

Nepričakovan preobrat pri inhibiciji invazije rakavih celic!

5 %
petletno preživetje

300.000
novih primerov
na leto na svetu

AVTOR: Ula Mikoš

Namen

Glioblastom je primarni možganski tumor, ki je eno najbolj agresivnih in smrtonosnih malignih obolenj. Njegova agresivnost se kaže v hitri difuzni invaziji, ki vodi do visoke stopnje ponovitve in na koncu do slabe prognoze.

CD155 (imenovan tudi kot PVR ali Nect-5) se v rakavih celicah izraža v povečani meri, kar je povezano z agresivnostjo tumorja. Zaradi njegove vloge pri regulaciji celične adhezije in migracije je CD155 potencialna tarča za zdravljenje glioblastoma.

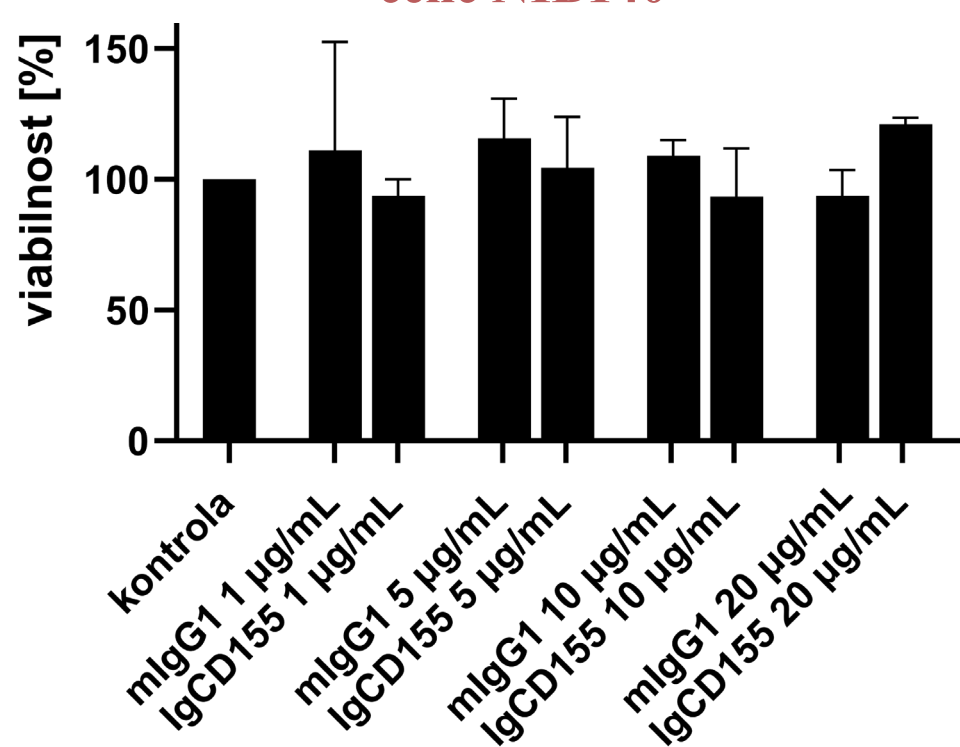
Namen diplomskega dela je bil raziskati vlogo proteina CD155 pri rasti in invaziji celic glioblastoma. Zanimalo nas je, ali lahko z uporabo protitelesa proti CD155 vplivamo na invazivnost celic glioblastoma in s tem potencialno izboljšamo možnost za zdravljenje.

Metode

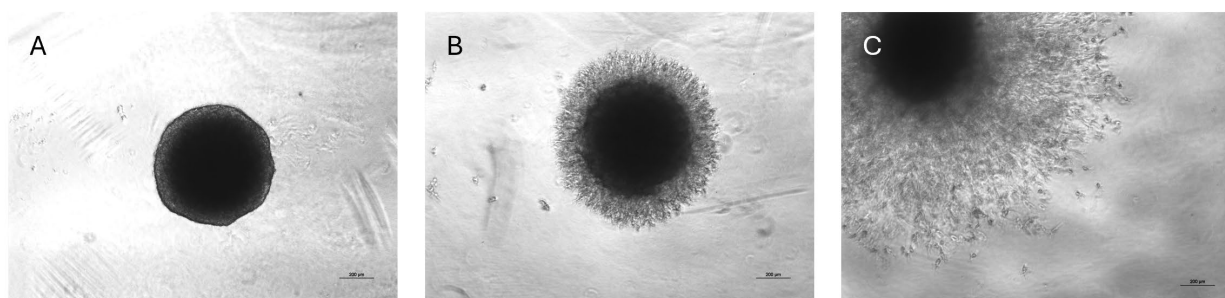
- **Gojenje celic NIB140** (glioblastomska celična linija vzpostavljena na NIB).
- **MTT test celične viabilnosti** (koncentracije 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ in 20 $\mu\text{g/mL}$ protitelesa proti CD155 (IgCD155) in mišjega kontrolnega protitelesa IgG izotipa 1 (mIgG1)). S tem testom smo želeli ugotoviti ali ima protitelo toksičen učinek na celice glioblastoma.
- **3D test invazije sferoidov v Matrigelu** (tretiranje s koncentracijo 10 $\mu\text{g/mL}$). S tem testom smo simulirali invazijo celic glioblastoma v 3D prostoru. Opazovali smo, kako protitelo vpliva na sposobnost celic, da se širijo v umetni zunajcelični matriks (Matrigel).
- **Analiza invazije s programom ImageJ.**

REZULTATI

IgCD155 ne vpliva na viabilnost celic NIB140

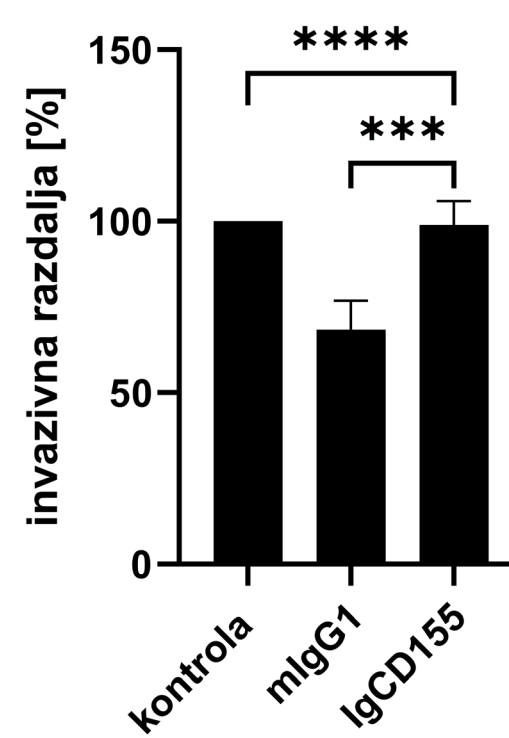


Slika 1: Viabilnost celic NIB140 48 h po tretiranju z različnimi koncentracijami IgCD155 in mIgG1. Prikazane so povprečne viabilnosti in standardni odklon. Kontrolo predstavljajo celice v dopolnjenem gojišču, brez dodatka protiteles.

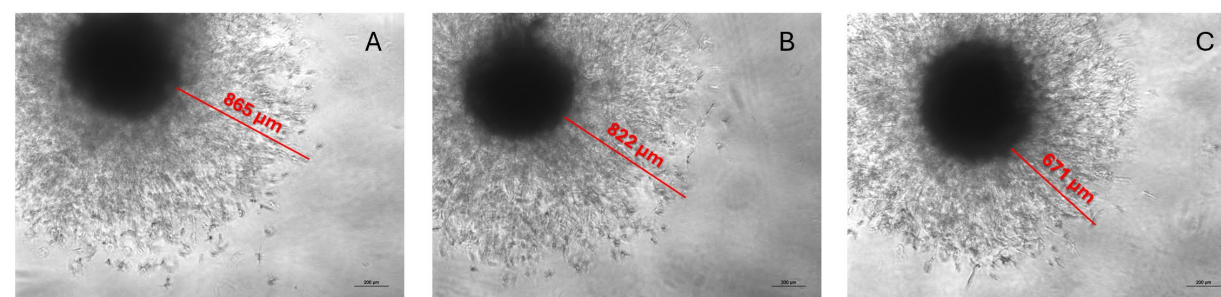


Slika 2: Primerjava invazije celic sferoida NIB140 v času inkubacije brez dodatka protiteles. A – sferoid v začetnem stanju, B – sferoid po 24 h inkubacije, C – sferoid po 96 h inkubacije.

IgCD155 ne vpliva na invazijo celic NIB140 mIgG1 zmanjša invazijo za 30 – 40 %



Slika 3: Invazivna razdalja celic sferoidov NIB140 96 h po tretmaju z IgCD155 in mIgG1. Prikazane so povprečne invazivne razdalje in standardni odklon. Kontrolo predstavljajo celice v dopolnjenem gojišču, brez dodatka protiteles. Legenda: *** = $p < 0,001$ in **** = $p < 0,0001$.



Slika 4: Invazija celic sferoida NIB140 96 h po tretmaju. A – kontrola brez protitelesa, B – z dodatkom IgCD155, C – z dodatkom mIgG1.

Razprava

Protitelo proti CD155 ni vplivalo na invazijo celic glioblastoma, vendar ne moremo z gotovostjo trditi, da IgCD155 ne inhibira invazije celic glioblastoma, saj bi poskus morali ponoviti na večjem številu glioblastomskih celičnih linij, prav tako bi morali testirati še druge koncentracije protitelesa. Za najbolj realno sliko, kako protitelo vpliva na tumor, pa bi morali uporabiti celične modele kot so glioblastomski organoidi.

Mišje kontrolno protitelo IgG izotipa 1 je zmanjšalo invazijo celic glioblastoma, kar je verjetno posledica njegove vezave na Fc receptorje in ne neposrednega toksičnega učinka protitelesa, saj smo uporabili dokazano netoksično koncentracijo protitelesa za našo celično linijo. V pregledani literaturi nismo zasledili, da bi o vplivu mIgG1 na invazijo že kdo poročal, zato je potreben podrobnejši vpogled v delovanje tega protitelesa na invazijo celic glioblastoma, predno lahko predpostavimo njegovo klinično uporabnost.

