

Μελέτη του ρόλου της ενζυμικής πρωτεΐνης IRE1 στον καρκίνο με μεθόδους βιοπληροφορικής ανάλυσης

Περίληψη

Η διαταραχή της πρωτεόστασης έχει αναδειχθεί ως κύριο χαρακτηριστικό του καρκίνου, προσδιορίζοντας την επιθετικότητα των όγκων. Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι το Ενδοπλασματικό Δίκτυο (Ε.Δ.), το κύριο κυτταρικό διαμέρισμα για την αναδίπλωση των πρωτεϊνών και τον έλεγχο ποιότητας, διαδραματίζει έναν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου. Η διαπίστωση αυτή ισχύει σε σημαντικό βαθμό και για το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (GBM), τον πιο θανατηφόρο πρωτοπαθή καρκίνο του εγκεφάλου χωρίς αποτελεσματική θεραπεία. Προηγούμενες μελέτες είχαν δείξει ότι ο αισθητήρας στρες Ε.Δ. IRE1α (αναφέρεται και ως IRE1) συμβάλλει στην εξέλιξη του GBM, μέσω του μη συμβατικού ματίσματος του mRNA του XBP1 και της εξαρτώμενης από την IRE1 αποικοδόμησης (RIDD) του RNA. Εδώ, αποδεικνύουμε για πρώτη φορά την σημασία της IRE1 σηματοδότησης στην ανάπτυξη και εξέλιξη του ανθρώπινου GBM και εξάγουμε συγκεκριμένη γονιδιακή υπογραφή (IRE1sign38) που αποτελείται από δύο συνιστώσες 19 γονιδίων η κάθε μια, αντιπροσωπεύοντας την XBP1s και RIDD σηματοδοτική ενεργότητα, αντίστοιχα, με άμεση εφαρμογή σε ανθρώπινα μεταγραφικά GBM δεδομένα. Η αξιολόγηση της δραστηριότητας των δύο κύριων σηματοδοτικών αξόνων και η συσχέτισή τους με βιοχημικά, κλινικά, ανοσολογικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά μας επέτρεψε να αναδείξουμε τον ανταγωνιστικό τους ρόλο στην αύξηση και εξέλιξη του όγκου, κυρίως μέσω επιλεκτικής αναδιαμόρφωσης του στρώματος του. Επιπλέον, χαρτογραφήσαμε για πρώτη φορά το δίκτυο των miRNAs που εμπλέκεται στην ρύθμιση των δύο σηματοδοτικών αξόνων και ταυτοποιήσαμε 11 υποψήφια miRNAs που ελέγχουν την IRE1 σηματοδοτική ενεργότητα τόσο στο GBM όσο και στον Τριπλά Αρνητικό Καρκίνο του Μαστού (TNBC), ρυθμίζοντας λειτουργίες που καθορίζουν την κυτταρική διήθηση/εισβολή, μετανάστευση και μεταστατικότητα των καρκινικών κυττάρων αλλά και τον επαναπρογραμματισμό τους σε βλαστικά κύτταρα. Στη συνέχεια, αποκρυπτογραφήσαμε τα νουκλεοτιδικά και δομικά μοτίβα 2ταγούς RNA δομής που χαρακτηρίζουν τους RIDD στόχους και κατασκευάσαμε *in silico* δύο πρότυπες RNA ακολουθίες που αναδιπλώνονταν σε δομή στελέχους-βρόχου και εσωτερικού βρόχου, αντίστοιχα, κατόπιν ενσωμάτωσης των ταυτοποιημένων νουκλεοτιδικών μοτίβων αποκοπής από την IRE1 στην περιοχή των βρόχων. Με βάση τις πρότυπες RNA ακολουθίες συντέθηκαν ολιγονουκλεοτίδια RNA – πιθανοί RIDD στόχοι, οι οποίοι επιβεβαιώθηκαν με *in vitro*

πειράματα αποκοπής. Παράλληλα, αναπτύξαμε μια μεθοδολογία βιοπληροφορικής για την ταυτοποίηση υποψήφιων νουκλεοτιδικών μοτίβων αποκοπής από την IRE1 σε περιοχές βρόχων φουρκέτας και εσωτερικών βρόχων εξετάζοντας το σύνολο των ανθρώπινων πρόδρομων miRNA μορίων της βάσης miRBase, αναδεικνύοντας υποψήφιους RIDD miRNA (ή miRIDD) στόχους. Επίσης, με βάση την ανάλυση των RNA ακολουθιών αναπτύξαμε μεθοδολογία για τον εντοπισμό και την ποσοτική εκτίμηση των μοτίβων αποκοπής σε RNAseq δεδομένα. Επιπρόσθετα, η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε για την εκτίμηση της IRE1 ενεργότητας στο GBM, εφαρμόστηκε σε 11 ακόμη συμπαγείς όγκους του TCGA προγράμματος και οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν σε υπότυπους υψηλής και χαμηλής IRE1/XBP1s/RIDD σηματοδοτικής ενεργότητας με άμεση συσχέτιση με μοριακούς, κλινικούς και ανοσολογικούς δείκτες αλλά και με σημαντικό αντίκτυπο στα ποσοστά επιβίωσης των ασθενών. Αυτή η μελέτη παρέχει την πρώτη απόδειξη ενός διπλού ρόλου της IRE1 σηματοδότησης στον καρκίνο και ανοίγει ένα νέο θεραπευτικό παράθυρο για την παρεμπόδιση της εξέλιξης της νόσου.

Τέλος, στο πλαίσιο της μεταφραστικής έρευνας και της ιατρικής ακριβείας αναπτύξαμε μια φιλική προς τον χρήστη (σε γραφικό περιβάλλον) R Shiny υπολογιστική πλατφόρμα που επιτρέπει 1) την ανάκτηση μοριακών και κλινικών δεδομένων του προγράμματος TCGA, 2) την επεξεργασία και το φιλτράρισμα των μοριακών δεδομένων μέσω τεχνικών που αυξάνουν το βιολογικό σήμα έναντι του θορύβου, 3) την ανάλυση και ενσωμάτωση γονιδιωματικών δεδομένων μεγάλης κλίμακας από διαφορετικές πλατφόρμες μέσω τεχνικών ομαλοποίησης, 4) την εξαγωγή γονιδιακών υπογραφών σημαντικών βιοδεικτών που χαρακτηρίζουν τον εξεταζόμενο φαινότυπο, 5) την ανάλυση διαφορικής έκφρασης και την λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού σε λίστες γονιδίων, 6) τον χαρακτηρισμό των ασθενών μιας κοόρτης με βάση το πρότυπο έκφρασης της γονιδιακής υπογραφής αλλά και την 7) οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων με μια σειρά εκλεπτυσμένων μεθόδων απεικόνισης που περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων τους χάρτες θερμικής έντασης με την ιεραρχική ομαδοποίηση ασθενών και γενετικών οντοτήτων, τα διαγράμματα ανάλυσης κύριων συνιστωσών, τις καμπύλες ολικής επιβίωσης, τα διαγράμματα oncoplot, τα διαγράμματα Volcano και τις αναπαραστάσεις δικτύων γονιδιακών αλληλεπιδράσεων.

Λέξεις-Κλειδιά

Ενδοπλασματικό Δίκτυο (Ε.Δ.), UPR, Καρκίνος, IRE1, XBP1, RIDD, Πολύμορφο Γλοιοβλάστωμα (GBM), TCGA, μοτίβα, δευτεροταγή RNA δομή, miRNAs, IRE1sign38, R Shiny.