

Az angiostatin felhasználási lehetőségei a tumorelles terápiaiban

Bevezetés: A tumorok angiogenezis indukálásával csatlakoznak az érhalószathoz. Ezt gátolva tumorsejtpusztulást, az eredeti tömeg csökkenését idézhetjük elő. Az angiostatin (endogén angiogenezis-inhibitor) a plazminogén N-terminális kringle 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 az extracelluláris térben aktiváció után felszabadítja az angiostatint.

Módszerek: Ismert molekuláris módszerekkel, PCR-rel amplifikált angiostatint és proteázt azonos leolvasási keretben megfelelő vektorba ligáltunk. A plazmidkonstrukció tartalmazta a bakteriális és eukarióta expresszióhoz szükséges elemeket. A vektorral in vitro és in vivo angiostatin-termelés céljából E. coli törzset, humán és egér sejtvonalakat transzfektáltunk. Aortatesztet végeztünk, melyben matrigelbe ágyazott 3 napos patkány aortagyűrűk VEGF-indukált endothelproliferációját monitoroztuk a kimérát termelő sejtvonal jelenlétében. A plazmidot 4T1 mellrák vonalba transzfektáltuk, a transzfektált és vad típusú sejtvonallal BALB/c egereket fertőztünk, a tumorképződést időben követtük.

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

A tumornövekedés in vivo tesztrendszerben, 20 független klón-vonal esetében vizsgálva kb. 10 nappal később indult meg a transzfektált sejtekkel fertőzött egerekben. A kontroll állatoknál már volt elhullás, ugyanakkor a transzfektált vonallal injektált állatokban nem. Utóbbi populációban a metastasisméretetek is elmaradtak a kontrollhoz viszonyítva. Jelenleg a plazmid in vivo bevitelén, egérmodellben történő további lokális és távolhatások jellemzésén dolgozunk más csoportokkal kollaborációban.

Következtetés: Sikerült a célnak megfelelő konstrukciót létrehozni. Megállapítottuk, hogy 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.

Témavezetők: Dr. Tímár József, Dr. Szilák László