

Vzpostavitev in ovrednotenje radioobčutljivosti HPV-pozitivnega mišjega modela ploščatoceličnega karcinoma ustnega predela

Živa MODIC^{1,2}, Maja ČEMAZAR^{1,3}, Simona KRANJC BREZAR^{1,2}, Boštjan MARKELC^{1,4}, Gregor SERŠA^{1,4}, Tanja JESENKO^{1,2}

¹ Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, Ljubljana, 1000, Slovenija; ² Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, Ljubljana, 1000, Slovenija; ³ Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem, Polje 42, Izola, 6130, Slovenija; ⁴ Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, 1000, Slovenija

zmodic@onko-i.si

Raziskava je prejela financiranje Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije preko raziskovalnega programa P3-0003 in programa mladih raziskovalcev.

ZAKLJUČKI

V raziskavi smo vzpostavili mišji model ploščatoceličnega karcinoma ustnega predela (PKU) s stabilnim izražanjem onkoproteinov E6 in E7 humanega papilomavirusa (HPV)-16. MOC1-HPV K1 mišji tumorski model, ki kaže povečano občutljivost na obsevanje z enkratno dozo 15 Gy, se od HPV-negativnega modela razlikuje po večjem deležu proliferirajočih celic in nižji ravni hipoksije. Analiza transkriptoma je pokazala, da so biološke poti povezane z angiogenezo značilno obogatene v MOC1-HPV K1 celični liniji. Za natančno opredelitev in potrditev primernosti modela so potrebne še nadaljnje raziskave.

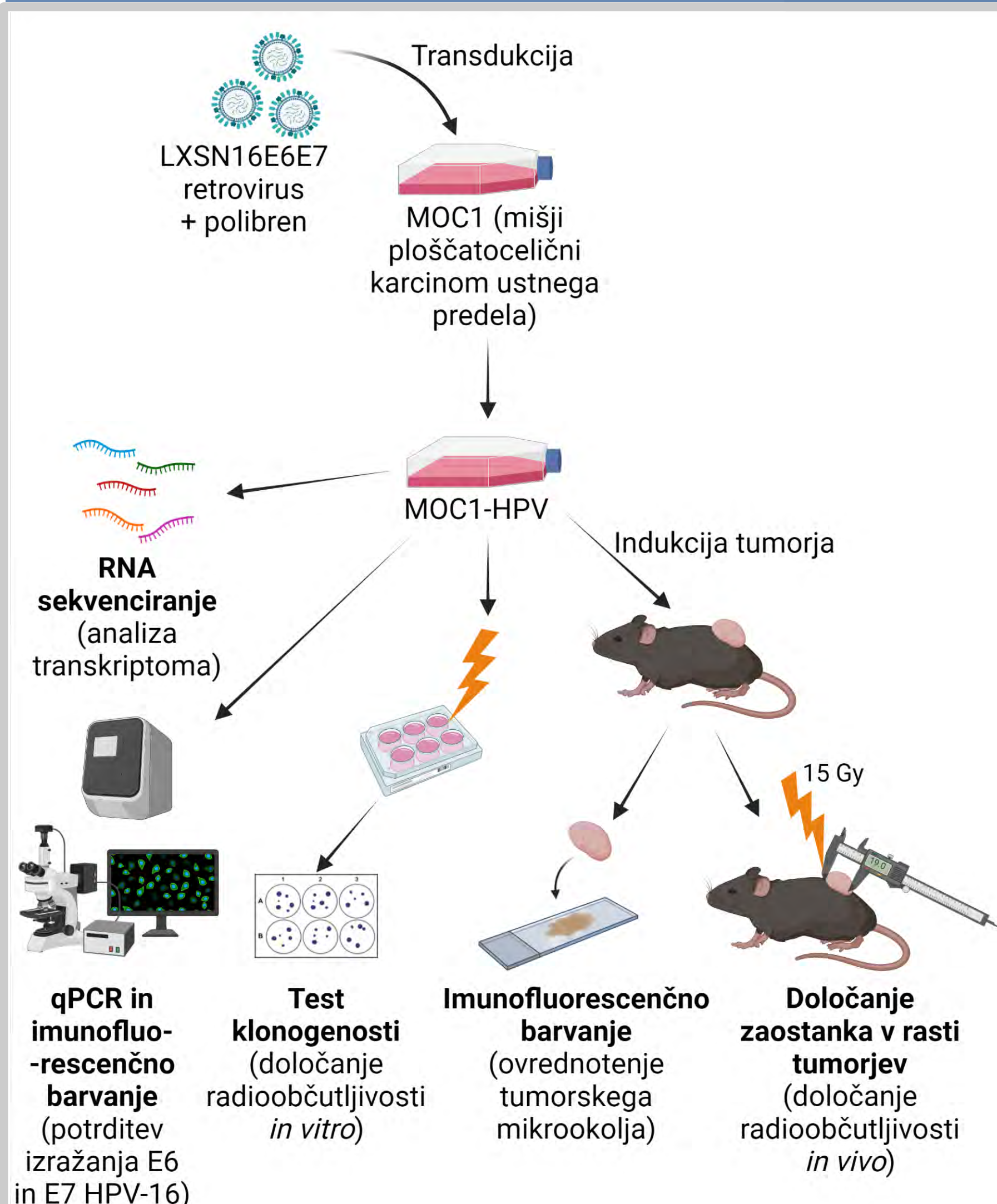
UVOD

PKU zaobjema raka ustne votline, ustnice ter ustnega dela žrela. Okužba z visoko rizičnimi podtipi HPV je eden od dejavnikov tveganja za razvoj PKU, vpliva pa tudi na boljši odziv nekaterih tipov PKU na zdravljenje [1, 2]. Zaradi vrstne specifičnosti HPV so mišji tumorski modeli redki, zato je preučevanje teh vrst tumorjev in njihovega odziva na terapije, ki temeljijo na imunskih mehanizmi, oteženo.

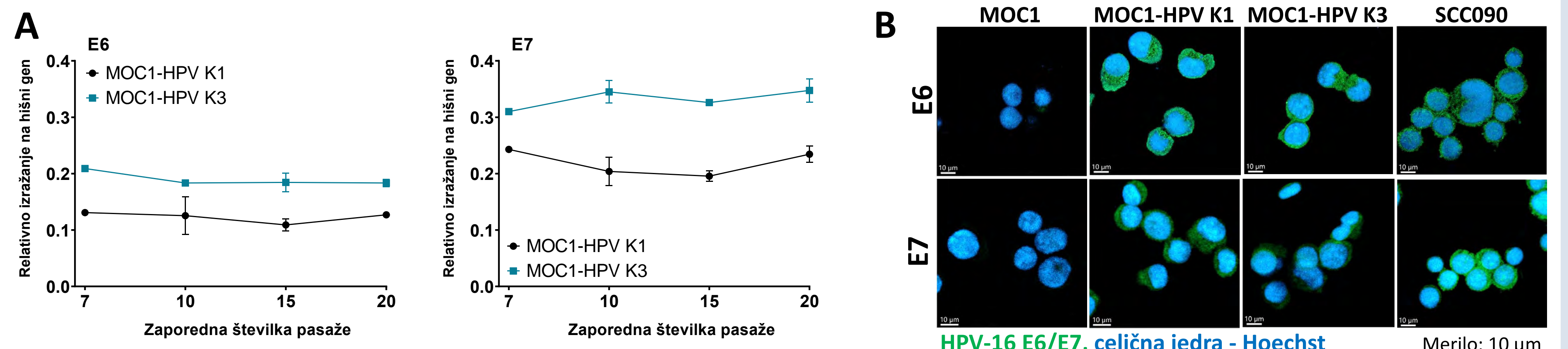
NAMEN

Namen naše raziskave je bil vzpostavitev in ovrednotenje radioobčutljivosti HPV-pozitivnega mišjega modela PKU.

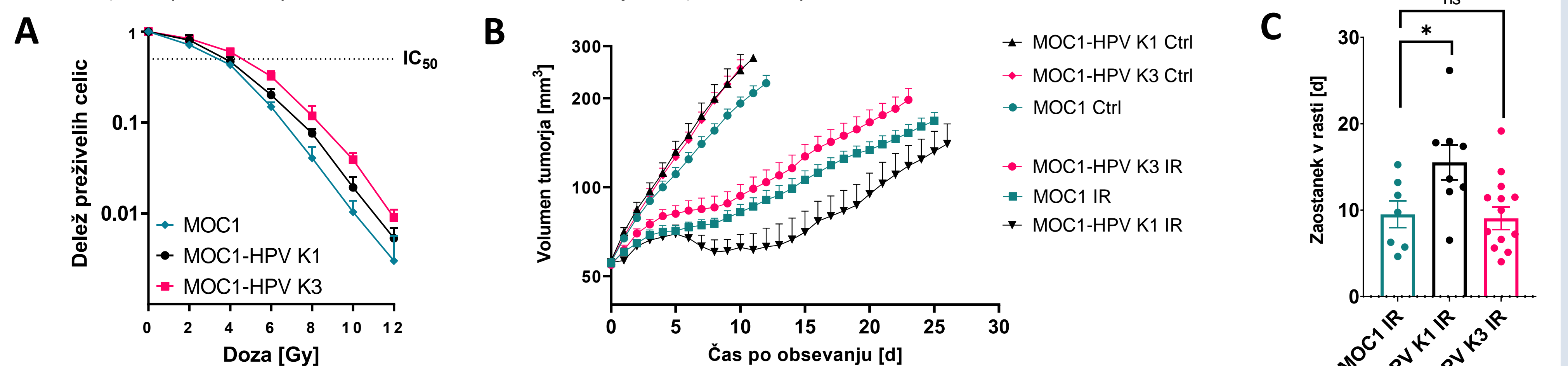
METODE



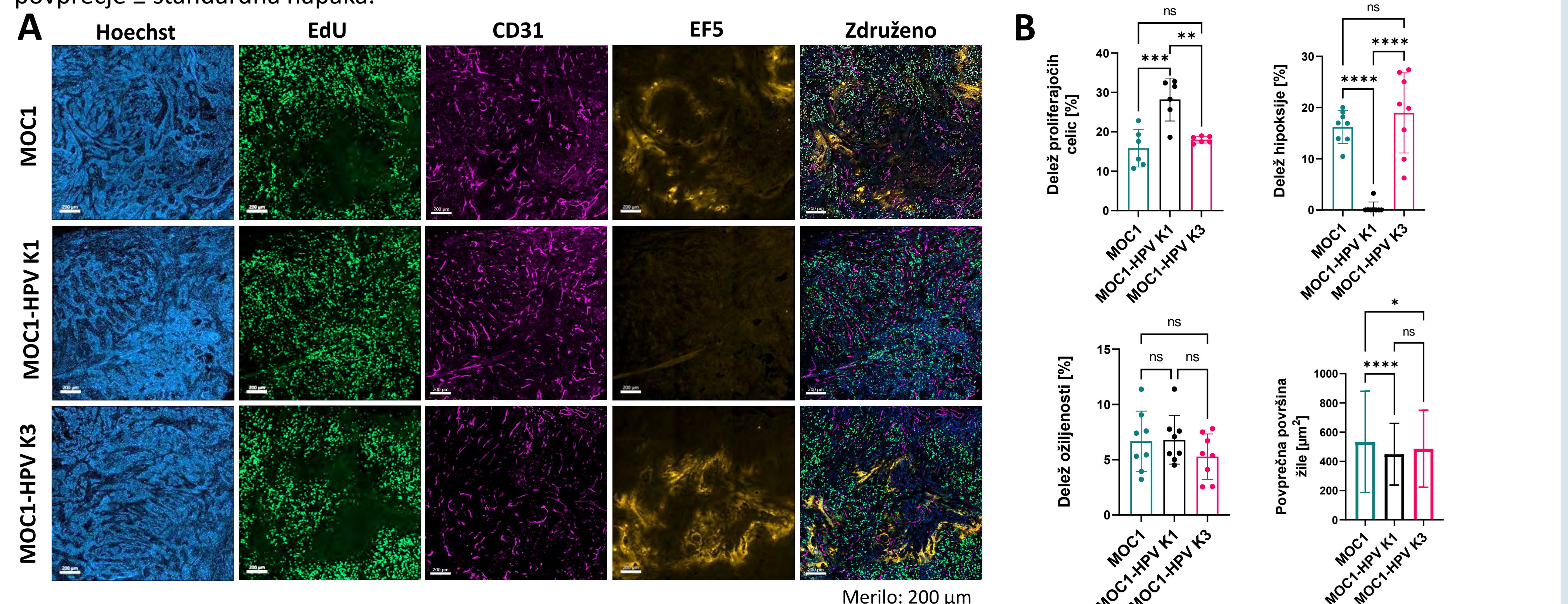
REZULTATI



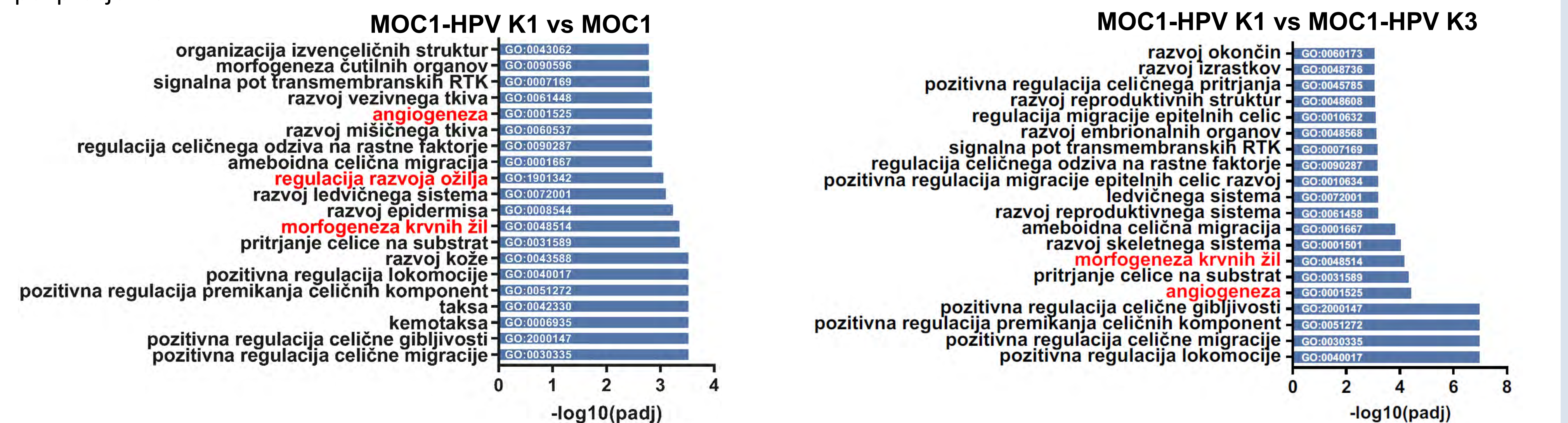
Obe MOC1-HPV monoklonski celični liniji (MOC1-HPV K1 in K3) izražata onkoproteina E6 in E7 HPV-16 na RNA in proteinskem nivoju. (A) Izražanje E6 in E7 HPV-16 na mRNA nivoju z gojenjem celic ostaja stabilno. Hišna gena: GAPDH in β -aktin. Prikazano je povprečje \pm standardna napaka. (B) Reprezentativne slike imunofluorescenčno označenih E6 in E7 proteinov HPV-16 v celičnih kulturah. SCC090 (HPV-pozitiven ploščatocelični karcinom baze jezika) služi kot pozitivna kontrola.



Radioobčutljivost celičnih linij MOC1 in MOC1-HPV *in vitro* in *in vivo*. (A) Na *in vitro* nivoju po obsevanju z naraščajočimi dozami sevanja s testom klonogenosti nismo zaznali statistično značilnih razlik v radioobčutljivosti HPV celičnih linij glede na starševsko linijo. Prikazano je povprečje \pm SD. (B) Rast tumorjev po obsevanju z enkratno dozo 15 Gy. Ctrl – kontrolna skupina, IR – obsevana skupina. Prikazano je povprečje \pm standardna napaka. (C) Obsevanje tumorskega modela MOC1-HPV K1 z dozo 15 Gy vodi v daljši zaostanek v rasti tumorjev (*: vrednost $p \leq 0.05$, enosmerna analiza variance (ANOVA)). Prikazano je povprečje \pm standardna napaka.



Tumorsko mikrookolje mišjih tumorskih modelov se razlikuje v deležu proliferirajočih celic in nivoju hipoksije. (A) Reprezentativne slike imunofluorescenčno barvanih zmrzlih rezov tumorjev z velikostjo 50 mm³. Hoechst – celična jedra, EdU – proliferirajoče celice, CD31 – žile, EF5 – hipoksija. (B) Tumorski model MOC1-HPV K1 ima višji delež proliferirajočih celic in nižji delež hipoksije brez statistično značilnih razlik v deležu žilja, vendar z manjšimi žilami v primerjavi z MOC1 tumorskim modelom (*: vrednost $p \leq 0.05$, **: vrednost $p \leq 0.01$, ***: vrednost $p \leq 0.001$, ****: vrednost $p \leq 0.0001$, enosmerna analiza variance (ANOVA)). Prikazano je povprečje \pm SD.



Biološke poti povezane z angiogenezo so obogatene v celični liniji MOC1-HPV K1. Dvajset najbolj obogatenih bioloških poti (GO pojmi bioloških procesov) s popravljeno vrednostjo p (padj) < 0.05 . Geni s padj < 0.05 in stopnjo spremembe izražanja > 1 so bili označeni za diferencialno izražene. RTK – tirozin-kinazni receptor.

VIRI