

Mgr Mateusz Gielata

Charakterystyka inwazyjnych komórek raka piersi z wykorzystaniem nowatorskiego systemu reporterowego alfa katuliny

Streszczenie

Rak piersi jest obecnie najczęściej diagnozowanym nowotworem u kobiet na świecie. Spośród różnych podtypów to potrójnie negatywny nowotwór piersi ma najniższą średnią przeżywalność z powodu bardzo często występujących przerzutów i braku dostępnej terapii celowanej. EMT jest procesem odgrywającym kluczową rolę podczas rozwoju zarodkowego, jednakże rola tego procesu została również potwierdzona w progresji nowotworowej i procesie przerzutowania. Obecnie trwa dyskusja nad nie binarnością tego zjawiska, wydaje się, że komórki mogą występować nie tylko w formie epitelialnej lub mezenchymalnej, a w wielu stanach pośrednich charakteryzujących się cechami macierzystych komórek nowotworowych. W przypadku raka piersi utrata adhezji międzykomórkowej jest kluczowa dla rozpoczęcia procesu przerzutowania. W trakcie trwania EMT komórki obniżają ekspresję apikalnych oraz bazopodstawnych, epitelialno specyficznych białek, co skutkuje wzrostem ekspresji białek typowo mezenchymalnych. Taka tranzycja skutkuje zwiększoną ruchliwością komórek. Zaobserwowane zostało, że obniżenie ekspresji białka epitelialnego α -kateniny korelowało ze wzrostem ekspresji białka α -katuliny i przejściem epitelialno mezenchymalnym. Ponadto ekspresja α -katuliny była zwiększona w komórkach na froncie inwazyjnym nowotworu płaskonabłonkowego głowy i szyi. Jednakże funkcja α -katuliny w progresji nowotworów piersi nie była do tej pory badana.

W niniejszej pracy doktorskiej na początek skupiłem się na przeglądzie literaturowym na temat słabo poznanego białka α -katuliny. Jest to białko należące do super rodziny białek winkuliny. W pracy tej wykazałem wysoką homologię sekwencji jak i struktury pomiędzy α -katuliną, α -kateniną i winkuliną. Opisałem ponadto bardzo ograniczoną, ale jednocześnie znaczącą listę białek, które wchodzi w interakcje z α -katuliną jak Lbc Rho GEF, dystrobrewina, IKK- β czy kinaza NEK. α -katulina pełni istotną funkcję w stanach zapalnych, odporności na apoptozę, starzeniu komórkowym a także w reorganizacji cytoszkieletu komórkowego,

progresji nowotworów i EMT. Dodatkowo α -katulina odgrywa kluczową rolę w trakcie rozwoju embrionalnego, ponieważ jest niezbędna dla prawidłowej neurulacji. W pracach naukowych udowodniono podwyższony poziom ekspresji α -katuliny w raku piersi, płuc czy prostaty. Pomimo licznych doniesień opisujących udział α -katuliny w migracji i inwazji komórek nowotworowych, mechanizm molekularny prowadzący do takiego fenotypu jest nadal bardzo słabo poznany.

W mojej drugiej oryginalnej publikacji wykazałem, że ekspresja α -katuliny zachodzi w ludzkich tkankach nowotworu piersi i poziom tej ekspresji koreluje z zaawansowaniem choroby nowotworowej. Ponadto kiedy wyciszyłem ekspresję α -katuliny w komórkach nowotworowych zaobserwowałem spadek potencjału inwazyjności komórek w modelu trójwymiarowym. Następnie rozwinąłem nowy system reporterowy katuliny w celu śledzenia i możliwości izolacji najbardziej inwazyjnych komórek raka piersi, a następnie możliwości poddania ich analizie sekwencjonowania RNA. Wysoka ekspresja α -katuliny koreluje z ekspresją genów zaangażowanych w migrację komórkową, a także może być odpowiedzialna za modulację właściwości adhezyjnych komórek nowotworowych i ich interakcję z naczyniami krwionośnymi. Barwienia immunohistochemiczne guzów ksenograficznych potwierdziły wyniki otrzymane przez sekwencjonowanie RNA. Dzięki temu wykazałem, że system reporterowy katuliny oznacza nie tylko inwazyjne komórki nowotworowe, ale także rzadką populację wysoce plastycznych komórek nowotworowych, które ekspresyjnie endotelialne markery takie jak MCAM i uczestniczą w mimikrze naczyniowej. Udział inwazyjnych nowotworowych komórek o podwyższonej ekspresji katuliny, w tworzeniu struktur przypominających naczynia krwionośne umożliwia dostawę substancji organicznych do wnętrza guza i prawdopodobnie poprzez ułatwianie wnikania komórek nowotworowych do krwioobiegu może początkować proces przerzutowania. Ponadto wykazałem, że wyciszenie ekspresji α -katuliny w komórkach nowotworowych wpływało na ich zmniejszony potencjał inwazyjności i zmniejszoną macierzystość nowotworową poprzez deregulację ekspresji markera macierzystości komórek raka piersi – CD44.

Wykorzystując system reporterowy katuliny udało mi się wyizolować i scharakteryzować plastyczne, wysoce inwazyjne komórki nowotworowe biorące udział w mimikrze naczyniopodobnej i przerzutowaniu. α -katulina odgrywa kluczową rolę w interakcji komórek nowotworowych i mikrośrodowiska, modulując właściwości adhezyjne komórek. Zwiększona plastyczność komórek nowotworowych, wysoce ekspresyjnie α -katuliny może być konieczna do tranzycji w struktury endotelialne, udział w tworzeniu mimikry

naczyniopochodnej i finalnie w przerzutowaniu komórek nowotworowych. W mojej pracy doktorskiej wyraźnie wykazałem iż α -katulina jest kluczowa dla potencjału nowotworzenia i inwazyjności komórek raka piersi. Jest ona markerem specyficznym charakteryzującym plastyczne komórki nowotworowe przechodzące przez stany pośrednie EMT. Poznanie pełnej złożonej biologii białka α -katuliny może prowadzić do poznania nowych skutecznych celów terapeutycznych w różnych typach nowotworów.