

VZPOSTAVITEV IN KARAKTERIZACIJA MIŠJEGA TUMORSKEGA MODELA ZA RAZISKAVE S HPV POVEZANEGA RAKA GLAVE IN VRATU

Živa Pišljari, Maja Čemažar, Boštjan Markelc, Gregor Serša, Simona Kranjc Brezar, Tanja Jesenko

Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

Ploščatocelični karcinom ustnega predela (PKU) vključuje raka ustne votline, ustnic ter ustnega dela žrela. Eden od dejavnikov tveganja za razvoj PKU je dolgotrajna okužba z visoko tveganimi genotipi človeškega papilomavirusa (HPV, angl. human papillomavirus). Ker lahko HPV okuži le humane celice, so tumorski modeli HPV-pozitivnega PKU na imunsko odzivnih miših redki, zato je predklinično preučevanje teh vrst tumorjev oteženo. Cilj naše raziskave je bil vzpostaviti in okarakterizirati HPV-pozitivni mišji model PKU s stabilnim izražanjem onkogenov E6 in E7 HPV-16. Iz mišje celične linije PKU MOC1 smo z retrovirusno transdukcijo vzpostavili dve monoklonski HPV-pozitivni celični liniji MOC1-HPV K1 ter MOC1-HPV K3, v katerih smo potrdili izražanje E6 in E7 na RNA in proteinskem nivoju. Na *in vitro* nivoju so se celične linije razlikovale v morfologiji ter hitrosti celične migracije. Določili smo tudi radioobčutljivost *in vitro* ter *in vivo*, ter z imunofluorescenčnim barvanjem zaledenelih tumorskih rezin opredelili razlike v tumorskem mikrookolju. Preučevali smo prisotnost hipoksije (EF5), proliferacije (EdU), ožiljenosti (CD31) ter infiltracijo CD4⁺ in CD8⁺ celic T in makrofagov (F4/80). Na *in vitro* nivoju nismo zaznali razlik v radioobčutljivosti celičnih linij. *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. V tumorskem modelu MOC1-HPV K1 smo zaznali tudi nižji nivo hipoksije ter večji delež proliferajočih celic, kar nakazuje na možen mehanizem povečane radioobčutljivosti tumorskega modela MOC1-HPV K1. Rezultati *in vitro* ter *in vivo* karakterizacije sovpadajo tudi z rezultati analize transkriptoma celičnih linij, kjer 20 najbolj obogatenih pojmov genske ontologije vključuje procese, povezane s celično migracijo in angiogenezo. Z raziskavo smo razvili mišji HPV pozitivni celični liniji PKU, ki ju lahko uporabimo za indukcijo tumorjev na imunsko odzivnih miših in nam omogočata raziskave z imunskim odzivom pogojenih pristopov zdravljenja.

Zahvala

Raziskava je potekala v okviru raziskovalnega programa P3-0003, ki ga financira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS).