



Unione Europea



*Ministero dell'Istruzione,
dell'Università e della Ricerca*



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Biomediche

Dottorato di ricerca in
Biochimica e patologia dell'azione dei farmaci
IX ciclo nuova serie
2007-2011

Tesi di Dottorato in

Ruolo della proteina BAG3 nel microambiente tumorale

Dottoranda Antonia Falco

Tutor Ch.mo Prof. Maria Caterina Turco

Coordinatore Ch.mo Prof. Antonietta Leone

Abstract

It is now recognized that tumor microenvironment undergoes extensive changes during tumor development and influences the evolution and progression of cancer. The hypoxic environment of the tumor stimulates angiogenesis which can directly promote tumor cell survival and invasion. Also the inflammatory infiltrate associated with many solid tumors is able to modulate tumor cell behavior, having both anti- and pro-tumor effects. A major role is also played by fibroblasts surrounding the tumor that are able to release growth factors and cytokines that lead to enhanced angiogenesis and increased tumor growth and invasion.

All these components are potential targets for novel therapeutic strategies; indeed several molecules are currently used in clinical trials. Furthermore, recent data provided the evidence that some components of tumor microenvironment can provide important prognostic and predictive informations. A complete characterization of molecules and cells involved in the tumor maintenance is requested for improving our knowledge on tumor biology.

BAG3 is a cytoplasmatic protein that has been recently characterized for its central role in different tumor-associated processes such as survival, proliferation, migration and autophagy. The role of BAG3 in tumor-associated microenvironment has not been characterized so far.

Although lacking a transmembrane domain, we have found that BAG3 can also be associated to the plasma membrane and be released in the extracellular medium of some neoplastic cells and in particular pancreatic cancer cells. We also confirmed the presence of an extracellular form of BAG3 in sera of patients affected by pancreatic adenocarcinoma. After release into the extracellular fluid, BAG3 may bind to the surfaces of tumor-adjacent cells, so we sought to determine if BAG3 can have an effect on macrophages that play a major role in the inflammatory microenvironment. We found that BAG3 is able to bind the macrophage cell surface and to activate the production of inflammatory associated components.

We also identified a novel role for intracellular BAG3 in regulation of neo-angiogenesis. Indeed we showed that BAG3 is expressed in endothelial cells and that is able to regulate cell proliferation by interacting with ERK and its phosphatase DUSP6. As a consequence reduction of BAG3 results in sustained ERK phosphorylation and reduced growth of endothelial cells both in vitro and in vivo. This in turn impairs in vivo tumor growth as a consequence of reduced angiogenesis.

Altogether these results assign to the anti-apoptotic BAG3 novel functions in tumor microenvironment-associated processes that are able to regulate tumor development.

Sommario

Recenti studi hanno dimostrato che il microambiente tumorale subisce numerosi cambiamenti nel corso dello sviluppo del tumore e influenza l'evoluzione e la progressione del cancro. L'ambiente ipossico del tumore stimola l'angiogenesi che può direttamente promuovere la sopravvivenza delle cellule tumorali e la loro invasione. Anche l'infiltrato infiammatorio, associato a molti tumori solidi, è in grado di modulare il comportamento delle cellule tumorali, con effetti anti- e pro-tumorali. Un ruolo importante è svolto anche dai fibroblasti che circondano il tumore, i quali sono in grado di rilasciare fattori di crescita e citochine che stimolano l'angiogenesi, la crescita del tumore e l'invasione.

Tutti questi componenti sono potenziali bersagli per nuove strategie terapeutiche, e, infatti, diverse molecole che agiscono su tali target, sono attualmente utilizzate nelle sperimentazioni cliniche. Inoltre, dati recenti dimostrano che alcuni componenti del microambiente tumorale sono in grado di fornire importanti informazioni prognostiche e predittive.

A tale scopo diventa sempre più evidente che, una caratterizzazione completa delle molecole e delle cellule coinvolte nel microambiente del tumore, è richiesta per una maggiore conoscenza della biologia del tumore.

BAG3 è una proteina citoplasmatica che è stata recentemente caratterizzata per il suo ruolo centrale in diversi processi associati al tumore quali la sopravvivenza, la proliferazione, la migrazione e l'autofagia. Il ruolo di BAG3 nel microambiente associato al tumore non è stato caratterizzato finora.

Pur non avendo un dominio transmembrana, i nostri studi hanno dimostrato che BAG3 può essere associata alla membrana plasmatica e rilasciata nel mezzo extracellulare di alcune cellule neoplastiche e in particolare cellule tumorali del pancreas. Abbiamo anche confermato la presenza di una forma extracellulare di BAG3 nel siero di pazienti affetti da adenocarcinoma pancreatico.

Dopo il rilascio nello spazio extracellulare, BAG3 può legare la superficie di cellule adiacenti al tumore, e in particolare abbiamo cercato di stabilire se BAG3 può avere un effetto sui macrofagi che svolgono un ruolo importante nel microambiente infiammatorio associato al tumore. Abbiamo trovato che BAG3 è in grado di legare la superficie cellulare dei macrofagi e di indurre la produzione di componenti associati al processo infiammatorio.

Abbiamo anche individuato un nuovo ruolo per BAG3 intracellulare nella regolazione della neo-angiogenesi. Infatti, abbiamo dimostrato che BAG3 è espressa nelle cellule endoteliali e che è in grado di regolare la proliferazione cellulare interagendo con ERK1/2 e la sua fosfatasi DUSP6. Come conseguenza, la riduzione di BAG3 determina una sostenuta fosforilazione di ERK1/2 e una ridotta crescita delle cellule endoteliali in vitro e in vivo. Questo, a sua volta induce una ridotta crescita del tumore in vivo in conseguenza alla ridotta angiogenesi.

Complessivamente questi risultati permettono di individuare per la proteina BAG3 un ruolo nuovo nella regolazione dello sviluppo del tumore.

