

Na całym świecie rak piersi jest najczęstszym nowotworem inwazyjnym u kobiet. Wzrost około 70% nowotworów piersi zależy od obecności estrogenu. To tak zwane przypadki wrażliwe na estrogeny. Estrogeny to główne żeńskie hormony płciowe odpowiedzialne za cechy fizyczne i reprodukcję kobiet. Wrażliwe na estrogen komórki raka piersi posiadają receptory estrogenowe (głównie to ER α) i są klasyfikowane jako ER-dodatnie (ER+) nowotwory piersi. Estrogen oddziałuje ze swoim receptorem, który następnie wiąże się z DNA, reguluje transkrypcję (tj. aktywność genów) i ostatecznie stymuluje wzrost i migrację komórek (a tym samym ekspansję raka). Dlatego też terapie ukierunkowane albo na produkcję estrogenu, albo na sam receptor, tak zwana terapia hormonalna, są szeroko stosowane u pacjentów z ER-dodatnim rakiem piersi. Tamoksyfen jest najbardziej znanym lekiem antyestrogenowym, który jest standardem w leczeniu systemowym raka piersi ER+. Leczenie hormonalne pozwala na obiektywną odpowiedź kliniczną u około 50% pacjentów. Nabyta oporność hormonalna związana z aktywacją nieestrogenowych szlaków sygnałowych jest odpowiedzialna za niepowodzenie terapii hormonalnej w drugiej grupie chorych na raka piersi ER+. Dlatego też poszukiwanie nowych celów terapeutycznych w leczeniu raka piersi ER+ jest istotne dla przezwyciężenia oporności guza i poprawy wyników leczenia.

Głównym celem projektu jest ustalenie, czy białko HSF1 (ang. heat shock factor 1) może stanowić cel terapeutyczny, hamowanie którego ograniczy ryzyko przerzutów przez komórki raka piersi ER+ i poprawi skuteczność terapii hormonalnej. HSF1 jest znany jako regulator odpowiedzi komórek na zaburzenia związane z uszkodzeniem struktury białka. Ponadto HSF1 reguluje inne procesy biologiczne związane z cyklem komórkowym, syntezą białek i metabolizmem glukozy. W naszych badaniach *in vitro* wykazaliśmy, że HSF1 jest aktywowany w komórkach raka piersi ER+ hodowanych w pożywkach uzupełnionych estrogenem. Ponadto zmniejszenie ekspresji HSF1 hamowało ruchliwość komórek raka piersi ER+ stymulowaną estrogenem. Zdolność komórek do migracji w pewnym stopniu związana z inwazją komórek nowotworowych jest odpowiedzialna za powstawanie przerzutów.

Do badań wykorzystamy ludzkie nowotworowe komórki ER+, które będą podawane myszom bezgrasicznym (atymicznym). Myszy bezgrasiczne nie wytwarzają komórek T układu odpornościowego i nie odrzucają przeszczepionych komórek pochodzących od innego gatunku. Ludzkie komórki nowotworowe będą oznakowane poprzez wprowadzenie do nich genu lucyferazy oraz białka fluorescencyjnego eGFP, dzięki czemu ich wzrost i przerzutowanie będzie można obserwować za pomocą obrazowania bioluminescencyjnego. Otrzymamy linie komórkowe ludzkiego raka piersi z obniżoną ekspresją HSF1 z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas9, który pozwala na manipulację genomem komórek. Komórki zostaną wstrzyknięte do przewodu mlecznego myszy z obniżoną odpornością, a wzrost guza i tworzenie przerzutów będą monitorowane. W kolejnym kroku zbadamy, czy obniżenie poziomu HSF1 zwiększy skuteczność terapii hormonalnej. Do zbadania wpływu obniżenia poziomu HSF1 na skuteczność leczenia hormonalnego na wczesnym etapie komórki wprowadzimy do przewodów mlecznych myszy bezgrasicznych, natomiast w celu modelowania leczenia zaawansowanego ER+ raka piersi wprowadzimy komórki do układu krwionośnego poprzez żyłę ogonową. W tych eksperymentach użyjemy albo niezmodyfikowanych komórek, albo komórki z obniżonym poziomem HSF1. Zastosujemy także inhibitor HSF1, aby zmniejszyć jego aktywność. Myszy z ustalonym wzrostem guza będą leczone inhibitorem HSF1 w kombinacji z (i) tamoksyfenem, (ii) fulwestrantem lub (iii) Palbociclibem. Wzrost guza będzie monitorowany za pomocą bioluminescencji *in vivo*. Pod koniec eksperymentów myszy zostaną uśmiercone, guzy zostaną zebrane i użyte do analizy przez barwienie pod kątem wskaźnika proliferacji komórek, tworzenia naczyń krwionośnych, śmierci komórek i innych.

Spodziewamy się, że te eksperymenty wykażą, czy hamowanie funkcji HSF1 zmniejszy ryzyko przerzutów przez komórki raka piersi ER+ i poprawi skuteczność terapii hormonalnej. W ten sposób uzyskamy wiedzę, czy HSF1 może być odpowiednim celem terapeutycznym w leczeniu hormonozależnych nowotworów piersi.