

Abstrakt

Schopnost nádorových buněk využívat různé invazivní módy (tzv. plasticita invazivity nádorových buněk) představuje značnou překážku v léčbě metastazujících nádorů. Nádorová invazivita zahrnuje mnoho různých způsobů migrace. Buňky se mohou pohybovat společně (se zachovanými mezibuněčnými kontakty; kolektivní invazivita) či individuálně. V rámci individuální invazivity pak rozlišujeme dva základní způsoby – mezenchymální a améboidní. Mezenchymální způsob migrace je charakterizován protáhlým tvarem buněk, proteolytickým štěpením vláken mezibuněčné hmoty a tvorbou pevných kontaktů s mezibuněčnou hmotou. Améboidní způsob je nezávislý na proteolytické aktivitě, buňky jsou charakteristické kulatým tvarem a zvýšenou kontraktilitou, kterou používají k protahování se skrze póry mezibuněčné hmoty. Tato disertační práce se zabývá analýzou plasticity invazivity nádorových buněk, konkrétně přechodů mezi individuálním améboidním a mezenchymálním migračním módem, ve 3D prostředí kolagenové matrix jakožto modelu mezibuněčné hmoty. Práce představuje modely mezenchymálně-améboidního přechodu (MAT), které zahrnují buněčné linie BLM, HT1080 a MDA-MB-231, v nichž je MAT indukováno expresí konstitutivně aktivní malé GTPázy RhoA či pomocí dasatinibu, inhibitoru kinázy Src. Rovněž byl ustanoven „nenádorový“ model plasticity buněk založený na M2 makrofázích v kolagenové matrix o různé hustotě. Následně byla provedena transkriptomická a proteomická analýza vybraných modelů. Tyto analýzy odhalily zvýšenou expresi prozánětlivých genů a sníženou expresi genů regulujících buněčný cyklus v améboidních buňkách. Expresní profil genů a hladina proteinových produktů vybraných cílů zapojených v MAT byly následně ověřovány pomocí RT-qPCR a imunoblotů. Následným srovnáním velice různorodých veřejně dostupných transkriptomických datasetů zachycujících přechod mezi mezenchymálním a améboidním módem invazivity ve 3D prostředí byla odhalena zvýšená exprese dlouhé nekódující RNA MALAT1 (Metastasis-Associated Long Adenocarcinoma Transcript 1) v améboidních buňkách. Toto pozorování bylo následně ověřeno pomocí RT-qPCR. Pro další výzkum úlohy MALAT1 v invazivní plasticitě nádorových buněk byly připraveny klony se sníženou expresí MALAT1 v silně améboidních buněčných liniích A375m2 a A2058. U obou sad klonů vedlo snížení exprese MALAT1 ke snížení množství aktivního RhoA, jehož vysoká hladina je typickým znakem améboidní invazivity, a zároveň ke zvýšení proliferace těchto buněk. U klonů odvozených od linie A375m2 pak snížení hladiny MALAT1 vedlo navíc k améboidně-mezenchymálnímu přechodu (AMT) a zvýšení invazivity těchto buněk ve 3D prostředí kolagenové matrix.