

Silesian University of Technology



dr n. med. ALEXANDER CORTEZ

**MOLECULAR MECHANISMS OF
TUMOR CELL RESISTANCE
TO THE FGFR KINASE INHIBITOR**

DOCTORAL DISSERTATION

Doctoral dissertation performed under the supervision of

prof. dr hab. inż. Joanna Polańska

Department of Data Science and Engineering

Faculty of Automatic Control, Electronics and Computer Science

Silesian University of Technology

prof. dr hab. n. med. Katarzyna Lisowska

at Mieczysław Chorąży Center for Translational Research

and Molecular Biology of Cancer

Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology

Gliwice Branch

Gliwice 2023

Streszczenie

Sygnalizacja poprzez receptory czynników wzrostu fibroblastów (*ang. Fibroblast Growth Factor Receptor*, FGFR) stanowi ważny mechanizm regulujący procesy proliferacji i różnicowania komórki. W wielu nowotworach mechanizm ten jest zaburzony, a główną przyczyną są różnego typu nieprawidłowości genomowe. Na przykład amplifikacja FGFR1 występuje w raku pęcherza moczowego, żołądka, piersi i płuc, podczas gdy w raku wątroby, macicy, płuc i żołądka może wystąpić zarówno amplifikacja, jak i mutacje oraz fuzje FGFR2 z innymi genami. Mutacje i fuzje FGFR3 często występują w raku pęcherza moczowego i płuc. Dlatego hamowanie sygnalizacji FGFR jest przedmiotem badań i prób klinicznych w ramach rozwoju nowych terapii celowanych.

Celem niniejszej pracy było zidentyfikowanie potencjalnych biomarkerów związanych z wrażliwością/opornością komórek nowotworowych na nowy małowczątkowy inhibitor FGFR opracowany przez polską firmę farmaceutyczną Celon Pharma S.A. W ramach wcześniejszego projektu (projekt CELONKO, program STRATEGMED II sfinansowany przez NCBR) przeprowadzono eksperyment sekwencjonowania RNA (*ang. RNA sequencing*, RNA-seq) na liniach komórkowych opornych lub wrażliwych na ten inhibitor. Korzystając z danych z eksperymentu RNA-seq, przeprowadzono kompleksową analizę profilu ekspresji genów w liniach komórkowych z trzech różnych typów nowotworów (płuca, żołądka i pęcherza moczowego), aby zidentyfikować potencjalne biomarkery predykcyjne związane z mechanizmami oporności na inhibitor FGFR.

Zestaw danych z sekwencjonowania DNA charakteryzował się niską liczebnością próbek, co jest typowym ograniczeniem wielu podobnych eksperymentów. Standardowe metody analizy nie radzą sobie dobrze z tym typem danych. Ponadto, brak odpowiednich filtrów sprawia, że wyniki mogą nie spełniać wymagań stawianych biomarkerom do zastosowań klinicznych. Dlatego, w ramach niniejszej pracy opracowano schemat obliczeniowy nazwany „*Pipeline for Rapid Evaluation, and Discovery of Important biomarker Candidates*” (PREDICT). Zastosowanie własności statystycznych zaimplementowanych w schemacie PREDICT pozwoliło wyselekcjonować mniejsze liczby potencjalnych biomarkerów, ale o bardziej obiecujących cechach. Eliminacja niepewnych kandydatów na etapie obliczeniowym, dzięki zastosowaniu schematu PREDICT, pozwoli na redukcję kosztów i wysiłku na etapie walidacji, który jest kolejną fazą rozwoju potencjalnego biomarkera.

Na podstawie analizy szlaków sygnałowych, połączonej z użyciem schematu PREDICT oraz przeglądem literatury, odkryto związek z potencjalnymi mechanizmami oporności na inhibitor FGFR dla większości wyselekcjonowanych genów. Otrzymane wyniki wskazują, że guzy uodpornione na działanie inhibitora FGFR wykształciły kompensacyjną aktywację szlaków regulujących proliferację komórek, tempo migracji, przeżycie, inwazyjność i hamowanie apoptozy.

Porównując zestawy genów wyselekcjonowane w trzech różnych typach raka, zidentyfikowano kilka potencjalnie uniwersalnych biomarkerów oporności na inhibitory FGFR, a mianowicie *SSRP1* (*ang. Structure Specific Recognition Protein 1*), *CCNB2* (*ang. Cyclin B2*), *CDT1* (*ang. Chromatin Licensing And DNA Replication Factor 1*) i *CENPO* (*ang. Centromere Protein O*). Te geny miały zmienioną ekspresję zarówno w raku żołądka, jak i pęcherza moczowego i wykazywały ten sam kierunek zmiany ekspresji w obydwu typach raka. Dlatego mogą one służyć jako uniwersalne biomarkery do predykcji oporności na inhibitory FGFR u pacjentów z zdiagnozowanym rakiem żołądka lub pęcherza moczowego.

Podsumowując, użycie schematu PREDICT skutkuje odfiltrowaniem niepożądanych wyników, a wyselekcjonowane geny kandydackie posiadają cechy odpowiednie dla biomarkera, który może znaleźć praktyczne zastosowanie kliniczne. Przegląd literatury pozwolił na określenie związku większości wyselekcjonowanych genów z potencjalnymi mechanizmami oporności na inhibitory FGFR. Wytypowani kandydaci w kolejnym kroku ich rozwoju jako biomarkera powinni być włączeni do fazy walidacji, z zastosowaniem różnych metod i na różnym materiale biologicznym.