

Dizertační práce – ABSTRAKT

Jana Dobrovolná, rozená Vlasáková

Tumor supresorový protein promyelocytární leukemie (PML) a PML jaderná tělíska (multiproteinové jaderné struktury charakterizované zvýšenou koncentrací PML proteinu) jsou zapojena v řadě buněčných procesů jako je regulace buněčné proliferace, apoptóza, buněčná senescence a odpověď na různé formy buněčného stresu (poškození DNA, tepelný šok, virová infekce). Přes intenzivní výzkum zůstávají regulační mechanismy ovlivňující expresi PML proteinu a jeho přesná funkce nejasné. Chromozomální translokace mezi geny kódujícími PML protein a receptor retinové kyseliny alfa způsobuje stabilizaci represorových komplexů, které zahrnují deacetylázy histonů, na promotorech genů regulovaných retinovou kyselinou a vede k akutní promyelocytární leukemii (APL). Trichostatin A (TSA), jeden s inhibitorů histonových deacetyláz, byl úspěšně použit k opětovné aktivaci exprese genu stimulovaných retinovou kyselinou v APL buňkách.

V prezentované dizertační práci jsme se zaměřili na regulaci exprese PML proteinu v odpovědi na interferonovou signalizaci a popsali jsme interferenci inhibitorů histonových deacetyláz (HDACs) s touto dráhou. Ukázali jsme, že interferonem alfa indukované zvýšení hladin PML na úrovni mRNA a proteinu a následné zvýšení počtu jaderných tělísek PML je potlačeno současným působením HDACs nezávisle na buněčném typu. HDACs však neovlivňují bazální, interferonem alfa neindukovanou, expresi PML genu. Klasická signální dráha Jak-STAT, která zprostředkovává přenos signálu vyvolaného interferonem alfa, nebyla HDACs ovlivněna a zdá se, že HDACs působí v některém z následných kroků po navázání Stat1-Stat2-IRF9 komplexu na promotor PML genu. Navíc, jsme ukázali stejný inhibiční efekt mají HDACs i na další interferonem indukované geny: Sp100 (protein, který se akumuluje v jaderných tělískách PML) a IRF1. V souladu s nedávno publikovanými pracemi, jsme potvrdili hypotézu, že deacetylační krok je nezbytný pro plnou transkripční aktivaci mnoha, ne-li všech, interferonem indukovaných genů a že HDACs tento krok blokují. S přihlédnutím na nezastupitelnou roli interferonové signalizace při anti-virové obraně a imunitní odpovědi buňky, mají získaná data klinický význam neboť řada z testovaných inhibitorů histonových deacetyláz je zařazena v klinických testech jako proti-nádorová léčiva a jejich interference s interferonovou signalizací může vést k nežádoucím vedlejším účinkům.

V druhé části práce jsme sledovali změny v expresi PML genu s ohledem na úroveň buněčné diferenciaci, proliferativní věk a ve stavu buněčné senescence, která slouží jako proti-rakovinná bariera. Ukázali jsme, že lidské mezenchymové kmenové buňky (proliferující, konfultentní, nebo terminálně diferencované) exprimují PML protein, formují jaderná tělíska PML a odpovídají na interferon alfa dramatickým zvýšením hladin PML na úrovni mRNA a proteinu jakožto i mírným nárůstem počtu jaderných tělísek PML. Dále jsme ukázali, že počet jaderných tělísek PML je v těchto buňkách závislý na replikativním věku kultury. V normálních diploidních buňkách, nikoli však v rychle se dělících rakovinných buňkách, byla nově popsána PML protein-obsahující jaderná struktura asociována s jadérky. Pokud byl však v rakovinných buňkách chemicky indukován stav buněčné senescence, počet PML jaderných tělísek se dramaticky zvýšil a obnovila se i jeho interakce s jadérky. Nastínili jsme hypotézu, že interakce PML proteinu s jadérky může přispívat k jeho tumor supresorové aktivitě. Další výsledky prokázaly, že zvýšená exprese PML v senescentních buňkách je zprostředkována pomocí aktivované JAK/STAT signální dráhy, která vedle PML stimuluje i expresi řady interferonem stimulovaných genů (STAT1, IRF1, IRF7, Mx1, ISG15, 2',5'-oligoadenylát syntetáza 1), které v auto-/para-kriní smyčce neustále aktivují JAK/STAT dráhu a přispívají k navození a udržení senescentního stavu buněk během předčasného stárnutí a při chemicky indukované senescenci.

V souhrnu tato práce přispěla k porozumění mechanismů regulujících expresi PML genu v normálních a senescentních buňkách.