



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di laurea Triennale in Scienze Biologiche

TEX19 aumenta i livelli di CDK4 e promuove il cancro al seno interrompendo l'ubiquitinazione di CDK4 mediata da SKP2

TEX19 increases the levels of CDK4 and promotes breast cancer by disrupting SKP2-mediated CDK4 ubiquitination

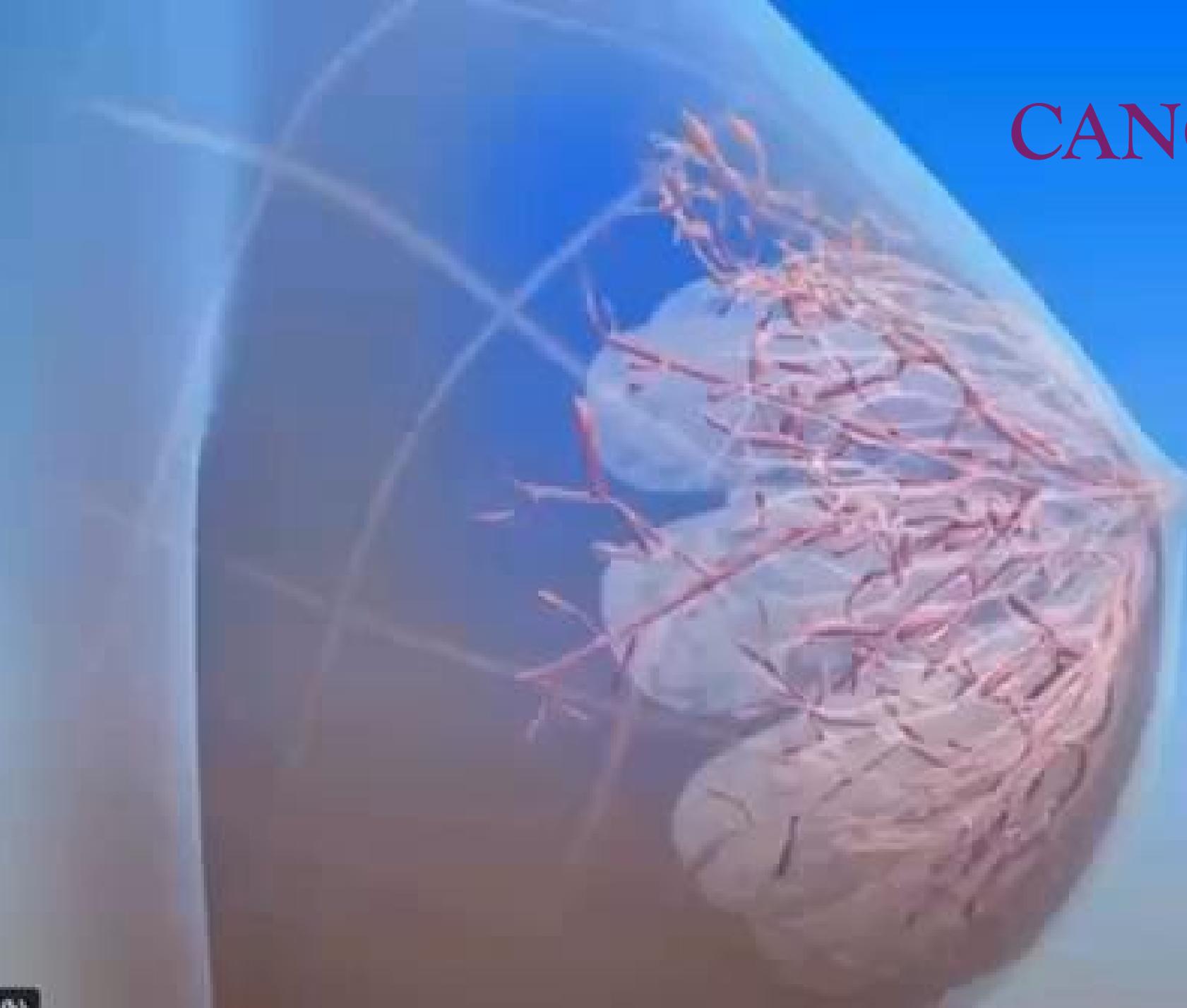
Sessione AUTUNNALE
Anno Accademico 2023/2024

Tesi di Laurea di:
MEDEA ALESSIA

Docente Referente
Chiar.mo Prof.:
GIOACCHINI GIORGIA

CANCRO AL SENO

Il tumore al seno è una neoplasia maligna che scaturisce dalla proliferazione incontrollata di alcune cellule della ghiandola mammaria che si trasformano in cellule maligne.

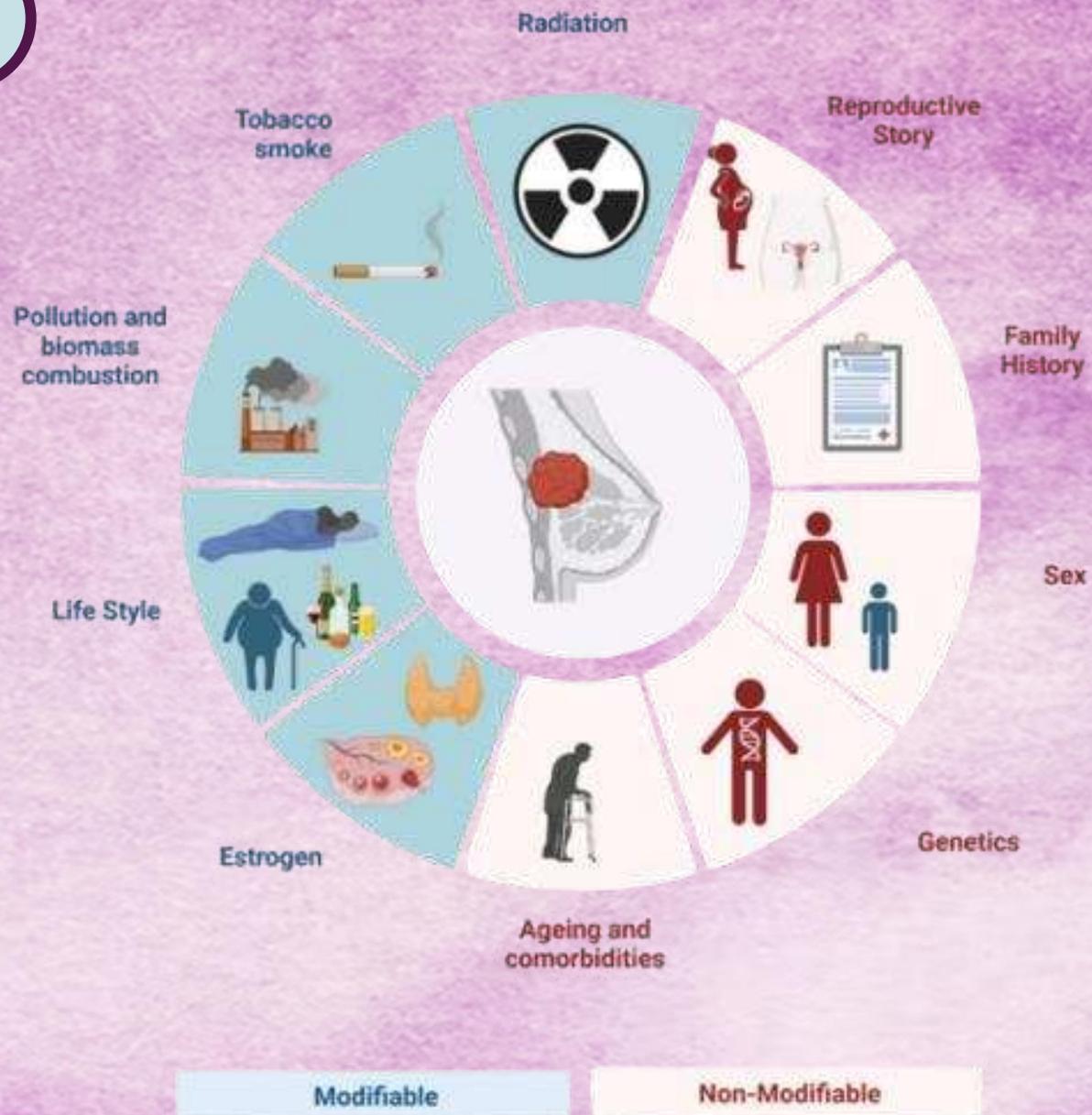


FATTORI DI RISCHIO

In generale è possibile ridurre il proprio rischio di ammalarsi aderendo ai programmi nazionali di screening e assumendo comportamenti salutari.



Risk factors for Breast Cancer



CURA E TRATTAMENTI

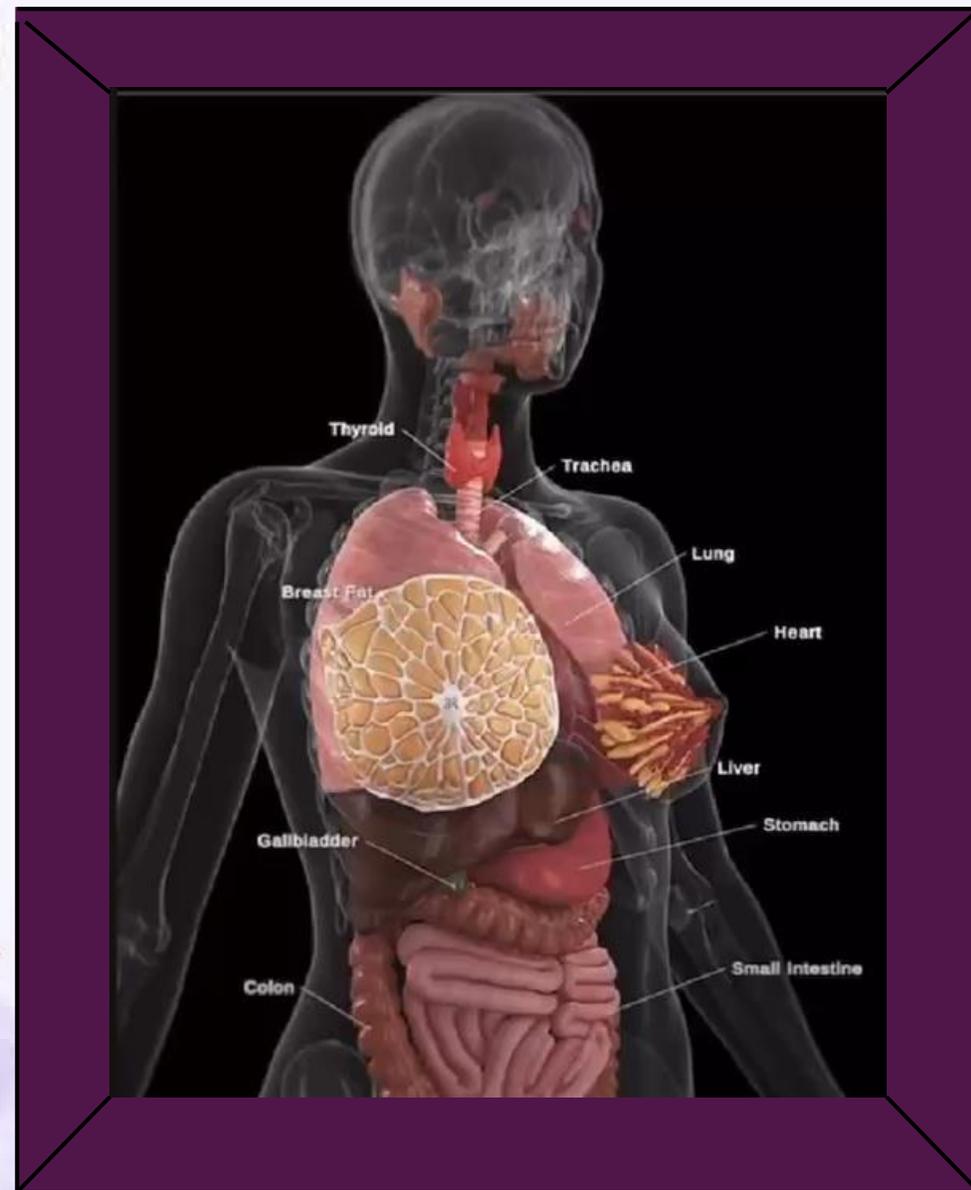
Le tecniche ad oggi utilizzate prevedono :

CHIRURGIA

RADIOTERAPIA

CHEMIOTERAPIA

TERAPIE A BERSAGLIO
MOLECOLARE



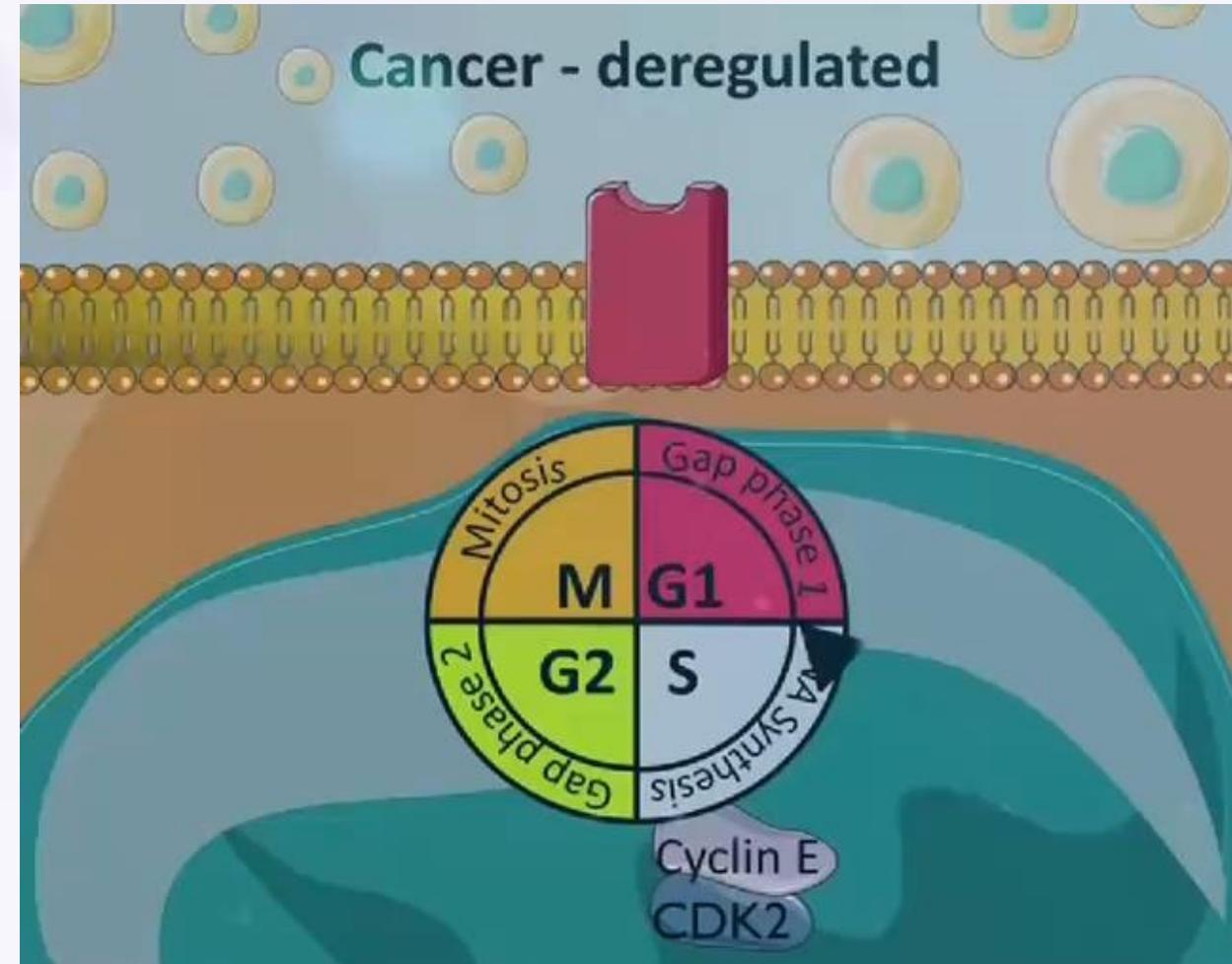
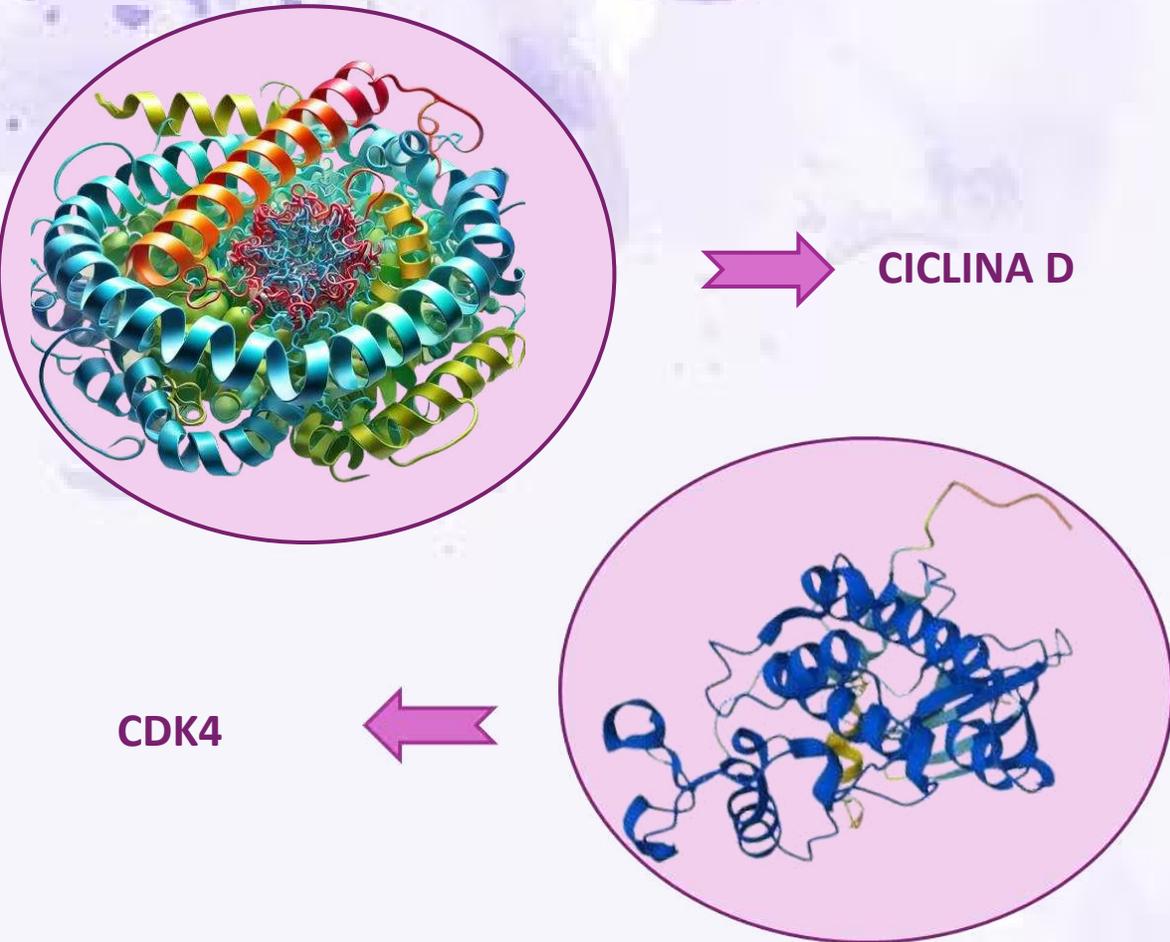


TESTIS EXPRESSED 19

TEX19 è un gene specifico delle cellule staminali umane, identificato come **Antigene Cancro-Testicolo (CTA)**, emerso come un potenziale target bersaglio per farmaci terapeutici.

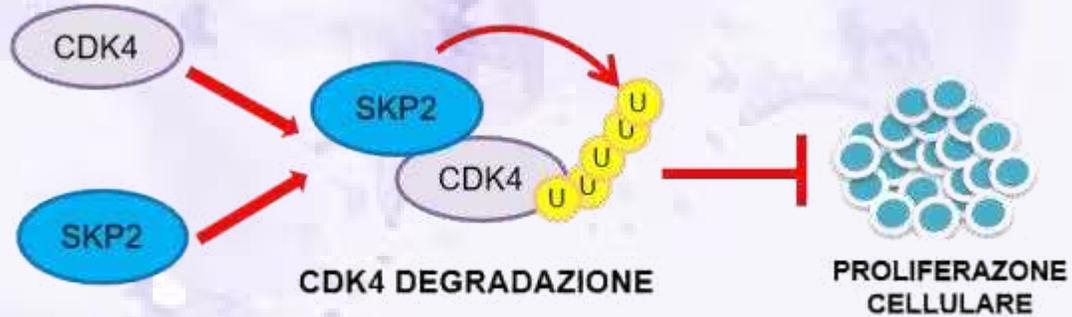
CICLO CELLULARE

Diversi sottotipi di cancro al seno presentano diverse alterazioni molecolari e dipendenze dal ciclo cellulare e dai suoi punti di controllo.

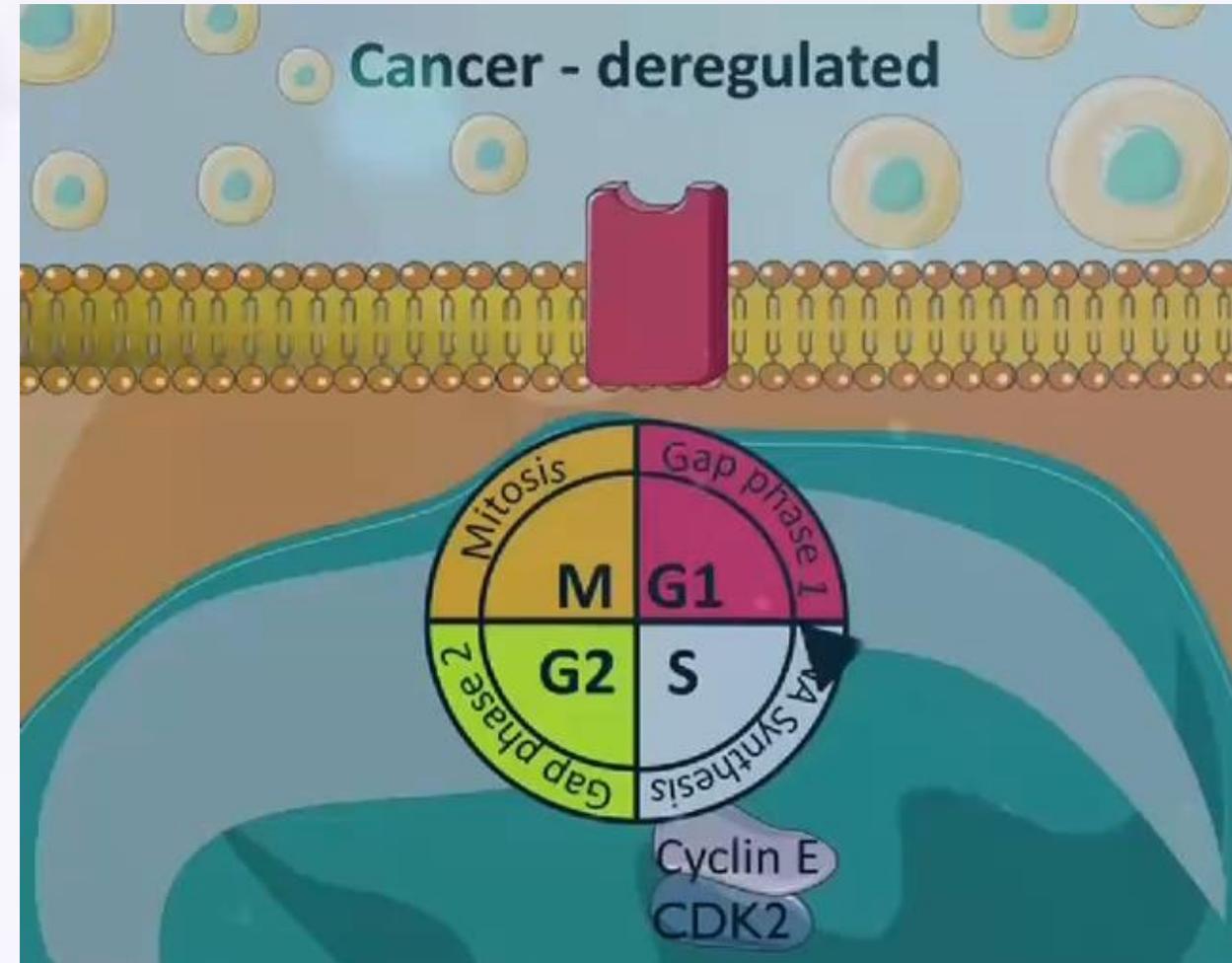


CICLO CELLULARE

Quando il gene **CDK4** è amplificato, cioè presente in più copie del normale, la sua attività può essere eccessiva, portando ad una crescita e divisione cellulare incontrollata.

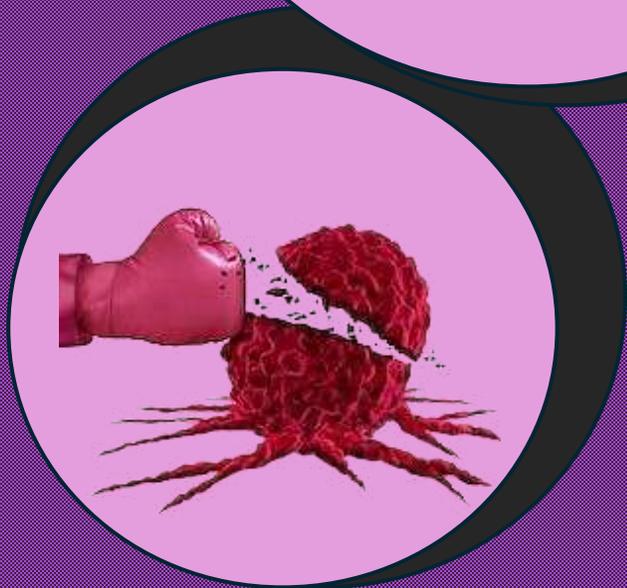
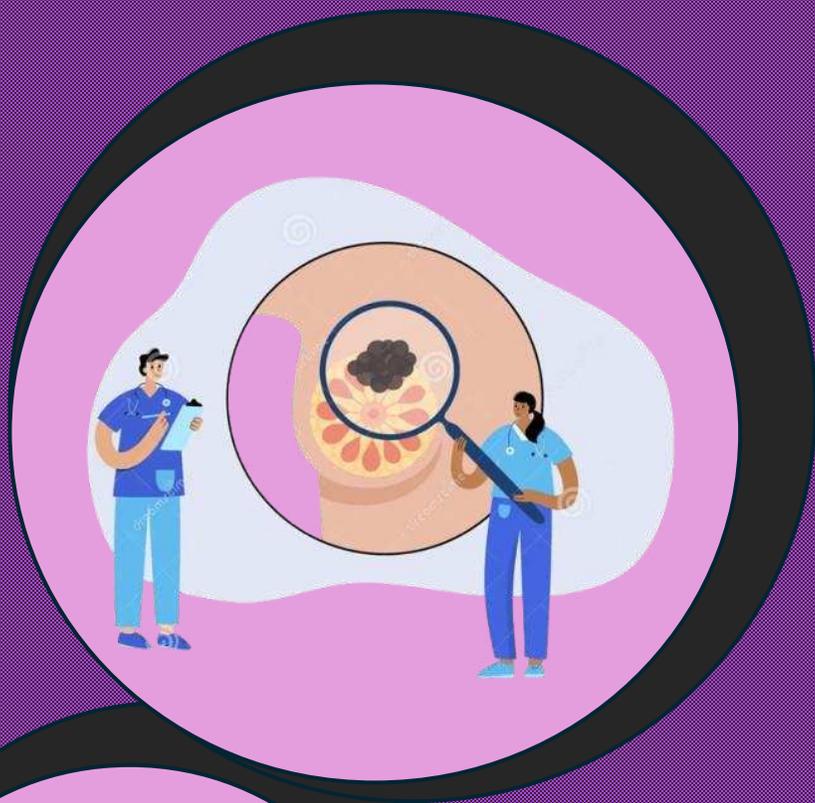


SKP2: S-Phase Kinase Associated Protein 2
CDK4: Cyclin-dependent kinase 4
U: Ubiquitinazione



OBIETTIVO

Il presente studio ha l'obiettivo di comprendere la funzione di **TEX 19** e la sua interazione molecolare con la ciclina **CDK4**, convalidando ulteriormente il ruolo di **TEX19** nella progressione del cancro al seno ed esplorare possibili meccanismi molecolari nell'ottica di fornire un target per la **diagnosi** e trattamento della patologia, in modo da migliorare la sopravvivenza delle pazienti.



METODI

ANALISI BIOINFORMATICHE

TCGA database:

- 1097 campioni di cancro al seno
- 113 campioni normali

TCGA



ANALISI CELLULARI

Linee cellulari mammarie:

- Tumoriali: MDA-MB-231, MCF-7, MDA-MB-453, BT549
- Non tumorali: MCF-10 A

SAGGI:

- Colorazione d'immunoistochimica
- Citometria a flusso
- Quantitative PCR
- Western blotting
- saggio di formazione di colonie
- Saggio di conta cellulare
- Array per apoptosi
- Co-immunoprecipitazione



ANALISI SU MODELLI MURINI

Topi *BALB/c nudi* (femmine)

Gruppi:

- Controllo (10 topi)
- Sperimentale (10 topi)

Trattamento:

200 μ L di sospensione cellulare iniettata a livello sottocutaneo.

Analisi:

- Valutazione del **diametro** del cancro al seno con **calibro**.
- Valutazione del **peso** della massa tumorale prelevata

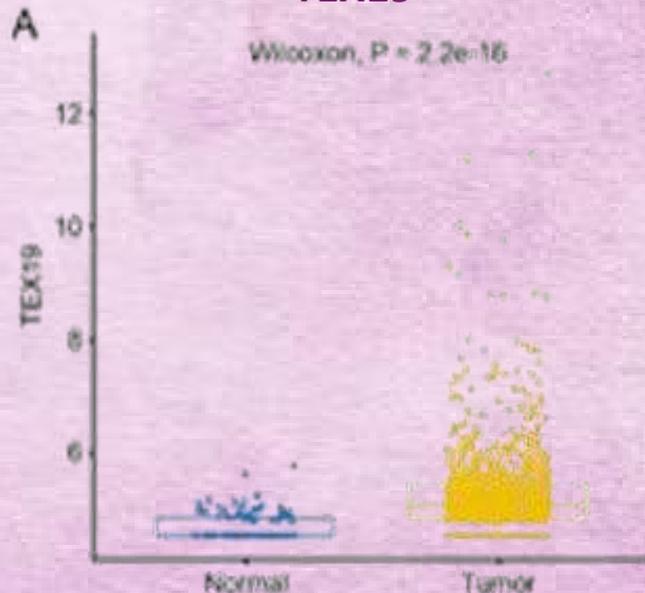


RISULTATI

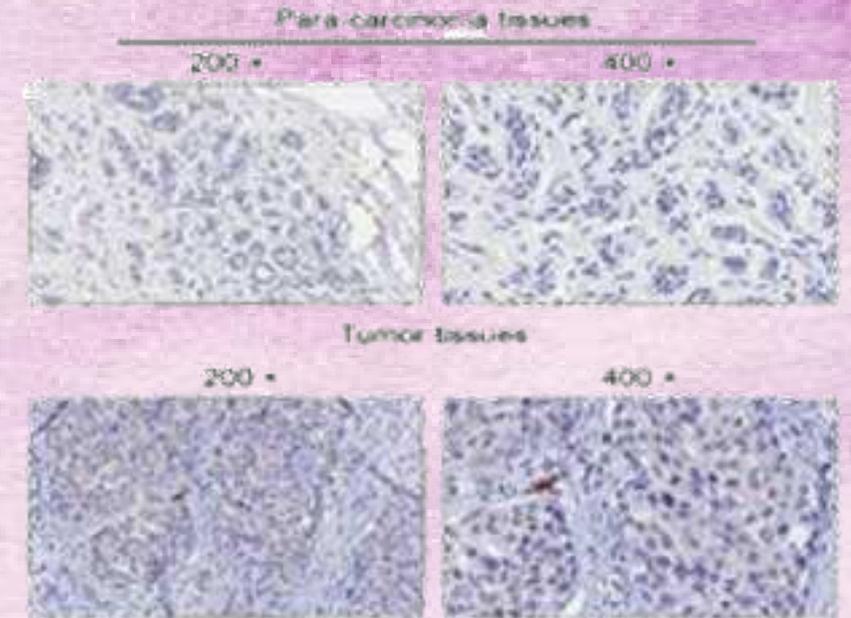
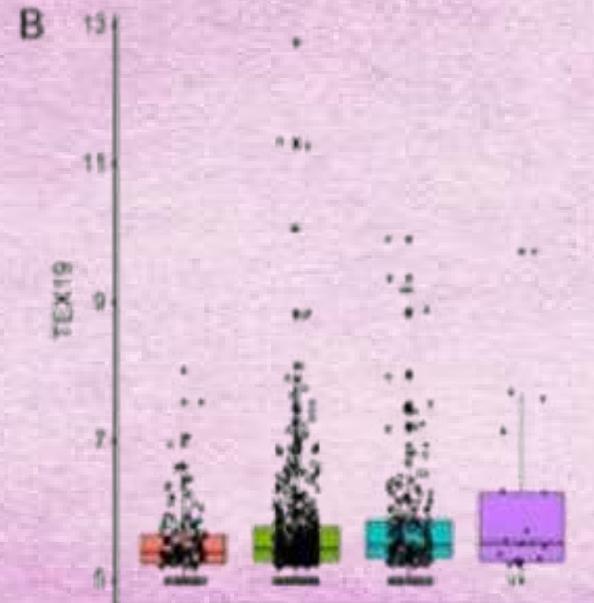
● Espressione di TEX19 nel cancro al seno

L'espressione di **TEX19** nei tessuti del cancro al seno era superiore a quella dei tessuti normali, ed era significativamente diverso nei tessuti tumorali di pazienti.

Confronto di espressione di TEX19



Espressione di TEX19 nei diversi stadi del cancro



Colorazione immunoistochimica del chip tissutale

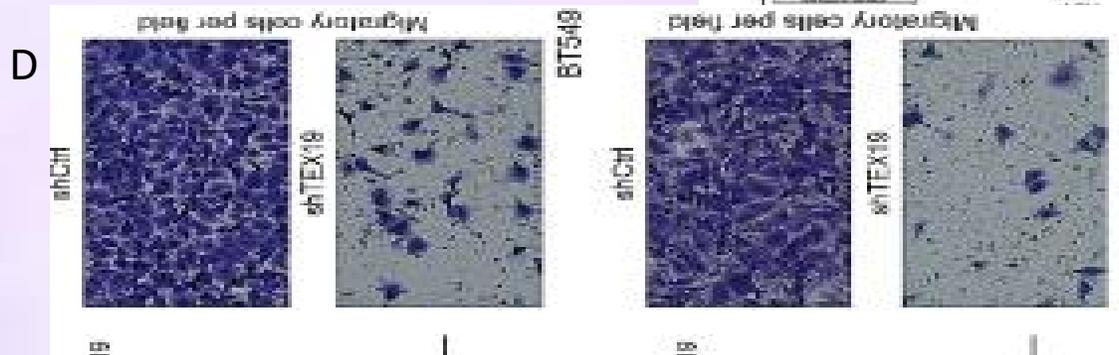
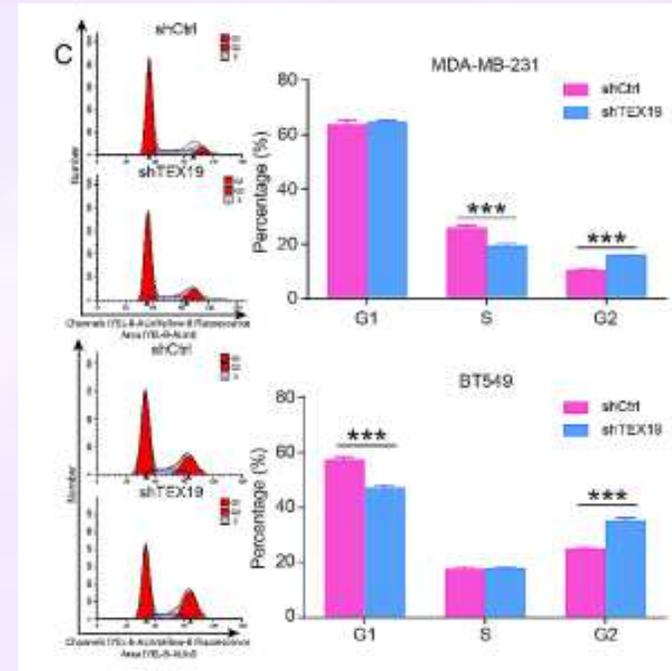
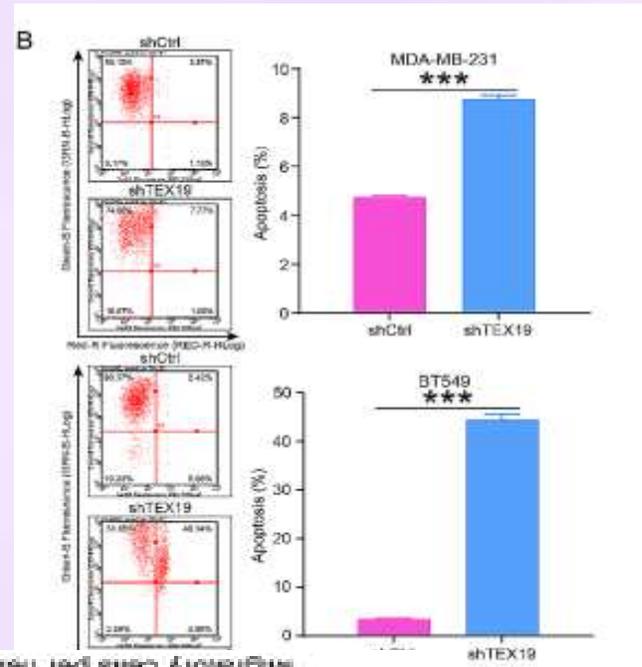
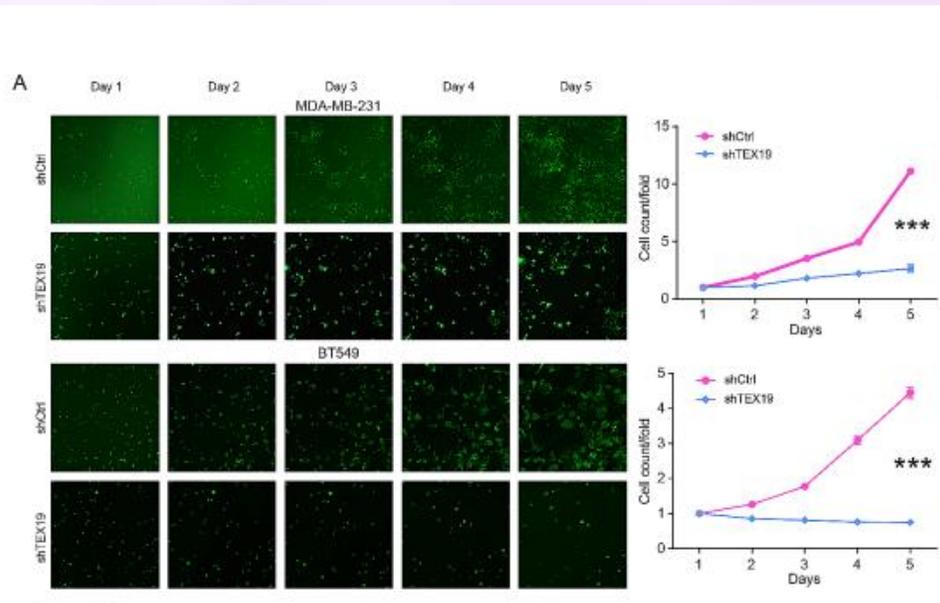
Effetto del silenziamento di TEX19 sulla proliferazione di linee cellulari mammarie tumorali

- Inibito la proliferazione delle cellule di cancro al seno

Il silenziamento ha :

- Aumentato l'apoptosi

- Incrementato il numero di cellulare in fase G2



- Limitato la migrazione cellulare

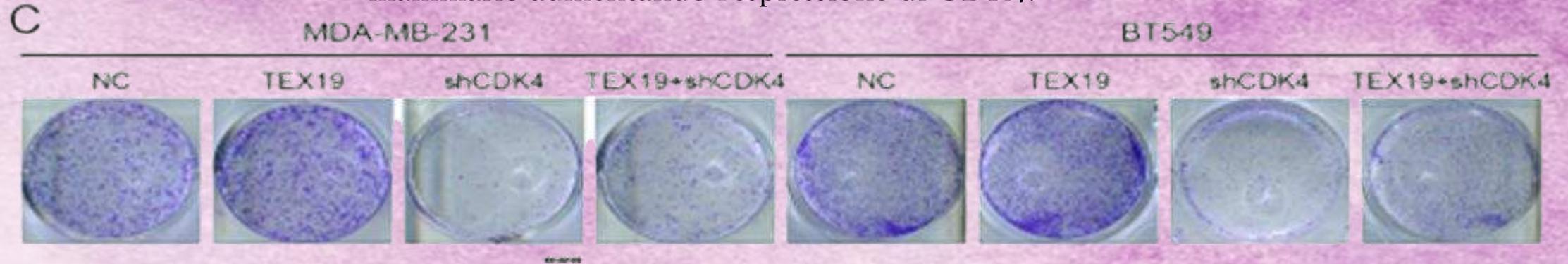
Effetto del silenziamento di TEX19 sulla proliferazione di linee cellulari mammarie tumorali

Il silenziamento di TEX19 ha soppresso la crescita tumorale anche *in vivo*, e l'impiego di imaging *in vivo* ci ha permesso di osservare l'intensità della fluorescenza dei tumori nei topi nudi.



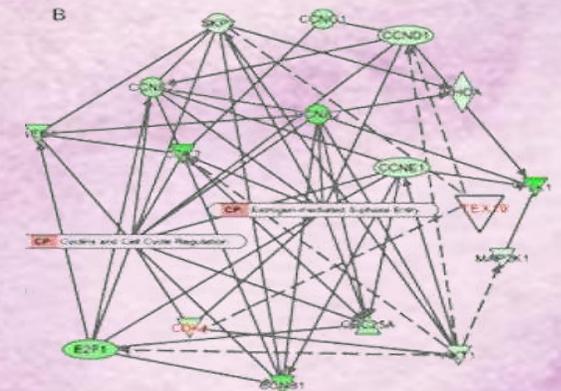
- **Progressione del cancro al seno in cellule TEX19 knockdown mediante la regolazione di CDK4**

Tutti questi risultati hanno rivelato che **TEX19** promuove la progressione del carcinoma mammario aumentando l'espressione di CDK4.



- **Ruolo di TEX19 sulla regolazione di CDK4 tramite l'ubiquitinazione SKP2-mediata**

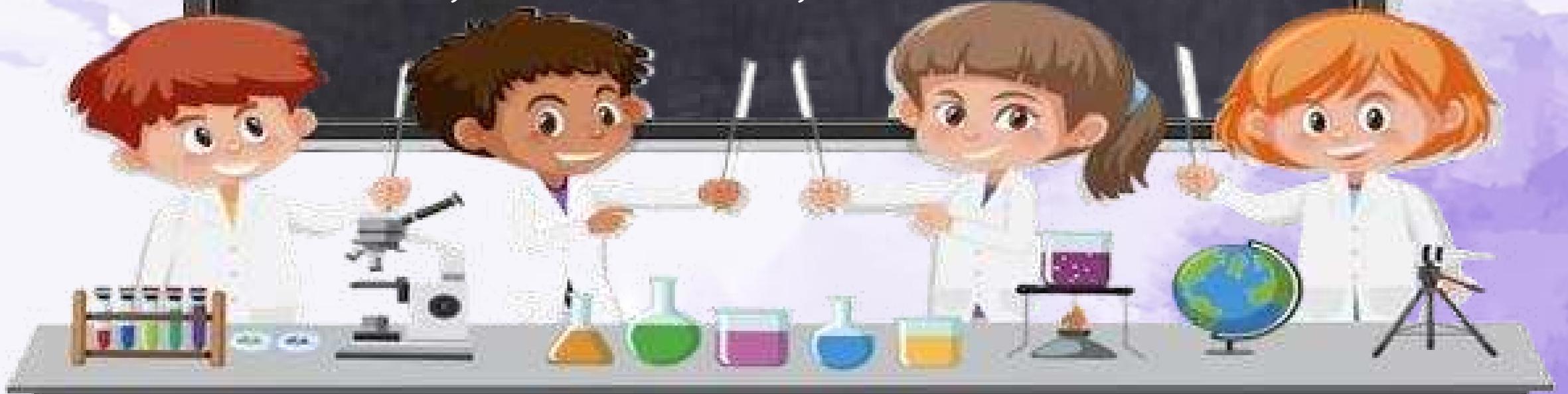
Il test Co-IP ha mostrato un'interazione tra le proteine **TEX19** e **SKP2**. I risultati quindi hanno dimostrato che **TEX19** ha inibito l'ubiquitinazione di **CDK4** mediata da **SKP2** e quindi ha aumentato i livelli della proteina **CDK4**. **TEX19** ha quindi promosso la progressione del cancro al seno regolando **CDK4**.



CONCLUSIONI

- ❖ L'aumento dell'espressione di TEX19 è associata allo sviluppo della neoplasia mammaria indagata con sistemi cellulari e in vivo con l'uso di topi
 - ❖ L'espressione di TEX19 è associata ai vari stadi della patologia
 - ❖ La sovraespressione del gene su linee cellulari è coinvolto nei meccanismi di repressione dell'apoptosi favorendo la proliferazione cellulare
 - ❖ Il gene è associato ad una sovraespressione di CDK4
- ❖ Il possibile meccanismo molecolare che coinvolge la sovraespressione della CDK4 è l'inibizione dell'ubiquitinazione mediata da SKP4

Tuttavia, il meccanismo specifico con cui TEX19 regola la proteina CDK4 non è ancora chiaro. TEX19 potrebbe essere un nuovo tipo di biomarcatore e bersaglio terapeutico della neoplasia, svolgendo un ruolo cruciale nel migliorare la sopravvivenza e la prognosi delle pazienti affetti da cancro al seno.



PROSPETTIVA FUTURA

La ricerca è ora focalizzata sull'individuazione di nuovi biomarcatori e terapie mirate per il trattamento del cancro, con un focus sul gene TEX19, che sta attirando l'interesse scientifico per il suo potenziale ruolo nella progressione tumorale.

Una delle problematiche è legata alla **recidiva** post-trattamento che può essere attribuita proprio alla capacità delle cellule tumorali **dormienti** di eludere gli effetti dei farmaci, sopravvivendo e portando alla recidiva.

Quindi è fondamentale che la ricerca compia significativi progressi, aprendo nuovi orizzonti nella cura di patologie come il **carcinoma** mammario, che colpisce in modo significativo le donne di tutto il mondo.



RIASSUNTO

A livello globale, il cancro al seno nelle donne è la quinta causa di morte per cancro. C'è un urgente bisogno di esplorare il meccanismo molecolare della proliferazione e delle metastasi del cancro al seno.

Metodo : L'analisi del database TCGA è stata utilizzata per analizzare l'espressione genica nel cancro al seno e nei campioni normali e l'associazione tra espressione genica e prognosi. La colorazione immunoistochimica, la qPCR e il western blotting sono stati utilizzati per rilevare l'espressione genica. I test di funzionalità cellulare sono stati condotti per studiare gli effetti di TEX19 e CDK4 con espressione anomala sulla proliferazione cellulare, migrazione, apoptosi, ciclo cellulare e formazione di colonie. Sono stati eseguiti metodi di analisi bioinformatica combinati con l'esperimento di tracciamento CHX e l'esperimento Co-IP per selezionare e verificare la molecola a valle e il meccanismo di regolazione di TEX19. Inoltre, è stato costruito un modello di tumorigenesi sottocutanea nei topi nudi.

Risultati : TEX19 era significativamente sovraregolato nel cancro al seno e il livello di TEX19 era correlato all'invasione e alla prognosi del tumore. Meccanicamente, TEX19 ha sovraregolato il livello della proteina CDK4, che dipendeva dall'ubiquitinazione .

Conclusione: TEX19 e CDK4 erano sovraregolati nel cancro al seno e TEX19 ha aumentato il livello della proteina CDK4

influenzando l'ubiquitinazione di CDK4 mediata da SKP2, promuovendo così la progressione del cancro al seno.

BIBLIOGRAFIA

- ❖ AIRC;2021; <https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/guida-ai-tumori/tumore-del-seno>.
- ❖ Huantao Liu, He Wang , Hongyu Zhang , Miaomiao Yu, Yu Tang; 2024; TEX19 increases the levels of CDK4 and promotes breast cancer by disrupting SKP2-mediated CDK4 ubiquitination; 24:207.
- ❖ IRCCS Ospedale San Raffaele;2020; <https://www.hsr.it/news/2020/ottobre/tumore-seno-prevenzione-primaria-secondaria>.
- ❖ Faisal A Alzahrani , Yousef Mohammed Rabaa Hawsawi , Hisham N Altayeb , Naif O Alsiwiehri , Othman R Alzahrani , Hanan E Alatwi , Osama M Al-Amer , Suliman Alomar , Lamjed Mansour;2021; In silico modeling of the interaction between TEX19 and LIRE1, and analysis of TEX19 gene missense SNPs; Volume: 9, Edizione: 7.
- ❖ Vicente Planells-Palop , Ali Hazazi , Julia Feichtinger, Jana Jezkova, Gerhard Thallinger, Naif O. Alsiwiehri , Mikhlid Almutairi, Lee Parry, Jane A. Wakeman, Ramsay J. McFarlane;2017; Human germ/stem cell-specific gene TEX19 influences cancer cell proliferation and cancer prognosis; 16:84.
- ❖ KL Thua, I Soria-Bretones, TW Mak,DW Cescon ;2018; Targeting the cell cycle in breast cancer: towards the next phase; vol17:15n
- ❖ Tianyang Feng , Ping Wang , Xiling Zhang;2024; Skp2: A critical molecule for ubiquitination and its role in cancer;
- ❖ Yuan Wang, Linlin Wang, Yaojun Wei, Chuang Wei, Haohang Yang, Qiurui Chen, Rongxin Zhang, Han Shen;2024; Advances in the molecular regulation mechanism of tumor dormancy and its therapeutic strategy.