

Abstrakt

Člen proteinové rodiny faktorů příbuzných s TNF - transmembránový ligand TRAIL (*tumour necrosis factor-related apoptosis inducing ligand*) - přitahuje pozornost díky své schopnosti specificky a efektivně vyvolávat apoptotickou smrt u různých typů rakovinných buněk. Přesto se často setkáváme se sekundární rezistencí, kterou rakovinné buňky vyvíjejí k působení ligandu TRAIL, přičemž molekulární mechanismy související s tímto jevem nejsou doposud uspokojivě objasněny.

V první publikaci jsme se zaměřili na analýzu role endozomální acidifikace v proximálních signalizačních drahách ligandu TRAIL. Pomocí specifických inhibitorů bafilomycinu A1 (Baf A1) a konkanamycinu A (CCA) jsme u několika vnímavých kolorektálních buněčných linií zablokovali vakuolární ATPázu, která zodpovídá za vnitřní okyselování endocytických váčků a lyzozómů. Zjistili jsme, že citlivost takto ošetřených buněk k cytotoxickému působení ligandu TRAIL je významně a reprodukovatelně potlačena. Buňky vykazovaly minimální štěpení prokaspázy-8 a výrazně zpomalena (i když pouze dočasně) byla i agregace receptorových komplexů a jejich pohyb po buňce v klatrinem obalených váčcích. Povrchová exprese receptorů TRAIL-R1/DR4 a TRAIL-R2/DR5, jejich internalizace po navázání ligandu TRAIL i aktivace antiapoptotických NF- κ B a MAP kinázových signalizačních drah však zůstaly nezměněny. Ověřili jsme, že na supresivní efekt acidifikačních inhibitorů nemá vliv mitochondriální amplifikační smyčka, lyzozomální permeabilizace a ani aktivace kyselé sfingomyelinázy. Naše práce tímto dokazuje, že funkce vakuolární ATPázy může představovat regulační uzel, který spolurozhoduje o výsledné buněčné odpovědi na působení ligandu TRAIL.

Ve druhé práci jsme studovali regulaci exprese receptoru TRAIL-R1/DR4 na plazmatické membráně a popisujeme charakterizaci jeho nového interagujícího proteinu ARAP1, který se účastní transportu TRAIL-R1/DR4 na buněčný povrch. V poslední studii jsme se věnovali testování tří různých cytostatik (TRAIL, 17-AAG, PLX4720) na rezistentních buňkách střevního karcinomu a na objasnění molekulárních mechanismů jejich působení na základě genetického pozadí jednotlivých buněčných linií.

Věříme, že představované výsledky mohou přispět k objasnění vzniků rezistencí rakovinných buněk k indukované apoptóze a k racionálnějšímu využívání ligandu TRAIL v lidské medicíně.