



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*

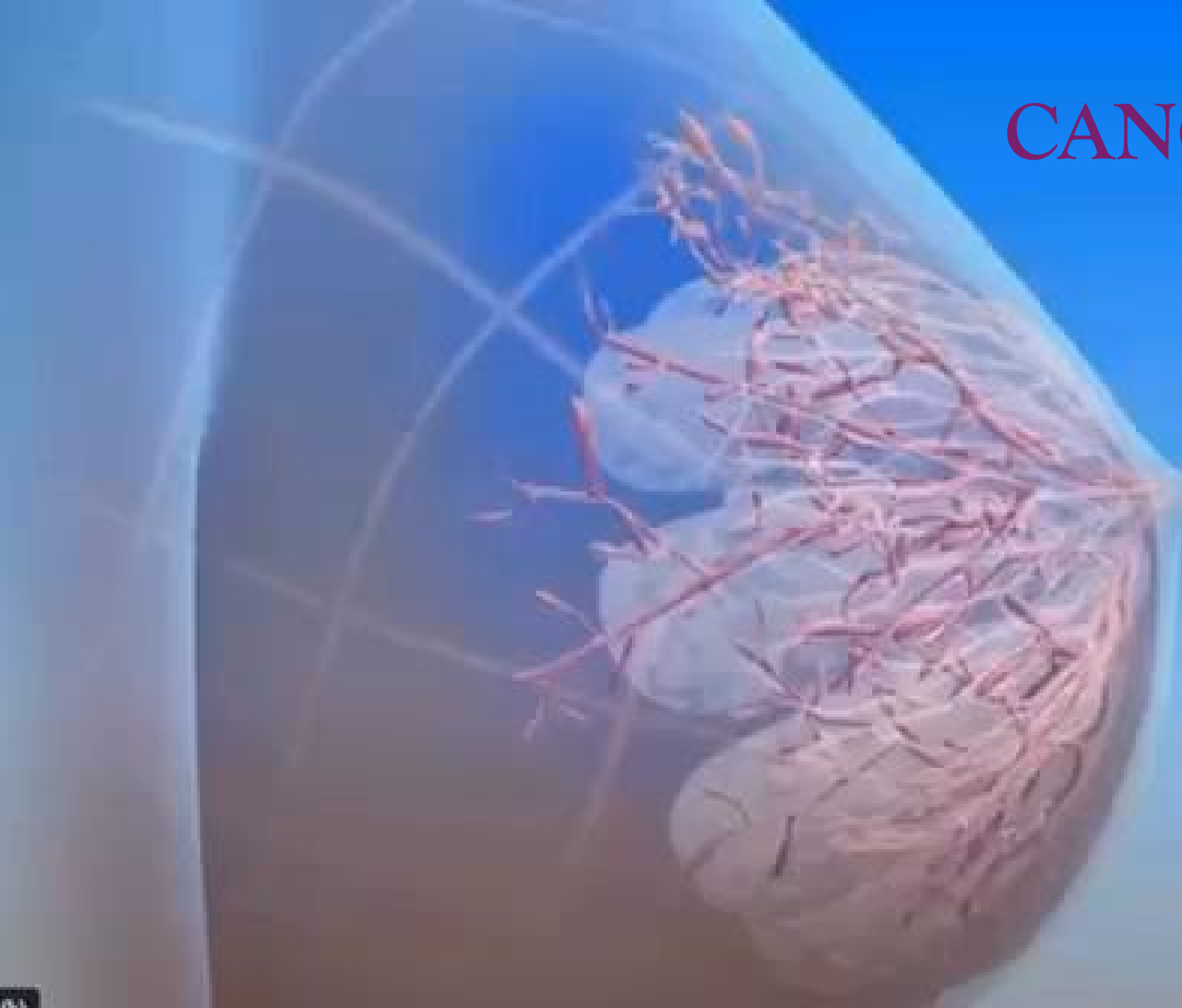
Sessione AUTUNNALE  
Anno Accademico 2023/2024

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**.

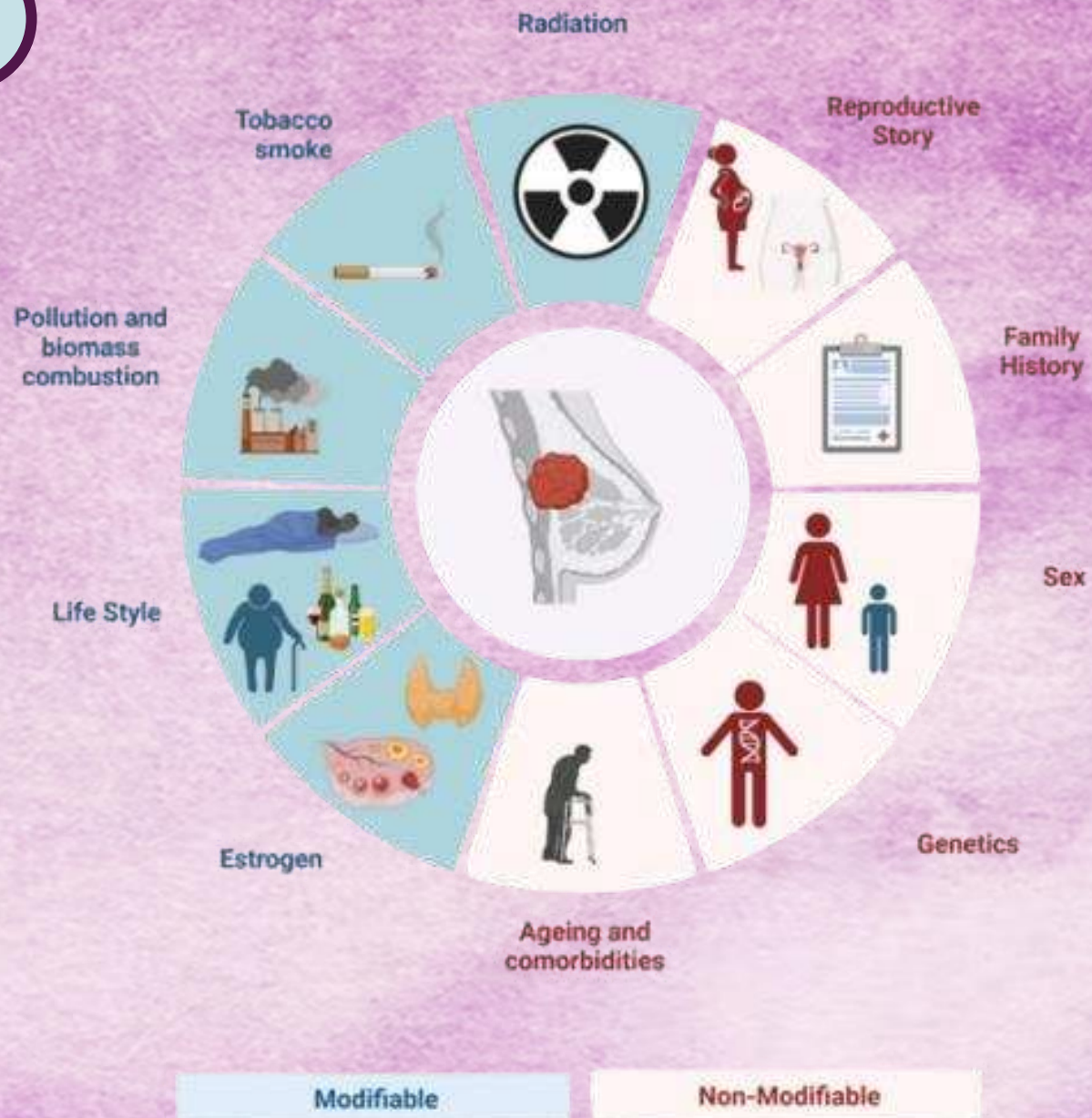


## FATTORI DI RISCHIO

*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

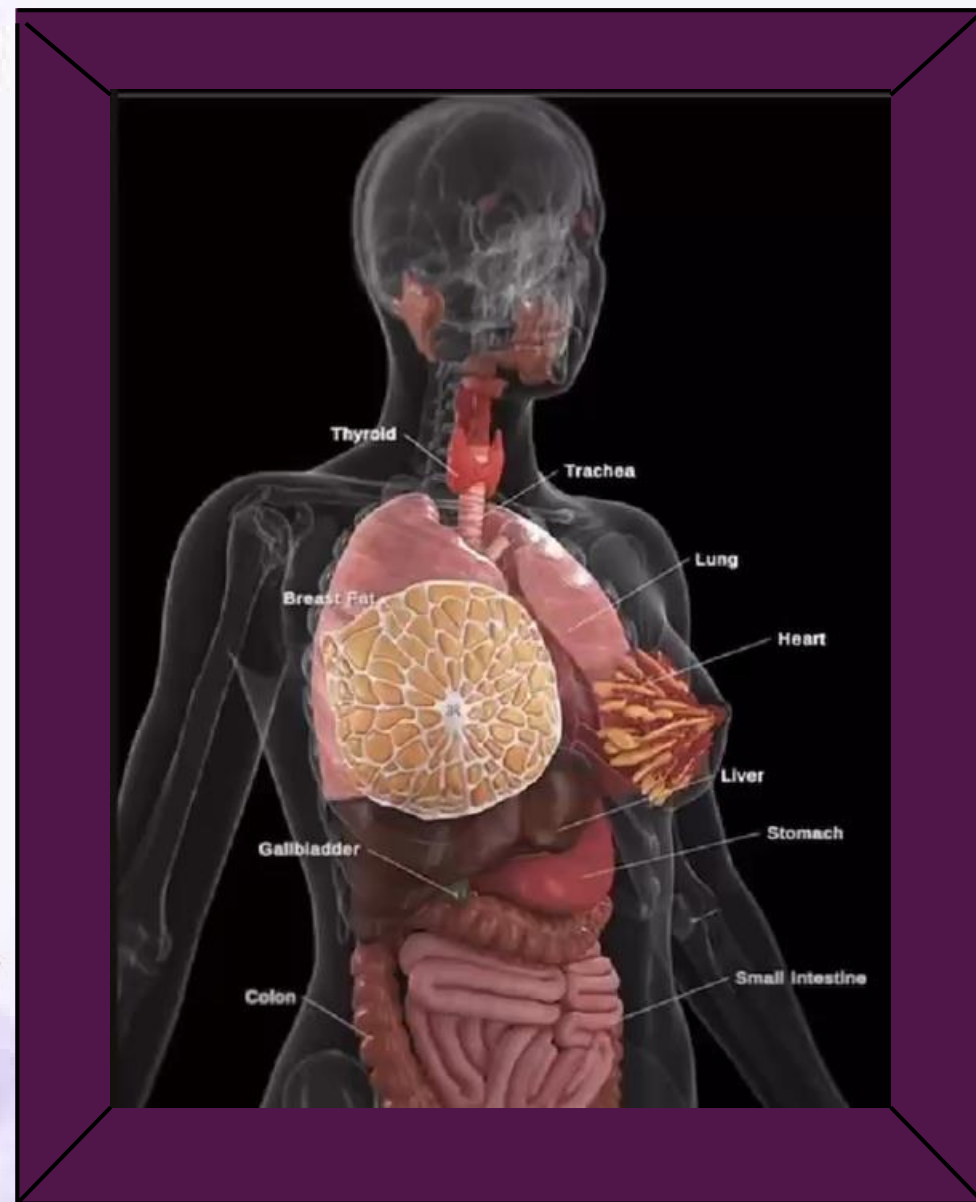
Le tecniche ad oggi utilizzate prevedono :

CHIRURGIA

RADIOTERAPIA

CHEMIOTERAPIA

TERAPIE A BERSAGLIO  
MOLECOLARE



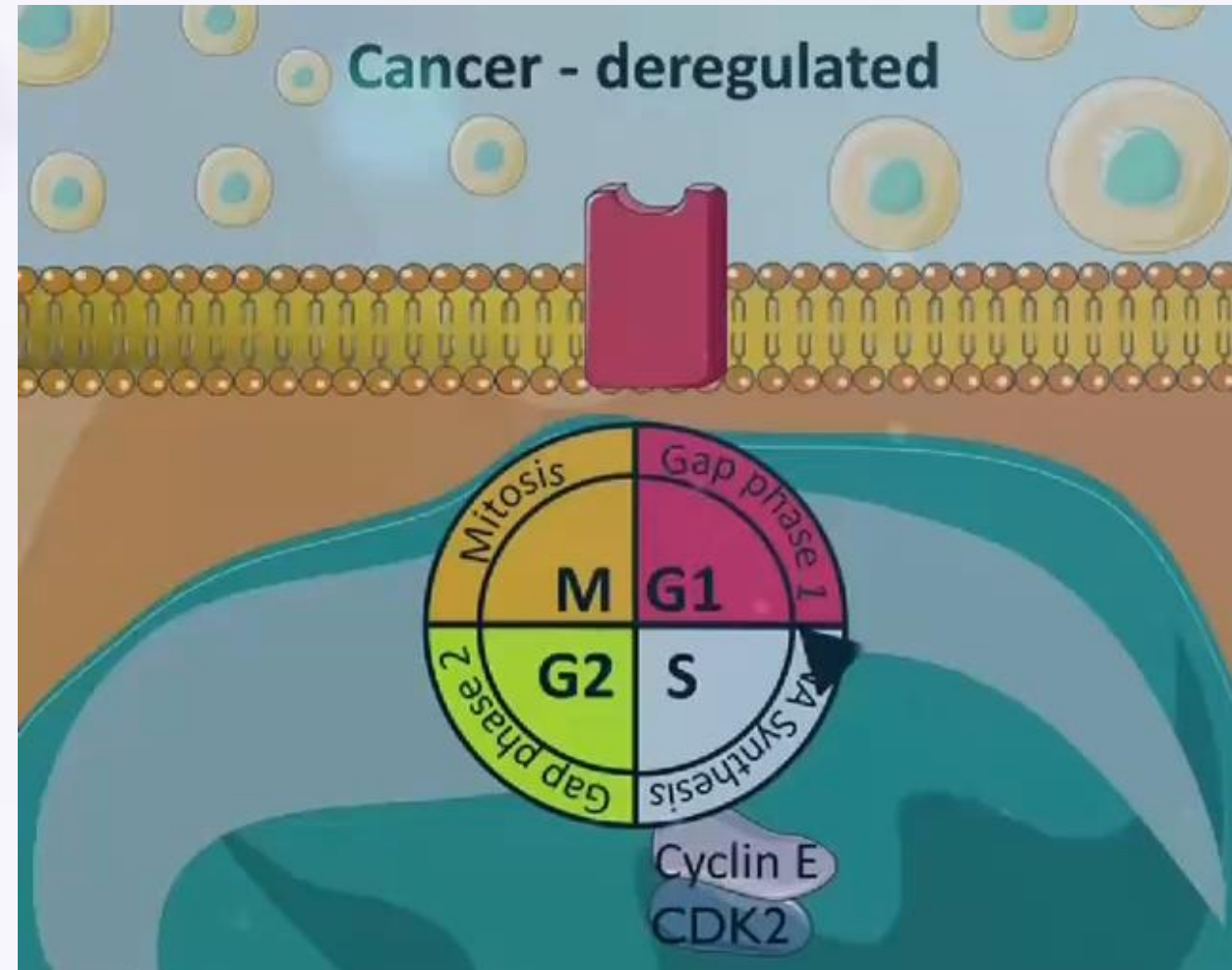
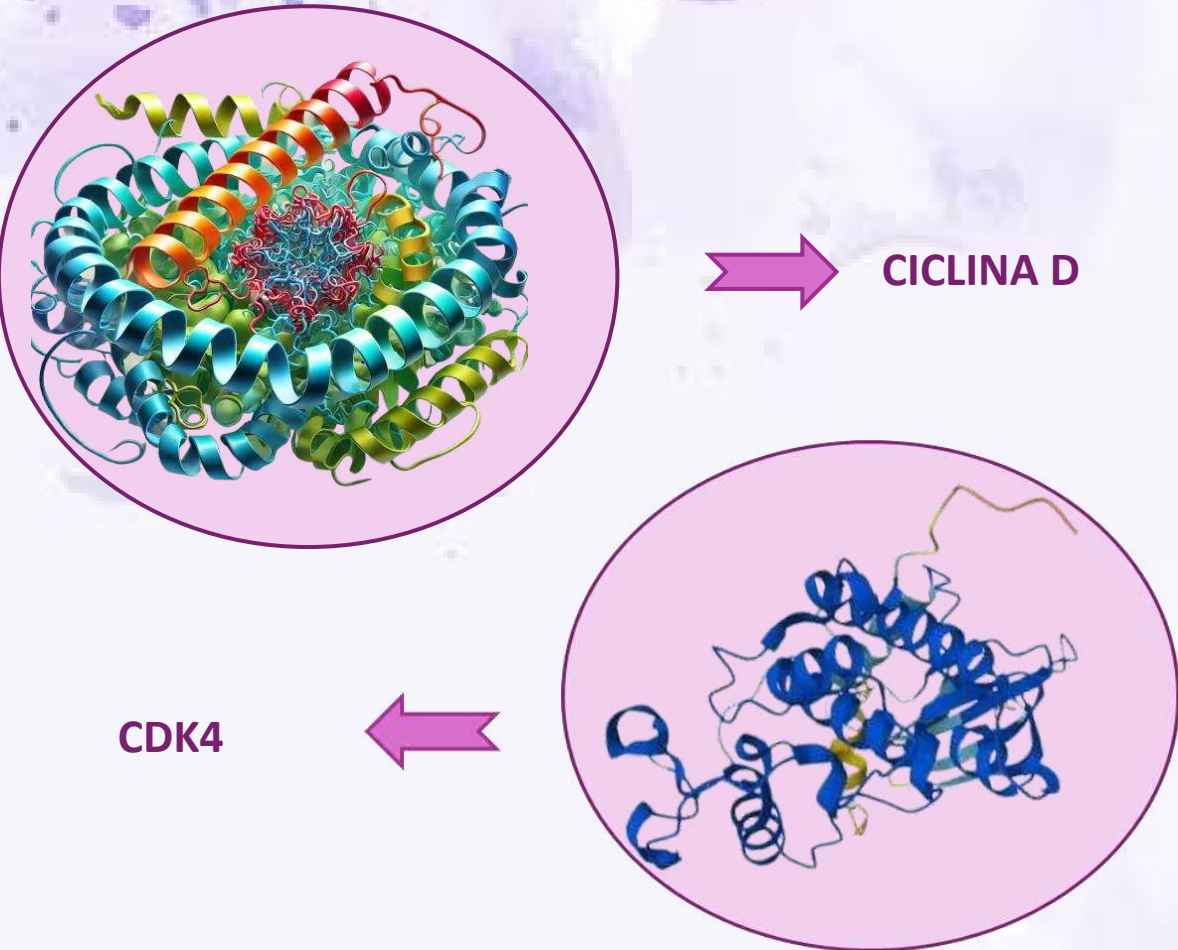


## TESTIS EXPRESSED 19

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

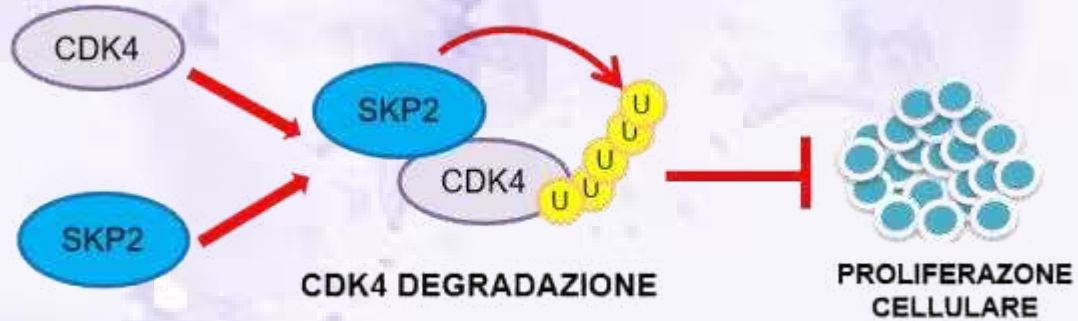
# CICLO CELLULARE

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

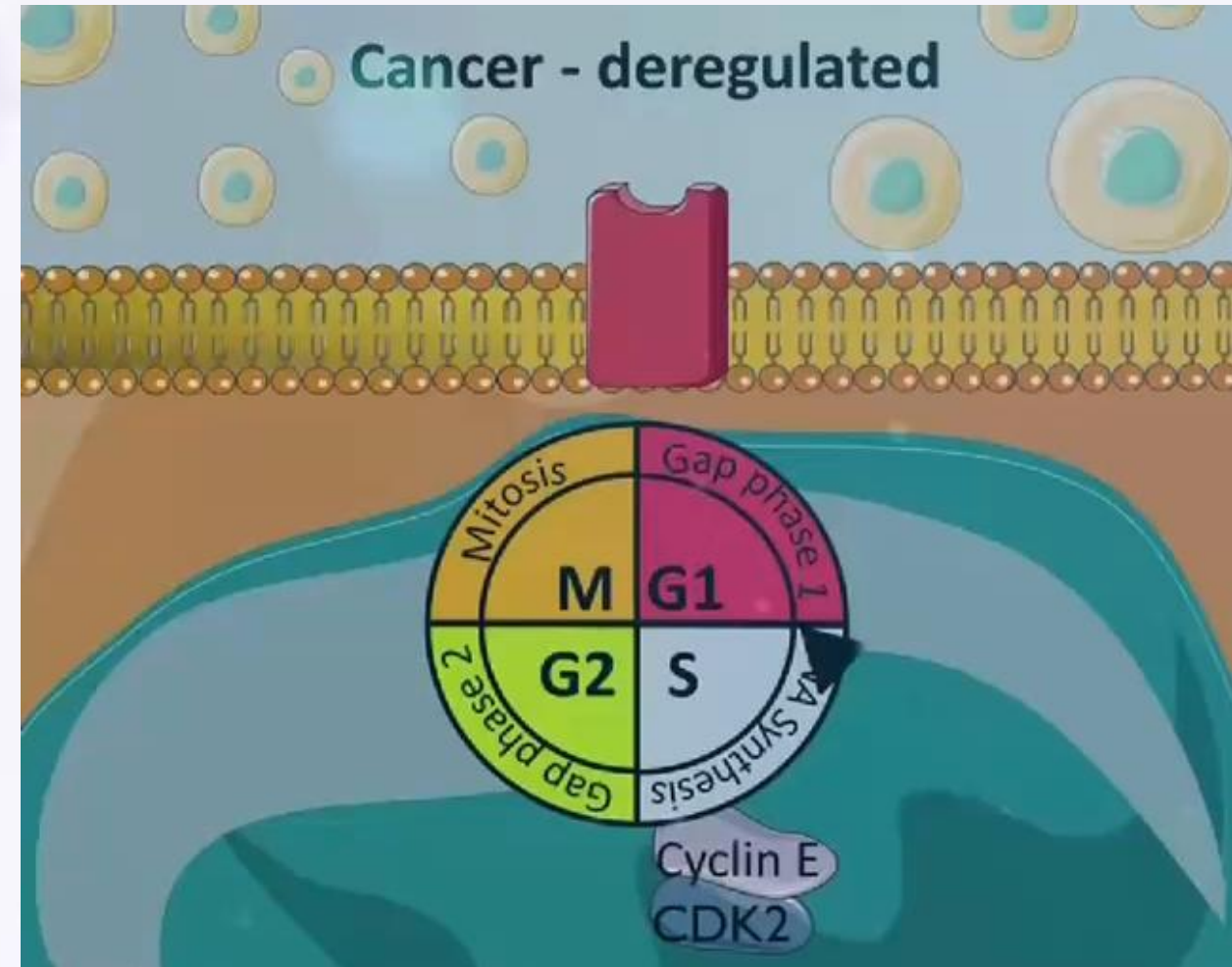


# CICLO CELLULARE

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.

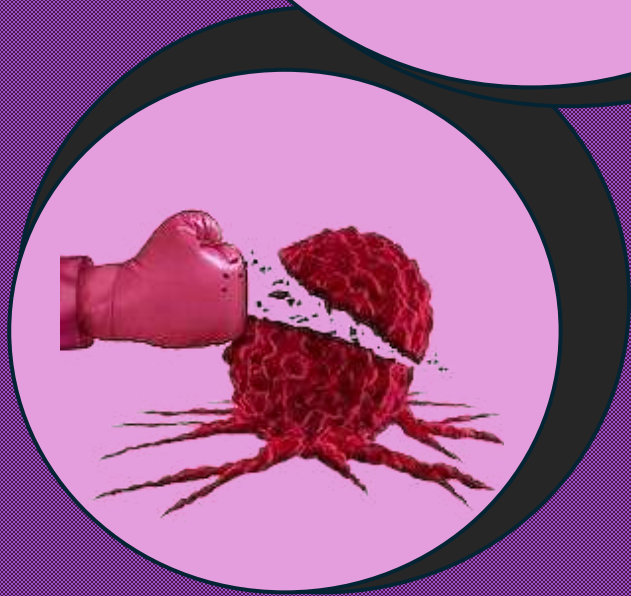


SKP2: S-Phase Kinase Associated Protein 2  
CDK4: Cyclin-dependent kinase 4  
U: Ubiquitinazione



# 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  $\mu$ 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

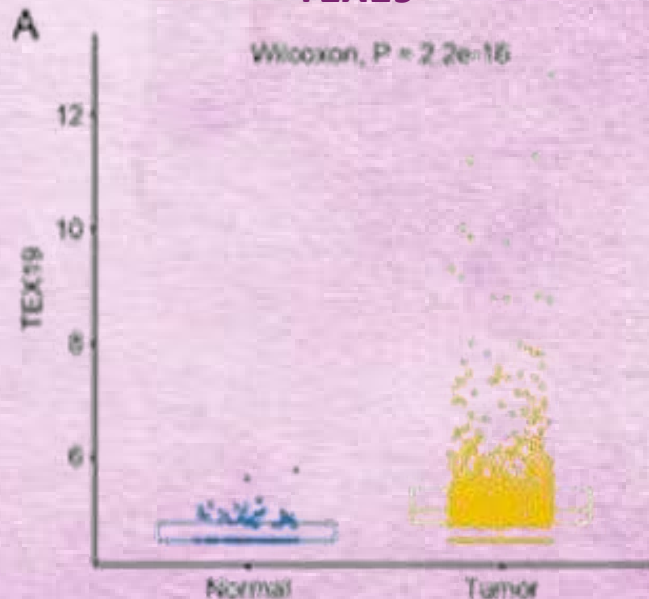


# RISULTATI

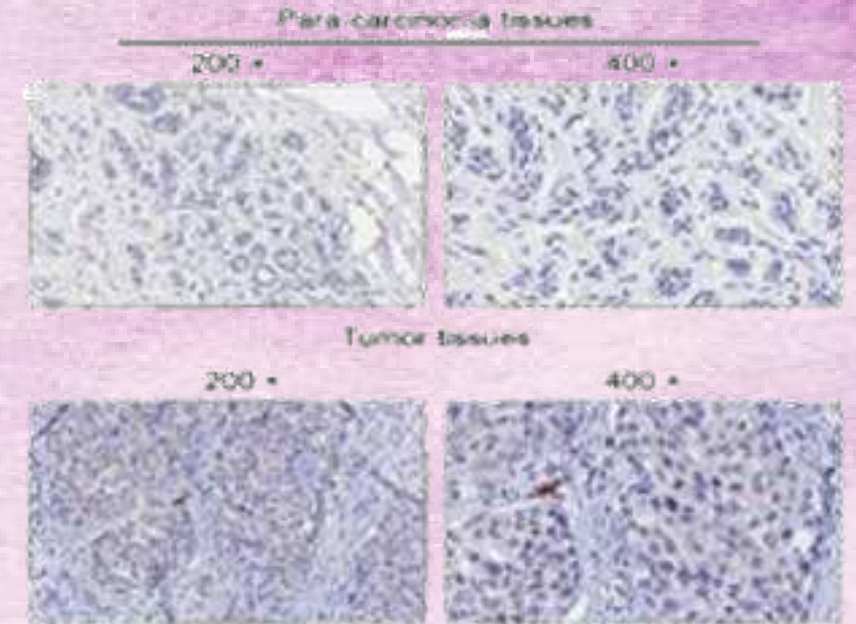
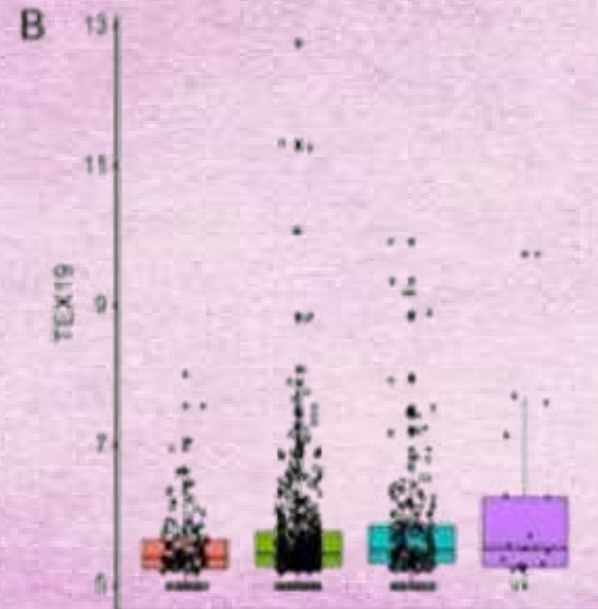
## ● Espressione di TEX19 nel cancro al seno

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**

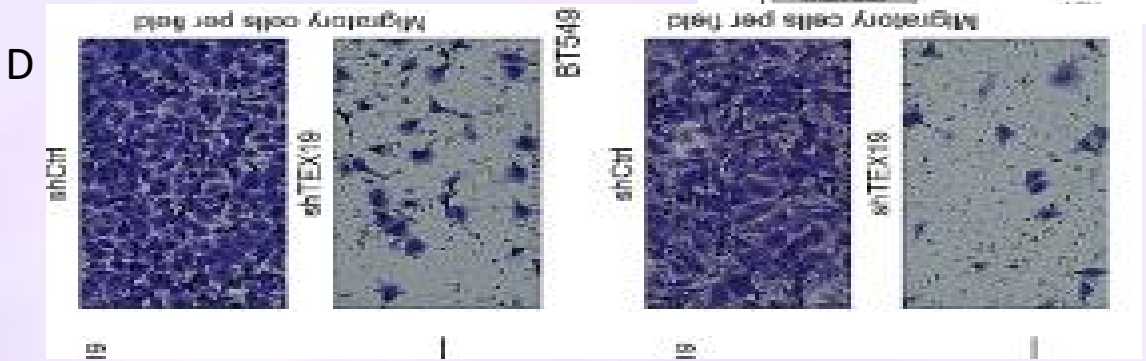
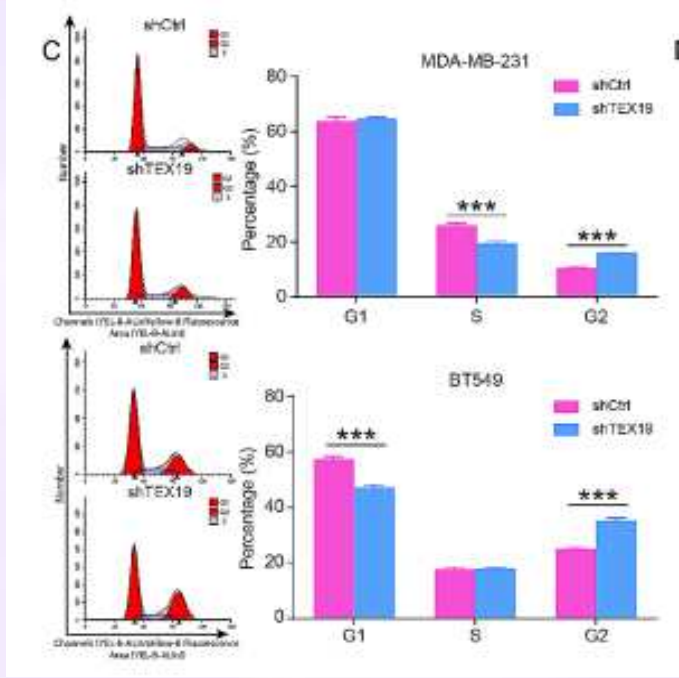
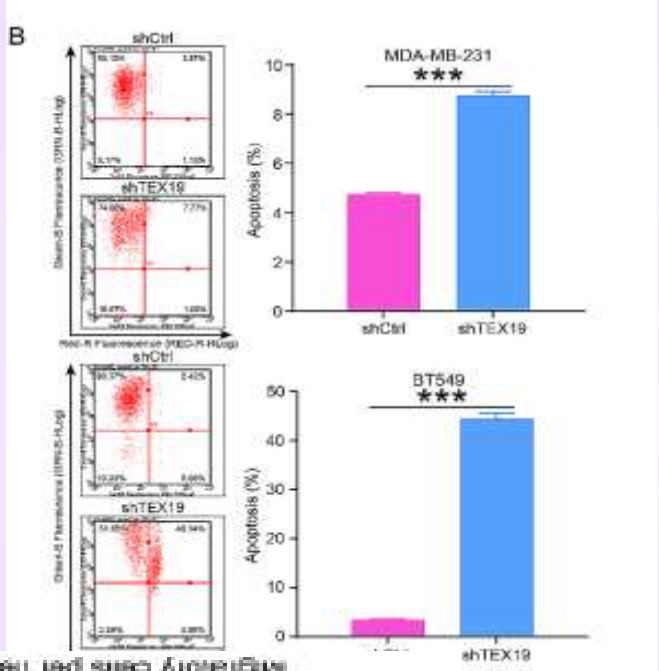
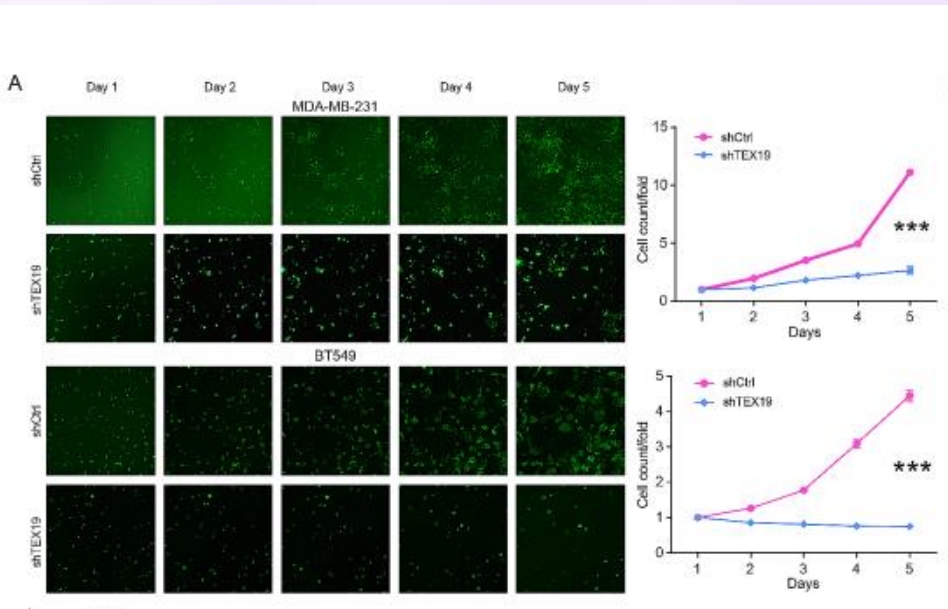
# Effetto del silenziamento di TEX19 sulla proliferazione di linee cellulari mammarie tumorali

- Inibito la proliferazione delle cellule di cancro al seno

Il silenziamento ha :

- Aumentato l'apoptosi

- Incrementato il numero di cellulare in fase G2

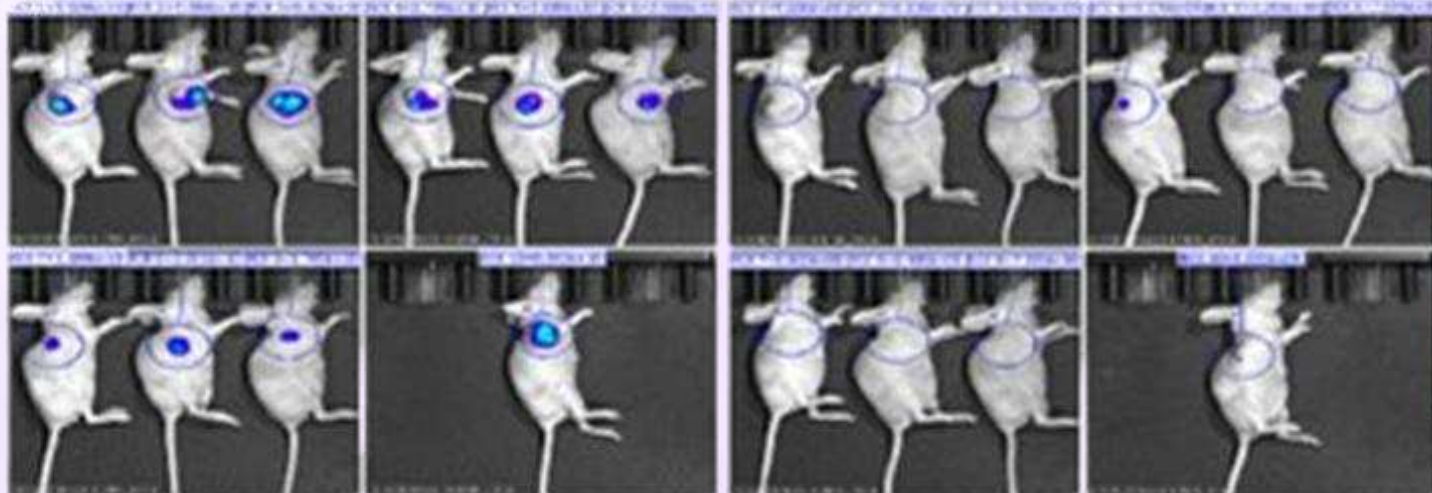


- Limitato la migrazione cellulare



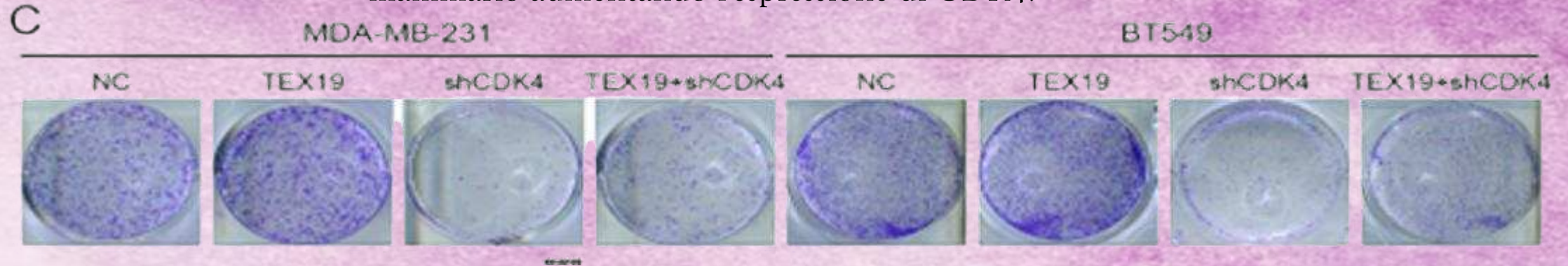
## Effetto del silenziamento di TEX19 sulla proliferazione di linee cellulari mammarie tumorali

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.



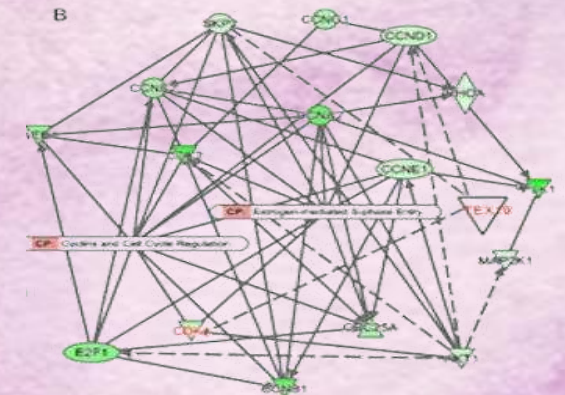
- **Progressione del cancro al seno in cellule TEX19 knockdown mediante la regolazione di CDK4**

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.