

Badanie mechanizmów regulujących alternatywny splicing genu ALCAM oraz podatność tej cząsteczki na ścinanie przez szedazy obecne w mikrośrodowisku guza i ich związku z przerzutowaniem w raku pęcherza moczowego i niedrobnokomórkowym raku płuca

Progresja choroby nowotworowej związana z powstaniem nowych ognisk (przerzutów) jest główną przyczyną zgonów z powodu nowotworów. Pacjentów, u których pojawiły się nowe ogniska przerzutowe guza, należy poddać natychmiastowemu leczeniu. Często jednak ze względu na zły stan zdrowia nie jest to możliwe. Aby móc temu zaradzić, konieczne jest znalezienie biomarkerów klinicznych, które mogą pozwolić na zidentyfikowanie osób z predyspozycją do rozwoju przerzutów lub umożliwić szybkie wykrycie progresji choroby.

Na zdolność komórek nowotworowych do odrywania się od masy guza może mieć wpływ utrata połączeń międzykomórkowych spowodowana zaburzeniami ekspresji i/lub ścinaniem z powierzchni komórek cząsteczek, które określane są jako cząsteczki adhezyjne (cząsteczki adhezji międzykomórkowej). Przykładem takich cząsteczek jest cząsteczka ALCAM, której dotyczy badanie zaplanowane w niniejszym projekcie. Przeprowadzone one będą na materiale od pacjentów z rakiem pęcherza moczowego (RPM), a także od pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca (NDRP). W przypadku NDRP materiałem badawczym będzie krew pacjentów oraz tkanka nowotworowa i nienowotworowa (pobrana w czasie rutynowo stosowanego zabiegu chirurgicznego wycięcia zmiany nowotworowej), a także płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego. Natomiast w przypadku RPM badania prowadzone będą na tkance nowotworowej i nienowotworowej od pacjentów poddanych cystektomii (czyli usunięciu części lub całości pęcherza moczowego), a także na próbkach krwi i moczu od tych samych pacjentów. Zaplanowane badania zostaną wykonane po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej na ich przeprowadzenie, a także po wyrażeniu zgody samych pacjentów, na udział w projekcie.

Cząsteczka ALCAM ma dwie główne izoformy, czyli wersje różniące się obecnością/brakiem pewnego fragmentu cząsteczki, które powstają na skutek zjawiska zwanego alternatywnym splicingiem. Według danych literaturowych izoformy te: ALCAM Izo-1 i Izo-2, mogą być ścinane z powierzchni komórki z różną wydajnością. ALCAM Izo-1, pełna wersja cząsteczki, jest wolniej ścinana z powierzchni i przyczynia się do silniejszej adhezji (przylegania) komórek, natomiast izoforma ALCAM Izo-2 (z pominiętym fragmentem cząsteczki) jest szybciej ścinana i przez to może przyczyniać się do powstawania przerzutów nowotworowych. Dlatego też, „przejście” z ALCAM Izo-1 do ALCAM Izo-2 mogłoby w przyszłości stanowić marker progresji nowotworu i powstawania przerzutów.

W projekcie zaplanowaliśmy m.in. badania mające na celu znalezienie mechanizmu, który może wpływać na zjawisko alternatywnego splicingu ALCAM, a przez to na różny poziom ekspresji izoform (badania na liniach komórkowych) oraz różną podatność tych izoform na ścinanie. Do takich potencjalnych mechanizmów, które mogą regulować alternatywny splicing należą między innymi: 1) jednonukleotydowe warianty genetyczne występujące w sekwencjach, które pełnią funkcje wzmacniaczy lub wyciszaczy splicingu; 2) metylacja regionu genu ALCAM, którego pominięcie powoduje powstanie ALCAM Izo-2. W kolejnym kroku planujemy zbadać 1) ekspresję (na poziomie mRNA i białka) izoform ALCAM w materiale tkankowym pochodzącym od pacjentów z RPM i NDRP oraz 2) wybrane mechanizmy wytypowane (w pierwszym etapie badań) jako te, które mogą regulować zjawisko alternatywnego splicingu i różną ekspresję izoform cząsteczki ALCAM oraz 3) ekspresję cząsteczek (shedaz) odpowiedzialnych za ścinanie poszczególnych izoform ALCAM.

Zakładamy, że przedstawiony projekt pozwoli na uzyskanie ciekawych wyników, które poszerzą obecną wiedzę na temat mechanizmów regulujących powstawanie różnych izoform ALCAM oraz ich ścinanie z powierzchni komórki. Nasze badania mogą również przyczynić się do opracowania łatwo dostępnego markera progresji nowotworu i wykorzystania mechanizmu „przejścia” ALCAM Izo-1/ALCAM Izo-2 jako celu dla interwencji terapeutycznej.