

Analiza mechanizmu sygnalizacji oraz funkcji receptora PD1 w kostniakomięśaku.

mgr Katarzyna Dziubek

Terapia nowotworów została zrewolucjonizowana przez inhibitory immunologicznych punktów kontrolnych skierowane przeciwko osi PD1/PDL1, pełniącej rolę hamulca dla układu immunologicznego. Pomimo sukcesu terapeutycznego, niektórzy pacjenci nie reagują na terapię lub ich stan szybko się pogarsza z powodu niezupełnie wiadomego mechanizmu. Badania przeprowadzone w różnych typach nowotworów wykazały, że ekspresja receptora PD1 nie jest obecna wyłącznie na komórkach odpornościowych, ale także na komórkach nowotworowych. Ponadto, w zależności od rodzaju nowotworu, PD1 może działać zarówno jako promotor, jak i supresor wzrostu nowotworu oraz może stanowić mechanizm oporności na terapię PD1/PDL1. Ograniczona odpowiedź na inhibitory PD1/PDL1 została również zaobserwowana w kostniakomięśaku. Celem tych badań było ustalenie, czy nowotworowy receptor PD1 może być odpowiedzialny za ograniczoną skuteczność inhibitorów PD1/PDL1 w kostniakomięśaku oraz charakteryzacja funkcji PD1 i opisane jego interakcji z innymi białkami w komórkach kostniakomięśaka.

Nasze wyniki wykazały zarówno powierzchniową, jak i wewnątrzkomórkową ekspresję białka PD1 w komórkach U2OS kostniakomięśaka. Wyciszenie genu PDCD1 znacząco zwiększyło migrację komórek i ich przeżywalność. Analiza proteomiczna techniką LC-MS/MS wykazała, że zmiany w ekspresji PD1 istotnie wpłynęły na proteom komórek U2OS. Narzędzia służące od interpretacji wielkoskalowych danych, GO i GSEA, jednoznacznie pokazały, że wyciszenie PDCD1 prowadzi do wzrostu poziomu białek zaangażowanych we wzrost komórek, migrację oraz mobilność, co odpowiada efektom, które zaobserwowaliśmy w testach laboratoryjnych. Analiza oddziaływań białek, których poziom najbardziej uległ zmianie przy użyciu bazy danych STRING, wskazała na ich rolę w sygnalizacji mTORC1, adhezji komórkowej oraz przerzutach nowotworowych, sugerując, że nowotworowy PD1 w kostniakomięśaku może działać jako supresor wzrostu nowotworu.

Ścieżka sygnalizacji PD1 została dobrze scharakteryzowana w limfocytach T, jednak rola jaką pełni w nowotworach wciąż podlega dyskusji i nadal niewiele wiadomo o oddziaływaniach białkowych nowotworowego PD1. Badania interaktomu na szeroką skalę, jakie przeprowadziliśmy metodą LC-MS/MS zidentyfikowały dotychczas nieznaną interakcję między PD1 i AXL (receptor kinazy tyrozynowej UFO). Interakcja ta została potwierdzona metodami PLA i Western Blot. Dokowanie molekularne, użyte do scharakteryzowania interakcji, dodatkowo potwierdziło oddziaływanie białkowe i wykazało, że zachodzi ono w domenach wewnątrzkomórkowych obu białek. Zgodnie z naszymi danymi eksperymentalnymi, mutacje w resztach tyrozynowych PD1 podlegających fosforylacji nie przerwały wiązania PD1 z AXL. Jednak analiza in silico wykazała, że w zależności od mutacji, kompleks białkowy podtrzymywany był przez inne typy wiązań, sugerując zróżnicowaną siłę i powinowactwo kompleksu.

Podsumowując, nasze badania opisują uprzednio nieznane funkcje białka PD1 przez komórki kostniakomięśaka oraz stanowią źródło informacji o szlaku sygnalizacji PD1 w komórkach nowotworowych. Ponadto, analiza oddziaływań białkowych PD1 zidentyfikowała nową interakcję pomiędzy PD1 a AXL. W świetle badań naukowych i klinicznych, które wykazały lepszą odpowiedź na inhibitory PD1/PDL1 w połączeniu z inhibitorami AXL, nasze wyniki mogą rzucać nowe światło na leżący u podstaw tej odpowiedzi mechanizm. Niemniej jednak, dalsze prace nad znaczeniem nowotworowego receptora PD1 są niezbędne, aby zrozumieć jego znaczenie terapeutyczne i poprawić bezpieczeństwo i skuteczność immunoterapii.