

RAZVOJ IN KARAKTERIZACIJA MIŠJEGA MODELA ZA ŠTUDIJE HPV-POZITIVNEGA RAKA GLAVE IN VRATU

Živa Modic^{1,2}, Maja Čemažar^{1,3}, Boštjan Markelc¹, Andrej Cör^{4,5}, Gregor Serša^{1,6},
Simona Kranjc Brezar^{1,2}, Tanja Jesenko^{1,2}

¹ Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, Ljubljana, 1000, Slovenija

² Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

³ Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem, Polje 42, 6130 Izola, Slovenija

⁴ Ortopedska bolnišnica Valdoltra, Jadranska cesta 31, 6280 Ankaran, Slovenija

⁵ Pedagoška fakulteta, Univerza na Primorskem, Cankarjeva pot 5, 6000 Koper, Slovenija

⁶ Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana, Slovenija

Elektronski naslov: zmodic@onko-i.si

Ploščatocelični karcinom ustnega predela (PKU) vključuje raka ustne votline, ustnic ter ustnega dela žrela. Eden od dejavnikov tveganja za razvoj PKU je tudi dolgotrajna okužba z visoko rizičnimi podtipi humanega papilomavirusa (HPV). Nekateri bolniki s HPV-pozitivnim PKU se bolje odzovejo na zdravljenje z radioterapijo. Zaradi vrstne specifičnosti HPV so imunokompetentni modeli HPV-pozitivnega PKU redki, zato je predklinično preučevanje teh vrst tumorjev oteženo. Namen naše raziskave je bil vzpostaviti in okarakterizirati HPV-pozitivni mišji model PKU s stabilnim izražanjem onkogenov E6 in E7 HPV-16. Z retrovirusno transdukcijo smo iz mišje celične linije PKU MOC1 vzpostavili monoklonski HPV-pozitivni celični liniji (MOC1-HPV K1 in MOC1-HPV K3), v katerih smo potrdili stabilno izražanje E6 in E7 na RNA in proteinskem nivoju. *In vitro* karakterizacija vzpostavljenih celičnih linij je pokazala, da se celični liniji razlikujeta v morfologiji ter hitrosti celične migracije, ki smo jo določali s testom celjenja raze. Tako *in vitro* kot *in vivo* smo določili radioobčutljivost ter z imunofluorescenčnim barvanjem zaledenelih tumorskih rezin opredelili razlike v tumorskem mikrookolju. Določali smo prisotnost hipoksije (EF5), proliferacije (EdU), ožiljenosti (CD31) ter infiltracijo CD4 in CD8 celic T in makrofagov (F4/80). S testom klonogenosti po obsevanju z naraščajočimi dozami nismo zaznali statistično značilnih razlik v radioobčutljivosti HPV-pozitivnih celičnih linij v primerjavi s starševsko linijo. *In vivo* pa je bila po obsevanju z enkratno dozo 15 Gy radioobčutljivost tumorskega modela MOC1-HPV K1 večja, kar se je odražalo v daljšem zaostanku v rasti tumorjev v primerjavi z modeloma MOC1 in MOC1-HPV K3. Z imunofluorescenčnim barvanjem smo v tumorjih MOC1-HPV K1 smo zaznali nižjo raven hipoksije ter večji delež proliferajočih celic, kar nakazuje na možen mehanizem povečane radioobčutljivosti tumorskega modela MOC1-HPV K1. Tako *in vitro* kot *in vivo* rezultati sovpadajo z rezultati analize transkriptoma celičnih linij, kjer 20 najbolj obogatenih pojmov genske ontologije vključuje procese, povezane s celično migracijo in angiogenezo. Z raziskavo smo vzpostavili in okarakterizirali nov mišji tumorski model HPV-pozitivnega PKU, ki omogoča raziskave HPV-pozitivnih PKU na imunokompetentnih miših.