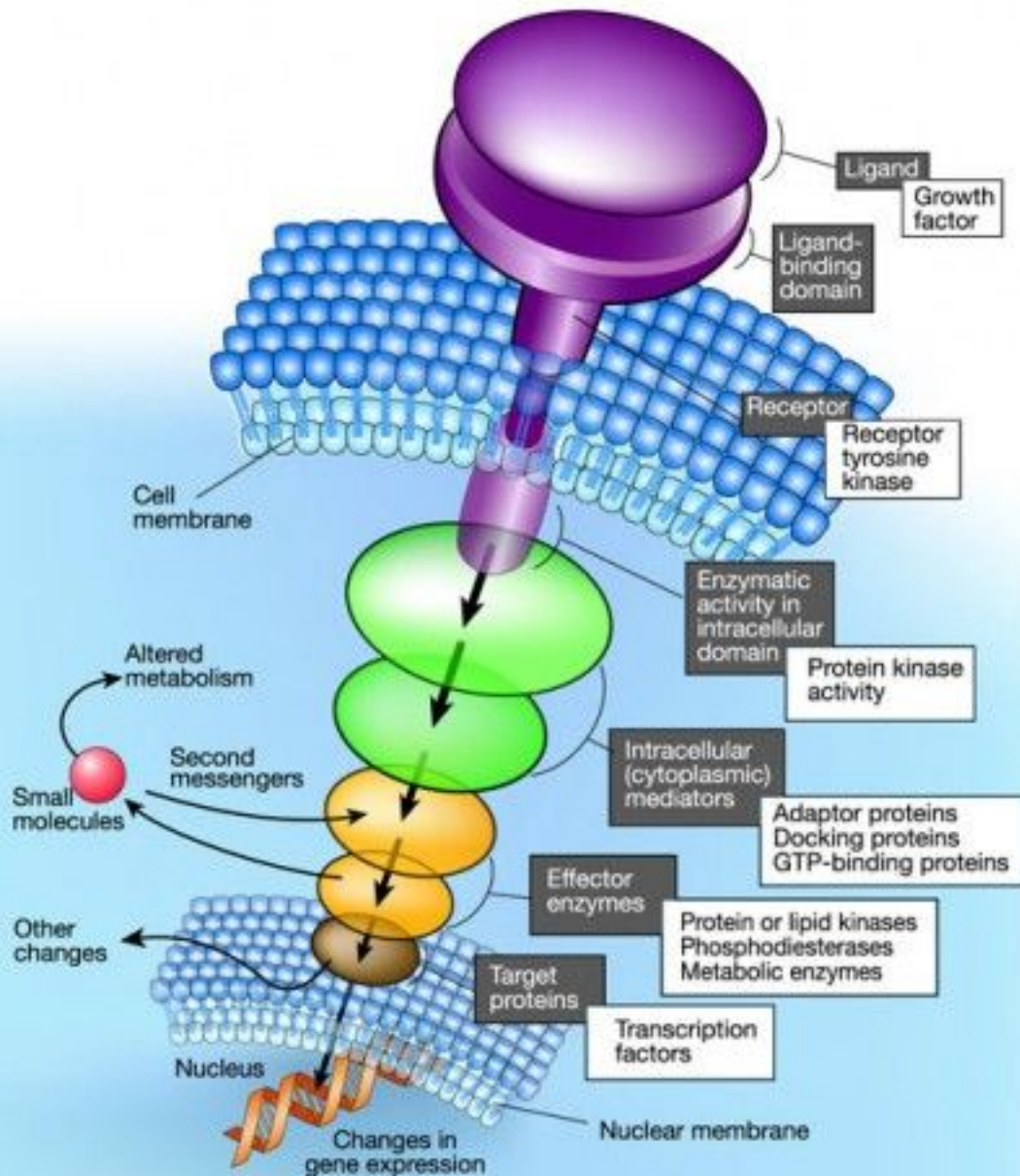


Паракринная - микроокружением
(отсутствие стимулирующих контактов с соседними клетками и матриксом, прекращение секреции и/или синтеза паракринных ростовых факторов)



Аутокринная - самой клеткой
(регуляция клеточного цикла, прекращение или замедление синтеза аутокринных ростовых факторов и их рецепторов)

Регуляция пролиферации в нормальных клетках



Пусковое звено
– мембрана клетки

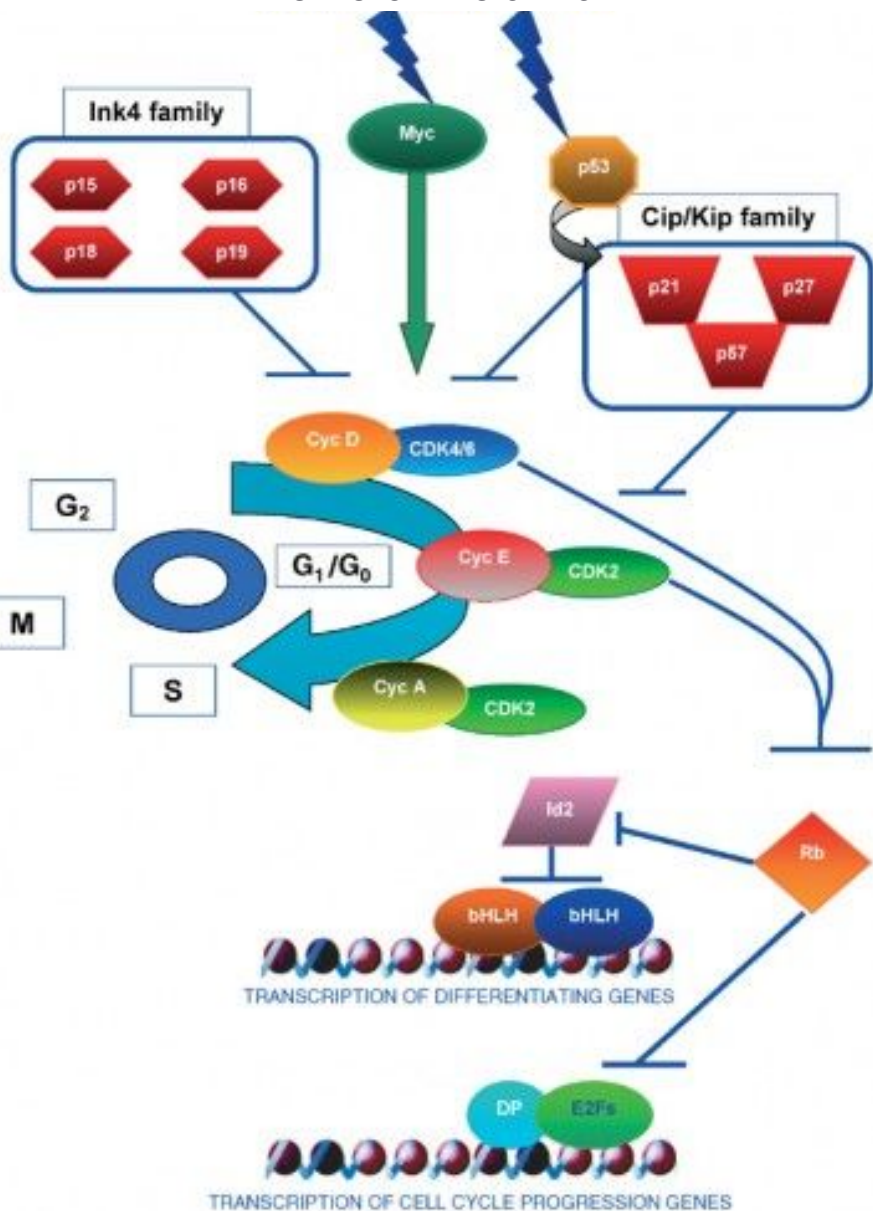
Воспринимает **МИТОГЕННЫЕ СИГНАЛЫ:**

- контакты между клетками,
- между клеткой и матриксом,
- взаимодействие клеток с факторами роста

Клетка, получившая митогенный сигнал на пролиферацию, **запускает процесс деления.**

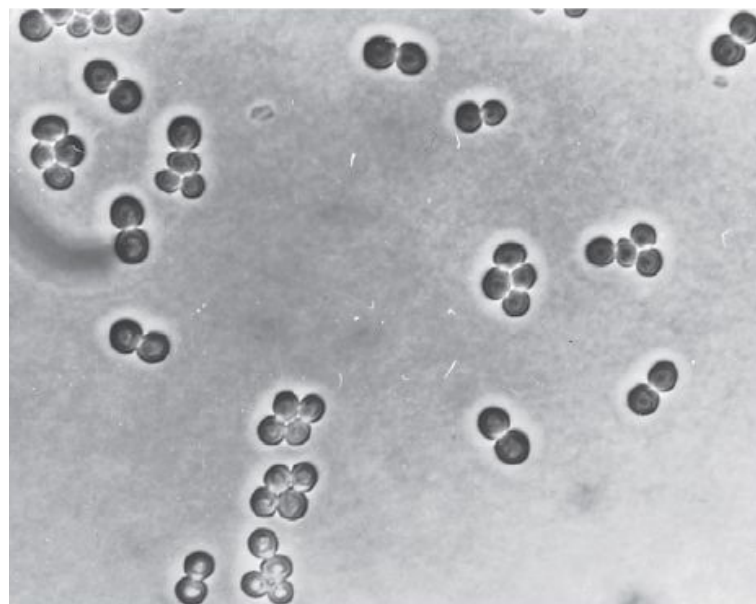
Регуляция пролиферации в нормальных клетках

Внеклеточные сигналы



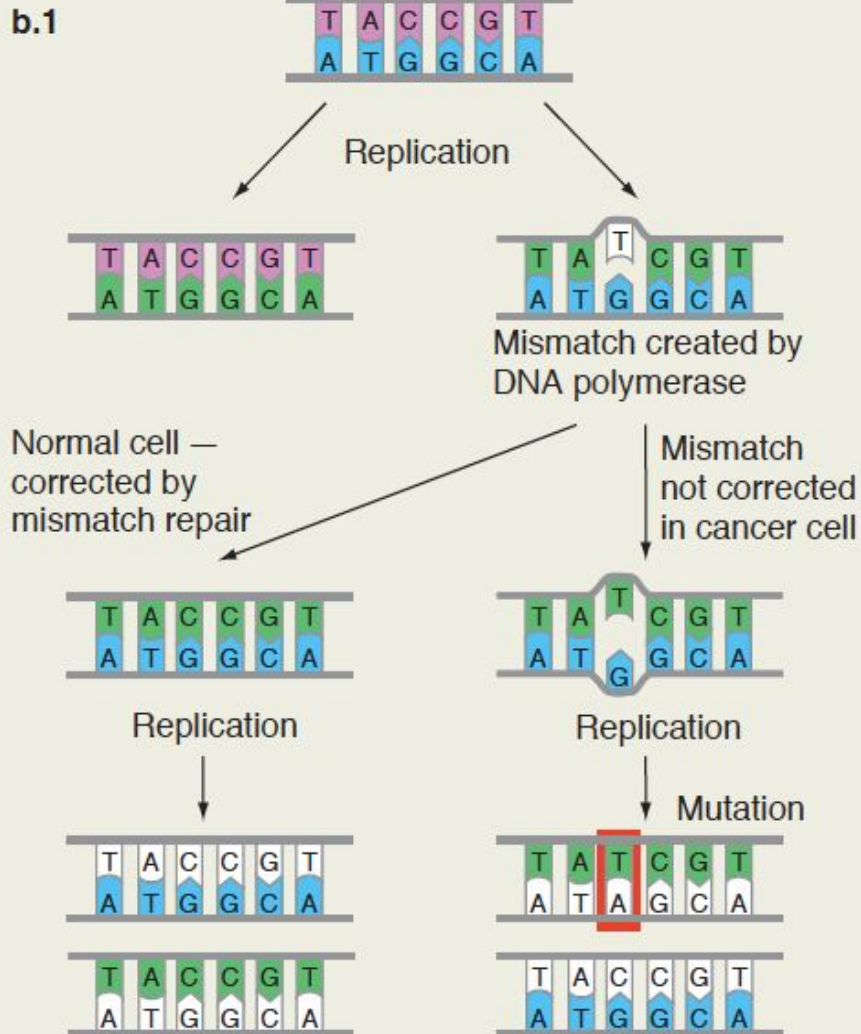
Цель регуляции:
обеспечение **безошибочного**
распределения наследственного
материала в процессе репродукции
клеток.

В основе регуляции размножения клеток
лежит смена состояний **активной**
пролиферации и пролиферативного
покоя.

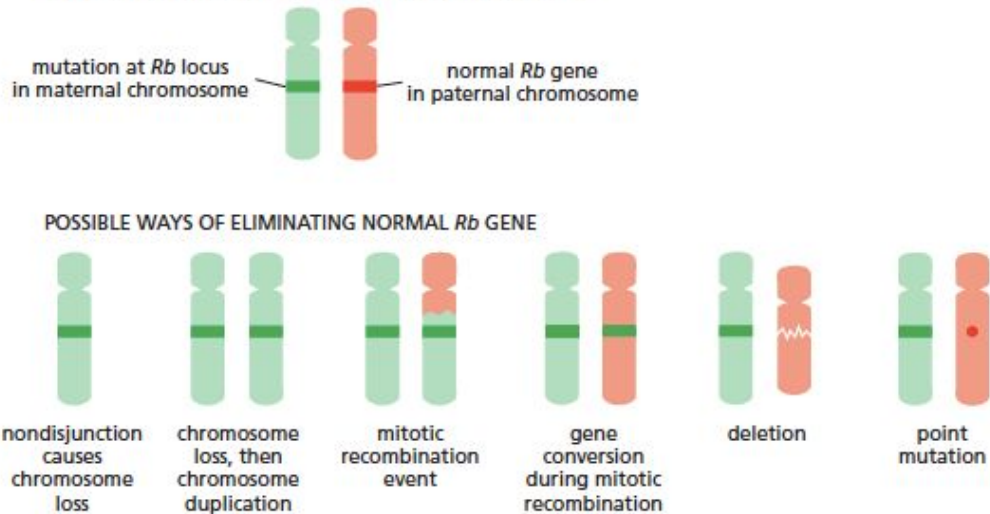


Мутации

- стойкое преобразование генотипа, происходящее под влиянием внешней или внутренней среды



Спонтанные	Индукцированные
Самопроизвольно на протяжении жизни	Под влиянием мутантных воздействий
репликация ДНК, нарушения репарации ДНК, транскрипции и генетическая рекомбинация	



Мутации

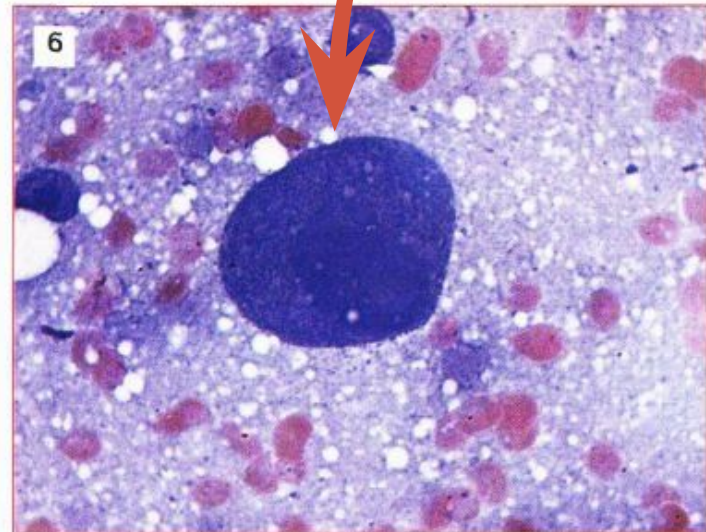
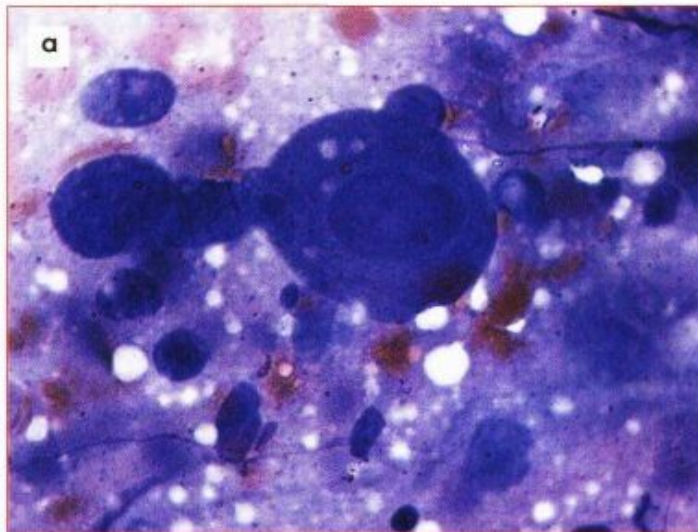
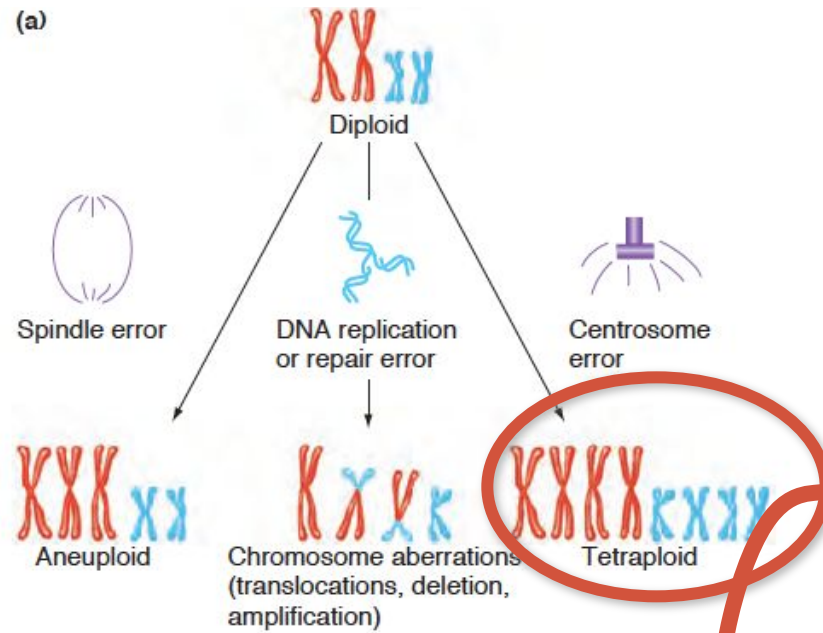
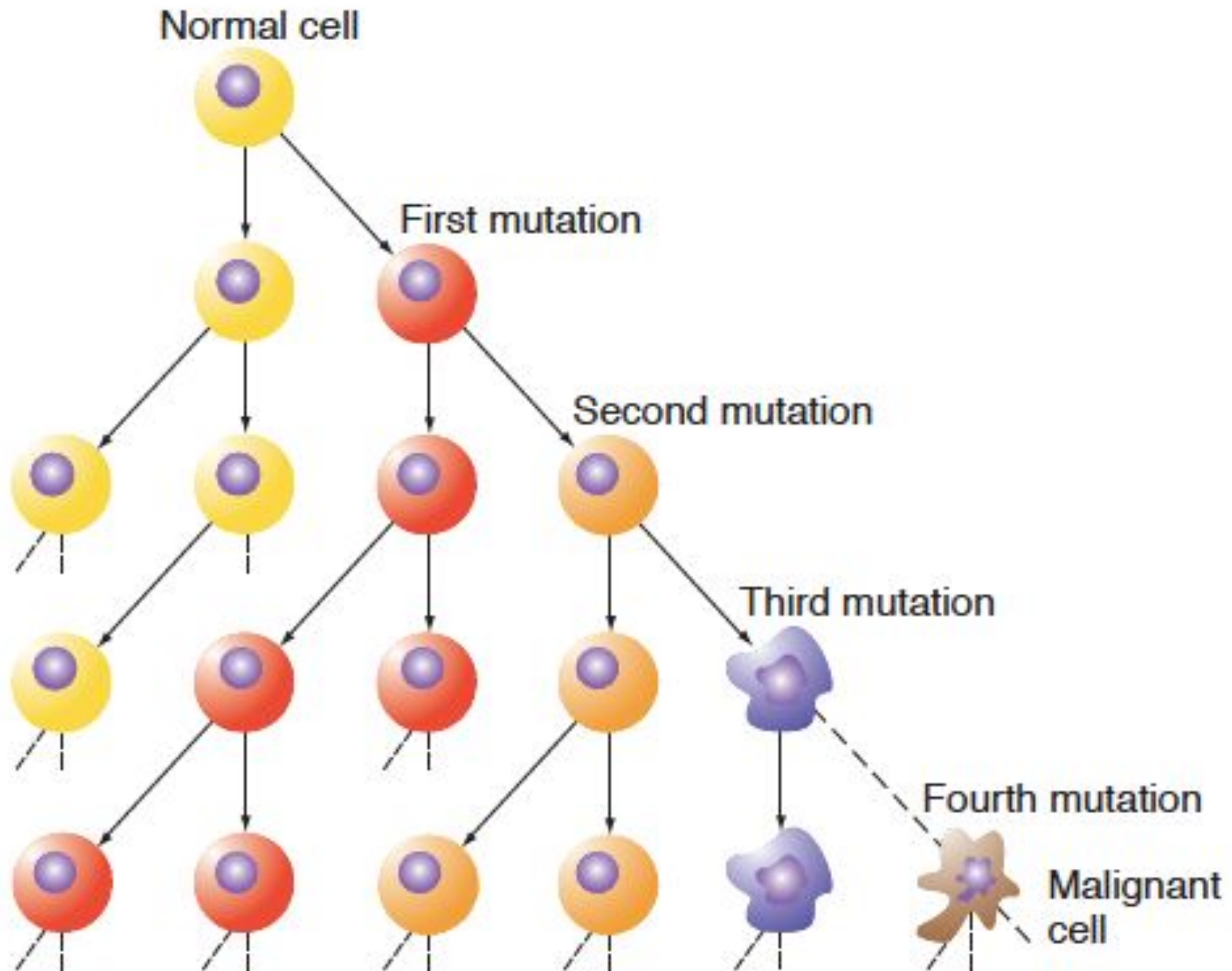
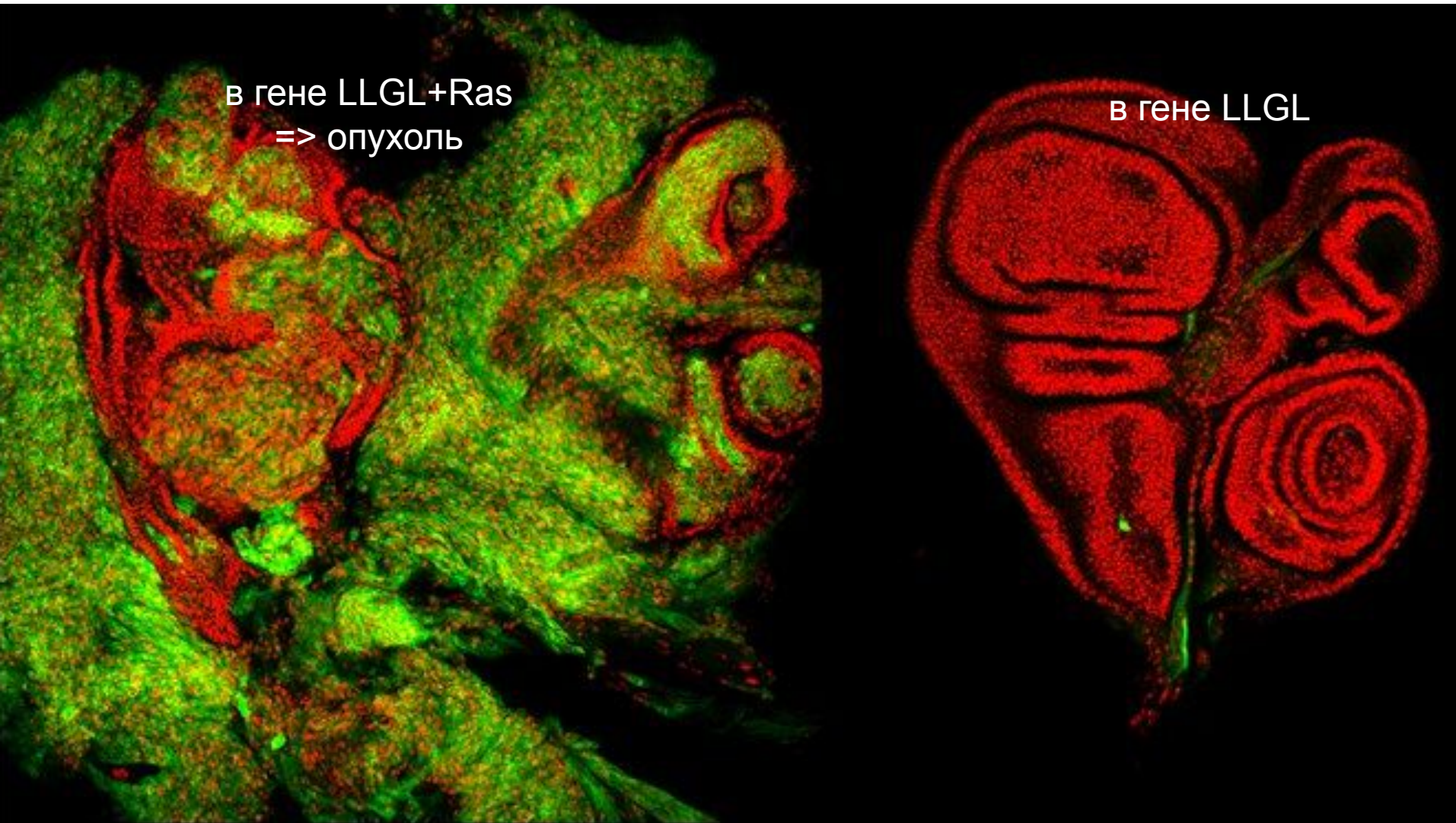


Рис. 71. «Голые» ядра огромных размеров, с крупными ядрышками. Окрашивание по Лейшману. $\times 1000$

Мутации



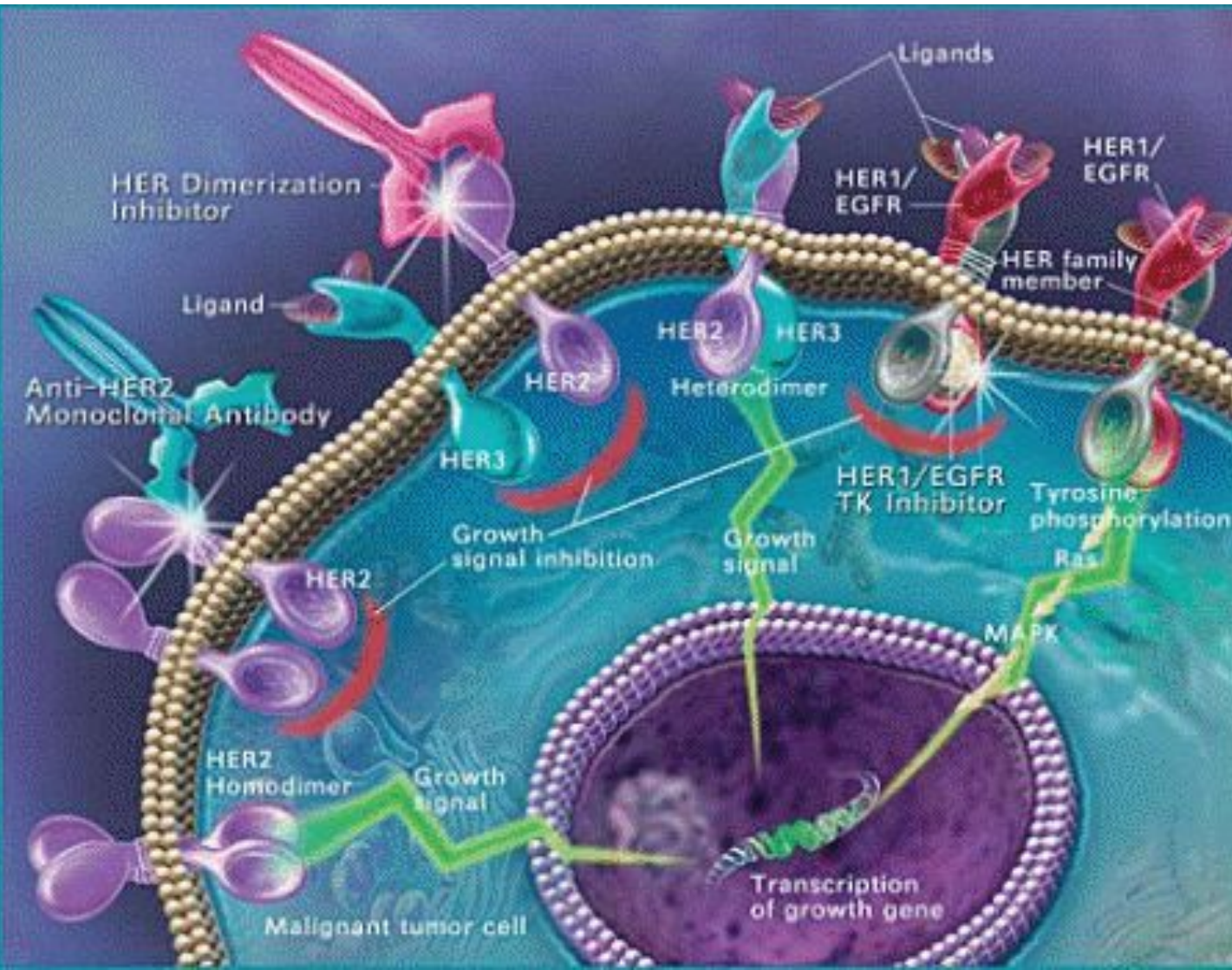
Мутации



Изображение: эпителиальная ткань дрозофилы (крыло, балансирующий орган и диск лапки), зафиксированная с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Zeiss LSM 510. Мутантные клетки экспрессируют GFP (зеленые); окраска ядер с помощью красителя DAPI (красные).

Регуляция пролиферации опухолевых клеток

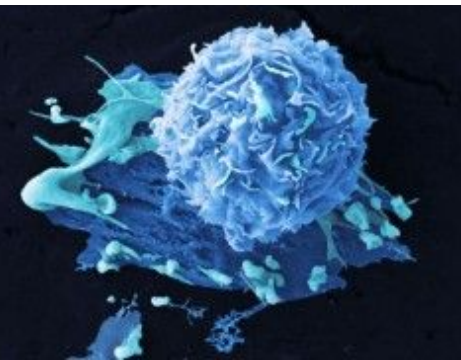
На молекулярном уровне можно выделить три основных способа обеспечения пролиферативной **независимости** опухолевых клеток:



изменение
внеклеточных
сигналов роста,

трансмембранных
проводников ЭТИХ
сигналов

внутриклеточных
путей, которые
приводят сигналы
в действие.



Регуляция пролиферации опухолевых клеток

Потеря нормального контроля роста

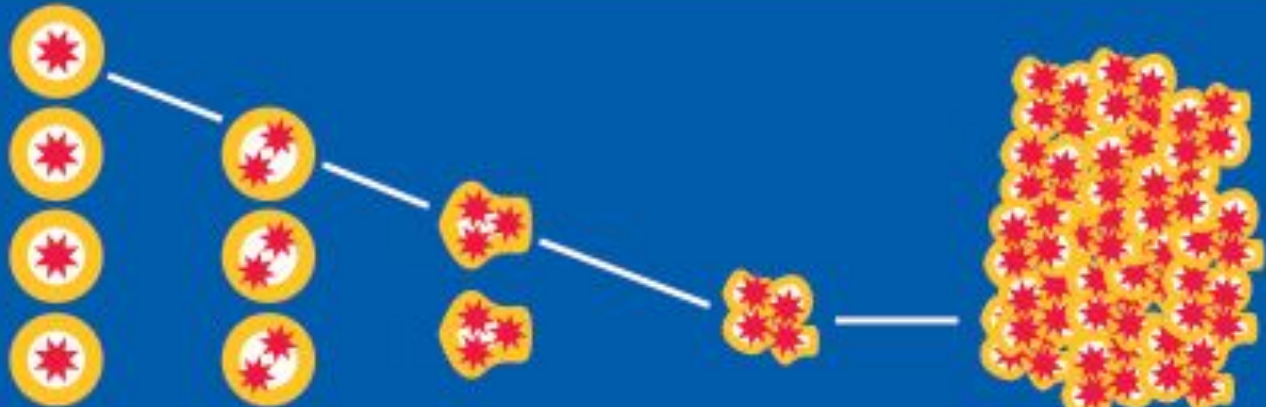
Деление
нормальных
клеток



Апоптоз

Повреждение клетки – Нет репарации

Деление
опухолевых
клеток



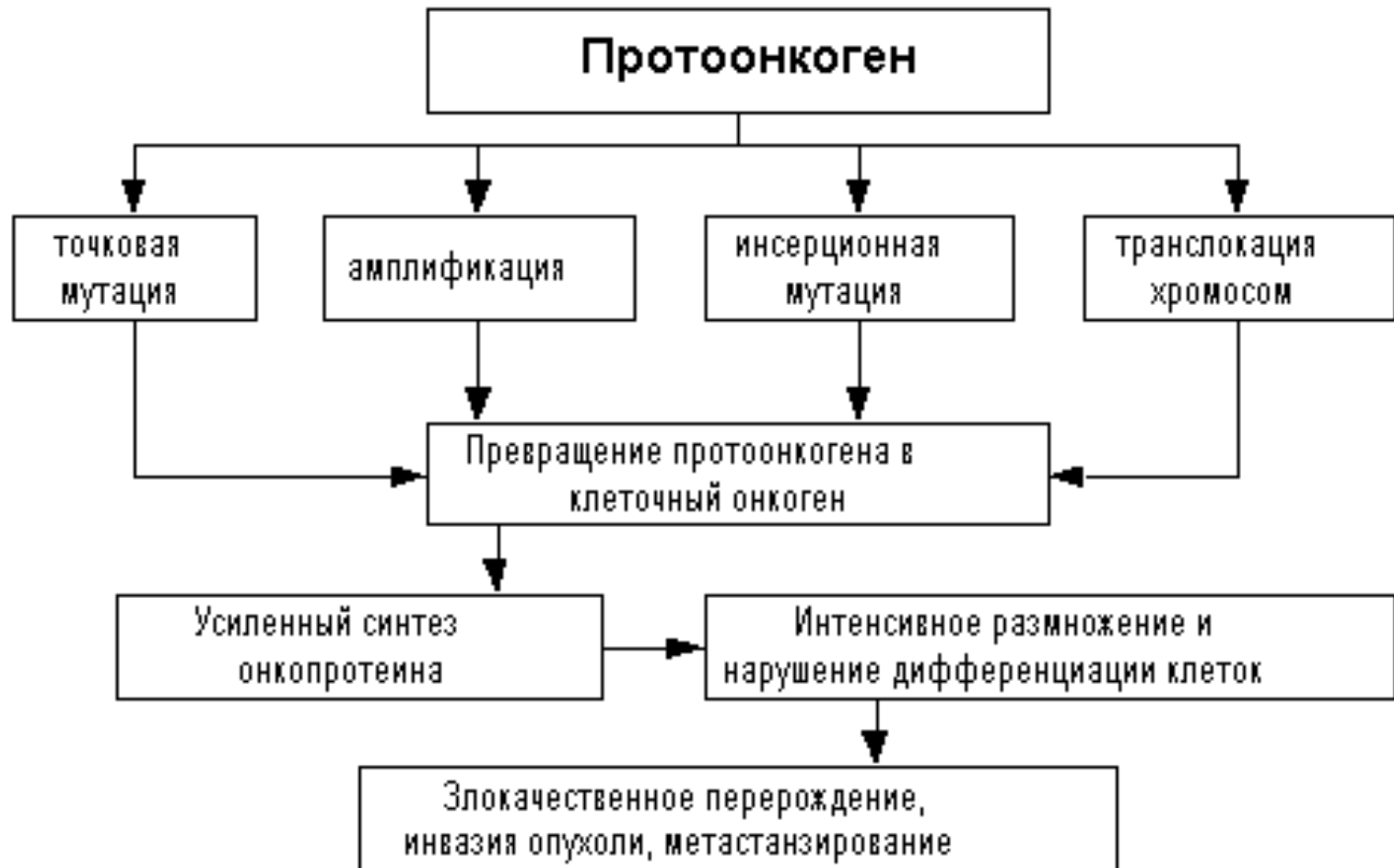
Мутации

Неконтролируемый
рост

Самообеспеченность в пролиферативных сигналах

Протоонкоген — это обычный ген, который может стать онкогеном из-за мутаций или повышения экспрессии.

В норме: кодируют белки, которые регулируют клеточный рост и дифференцировку, вовлечены в пути передачи сигнала и в регуляцию митоза

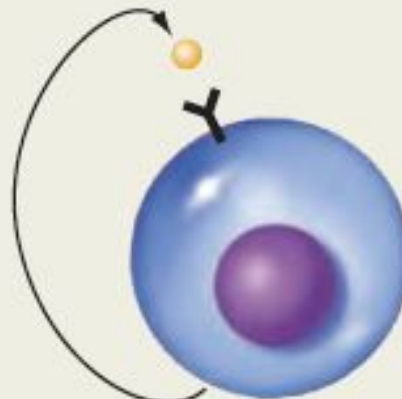


Самообеспеченность в пролиферативных сигналах

Способность постоянно генерировать внутри себя сигналы к размножению:



В нормальных клетках нет



В опухолевых клетках есть

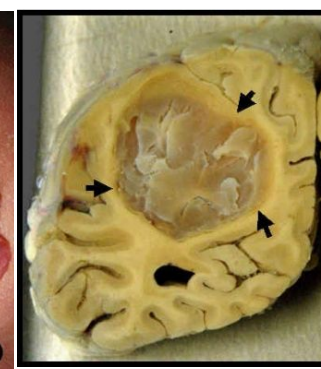
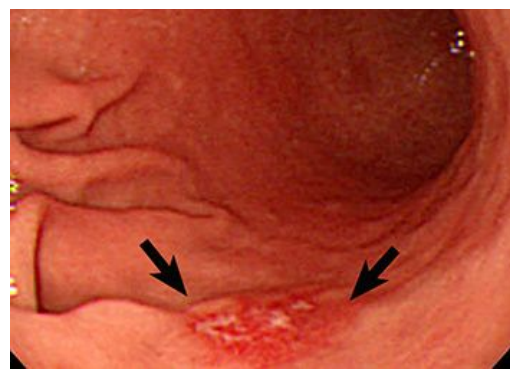
Продукты онкогенов

Лиганды	<i>sis, int-2</i>
Рецепторы	<i>trk, ros</i>
GTP-связывающие белки	<i>Ha-ras, N-ras</i>
Ядерные рецепторы гормонов	<i>erbA</i>
Ядерные онко-супрессоры	<i>p53, Rb</i>
ДНК-связывающие белки	<i>myc, fos</i>
Протеинкиназы	<i>raf, src</i>

Самообеспеченность в пролиферативных сигналах

Онкогены – участники системы передачи сигналов

Название онкогена	Связь с опухолью	Механизм активации	Продукт онкогена
hst	Карцинома желудка	Рearанжировка (перегруппировка)	Фактор роста
erb-B	Рак молочной железы, глиобластома	Амплификация (увеличение)	Рецептор к фактору роста
trk	Рак щитовидной железы	Рearанжировка	Рецептор к фактору роста
Ha-ras	Рак мочевого пузыря	Точечная мутация	Сигнальные белки
myc	Лимфомы, карциномы	Амплификация, транслокация	Ядерный фактор транскрипции

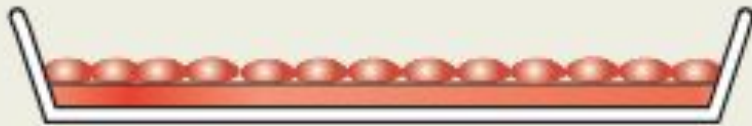


Избегание супрессии клеточного роста

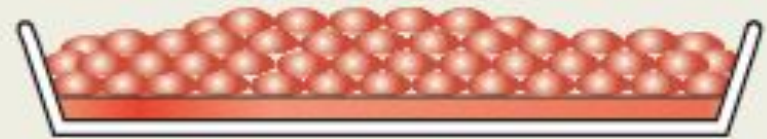


Нечувствительность к ингибирующим сигналам:

Контактное торможение

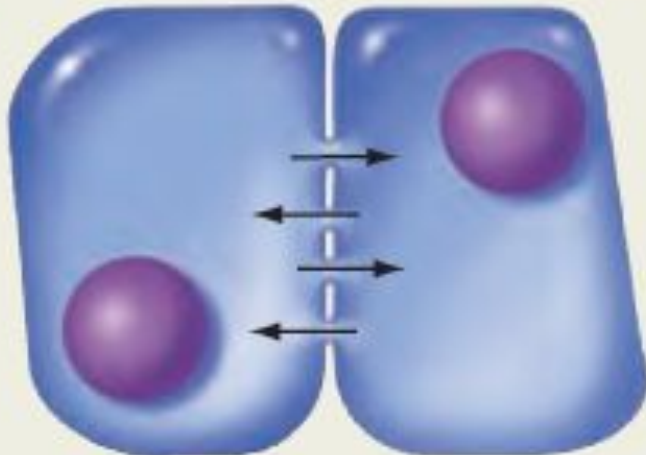


В нормальных клетках есть

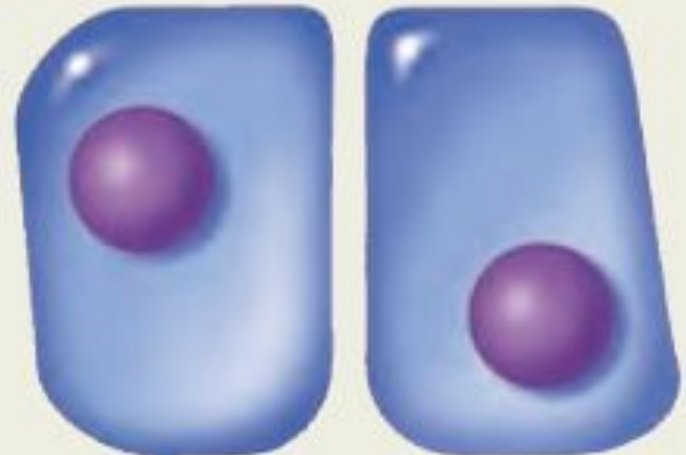


В опухолевых клетках нет

Щелевидные контакты между клетками



В нормальных клетках есть



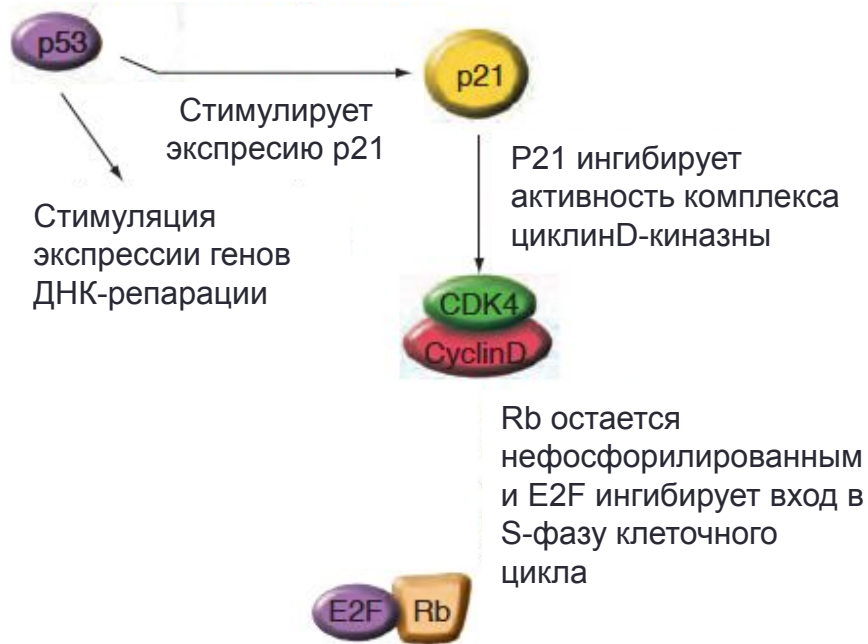
В опухолевых клетках нет

Избегание супрессии клеточного роста

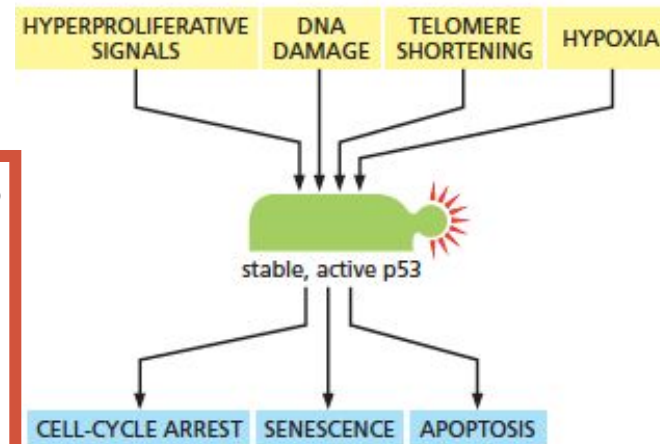
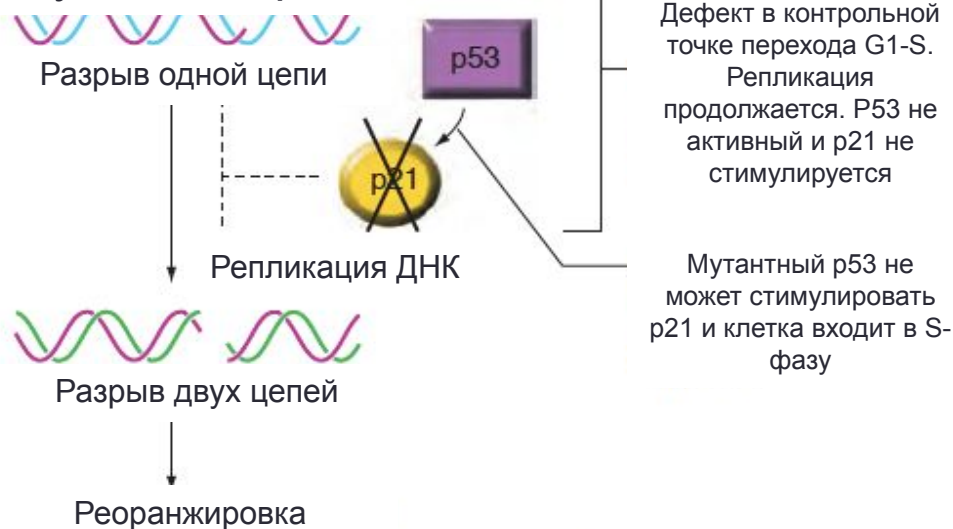


Дисфункция опухолевых супрессоров

Нормальный p53



Мутантный p53



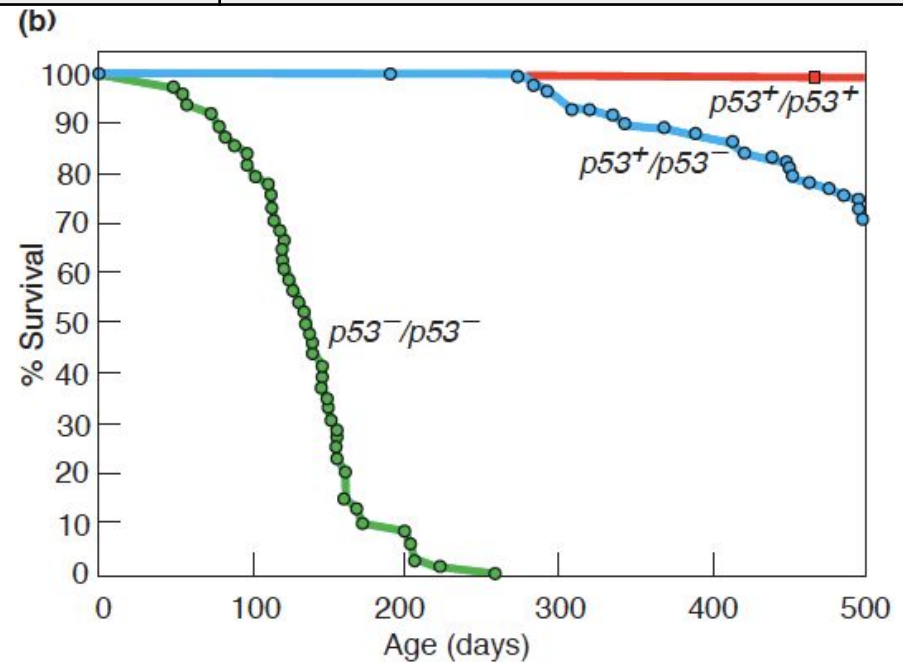
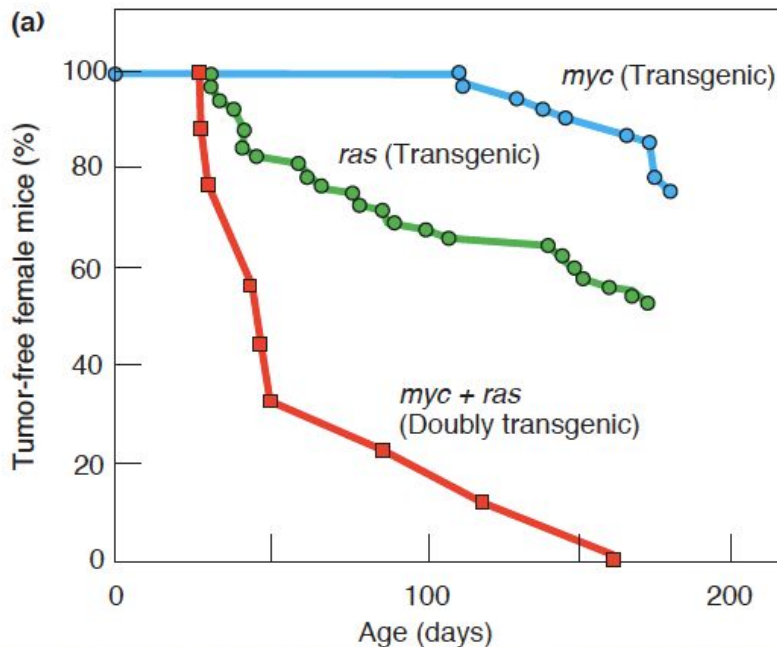
В **норме** под влиянием неблагоприятных факторов белок **p53** активизируется и направляет клетку по одному из трех путей:

- Остановка клеточного цикла
- Старение
- Апоптоз

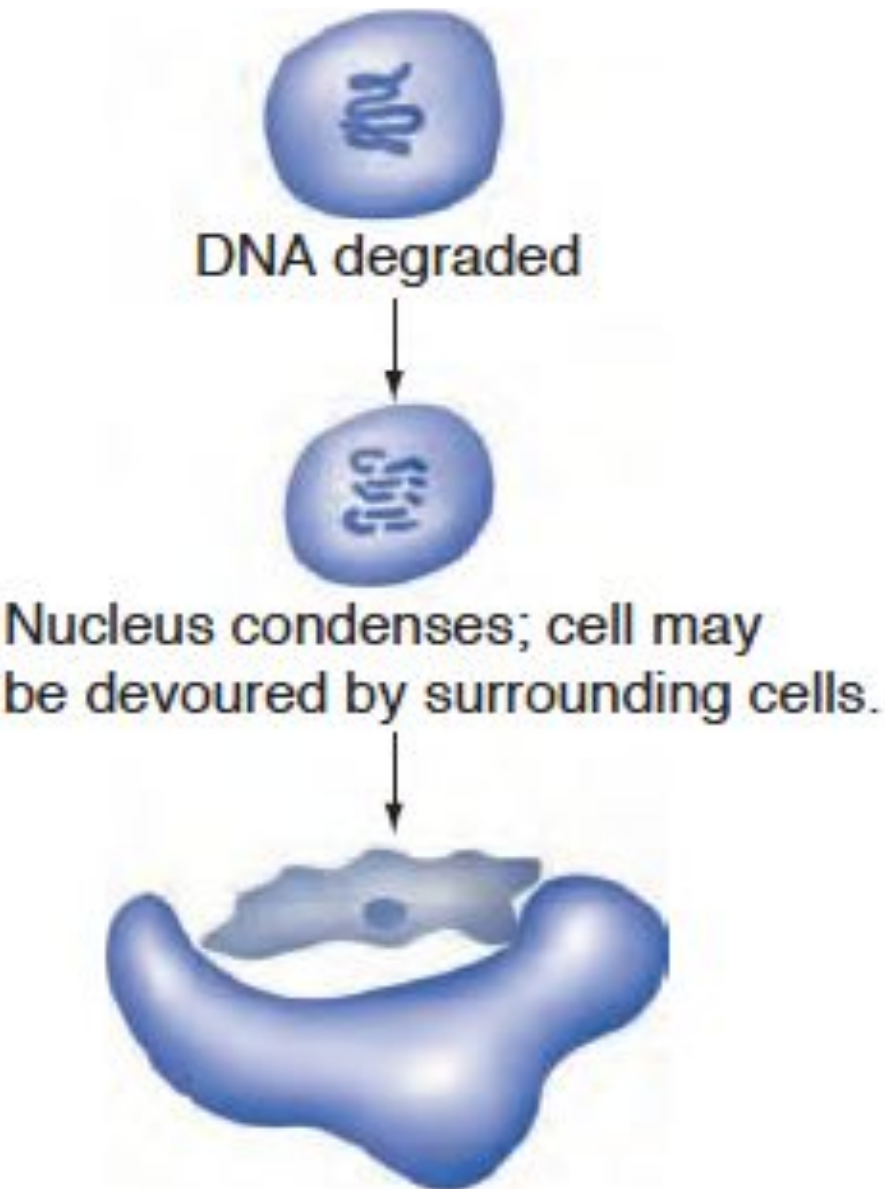
Избегание супрессии клеточного роста



Ген	Нормальная функция гена	Функция нормального белкового продукта
p53	Контрольная точка перехода G1-S	Транскрипционный фактор
RB	Контроль смены G1-S	Ингибитор транскрипционного фактора
XP	Вырезание поврежденного участка ДНК	Ферменты
BS	Рекомбинантная репарация поврежденной ДНК	ДНК/РНК лигазы



Избегание апоптоза



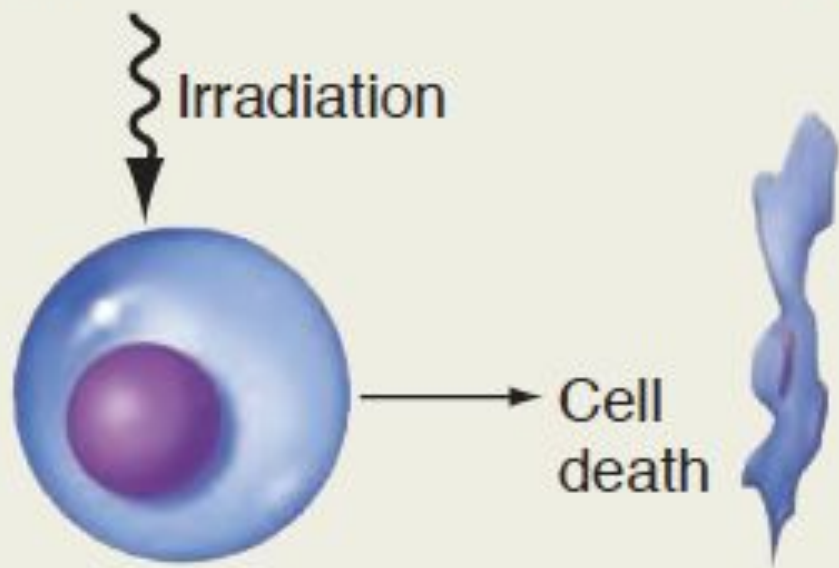
АПОПТОЗ

- Экспрессия киллерных цитокинов
- Изменение гормонального статуса
- Нехватка факторов роста
- Повреждения ДНК
- Гипоксия

Избегание апоптоза

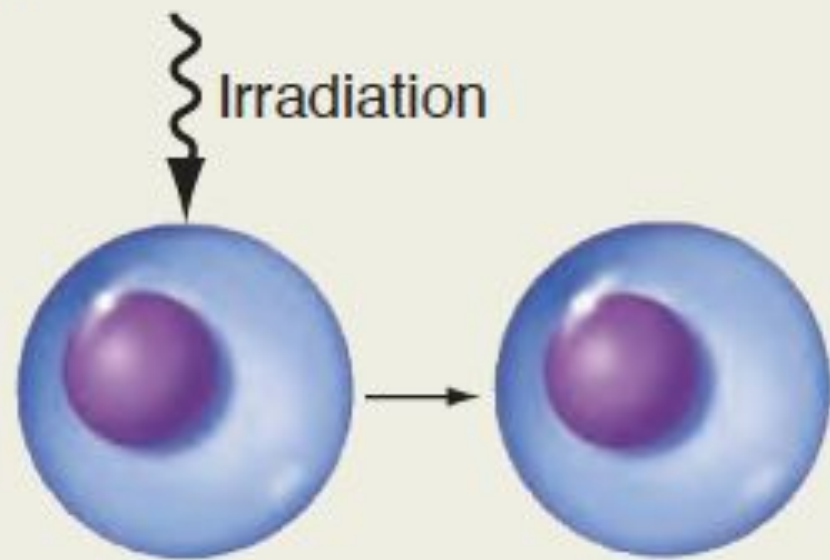


На поверхности опухолевой клетки **перестает экспрессироваться рецептор** клеточной смерти Fas

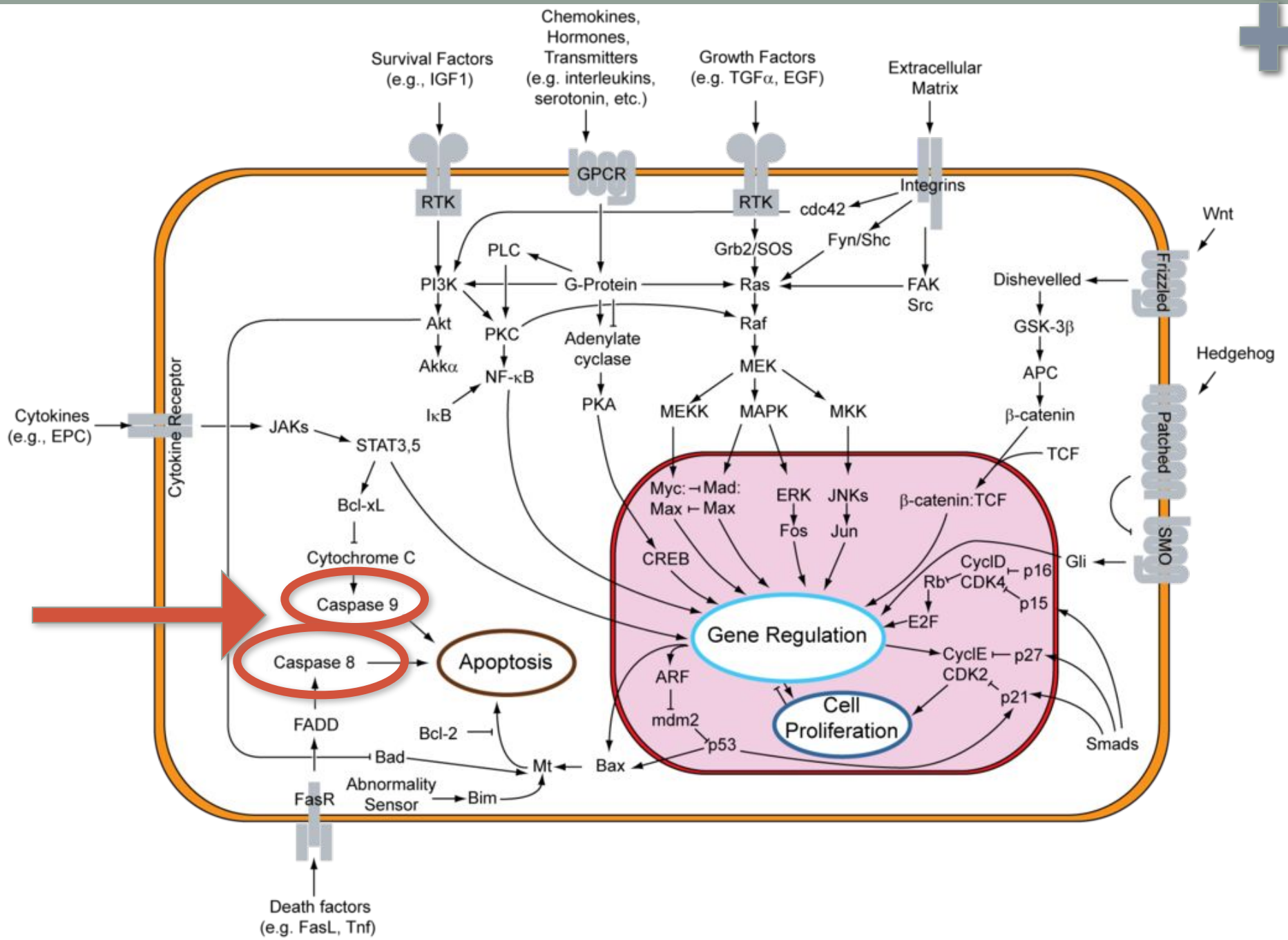


В нормальных клетках есть

Клеточная смерть

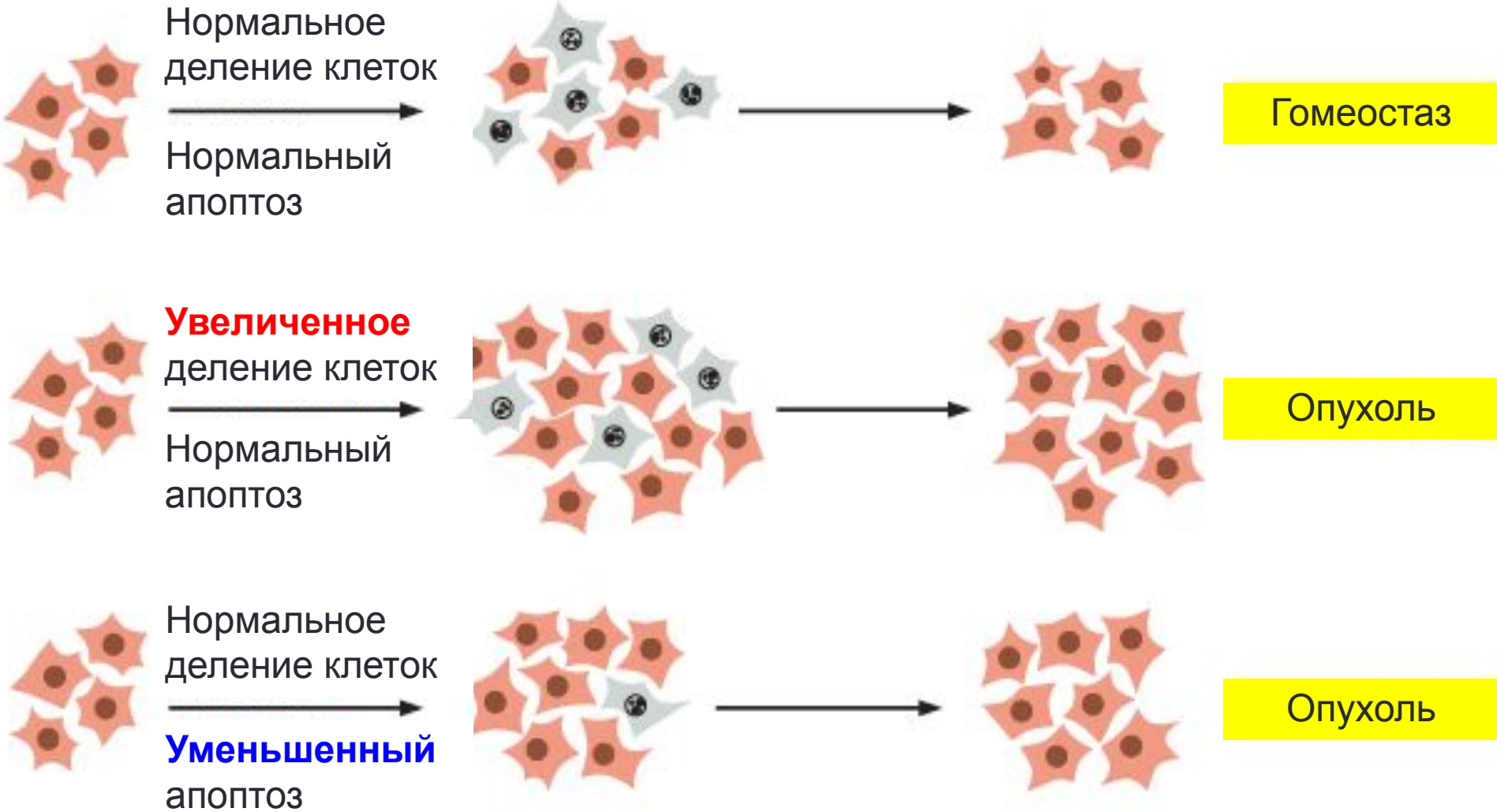


В опухолевых клетках нет





Избегание апоптоза



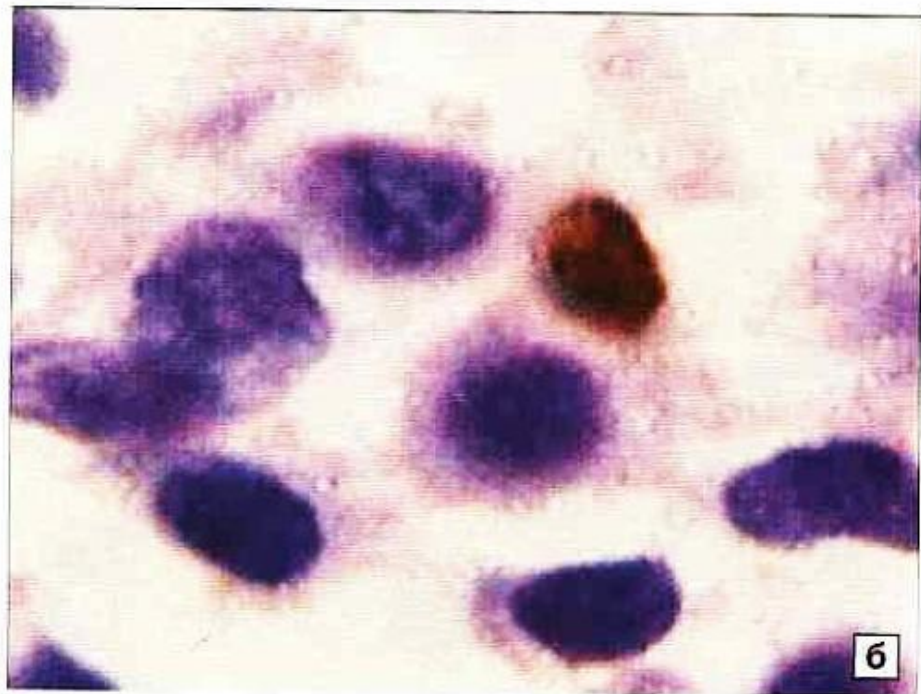
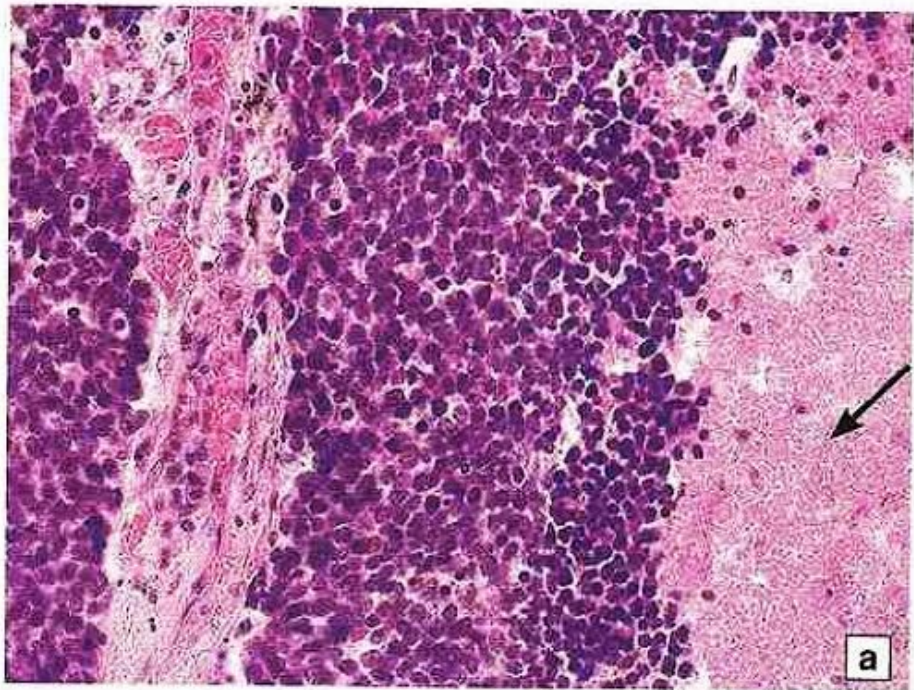


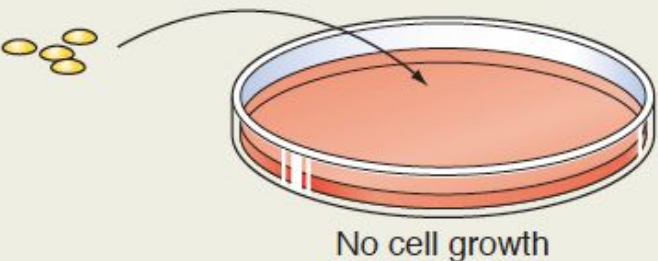
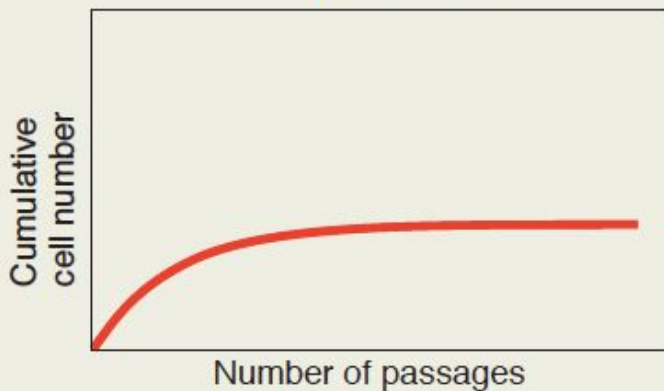
Рис. 1–43. Микропрепараты (а, б). Некроз и апоптоз опухолевых клеток мелкоклеточного рака легкого: а — очаг некроза и апоптоза опухолевых клеток (*стрелка*) в центре комплекса, образованного мелкими умеренно полиморфными опухолевыми клетками со скудной цитоплазмой и маленькими плотными ядрами, виден также апоптоз отдельных клеток; б — опухолевая клетка в стадии апоптоза, ее ядро окрашено в коричневый цвет иммуногистохимическим методом; TUNEL-test; а — $\times 200$; б — $\times 600$

Неограниченное деление



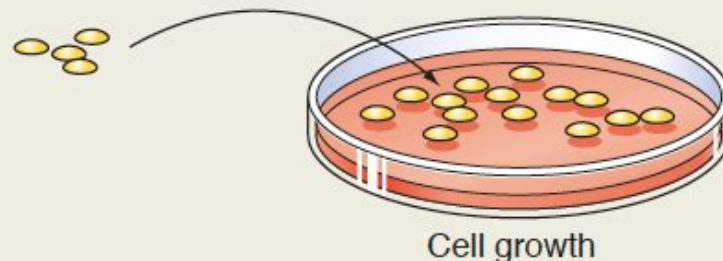
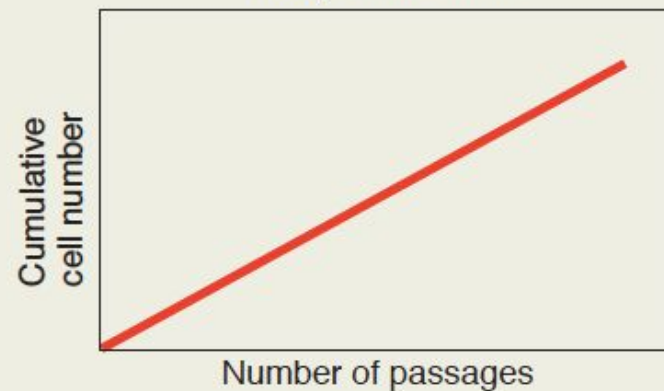
Рост культур клеток

Нормальные клетки



Immortality

Опухолевые клетки



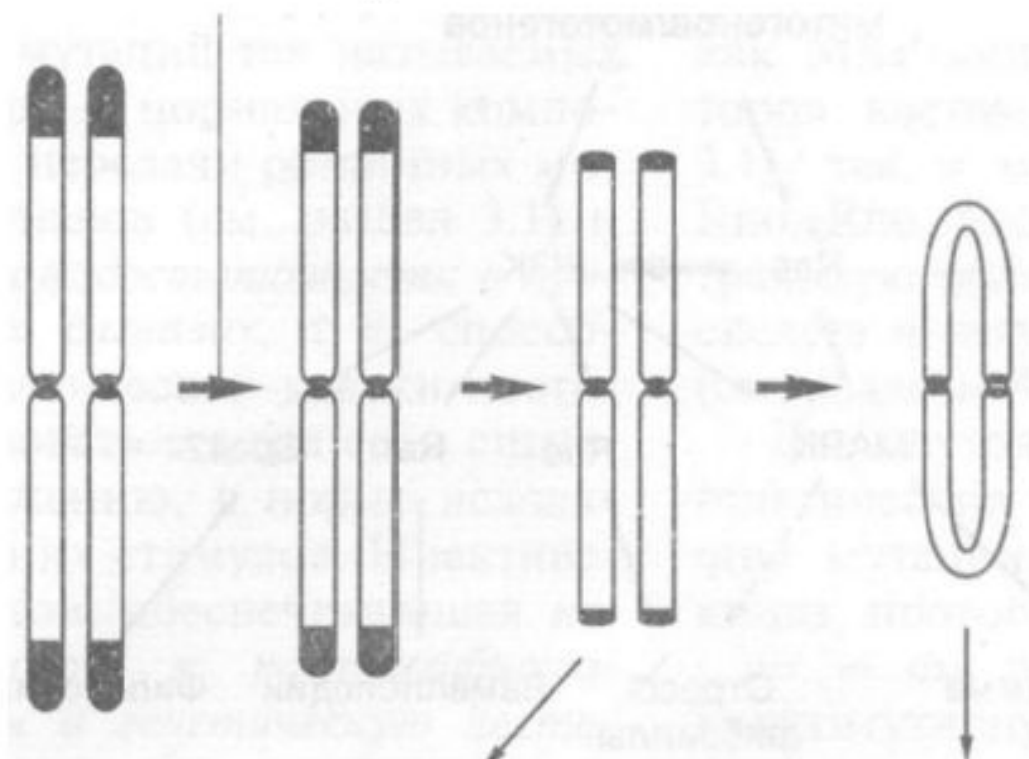
Growth in soft agar

Неограниченное деление



Схема 2.7. Теломерный механизм репликативного старения клеток человека

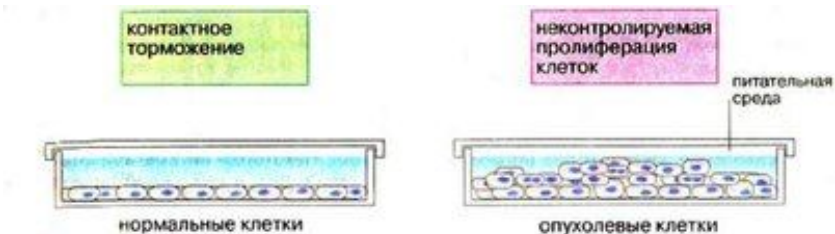
Неполная репликация
концов линейной ДНК



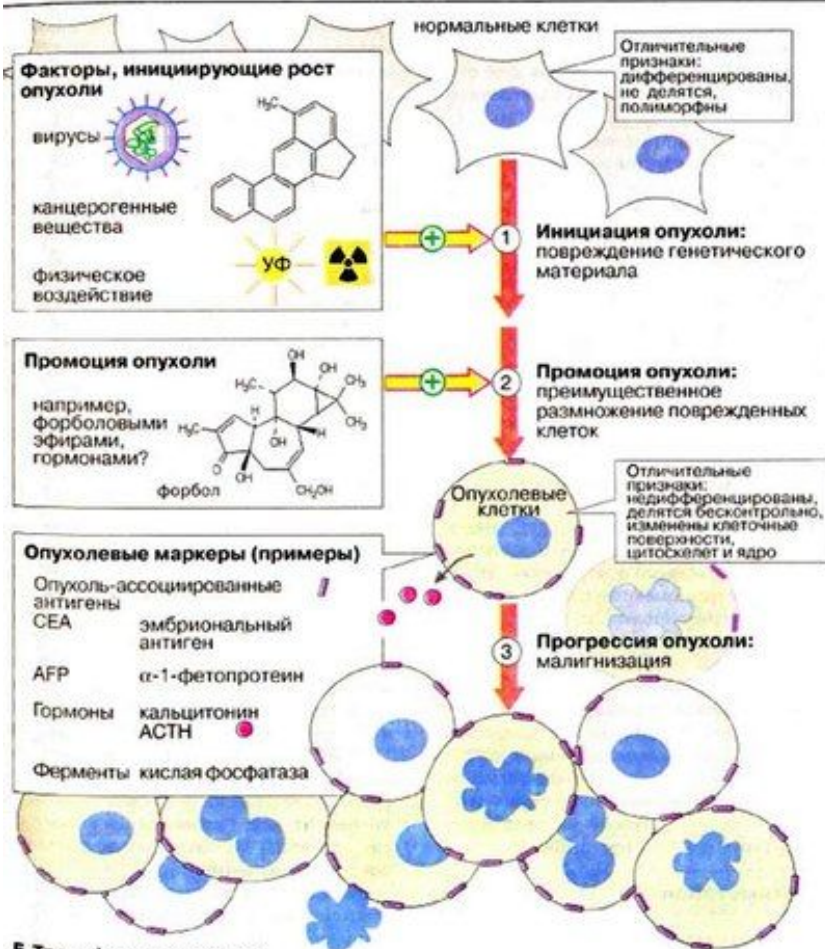
Ранний кризис (стадия М1),
остановка деления, как при
повреждениях ДНК

«Генетическая катастрофа»
(стадия М2),
слипание хромосом

Неограниченное деление



А. Особенности деления клеток



Активация онкогена *тус* и инактивация опухолевого супрессора *p53*



Включение теломеразы

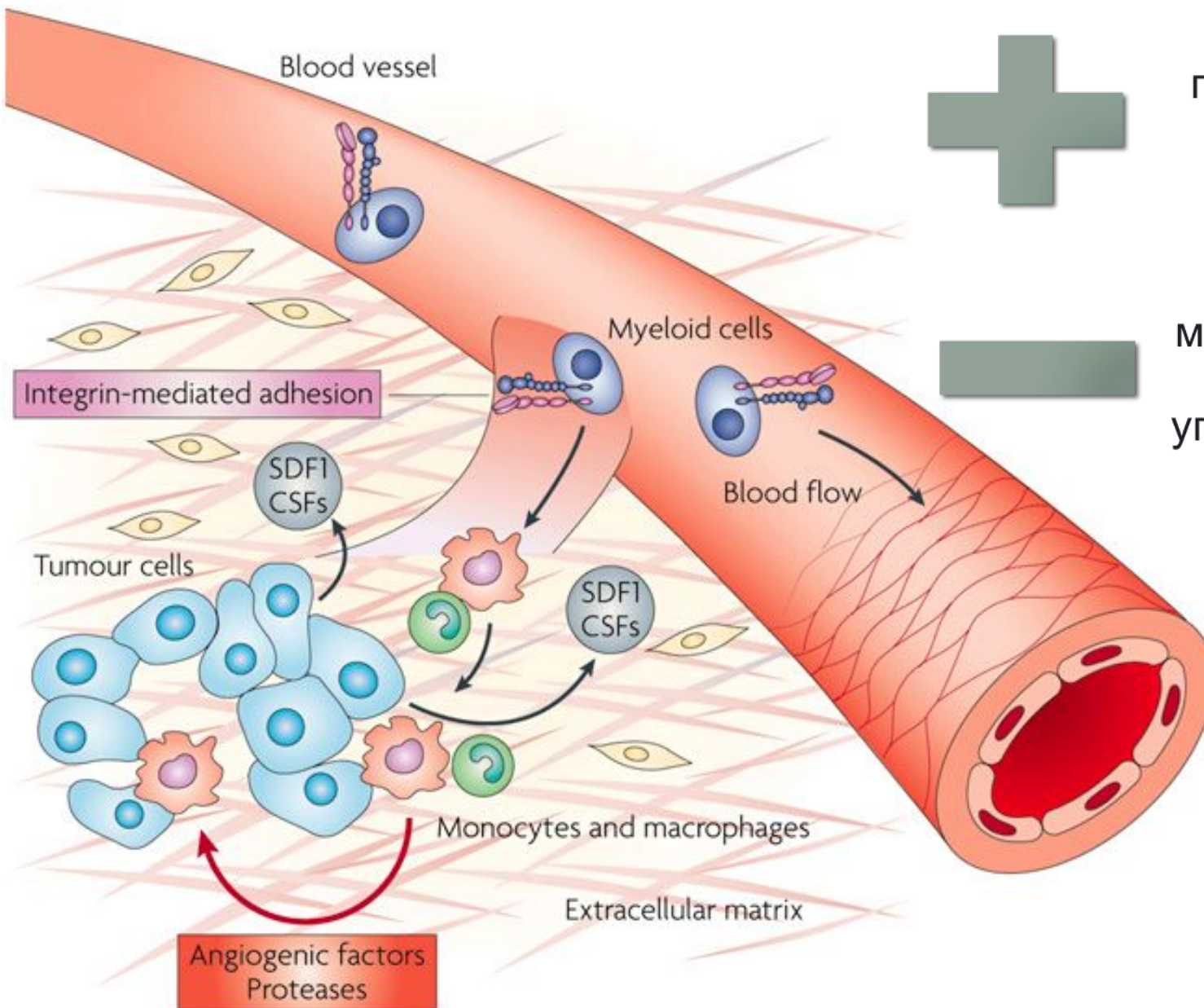


Достраивание теломер и поддержание их постоянной длины



Отсутствие репликативного старения (иммортализация)

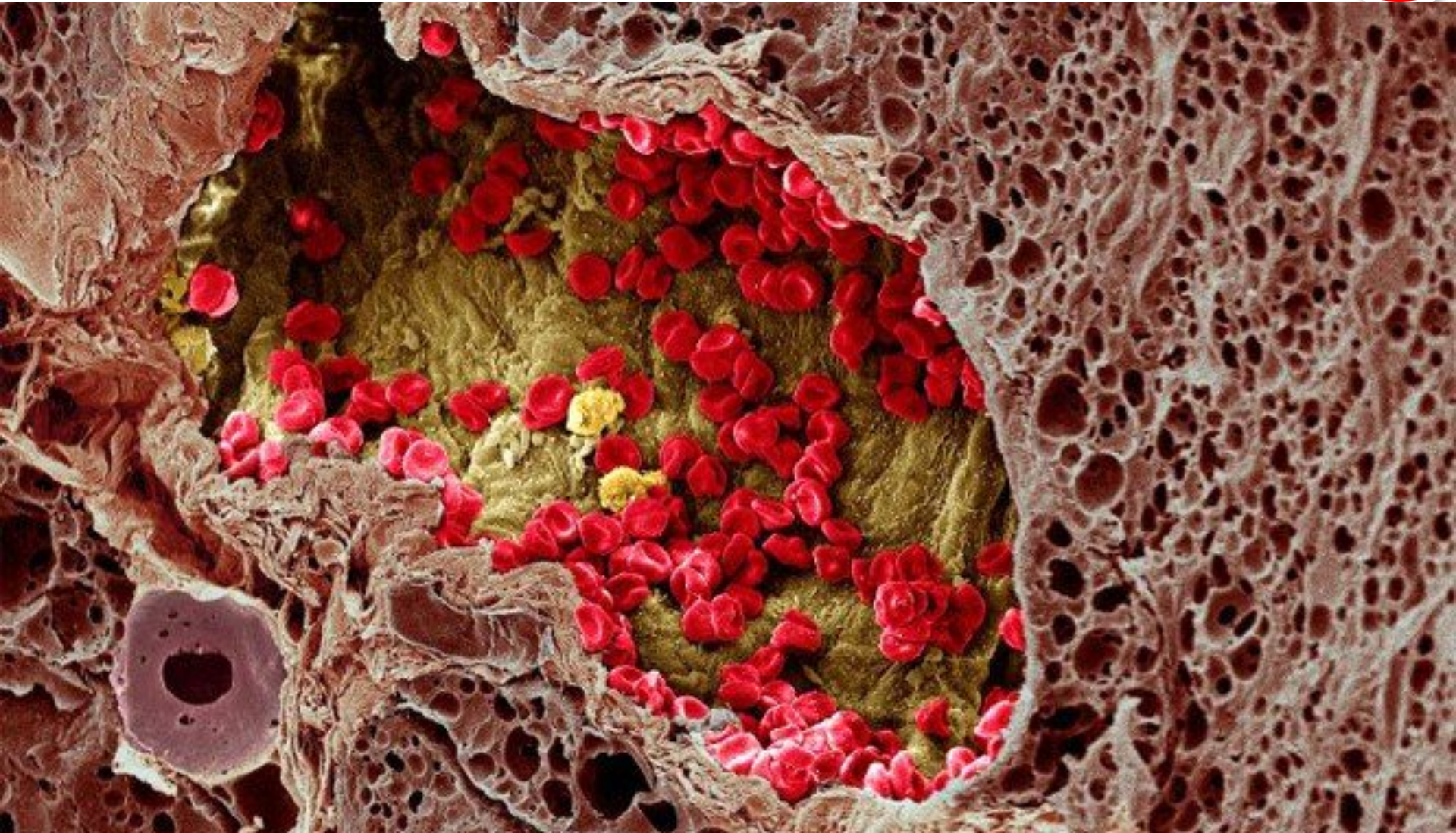
Индукция ангиогенеза



Получение
питательных
веществ и
кислорода,

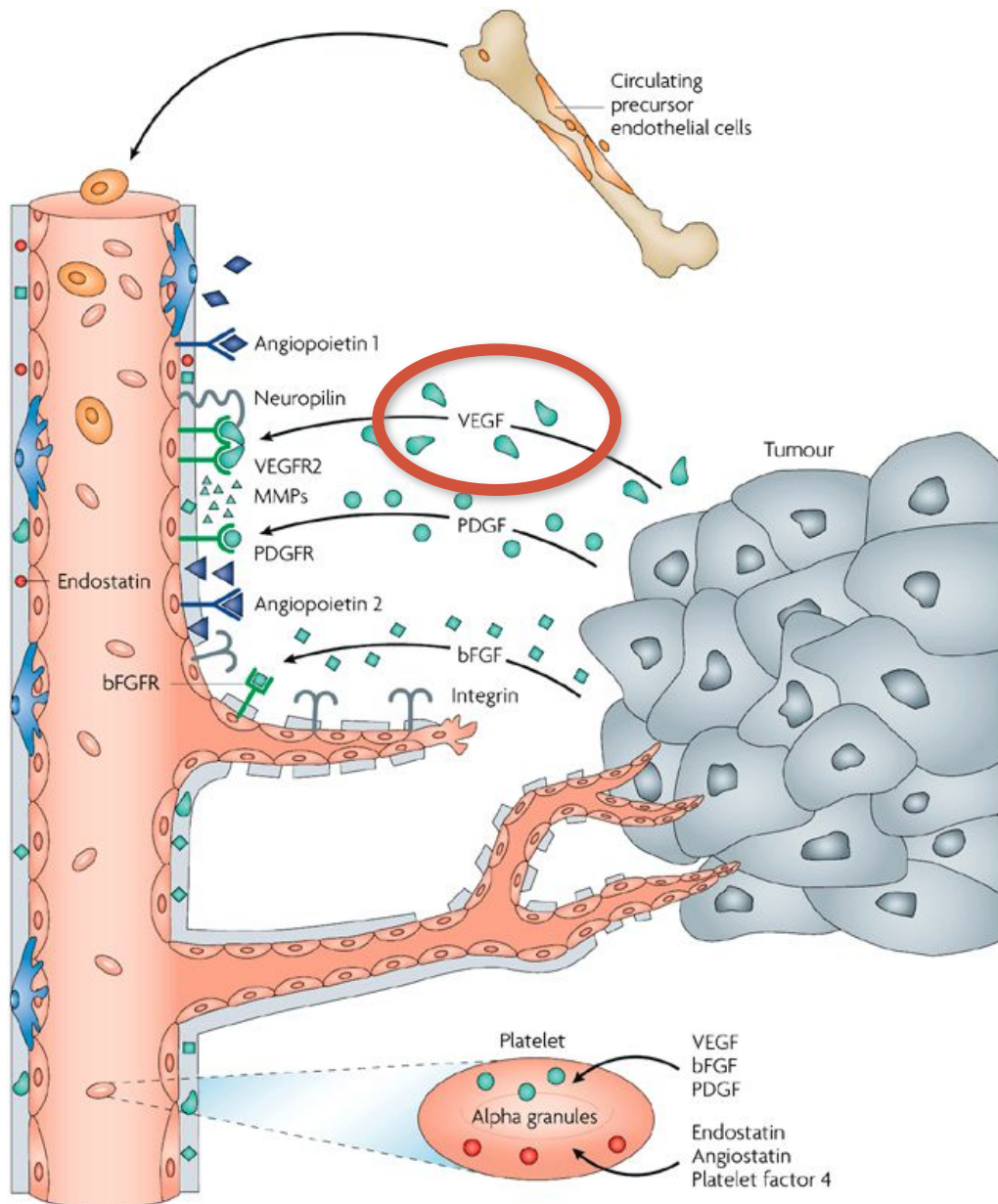
Выведение
метаболических
отходов и
углекислого газа

Индукцирование ангиогенеза

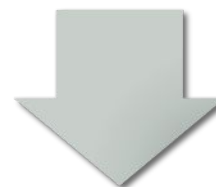


Изображение: Крио-электронная микроскопия кровеносного сосуда, вросшего в меланому и поставляющего для нее питательные вещества. Многочисленные красные кровяные клетки видны внутри сосуда.

Индукция ангиогенеза

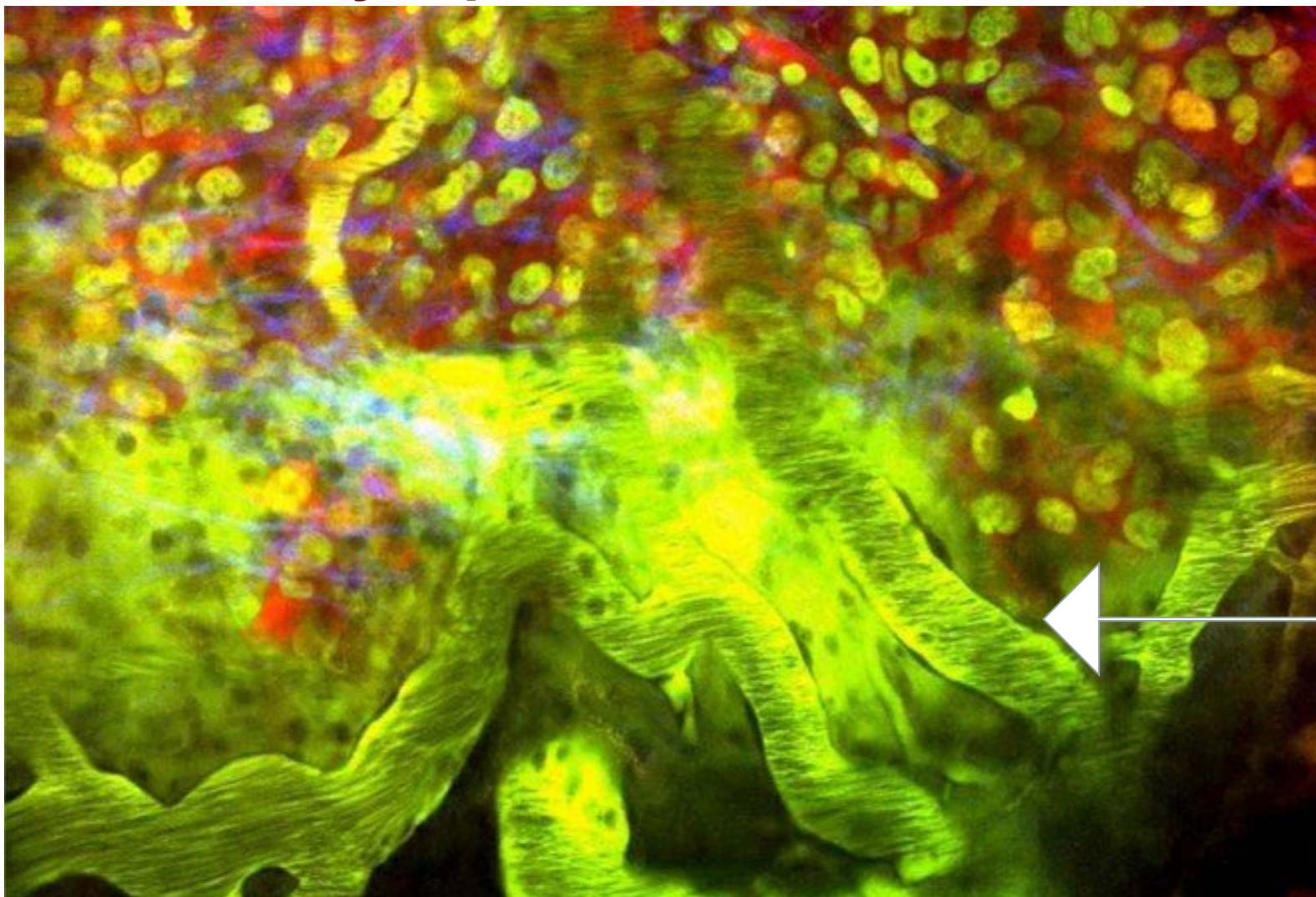


Продукция фактора роста эндотелия сосудов (VEGF)



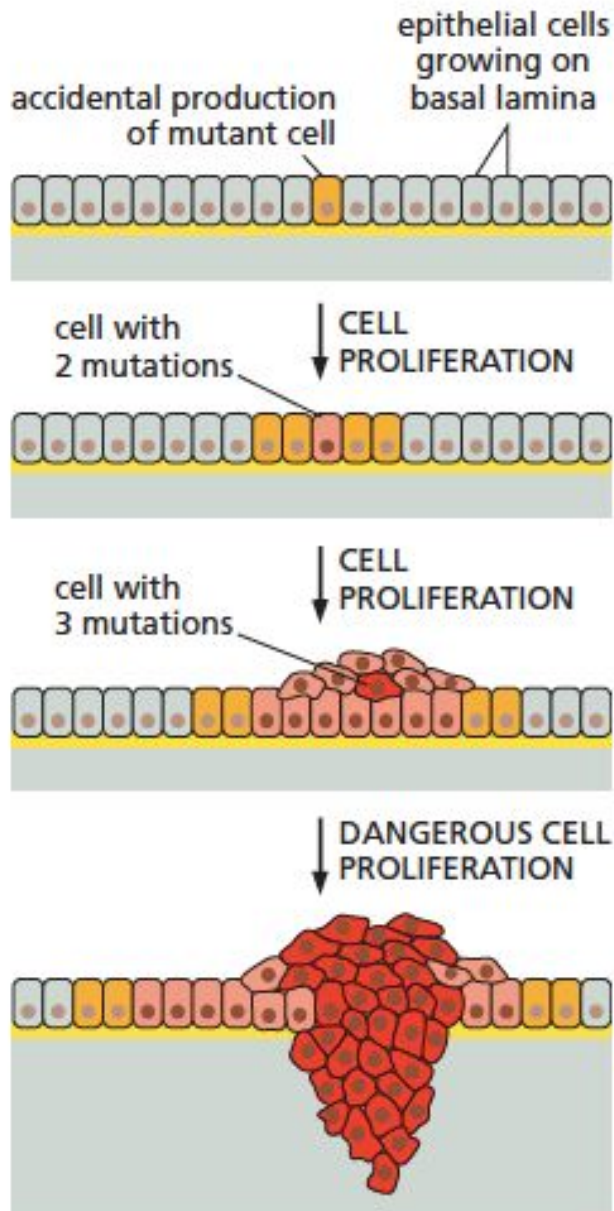
Размножение и направленная миграция эндотелиоцитов

Индукцирование ангиогенеза



Изображение: растущая фибросаркома HT1080 в дерме мыши вызывает неоангиогенез, часто в виде сосудов странной, неправильной формы с неполноценной проницаемостью. Кровеносные сосуды и внесосудистый отек мечены зелено-желтым красителем FITC-меченным декстраном; ядра и тела клеток опухоли окрашены в желтый и красный соответственно. Коллагеновые нити окрашены в синий.

Активация инвазии и метастазирования



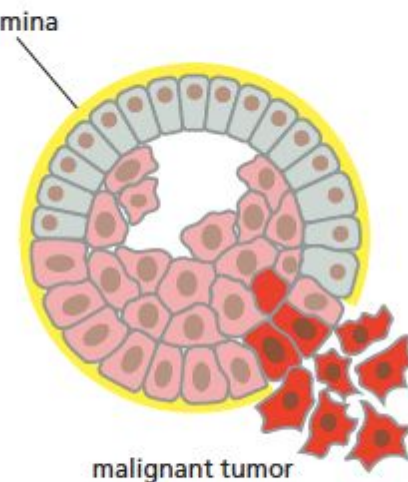
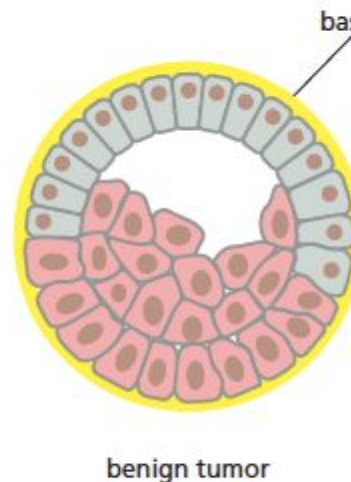
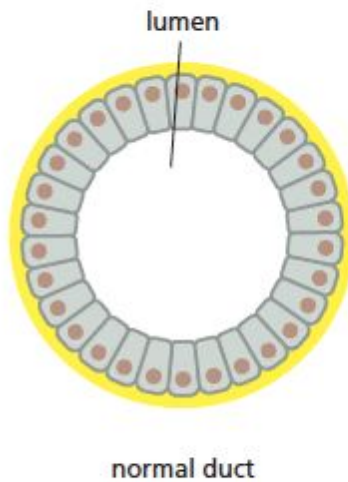
Активация G-белков семейства Ras

Повышение активности MAP-киназ

Повышение активности ГТФ-аз семейства Rho

Регуляция клеточного цикла

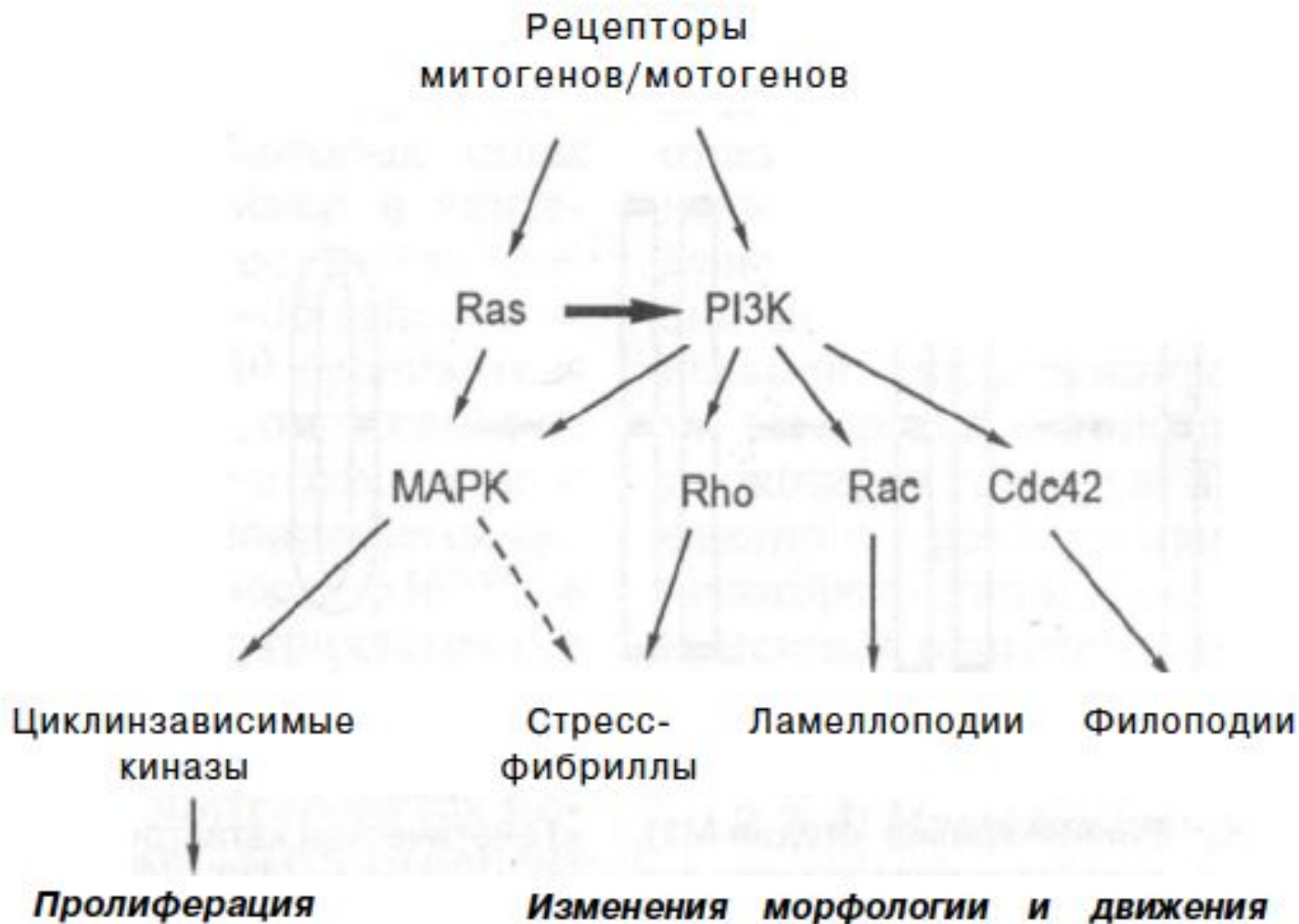
Реорганизация цитоскелета и регуляция движения клеток



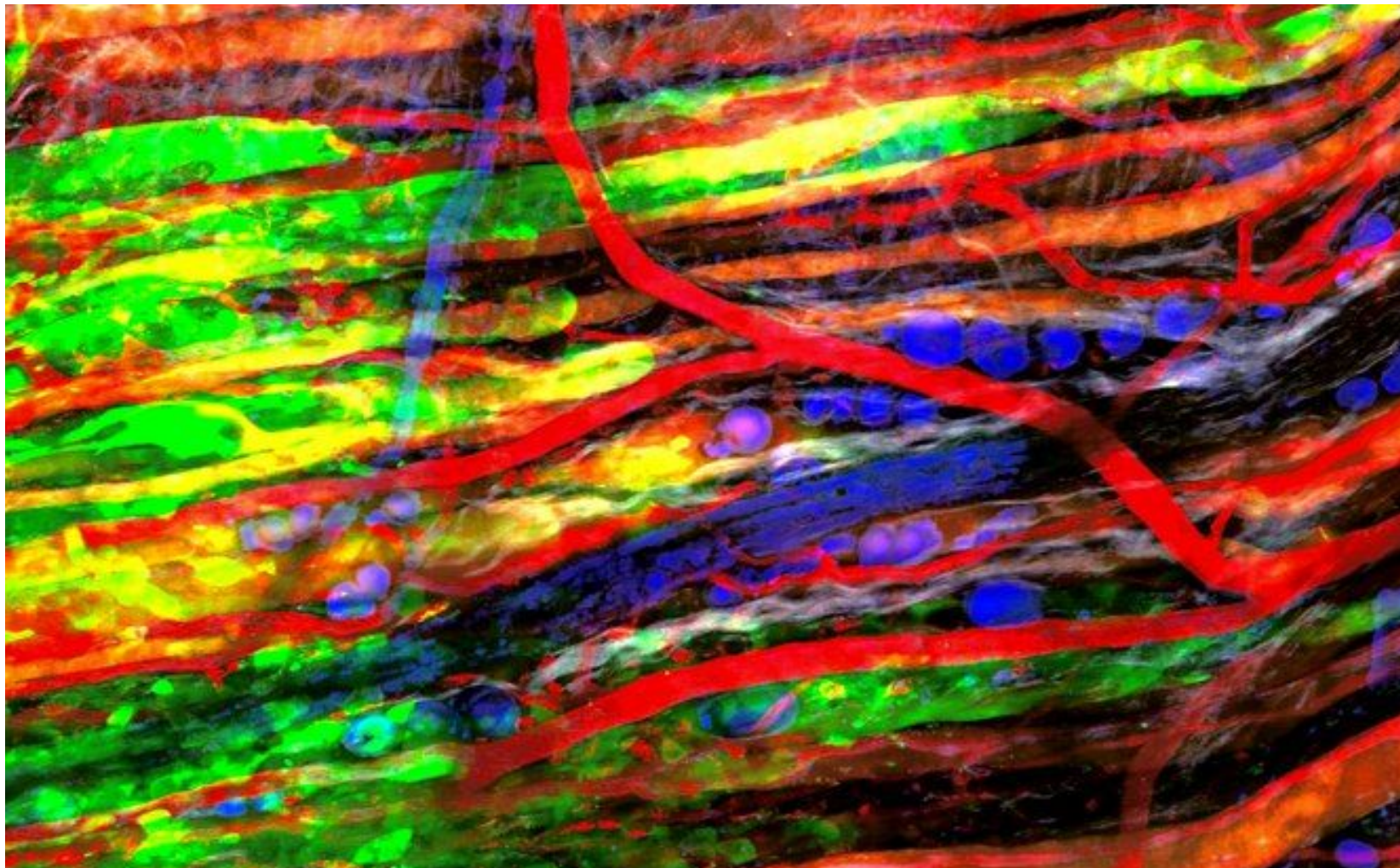
Активация инвазии и метастазирования



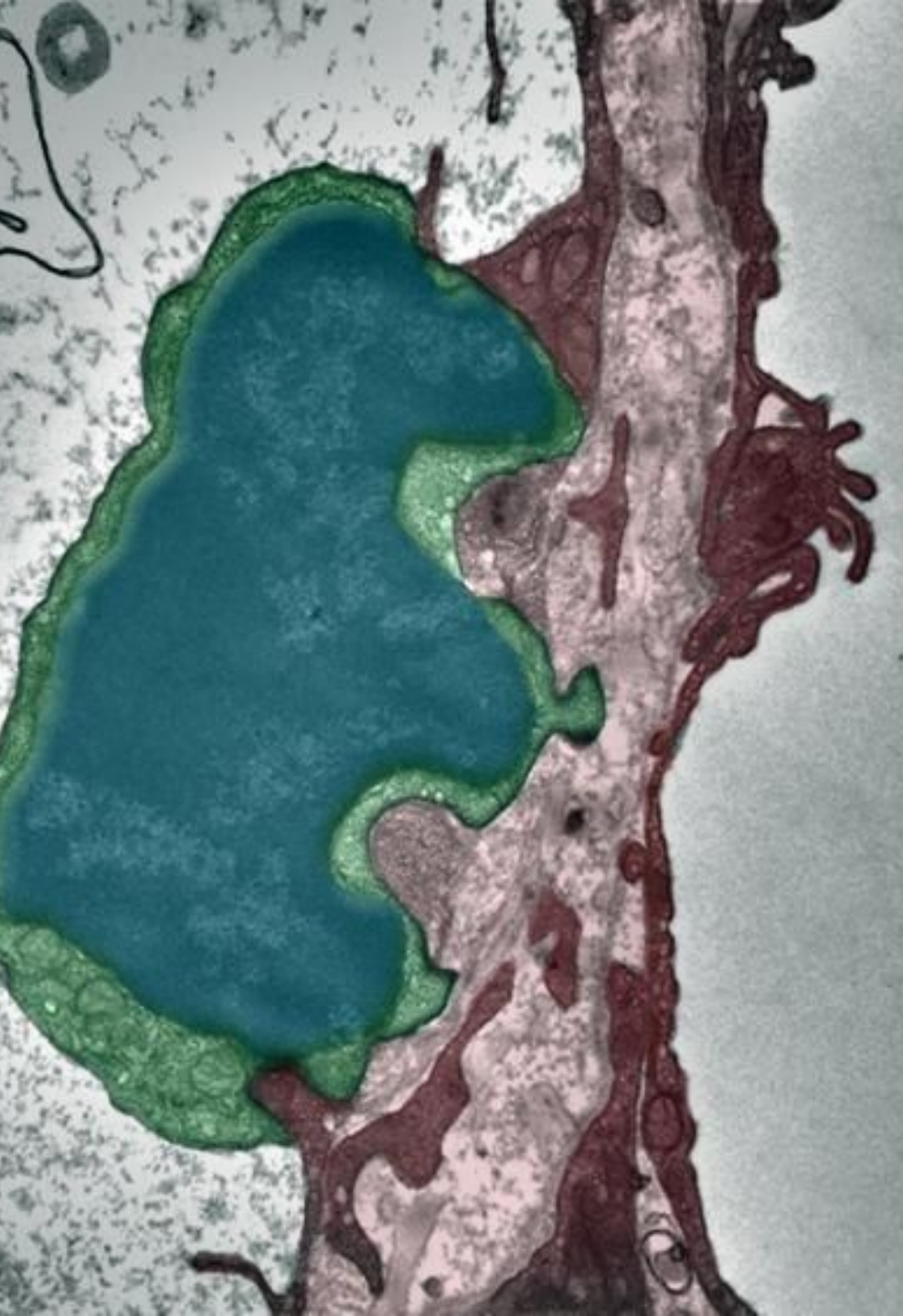
Схема 2.6. Верхние этажи сигнальных путей, активируемых рецепторами ростовых факторов. Контролируют размножение и движение клеток



Активация инвазии и метастазирования

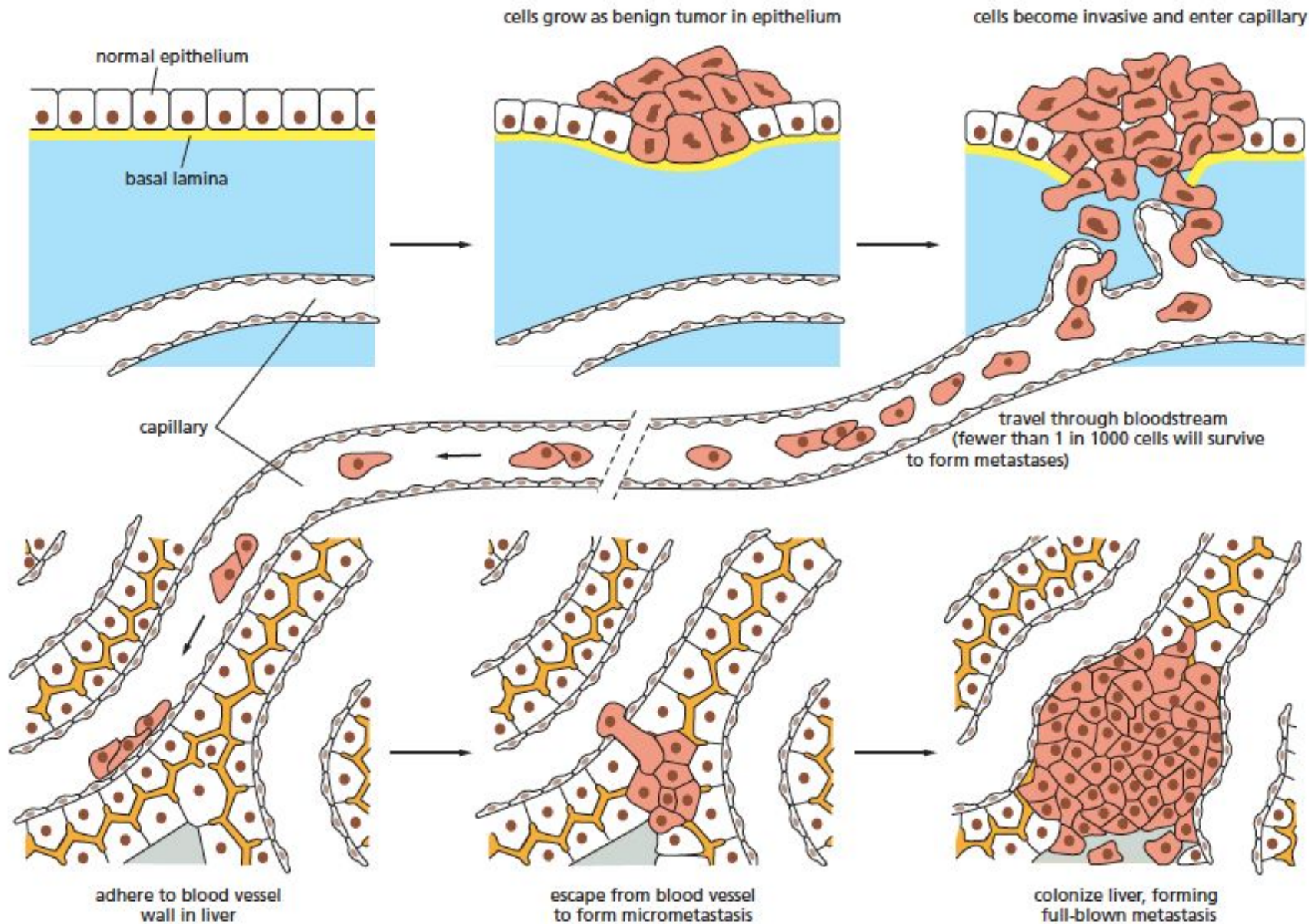


Изображение: Обзор клеток меланомы, распространяющихся в дерму мыши, при этом клетки опухоли (зеленые) инвазируют в тканевые структуры как по одиночке, так и коллективно. Клетки опухоли, экспрессирующие E2-Crimson окрашены (по ошибке) в зеленый цвет, а мышечные волокна, экспрессирующие GFP, - в оранжевый. Нервные волокна и коллаген окрашены в синий (третья гармоника) и серый (вторая гармоника) цвета соответственно. AlexaFluor660-декстран окрашен в красный цвет.



клетка рака легких,
прорастающая в
кровеносный сосуд

Активация инвазии и метастазирования



Активация инвазии и метастазирования



каскад инвазии и метастазирования

местная инвазия

интравазация опухолевых клеток (проникновение в прилегающие кровеносные или лимфатические сосуды)

передвижение опухолевых клеток через лимфатическую и гематогенную системы,

переход клеток из просвета таких сосудов в паренхиму отдалённых тканей (экстравазация),

формирование небольших узелков опухолевых клеток (микрометастазы)

рост очагов микрометастатических поражений в макроскопические опухоли - «колонизацией».

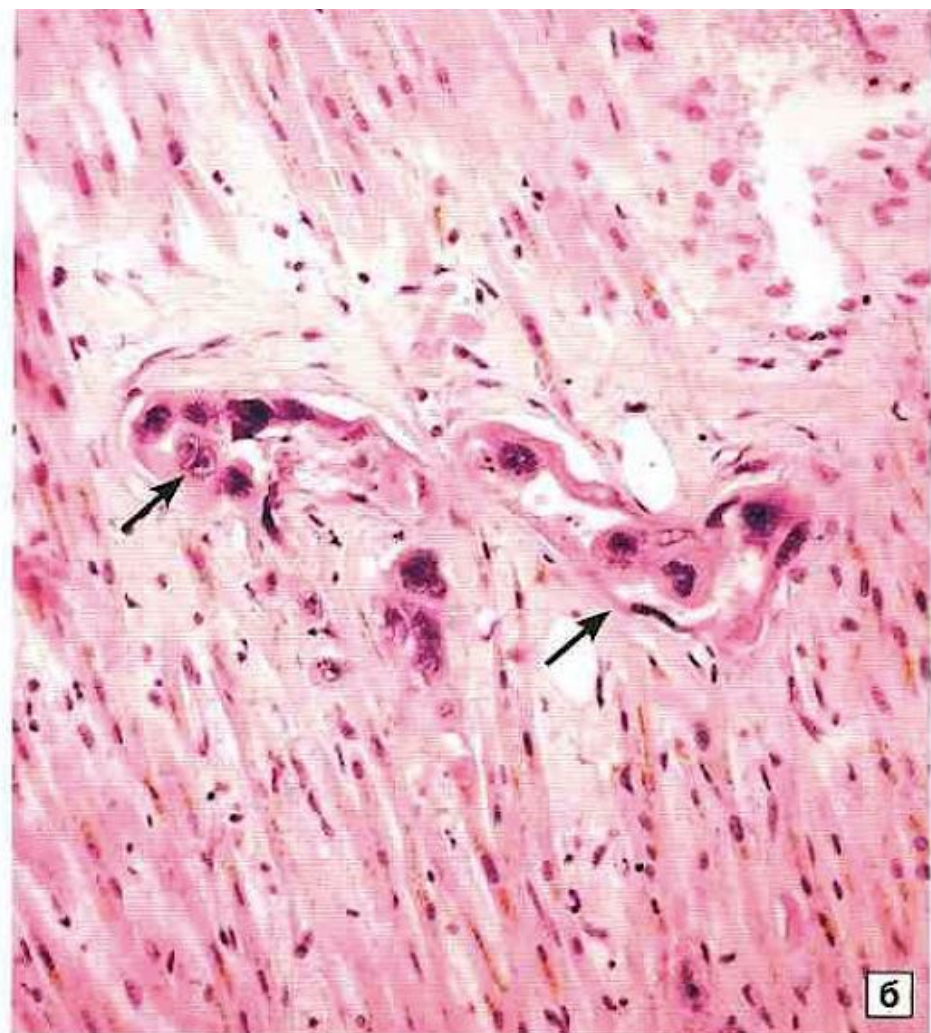
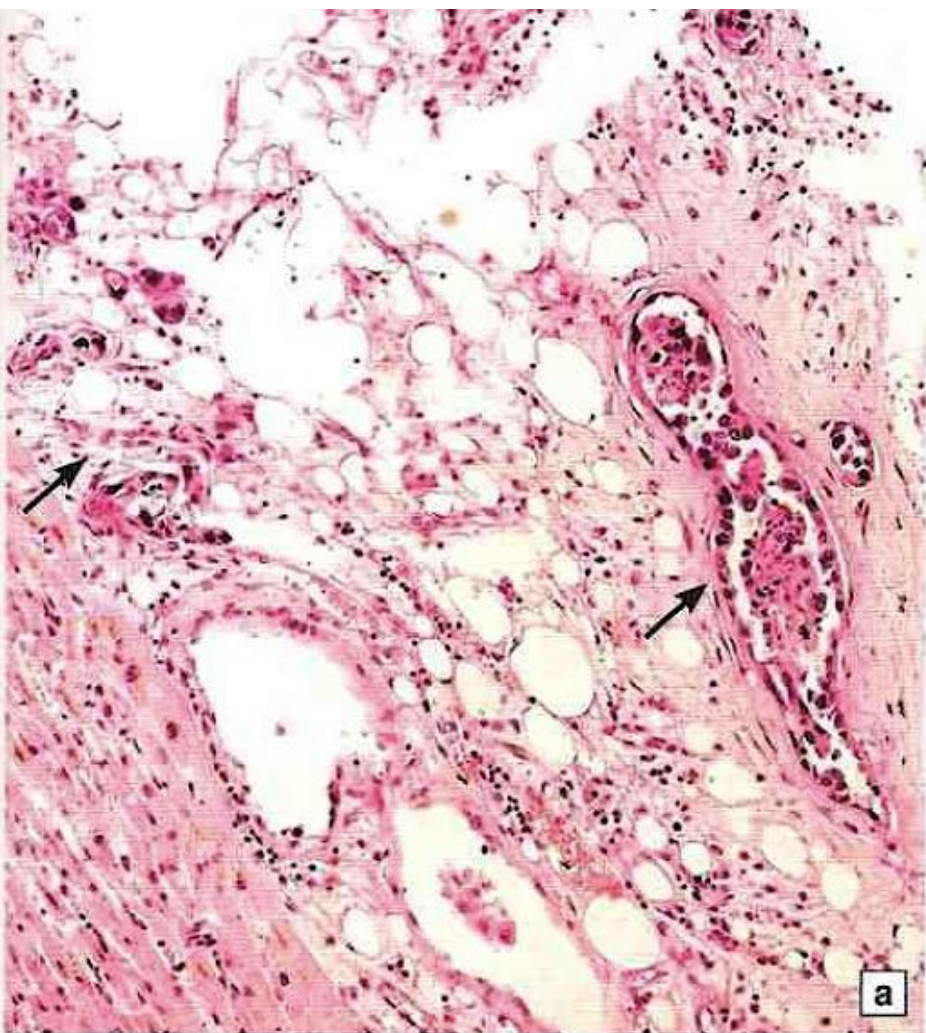


Рис. 10–25. Микропрепараты (а, б). Опухолевые эмболы плоскоклеточного рака легкого в кровеносных и лимфатических сосудах эпикарда и миокарда. Группы опухолевых клеток (стрелки) в просвете мелких кровеносных и лимфатических сосудов эпикарда и миокарда; а — $\times 100$; б — $\times 200$. См. также рис. 5–40

Активация инвазии и метастазирования



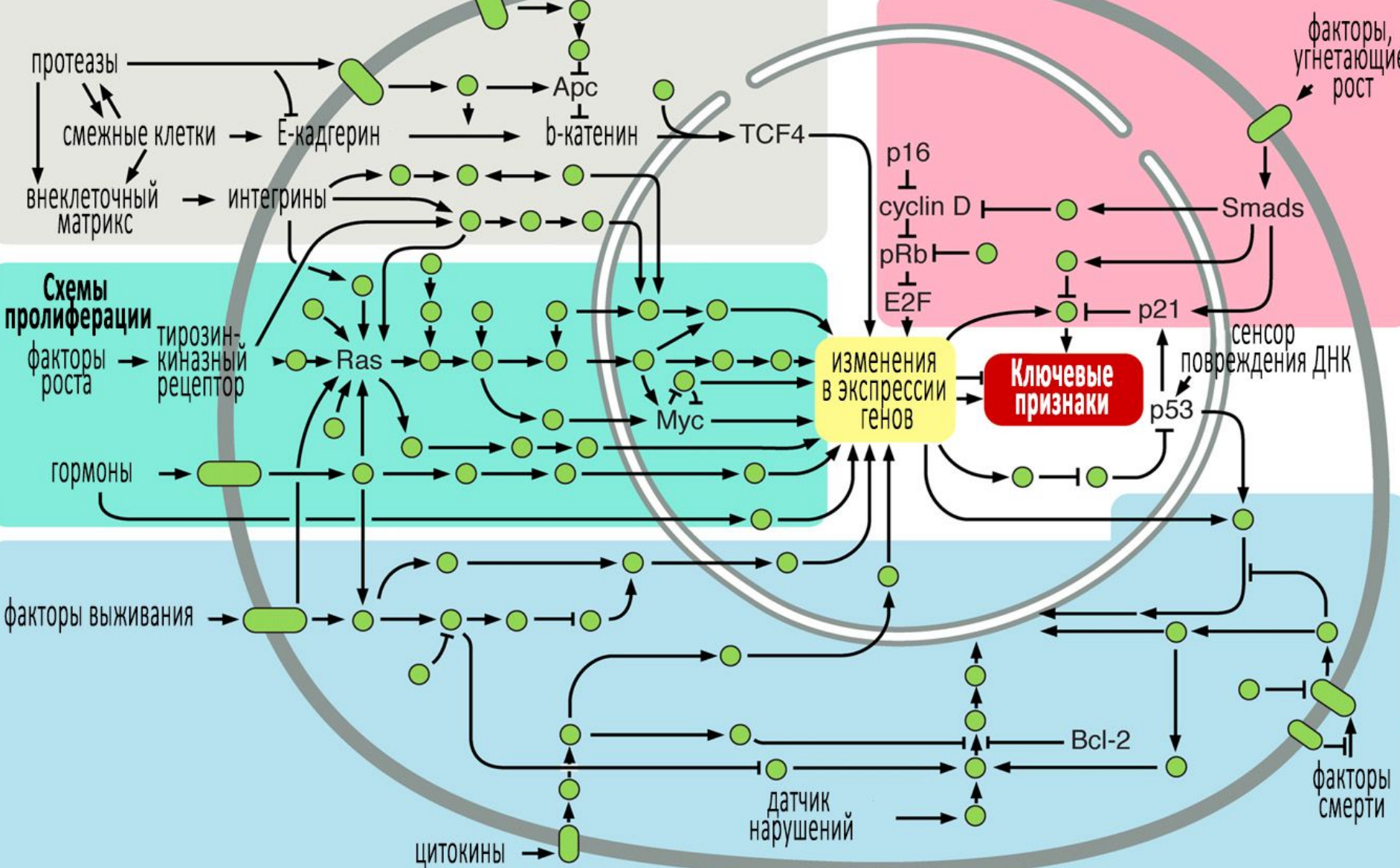
Тонер, Габер и коллеги разработали микрожидкостное устройство, которое может захватывать живые циркулирующие клетки опухоли (желтые) на микрочип (синий) с высокой эффективностью.



Изображение: Сканирующий электронный микроскоп. Циркулирующая клетка опухоли, захваченная на микрочип, увеличение 430x, мощность 10 кВ.

Схемы обеспечения подвижности

Схемы цитостаза и дифференциации



Схемы жизнеспособности

A

компонент

Приобретенные способности**Пример механизма**Самообеспеченность
митогенными сигналами

Активация H-Ras онкогена

Нечувствительность к
сигналам, подавляющим рост

Потеря супрессора ретинобластомы



Избегание апоптоза

Производство IGF факторов выживания

Неограниченный
репликативный потенциал

Активация теломеразы



Поддерживаемый ангиогенез

Производство VEGF



Инвазия в ткани и метастазы

Деактивация E-кадгерина

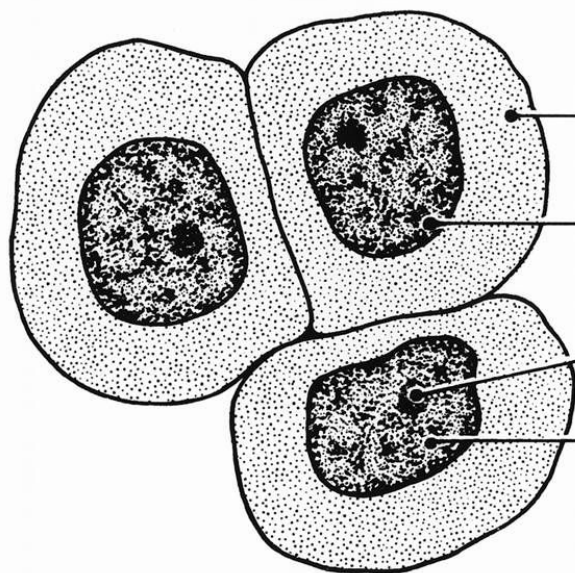
B

ОПУХОЛЕВОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ

Опухолевые клетки

- фундамент заболевания; дают начало опухолям и запускают опухолевую прогрессию, заключая в себе мутации онкогенов и опухолевых супрессоров, что определяет рак как генетическое заболевание

Нормальные клетки



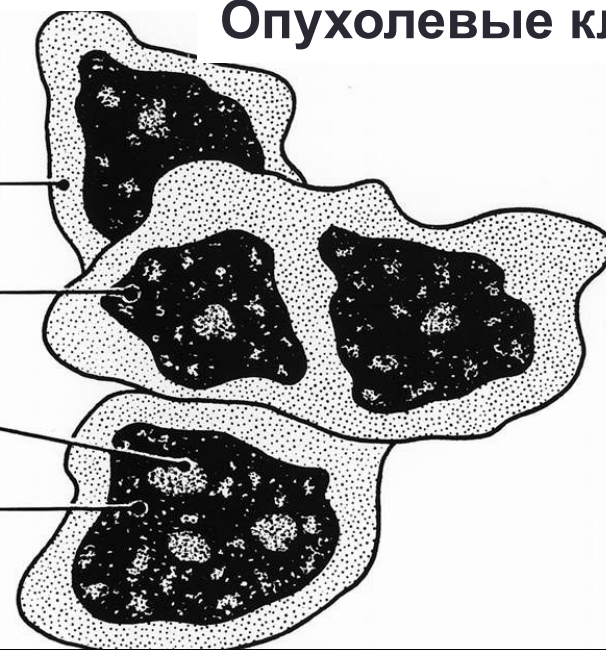
Цитоплазма

Ядро

Ядрышко

Хроматин

Опухолевые клетки

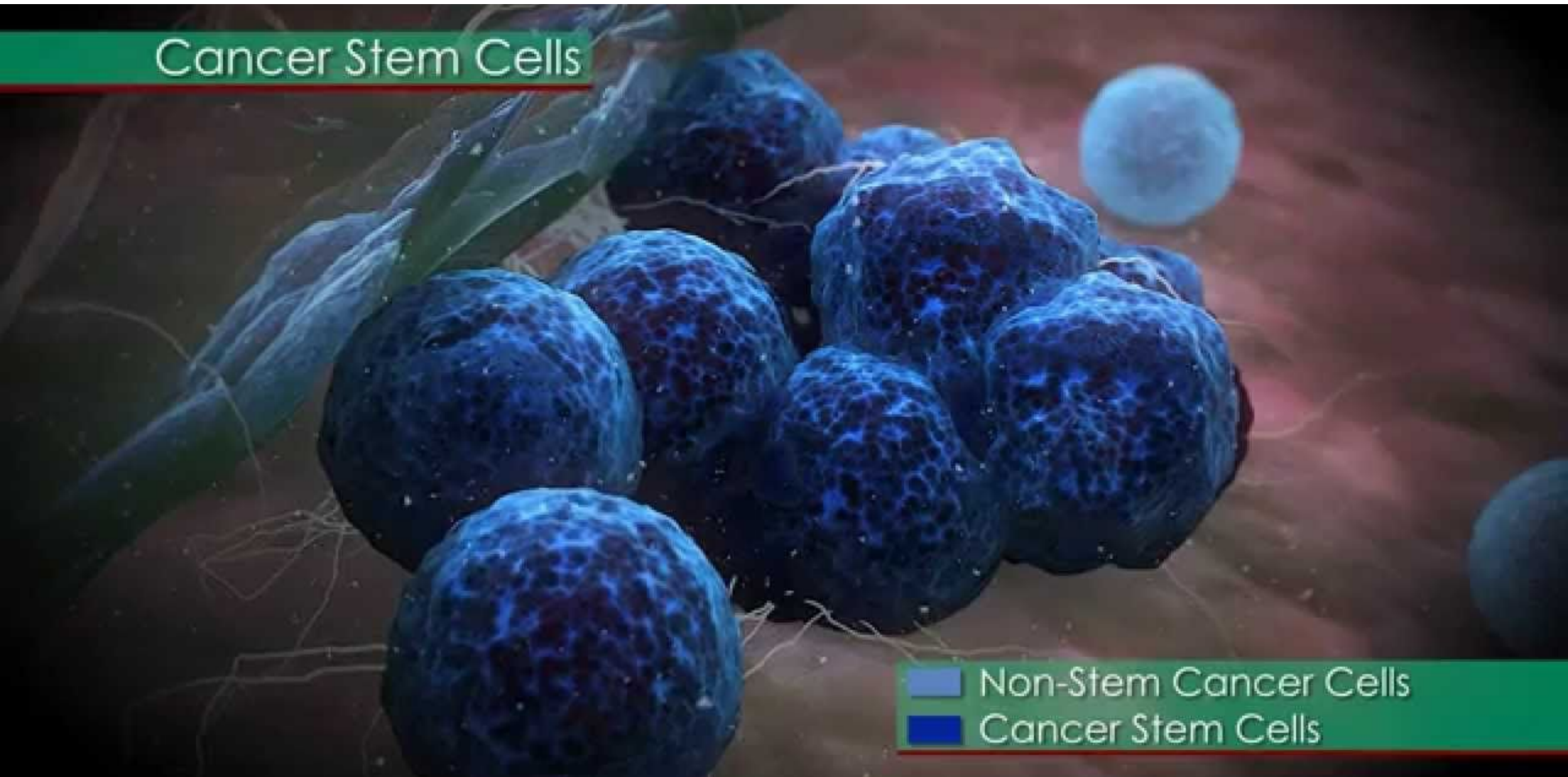


Признак	Нормальные клетки	Опухолевые клетки
Цитоплазма	Большая	Маленькая
Ядро	Одно	Несколько
Ядрышко	Одно	Несколько или увеличенное
Хроматин	Тонкий	Грубый

Опухолевые стволовые клетки

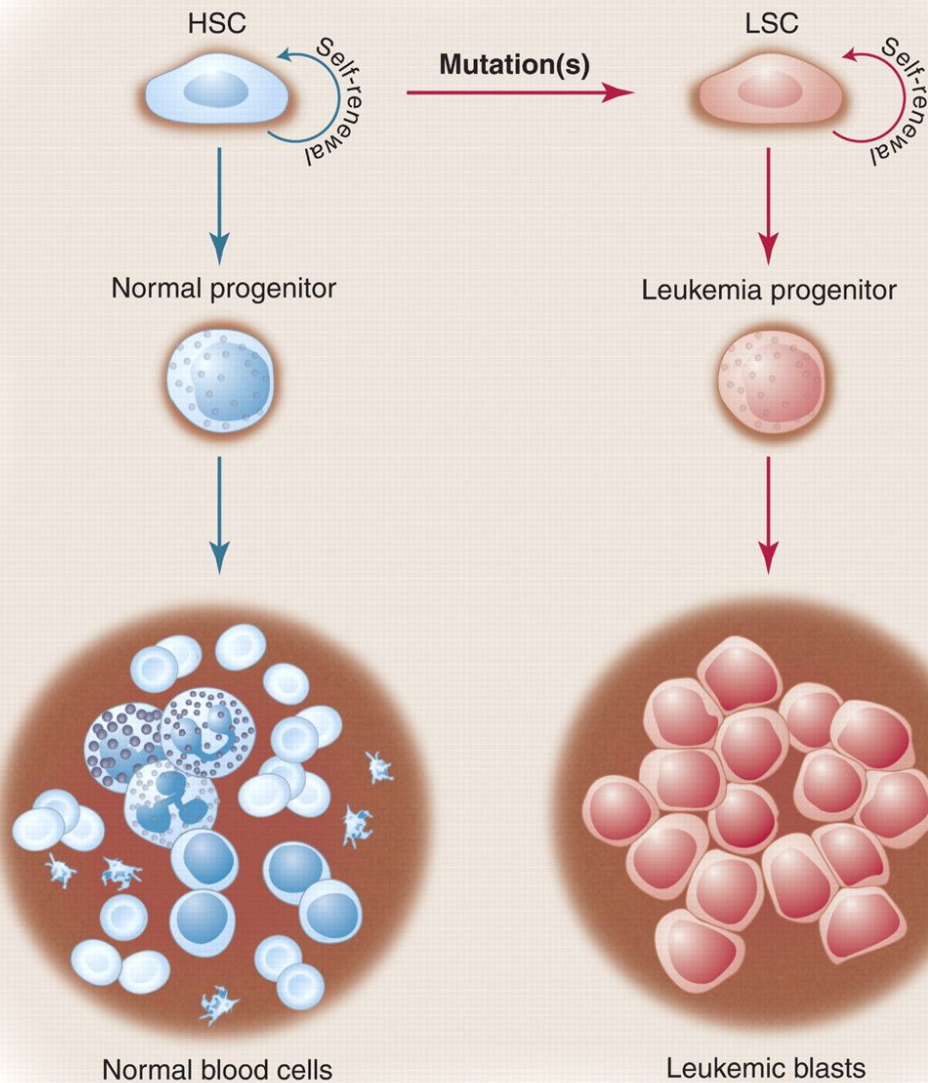
- субпопуляции неопластических клеток с усиленной способностью давать начало новым опухолям после имплантации в иммунодефицитных мышах

Cancer Stem Cells

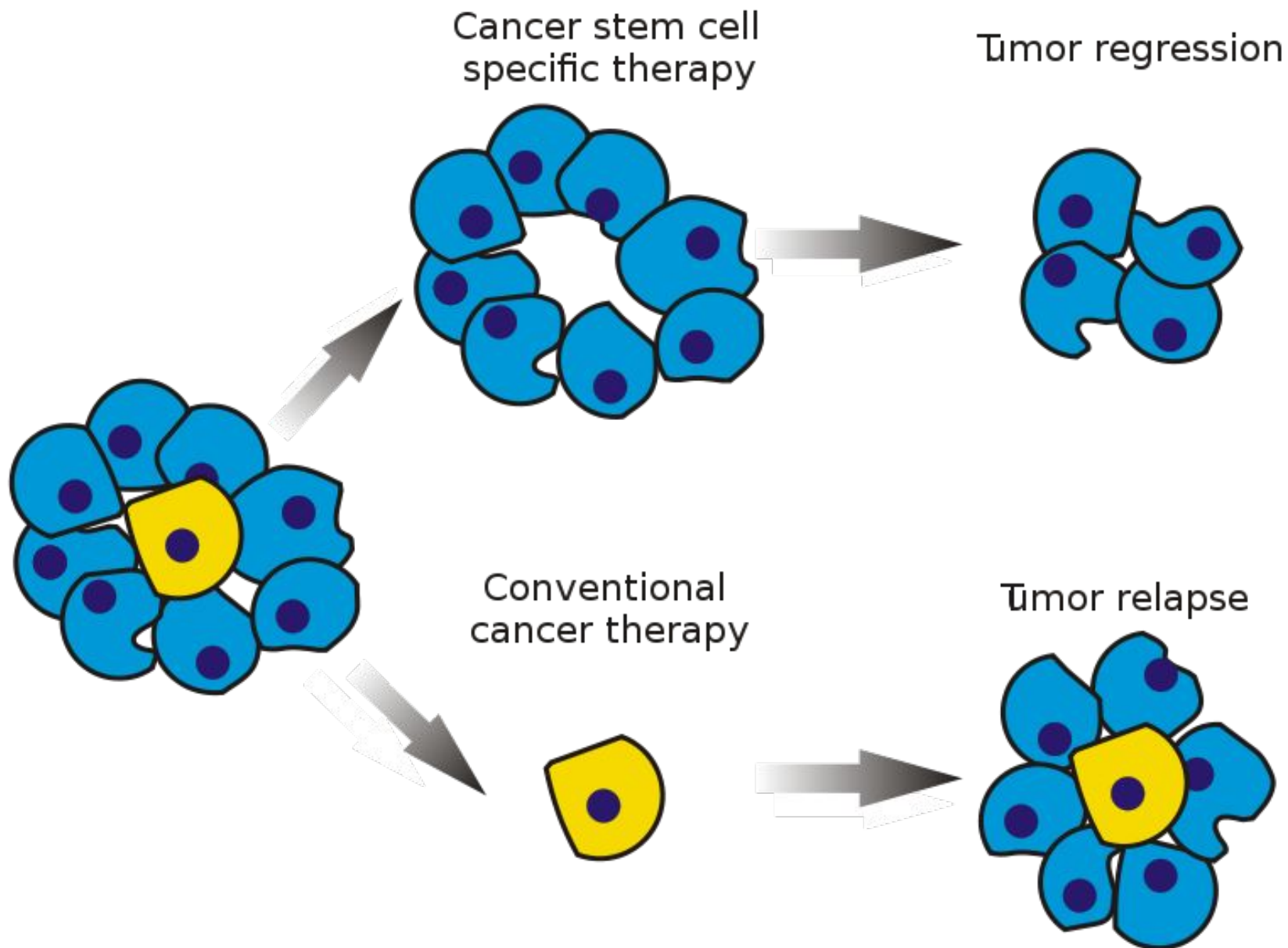


являются составной частью многих, если не большинства, опухолей, хоть и представлены в них в сильно варьирующих количествах

Опухолевые стволовые клетки

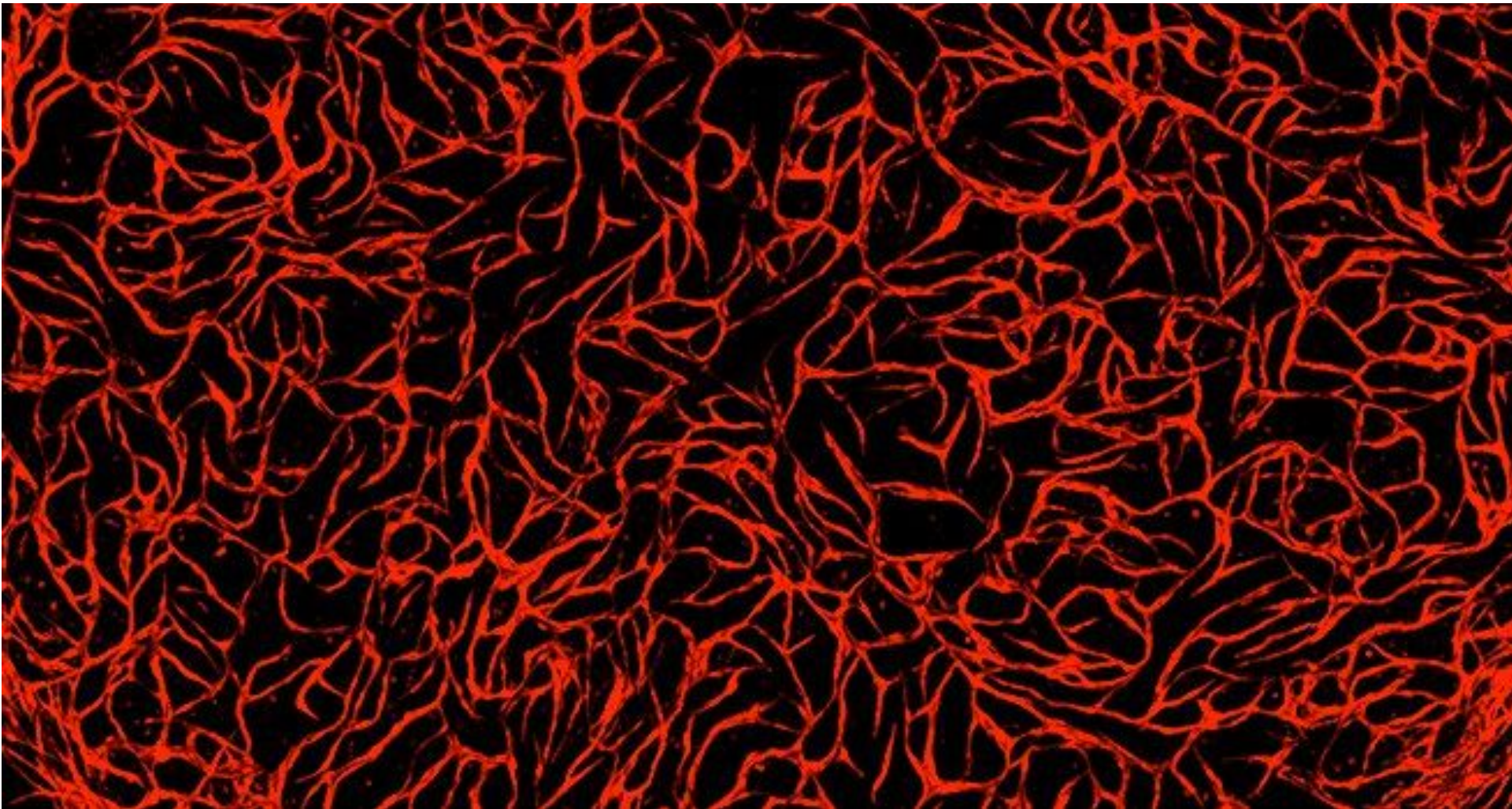


Опухолевые стволовые клетки



Эндотелиальные клетки

Важнейшими среди компонентов стромы являются клетки, формирующие опухолевую сосудистую сеть.



Эндотелиальные клетки (красные), образующие сеть капилляров. Конфокальная микроскопия.
Автор изображения: Кир Гаджар, Фред Хатчинсон. Центр по изучению злокачественных опухолей.

Индукцирование ангиогенеза

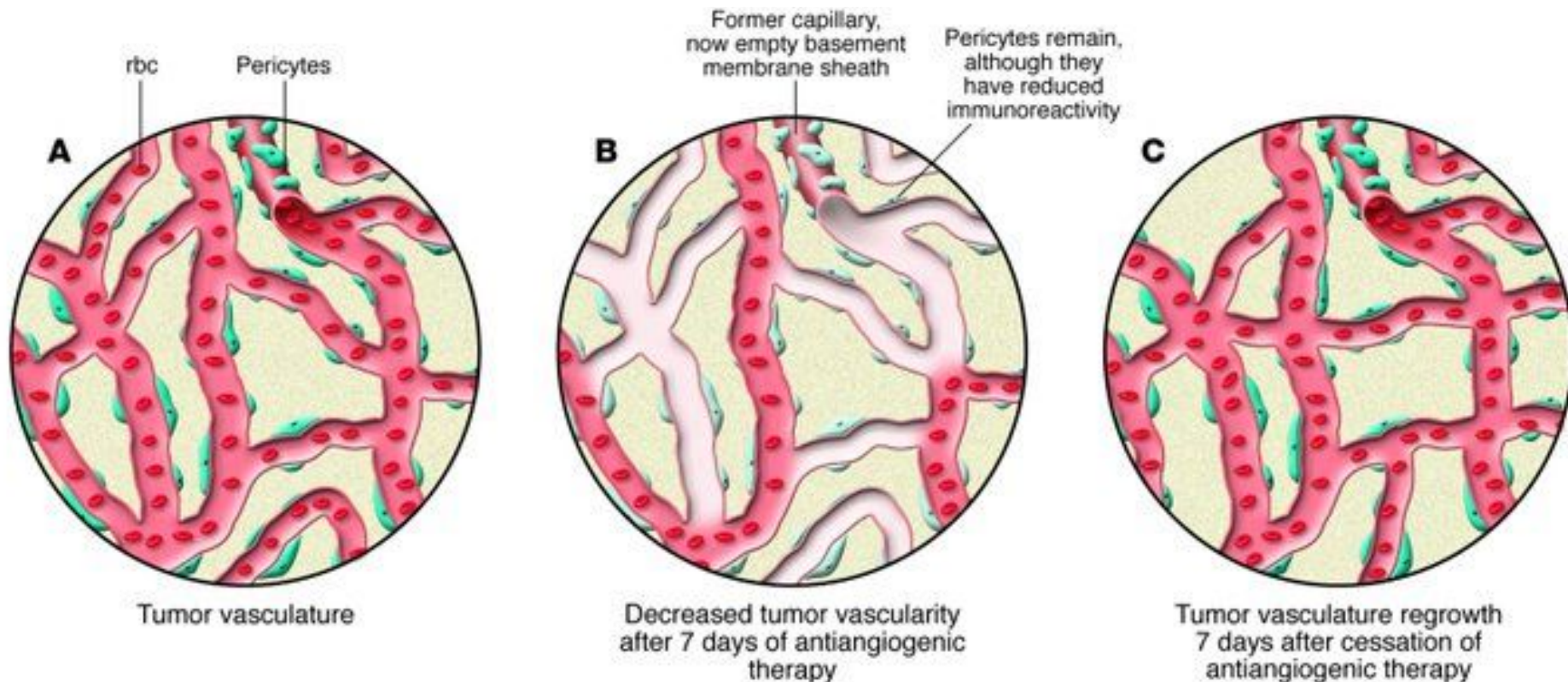


Перициты как важные составляющие новообразованных сосудов



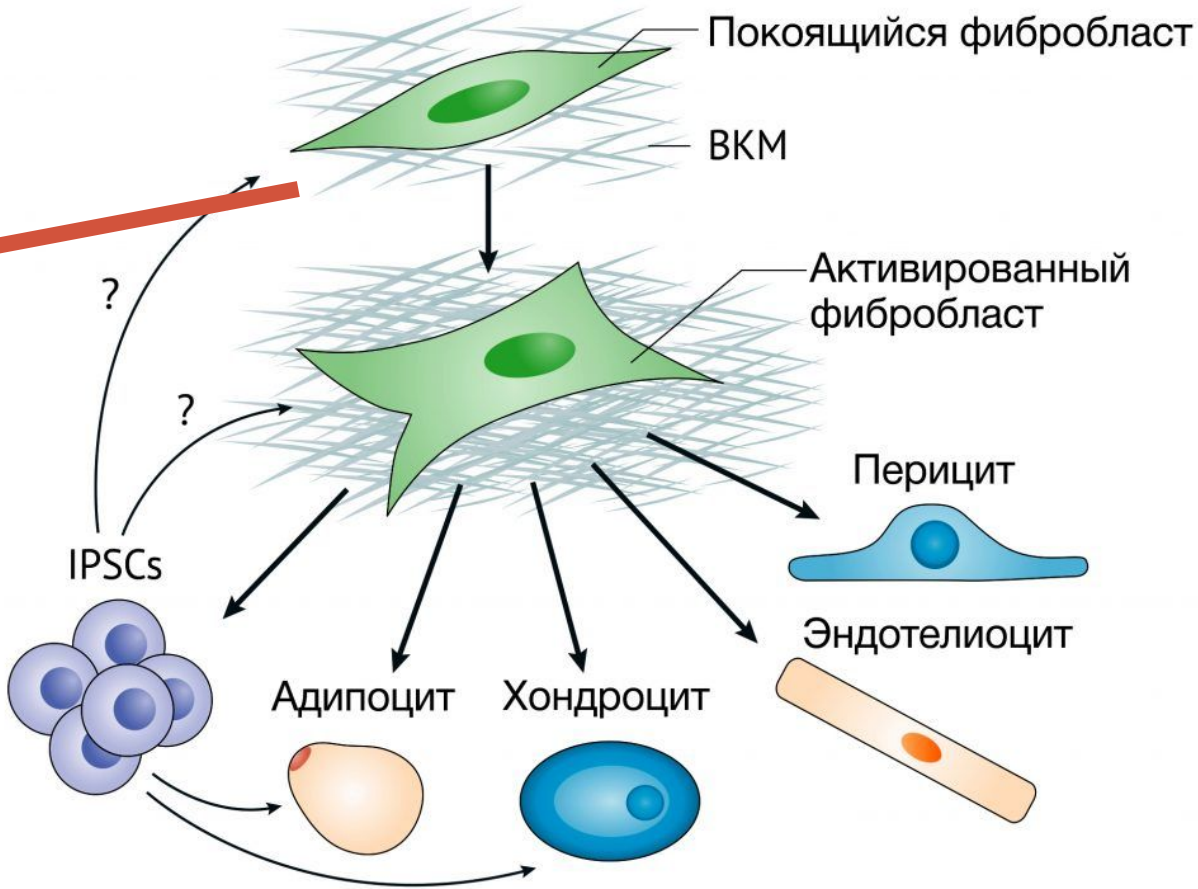
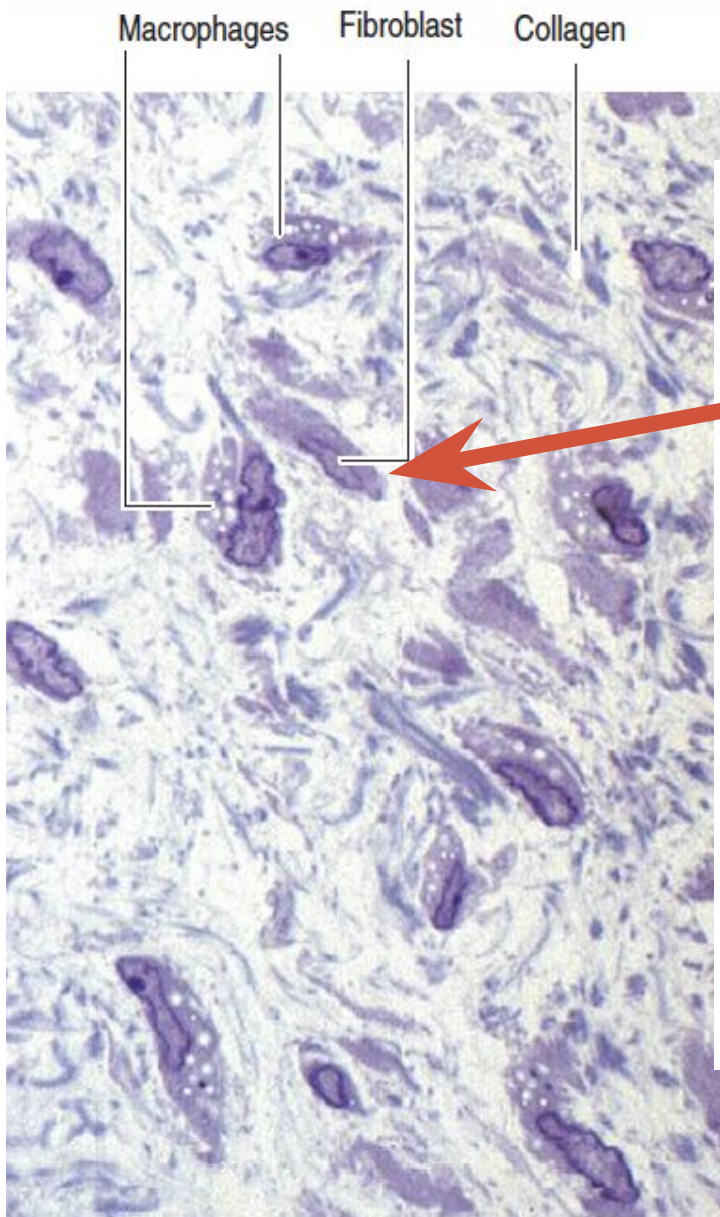
перициты ассоциированы с сосудами большинства, если не всех, опухолей

Индукцирование ангиогенеза



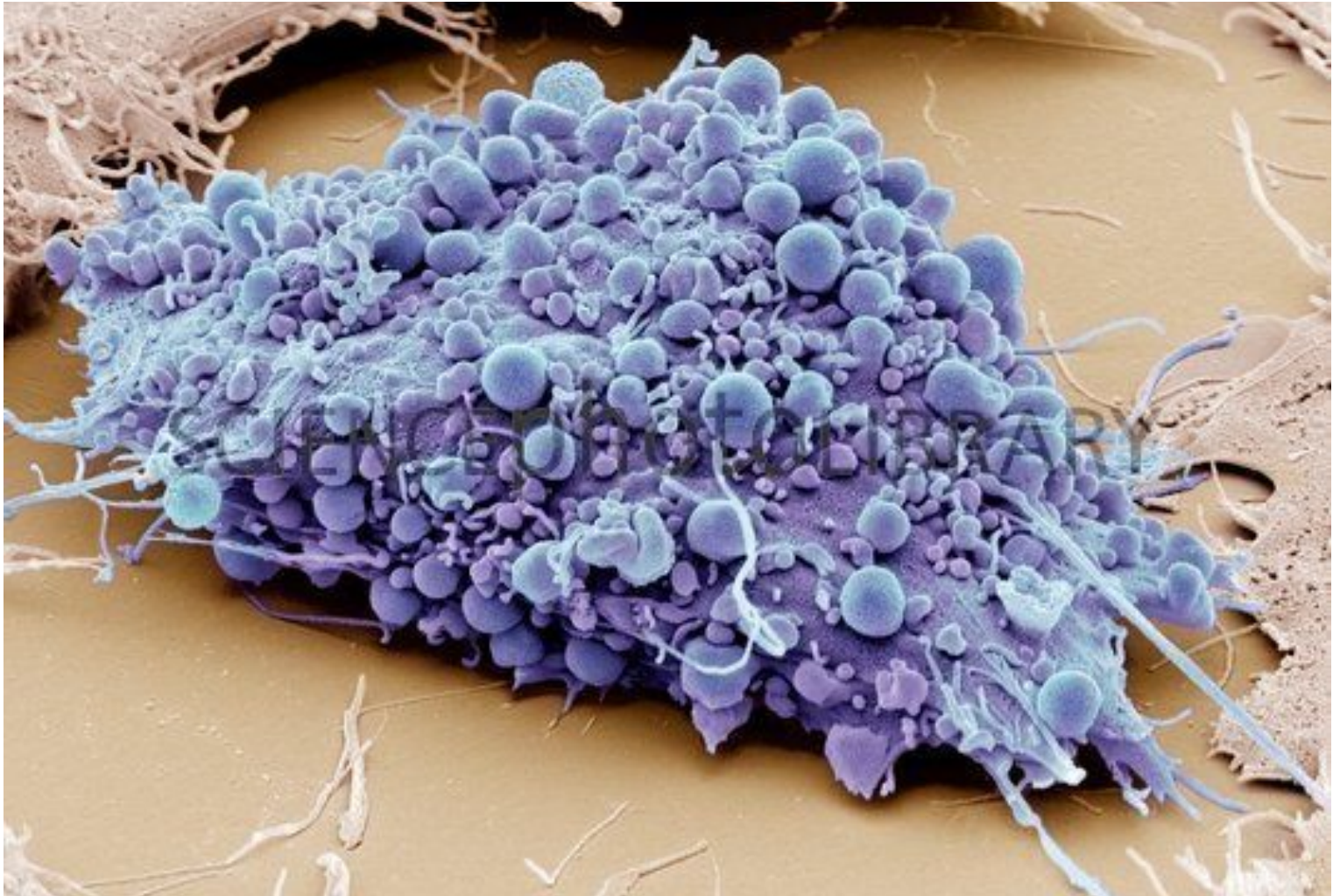
исследования свидетельствуют о том, что перicyты необходимы для сохранения и обновления функциональной сосудистой сети опухолей (functional tumor neovasculature).

Ассоциированные с опухолью фибробласты



Стволовые и прогениторные клетки опухолевой стромы

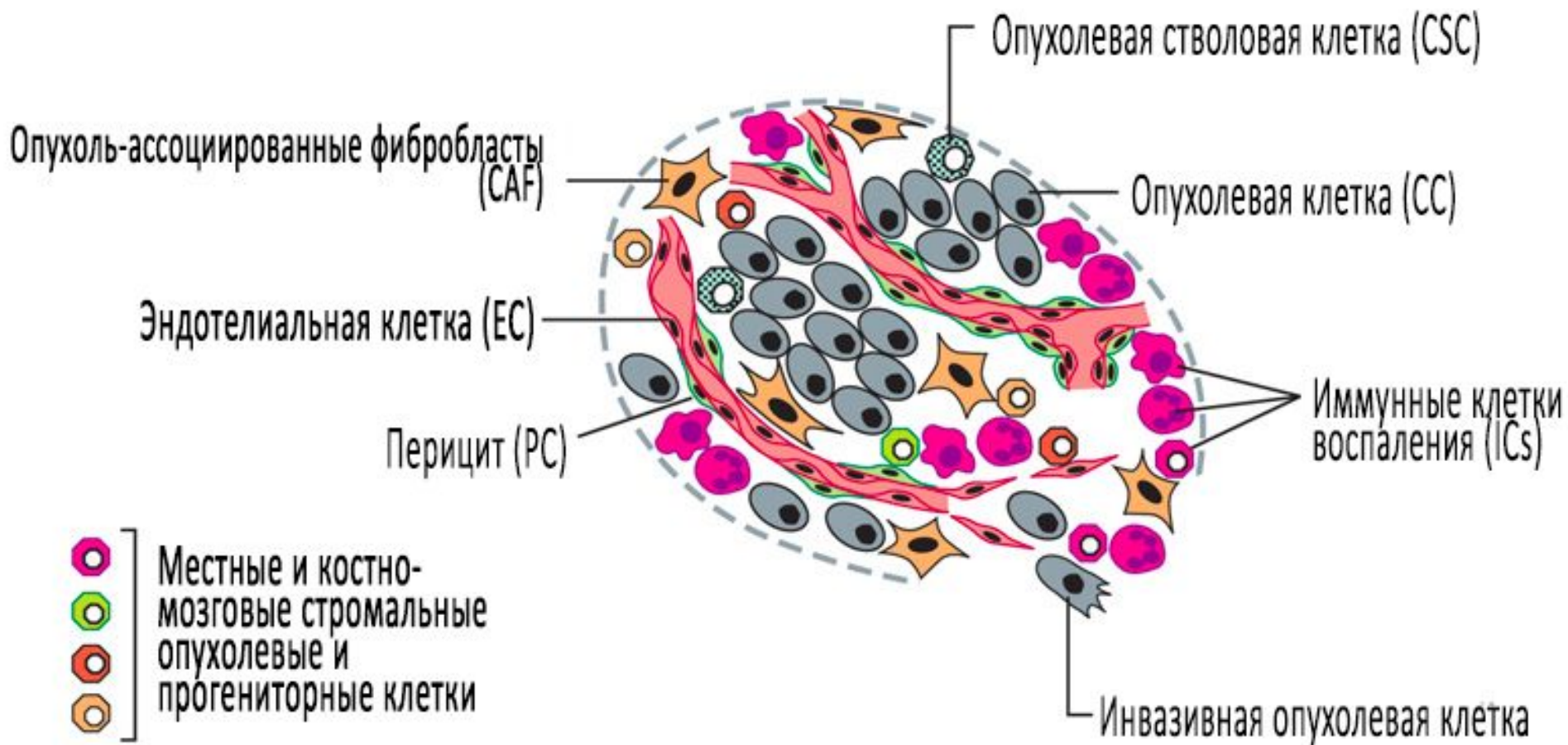
источником опухолевых стромальных клеток считается костный мозг



Мезенхимальная стволовая клетка человека

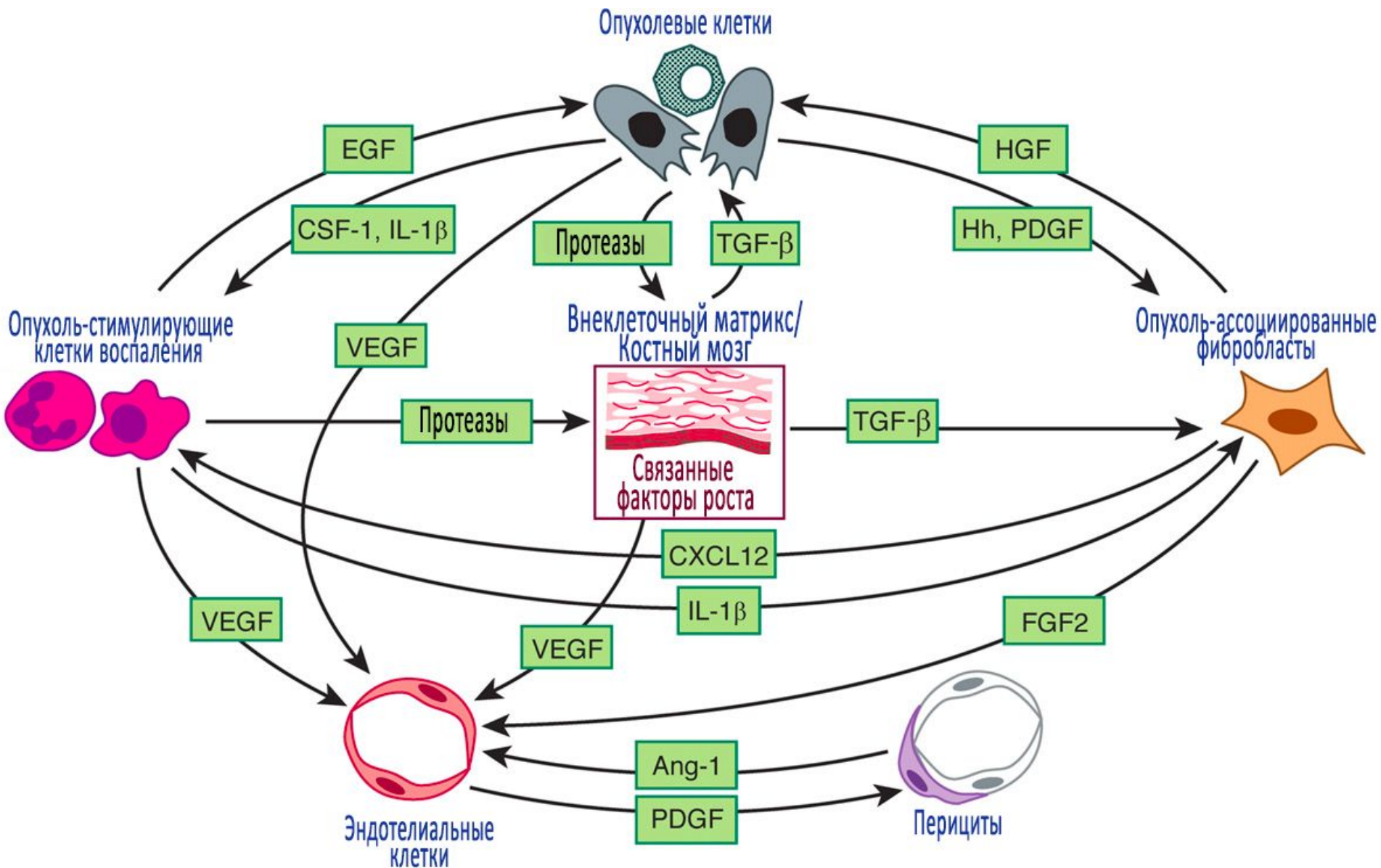
Опухолевое микроокружение

Паренхима и строма опухолей содержит разные клеточные типы и подтипы, которые вместе активируют опухолевые рост и прогрессию

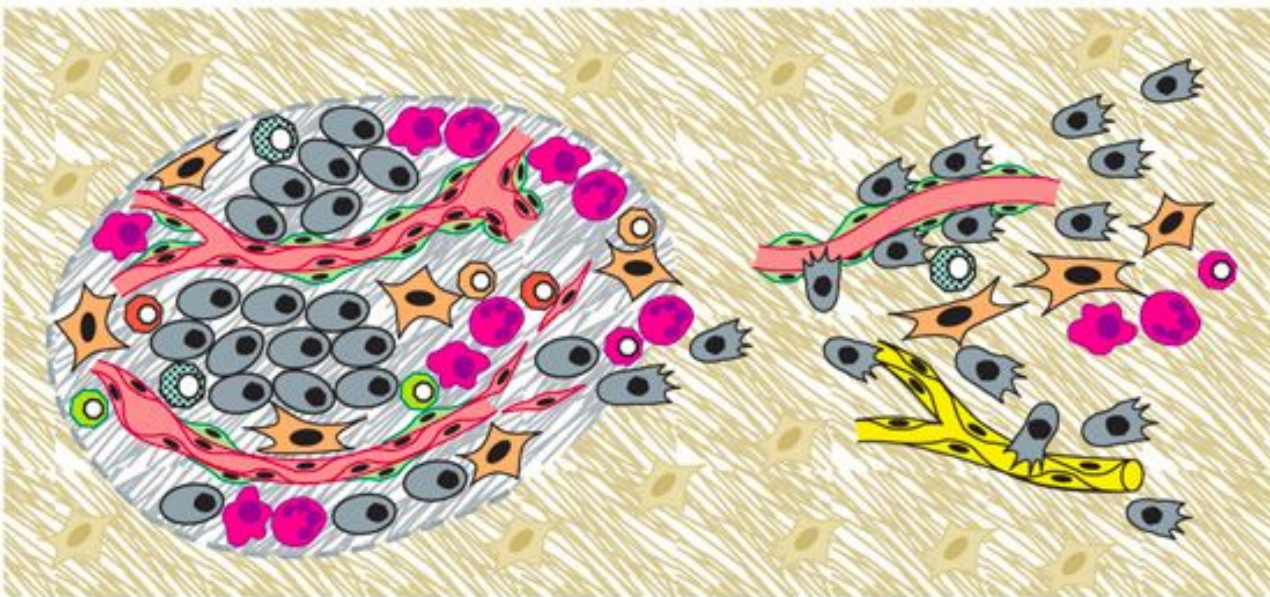


иммунные клетки воспаления, представленные в опухолях, могут включать в себя и стимулирующие, и уничтожающие опухоль подклассы

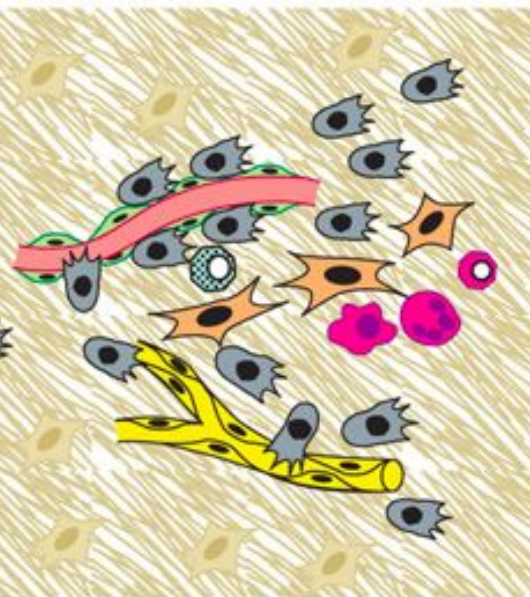
Опухолевое микроокружение



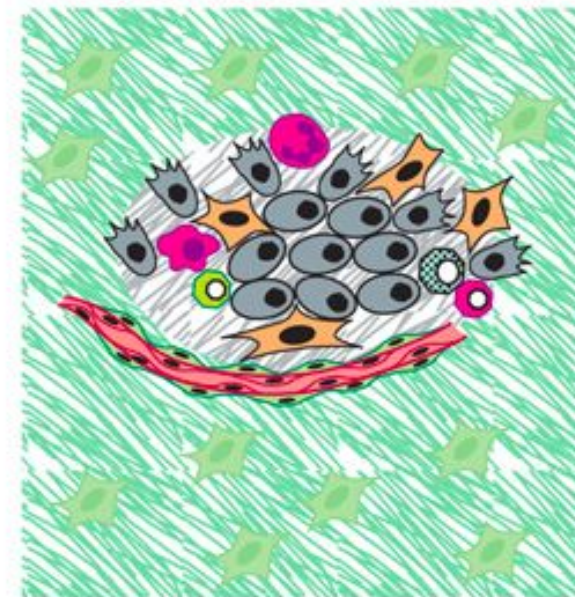
Опухолевое микроокружение



Основа первичного микроокружения опухоли



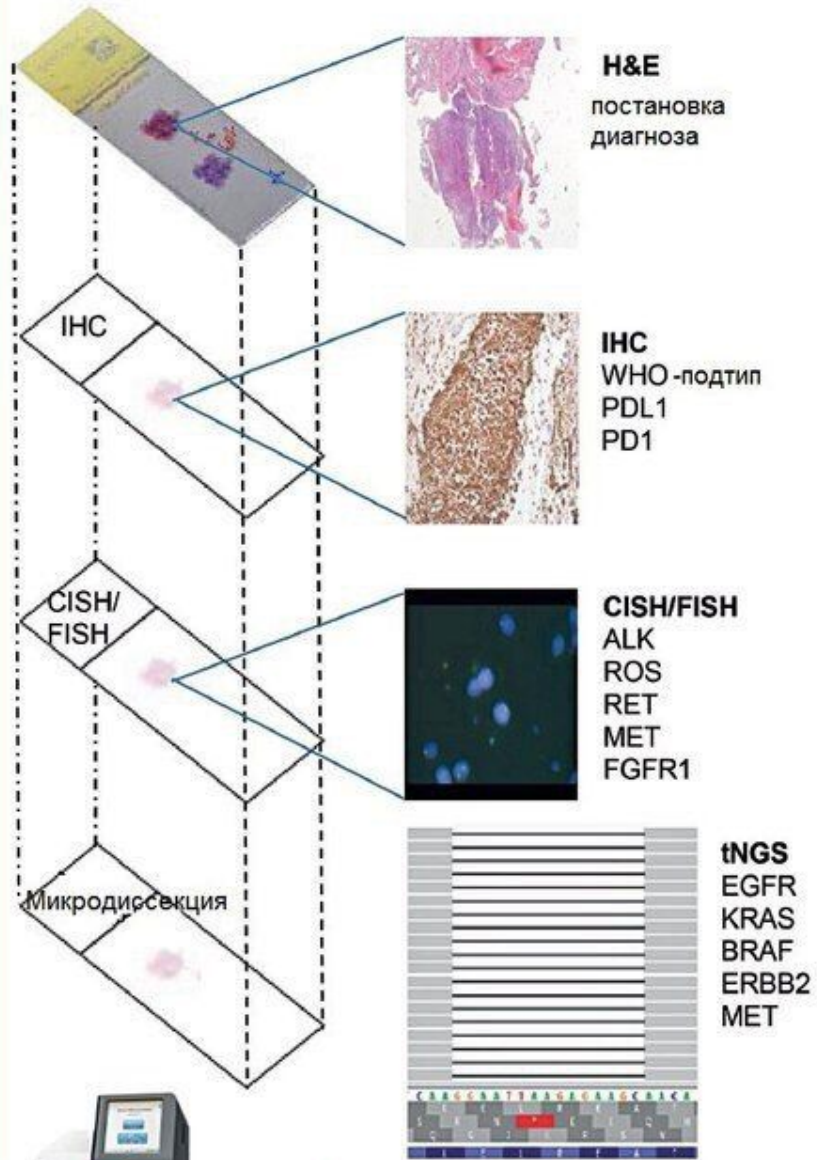
Инвазивное опухолевое микроокружение



Метастатическое опухолевое микроокружение

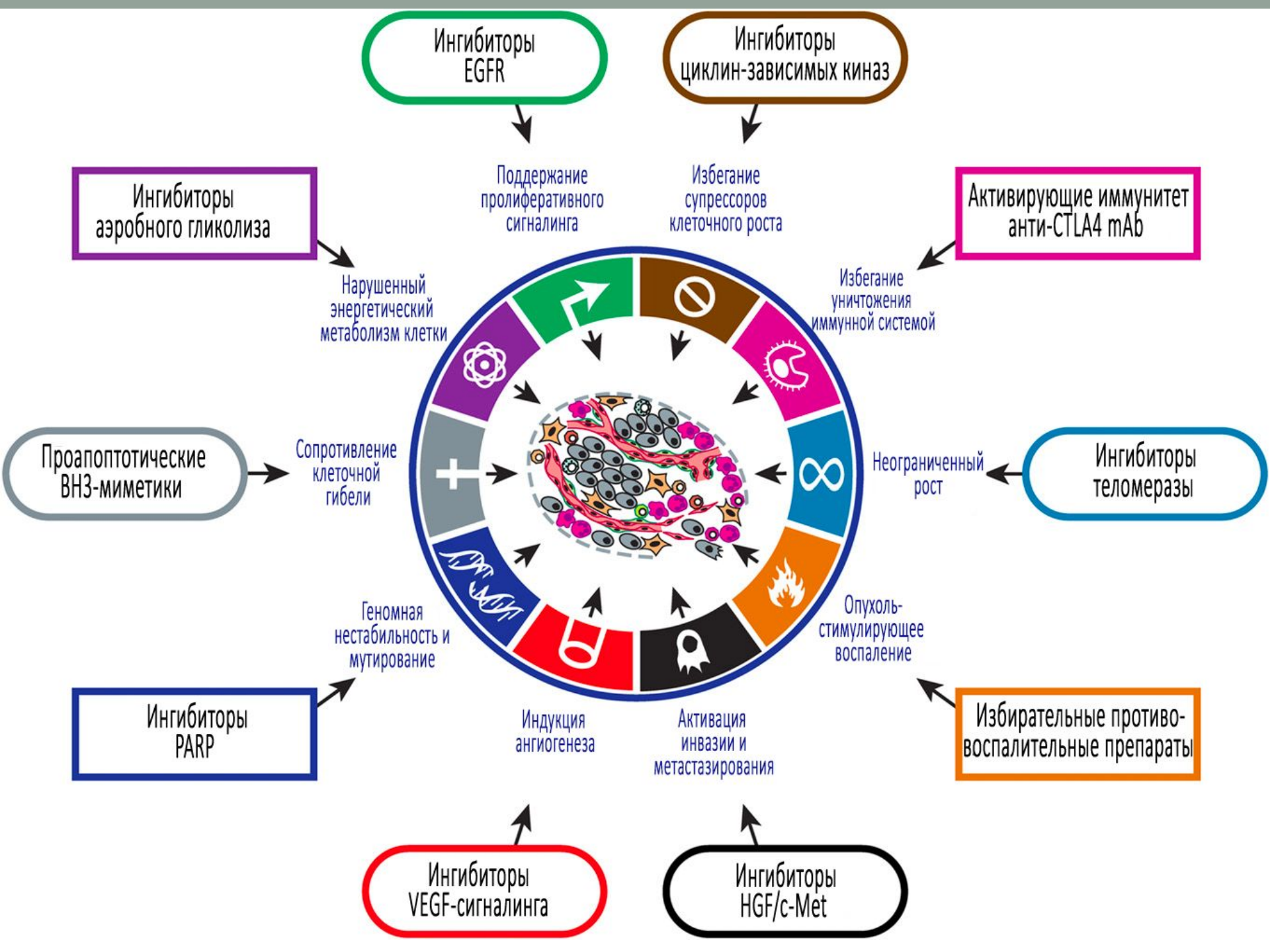
ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ

Схема диагностики при раке легкого



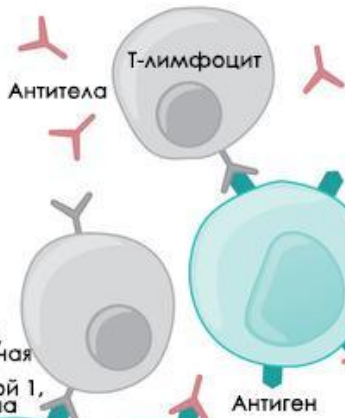
Визуализация данных секвенирования, программа Integrative Genomics Viewer (IGV)

Изготовление гистологического препарата: ткань фиксируется формалином, заливается парафином, после чего возможно сделать тонкие срезы. Окраска гематоксилин-эозином (H&E) необходима соответственно для гистологического анализа, иммуногистохимия (IHC) поможет определиться с гистологическим подтипом опухоли (в данном случае определена экспрессия PD-L1, PD1); метод гибридизации in situ (FISH-гибридизация) для определения транслокаций, и метод секвенирования (NGS) для анализа генной панели в целом.

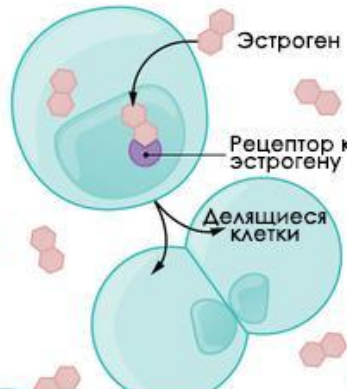


Активированная вакцинацией иммунная система продуцирует антитела и Т-клетки, связывающиеся с мембранными антигенами

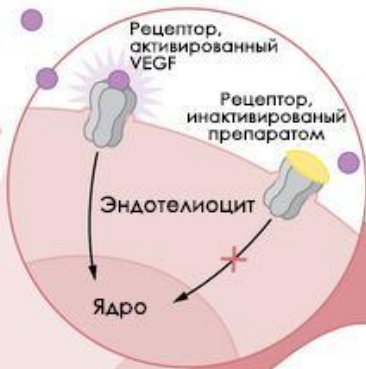
Повреждение ДНК и нарушение механизмов репарации ведёт к гибели клетки



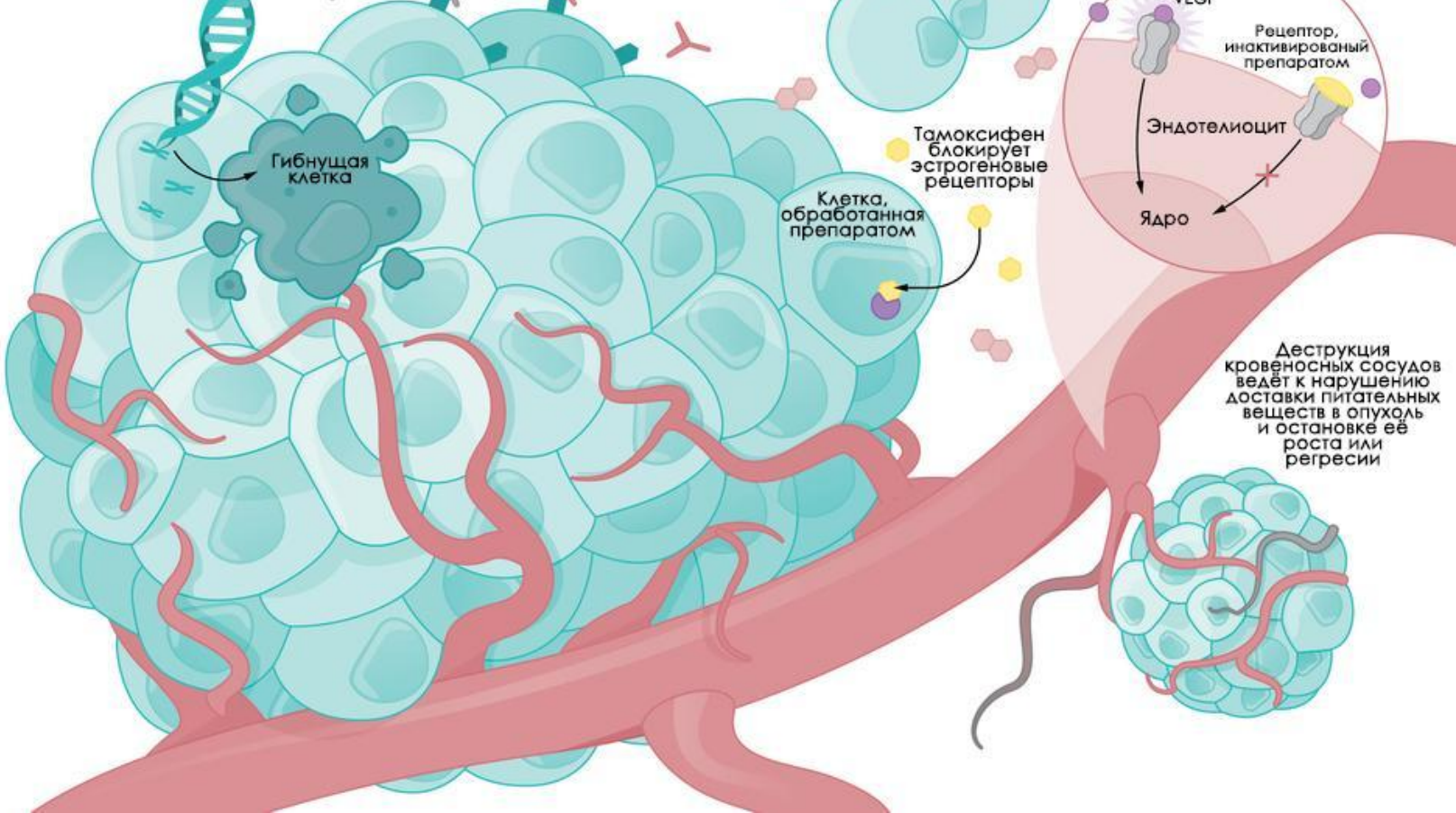
Тамоксифен конкурирует с эстрогеном за рецепторы и предотвращает эстроген-индуцированное деление клеток и рост опухоли



Опухолевые клетки высвобождают VEGF, который усиливает ангиогенез в опухоли. Препараты, нарушающие передачу сигнала через VEGF, предотвращают рост сосудов и лимитируют рост опухоли.



Деструкция кровеносных сосудов ведёт к нарушению доставки питательных веществ в опухоль и остановке её роста или регрессии





Спасибо за внимание!