МЕДИАТОР СИГНАЛЬНОГО ПУТИ *hippo* TAZ ДЕЙСТВУЕТ КАК НЕГАТИВНЫЙ РЕГУЛЯТОР НАТРИЙ-ЙОДИДНОГО СИМПОРТЕРА

C. Fernández Méndez, P. Santisteban

Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Мадрид, Испания

Обоснование. TAZ/WWTR1 (транскрипционный коактиватор с PDZ-связывающим доменом) — это транскрипционный кофактор, задействованный в *Hippo* сигнальном пути, который играет ключевую роль в контроле клеточной пролиферации, апоптоза, ингибировании межклеточных контактов, самообновления стволовых клеток и регенерации тканей. Сообщалось, что TAZ регулирует эти процессы через трансактивацию транскрипции факторов в ядре, где также было показано, что он взаимодействует со Smad2/3-Smad4 комплексами, поддерживая стимуляцию ядерного накопления под действием ТРФβ (TGFβ). TAZ ко-активирует *Pax8*, основной ген дифференцировки тиреоцитов, в промоторе тиреоглобулина. Более того, *Pax8* является главным позитивным регулятором экспрессии натрий-йодидного симпортера (NIS), а также есть сообщения о том, что он взаимодействует со Smad3, вызывая транскрипционное подавление натрий-йодидного симпортера через TGFβ.

Цель исследования — изучение вовлечения TAZ в экспрессию NIS, так как он является важным белком не только для правильного функционирования щитовидной железы, но и для лечения рака щитовидной железы радиоактивным йодом.

Материал и методы, результаты. Поразительно, что мы обнаружили, что TAZ негативно регулирует транскрипционную активность *Pax8* в натрий-йодидном промоторе. Более того, мы предоставили доказательства, что TAZ может играть важную роль в снижении экспрессии натрий-йодидного симпортера под действием TGFβ; мы выявили, что TAZ-белок в основном локализуется в ядре под обработкой этим цитокином, и его контролируемое снижение активности индуцирует частичное восстановление натрий-йодидного симпортера и уровней мРНК. Наши результаты также демонстрируют повышенную экспрессию TAZ в клеточных рядах тиреоидной карциномы, в которых типично снижен уровень натрий-йодидного симпортера. Специфично, что ядерная транслокация TAZ повышена в клетках тиреоидной карциномы с мутацией BRAFV600E, или когда этот онкоген условно активирован. С тех пор как мы описали, что эта мутация повышает секрецию TGFβ, это может быть связано с пониженными уровнями натрий-йодидного симпортера в этих клетках.

Выводы. Это исследование бросило луч света на важную роль *Hippo* сигнального пути в регуляции натрий-йодидного симпортера в клетках щитовидной железы, подавляя активность *Pax8* и ухудшая дифференцировку тиреоцитов. При условии, что была обнаружена сверхэкспрессия этого белка при тиреоидной карциноме, дальнейшие исследования роли TAZ в онкогенезе щитовидной железы позволят развить новые стратегии лечения рака щитовидной железы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Медиатор TAZ, натрий-йодидный симпортер, тиреоциты.

★ ★ ★

doi: 10.14341/probl201662552-53

ERK DIMERS INHIBITION IS A THERAPEUTIC TARGET IN THYROID CANCER

A. Acuña-Ruiz¹, M. A. Zaballos², G. Riesco-Eizaguirre^{3,4}, P. Crespo⁵, P. Santisteban⁴

¹Autonomous University of Madrid, Madrid, Spain

²Biomedical Research Institute of Madrid, Madrid, Spain

³Móstoles University Hospital, Madrid, Spain

⁴Biomedical Research Institute «Alberto Sols», Madrid, Spain

⁵Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTec), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Spain

Thyroid carcinoma is the most common endocrine malignancy, and its incidence is rapidly rising in the world. Its initiation and progression involves multiple genetic and epigenetic alterations whereby BRAF and RAS mutations lead to the activation of the ERK signaling pathway. Recently, significant advances have been accomplished by developing pharmacological agents directed against the kinases of the RAS-ERK pathway. However, most of the molecules tested have undesired side effects and promote drug resistance. Consequently, it is imperative to find alternative RAS-ERK pathway inhibitors. It has been shown that by inhibiting ERKs dimerization it is possible to suppress tumor progression. DEL22379, a small molecule inhibitor for ERK dimerization, has been identified to impede the growth of melanoma tumor cells driven by RAS-ERK pathway oncogenes, without affecting ERK phosphorylation (Cancer Cell 28:17082, 2015). The aim of this work is to study the role played by ERK dimerization and its inhibition using DEL22379 in thyroid cancer progression. We have used an *in vitro* model of thyroid tumor cells harboring oncogenic drivers (RAS or BRAF) to complete viability, migration and invasion assays as well as an orthotopic mouse model with anaplastic cells as an *in vivo* model. We observed that in BRAF mutated cells, ERK dimer formation is sustained for longer compared to the RAS mutated or control cells, resulting in the altered activation of the effected signaling pathway. RAS mutated cells are resistant to DEL22379 *in vitro*, while BRAF mutated cells are not able to form ERK dimers upon inhibitor addition. Consequently, these cells lose their invasive and migratory potential as well as displaying low viability. Preliminary results suggest DEL22379 treatment inhibits tumor growth in orthotopic mice. These results describe a new molecule that could be effectively used as a therapy in thyroid cancers harboring BRAF or RAS mutated genes. We have observed it is able to partially revert the tumorigenic phenotype, which may result in an improved prognosis in thyroid cancer patients.

KEYWORDS

Thyroid cancer, ERK Dimers Therapy.

ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ ERK-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ ПРИ РАКЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

A. Acuña-Ruiz¹, M. A. Zaballos², G. Riesco-Eizaguirre^{3,4}, P. Crespo⁵, P. Santisteban⁴

¹Autonomous University of Madrid, Мадрид, Испания

²Biomedical Research Institute of Madrid, Мадрид, Испания

³Móstoles University Hospital, Мадрид, Испания

⁴Biomedical Research Institute "Alberto Sols", Мадрид, Испания

⁵Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTec), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Испания

Рак щитовидной железы является самым частным злокачественным заболеванием эндокринной системы, частота которого увеличивается во всем мире. В механизме развития рака щитовидной железы принимают участие генетические факторы, факторы окружающей среды, которые способствуют возникновению BRAF- и RAS-мутаций, что в свою очередь активирует ERK-сигнальный путь. В последнее время значительные успехи в лечении рака щитовидной железы были достигнуты благодаря разработке лекарственных препаратов, блокирующих киназы RAS-ERK-сигнального пути. Однако для большинства из них характерны выраженные побочные эффекты. С течением времени к ним развивается резистентность. Таким образом, необходим поиск альтернативных ингибиторов RAS-ERK-пути. Недавно было показано, что замедлить

опухолевый рост можно путем ингибирования ERK димеризации. Так, DEL22379, ингибитор ERK димеризации, замедляет прогрессирование меланомы без влияния на ERK-фосфорилирование (Cancer Cell 28:170826 2015).

Цель исследования — изучение вклада ERK димеризации в прогрессирование рака щитовидной железы и ингибирование ERK димеризации с помощью DEL22379. В своей работе мы использовали модель *in vitro* клеток рака щитовидной железы, имеющих RAS- или BRAF-мутации, чтобы оценить жизнеспособность, миграцию и инвазию. Также мы использовали модель *in vivo* — ортотопических мышей с анапластическим раком. Нам удалось обнаружить, что в клетках с BRAF-мутацией образование ERK димера занимает больше времени, чем в клетках с RAS-мутацией или в группе контроля. При этом клетки с RAS-мутацией нечувствительны к DEL22379, тогда при добавлении этой молекулы к клеткам с BRAF-мутацией теряется способность образовывать ERK димеры, что приводит к потере инвазивного и метастатического потенциала. Предварительные результаты позволяют предположить, что применение DEL22379 ингибирует прогрессирование опухоли у ортотопических мышей. Таким образом, возможно, эту новую молекулу можно будет использовать при раке щитовидной железы, несущих BRAF- или RAS-мутации, что улучшит прогноз у пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Рак щитовидной железы, ингибиторы ERK-сигнального пути.