

Nowotwory płaskonabłonkowe głowy i szyi (HNSCC, head and neck squamous cell carcinoma), które rozwijają się z tkanki wyścielającej jamy ustnej, nosowej i gardła stanowią szóstą najczęstszą występującą formę nowotworów na świecie. Śmiertelność u pacjentów z HNSCC pozostaje wysoka z powodu rozwoju przerzutów i pojawienia się trudnych do operowania i opornych na leczenie nawrotów choroby. Nadal pozostaje niewyjaśnione dlaczego niektóre komórki w nowotworze są bardziej odporne na leczenie lub wykazują zwiększone właściwości do inwazji i tworzenia przerzutów. Model nowotworowych komórek macierzystych sugeruje, że w skład guza wchodzi mała populacja komórek zwanych nowotworowymi komórkami macierzystymi, które mają większy potencjał do odtworzenia całego nowotworu, są bardziej odporne na obecnie stosowane terapie oraz są odpowiedzialne za tworzenie przerzutów. Dużym problemem obecnie stanowi wyizolowanie tej specyficznej populacji opornych na leczenie komórek w celu ich scharakteryzowania i rozwinięcia bardziej ukierunkowanych terapii. Używane do tej pory markery obecne na powierzchni nowotworowych komórek macierzystych pozwalają na wzbogacenie tej populacji ale niestety nie pozwalają na całkowite oczyszczenie tych komórek do dalszej charakteryzacji. Poza tym użycie markerów nie pozwala na śledzenie dynamicznych zmian, które zachodzą w tych komórkach. Ostatnie odkrycia sugerują, że w obrębie guza nie-nowotworowe komórki macierzyste mogą uzyskać aktywność nowotworowych komórek macierzystych, co koreluje z przejściem ze stanu epitelialnego do mezenchymalnego (EMT) i zwiększeniem plastyczności tych komórek. W tym scenariuszu markery powierzchniowe nowotworowych komórek macierzystych mogą nie odzwierciedlać tych dynamicznych zmian. Dlatego w naszym projekcie ułożyliśmy strategię, która pozwoliła nam wyizolować nowotworowe komórki macierzyste z HNSCC na podstawie obecności molekuly zwanej Oct4, która jest obecna w plastycznych komórkach embrionalnych i również była pokazana jako obecna w nowotworach. W naszym systemie fragment regulatorowy molekuly Oct4 reguluje wytwarzanie przez komórki nowotworowe zielonego białka fluorescencyjnego (GFP, green fluorescent protein) pozwalając na markowanie, śledzenie i izolację komórek nowotworowych, które w guzie produkowałyby Oct4. Nasze wstępne badania pokazały, że tak jak zakładaliśmy populacja komórek nowotworowych, która wytwarza Oct4 i w naszym systemie jest znakowana przez zielone białko fluorescencyjne (Oct4GFP+) posiadają większy potencjał nowotworowy niż komórki Oct4GFP- i zachowują się w naszych testach jak nowotworowe komórki macierzyste. Ponadto pokazaliśmy, że nie-nowotworowe komórki macierzyste (Oct4GFP-) wykazują duży stopień plastyczności i mogą przejść z powrotem w stan nowotworowych komórek macierzystych Oct4GFP+ co zwiększa oporność na leczenie. Dotychczasowe badania sugerują, że proces w którym komórki nowotworowe zaczynają tracić połączenia międzykomórkowe i stają się bardziej inwazyjne (EMT) może zwiększyć plastyczność komórek nowotworowych, jednak teoria ta jest bardzo trudna do udowodnienia, ponieważ w pierwotnych nowotworach trudno jest zaobserwować ten proces, gdy jest on bardzo krótkotrwały i odwracalny. Dlatego na podstawie naszych niedawno opublikowanych wyników rozwinieliśmy drugi system reporterowy (Catulin-GFP), który pozwala po raz pierwszy na izolację i charakteryzację małej populacji nowotworowych komórek inwazyjnych, zbadanie ich potencjału jako nowotworowych komórek macierzystych i ich korelacji do nowotworowych komórek Oct4GFP+.

W obecnej aplikacji proponujemy użycie dwóch nowych systemów reporterowych opracowanych w naszym laboratorium aby lepiej zrozumieć właściwości biologiczne nowotworowych komórek macierzystych oraz zcharakteryzować ich sygnałowe, które regulują plastyczność nowotworowych komórek macierzystych w nowotworach głowy i szyi. Rozwinięte w naszym laboratorium nowe systemy reporterowe (Oct4GFP i CatulinGFP) stanowią unikatowe narzędzia, które pozwalają na obserwowanie i scharakteryzowanie dynamicznie zmieniających się stanów nowotworowych komórek macierzystych i nie-nowotworowych komórek macierzystych oraz komórek inwazyjnych. Zaproponowane badania pozwolą na lepsze zrozumienie, jakie czynniki wpływają na utrzymanie wysokiego stanu plastyczności nowotworowych komórek macierzystych i rozwinięciu potencjalnych terapii, które pozwoliłyby na blokadę tego procesu.