

Dr.ssa Daniela Annibali, Assegnista di Ricerca presso il Laboratorio del Dr. Sergio Nasi
(Bando IBPM n. 03/2008)

Studio dell'inibizione di Myc in un modello murino di glioblastoma multifforme

Nel laboratorio del Dr. Sergio Nasi è stato precedentemente ingegnerizzato un dominio bHLHZip mutato, chiamato Omomyc, che agisce da dominante negativo specifico dei fattori di trascrizione della famiglia Myc. Precedenti collaborazioni con il laboratorio del Dr. Gerard Evan, presso l'Università della California di San Francisco, hanno dimostrato che Omomyc è effettivamente un potente inibitore dell'attività di Myc *in vivo* e che l'inibizione di Myc ha una valenza terapeutica anche in modelli murini di neoplasie non indotte direttamente da mutazioni a carico di Myc stesso. Inoltre, mediante Omomyc è stato possibile dimostrare che l'inibizione di Myc è ben tollerata dall'organismo e che gli effetti collaterali sono reversibili.

Uno dei principali interessi del nostro laboratorio è volto ad investigare a livello molecolare il meccanismo d'azione di Omomyc. E' stato precedentemente dimostrato che Omomyc inibisce l'attivazione trascrizionale mediata da Myc, mentre sembra potenziarne la repressione. Visto che Myc reprime i propri geni bersaglio interagendo con la proteina Miz1, ci siamo chiesti se Omomyc potesse a sua volta interagire con quest'ultima: mediante esperimenti di co-immunoprecipitazione e GST-pulldown abbiamo dimostrato che Omomyc è effettivamente in grado di legare Miz1. Questo dato apre la strada ad esperimenti che chiarificheranno ulteriormente il meccanismo d'azione di Omomyc.

Dal momento che Myc sembra svolgere un ruolo cruciale nei processi iniziali di formazione del glioblastoma, il più aggressivo tumore del sistema nervoso nell'adulto, il nostro laboratorio era interessato a verificare gli effetti di Omomyc su un modello murino di glioblastoma basato sull'espressione dell'oncogene V12 Ha-Ras guidata dal promotore della Glial Fibrillar Acidic Protein (GFAP), già presente nel laboratorio del Dr. Evan.

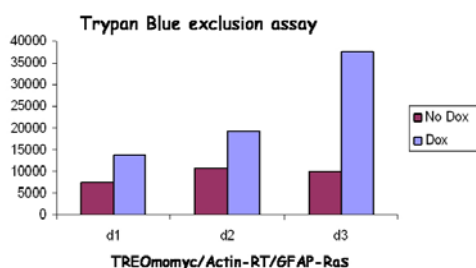
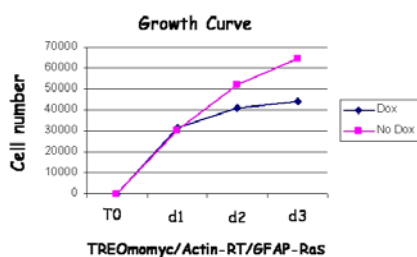
A questo scopo ho trascorso tre mesi (16 Settembre-13 Dicembre) ospite nel laboratorio del Dr. Evan.

E' noto che anche nella vita adulta persistono nel cervello di mammifero zone deputate alla produzione di nuove cellule neurali; questi neuroprogenitori, caratterizzati da capacità di autorinnovamento e proliferazione, sono spesso indicati come le cellule substrato della trasformazione neoplastica nei glioblastomi.

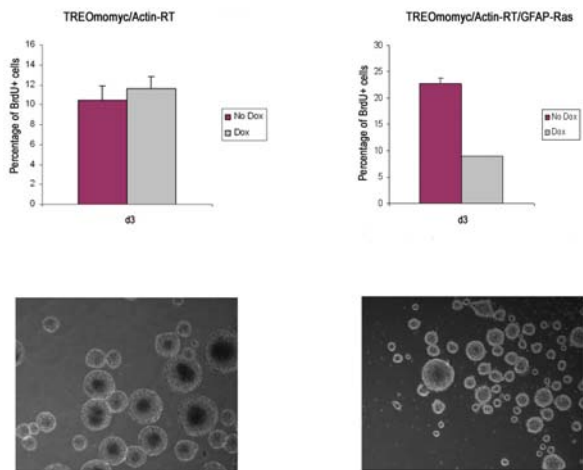
Per questo motivo, durante la mia permanenza a San Francisco, ho isolato e messo in coltura cellule neuroprogenitrici a partire da cervelli di topi adulti TREOmomyc/Actin-RT/Ha-Ras (trasformati da Ha-Ras) e TREOmomyc/Actin-RT (normali); in entrambi i casi è possibile ottenere l'induzione dell'espressione di Omomyc mediante trattamento con Doxyciclina.

Cresciuti in terreno privo di siero, ma arricchito con i fattori di crescita EGF e FGF, questi neuroprogenitori isolati dalla SVZ crescono in coltura come neurosfere.

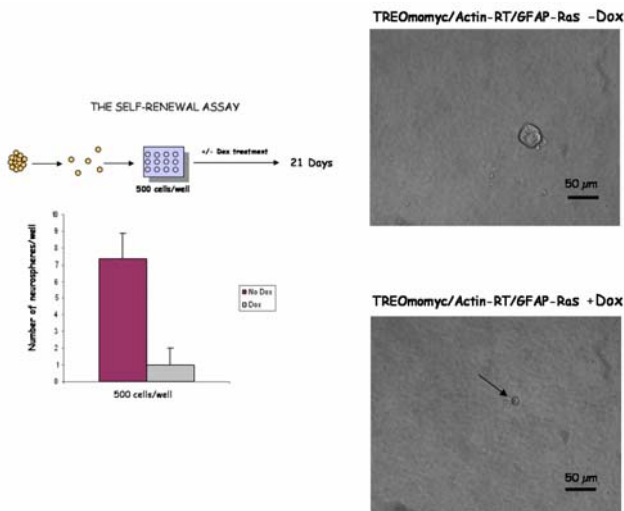
Tre giorni di espressione di Omomyc nei neuroprogenitori trasformati da Ras causano una drastica riduzione nel tasso di crescita ed un aumento del tasso apoptotico.



Il saggio di incorporazione di BrdU ha evidenziato che l'espressione di Omomyc nei neuroprogenitori trasformati da Ras riduce la percentuale di cellule in fase S dal 25% all'8%, valore misurato per i neuroprogenitori isolati da topi di controllo. Inoltre Omomyc non ha effetto sul tasso proliferativi di questi ultimi.



Dal momento che Myc svolge un ruolo chiave nell’auto-rinnovamento dei compartimenti staminali e sembra essere necessario per il mantenimento delle cellule tumorali con caratteristiche “staminali”, abbiamo verificato la capacità di Omomyc di interferire con questa attività svolta da Myc. Effettivamente Omomyc blocca la capacità di auto-rinnovamento di neuroprogenitori trasformati da Ras.



In conclusione, questi dati suggeriscono che l’inibizione di Myc mediante Omomyc potrebbe essere una strategia efficace per bersagliare specificamente il compartimento staminale del glioblastoma ed avere una valenza terapeutica per la ricerca di una cura per questo tipo di tumore.

Per approvazione

Dr.ssa Daniela Annibali

Dr. Sergio Nasi

