

Rola aktywności EZH2 w rozwoju oporności czerniaka na terapie celowane

Cel naukowy projektu

Głównym celem projektu jest ocena roli metylotransferazy histonowej EZH2 w progresji czerniaka oraz nabytej oporności na terapie celowane. Planujemy zbadać, czy jednocześnie hamowanie EZH2 i zmutowanej kinazy BRAF zapobiegnie rozwojowi lekooporności, oraz poznać zależne od EZH2 mechanizmy lekooporności.

Uzasadnienie projektu

Czerniak jest nowotworem złośliwym skóry wywodzącym się z melanocytów, który w zaawansowanym stadium choroby prowadzi do wysokiej śmiertelności pacjentów. W około połowie przypadków czerniaka występuje aktywująca mutacja kinazy BRAF (BRAF^{V600}), która powoduje konstytutywną aktywność szlaku MAPK, charakteryzującą się zwiększonym poziomem fosforylacji kinaz MEK i ERK odpowiedzialnych za niekontrolowaną proliferację komórek i progresję nowotworu. Opracowanie specyficznych i selektywnych inhibitorów BRAF^{V600}, stosowanych samodzielnie lub w połączeniu z inhibitorami kinazy MEK, zaowocowało skuteczną odpowiedzią przeciwnowotworową i zmniejszeniem guza u większości leczonych pacjentów. Niestety, po okresie początkowej odpowiedzi komórki nowotworowe nabywają oporność na leki celowane, co prowadzi do nawrotu choroby i śmierci pacjentów. Pomimo szeroko zakrojonych badań nad opornością na leczenie czerniaka, wciąż poszukiwane są nowe cele terapeutyczne, które mogłyby zwiększyć skuteczność leków celowanych i przezwyciężyć lekooporność. Mechanizmy lekooporności w terapii przeciwnowotworowej nadal nie są dobrze poznane. Oporność ta może wynikać z wywołanych lekami mutacji, odwracalnej plastyczności fenotypowej komórek czerniaka i przejściowych zmian epigenetycznych, które kontrolują modyfikację transkryptomu. Metylotransferaza histonowa enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) jest kluczowym modyfikatorem chromatyny, który metylując określone białko histonowe prowadzi do represji genów docelowych. Co więcej, niekanoniczna aktywność EZH2 obejmuje metylację różnych białek niehistonowych, co prowadzi do ich stabilizacji lub degradacji. W czerniaku EZH2 często ulega zwiększonej ekspresji lub posiada aktywujące mutacje. Ponadto EZH2 tworzy kompleksy z innymi białkami niezależnie od jego aktywności metylotransferazy, co również prowadzi do progresji wielu nowotworów, w tym czerniaka. Nieprawidłowa aktywność EZH2 została powiązana z rozwojem oporności na chemio- i immunoterapie w różnych nowotworach, ale niewiele wiadomo na temat udziału EZH2 w oporności na terapię celowaną w czerniaku. Kilka specyficznych inhibitorów EZH2 blokujących jego aktywność metylotransferazy histonowej jest obecnie testowanych w badaniach klinicznych, jednakże niezwykle ważne jest również zahamowanie niekanonicznej aktywności EZH2. Ponadto, EZH2 wymaga specyficznych długich niekodujących RNA (lncRNA) jako kofaktorów, które stymulują jego aktywność, wobec tego nieprawidłowo zmodyfikowany transkryptom lekoopornych komórek czerniaka może zmienić powinowactwo wiązania EZH2 do jego partnerów molekularnych, a tym samym promować nowe odpowiedzi komórkowe.

Opis badań

Stawiamy hipotezę, że blokowanie zarówno kanonicznej, jak i niekanonicznej aktywności EZH2 zahamuje progresję czerniaka i zapobiegnie pojawieniu się lekooporności na inhibitor BRAF^{V600} wemurafenib. Dlatego najpierw planujemy ocenić zmiany transkrypcyjne pomiędzy pochodzącymi od pacjentów liniami komórkowymi czerniaka wyhodowanymi w naszym laboratorium, które są wrażliwe lub odporne na wemurafenib, a następnie zidentyfikować nowe geny regulowane przez interakcje EZH2 i EZH2-lncRNA typowe dla lekoopornych linii komórkowych. Następnie ocenimy krótkoterminowe skutki hamowania aktywności metylotransferazy EZH2 i degradacji białka EZH2 w komórkach nieleczonych i leczonych wemurafenibem. Ocenimy również stabilność i aktywność nowego wariantu EZH2 o nieznanym funkcjach, zidentyfikowanego w liniach komórkowych czerniaka w naszym laboratorium. Na koniec zbadamy, czy blokowanie kanonicznej lub niekanonicznej aktywności EZH2 może zapobiec lub opóźnić pojawienie się lekooporności w połączeniu z długotrwałym leczeniem wemurafenibem lub cofnąć już rozwiniętą oporność na wemurafenib w czerniaku. W tym projekcie wykorzystamy nowoczesne metody biologii molekularnej, w tym sekwencjonowanie nowej generacji (RNA-seq, ChIP-seq i RIP-seq), edycję genów metodą CRISPR/Cas9 oraz analizę bioinformatyczną. Najbardziej obiecujące wyniki zostaną potwierdzone na mysim modelu czerniaka.

Najważniejsze oczekiwane efekty projektu

Oczekuje się, że ten wysoce interdyscyplinarny projekt dostarczy nowych informacji dotyczących mechanizmów oporności na leki celowane zależne od nieprawidłowej aktywności EZH2. Wyniki tego projektu mogą dostarczyć nowych przesłanek do hamowania EZH2 w terapii czerniaka oraz doprowadzą do identyfikacji nowych interakcji z niekodującymi RNA oraz zależnych od nich szlaków sygnałowych. Zablokowanie aktywności metylotransferazy EZH2, oraz specyficznych oddziaływań EZH2 z niekodującymi RNA za pomocą odpowiedniego inhibitora może przyczynić się do poprawy przyszłych terapii czerniaka.