

LOUPEŽNICKÉ BUŇKY

MARINA HUŽVÁROVÁ

Profesora Jiřího Neužila neulovíte v Praze pokaždé. Nádorové buňky totiž sice v posledních letech zkoumá v laboratořích krčského Biotechnologického ústavu AV ČR, ale od roku 1991 působí hlavně u protinožců, od roku 2002 na australské Griffith University, s intermezem v Německu a Švédsku. Za svými týmy překračuje časová pásma několikrát do roka; v Praze je prý větší legrace, v Austrálii si zase brzy ráno zapádluje na moři, ovšem podmínky v laboratořích jsou téměř shodné. A tak týmy dospěly společnou prací k mimořádnému objevu o funkci nádorové buňky.

Vedoucí Laboratoře molekulární terapie v Biotechnologickém ústavu prof. Jiří Neužil se svými týmy zjistil, že rakovinné buňky zbavené mitochondriální DNA, poté co jsou vneseny do příjemce, mají schopnost „obnovit“ svou mitochondriální DNA tak, že ji získají z buněk hostitele. To vede k obnovení funkce mitochondrií v rakovinných buňkách a tedy k jejich opětovné schopnosti tvořit nádory. Tento zásadní objev funkce nádorové buňky byl zveřejněn v prestižním časopise *Cell Metabolism* (viz [http://www.cell.com/cell-metabolism/abstract/S1550-4131\(14\)00554-3](http://www.cell.com/cell-metabolism/abstract/S1550-4131(14)00554-3)).

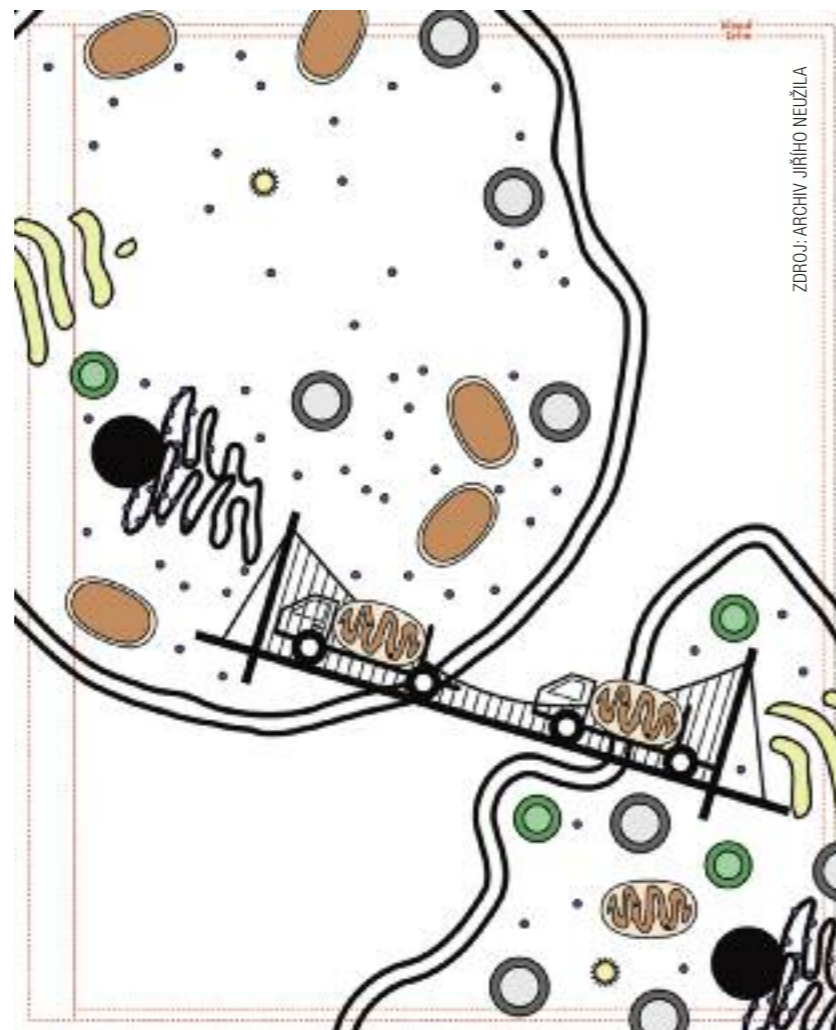
Pane profesore, nádorové buňky mají řadu mimořádných schopností a vy a vaši kolegové jste nyní zjistili, že zjednodušeně řečeno dokonce „kradou“ energii, respektive umějí donutit hostitelské buňky, aby jim vydaly svou mitochondriální DNA. Stále vás překvapují?

Když člověk zkoumá nádorové buňky a nádory, jak jsou schopny se přizpůsobovat změnám prostředí, je neustále překvapován. Podstatou objevu naší skupiny na Griffith University v Austrálii spolu se skupinou profesora Michaela Berridge ve Wellingtonu na Novém Zélandu a naší skupiny v Biotechnologickém ústavu Akademie věd je, že když nádorové buňce z její mitochondrie odstraníme DNA (mitochondrie mají vlastní DNA, což je zásadní, aby jakákoli buňka mohla tvořit energii procesem oxidativní fosforylace) a když vneseme buňky s odstraněnou mitochondriální DNA do myši, aby tvořily nádory, dojde k jejich tvorbě s velkým zpožděním. Během období,

než se nádory začnou tvořit, nádorové buňky „ukradnou“ mitochondrie s kvalitní DNA okolním buňkám hostitele, tedy myši, a využijí jejich schopnosti tvořit znovu ATP oxidativní fosforylací. Teprve pak mohou začít vytvářet nádory.

Jde tedy o „vyplenění“ jakési energetické zásobárny pro růst buněk?

Pro energii je tento proces zásadní, nádorové buňky jsou evolučně naprogramovány tak, že musí stále proliferovat. A k tomu, aby bujely, potřebují



ZDROJ: ARCHIV JIŘÍHO NEUŽILA

hodně energie ATP. Naprostá většina ATP se tvoří v mitochondriích a převážně již zmíněným procesem oxidativní fosforylace, k čemuž je nutná mitochondriální DNA. My dnes víme, že když vneseme mitochondriální buňky do experimentálního zvířete, po pěti dnech už mají nádorové buňky mitochondriální DNA, a když ta dosáhne určité hladiny, může buňka proliferovat a růst, tedy tvořit nádor. Tento objev jsme publikovali v *Cell Metabolism*, ale už máme nové, ohromně zajímavé výsledky, které budou publikovány koncem roku.

Není tento mimořádný biologický objev z pohledu na „zlodějské“ schopnosti nádorové buňky dost děsivý?

Je to naopak velmi zajímavé, protože jsme ukázali zásadní jevy, které jsou určitým způsobem převratné. Jsme první, kdo dokázal, že se mitochondriální přenos mezi buňkami děje v kontextu nějakého organismu, v tomto případě myši. Řada prací ukazuje, že přenos nastává u tkáňové kultury. A my jsme prokázali, že k přenosu dochází v celém zvířeti. Je možné, že se tak děje i u lidí. Objevili jsme také další, z hlediska evoluce převratné vlastnosti nádorové buňky, a to že mitochondrie mohou přecházet z buňky do buňky. Tyto procesy je kvůli limitovaným nástrojům molekulární medicíny obtížné studovat na molekulární úrovni. Když se nádorová buňka dostane do určitého prostředí a potřebuje získat mitochondrie s DNA, zřejmě vysílá nějaké signály, které donutí buňku hostitele, aby dodala vlastní mitochondrie s DNA buňce nádorové.

Hostitelská mitochondrie je tedy donucena opustit mateřskou buňku?

Ano, pravděpodobně je donucena. Obecně je známa schopnost nádorových buněk vytvářet si krevní řečiště. Když rostoucí nádor dosáhne kritické velikosti, třeba 1 mm, má nedostatek kyslíku. A tak vysílá signály – cytokiny, které jsou rozpoznávány endotelialními buňkami, jež tvoří krevní řečiště. Endotelialní buňky, které jinak neproliferují, začnou náhle růst směrem do nádoru – nádor je donutí, aby proliferovaly a z normálního krevního řečiště vytvořily jakési odbočky. Tímto způsobem si nádor vytvoří vlastní řečiště, protože má schopnost k tomu buňky donutit. Někakým mechanismem, který bude obdobný z hlediska funk-



FOTO: STANISLAVA KYSELOVÁ, AKADEMICKÝ BULLETIN

ce, ale hodně odlišný z hlediska molekulárního, donutí nádorová buňka buňku hostitelskou vydat svou mitochondriální DNA.

Vím, že se specializujete na nádory prsu a karcinom pohrudnice způsobený azbestem. Dala by se schopnost přebírat mitochondriální DNA zobecnit na všechny nádorové buňky?

Nevíme, jestli se takhle chovají všechny nádorové buňky, ale dochází k tomu u nádoru prsu a u buněk melanomu. Obecně se buňky různých typů nádorů dosti liší, mají jiné vlastnosti, jinou schopnost metastázovat, odlišně reagují na léčiva. Pohrudnice bývá rezistentní, u nádorů prsu záleží na typu. Typů a subtypů rakoviny je celá řada, každý je závažný; některé jsou relativně léčitelné, jiné téměř neléčitelné, takže jsou zde obrovské rozdíly.

Schopnost přebírat mitochondriální DNA pravděpodobně mají i jiné typy nádorových buněk. S kolegou Mikem Barridgem z Wellingtonu máme gentlemanskou dohodu, že budeme nadále spolupracovat na dalších typech nádorů a jiných onemocněních. Mike se teď chce přesunout směrem k neurodegenerativním chorobám, Parkinsonově nebo Alzheimerově chorobě, zatímco my se budeme soustředit na nádorová onemocnění. Nicméně je pro nás tato spolupráce velmi výhodná a zajímavá, protože Mike má důkazy, že přenos mitochondrií nastává také mezi neurony a mezenchymálními kmenovými buňkami. U neurodegenerativních onemocnění dochází k velkým poškozením mitochondriální DNA a u Parkinsona jsou celé úseky mitochondriálního genomu deletované, takže je teoreticky možné, že se někdy v budoucnu najde i odpovídající léčba. K tomu by náš výzkum mohl případně vést, protože má v obecné rovině řadu konotací.

S kolegy jste definoval skupinu malých molekul – „mitokany“ (od „mitochondria and cancer“), které mají protirakovinný účinek, tím, že působením na

Jiří Neužil (na snímku s ředitelkou Biotechnologického ústavu AV ČR Janou Pěkníkovou) jako první prokázal, že analogie vitamínu E, reprezentované prototypickou látkou a-tokoferyl sukcinát (a-TOS), mají protirakovinný účinek na myších modelech nádorových onemocnění, a to bez sekundární toxicity. V současné době jsou v přípravě klinické testy na pacientech s dosud neléčitelnou rakovinou pohrudnice (mesotheliom) a hledá se vhodný investor. Dále se podařilo identifikovat mitochondriální komplex II, který pouze výjimečně mutuje, tudíž se jeví jako nadějně zásahové místo pro protirakovinnou léčbu.

V nedávné době se skupině Jiřího Neužila podařilo syntetizovat a ověřit účinnost zcela nové skupiny protirakovinných látek působících na mitochondrie. Tyto látky jsou modifikovanou trifenylofosfoniovou skupinou, což vede k jejich velmi specifické lokalizaci do mitochondrií nádorových buněk.

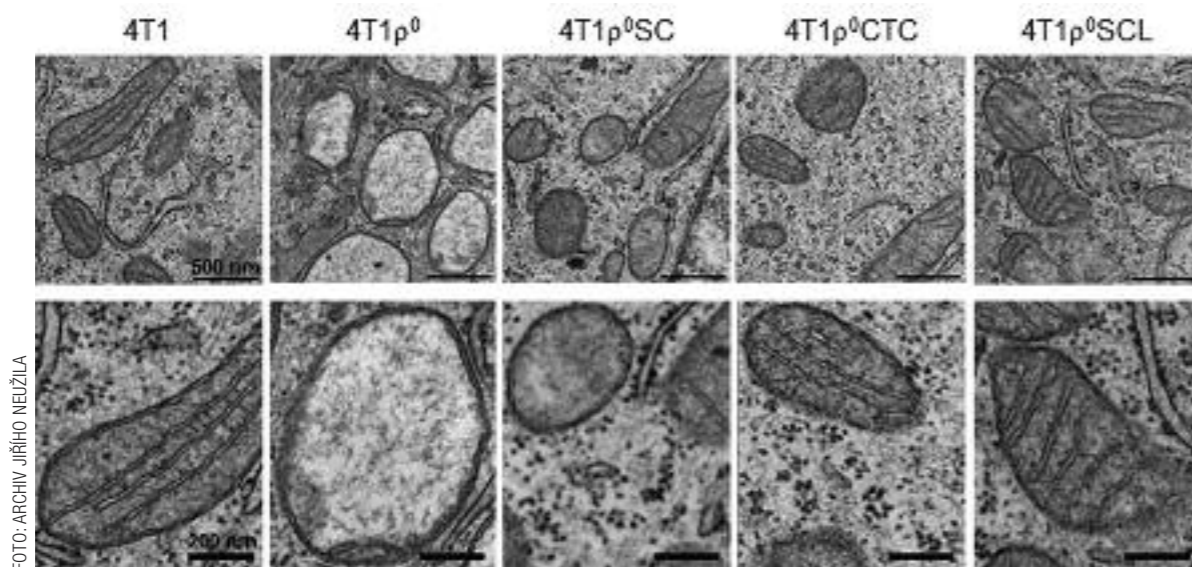


FOTO: ARCHIV JIŘHO NEUŽILA

mitochondrie vyvolávají apoptózu, tedy buněčnou smrt. Takže je naděje, že by se mitokany mohly stát součástí antikancerotik, která by mířila přímo na mitochondrie. To zní slibně vzhledem k budoucímu využití vašeho objevu. Jste optimistou?

Nevím, jestli má náš objev přímý dopad na léčbu. Momentálně jsme ve fázi pochopení schopností nádorových buněk. Je tu ještě jeden zajímavý aspekt: nádorové buňky jsou dost glykolytické, to znamená, že využívají pro tvorbu ATP „netradiční“ zdroje. Aby mohla nádorová buňka růst a úspěšně tvořit nádor, potřebuje získávat ATP z oxidativní fosforylace a my (nejsme jediní) to nyní prokázujeme. Dlouho se totiž myslelo, že u nádorových buněk probíhá zejména aerobní glykolyza, říká se tomu Warburgův efekt, ale teď zjišťujeme, že to není tak jednoduché. Nyní tedy pomocí moderních metod Warburgův efekt a hypotézu aktualizujeme, doplňujeme o nové poznatky. V 30. a 40. letech, kdy Warburg prováděl výzkumy, nebyly dostupné moderní metody a o skutečnosti, že je oxidativní fosforylace pro nádorové bujení důležitá, nikdo neměl tušení. Dnes víme, že je naopak naprosto zásadní. Je proto potřeba vyvíjet protirakovinové látky, které cílí na komponenty oxidativní fosforylace. Ten proces je poměrně komplikovaný; mitochondrie obsahují komplexy, v nichž dochází k určitým důležitým jevům. A právě cílení na tyto komplexy oxidativní fosforylace je perspektivní způsob, jak pokročit v léčbě rakovinových onemocnění.

Začátkem 90. let jste zamával srdci Evropy a na sedm let se usadil v Sydney, poté vás na tři roky přivábil německý Mnichov a na rok Švédsko, než jste se vrátil zase do Austrálie. Proč je pro vás důležitý pražský Biotechnologický ústav AV ČR?

Když jsme se v roce 2002 vrátili do Austrálie, mým blízkým už se tam tolik nelíbilo, tak odjeli zpátky do Čech – a já jsem tam uvízl sám. Inspiroval mne jeden

Američan, který má laboratoř v Austrálii a současně působí na Harvardu a přelétá sem tam. Podařilo se mi získat půl úvazku tehdy ještě v Ústavu molekulární genetiky AV ČR, z kterého se pak odštěpil Biotechnologický ústav. Získal jsem tak legální možnost jezdit do Česka pracovníčně. Zdejší malá laboratoř se úspěšně rozjela, takže trávím čas napůl v Austrálii a tady. V dnešním globalizovaném světě – v pozitivním smyslu – umožňuje skype a internet výborné spojení s oběma laboratořemi.

Do jaké míry se liší lidský potenciál a nápady tady a tam, kde se voda „otáčí opačně“?

Austrálie bývá považována za nejlepší zemi k životu, takže láká, a to nejen ekonomicky, ale i lidi, kteří mají vyšší stupeň inteligence. Ze své zkušenosti mohu říct, že se v této prosperující zemi žije dobře, je tam příjemné podnebí, společnost je přátelská a korektní. Je až pozitivní být tam ne-Australan; jak jsou Australané daleko, oddělení, rádi se od „cizince“ dozvědí něco o světě a obohacují svůj inteligenční fond o migranty, nově přichozí. Australané mají pocit, že je jejich země byrokratická, ale neznají naši byrokracii! Ohledně grantů je prostředí velice kompetitivní, úspěšnost kolem 15 %. Při stejné úspěšnosti je to v Česku špatné, ale v Austrálii je možno žádat z více zdrojů. Jsou tam dvě hlavní agentury. Australian Research Council je něco jako GA ČR a lze mít od ní dva granty. Pak je National Health and Medical Research Council, instituce na způsob IGA nebo zdravotnické grantové agentury, od nichž je možné mít najednou šest grantů.

Jak se pak všechno administruje?

Administrativa je pro australský prostor poměrně komický pojem, protože po finanční stránce se o vše stará finanční oddělení, vědeckému pracovníkovi maximálně řeknou, že mu začínají docházet peníze, ať „brzdí“. Finanční zpráva je pro vědeckého pracovníka irelevantní. Navíc se v Austrálii nepíše průběžně

grantové zprávy; očekává se, že co si vědec naplánoval, to splní. Pouze kdyby nesplnil, oznámí důvod (třeba že přístroj přišel později, metoda se zaváděla déle apod.). Na konci výzkumu se píše podrobná zpráva, v níž vědecký pracovník musí opravdu podrobně popsat, co udělal. Do té doby má úplnou volnost, s penězi může nakládat bez omezení, a pokud splnil svůj úkol a výsledky projektu publikoval, nikdo neřeší, co koupil. Kdyby však zadání neplnil a padlo by podezření, že některé výsledky nejsou v pořádku a mohlo dojít k jejich nějakému „upravování“, pak jsou následky velmi tvrdé.

Máte nějaký vědecký záměr, jste soustředěn na určité téma a dostanete granty z více zdrojů. Hlídá se jejich případná duplicita?

Hlídá, respektive člověk může podat na dvě nadace stejný grant, ale když dostane oba, musí jeden vrátit. Kdyby ne, tak se na to přijde a dotyčného to zdiskredituje. Lidi se chovají slušně – možná je k tomu donutil systém, ale už to mají v krvi. Když v Austrálii podá vědec grant, po čtyřech měsících dostane posudky, na něž odpovídá. I když jsou negativní, může oponovat, že na daném tématu pracuje, že třeba vydal publikaci, že mezitím někam postoupil, a může se stát, že ten grant dostane. Samozřejmě se řeší podobné problematiky, ale jinak; třeba v Australian Research Council (obdobu GA ČR) nesmí být nic bioložského, lékařského nebo translačního. Mě třeba jednou vyloučili, protože jsem použil myši modely, jenže jsem nesplňoval podmínky, protože toto téma patřilo do zdravotnické grantové agentury.

Předpokládám ale, že na takové pomezí se dostáváte častěji, že?

To se pak musí nějakým způsobem doplnit. Třeba na práci, kterou jsme teď publikovali, jsem měl grant v Austrálii. Když jsem ho psal, nezmínil jsem žádné myši, protože by to bylo nebezpečné. Mým posuzovatelům se téma velmi líbilo a jeden z nich se ptal, proč neobsahuje experimenty na myších. Napsal jsem, že mi to grant nedovoluje a že s kolegy podáme žádost ke zdravotnické grantové agentuře, která to umožňuje. Takže s pomocí peněz od druhé agentury budeme ve výzkumu pokračovat biomedicínským směrem.

Dělají se v Austrálii podobná hodnocení vědecké práce jako u nás? Nebo jako potvrzení stačí skutečné badatelské výsledky?

Něco takového jako kafemlejnek tam nikoho nezajímá a ani nenapadne, když má člověk dobré výsledky. Ale tady už to také našťestí odeznívá...

Jednou za rok se na univerzitách dělá formální pohovor s nadřazeným, jaké měl člověk cíle, zda je splnil a jaké má na další rok. Někteří kolegové, na něž si stěžují studenti, ale musí se svým nadřazeným řešit, kde dělají chybu ve výuce nebo proč nemají publikace

apod. Ale že by se ustavovaly hodnotící komise, to neexistuje. Některé vládní podporované ústavy si musí jednou za pět let udělat hodnocení, v němž prezentují, zda splňují vládní kritéria, aby dostaly podporu. Ale rozhodně ne něco takového jako tady. Dodnes mě mrzí, že naše tehdejší laboratoř dostala při minulém hodnocení nejhorší možnou známku, jeden stupeň před zrušením. Vůbec nechápu, jak nás takto mohli hodnotit...

Ano, je to paradoxní zejména v kontextu vašich výsledků publikovaných v prestižním časopise Cell Metabolism. O objevu, že nádorová buňka, která kvůli chybějící mitochondriální DNA nefunguje mitochondrie, umí tyto funkční organely získat z jiné buňky, tím restartovat buněčné dýchání a obnovit svůj nádorový potenciál, dokonce popularizační webový portál IFL uvádí, že přepíše učebnice biologie. Je příjemné si od českého hodnocení vydechnout na opačné polokouli?

Líbí se mi způsob života, kdy létám čtyřikrát ročně mezi kontinenty. Je to dobrodružství, protože se pořád něco děje, je to náročné.

A hodnocení? Vždycky, když nastávají paradoxy a absurdity, které nemá cenu řešit, parafrázujeme s kolegy v laboratoři větu z filmu Vesničko má středisková: „Když to chtějí, Jaroslave, tak vyplňuj.“ Kéž by se člověk uměl vyrovnávat se všemi nesmysly s humorem, protože některé věci jsou tu vážně tak absurdní, že kdybych o nich vykládal v Austrálii, nikdo mi nebude věřit. Ale postupně se to zlepšuje.

Porovnejme ještě život tady a v Austrálii. Naši krajané žijící v přímořském zahraničí v rozhovorech často zmiňují zdejší vnitrozemskou představu: „Ty se jen válíš na pláži,“ slýchávají. Máte čas a náladu válet se na pláži, když pobýváte ve svém domově u protinožců?

Ani ne, ale bydlím u zálivu, tak si před prací chodím ještě za šera zapádlvat, dodat si energii. Nechci, aby má slova zněla jako klišé, ale když pádluju a na východě vychází slunce, občas přeletí pelikáni nebo se dostanu do hejna delfínů, vnímám, jak mě to nabíjí. A jak takhle po ránu klouže loďka po vodě, hladina jako zrcadlo, já si přemýšlím, jsem uvolněný, napadají mě i vědecké myšlenky. Když se ptáte na život doma a v Austrálii – rozdíl je obrovský. Na pracovištích jsou korektní vztahy, v podstatě se tam hodně odděluje pracovní od soukromého, práce je tam transparentní, každý ví, jaký má kdo plat, jede se podle tabulek, neexistují odměny. Kolegové jsou přátelštější, ale po práci spolu zase tak moc nepečou. V Austrálii je to korektnější a tady je zase větší legrace, zajdeme třeba na pivo, popovídáme si. Nejlepší by bylo, kdyby tyto dva přístupy šlo zkombinovat. No a já se o to snažím a docela to funguje. A k tomu mi pomáhají bohaté zkušenosti z obou zemí. ■

Dosavadní výsledky naznačují vysokou účinnost jak při vyvolání apoptózy u nádorových buněčných linií, tak při potlačení nádorových onemocnění u myších modelů. Pro látky tohoto typu jsou nyní ve fázi přípravy preklinické a klinické testy s pomocí českého investora. Jde o patentované, ale dosud nepublikované látky působící na mitochondriální komplex I.