

Válasz Professor Dr. Nagy Endre, az MTA doktora bírálatára
(Igaz Péter: Endokrin daganatok és immun-neuroendokrin kölcsönhatások
molekuláris, bioinformatikai és klinikai vizsgálatok)

Igen tisztelt Professor Úr!

Szeretném megköszönni, hogy Professor Úr elvállalta értekezésem bírálatát. Hálásan köszönöm részletes és kedvező véleményét, gondolatébresztő kérdéseit MTA doktori értekezésemről.

Az alábbiakban a bírálatban meghatározott kérdések sorrendjében adom meg válaszaimat.

1. A 20. oldalon írja, hogy a sporadikus mellékvese daganatokban az IGF-2 fokozott expressziója a legkonzekvenssebben észlelt eltérés. Lehet-e ennek az a funkciója, hogy az (ugyancsak jelenlevő) IGFBP-2-ről az IGF-1-et leszorítva emeli a hozzáférhető IGF-1 mennyiségét az (ugyancsak fokozottan expresszált) IGF-1R számára?

Válasz: A felnőtt egészséges mellékvesekéregben az IGF-2 expressziója igen kisfokú [1]. A mellékvesekéreg-carcinómában az IGF-2 az egyik legnagyobb mértékben felülexpresszált gén az ép mellékvesekéreghez és a jóindulatú daganatokhoz képest. Az IGF-1 is jelen van az ép mellékvesekéregben, de kifejeződése a rosszindulatú daganatokban nem fokozott. Az IGF-2-ről kimutatták, hogy a magzati mellékvesekéreg növekedési faktoraként funkcionál, és *in vitro* kísérletek alapján az is egyértelmű, hogy a mellékvesekéreg-carcinoma sejtek szaporodását serkenti [2]. A jelenlegi felfogás szerint a fokozott mértékben termelt IGF-2 a szintén felülexpresszált IGF-1 receptoron keresztül fejti ki daganatnövekedést serkentő hatását. Az inzulinszerű növekedési faktorokat kötő fehérjék közül az IGFBP-2 fokozott kifejeződését mellékvesekéreg-carcinómában főként az előrehaladott, metasztatikus daganatokban is leírták [3]. Az IGF-kötő fehérjék funkciója nagyon összetett, mivel egyrészt az IGF-et megkötve, annak receptorhoz kötését gátolják, másrészt viszont az IGF-et megkötve azt stabilizálják és megvédik a proteolízistól, miáltal elérhetőségét növelhetik [2]. Egér Y1 mellékvesekéreg-carcinoma sejtvonalon az IGFBP2 önmagában, IGF-kötése nélkül, sőt IGF-et gátló ellenanyagok jelenlétében is fokozta a sejtek szaporodását, ami önálló patogenetikai jelentőségét is felveti, bár ennek molekuláris mechanizmusa nem ismert [4].

Professor Úr felvetése az IGF-1 lehetséges szerepéről érdekes lehetőség. Véleményem szerint azonban, tekintettel az IGF-2 bizonyított mellékvesekéreg-carcinoma sejteinek szaporodását serkentő hatására és nagymértékben fokozott mértékű kifejeződésére a rosszindulatú daganatokban, az IGF-2-höz képest igen kis mennyiségben jelenlevő IGF-1 nem valószínű, hogy érdemi hatást fejtene ki a mellékvesekéreg-carcinoma patogenezisében.

2. A hálózattopológiai analízis során a c-myc-et azonosította, mint a mellékvesekéreg carcinoma patogenezisének lehetséges központi elemét. Csökkent expressziót mért. Más daganatokban fokozott c-myc expresszióról számoltak be. Figyelembe véve, hogy az eltérés - irányától függetlenül – a daganatképződésnek valószínűleg nem korai lépése, hogyan értékeli ezt az ellentmondást?

Válasz: Hipotézisünk szerint a *C-MYC* csökkent kifejeződése egyedülálló mechanizmusnak tűnik a daganatok világában, mivel a daganatok nagy többségében expressziója fokozott mértékű [5]. Néhány adat szól arról, hogy egér laphámrákban [6] ill. testicularis teratomákban [7] is csökkent lehet a *C-MYC* kifejeződése. A *C-MYC* expresszió csökkenésének molekuláris mechanizmusáról nem találtam adatot ezekben az esetekben.

Egy 2011-ben megjelent közleményben gyermekkori mellékvesekéreg-carcinoma vizsgálata során ismét megerősítették a *C-MYC* kifejeződésének csökkenését mind mRNS, mind fehérje szinten [8]. Felmerült, hogy a *C-MYC* csökkent kifejeződése a daganat hypoxiával szembeni ellenállóképességét növeli, ami különösen a necrotikus, előrehaladott stádiumú daganatok patogenezisében játszhat szerepet.

Mindazonáltal a csökkent *C-MYC* kifejeződés biológiai következménye nem világos, és ezek alapján nem ismert, hogy okról vagy következményről van-e szó, illetve milyen útvonalakon keresztül játszik ez szerepet. Jelen adataink alapján ezért nem magyarázható, hogy a mellékvesekéreg-carcinomában miért viselkedik a *C-MYC* másként, mint a daganatok többségében. Eredményeink alapján a mellékvesekéreg-carcinoma nemcsak ebben, hanem a hisztamin csökkent kifejeződésében is eltérően viselkedik más daganatoktól. További jól ismert különlegesség a jóindulatú daganatok magas népességbeli gyakoriságához képest nagyon ritka rosszindulatú forma. Mindezek alapján felmerül, hogy a mellékvesekéreg-carcinoma a többi daganathoz képest egyedi megjelenésű, ami molekuláris jellegzetességeiben is tükröződhet.

A mellékvesekéreg-carcinoma csökkent *C-MYC* kifejeződésének jelentőségét funkcionális vizsgálatokkal lenne majd célszerű vizsgálni, pl. *in vitro* a *C-MYC* transzfekció hatását mellékvesekéreg sejtvonalon, vagy kondicionális knock-out ill. knock-in állatmodelleken.

3. A dolgozat többi fejezetéhez lazábban kapcsolódó része a GnRH neuronok vizsgálata. Mi a véleménye, lehet-e az oncostatin-M receptor a GnRH neuronokon egy, a „non-thyroid illness syndrome” analógiájára létrejövő, a gonadotrop tengelyt érintő szindróma substratuma?

Válasz: Ez egy nagyon érdekes felvetés, és bennünk is felmerült, hogy a reprodukív aktivitás súlyos betegségeknél (pl. fertőzések, daganatok) bekövetkező csökkenésében az oncostatin M GnRH neuronokon kifejtett hatása is szerepet játszhat. Ez a jelenség – amennyiben ténylegesen fennállna – valóban párhuzamba állítható lenni a „non thyroid illness syndrome” patogenezisével, ahol a pajzsmirigyhormonok csökkent termelésében citokinek szerepét is feltételezik [9].

Az oncostatin M hatását döntően parakrin úton fejti ki, így elsősorban lokális, hypothalamikus hatása jöhet szóba a GnRH-neuronok működésének szabályozásában. Az OSM fő forrásai a periférián az aktivált T- és mononukleáris sejtek [10], azonban a központi idegrendszerben is termelődhet a microglia révén [11], sőt az agy gyulladásos elváltozásai [12] és daganatok (gliomák) [13] is termelhetik. Nem találtam egyelőre adatot arra, hogy szisztémás betegségeknél megváltozó plazma oncostatin M koncentráció befolyásolhatja-e a hypothalamikus GnRH neuronok működését. Véleményem szerint egy ilyen mechanizmus elképzelhető lehet, de ennek igazolásához még számos vizsgálat szükséges.

4. Saját vizsgálatait, eredményeit, és az irodalomban található adatok alapján várható-e valamelyik azonosított miRNS terápiás alkalmazás a mellékvese daganatokban? Ha igen, milyen potenciális akadályokat, nehézségeket lát az alkalmazhatóság útjában és ezek megoldhatók-e? Hogyan lehet biztosítható a szövetspecifikus hatás?

Válasz: A megváltozott expressziót mutató mikroRNS-ek, mint potenciális terápiás célpontok befolyásolása intenzív kutatások tárgya [14]. Egyelőre a klinikai onkológiai gyakorlatban még mikroRNS expressziót befolyásoló kezelést más daganatban sem vezettek be, bár vannak reményteli célpontok. A mellékvese-daganatokban még nem ismert olyan mikroRNS, amely egyértelmű célpontként alkalmas lenne, amiben az is szerepet játszik, hogy az eddig végzett kevés mikroRNS expressziós vizsgálat között jelentősek a különbségek [15]. Ebben az eltérő vizsgálati csoportok, módszerek, statisztikai elemzés különbségei is szerepet játszanak. Amennyiben a mikroRNS-ek kísérletes validálása egyértelműen sikeres, elvileg szóba jöhetne a mikroRNS-ek terápiás befolyásolása is mellékvese-daganatokban, így a tumor szupresszor hatású mikroRNS-ek kifejeződésének fokozása vagy az onkogén mikroRNS-ek kifejeződésének gátlása révén. Több olyan vektor érhető már el, amely mikroRNS-ek bejuttatására alkalmas lehet. Ennek gyakorlati kivitelezésében azonban számos probléma vár megoldásra, így a hatékony szervezetbe juttatás kérdése, a szövetspecifitás problémája, ill. a dózis kérdése. A megfigyelés, hogy a mikroRNS-ek szövetspecifikus hatásúak, vagyis ugyanaz a mikroRNS egyik szövetben onkogén, míg a másikkban tumor szupresszor hatású is lehet [16], nagyfokú óvatosságra int szisztémás bejuttatás esetén, és egyelőre e probléma megnyugtató megoldása még nem világos. Esetleg felmerülhet a kondicionális knockout modellekben alkalmazott megoldás, amikor egy szövetspecifikus, csak adott szervben aktív promotert tartalmazó konstrukció bejuttatásával biztosítható a mikroRNS kifejeződést befolyásoló oligonukleotid adott szövetre korlátozódó kifejeződése. További probléma a mikroRNS-ek promiszkus viselkedése, miáltal egy adott szövetben az általunk ismerteken túl más mRNS-eket is befolyásolhatnak. Nagyon komoly probléma a mikroRNS-t befolyásoló molekulát hordozó vektor dózisa. Virális vektorok esetén komoly probléma lehet, hogy a termelt pre-mikroRNS vagy mikroRNS-gátló oligonukleotid telítheti az endogén mikroRNS érési rendszert, ami az endogén szabályozó rendszer összeomlásához és beláthatatlan következményekhez vezethet [14]. Mindezek alapján jelenleg a diagnosztikában nagyon komoly perspektívája van a mikroRNS-eknek, azonban nem hiszem, hogy a közeljövőben a mikroRNS-ek terápiás célpontok lennének, de hosszútávon szóba jöhetnek.

Még egyszer hálásan köszönöm Professzor Úr megjegyzéseit és gondolatébresztő kérdéseit, és tisztelettel kérném válaszaik elfogadását.

Budapest, 2012. szeptember 8.

Tisztelettel:

Dr. Igaz Péter PhD
egyetemi adjunktus

Felhasznált irodalom:

- [1] Belgorosky A, Baquedano MS, Guercio G és mtsai: Expression of the IGF and the aromatase/estrogen receptor systems in human adrenal tissues from early infancy to late puberty: Implications for the development of adrenarche. *Rev Endocr Metab Disord* (2009) 10:51–61
- [2] Castro Ribeiro T, Latronico AC: Insulin-like growth factor system on adrenocortical tumorigenesis. *Mol Cell Endocrinol* (2012) 351, 96–100
- [3] Boulle N, Baudin E, Gicquel C és mtsai: Evaluation of plasma insulin-like growth factor binding protein-2 as a marker for adrenocortical tumors. *Eur J Endocrinol* (2001) 144, 29-36.
- [4] Hoefflich A, Fetscher O, Preta G és mtsai: Overexpression of insulin like growth factor binding protein 2 results in increased tumorigenic potential of in Y-1 adrenocortical tumor cells. *Cancer Res* (2000) 60, 834-838.
- [5] Nesbit CE, Tersak JM, Prochownik EV: MYC oncogenes and human neoplastic disease. *Oncogene* (1999) 18, 3004-3016
- [6] Toftgard R, Roop DR, Yuspa SH: Proto-oncogene expression during twostage carcinogenesis in mouse skin. *Carcinogenesis* (1985) 6, 655-657.
- [7] Watson JV, Stewart J, Evan GI és mtsai: The clinical significance of flow cytometric c-myc oncoprotein quantitation in testicular cancer. *Br J Cancer* (1986) 53, 331-337.
- [8] Leal LF, Mermejo LM, Ramalho LZ és mtsai: Wnt/ β -Catenin pathway deregulation in childhood adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab* (2011) 96, 3106–3114.
- [9] Magagnin-Wajner S, Maia AL: New insights toward the acute non-thyroidal illness syndrome. *Front Endocrinol* (2012) 3, doi: 10.3389/fendo.2012.00008
- [10] Gómez-Lechón MJ: Oncostatin M: signal transduction and biological activity. *Life Sci* (1999) 65, 2019-2030.
- [11] Repovic P, Benveniste EN: Prostaglandin E2 is a novel inducer of oncostatin-M expression in macrophages and microglia. *J Neurosci* (2002) 22, 5334-5343.
- [12] Ruprecht K, Kuhlmann T, Seif F és mtsai: Effects of oncostatin M on human cerebral endothelial cells and expression in inflammatory brain lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* (2001) 60, 1087–1098.
- [13] Chen SH, Benveniste EN (2004): Oncostatin M: a pleiotropic cytokine in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev*; 15: 379-391.
- [14] McDermott AM, Heneghan HM, Miller N és mtsai: The therapeutic potential of microRNAs: disease modulators and drug targets. *Pharm Res* (2011) 28:3016–3029
- [15] Singh P, Soon PSH, Feige JJ és mtsai: Dysregulation of microRNAs in adrenocortical tumors. *Mol Cell Endocrinol* (2012) 351, 118-128
- [16] Chen CZ: MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *N Engl J Med* (2005) 353, 1768-1771.