

IDENTYFIKACJA NOWYCH WRAŻLIWOŚCI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH Z DELECJĄ VPS4B

Kluczowym wyzwaniem w onkologii jest selektywne zabijanie komórek nowotworowych przy zachowaniu prawidłowych. By mu sprostać, onkologia precyzyjna ma na celu dopasowanie terapii antynowotworowych do indywidualnych zmian genetycznych w komórkach nowotworu danego pacjenta. Mutacje, które pozwalają na wzrost komórek nowotworu, często skutkują powstaniem specyficznych wrażliwości, których pozbawione są komórki prawidłowe. Na przykład, utracie fragmentu chromosomu z genem supresorowym (który hamuje podziały komórek, a więc jego brak powoduje niekontrolowany wzrost), może towarzyszyć niezamierzona utrata sąsiedniego genu, np. genu X kodującego białko uczestniczące w ważnym procesie komórkowym. W takiej sytuacji przeżycie komórek nowotworowych może zależeć od produktu genu Y, który zastępuje funkcję utraconego genu X. Ten stan powoduje specyficzną wrażliwość komórki nowotworowej i jej zależność od produktu genu (białka) Y. Wówczas, jeśli lek hamujący aktywność białka Y jest dostępny, wrażliwość ta może być wykorzystana jako cel terapeutyczny. Stąd, w celu rozwijania nowych terapii antynowotworowych w onkologii precyzyjnej, musimy lepiej poznać związek między mutacjami w komórkach nowotworu a zależnościami (wrażliwościami) jakie one powodują.

Powodem wielu niepowodzeń terapii onkologicznych są mutacje zachodzące w komórkach nowotworowych, które chronią je przed apoptozą. Jest to rodzaj programowanej śmierci komórki, której prawidłowy przebieg zapobiega rozwojowi nowotworu w organizmie. Jednak apoptoza nie jest jedynym rodzajem śmierci komórkowej. Aktywacja innych rodzajów śmierci komórkowej stanowi ważną alternatywę terapeutyczną dla nowotworów niewrażliwych na apoptozę.

Enzymy VPS4A i VPS4B wraz z kompleksami białkowymi ESCRT (ang. Endosomal Sorting Complex Required for Transport) uczestniczą w przebudowie błon biologicznych podczas np. endocytozy, podziału komórek czy naprawy błon komórkowych. W poprzednim projekcie zidentyfikowaliśmy obniżony poziom białka VPS4B jako selektywną wrażliwość komórek nowotworu jelita z utratą fragmentu chromosomu 18. Wykazaliśmy, że przeżycie komórek z brakiem VPS4B zależy od obecności białka VPS4A i scharakteryzowaliśmy na poziomie molekularnym skutki utraty obu białek VPS4 w komórce prowadzące do jej śmierci.

Utrata VPS4B najprawdopodobniej uzależnia komórki nowotworu nie tylko od obecności VPS4A, ale także od innych białek, które razem z VPS4B uczestniczą w kluczowych dla życia komórki procesach. W oparciu o nasze opublikowane i wstępne wyniki oraz analizę danych międzynarodowego projektu Cancer Dependency Map Project (DepMap) Instytutu Broad w USA stawiamy hipotezę, że: i) VPS4B może współpracować z produktami genów zaangażowanymi w migrację komórek w organizmie oraz wewnątrzkomórkowy transport pęcherzykowy, stąd komórki nowotworowe z brakiem VPS4B mogą być selektywnie wrażliwe na zahamowanie ekspresji tych genów, ii) VPS4B może chronić komórki przed nieapoptotyczną śmiercią komórkową, stąd komórki z delecją VPS4B mogą być szczególnie wrażliwe na działanie związków wywołujących ten rodzaj śmierci komórkowej.

Główny cel projektu to identyfikacja nowych wrażliwości komórek nowotworowych z utratą VPS4B. Do jego realizacji zastosujemy dwa podejścia, w których zbadamy wrażliwość komórek z brakiem VPS4B na: 1) zahamowanie ekspresji genów wytypowanych na podstawie danych DepMap, oraz 2) traktowanie związkami wywołującymi nieapoptotyczną śmierć komórki.

Do badań w naszym pierwszym podejściu wytypowaliśmy geny, które kodują białka o budowie umożliwiającej opracowanie specyficznego leku. Wykorzystując komórkowe modele nowotworu jelita grubego i trzustki hodowane *in vitro* i jako przeszczepy w myszach zweryfikujemy, czy jednoczesne zahamowanie ekspresji wytypowanego genu i VPS4B zatrzyma wzrost tych komórek. Dodatkowo, w celu poznania molekularnych mechanizmów stanowiących podłoże wrażliwości komórek nowotworowych z utratą VPS4B na zaburzenie ekspresji wytypowanego genu, zbadamy czy białka VPS4B i kandydata współpracują w przebiegu takich procesów komórkowych, jak: endocytoza, podział komórki (cytokineza), migracja komórek i ich przyleganie do podłoża (adhezja). W drugim podejściu, sprawdzimy czy utrata VPS4B uwrażliwia komórki nowotworowe na związki wywołujące nieapoptotyczną śmierć komórkową i zbadamy molekularne mechanizmy tego zjawiska. Na koniec określimy czy w ludzkich nowotworach istnieje korelacja między poziomem VPS4B i białek uczestniczących w tej śmierci komórkowej. W tym celu przeprowadzimy mikroskopowe analizy immunohistochemiczne próbek nowotworów jelita grubego od pacjentów.

Wyniki tego projektu powinny odkryć nowe mechanizmy molekularne powodujące wrażliwość komórek nowotworowych oraz wskazać nowe cele terapeutyczne dla onkologii precyzyjnej, co jest istotne zarówno dla badań podstawowych jak i translacyjnych.