



Kis Ibolya, Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, IV.

Szabó Bálint Gergely, Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, IV.
II. Sz. Patológiai Intézet

Az angiostatin felhasználási lehetőségei tumorelles terápiaiban

A tumorok angiogenezis indukálásával csatlakoznak az érhalózathoz. Ezt gátolva tumorsejtnecrosist, kiinduló tömeg csökkenését érhetjük el. Az angiostatin (endogén angiogenezis-inhibitor) a plazminogén N-terminális kring doménjeinek több proteáz katalizálta hasításával keletkezik, azonban a molekula instabil, terápiás felhasználásra nem alkalmas.

Célunk olyan molekula tervezése, amely *in vivo* és *in situ* képes angiostatint termelni. Létrehoztunk egy proteáz–angiostatin kimérát, mely extracelluláris aktiváció után felszabadítja az angiostatint.

Módszerek: Ismert molekuláris módszerekkel PCR-amplifikált angiostatint és proteázt azonos leolvasási keretben megfelelő vektorba ligáltunk. A konstrukció tartalmazta a pro- és eukarióta expresszióhoz szükséges elemeket. A vektorral *in vitro* és *in vivo* angiostatintermelés céljából *E. coli* törzset, humán és egér sejtvonalat transzfektáltunk.

Aortatesztet végeztünk, melyben matrigelbe ágyazott patkány aorta-gyűrűk VEGF-indukált endothelproliferációját monitoroztuk a kimérát termelő sejtvonal jelenlétében. A plazmidot 4T1 mellrák vonalra transzfektáltuk, a transzfektált és vad típusú sejtvonallal BALB/c egereket fertőztünk, a tumorképződést időben követtük.

Eredmények: A kimérát *E. coli*-ból tisztítottuk, bomlását SDS-PAGE-gel értékeltük. Proteázinhibitor mellett a teljes kimérát (80 kDa), hiányában a hasított angiostatint (55 kDa) és proteázt (25 kDa) detektáltuk. Függőcseppkultúrában endothelsejtek proliferációja, migrációja gátlódott a kimérát termelő sejtvonal jelenlétében. A kimérát termelő szövettenyészet elvégzett aortateszt negatívnak bizonyult.

A tumornövekedés *in vivo* tesztrendszerben, 20 független klónvonal esetében vizsgálva kb. 10 nappal később indult meg a transzfektált sejtekkel fertőzött egerekben. A kontrollállatoknál már volt elhullás, mikor a transzfektált vonallal injektált állatokban nem.

Jelenleg a plazmid *in vivo* bevitelén, más csoportokkal kollaborációban módosított őssejtterápiás kezelés előkészületén dolgozunk.

Összegzés: Sikert a célnak megfelelő konstrukciót létrehozni. Molekulánk a terv szerint aktív angiostatint szabadít fel, mely mind *in vitro* szövettenyésztési, mind *in vivo* állatkísérletekben tumorrepresszív hatást fejt ki. A molekula iparjogvédelmi oltalmának megszerzése folyamatban van.

Témavezető: Dr. Szilák László