



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI SCIENZE

Corso di Laurea triennale in Scienze Biologiche

Funzionalità e ruolo degli esosomi nel cancro e resistenza ai farmaci

Relatore: Chiar.ma
Prof. Ortore Maria Grazia

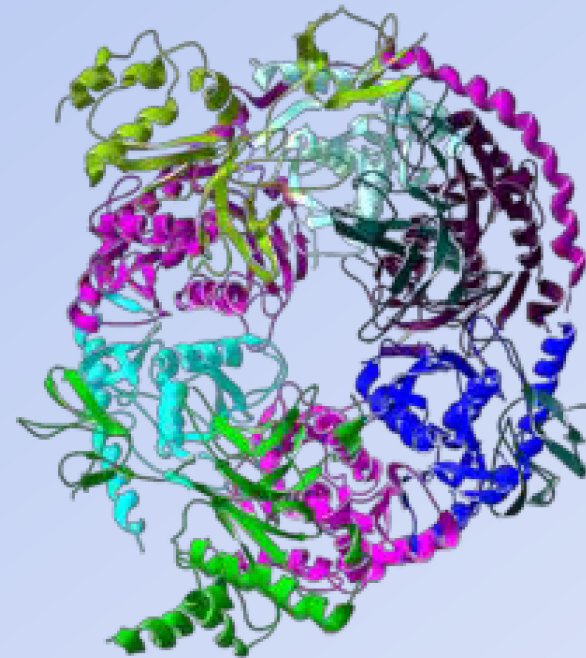
Tesi di Laurea di:
Asquino Angela

A.A. 2018/2019

INTRODUZIONE

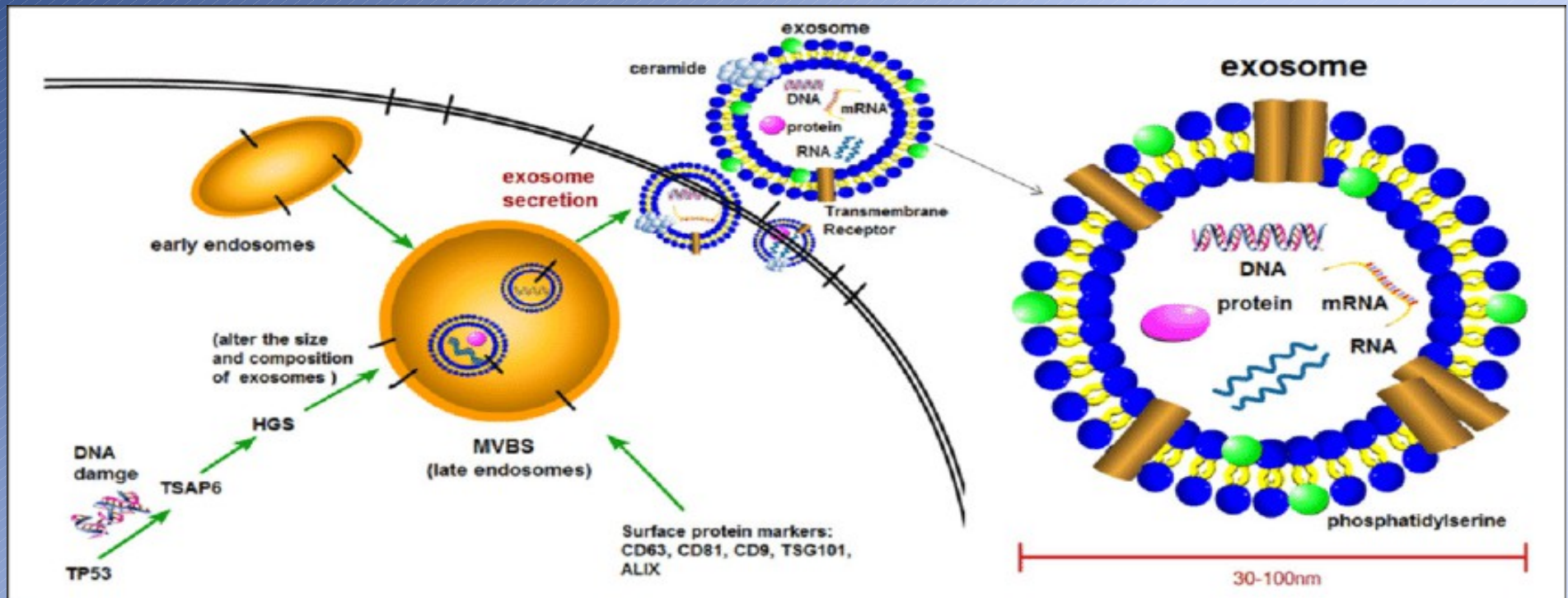
Gli esosomi , vescicole lipidiche nanometriche, sembrano avere un ruolo importante nella regolazione del microambiente tumorale mediante il trasferimento di proteine e materiale genetico, nella formazione di metastasi e crescita tumorale e nella resistenza ai farmaci.

L'esistenza di tali strutture ha permesso di ipotizzare il loro utilizzo in terapia come biomarcatori circolanti, così da consentire lo sviluppo di test diagnostici più accurati e meno invasivi.



ESOSOMI: BIOGENESI, COMPOSIZIONE E FUNZIONE

Gli esosomi sono vescicole extracellulari (EV) con diametro di 30-100nm di origine endosomiale. Sono secreti da cellule normali e cancerose e viaggiano nei liquidi extracellulari trasportando al loro interno materiale genetico.



Sono costituiti da:

- PROTEINE: oncoproteine e proteine soppressori del tumore, proteine coinvolte nel trasporto e fusione di membrane, nell'adesione;
- LIPIDI: sfingolipidi, digliceridi, fosfatidilcolina, fosfatidilserina;
- DNA: ssDNA, retrotrasposoni;
- RNA: mRNA, ncRNA (non-codificanti) tra cui microRNA e lncRNA.

ESOSOMI: BIOGENESI, COMPOSIZIONE E FUNZIONE

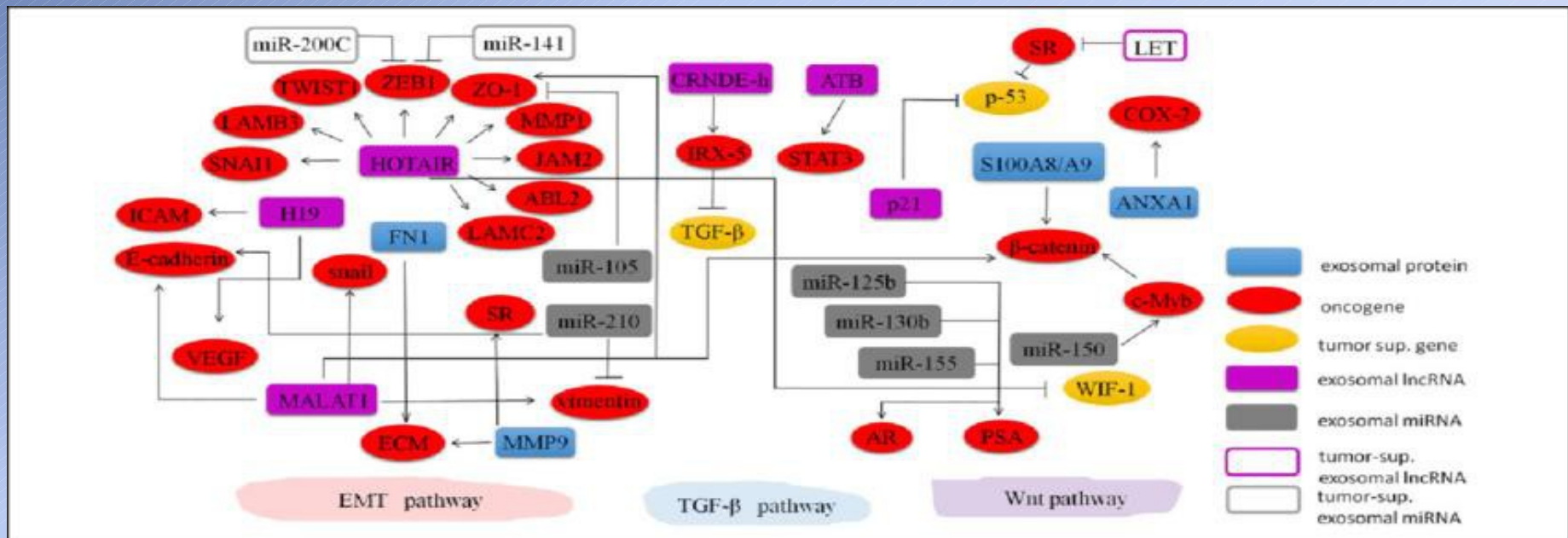
- Da prodotti di scarto a potenti mezzi nella comunicazione intercellulare, modulazione sistema immunitario e crescita cellulare.
- Gli esosomi rilasciati da cellule cancerose controllano diversi processi:
 - Genometastasi
 - Formazione di metastasi e organotropismo
 - Rimodellamento del microambiente tumorale
 - Angiogenesi e degradazione matrice extracellulare
 - Resistenza ai farmaci

ESOSOMI: RUOLO NEL CANCRO

Lo sviluppo del cancro è un processo a step in cui le cellule somatiche accumulano modificazioni genetiche che porteranno ad una crescita cellulare non regolata. Gli esosomi intervengono nelle vie di segnalazione (EMT, TGF- β , Wnt) trasportando tramite circolazione molecole bioattive, come miRNA e ncRNA, in organi distanti. Questo conduce a:

Questo conduce a:

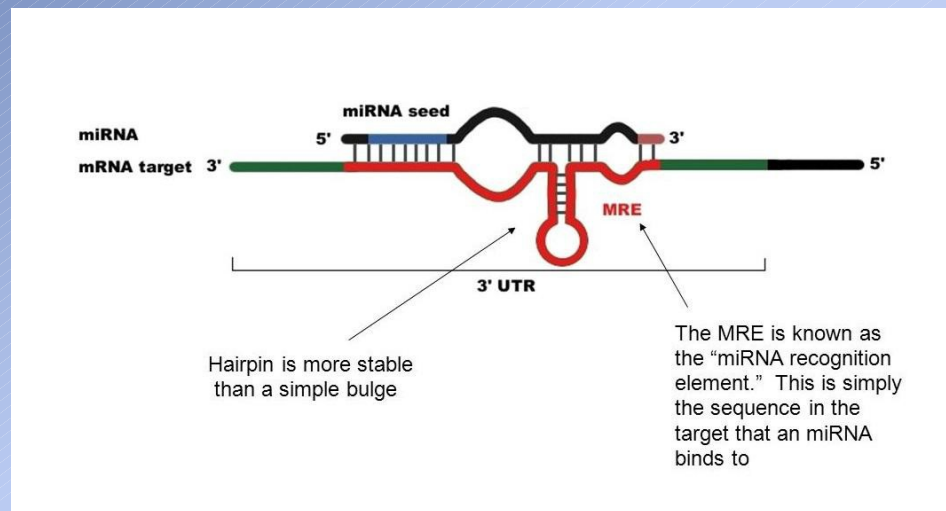
- cambiamenti fenotipici delle cellule riceventi e del microambiente
- incremento della secrezione di esosomi nelle cellule cancerose in base allo stadio di sviluppo e al sistema immunitario



ESOSOMI: RUOLO NEL CANCRO

I **MicroRNA** sono Rna non codificanti, a singolo filamento, di lunghezza compresi tra i 20 e i 24 nucleotidi.

- Svolgono un ruolo di regolazione dell'espressione genica a livello post-trascrizionale
- Agiscono legandosi a sequenze bersaglio complementari di mRNA.



Alterazioni del normale pathway di espressione dei miRNA possono avere conseguenze sulla normale fisiologia cellulare e portare a diversi tipi di patologie

ESOSOMI: RUOLO NEL CANCRO

Exosomal miRNA				
let-7 miRNA family	Gastric cancer	Oncogene	Promote metastasis	Ohshima <i>et al</i> ⁸³
miR-31	Breast cancer	Tumor suppressor	Opposing local invasion and metastatic colonization	Ragusa <i>et al</i> ⁴¹
<u>miR-105</u>	Breast cancer	Oncogene	Promote metastasis	Zhou <i>et al</i> ⁸⁴
miR-130	Breast cancer	Oncogene	Enhances cell proliferation and migration	Ragusa <i>et al</i> ⁴¹ Kruger <i>et al</i> ⁸⁵
miR-328	Breast cancer	Oncogene	Promote metastasis	Kruger <i>et al</i> ⁸⁵
miR-150	Monocytic	Oncogene	Cell migration	Zhang <i>et al</i> ⁸⁶
miR-210	Colorectal cancer	Oncogene	Promote EMT, metastasis	Bigagli <i>et al</i> ⁸⁷
miR-200c, miR-141	Colorectal cancer	Tumor suppressor	Cell proliferation, invasion, migration, EMT	Tanaka <i>et al</i> ⁸⁸
miR-125b, miR-130b, miR-155	Prostate cancer	Oncogene	Triggering neoplastic transformation and MET	Abd Elmageed <i>et al</i> ²⁷

MiRNA-105 è un RNA non codificante espresso e secreto soprattutto dalle metastasi nel cancro al seno in quanto ne favorisce la migrazione.

- Endotelio perde la funzione barriera: non controllo sul passaggio di sostanze dal liquido extracellulare al sangue e viceversa
- Regolazione negativa delle giunzioni occludenti (riduzione dell'espressione della proteina ZO-1)
- Aumento della permeabilità vascolare.



Promozione delle metastasi

ESOSOMI: RUOLO NEL CANCRO

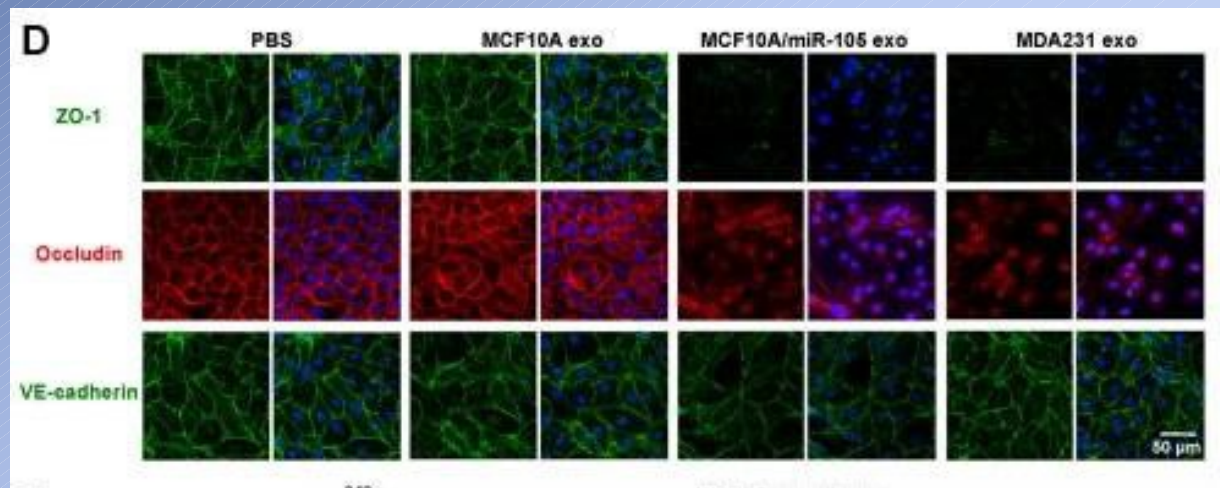
-CLONAGGIO DEI 4 SITI DI LEGAME DEL miRNA-105

3 linee cellulari MDA-MB-231 cellule derivanti da carcinoma al seno
 MCF-10A cellule normali di epitelio mammario
 HMVEC cellule endoteliali microvascolari mammarie

Vettore plasmidico con gene reporter

Siti I e II a valle del gene reporter

→ Riduzione dell'espressione del gene
Reclutamento altre proteine TJ



-SAGGIO PERMABILITÀ in vitro

Trattamento della barriera endoteliale con esosomi di MDA-MB-231

Sonde fluorescenti o con Destrano marcato

Passaggio delle sonde dall'alto verso il basso del monostrato

Fenomeno di migrazione tramite miRNA105/ZO-1

RUOLO ESOSOMI NELLA FARMACO-RESISTENZA

La **FARMACO-RESISTENZA** è la riduzione dell'efficacia di un farmaco nel trattamento della malattia tumorale o nella cura dei sintomi; rappresenta l'origine dell'insuccesso terapeutico nella maggior parte dei casi.

È responsabile della recidiva del tumore primitivo e/o della comparsa e progressione delle metastasi.

	Tumor Types	Function in Drug Resistance	Drug	Reference
Exosomal miRNA miR-433	Ovarian cancer	Promote	Paclitaxel	Weiner-Gorze <i>et al</i> ¹²⁶
Exosomal lncRNA lncRNA-ROR	Hepatocellular cancer	Promote	Chemotherapeutic drugs	Takahashi <i>et al</i> ¹²⁷ Nawaz <i>et al</i> ⁹⁸
lncRNA UCA1	Breast cancer	Promote	Tamoxifen	Xu <i>et al</i> ⁹⁶
lncRNA UCA1	Bladder cancer	Promote	Chemotherapeutic drugs	Fan <i>et al</i> ¹²⁸
HER2	Breast cancer	Promote	Trastuzumab	Ciravolo <i>et al</i> ⁶²
lncARSR	Renal cancer	Promote	Sunitinib	Qu <i>et al</i> ¹²⁹

lncRNA UCA1 (Urothelial Cancer-Associated 1) è un oncogene localizzato sul cromosoma 19p13.12 e principale promotore della farmaco-resistenza nel BC.



TAMOXIFEN

Bersaglio principale è il recettore per gli estrogeni(ER) a cui si lega in competizione con l'estradiolo, inducendo un arresto della crescita cellulare.

CONCLUSIONI

L'esistenza di strutture così piccole come gli esosomi, con tali proprietà funzionali ha generato un ampio interesse sulla loro applicazione clinica nella terapia tumorale: biomarcatori per una diagnosi precoce, accurata e non invasiva; mediatori nella resistenza al tumore; trasportatori di farmaci in cellule target. Tuttavia molto deve essere ancora compreso a causa della loro ridotta dimensione che rende difficile l'isolamento, la manipolazione e la caratterizzazione.

Si auspica un maggiore approfondimento sul tema così da migliorare l'approccio al tumore e rivalutare le terapie antitumorali ora presenti.

INDICE BIBLIOGRAFICO

Zhang C. et al, *Exosome:Function and Role in Cancer metastasis and Drug resistance*, "Technology cancer research and treatment", 2018

Zhou W, Fong MY, Min Y. et al, *Cancer-secreted miR-105 destroy vascular endothelial barriers to promote metastasis*, "Cancer Cell", 2014