

CUGBP2 IR HUR BALTYMŲ RAIŠKA BEI FUNKCIJA ŽMOGAUS KASOS ADENOKARCINOMOS PATOGENEZĖJE

Aldona Jakštaitė¹, Aurelija Maziukienė¹, Giedrė Šilkūnienė¹, Antanas Gulbinas^{1,2},
Žilvinas Dambrauskas^{1,2}

¹ Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos

Virškinimo sistemos tyrimų institutas,

² Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Chirurgijos klinika

Raktažodžiai: kasos adenokarcinoma, potranskripcinė reguliacija, HuR, CUGBP2, ciklooksigenazė-2 (COX-2), hemoooksigenazė-1 (HO-1).

Santrauka

Kasos adenokarcinoma yra viena agresyviausių onkologinių ligų ir šiuo metu taikomas gydymas yra tik minimaliai veiksmingas gydant šią ligą. Tik 15 - 20% pacientų galima atlikti radikalią operaciją, o chemoterapinis gydymas yra mažai veiksmingas [1]. Šio naviko agresyvumui įtakos turi daugelis veiksnių, tokių kaip nutildyti ar mutavę už naviko slopinimą ir apoptozę atsakingi genai, pokyčiai epigenetiniame reguliavime ar ląstelių metabolizme.

Šiame darbe buvo analizuojama citoprotekcinii molekulių Cox-2 ir HO-1 raiška, kuri yra reguliuojama per CUGBP2 ir HuR baltymus. Šie baltymai gali prisijungti iRNR ir dalyvauti reguliuojant potranskripcinę genų raišką. Analizuojamos citoprotekcinės molekulės yra susijusios su apoptozės slopinimu, angiogenezės skatinimu, naviko išplitimu ir atsparumu oksidaciniam stresui bei chemoterapiniam gydymui.

Baltymų ir iRNR ekspresijos analizei atlikti buvo naudoti Western blot ir tikro laiko polimerazinės grandininės reakcijos (TL-PGR) metodai. Buvo analizuojami kasos vėžio audiniai (iš pooperacinių mėginių) ir sveikos kasos audiniai (iš organų donorų). Vėžiniame audinyje, lyginant su sveiku kasos audiniu, HuR ir CUGBP2 ekspresija iRNR ir baltymų lygmenyje buvo sumažėjusi ($p < 0.05$). Tuo tarpu citoprotekcinii molekulių COX-2 ir HO-1 ekspresija buvo padidėjusi ($p < 0.05$). Atsiradęs disbalansas tarp CUGBP2 ir HuR molekulių bei padidėjusi COX-2 ir HO-1 molekulių ekspresija gali būti

susiję su dideliu kasos vėžio atsparumu chemoterapijai ir ankstyvu naviko išplitimu. Šie rezultatai įgalina atlikti tolimesnius funkcinius tyrimus ir įvertinti potranskripcinį genų raiškos reguliavimą kaip naują galimą terapinį būdą kasos adenokarcinomos chemorezistentiškumui mažinti.

Įvadas

Pasaulinės statistikos duomenimis, kasos vėžys yra ketvirta dažniausia mirties nuo onkologinių ligų priežastis [2]. Sergamumas kasos vėžiu kasmet nežymiai didėja [3]. Po diagnozės nustatymo, pacientų, sergančių kasos vėžiu, išgyvenamumo mediana tesiekia 6 mėnesius, o vidutinis 5 metų išgyvenamumo rodiklis yra vos 5%. Po radikali operacijos išgyvenamumas padidėja iki 10-20% [4].

Tik mažiau nei 20% ligonių kasos vėžys diagnozuojamas tada, kai galima radikali operacija. Kitų efektyvių gydymo metodų nėra, nes ši vėžio forma yra atspari tiek chemo-, tiek radioterapijai. Diagnozavus išplitusį naviką, galimas tik paliatyvus gydymas, kuris padeda sumažinti pacientų patiriamus simptomus ir šiek tiek pailgina jų gyvenimo trukmę [5].

Žinoma, kad tam tikri tarpusavyje susiję molekuliniai mechanizmai kasos adenokarcinomos ląstelėse nulemia padidėjusį atsparumą gydymui ir apoptozei. Kasos navikuose aptinkama nemažai genų mutacijų, iš kurių vienos geriausiai ištirtų yra KRAS, CDKN2A, TP53 ir SMAD4 mutacijos [6-8]. Yra duomenų, kad nekontroliuojamas naviko augimas, ankstyvas išplitimas ir didelis atsparumas chemoterapijai yra susiję su už apoptozę atsakingų genų ir naviko augimą slopinančių genų promotorių hipermetiliniu, apoptozės fermentinės sistemos sutrikimais, mikroRNR medijuojama reguliacija bei kitais mechanizmais [9, 10]. Vienas iš tokių mažai ištirtų mechanizmų yra potranskripcinė genų raiškos reguliacija, dalyvaujant RNR suri-

šantiems baltymams.

Potranskripcinės genų raiškos reguliacija yra svarbi daugeliui procesų vėžinėse ląstelėse. RNR surišantys baltymai HuR ir CUGBP2 dalyvauja reguliuojant už apoptozę, naviko išplitimą ir augimą, atsparumą gydymui ir angiogenezę atsakingų genų raišką vėžinėse ląstelėse [11, 12].

HuR baltymas yra RNR surišantis baltymas (RBPs) priklausantis ELAV (ang. *embryonic lethal abnormal vision*) baltymų šeimai. Šis baltymas geba prisijungti ir stabilizuoti iRNR adeninu ir guaninu turtingose sekose, 3' netransliuojamuose regionuose (3'UTR) [13].

CUGBP2 (dar žinomas kaip ETR3) taip pat yra iRNR surišantis baltymas, kuris priklauso CELF baltymų šeimai. CUGBP2 geba prisijungti ir stabilizuoti iRNR toje pačioje sekos vietoje kaip ir HuR baltymas, todėl šie baltymai laikomi antagonistais. Tačiau CUGBP2 atliekama funkcija tai pačiai RNR molekulei gali skirtis [14].

Ciklooksigenazė-2 (COX-2) ir hemoooksigenazė-1 (HO-1) yra citoprotekcinę funkciją turintys baltymai. COX-2 baltymas yra tarpinė prostaglandinų sintezės molekulė, kuri sveikuose audiniuose yra beveik neekspresuojama. Šių molekulių ekspresija padidėja uždegimo metu, pažeistuose ir vėžiniuose audiniuose ir pasižymi ląstelių apsaugine funkcija [15]. Padidėjusi HO-1 ekspresija aptinkama skirtingos rūšies vėžiniuose audiniuose ir pasižymi antioksidacinėmis, antiapoptotinėmis, angiogenezinėmis ir imuninę sistemą veikiančiomis savybėmis [16].

CUGBP2 ir HuR baltymai gali stabilizuoti COX-2 ir HO-1 iRNR molekules. Kita vertus, HuR stabilizuoja, bet kartu ir stimuliuoja, o CUGBP2 stabilizuoja ir slopina COX-2 ir HO-1 iRNR molekulių transliaciją [12, 17, 18]. Sutrikusi RNR surišančių baltymų tarpusavio sąveika gali turėti įtakos citoprotekcinėms baltymų aktyvumui kasos vėžio audinyje ir nulemti neįprastai didelį navikinių ląstelių atsparumą šiuo metu naudojamiems chemoterapiniams preparatams.

Šio darbo tikslas yra išaiškinti RNR surišančių baltymų CUGBP2 ir HuR, dalyvaujančių potranskripcinėje genų raiškos reguliacijoje, reikšmę kasos adenokarcinomos patogenezėje. Taip pat įvertinti šių reguliacinių baltymų kontroliuojamų citoprotekcinėms molekulių COX-2 ir HO-1 raišką sveikame ir navikiniame audinyje.

Tyrimo medžiaga ir metodai

Kasos adenokarcinomos audiniai. Žmogaus kasos adenokarcinomos audiniai (n=20) buvo gauti iš operacijos metu paimtų mėginių. Sveikos kasos audiniai (n=6) buvo gauti iš organų donorų, kurie nesirgo kasos ligomis. Visų eksperimentų metu vėžiniai ir sveiki audiniai buvo apdorojami tuo pačiu metu, siekiant užtikrinti rezultatų palygi-

namumą. Šviežiai paimti audiniai iš karto buvo talpinami į RNALater (Ambion; Huntingdon, UK) tirpalą arba į skystą azotą ir vėliau laikomi -80°C šaldiklyje iki panaudojimo. Kauno regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas pritarė biomedicininis tyrimų vykdymui (Bioetikos leidimo nr. BE-2-10 ir BE-2-17).

RNR išskyrimas ir tikro laiko polimerazinės grandininė reakcijos analizė (TL-PGR). Visas RNR kiekis buvo išskirtas iš audinių naudojant PureLink RNA easy rinkinį (*Ambion*) ir TRI reagentą (*Zymo*) naudojant gamintojo protokolus. Išgrynintos RNR koncentracija buvo nustatoma spektrofotometriiniu metodu (*NanoDrop*). cDNR buvo konvertuojama iš 1 µg RNR kiekio naudojant Super Script Vilo Master Mix rinkinį (*Invitrogen*). TL-PGR buvo naudojama 2 µl cDNR, 1X TaqMan Master Mix ir pradmenys HUR, CUGBP2, HO-1 ir COX-2 nustatymui (*Invitrogen*).

Baltymų analizė. Audiniams lizuoti buvo naudojamas audinių lizės buferis (*Invitrogen*) su proteazių inhibitoriais (*Roche*). Lizatai buvo centrifuguojami 35 min. prie 19000 rpm. Baltymų koncentracija esanti supernatantuose buvo nustatoma BCA baltymų nustatymo rinkiniu (*Thermo Scientific*). Prieš leidžiant baltymų mėginius į gelį, jie buvo kaitinami 5 min. 97°C temperatūroje. Kiekvienam mėginiui paruošti buvo imama 50 µg baltymų. Forezė buvo leidžiama 1 h prie 150 V naudojant 4-12% natrio dodecyl sulfat-poliakrilamidinį gelį (SDS-PAGE). Perkėlimas buvo atliekamas ant PVDF membranos prie 30V 50 min. Membrana buvo blokuojama 30 min. komerciniu blokavimo buferiu (*Invitrogen*) kambario temperatūroje. Su pirminiu antikūniu membrana buvo inkubuojama 4°C per naktį. Buvo naudojami šie pirminiai antikūnai: pelės monokloninis anti HuR 1:200 (*Invitrogen*), triušio monokloninis anti CUGBP2 1:1000 (*Abcam*), triušio monokloninis anti COX-2 1:1000 (*Abcam*), triušio monokloninis anti HO-1 1:1000 (*Abcam*) and pelės monokloninis anti β-actin (*Ambion*). Su antriniu antikūniu membrana buvo inkubuojama 30 min. ir vėliau inkubuojama su chemiliuminescensiniu substratu (*Invitrogen*). Rezultatai buvo analizuojami naudojant gelių dokumentavimo sistemą (UVP).

Statistinė analizė. Statistinė analizė buvo atlikta SPSS 10.0 programa (SPSS Company, Chicago, IL, USA). Nesant normaliajam skirstiniui iRNR ir baltymų analizės palyginimui tarp imčių pasirinktas Mann-Whitney testas. Vizualiniai duomenys pateikti nurodant vidutines reikšmes su standartine paklaida. Reikšmingumo lygmuo buvo pasirinktas, kai p<0.05.

Rezultatai

TL-PGR analizė parodė, kad kasos vėžiniuose audiniuose (n=20), lyginant su sveiku kasos audiniu (n=6),

RNR surišančių baltymų CUGBP2 ir HuR iRNR kiekis atitinkamai buvo 2,2 ir 3,2 kartus sumažėjęs ($p < 0.05$). Tuo tarpu citoprotekcinų baltymų HO-1 ir COX-2 iRNR ekspresija buvo 6,9 ir 2,3 kartus padidėjusi ($p < 0.05$) (1 pav.).

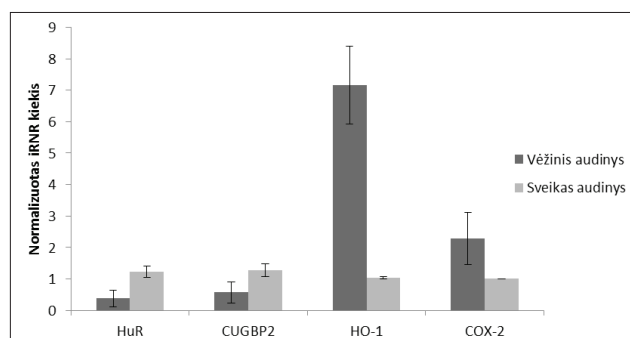
Western blot analizė parodė, kad RNR surišančių baltymų HuR ir CUGBP2 sintezė kasos vėžiniuose audiniuose yra sumažėjusi (storosios žarnos vėžys naudotas kaip teigiama kontrolė) (2A pav.), o citoprotekcinų baltymų HO-1 ir COX-2 sintezė yra padidėjusi, lyginant su sveikais donoriais kasos audiniais (2B pav.).

Diskusija

RNR surišantys baltymai (RBPs) yra svarbūs reguliuojant daugelį vėžinių ląstelių procesų, vieni iš tokių procesų yra proliferacija ir apoptozė. Tačiau viena svarbiausių šių baltymų funkcijų yra potranskripcinė genų raiškos reguliacija. RNR surišantys baltymai gali prisijungti, poliadenilinti ir/ar stabilizuoti iRNR, taip stiprindami arba slopindami transliaciją [11, 19].

Šiame darbe mes parodėme, kad kasos vėžio audinyje yra sumažėjusi RNR surišančių baltymų CUGBP2 ir HuR ekspresija iRNR bei baltymų lygmenyje. CUGBP2 ir HuR raiška žmogaus navikiniuose ir sveikuose audiniuose aiškiai koreliuoja.

Įvairaus tipo vėžiniuose audiniuose stebima padidėjusi HuR baltymo raiška. 2012 m. N. Embade ir kt. savo studijose aprašo padidėjusią HuR baltymo raišką storosios žarnos ir kepenų vėžyje [20]. Tačiau kasos adenokarcinomos studijos rodo, kad HuR baltymo ekspresija navikiniame audinyje gali būti tiek sumažėjusi, tiek ir padidėjusi [21]. Dažniausiai skiriasi ląstelinė lokalizacija: ji gali būti branduolinė, citoplazminė ir branduolinė-citoplazminė [11]. 2010 m. TK Williams imunohistocheminė audinių analizė parodė, kad HuR ekspresija kasos adenokarcinomos audinyje po gydymo chemoterapiniais vaistais buvo padidėjusi [22]. Didelė citoplazminė HuR raiška po chemoterapinio gydymo aptinkama įvairaus tipo navikiniuose audiniuose



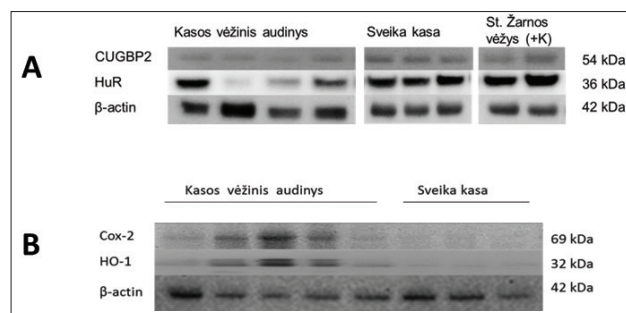
1 pav. Normalizuota iRNR ekspresija sveikoje ir vėžinėje kasoje

se: burnos, tiesiosios žarnos, skrandžio, plaučių, krūties, kiaušidžių, inkstų, odos vėžio ir k.t. Yra žinoma, kad HuR ekspresija stipriai padidėja po tam tikro stresinio poveikio, pvz: UV, chemoterapijos, gama spinduliuotės ir kt. [11]. Tačiau RT-PGR metodo analizė, atlikta audinyje neveikta- me chemoterapija, straipsniuose nėra pateikta.

CUGBP2 raiškos žmogaus kasos navikuose tyrimų literatūroje rasti nepavyko. Tačiau 2013 m. Li-Na Wu savo darbe parodo neigiamą vėžio stadijos ir CUGBP2 iRNR kiekio priklausomybę žmogaus plaučių vėžio audinyje [23]. D. Subramaniam 2011 m. savo darbe aprašo kurkumino sukeltą CUGBP2 ekspresiją ir gyvybingumo sumažėjimą kasos vėžio ląstelėse *in vitro* [12]. Sumažėjusi CUGBP2 baltymo ekspresija gali būti siejama su nereguliuojama citoprotekcinų molekulių raiška, o atstatytas CUGBP2 kiekis gali padidinti vėžio ląstelių jautrumą chemoterapiniams vaistams.

Mes taip pat šiame darbe parodėme padidėjusią citoprotekcinų molekulių COX-2 ir HO-1 ekspresiją. Yra žinoma, kad COX-2 molekulių ekspresija yra reguliuojama CUGBP2 ir HuR baltymų, tik CUGBP2 stabilizuoja ir slopina, o HuR stabilizuoja ir skatina COX-2 molekulių ekspresiją [24]. Panašūs rezultatai pateikiami ir su HO-1 bei HuR molekulių ekspresija, iš kurių matyti, kad HO-1 ekspresija yra susijusi su HuR potranskripciniu reguliavimu. 2009 m. Yuki Kuwano ir kolegų pateiktame darbe matyti, kad po NO stresinio poveikio žmogaus fibroblastuose didėja HuR ekspresija kartu didindama ir HO-1 ekspresiją [18]. Tačiau HO-1 ir CUGBP2 molekulių tarpusavio analizė dar nėra atlikta iki šiol.

Žinant, kad CUGBP2 ir HuR reguliuoja ir daugelio kitų su karcinogeneze bei chemorezistentiškumu susijusių molekulių potranskripcinę genų raišką, yra labai svarbu įvertinti šių baltymų biologinį aktyvumą ir galimą tarpusavio antagonizmą. Galimas šių baltymų disbalansas ir savybė



2 pav. A. CUGBP2 ir HuR baltymų kiekis palygintas sveikame ir vėžiniame kasos bei vėžiniame storosios žarnos audiniuose (teigiama kontrolė). B. Cox-2 ir HO-1 baltymų kiekis palygintas sveikame ir vėžiniame kasos audiniuose

prisijungti bei stabilizuoti įvairias iRNR gali būti pagrindinė apoptozės slopinimo ir chemorezistentiškumo priežastimi.

Tolimesniais tyrimais bus siekiama atlikti funkcinis tyrimus su ląstelėmis tildant arba skatinant šių RNR surišančių baltymų ekspresiją. Tai bus atliekama siekiant išaiškinti galimas chemorezistentiškumo priežastis, bei padidinti kasos navikinių ląstelių atsaką į chemoterapinius preparatus.

Išvados

RNR surišančių baltymų CUGBP2 ir HUR raiška kasos vėžiniame audinyje buvo mažesnė lyginant su sveiku kasos audiniu. Tai galėjo turėti įtakos citoprotekcinų baltymų COX-2 ir HO-1 kiekio padidėjimui kasos vėžiniame audinyje, dėl ko ląstelės per įvairius mechanizmus galėjo būti apsaugotos nuo žalingo chemoterapinių preparatų poveikio ir apoptozinių procesų paleidimo.

Padėka

Šis mokslinis tyrimas finansuotas Europos socialinio fondo lėšomis pagal visuotinės dotacijos priemonę.

Literatūra

1. Bittoni A, Santoni M, Lanese A, Pellei C, Andrikou K, Stefano C. Neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: an emerging strategy. *Gastroenterol Res Pract*. 2014;2014:183852.
2. Siegel R, Naishadham D, Jamal A. Cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62:10–29.
3. Malvezzi M, Bertuccio P, Levi F, La Vecchia C, Negri E. European cancer mortality predictions for the year 2014. *Annals of Oncology* 00: 1–7, 2014.
4. Cote ML, Schenk M, Schwartz AG, Vigneau FD, Kinnard M, Greenson JK, Fryzek JP, Ying GS, Garabrant DH. Risk of other cancers in individuals with a family history of pancreas cancer. *J Gastrointest Cancer* 2007; 38(2-4): 119–126.
5. Chari ST. Detecting Early Pancreatic Cancer-Problems and Prospects. *SeminOncol* 2007 August; 34(4): 284–294.
6. Sousa CM, Kimmelman AC. The complex landscape of pancreatic cancer metabolism. *Carcinogenesis* 2014 Jul; 35(7):1441-50.
7. Collins MA, Pasca di Magliano M. Kras as a key oncogene and therapeutic target in pancreatic cancer. *Front Physiol* 2014 Jan 21; 4:407.
8. Saiki Y, Horii A. Molecular pathology of pancreatic cancer. *Pathol Int* 2014 Jan; 64(1):10-9.
9. Drakaki A, Iliopoulos D. MicroRNA-gene signaling pathways in pancreatic cancer. *Biomed J*. 2013 Sep-Oct; 36(5):200-8.
10. Dauksa A, Gulbinas A, Endzinas Z, Oldenburg J, El-Maarri O. DNA methylation at selected CpG sites in peripheral blood leukocytes is predictive of gastric cancer. *Anticancer Res* 2014 Oct; 34(10):5381-8.
11. Wang J, Guo Y, Chu H, Guan Y, Bi J, Wang B. Multiple Functions of the RNA-Binding Protein HuR in Cancer Progression, Treatment Responses and Prognosis. *Int J Mol Sci*. May 2013; 14(5): 10015–10041.
12. Subramaniam D, Ramalingam S, Linehan DC, Dieckgraefe BK, Postier RG, Houchen CW, Jensen RA, Anant S. RNA Binding Protein CUGBP2/CELF2 Mediates Curcumin- Induced Mitotic Catastrophe of Pancreatic Cancer Cells. *PLoS One*. 2011 Feb; 11:6(2)
13. Abdelmohsen K, Gorospe M. Posttranscriptional regulation of cancer traits by HuR. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2010 Sep-Oct; 1(2):214-29.
14. Sureban SM, Murmu N, Rodriguez P, May R, Maheshwari R, Dieckgraefe BK, Houchen CW, Anant S. Functional antagonism between RNA binding proteins HuR and CUGBP2 determines the fate of COX-2 mRNA translation. *Gastroenterology* 2007 Mar; 132(3):1055-65.
15. Doré M. Cyclooxygenase-2 expression in animal cancers. *Vet Pathol* 2011 Jan; 48(1):254-65.
16. Berberat PO, Dambrauskas Z, Gulbinas A, Giese T, Giese N, Künzli B, Autschbach F, Meuer S, Büchler MW, Friess H. Inhibition of Heme Oxygenase-1 Increases Responsiveness of Pancreatic Cancer Cells to Anticancer Treatment. *Clin Cancer Res* 2005; 11:3790-3798.
17. Barbisan F, Mazzucchelli R, Santinelli A, Lopez-Beltran A, Cheng L, Scarpelli M, Montorsi F, Montironi R. Overexpression of ELAV-like protein HuR is associated with increased COX-2 expression in atrophy, high-grade prostatic intraepithelial neoplasia, and incidental prostate cancer in cystoprostatectomies. *Eur Urol* 2009; 56, 105–112.
18. Kuwano Y, Rabinovic A, Srikantan S, Gorospe M, Dimple B. Analysis of Nitric Oxide-Stabilized mRNAs in Human Fibroblasts Reveals HuR-Dependent Heme Oxygenase 1 Upregulation. *Mol Cell Biol* 2009; 29(10):2622.
19. Mukhopadhyay D1, Houchen CW, Kennedy S, Dieckgraefe BK, Anant S. Coupled mRNA stabilization and translational silencing of cyclooxygenase-2 by a novel RNA binding protein, CUGBP2. *Mol Cell*. 2003 Jan;11(1):113-26.
20. Embade N1, Fernández-Ramos D, Varela-Rey M, Beraza N, Sini M, Gutiérrez de Juan V, Woodhoo A, Martínez-López N, Rodríguez-Iruretagoyena B, Bustamante FJ, de la Hoz AB, Carracedo A, Xirodimas DP, Rodríguez MS, Lu SC, Mato JM, Martínez-Chantar ML. Murine double minute 2 regulates Hu antigen R stability in human liver and colon cancer through NEDDylation. *Hepatology* 2012 Apr;55(4):1237-48.
21. J. Brody, A. Dasgupta, C. L. Costantino, E. Kennedy, C. J. Yeo and A. K. Witkiewicz. Correlation of HuR cytoplasmic expression in pancreatic cancer and overall patient survival when treated with gemcitabine in the adjuvant setting. [Abstracts] *J Clin Oncol* 2009; 27no. 15S 11097.
22. Williams TK1, Costantino CL, Bildzukevicz NA, Richards NG, Rittenhouse DW, Einstein L, Cozzitorto JA, Keen JC, Dasgupta

- A, Gorospe M, Gonye GE, Yeo CJ, Witkiewicz AK, Brody JR. pp32 (ANP32A) expression inhibits pancreatic cancer cell growth and induces gemcitabine resistance by disrupting HuR binding to mRNAs. *PLoS One*. 2010 Nov 29;5(11):e15455.
23. Wu LN, Xue YJ, Zhang LJ, Ma XM, Chen JF. Si-RNA mediated knockdown of CELF1 gene suppressed the proliferation of human lung cancer cells. *Cancer Cell Int*. 2013 Nov 15;13(1):115.
24. Mukhopadhyay D, Jung J, Murmu N, Houchen CW, Dieckgraefe BK, Anant S. CUGBP2 plays a critical role in apoptosis of breast cancer cells in response to genotoxic injury. *Ann N Y Acad Sci* 2003 Dec;1010:504-9.

EXPRESSION AND FUNCTION OF CUGBP2 AND HUR PROTEINS IN HUMAN PANCREATIC ADENOCARCINOMA PATHOGENESIS

A. Jakštaitė, A. Maziukienė, G. Šilkūnienė, A. Gulbinas, Ž. Dambrauskas

Key words: pancreatic adenocarcinoma, post-transcriptional regulation, HuR, CUGBP2, COX-2, HO-1.

Summary

Pancreatic ductal adenocarcinoma is extremely aggressive cancer and currently available therapies are only minimally effective in treating this disease. Tackling this devastating cancer has been a major challenge to the scientific and medical communities, in part due to its intense therapeutic resistance. There are numerous aspects of this tumor that contribute to its aggressive behavior, including a number of mutated tumor su-

pression and apoptosis pathways, altered cellular metabolism and changes in the epigenetic regulation. In this study we examined the association of this post-transcriptional regulation pathway (CUGBP2 and HuR) and the expression of COX-2 and HO-1, which are known to be associated with inhibition of apoptosis, increased tumor invasiveness and resistance to oxidative stress and/or chemotherapy, and promotion of angiogenesis. Western blot analysis, immunohistochemistry and quantitative RT-PCR were employed to show the expression of mRNA and protein in normal pancreas (from organ donors), cancer tissue (surgical specimens). HuR and CUGBP2 expression was lower both at mRNA and protein levels in pancreatic cancer compared to normal tissue ($p < 0.05$). While cytoprotective molecules COX-2 and HO-1 were overexpressed at mRNA and protein levels in pancreatic cancer compared to normal pancreas ($p < 0.05$). The decreased or altered activity of CUGBP2 and HuR could be associated with high chemoresistance and early dissemination of pancreatic cancer through the HO-1 and COX-2 mediated cytoprotective and carcinogenesis pathways. These results mandate further functional studies and evaluation of post-transcriptional regulation as a new potential therapeutic target.

Correspondence to: aldona.jakstaite@gmail.com

Gauta 2014-11-25