

MEMORIA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TITULO DEL PROYECTO	FONDO PABLO UGARTE PARA LA INVESTIGACION EN SARCOMA DE EWING
LABORATORIO	UNIDAD DE TUMORES SÓLIDOS INFANTILES INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE ENFERMEDADES RARAS INSTITUTO DE SALUD CARLOS III
INVESTIGADOR PRINCIPAL	JAVIER ALONSO
FECHA INICIO	ABRIL 2013
ANUALIDAD MEMORIA	PRIMER AÑO (ABRIL-DICIEMBRE 2013)

INTRODUCCIÓN

El sarcoma de Ewing es un tumor óseo muy infrecuente que afecta a niños y adolescentes. En España se diagnostican al año aproximadamente 30 nuevos casos.

Es un tumor muy agresivo, con una elevada tasa de recaídas que lo convierten en uno de los tumores infantiles con peor pronóstico. En las últimas décadas, los avances en el tratamiento de este tumor han sido muy escasos, y en consecuencia las tasas de supervivencia permanecen estancadas. Por esta razón se hace imprescindible profundizar en sus características moleculares con objeto de identificar nuevas dianas terapéuticas.

Desde un punto de vista molecular, estos tumores se caracterizan por la presencia de translocaciones cromosómicas. Las translocaciones cromosómicas son mutaciones que fusionan dos cromosomas diferentes, dando lugar a un cromosoma aberrante. Estas mutaciones genéticas son frecuentes en los sarcomas. En concreto, en el sarcoma de Ewing es muy frecuente la fusión de dos cromosomas, el cromosoma 11 y el cromosoma 22 (a este nuevo cromosoma se le llama $t(11;22)$, donde la “t” indica translocación). Esta fusión de dos cromosomas da lugar a la fusión de dos genes, llamados EWS y FLI1, y en consecuencia a la aparición de una nueva proteína que denominamos EWS/FLI1. Esta proteína EWS/FLI1 es característica de los sarcomas de Ewing y no aparece en ningún otro tipo tumoral. De ahí que la identificación de EWS/FLI1 sea imprescindible para diagnosticar este tipo de sarcomas.

Esta nueva proteína EWS/FLI1 posee la capacidad de regular los niveles de otros muchos genes. Y muchos de estos genes son importantes para el desarrollo del tumor. Por ejemplo, algunos de los genes que son regulados por EWS/FLI1 regulan la velocidad de crecimiento del tumor, la capacidad para migrar a través de los tejidos e invadir otros nuevos (metastatizar) o la capacidad para mantener un estado celular indiferenciado (embrionario) característico de estos tumores. Algunos de los genes regulados por EWS/FLI1 más relevantes, como DAX1 (NR0B1), CCK y LOX han sido descritos y estudiados en detalle por nuestro grupo.

Uno de los objetivos principales de nuestro laboratorio es la identificación de genes que son regulados por la proteína EWS/FLI1 característica del sarcoma de Ewing. Nosotros confiamos en que el descubrimiento de nuevos genes y el estudio de su papel en el desarrollo del tumor, podrá en algunos casos conducir al desarrollo de terapias más eficaces contra el sarcoma de Ewing.

OBJETIVOS

Durante este primer año el proyecto de investigación se ha centrado en el estudio de dos genes regulados por EWS/FLI1: LOX y SPRY1. Los objetivos iniciales que se pretenden desarrollar en este proyecto de investigación son los siguientes:

1. Estudiar el potencial terapéutico del propéptido de LOX (LOX-PP) en el tumor de Ewing.
2. Caracterizar el papel de SPRY1, un gen regulado por la oncoproteína EWS/FLI-1, en el desarrollo del sarcoma de Ewing

RESULTADOS

1. Estudio del potencial terapéutico del propéptido de LOX (LOX-PP) en el tumor de Ewing.

Recientemente nuestro grupo descubrió que un gen denominado Lisil Oxidasa (LOX) es un gen regulado negativamente por la proteína EWS/FLI1 característica del sarcoma de Ewing. Con objeto de estudiar más en detalle el papel de este gen en el desarrollo del sarcoma de Ewing se desarrollaron una serie de modelos celulares y se llevaron a cabo diferentes experimentos con células de tumor de Ewing. Las conclusiones a las que se ha llegado con estos experimentos son las siguientes:

- El gen LOX (Lisil Oxidasa) es un gen fuertemente reprimido por EWS/FLI1 en células derivadas del sarcoma de Ewing.
- El gen LOX se expresa a bajos niveles en los sarcomas de Ewing. Esto sugiere que LOX podría actuar como un supresor tumoral en estos tumores. Los genes supresores de tumores son aquellos que “impiden” el desarrollo del tumor. Por esa razón, los genes supresores de tumores se encuentran inactivados en el tumor o sus niveles de expresión son muy bajos como en el caso de LOX en el sarcoma de Ewing.
- Un fragmento de LOX, denominado propéptido de LOX (PP-LOX) bloquea parcialmente la proliferación de las células de Ewing. Hemos observado que este fragmento de LOX tiene propiedades antiproliferativas para las células de sarcoma de Ewing.

Durante la siguiente anualidad, se completará el análisis del efecto antiproliferativo de LOX-PP, ampliando el número de líneas celulares estudiadas y se estudiará el mecanismo de acción de LOX-PP y su efecto antiproliferativo en combinación con otros fármacos. Ver sección “Objetivos para la segunda anualidad”.

2. Caracterización del papel de SPRY1, un gen regulado por la oncoproteína EWS/FLI-1, en el desarrollo del sarcoma de Ewing

Para identificar genes regulados por la oncoproteína EWS/FLI1 característica del sarcoma de Ewing nuestro laboratorio viene ya utilizando desde hace algunos años un modelo de células de Ewing modificadas genéticamente en el cual es posible eliminar la expresión de la proteína EWS/FLI1. Este modelo nos ha sido de gran utilidad para identificar genes regulados por EWS/FLI1 en el sarcoma de Ewing, como por ejemplo DAX1 (NROB1), CCK y LOX.

En este proyecto nos vamos a centrar en el estudio de un nuevo gen regulado por EWS/FLI1, al que denominaremos SPRY1. Nos hemos enfocado en este gene porque es un gen que regula uno de los principales mecanismos implicados en el control de la proliferación celular. Creemos por tanto que el estudio de las características de este gen puede contribuir a conocer mejor los mecanismos implicados en el desarrollo del tumor de Ewing y de esta manera contribuir a la identificación de nuevas dianas moleculares.

Para ello se han desarrollado modelos celulares específicos y se han llevado a cabo experimentos con células derivadas de sarcoma de Ewing para estudiar, por ejemplo, el efecto de este gen sobre la proliferación celular. Las conclusiones a las que se ha llegado con estos experimentos son las siguientes:

- SPRY1 es un gen regulado negativamente por EWS/FLI1. Los niveles de expresión de SPRY1 son muy bajos o indetectables en las células derivadas de sarcoma de Ewing.
- El efecto de EWS/FLI1 sobre los niveles de expresión de SPRY1 es específico y no afecta a otros miembros de la familia de genes SPRY.
- Existen algunos mecanismos denominados epigenéticos que están implicados en la regulación de SPRY1 en las células de Ewing.
- La re-expresión de SPRY1 en células de sarcoma de Ewing inhibe la proliferación celular de estas células tumorales.
- Este efecto antiproliferativo de SPRY1 es mediado, al menos en parte, por la inhibición de un importante mecanismo celular que regula la proliferación celular.

En la siguiente anualidad se continuará con la caracterización del papel de SPRY1 en el sarcoma de Ewing. Ver sección “Objetivos para la segunda anualidad”.

COMUNICACIONES A CONGRESOS Y PUBLICACIONES DIRECTAMENTE DERIVADAS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Se ha presentado una comunicación al congreso:

SPRY1 is a new target of the EWS/FLI1 oncoprotein in Ewing Sarcoma cells.

F. Cidre, L. García, S. López, J. Alonso.

14th International Congress – Asociación Española de Investigación sobre el Cáncer (ASEICA).
Madrid, Septiembre 2013.

Este trabajo fue aceptado como comunicación oral

Durante la segunda anualidad es posible que se elaboren los siguientes artículos de investigación: uno sobre el efecto antitumoral de LOX-PP y otros en el que se describa en profundidad el papel de SPRY1 en el desarrollo de los tumores de Ewing

OBJETIVOS PARA LA SEGUNDA ANUALIDAD

1. Estudiar el potencial terapéutico del propéptido de LOX (LOX-PP) en el tumor de Ewing.

Una vez demostrado que PP-LOX es capaz de inhibir la proliferación de las células de Ewing, pretendemos seguir profundizando en el posible potencial terapéutico del propéptido de LOX. Para ello proponemos:

- 1.1. Ampliar los estudios encaminados a analizar el efecto antiproliferativo de PP-LOX, incrementando el número de células diferentes estudiadas.
- 1.2. Estudiar el mecanismo de acción molecular de PP-LOX, para conocer que rutas moleculares están siendo alteradas.
- 1.3. Estudiar el efecto antitumoral de LOX en combinación con los fármacos convencionales, con vistas a su utilización en futuros ensayos clínicos.

2. Caracterizar el papel de SPRY1, un gen regulado por la oncoproteína EWS/FLI-1, en el desarrollo del sarcoma de Ewing

- 2.1. Caracterizar el efecto de SPRY1 sobre las características principales de las células tumorales, esto es, sobre la proliferación, la capacidad para migrar y el mantenimiento del estado indiferenciado.
- 2.2. Estudiar el mecanismo de acción de SPRY1. Perfiles de expresión y rutas de señalización