

Szász István^{1,2}

Primer tumor és metasztázis eredetű melanoma sejtvonalak génexpressziós változásai PLX4720 BRAF kináz inhibitor hatására

Témavezető: Balázs Margit^{1,2}

¹ MTA-DE Népegészségügyi Kutatócsoport, Debrecen

² Debreceni Egyetem Népegészségügyi Kar Megelőző Orvostani Intézet Biomarker Analízis Tanszék, Debrecen

A melanoma malignum a melanocitákból kiinduló invazív, agresszív, áttétképző daganat. Annak ellenére, hogy incidenciájának növekedése a letális daganatok között a második, olyan potenciális terápia, mely az előrehaladott stádiumú betegek túlélését jelentősen meghosszabbíthatja még nem áll rendelkezésre. A melanomák közel 70%-a hordozza a BRAF, sejtosztódásban szerepet játszó fehérje mutáns változatát, melynek hatásos gátlószere az FDA által 2011-ben elfogadott vemurafenib (PLX4032). Hatékonyságát azonban jelentősen csökkenti a gyógyszeres kezeléssel szemben viszonylag gyorsan kialakuló rezisztencia. Ezért alapvető jelentőségűek azok a vizsgálatok, melyek a rezisztencia kialakulásának hátterében álló molekuláris mechanizmusok feltárását célozzák meg.

Vizsgálataink során célunk volt a vemurafenib alapjául szolgáló vegyület (PLX4720) sejtnövekedést befolyásoló hatásának vizsgálata két BRAF mutációt hordozó primer-metasztázis eredetű melanoma sejtvonal páron (WM983A - WM983B és WM278 - WM1617) WST-1 sejtproliferációs assayvel. Először a szenzitív sejtvonalakból folyamatos nagy dóziszú PLX4720 kezeléssel rezisztens sejtvonalakat hoztunk létre: WM983A^{REZ}- WM983B^{REZ} és WM278^{REZ}- WM1617^{REZ}. Az eredeti és rezisztens sejtvonalak gén kópiaszám eltéréseit Affymetrix CytoScan 750K, a globális génexpressziós eltéréseket Affymetrix Human Gene 1.0 ST microarray-ekkel határoztuk meg, az eredményeket FISH-el és qRT-PCR-al validáltuk. Matrigel inváziós kamrában az eredeti és rezisztens sejtvonalak inváziós tulajdonságait hasonlítottuk össze.

Eredményeink szerint a PLX4720 növekedést gátló hatása mind a négy BRAF mutáns sejtvonalnál megfigyelhető. A rezisztens sejtvonalak mindegyike megváltozott fenotípussal jellemezhető. Szignifikáns gén kópiaszám eltérést a rezisztens sejtvonalakban a 8-as kromoszómán található *REXO1L2P*, *EXT1* és *SAMD12* gének esetében tudtunk kimutatni. Ezzel szemben a génexpressziós vizsgálataink során 582 gén szignifikáns expressziós változását figyeltük meg a rezisztens sejtvonalakban az eredeti sejtvonalakhoz képest. A csökkent működésű gének többsége melanoszoma szintézisben és melanocita differenciációban szerepet játszó gén volt, míg az emelkedett expressziójú gének elsősorban növekedési faktor kötődésért és aktivációért felelős gének, lysyl oxidázok és sejtheadhézióban szerepet játszó gének közé tartoztak. A jelátviteli útvonal analízis az extracelluláris mátrix szerveződésében szerepet játszó útvonalak, PI3K-Akt és fokális adhézióban szerepet játszó jelátviteli útvonalak eltéréseit mutatta ki. A WM278^{REZ} sejtvonal invazív tulajdonsága az anyai sejtvonalhoz képest megnőtt, ami tovább erősödött amennyiben kemoattraktánsként az inhibitor használtuk. A BRAF inhibitor megvonását követően a sejtproliferáció mértéke a WM983A^{REZ}- WM983B^{REZ} sejtvonalakban csökkent, míg a WM278^{REZ}- WM1617^{REZ} sejtvonalakban nőtt.

Összefoglalva, fenti megfigyeléseink megerősítik azt a hipotézist, mely szerint a rezisztens sejtek függővé válhatnak a BRAF inhibitor kezelést követően, azonban nem minden esetben. A microarray vizsgálatok során szignifikáns eltérést mutató gének és jelátviteli útvonalak meghatározó szerepet játszhatnak a rezisztencia kialakulásában, így ezeknek a molekuláris célpontoknak a megismerése hozzájárulhat a hatékonyabb terápiás stratégiák kialakításához is.