

Abstrakt

Tato disertační práce se zabývá složitou rolí signální dráhy Hedgehog (HH) v melanomu s cílem poskytnout komplexní pochopení její úlohy v melanomagenezi a jejího potenciálu jako terapeutického cíle. (HH) je klíčovým systémem buněčné komunikace, který reguluje různé vývojové procesy a homeostázu tkání. Odchytky v této dráze mohou vést k vývoji různých onemocnění, včetně rakovin, jako je melanom, což je agresivní a smrtelná forma kožního karcinomu, která obsahuje subpopulaci buněk známou jako rakovinné kmenové buňky (CSCs). Dle dostupných dat o CSCs se předpokládá, že jsou zodpovědné za iniciaci, progresi a odolnost nádoru vůči terapii. V této práci se zaměřujeme na roli CSCs v progresi nádoru a na to, jak HH přispívá k udržení fenotypu kmenových buněk. Budou diskutovány současné analytické a terapeutické strategie zaměřené na CSCs a HH. Naše zjištění naznačují, že zaměření se na CSCs a signální dráhu hedgehog může přinést naději pro vývoj účinných terapií pro léčbu melanomu.

Cílem práce bylo poskytnout nové poznatky o HH a jejích interakcích uvnitř buňky. Podařilo se nám identifikovat zcela nový transkripční cíl této dráhy - transkripční faktor Slug. Protein Slug je zapojen do vývoje neurální lišty a udržování kmenového fenotypu rakovinných buněk (CSC). Zjistili jsme, že inhibice efektorových proteinů HH - transkripčních faktorů GLI - pomocí GANT61 vede k významné redukci koncentrace Slugu uvnitř buňky. Dále ukazujeme, že prvky signální dráhy HH jsou přítomny ve více než 50 liniích nádorových buněk, což naznačuje aktivování HH klasickou formou.

Dále jsme ověřili platnost takzvaného “reostatového modelu” efektu MITF transkripčního faktoru na rakovinný fenotyp. V minulosti bylo dokumentováno, že vysoká koncentrace MITF se projevuje zrychlenou diferenciací a nízkou invazivitou. Naopak nízké hladiny MITF jsou provázeny pomalejší diferenciací, rychlým růstem a vysokou invazivitou. Naše data však tomuto protirečí, protože jsme zjistili opačné efekty snížení hladiny MITF. Také bylo ukázáno, že MITF přímo ovlivňuje podjednotku ligázového komplexu SCF E3 - FBXO32 a v souhře s dalšími chromatin remodelujícími komplexem hraje významnou roli v epigenetické regulaci ubikvitinace v melanomech.

Klíčová slova: Hedgehog signální dráha, Slug, CSC, marker

Abstract

This dissertation delves into the intricate role of the Hedgehog signaling pathway (HH) in melanoma, aiming to provide a comprehensive understanding of its involvement in melanomagenesis and its potential as a therapeutic target. Hedgehog signaling pathway is a crucial cellular communication system that regulates various developmental processes and tissue homeostasis. Aberrations in this pathway can lead to the development of various diseases, including cancers such as melanoma. This form of skin cancer is known to be aggressive and often deadly. It is also denoted by the presence a subpopulation of cells known as cancer stem cells (CSCs) within formed neoplasm. According to available data on CSCs, they are assumed to be responsible for tumor initiation, progression, and resistance to therapy. In this work, we focus on the role of CSCs in tumor progression and how HH contributes to maintaining the stem cell phenotype. Current analytical and therapeutic strategies targeting CSCs and HH will be discussed. Our findings suggest that targeting CSCs and the Hedgehog pathway may hold promise for the development of effective therapies for melanoma.

We aim to provide novel insights to HH signaling pathway and its interactions within the cell. We have succeeded to identify a brand-new transcriptional target of this pathway – Slug transcription factor. Slug protein involved in development of the neural crest and maintenance of the CSC phenotype. We found out that inhibition of HH effector proteins – the GLI transcription factors – by GANT61 leads to significant reduction of Slug protein levels. Furthermore, we demonstrate that elements of the HH signaling pathway are present in more than 50 cancer cell lines, indicating activation of HH in its classical form.

We also revisited the so-called “rheostat model” on Microphthalmia-associated transcription factor (MITF) influence on cancerous phenotype on cell lines with inducibly regulated MITF levels. In the past, it was documented that high-MITF levels are manifested high differentiation rate and low invasiveness and the low-MITF level is associated with low differentiation and proliferation rates combined with high invasiveness. Our data disprove of this postulate as we report a contradictory effect of MITF decrease. Lastly, it was shown, that MITF directly targets a SCF E3 ligase complex subunit - FBXO32 and in concert with chromatin-remodeling complex plays a major role in regulation of ubiquitination in melanoma cells on epigenetic level.

Key words: Hedgehog signaling pathway, Slug, CSC, marker