

Identificatie en in vivo testen van farmacologische remmers voor essentiële Fra-1 target-genen in borstkanker metastase

Recentelijke medische en wetenschappelijke vooruitgang heeft de overlevingskansen van borstkanker patiënten drastisch verhoogd, echter blijft verbetering van therapie van onschatbare waarde voor het nemen van de volgende stap in de behandeling van borstkanker, en met name borstkanker metastasering.

Om nieuwe doel-eiwitten/genen te ontdekken voor de ontwikkeling van nieuwe medicijnen die o.a. kunnen bijdragen aan een verbetering van de reactie op huidige chemotherapeutica, hebben wij een Fra-1 genexpressie “vingerafdruk” ontwikkeld die met hoge nauwkeurigheid de terugkeer van borstkanker kan voorspellen in patiënten (Desmet, C., Gallenne, T., *et al.*, PNAS, in press). Deze prognostische classificator stelde ons tevens in staat om genen gerelateerd aan Fra-1 expressie te ontdekken die correleerden met een slechte prognose en dus een essentiële rol spelen bij het verloop van de ziekte. Ons systematisch onderzoek naar deze genen heeft bewezen het klinische verloop van de ziekte mogelijk baat heeft bij het gebruik en/of ontwikkeling van remmers tegen de producten van deze genen, gebaseerd op de effecten die wij hebben geobserveerd in onze muismodellen voor borstkanker metastase onderzoek.

Wij hebben in ieder geval twee genen geïdentificeerd waarvan de remming op gen-niveau en sterk inhiberend effect heeft op borstkanker metastase. Deze genen hebben laten zien een belangrijke waarde te vervullen in aanloop naar de ontwikkeling en het gebruik van potentiële nieuwe anti-borstkanker middelen.

Wij hebben ontdekt dat de Adenosine A2b receptor (ADORA2B) een essentieel eiwit is voor het metastaserende fenotype van borstkanker cellen. In dit lopende project hebben wij laten zien dat een commercieel-verkrijgbaar (tot dusver niet gerelateerd aan borstkanker) medicijn tegen ADORA2B in staat is het effect van onderdrukking van borstkanker metastase door een veel voorkomend chemotherapeutikum (docetaxel) met een veelvoud te versterken (Figuur 1). Meer recentelijk hebben wij de moleculaire grondslag voor deze observaties kunnen ontrafelen, door te demonstreren dat de remming van ADORA2B leidt tot een sterke afname van de vorming van filopodia – cellulaire uitstulpingen die bijdragen aan kankercel migratie en invasie (Figuur 2) (Desmet, C., Gallenne, T., *et al.*, PNAS, in press). Dit inzicht stelt ons in staat om het gebruik van medicijnen tegen dit eiwit meer specifiek toe te passen in een combinatie regime die de verscheidene aspecten van metastasering, maar ook primaire tumor groei behandelt. Experimenten die zich op deze aspecten in het bijzonder richten zijn voortdurend.

Experimentele remming van het andere gen, dat tevens is geïdentificeerd met de Fra-1 classificator, en waarvan tot dusver nog onbekend is dat het een belangrijke rol speelt in borstkanker, laat een zeer sterke inhibitie zien van niet alleen metastasering, maar ook van primaire tumor groei van borstkanker cellen *in vivo*.

Tot op heden zijn er geen remmers beschikbaar tegen het eiwit. Om derhalve een middel te ontwikkelen dat hiertoe in staat is zijn wij een samenwerking aangegaan met MRC Technology UK, dat een team van multidisciplinaire experts ter beschikking heeft gesteld om een bijdrage te leveren aan dit project. Gedurende de explorerende fase van afgelopen jaar

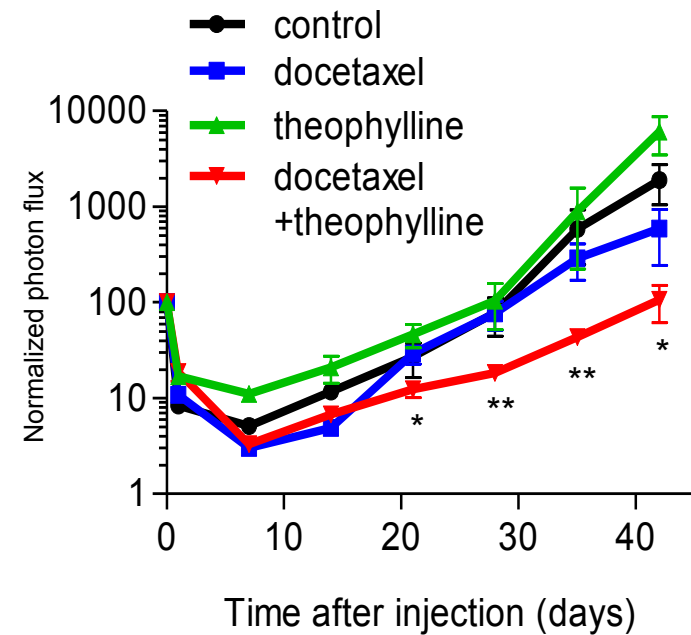
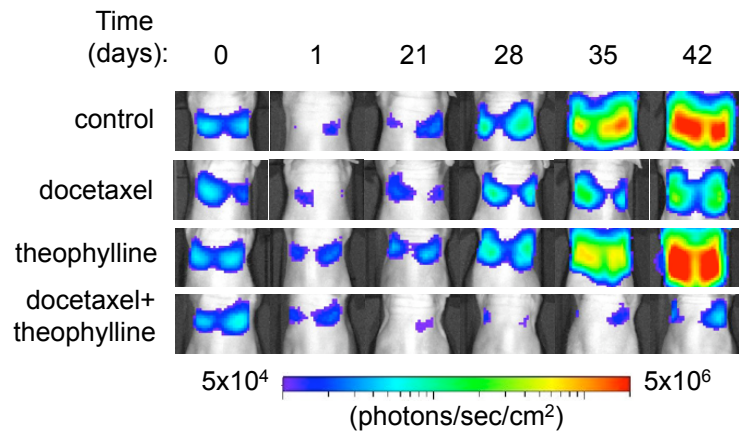
NIET-CONFIDENTIEEL

zijn wij er al in geslaagd om grote hoeveelheden van het recombinante eiwit te produceren, en hebben we gezamenlijk een platform voor een “high-throughput” assay geoptimaliseerd dat ons in staat zal stellen een screening te doen van de tienduizenden farmacologische stoffen in de moleculaire collecties van MRC-T. Tot dusver heeft er een pilot screen plaatsgevonden met ongeveer 2000 van deze stoffen en hiervan zijn nu al enkele potentiële remmers geïdentificeerd. Daarnaast hebben beide partijen vele *in vitro* en *in vivo* assays ontwikkeld en beschikbaar om de resultaten van de screen(s) verder te valideren.

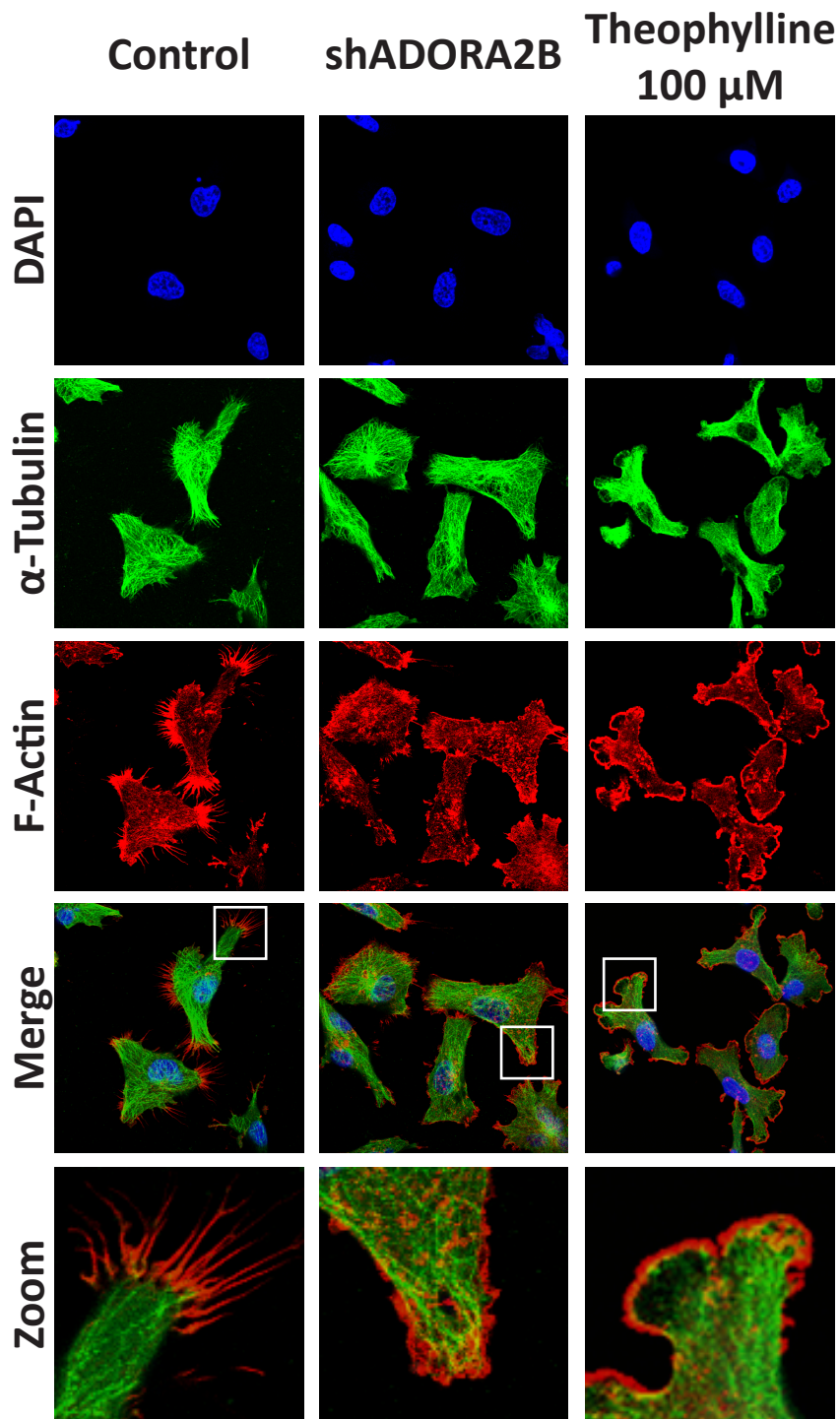
Maart dit jaar zal de officiële ‘project-launch’ plaatsvinden in Londen. We hebben reeds een goede relatie opgebouwd met MRC-T en zijn feitelijk al vóór op schema. Om een farmacologische inhibitor te vinden tegen het eiwit staan wij op het punt de complete screen uit te voeren en met de resultaten hiervan zullen wij bruikbare stoffen gaan testen in onze *in vitro* en *in vivo* systemen om de potentie van dit eiwit als anti-borstkanker doelwit vast te stellen.

Januari 2013

Daniel Peeper Lab – Het Nederlands Kanker Instituut



Figuur 1 | De ADORA2B inhibitor theophylline kan het effect van het veel gebruikte chemotherapeutikum docetaxel aanzienlijk versterken in een muismodel voor borstkanker.



Figuur 2 | Genetische inhibitie met short-hairpin RNAs, alsook chemische inhibitie van ADORA2B met theophylline, demonstreren beide een volledig verlies van filopodia vorming in agressieve borstkanker cellen (zichtbaar in rood); Deze cellulaire uitstulpingen betrokken bij de processen van migratie en invasie van cellen staan bekend om hun relatie met kanker progressie.