

BRAF AND AUTOPHAGY INHIBITORS CAN SYNERGISTICALLY ACT IN NOVEL ANTI-CANCER PROTOCOLS

Goulielmaki M., Koustas E., Raftopoulou S., Kosmidou V., Pappou E. and Pintzas A.

Institute of Biology, Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation

48 Vas Constantinou Avenue, 116 35 Athens, Greece

AIMS

Autophagy plays an important role in cancer – both in protecting against tumour progression and by potentially contributing to cancer growth in promoting survival of tumour cells. The differential impact of autophagy in RAS induced transformation and apoptosis remains to be further analysed. Resistance of colorectal neoplasms has been observed for anti-cancer agents against components of RAF/MEK and PI3K pathways. Moreover, the BRAFV600E mutation has been shown to induce the expression of key autophagic markers. In the present study, the role of KRAS/BRAF and PIK3CA/mTOR oncogenic pathways on the autophagic cell properties has been analysed. Moreover, the effects of BRAF and MEK pathway inhibitors on autophagy and cell death have been examined and proof for their novel efficient antitumour therapeutic synergistic protocols with autophagy inhibitors will be presented.

METHODS

Human colorectal cancer (CRC) cell lines were treated for 3D culture, Immunofluorescence Confocal Microscopy, Cell Viability Assay and FACS Analysis

RESULTS

The MEK/ERK signalling pathway positively regulates autophagic markers. Induction of autophagy requires simultaneous inhibition of AKT and MTOR. Autophagy can be detected in a number of cells undergoing apoptosis. Inhibition of autophagy by 3-MA can sensitize resistant BRAFV600E bearing colorectal cancer cell lines to the specific BRAFV600E inhibitor PLX4720 towards apoptotic cell death synergistically.

CONCLUSIONS

BRAFV600E induces high expression of autophagic markers. BRAFV600E regulated MEK/ERK signaling provides colon cancer cells with autophagic properties. The MEK/ERK and PI3k/MTOR signalling pathways can differentially regulate the autophagic process. Inhibition of autophagy by selected autophagy inhibitor can synergize with BRAF inhibitor PLX4720 to sensitise BRAFV600E colon cells to apoptosis.

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥ BRAF ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΥΤΟΦΑΓΙΑΣ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΔΡΑΣΟΥΝ ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΑ ΣΕ ΝΕΑ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ

Γουλιελμάκη Μ., Κούστας Ε., Ραυτοπούλου Σ., Κοσμίδου Β., Πάππου Ε. Και Πίντζας Α.

Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

Λεωφ. Βασ. Κωνσταντίνου 48, Αθήνα, Ελλάδα

ΣΤΟΧΟΙ

Η αυτοφαγία παίζει σημαντικό ρόλο στον καρκίνο - τόσο στην προστασία από την εξέλιξη του όγκου όσο και στην πιθανή συμβολή στην ανάπτυξη του μέσω προαγωγής της επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων. Η διαφοροποιημένη επίδραση της αυτοφαγίας στον μετασχηματισμό και την προκαλούμενη από το RAS απόπτωση χρειάζεται περαιτέρω ανάλυση. Έχει παρατηρηθεί ανοχή των νεοπλασιών του παχέος εντέρου στους αντικαρκινικούς παράγοντες έναντι παραγόντων των οδών RAF / MEK και PI3K. Επιπλέον, η μεταλλαγμένη ογκοπρωτεΐνη BRAFV600E έχει αποδειχθεί ότι επάγει την έκφραση αυτοφαγικών δεικτών. Στην παρούσα μελέτη, αναλύθηκε ο ρόλος των μονοπατιών μεταγωγής σημάτων KRAS / BRAF και PIK3CA/mTOR στις ιδιότητες των αυτοφαγικών κυττάρων. Επιπλέον, εξετάστηκαν οι επιδράσεις των αναστολέων των BRAF και MEK στην αυτοφαγία και τον κυτταρικό θάνατο και παρουσιάζονται νέα αποτελεσματικά συνδυαστικά αντινεοπλασματικά πρωτόκολλα με αναστολείς BRAF και αυτοφαγίας.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Κυτταρικές σειρές καρκίνου παχέος εντέρου (ΚΠΕ) του ανθρώπου υποβλήθηκαν σε Τρισδιάστατη Καλλιέργεια, Συνεστιακή Μικροσκοπία Ανοσοφθορισμού, Δοκιμασία Βιωσιμότητας και Ανάλυση FACS.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το μονοπάτι MEK / ERK ρυθμίζει θετικά τους αυτοφαγικούς δείκτες. Η επαγωγή της αυτοφαγίας απαιτεί ταυτόχρονη αναστολή των AKT και MTOR. Κατεργασία των κυττάρων με επιλεγμένους αναστολείς της αυτοφαγίας μπορεί να ευαισθητοποιήσει συνεργιστικά ανθεκτικές BRAFV600E κυτταρικές σειρές στον BRAF αναστολέα PLX4720 προς αποπτωτικό θάνατο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ογκοπρωτεΐνη BRAFV600E προκαλεί υψηλή έκφραση αυτοφαγικών δεικτών. Η ρυθμισμένη μέσω BRAFV600E σηματοδότηση MEK / ERK προκαλεί στα κύτταρα ΚΠΕ αυτοφαγικές ιδιότητες. Τα μονοπάτια MEK / ERK (θετικά) και PI3K / MTOR (αρνητικά) ρυθμίζουν διαφορετικά την αυτοφαγική διαδικασία.

Η αναστολή της αυτοφαγίας με επιλεγμένο αναστολέα της, ευαισθητοποιεί τις κυτταρικές σειρές που φέρουν BRAFV600E μετάλλαξη στον BRAF αναστολέα PLX4720 και την απόπτωση.