

Prezento de pulmkancera modelo

ANTHONY LUCAS*

Oni ne komprenis la efektivan naturon de la kancero ĝis ĉirkaŭ la mezo de la dek naŭa jarcento. Tiam la homo unue komprenis, ke lia korpo, kiel ankaŭ la korpo de ĉiuj superaj bestoj kaj kreskaĵoj, konsistas el miradoj da etaj vivantaj ĉeloj tre divers-specaj kaj kun tre diversaj kapabloj, ĉiuj akorde laborantaj laŭ siaj diversaj taskoj, kaj tiel funkciigantaj la organismon. Baldaŭ poste oni eltrovis, ke la multspecaj tumoroj, inkluzive la kanceraj, ankaŭ konsistas al ĉeloj kaj estiĝis per ilia multiĝo. Plue oni konstatis, ke tiuj ĉeloj ne estas enmigrigintoj el ekstere, sed devenis de normalaj ĉeloj iel strange ŝanĝitaj. Post la ŝanĝo ili ekmultiĝas, kaj ili multiĝas jam ne nur proporcie al la ordinara eluziĝo, sed persiste, tiel estigante la bulojn, kiuj nomiĝas tumoroj. Plue, ili perdas sian antaŭan bonordan rilaton al la tutaĵo de la korpo, malpli bone plenumas siajn taskojn antaŭajn, kaj ofte tute ĉesas funkcii [5].

1 Enkonduko

La unua pulmkancera kialo estas fumado. La kvinjara ofteco de la pulma kancero en usono estas pli ol 269.000 kaj la morteco estas ĉirkaŭ 168.000 (vd. tabelo 1) [4]. En Francio pli ol 39.000 estis diagnozataj en 2012 [1].

Kutime oni konsentas ke ekzistas du grandaj tipoj da pulmkanceraj: la enNon-small-cell lung cancer (NSCLC) kaj la ensmall-cell lung cancer (SCLC). Por la ĉi-tiea verko ni elektis la esperantajn nomojn *neĉeleta pulmkancero* (NĈPK) kaj *ĉeleta pulmkancero* (ĈPK). 80 % el pulmkanceraj estas NĈPK [3].

NĈPK kaj ĈPK havas malsimilajn ecojn. Aparte iliaj histopatologiaj karakteroj malsimilas eble pro la malsamaj skemoj de iliaj genetikaj vundoj. Konsekvence ilia respondecado al kemiterapio kaj surradiado ankaŭ tre malsimilas.

Spontanaj musaj pulmtumoroj similas pro ilia morfologio, histopatologio kaj iliaj molekulaj karakteroj al homaj adenokarcinomoj. Tial musaj modeloj estas uzeblaj por studado de kancera biologio kaj ankaŭ por farado kaj taksado de terapiaj strategioj aŭ identifiado de fruaj markoj. La temo de tiu artikolo estas prezento de unu musa modelo de NĈPK.

2 La geno KRAS

La geno KRAS estis eltrovata en 1982 ĉe homaj karcinomaj ĉeloj kaj estas homologa kun transformanta geno de Kirstena RatSarkoma viruso [2]. Ĝi estas unu el la plej ofte

* anthony.lucas@netforspeed.com

Tabelo 1: Pulma kancero; monda taksita okazoj, morteco kaj ofteco en 2012

	Viroj			Virinoj			Ambaŭ seksoj		
	Okazoj	Mortoj	5-jara ofteco	Okazoj	Mortoj	5-jara ofteco	Okazoj	Mortoj	5-jara ofteco
Mondo	1242	1099	1267	583	491	626	1825	1590	1893
Pli evoluintaj regionoj	490	417	593	268	210	341	758	627	933
Malpli evoluintaj regionoj	751	682	674	315	281	286	1066	963	960
Afriko regiono	12	11	10	6	6	5	18	16	15
Ameriko regiono	178	149	208	146	113	175	324	262	383
Orienta mediteraneo	26	23	22	7	6	6	33	29	28
Europo	323	283	343	126	105	133	449	388	476
Sudorienta azio	116	104	79	46	42	34	162	146	113
Okcidenta pacifiko	588	528	605	251	220	273	839	748	878
IAEKanoj (24 landoj)	514	438	582	279	219	343	794	657	925
Usono	112	92	140	102	76	128	214	168	269
Ĉinio	459	422	431	193	175	179	653	597	610
Hindio	54	49	24	17	15	8	70	64	32
Europa Unio (EU-28)	214	186	234	99	82	106	313	268	340

aktivigitaj genoj en onkoj. Fakte 17% je 25 % el la homaj onkoj enhavas mutacion en tiu geno. Ĝi estas guaninnukleotidoliganta proteino ((GDP/GTP)-liganta proteino)¹. Ĝi agas kiel ŝalta-malŝalta proteino. Ĝi varbas kaj aktivigas proteinojn endaj por disigo de kreskigaj faktoroj. Dum sia ago ĝi hidrolizas GTP je GDP kaj tial malŝaltiĝas. Do, kiam la geno estas mutacita, ĝi ebligas troan disigon de kreskigaj faktoroj. Tiam la celaj ĉeloj tro multobliĝas kaj iom post iom perdas sian kapablon por kunlaborado kun la aliaj korpaj histoj. La tumoras estas ekaperinta [3].

Se oni kapablas enĉeligi tiun mutacitan genon en musaj ĉeloj kune kun kontrolilo de ĝia esprimo, tiam oni ricevas musojn, en kiuj oni kontrolas la lokon kaj la momenton de la ektumorigo. Oni laŭvole ektumorigas la musajn histojn ene de la muso mem.

2.1 La gena konstruaĵo

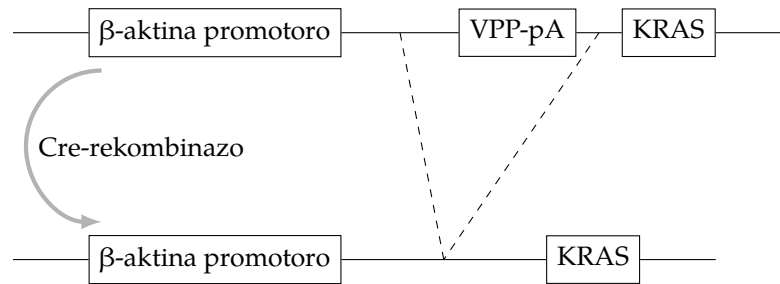
La gena konstruaĵo enhavas tri ĉefajn partojn: la β -aktinan promotoron, VFP²-pA kaj K-ras genon. Promotoro estas regadregiono de geno, ĉe DNA-ŝablono, kie unue aliksiĝas RNA-polimeriĝo kaj fiksas la lokon kie transskribado komenciĝas. La β -aktina promotoro estas tre aktiva do, la geno estos multege transskribita, t.e. tradukita je aga proteino (vd. bildo 1).

Ĉe ambaŭ flanko de la VFP geno estas Lox-P fragmento. La Lox-P fragmento estas eta DNA-kodo el bakteriofago³ P1. Ĝi estas tranĉebla per specifa enzimo: la Cre-

¹GDP: guanosina difosfato; GTP: guanosina trifosfato

²Verda fluoreska proteino (VFP) plibone konata per la nomo GFP, enGreen fluorescent protein

³Bakteriofago estas viruso, kiu infektas bakteriojn.



Bildo 1: Skizo de gena konstruaĵo

rekombinazo⁴. Do en normala ĉela kondiĉo tiu genetika konstruaĵo esprimas la verdan fluoreskan proteinon kaj la ĉeloj aspektas fluoreskaj sed en ĉeesto de Cre rekombinazo tiu fragmento estas eligita el la ĉelo, la proteino malaperas kaj la ĉelo ne plu fluoreskas. Pli en tiu konstruaĵo la VFP-kodo per sia loko (inter la promotoro kaj la kras-fragmento) malaktivigas la promotoron, kiu ne plu kapablas startigi la transskribon de la proteino K-ras, la Kras-ĝeno estas malaktiva [3].

2.2 Kiel enĉeligas la gena konstruaĵo?

Post la konstruado la konstruaĵo estas en provtubeto. Ĝi estu enĉeligita en musa ĉelo. Unue oni ekigas multovoladon de la musino, poste oni elprenis tiujn ovulojn, kiujn oni enmetas en nutran likvaĵon por ilia vivteno. Due ĵus post la fekundigo *in vitro* per spermatozoo oni inokulas la konstruaĵon per mikroinjektilo (vd. bildo 2). Tiu etapo estu ripetita multfoje en dekoj da ovuloj. Tiam laŭ la ovuloj la konstruaĵo estas hazarde ennukleigita aŭ ne. Trie la ovo (fekundigitaj ovuloj) estas inokulitaj en la uteroj de pluraj musinoj kaj la estontaj musidoj ekkreskas.

Post ilia nasko ilia genotipo estu kontrolata por la konstruaĵo. Inter ili, certaj ne enhavas la konstruaĵon kaj aliaj ĝin havas. Due inter la musidoj, kiuj enhavas la konstruaĵon, certaj ne povas ĝin esprimi kaj estu flankenmetitaj.

Post tiu selekto, restas nur kelkaj musidoj kiuj esprimas pli-malpli la konstruaĵon. Nur kelkaj el ili estas elektebla modelo.

3 Nun kiam ni havas la genetike modifitajn musojn, kiel indukti la pulmkanceron?

Por indiki la ĝenon KRAS ni devas eligi la VFP fragmenton per la Cre-rekombinazo. Por tio ni uzas modifitan viruson. Per plasmida teknologio, oni interŝanĝas la DNA kodon de la viruso kun la DNA kiu enhavas la ĝenon de la Cre-rekombinazo. Plie oni eligu la tutan parton de la virusa kodo kiu permesas la multobliĝon de la viruso.

⁴La paro LoxP/Cre rekombinazo estas specifa kaj la Cre rekombinazo kvankam venena por la ĉelo nur povas tranĉi la Lox-P-lokon, kiam ĝi estas en eŭkariota ĉelo (ĉeloj kun kerno kontraŭe al la prokariotaj ĉeloj sen kerno kiel la bakterioj). Homo estas eŭkarioto.



Bildo 2: Injekto de substanco en ovon

Poste oni senestizigas la muson kaj per specifa iloj (otoskopo, injektilo) oni enlake en injektas la viruson. Tiam la viruso infektas la pulmajn ĉelojn de la muso kaj tiuj infektitaj ĉeloj ekesprimas le Cre-rekombinazon. Fine la proteino, Cre-rekombinazon, eligas la VFP-fragmenton kaj tiam la konstruaĵo startas troesprimi la KRAS-proteino. Ektumoriĝas la musa pulmo.

3.1 Post sep semajnoj, aperas la unuaj tumoroj

La pulmo estas organo enhavanta plurajn lombojn, kies nombro varias laŭ specioj. La aero pulme eniras per la nazo kaj la trakeo. La trakeo arbe dividiĝas je bronkoj kaj bronketoj. Fine la bronketoj finiĝas per alveolo. La alveoloj estas intime ligitaj kun la sangvazoj por interŝanĝo de dioksigeno kaj dioksido karbona inter la aero kaj la sango.

La alveola parieto konsistas el pneŭmocitoj (tipoj I kaj II). La tipo I atingas 90-95 % el la tuto dum la tipo II ankaŭ nomita Kluba⁵ ĉelo estas pli malofta. La Klubaj Ĉeloj sekrecias mukopolisakaridojn, protektantaj la pulman parieton kontraŭ eksternaj danĝeroj.

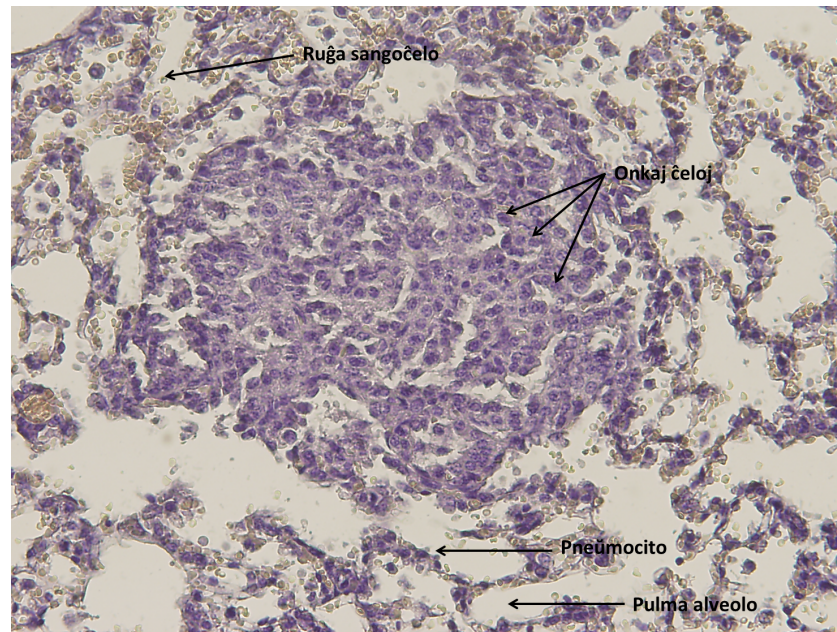
Kiam la pneŭmocitoj estas infektitaj de la viruso kaj ekas tro esprimi la genon KRAS, tiam tiuj ĉeloj anarhie multobliĝas tiele faranta bulon (tumoro) ŝtopanta alveolon.

Tiu modelo estas neĉeleta pulmkancero (NĈPK). Tio signifas ke aperas en la pulmo adenokarcinomoj foje papilaj⁶, malmolaj, acinaj⁷ aŭ bronkoalveolaj laŭ la ĉeltipo trafita.

⁵Kluba ĉelo antaŭe estis nomata Klara Ĉelo (enClara cell) ĉar ĝi estis unuafoje priskribita de Max Clara (1899–1966) en 1937. Clara, aktiva ano de la nazia partio, estis uzanta histojn de murditaj viktimoj de la nazia Germanio por siaj esploroj. Inter ili la laboro, kiu permesis la malkovron de la Kluba ĉelo [7].

⁶papil/o, (lapapillae) Normala eta elstaro sur haŭto aŭ mukozo: la langaj papiloj (prefere poroj) estas organo de la gustumado.

⁷acin/o, rondforma amaso de pluraj sekreciaj ĉeloj ĉirkaŭ kaveto, ofte kontinua kun elsekrecia kanalo: la salivaj kaj larmaj glandoj konsistas el acinoj.



Bildo 3: Adenomo en la pulmo de muso, 12 semajnon post virusa infekto. La sekco estas kolorita per hematoksilino.

4 Konkludoj

Tutmonde pulmkanceraj estas la plej komuna kancero kaj la kvina mortkaŭzo kun 1,6 milionoj da mortinto en 2012 [6]. Plie tiuj kanceraj estas tre malfacile kuraceblaj. Ofte la sola solvo estas grefto de pulmoj. Gravegas esplorado pri aliaj terapioj. Tial necesas bestaj modeloj kun similaj kanceraj. La organismoj genetike modifiitaj ofte alportas parton de la solvo. Murina modelo estas tre ofte uzata pro diversaj kialoj. Ĝi estas sufiĉe facile genetike modifebla, la musa reproduktado tre facilas kaj relative malmultekosta.

Literaturo

- [1] F. Binder-Foucard k.a. *Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012*. Institut de veille sanitaire, 2013.
- [2] A. D. Cox kaj C. J. Der. "Ras history, the saga continues". En: *Small GTPases* 1.1 (2010), p. 2–27.
- [3] R. Meuwissen k.a. "Mouse model for lung tumorigenesis through Cre/lox controlled sporadic activation of the K-Ras oncogene". En: *Oncogene* 20.45 (2001), p. 6551–6558.
- [4] International Agency for Research on Cancer, eld. *Estimated Cancer Incidence Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. URL: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.

- [5] P. Rous. "Kion oni efektivigis per la esplorado pri la kancero?" Trad. de T. L. C. Bluett. En: *Scienca Revuo* 4.16 (1953), p. 12–132.
- [6] WHO. OMS | *Principales causes de mortalité dans le monde*. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/fr>.
- [7] A. Winkelmann kaj T. Noack. "The Clara cell: a 'Third Reich eponym'?" En: *Eur Respir. J.* 36.4 (2010), p. 722–727. DOI: [10.1183/09031936.00146609](https://doi.org/10.1183/09031936.00146609).