

# Prognostický význam proteinu c-Myb u osteosarkomu

Říhová Kamila<sup>1,2</sup>, Vymětalová Ladislava<sup>1,2</sup>, Šrámek Martin<sup>1,2</sup>, Trčka Filip<sup>1,2</sup>, Drápela Stanislav<sup>1,2,3</sup>, Souček Karel<sup>1,2,3</sup>, Kubelková Irena<sup>4</sup>, Zapletalová Danica<sup>1,4</sup>, Staniczková Zambo Iva<sup>1,2</sup>, Múdry Peter<sup>1,4</sup>, Hermanová Markéta<sup>1,2</sup>, Adámková Krákorová Dagmar<sup>5</sup>, Knopfová Lucia<sup>1,2</sup>, Beneš Petr<sup>1,2</sup>

1 M U N I 2 3 4 Akademie věd České republiky 5 FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO 6 MOU MASARYKOVÝ ONKOLOGICKÝ ÚSTAV

osteosarkom (OS):

nejčastější maligní nádor kostní tkáně

transkripční faktor c-Myb je onkogen:

prispívá k maligní transformaci buněk  
zvýšená exprese u nádorů prsu, střeva a leukémií

aktuální poznatky v souvislosti s kostmi:

regulace osteogeneze a vývoje kostí  
exprese v buněčných OS liniích

význam v regulaci vzniku a progresu OS:

dosud nezkoumán

JAK

experimenty *in vivo*:

sledování tvorby plicních metastáz po injekci  $1 \cdot 10^6$  buněk do ocasní žíly imunodeficientních NSG myší, hodnocen byl počet povrchových ložisek na plicích barvených a fixovaných v Bouinově roztoku

Materiál:

buněčná linie SAOS2-LM5 (metastatická varianta linie SAOS2) a její deriváty LM5 MYB KO 12B a LM5 MYB KO 12E (deficientní v produkci c-Myb, vytvořeny metodou CRISPR/Cas9, absence proteinu ověřena imunoblotem (anti-c-Myb, anti- $\alpha$ -tubulin))

experimenty *in vitro*:

určení senzitivity buněk k 300nM doxorubicinu (DOX) a 300 nM metotrexátu (MTX) pomocí průtokové cytometrie, která stanovila % mrtvých buněk značených sondou SYTOXGreen

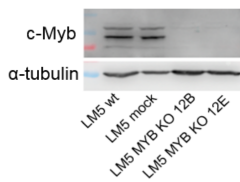
klinická retrospektivní studie u pacientů s OS:

asociace exprese proteinu c-Myb stanovená pomocí IHC barvení protilátkou anti-c-Myb ve vzorcích primárních nádorů s klinicko-patologickými charakteristikami pacientů s OS

Materiál:

archivní vzorky tkáně primárního nádoru 93 pacientů diagnostikovaných a léčených v Masarykově onkologickém ústavu, Brno (MOU) a na Klinice dětské onkologie Fakultní nemocnice Brno (KDO) v období 2007-2020

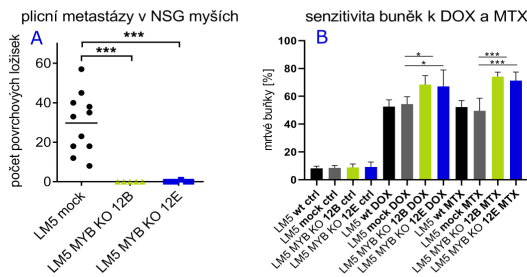
experimenty *in vitro* a *in vivo*



Metodou CRISPR/Cas9 byly vytvořeny deriváty linie SAOS-2 LM5, které neexprimují protein c-Myb (Obr. 1).

Obr. 1: Přítomnost proteinu c-Myb v buněčných lysátech SAOS2-LM5.

Buňky deficientní v produkci proteinu c-Myb mají výrazně potlačenou schopnost vytvářet plicní metastázy a zároveň jsou více citlivé k působení DOX a MTX (Obr. 2).



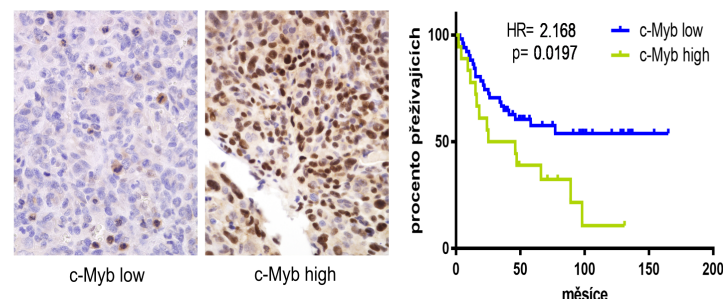
Obr. 2: Metastatická aktivita (A) a chemosenzitivita (B) parentálních buněk a buněk deficientních v produkci proteinu c-Myb. \* p<0,05, \*\*\* p<0,001

klinická retrospektivní studie u pacientů s OS

	věk při dg.	pohlaví		% c-Myb-positivních jader		metastázy	
		muž	žena	≤2	>2	ano	ne
MOU	50,3 ± 18,3 (19-85)	28	25	39	14	12	41
KDO	14,4 ± 4,0 (3-22)	23	17	27	13	10	30

Tab. 1: Charakteristika souboru pacientů s OS zařazených do studie.

Přítomnost proteinu c-Myb v jádrech buněk byla sledována na tkáňových řezech primárního nádoru (Obr. 3). Zvýšená exprese proteinu c-Myb je asociována s horším celkovým přežitím u pacientů s OS (Obr. 4).



Obr. 3: Heterogenita v expresi proteinu c-Myb v OS tkáni dvou různých pacientů.

Obr. 4: Celkové 3leté přežití pacientů s OS v závislosti na expresi proteinu c-Myb.

protein c-Myb reguluje chemosenzitivitu a metastatickou aktivitu linie SAOS2-LM5

protein c-Myb je negativním prognostickým faktorem u pacientů s osteosarkomem

rihova.kam@mail.muni.cz

Výzkum byl podpořen z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s registračním číslem NV18-07-00073 a schválen etickými komisemi MU, MOU a FN Brno.

PROČ

VÝSLEDKY

