

Mutacje w SMARCA4, który koduje BRG1, enzymatyczną podjednostkę kompleksu SWI/SNF, występują w różnych typach nowotworów z częstotliwością do 16%. SWI/SNF odgrywa ważną rolę w strukturalnych rearanżacjach chromatyny, a zatem także w transkrypcji genów. Odpowiada za mobilność nukleosomów, ich gęstość w chromatynie i dostępność DNA dla maszyn transkrypcyjnych. Znaczenie utraty BRG1 dla transformacji nowotworowej i późniejszej progresji choroby pozostaje nieznane. Wyniki naszych ostatnich badań wykazały, że niska ekspresja SMARCA4 koreluje z wysoką ekspresją genów kodujących białka kluczowe dla aktywności lizosomalnej, takie jak LAMP1, LAMP2, LAMP3, LIMP2 u pacjentów z rakiem. Akumulacja leków przeciwnowotworowych w tych organellach powoduje utratę ich cytotoksyczności i genotoksyczności. Zgodnie z opublikowanymi przeze mnie wynikami, mechanizm inaktywacji leków przeciwnowotworowych w lizosomach jest kluczowy dla nabycia oporności wielolekowej w nowotworach podczas terapii paklitakselem, a obniżenie aktywności tych organelli uwrażliwia odporne komórki na chemioterapeutyki. Co ważne, z punktu widzenia funkcji lizosomów i odporności na nowotwory, poziomy ekspresji białek będących kluczowymi składnikami lizosomów korelują z poziomami receptora estrogenowego ERα i białka BRM - drugiej podjednostki enzymatycznej kompleksu SWI/SNF u pacjentek ze zmutowanym i dysfunkcyjnym białkiem BRG1. Takiej zależności nie obserwuje się u pacjentów z prawidłowym BRG1.

Celem projektu jest zrozumienie roli BRM i ERα w warunkowaniu oporności wielolekowej w nowotworach z mutacją SMARCA4. Hipoteza badawcza zakłada, że BRM tworzy funkcjonalny kompleks z ERα, który zwiększa ekspresję genów lizosomalnych determinujących oporność na chemioterapię przy braku aktywności BRG1. Na poziomie molekularnym i komórkowym projekt ma na celu zidentyfikowanie wpływu BRG1 na tworzenie i aktywność kompleksu BRM-ER, ale także przetestowanie i walidację inhibitora BRG1/BRM, związku obniżającego regulację receptora estrogenowego (SERD) i selektywnych modulatorów receptora estrogenowego (SERMS), które są obecnie stosowane w terapiach raka ER+, jako potencjalnych środków zapobiegających biogenezie lizosomów. Co więcej, naszym celem jest zidentyfikowanie kofaktora, który pozwala na zależną od BRM-ER kontrolę transkrypcji genów lizosomalnych pod nieobecność BRG1.

Jako model do naszych badań wykorzystamy fenotypy komórek niedrobnokomórkowego raka płuc odporne na paklitaksel, ponieważ te typy nowotworów są często leczone paklitakselem, który zwiększa ich oporność poprzez zwiększenie lizosomalnej sekwestracji leku. Dlatego wybraliśmy linię komórkową A549 ze spontaniczną mutacją w genie SMARCA4 oraz NCI H441 z dzikimi typami SMARCA2 (BRM) i SMARCA4. Metodologia obejmuje techniki ChIP i RNA-Seq, analizę bioinformatyczną, badanie akumulacji leku w lizosomach przy użyciu cytometrii przepływowej i mikroskopii konfokalnej, a także analizy cytotoksyczności.

Z naukowego punktu widzenia i dla rozwoju dyscypliny naukowej, projekt przyczyni się do zrozumienia nieznanych podstaw interakcji BRM-ERα w komórkach z nabytą opornością wielolekową, w szczególności pojawienia się genów zależnych od BRM-ERα i regionów w genomie, w których taka funkcjonalna i fizyczna interakcja może wystąpić. Określona zostanie rola białka BRG1 w tworzeniu kompleksów lub synergistycznym działaniu wyżej wymienionych białek. Ponadto projekt ma na celu identyfikację związanych z chromatyną kofaktorów kompleksu BRM-ER, które prawdopodobnie przyczyniają się do zwiększonej transkrypcji genów lizosomalnych, ale także innych genów, w fenotypach opornych na paklitaksel. Kofaktory te mogą stanowić potencjalne cele dla terapii antylizosomalnych, w których organelle te odgrywają ważną rolę w oporności na określone chemioterapeutyki. Badane związki SERD i SERMS są również potencjalnymi kandydatami do terapii przeciwnowotworowych w połączeniu z innymi lekami, które są biernie (przez dyfuzję) lub aktywnie (przez transportery ABC) transportowane do lizosomów u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc ze zidentyfikowaną mutacją inaktywującą w SMARCA4.