

Válasz Prof. Dr. Udvardy Miklós opponensi bírálói véleményére

Először is szeretném megköszönni Professzor Úrnak, hogy elvállalta MTA doktori értekezésem bírálatát. Nagyon köszönöm dicsérő szavait és érdekes, a dolgozat témáján túlmutató kérdéseit. Szintén nagyra értékelem dr. Palatka Károly támogató véleményét is, és köszönöm, hogy ő is időt fordított a disszertáció átnézésére.

Kiváló kérdéseire az alábbiakban válaszolok. Az akut pancreatitis, illetve pancreas ductalis carcinoma és a carcinomás őssejtek összefüggésének vonatkozásában saját kutatási eredményekkel sajnos nem rendelkezem/rendelkezőnk, így kizárólag irodalmi adatokra tudok hivatkozni. Ahogyan azt Professzor Úr is említi, a daganatos őssejt teória a tumorkutatás napjaink egyik igen izgalmas és forrongó területe, bár az alapkoncepció a nagyszámú ezzel kapcsolatos közlemény ellenére sem teljesen bizonyított. Nagyon úgy tűnik azonban, hogy szinte minden daganatban vannak nem osztódó, úgynevezett szunnyadó daganatos őssejtek. Ezek az őssejtek sok szempontból hasonlóak, másrésztől még egy daganaton belül is különbözőek, és igencsak megnehezítik a daganatok elpusztítását. Az őssejteket célzó terápiák ezért igen fontosak lehetnek. A legújabb kutatások arra irányulnak, hogy ezeket a szunnyadó őssejteket aktiválják, osztódásra bírják, és ezáltal szenzitizálják őket a sugár- és kemoterápiára.

Előrebocsátom, hogy a carcinoma őssejtekkel kapcsolatos hematológiai kutatások jóval megelőzik a pancreas carcinomás őssejtek kutatását. Míg a carcinomás őssejtek létezését akut myeloid leukémiában már az 1990-es évek közepén kimutatták, addig pancreas ductalis adenocarcinomában csak 2007-ben azonosították őket először Li és mtsai. (Cancer Res. 2007; 67:1030-1037). Nyilván ennek köszönhető, hogy a PubMed-ben a pancreas tumor őssejtekkel kapcsolatos közlemények száma csak a töredéke a leukémiás carcinomás őssejtek irodalmának. Ráadásul a fellelhető irodalom döntő része a pancreaticus tumor őssejtek karakterizálásával foglalkozik, kialakulásuk és aktivációjuk mechanizmusát homály fedti. Az őssejt tulajdonságokkal bíró CD44+CD24+epithelialis specifikus antigén(ESA)+ fenotípusú pancreas carcinoma sejtek (mely az össz-tumor sejtpopuláció mindössze 0,2-0,8%-át adja) százszor nagyobb tumorigenikus potenciállal bírtak, mint a nem-tumorigenikus carcinoma sejtek (Li és mtsai. Cancer Res. 2007; 67:1030-7). A pancreas őssejtek képesek osztódásra, önmaguk megújítására és átalakíthatók meghatározott tumor fenotípusú sejtekké. Ezen

tulajdonságokban részt vesz az őssejtekben aberránsan megjelenő sonic hedgehog (Li és mtsai. *Cancer Res.* 2007; 67:1030-7), a tirozin kináz aktivitással bíró c-Met receptor (Li és mtsai. *Gastroenterology.* 2011; 141:2218–2227.e5) és a nodal/activin szignalizáció (Donahue és Dawson. *Cell Stem Cell.* 2011; 9:383–384; Lonardo és mtsai. *Cell Stem Cell* 2011; 9:433–446). Hermann és mtsai-nak egy olyan pancreas tumor őssejt szubpopulációt (CD133⁺CXCR4⁺) is sikerült azonosítani, amelynek a metasztázis képzésben is szerepük lehet (Cell Stem Cell. 2007; 1:313–323). Utóbbi *in vitro* vizsgálatokkal kapcsolatban óvatossá kell lennünk, hiszen a carcinomás őssejtek ilyenkor elveszítik kapcsolatukat a stromalis környezettel és az endothel sejtekkel, amiknek szintén nagyon fontos szerepük van a daganatok kialakulásában.

Még ha nem is kapcsolódik szorosan a feltett kérdésekhez, mégis elsőként az a tény jutott eszembe, hogy a pancreas carcinoma és akut pancreatitis között mindenképpen lehet kapcsolat, hiszen az előbbi betegség jelentkezik pancreatitis képében. Ez többnyire a pancreas carcinoma által okozott mechanikai obstrukciónak tulajdonítható. Ha szigorúan csak az őssejtek vonatkozásában gondolkodunk, akkor az akut pancreatitis és a pancreas carcinoma kialakulása közötti kapcsolatra nem lehet direkt bizonyítékot találni emberben; azonban ettől függetlenül nem kizárt az összefüggés a két betegség között. A kísérletesen kiváltott akut pancreatitis hozzájárulhat a pancreas ductalis adenocarcinoma kialakulásához az onkogén Kras-alapú egér modellben (Carrière és mtsai. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 382:561–565 és *PLoS One.* 2011; 6:e27725). A cerulein-indukálta akut pancreatitis hatására az alacsony grádusú pancreaticus intraepithelialis neoplasiák (PanIN) gyors progresszióját és pancreas ductalis adenocarcinoma kialakulását lehetett megfigyelni.

A pancreas carcinoma kialakulásához ismétlődő akut vagy hosszabb ideje fennálló krónikus gyulladásra van szükség, mint ahogyan azt már más gyulladással járó betegségek (pl. gyulladással járó bélbetegség) esetén is megfigyelték (Triantafyllidis és mtsai. *Anticancer Res.* 2009; 29:2727–2737). Ismert, hogy a krónikus pancreatitisben szenvedő betegekben gyakrabban alakul ki pancreas carcinoma (Lowenfels és Maisonneuve. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2006; 20:197–209). Az onkogén Kras expresszió felnőtt egér acináris vagy endokrin sejtvonalban a humán pancreas ductális adenokarcinomához hasonló elváltozásokat generál, de csak egy egyidejű gyulladással járó stimulus jelenléte mellett (Kong és mtsai. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011; 8:467-72). Érdekes módon ez a folyamat független volt a pro-inflammatorikus

NF- κ B transzkripciós faktortól. A gyulladás mindenesetre hajlamossítja a sejteket a malignus transzformációra.

A daganatok kialakulásában, progressziójában és metasztázisában a Professzor Úr által említett őssejteknek kulcsfontosságú szerepe lehet. Ez igaz a pancreas carcinomára is (Rasheed és Matsui. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012; 27 Suppl 2:15-8), bár ennek mechanizmusa azonban kevésbé tisztázott. Más daganatokhoz hasonlóan, a ductalis adenocarcinomák ráadásul nem csak egy homogén carcinomás őssejt populációt tartalmaznak, hanem diverz szubpopulációkat is (Balic és mtsai. *Exp Cell Res.* 2012; 318:691-704). Azt is kimutatták, hogy a pancreas carcinomás őssejtek kifejezetten rezisztensek a radio- és kemoterápiára, ami részben magyarázhatja a pancreas carcinoma rendkívül rossz prognózisát. Az aldehid dehidrogenáz expressziót mutató őssejtek jelenléte pancreas carcinomában szignifikánsan rosszabb túléléssel társul. Azt is fontos megemlíteni, hogy az aldehid dehidrogenáz a normál hasnyálmirigyben eleve jelen van (Deng és mtsai. *PLoS One.* 2010; 5:e10277), így talán ebben a szervben nem ez a legjobb marker a tumor őssejtek kimutatására. Transzgenikus egerekben bizonyítást nyert, hogy a pancreas daganatok kialakulásában igen fontos szerepet játszik a lokális krónikus gyulladás, mely hozzájárul az onkogén KRAS, SMAD4, CDKN2A, és TP53 epithelialis-mezechymalis tranzíciójában betöltött szerepéhez és az őssejtek aktivációjához (Kumar-Sinha és mtsai. *Curr Opin Gastroenterol.* 2012; 28:516-22). A legújabb eredmények szerint a pancreas carcinoma preneoplasticus lézióiból (egér modellben) transzformált epithelialis sejtek kerülnek be a vérkeringésbe, amelyek tumor őssejt-szerű tulajdonsággal rendelkeznek (Rhim és mtsai. *Cell* 2012; 148:349–361). Érdekes módon a pancreatitis indukció fokozta a keringő pancreas sejtek számát. Ez a megfigyelés alapjaiban rengeti meg azt a felfogást, hogy a metasztázisok kialakulása a tumor progresszió végső stádiumában következik be, és azt sugallja, hogy a gyulladás fokozhatja a tumor progresszióját.

Ismert, hogy az NF- κ B aktiváció gátlás jótékony hatással bírhat pancreas tumorban főleg kemoterápiás szerekkel együtt adva (Carbone és Melisi. *Expert Opin Ther Targets.* 2012; 16 Suppl 2:S1-10). Az NF- κ B és pancreas carcinomás őssejt aktiváció közötti kapcsolatról nem találtam sok irodalmat. A NF- κ B p65 expressziójának csökkentése siRNS-sel gátolta a gemcitabine azon hatását, hogy fokozza a CD24+CD44+ vagy CD133+ sejtek arányát (Zhang és mtsai. *Oncol Rep.* 2012;27:1599-605). Az anticarcinogén izotiociánát sulforaphane gátolta a NF- κ B kötődését, és az apoptózis gátlók downregulálásán keresztül apoptózist indukált

pancreas carcinomás őssejtekben (Kallifatidis és mtsai. Gut. 2009; 58:949-963). Igen valószínű tehát, hogy az őssejtek aktivációjában fontos szerepe lehet a NF- κ B-nek.

Annak ellenére, hogy a ductalis carcinoma sejteket nem tervezzük vizsgálni, az epithelsejtek akut pancreatitisben betöltött szerepét illetően izgalmas elképzeléseink vannak. Hipotézisünk szerint kórélettani körülmények között a ductalis bikarbonát- és folyadékszekréció kimossa a pancreasból a toxikus faktorokat (pl. akut pancreatitisben az aktiválódott emésztőenzimeket). Ezen felvetésünk igazolására és korábbi *in vitro* eredményeink igazolására megvizsgáltuk az akut pancreatitis lefolyását olyan transzgenikus (NHERF-1 génkiütött) egértörzsben, melynek bikarbonát- és folyadékszekréciója csökkent. Ezekben az egerekben a vad-típusú állatokhoz képest két akut nekrotizáló pancreatitis modellben (cerulein- és nátrium-taurokólsav-indukálta) is súlyosabb volt a betegség lefolyása.

Legvégül ismét szeretném megköszönni Professzor Úr értékes bírálatát. Köszönöm, hogy a nyilvános védés kitűzését javasolta. Egyúttal kérem Professzor Urat válaszaim elfogadására.

Szeged, 2012-12-12

Tisztelettel:

Dr. Rakonczay Zoltán
Tudományos főmunkatárs