

Aktivace genu NKD1 je známkou aberantní signalizace Wnt dráhy v nádorech epitelu: bioinformatická analýza velkých veřejně dostupných datasetů

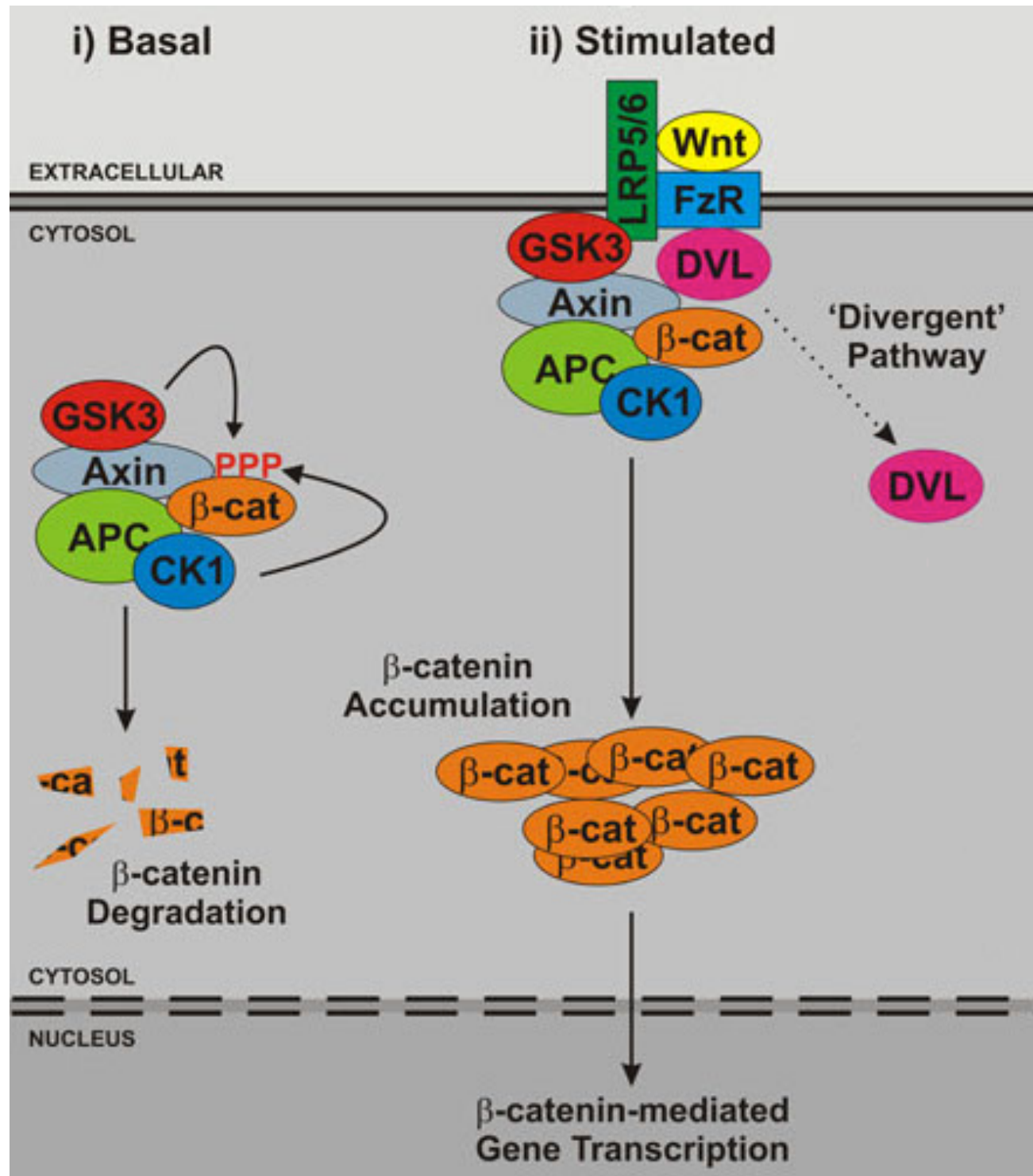
Kolář M., Stančíková J., Krausová M., Fafílek B., Švec J., Neroldová M., Dobeš J., Horázná M., Janečková L., Vojtěchová M., Oliverius M., Jirsa M., Kořínek V.

Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha

3. lékařská fakulta Univerzita Karlova v Praze, Praha

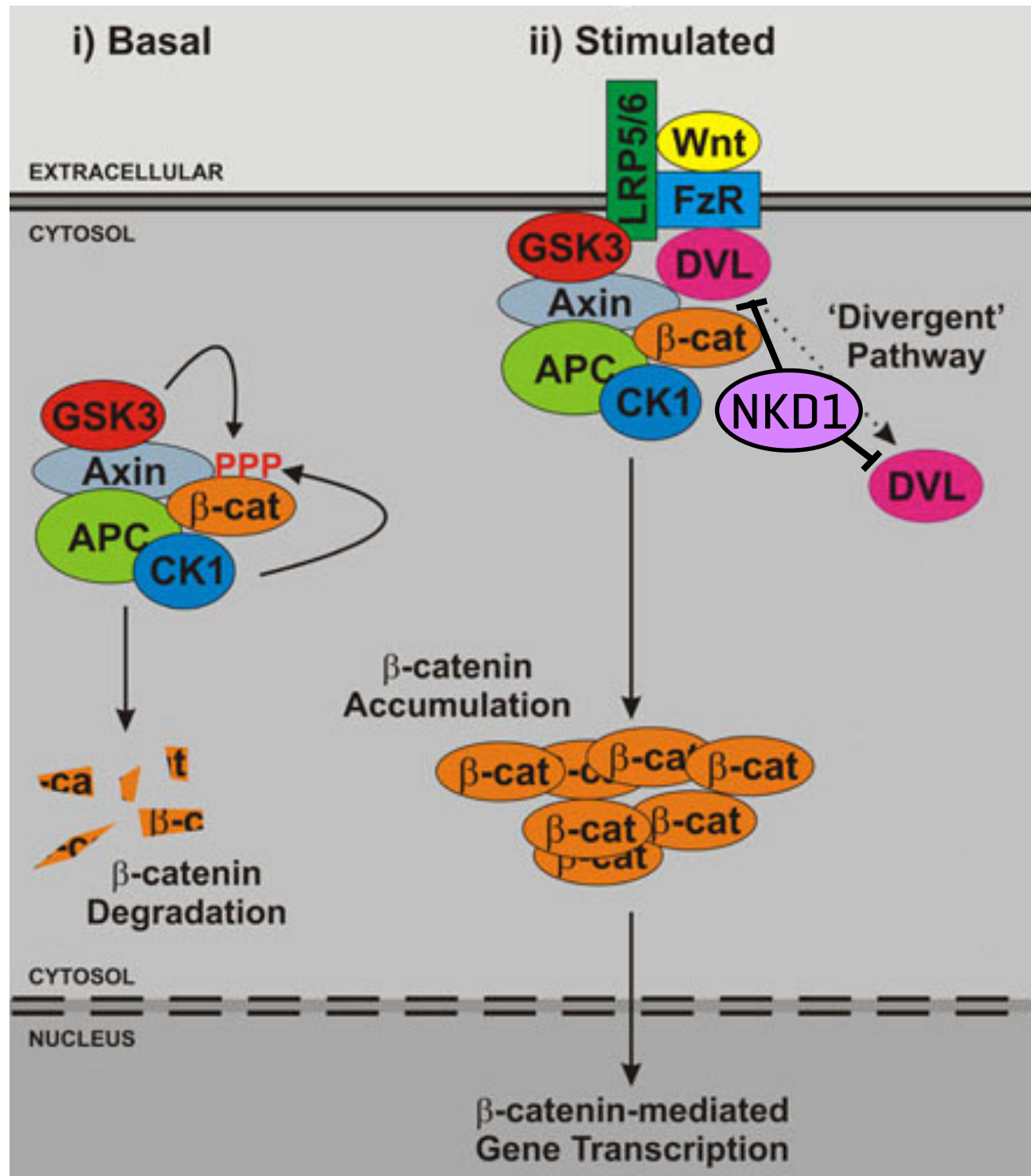
Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Signální dráha Wnt



- V kanonické Wnt-signální dráze dochází k aktivaci transkripce cílových genů po akumulaci beta-kateninu v jádru
- V bazálním stavu je beta-katenin v cytosolu degradován komplexem proteinů
- Při stimulaci je degradační komplex inaktivován a beta-katenin se akumuluje v cytosolu a přechází do jádra

Signální dráha Wnt – NKD1



- Gen Nkd1 byl identifikován v ChIP-chip experimentu jako jeden z cílů Wnt signalizace
- Váže a inaktivuje protein DVL a tak moderuje jak kanonickou Wnt dráhu, tak beta-katenin independetní signalizaci

Signatura Wnt v tlustém střevu a játrech

Geny cílené Wnt signalizací se liší tkáň od tkáně:

1. Wnt signatura v tlustém střevu reguluje pluripotenčnost a proliferaci zárodečných buněk [intestinal stem cells]

AXIN2 -obecný cíl Wnt signalizace

EPHB2 - marker zárodečných buněk střeva

2. Wnt dráha je v játrech aktivována jen v některých buňkách a reguluje metabolismus močoviny

AXIN2

GLUL - cílový gen Wnt signalizace v játrech, glutamin syntetáza

Pro studium aktivity Wnt signální dráhy v játrech a tlustém střevě jsme použili kombinovanou signaturu založenou na genech **AXIN2**, **EPHB2** a **GLUL**

Wnt v nádorech

1. Rakovina tlustého střeva [CRC]

- i. Převážná většina nádorů má mutace v APC a aberantní signalizace Wnt-signální dráhy je téměř pravidlem
- ii. Shlukování dle genů Wnt-signatury ukázalo rozčlenění CRC nádorů do již známých tříd dle microsatellite instability

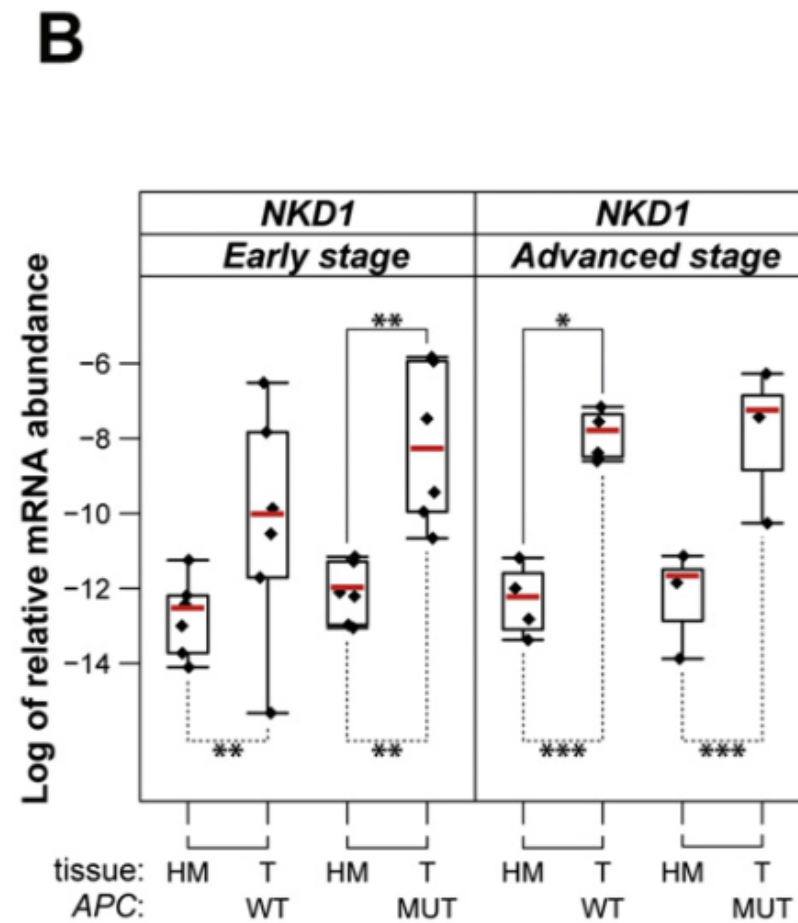
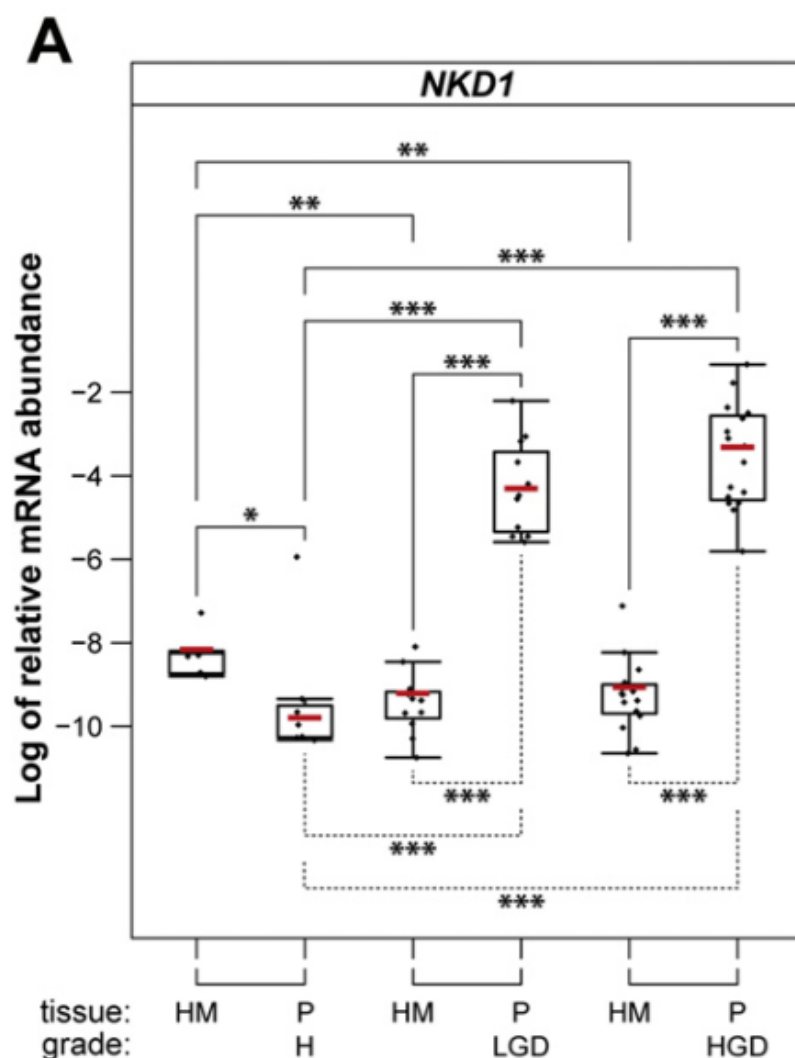
2. Hepatocelulární karcinom [HCC]

- i. Aberantní Wnt-signalizace je pouze u části nádorů
- ii. Souvislost s mutacemi v členech Wnt signální dráhy

Exprese Nkd1 v průběhu rozvoje CRC

1. Na sadě 55 pacientů Jiří Švec analyzoval expresi NKD1 v průběhu rozvoje CRC

- 35 střevních polypů [hyperplasia a dysplasia]
- 20 karcinomů

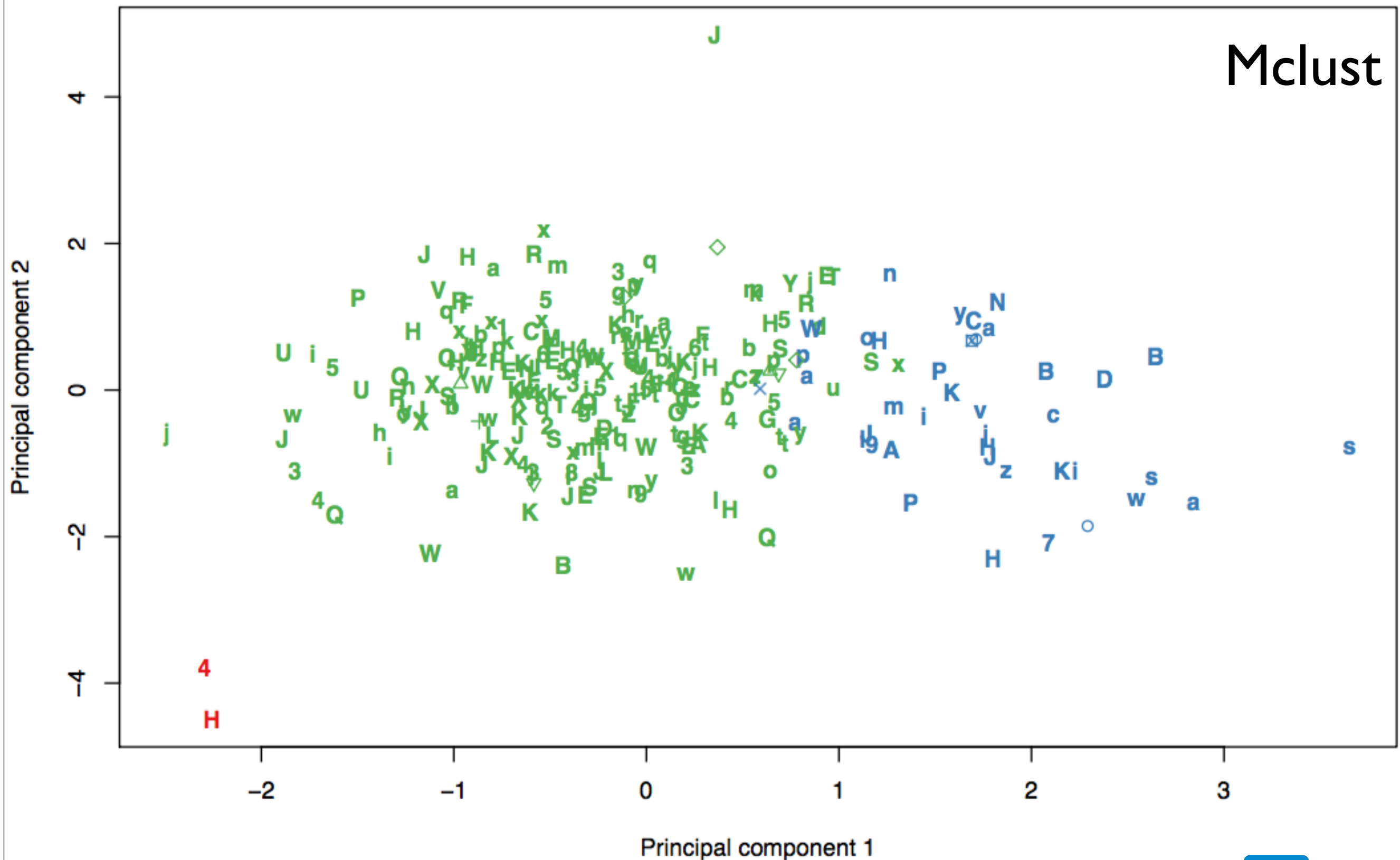


The Cancer Genome Atlas (TCGA)

Public funded project that aims to catalogue and discover major cancer-causing genomic alterations to create a comprehensive “atlas” of cancer genomic profiles. So far, TCGA researchers have analysed large cohorts of over 30 human tumours

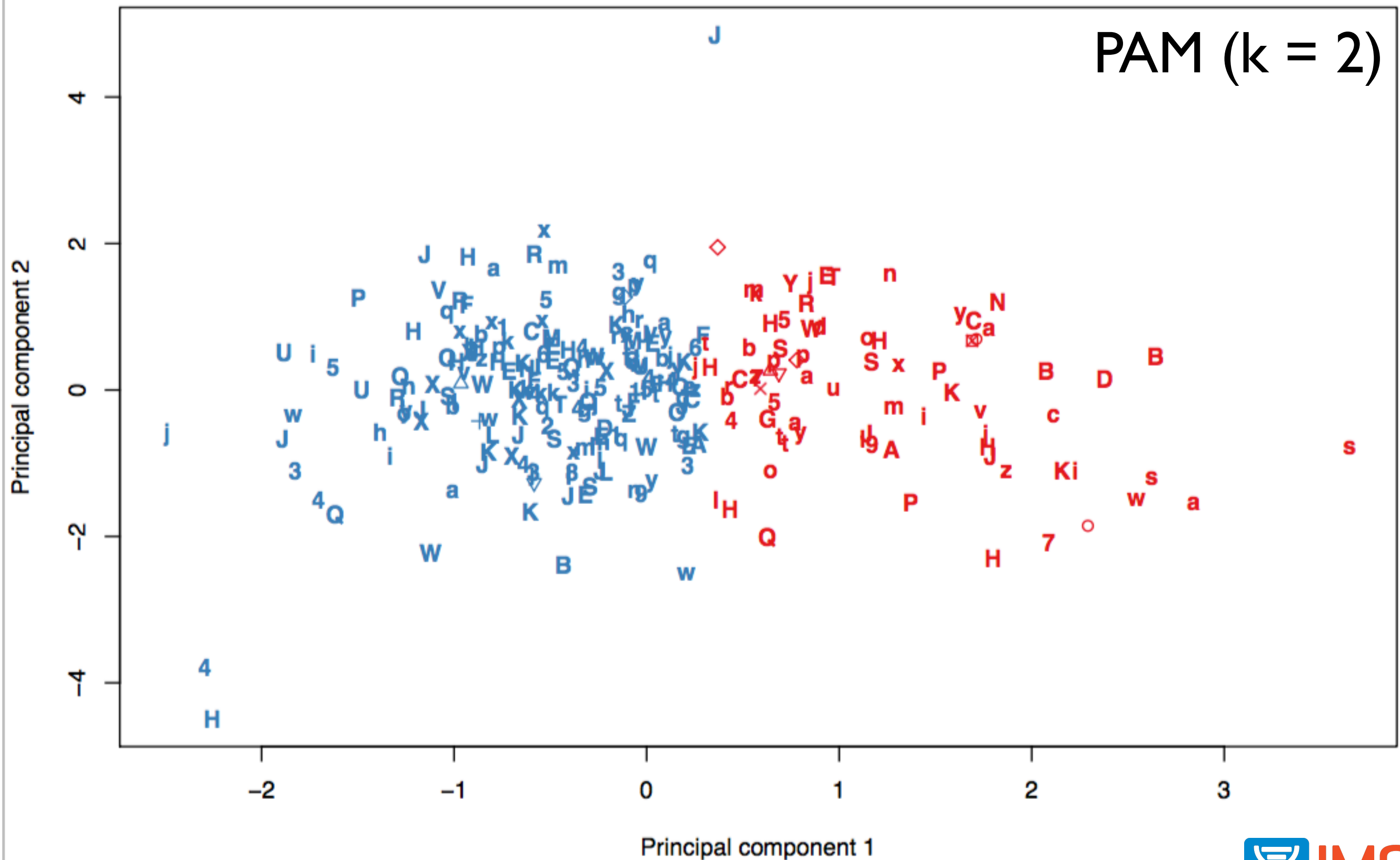
1. sekvenační data
2. expresní data
3. metylační data
4. klinická data
5. ...

Wnt-signatura v nádorech tlustého střeva

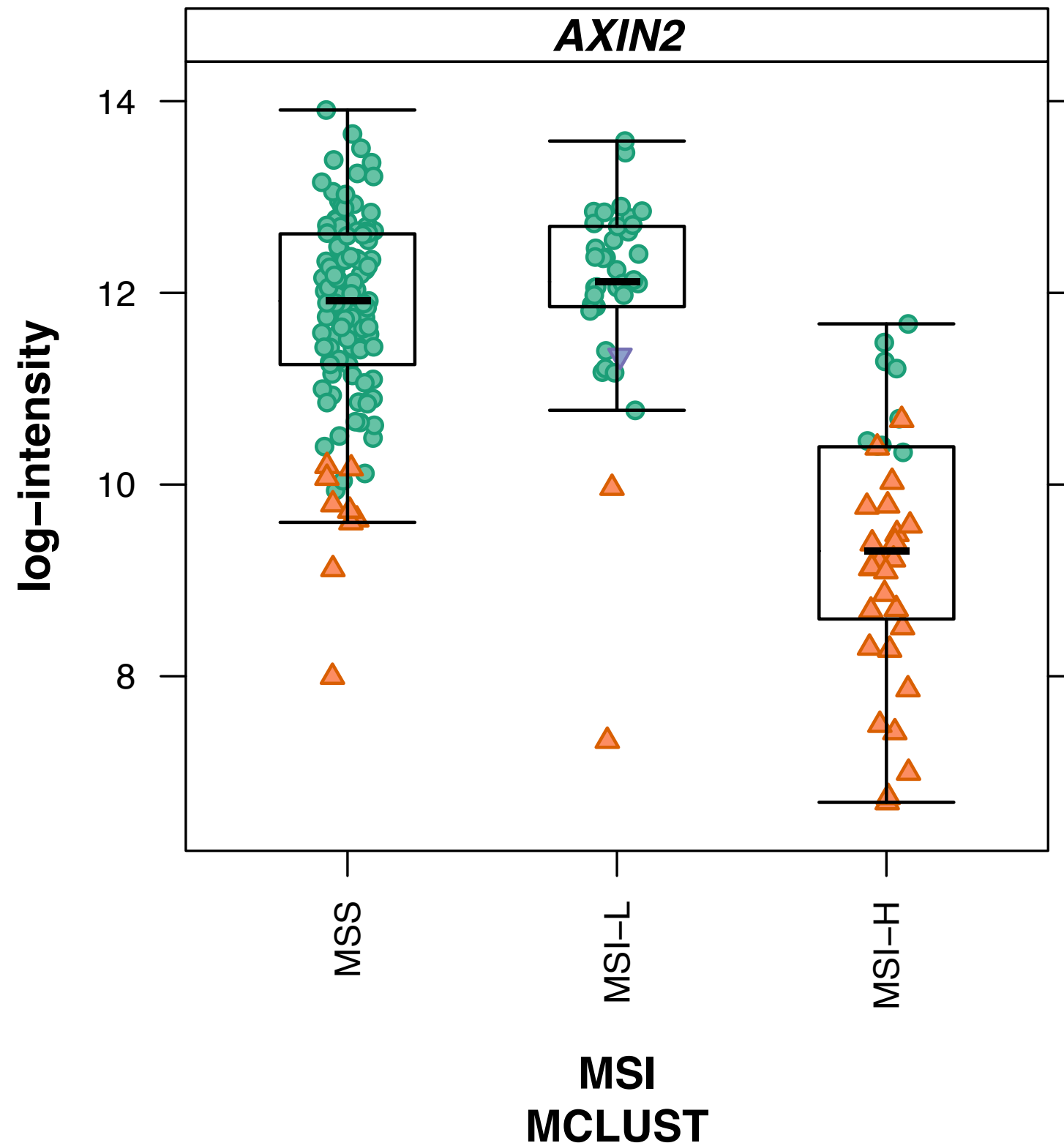


Wnt-signatura v nádorech tlustého střeva

PAM (k = 2)



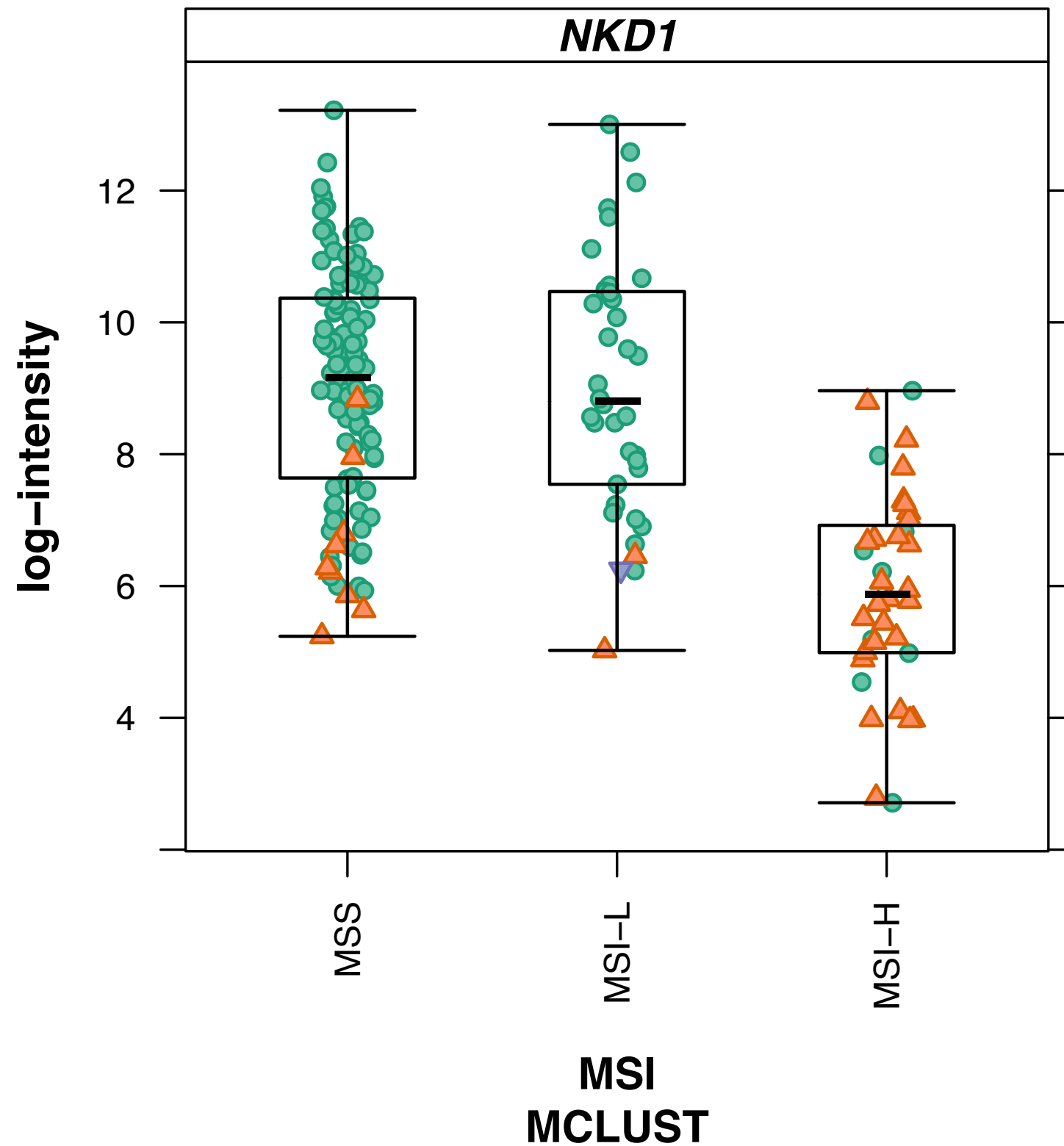
Wnt-signatura v nádorech tlustého střeva



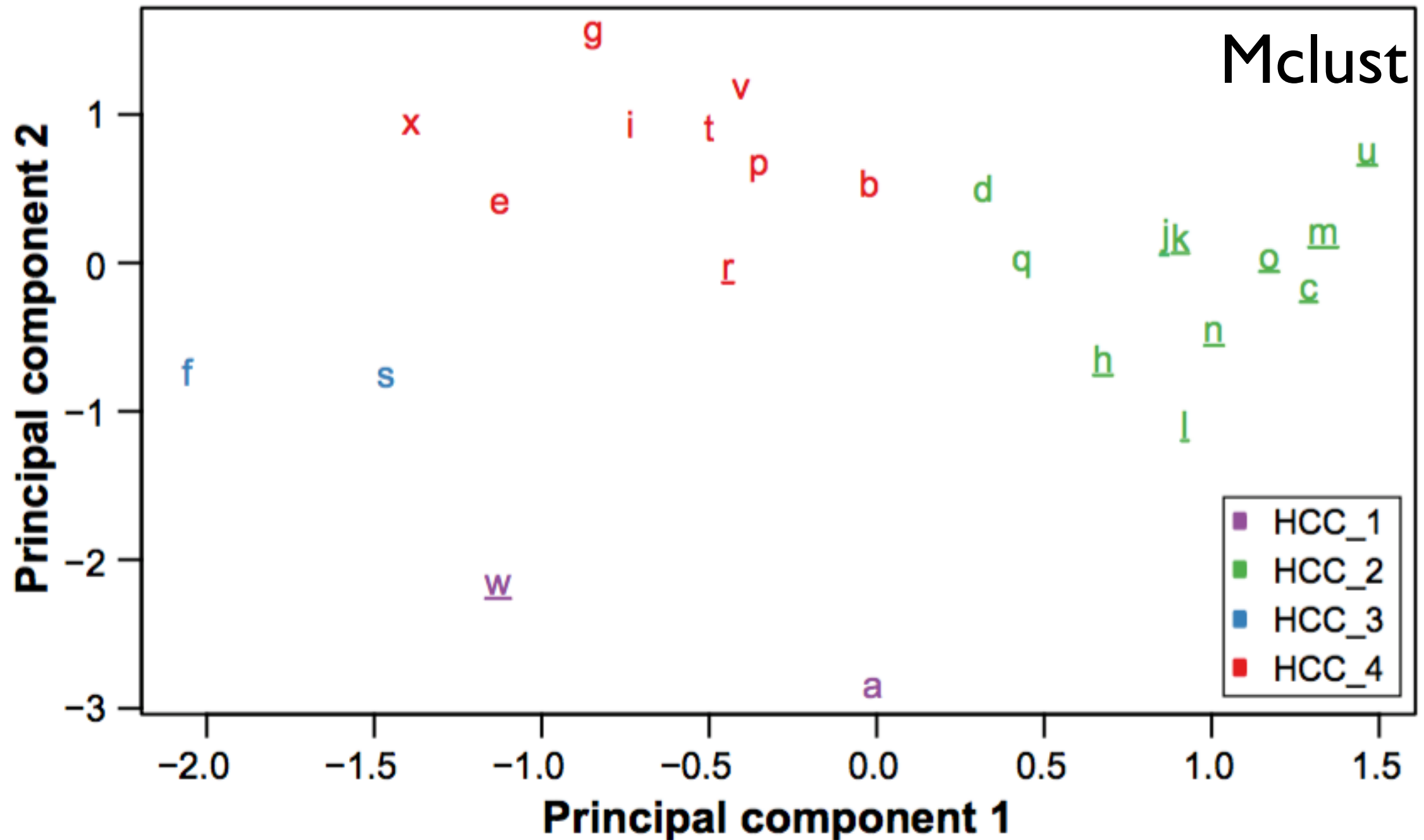
1. Microsatelitní nestabilita

- i. je způsobena poruchou DNA mismatch repair
- ii. v CRC indikuje lepší prognózu onemocnění
- iii. je svázána s nižší aktivitou Wnt signální dráhy

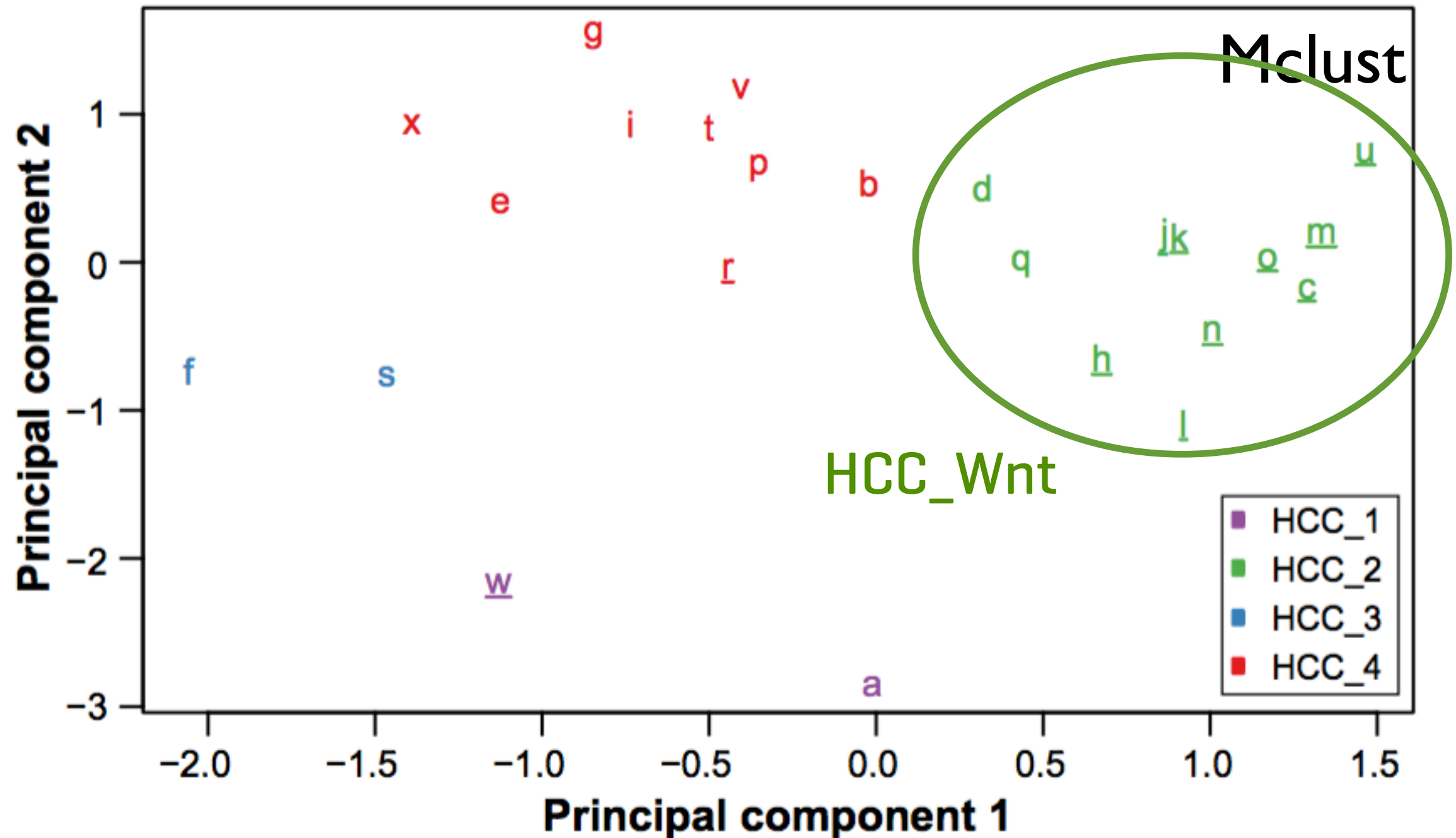
Wnt-signatura v nádorech tlustého střeva



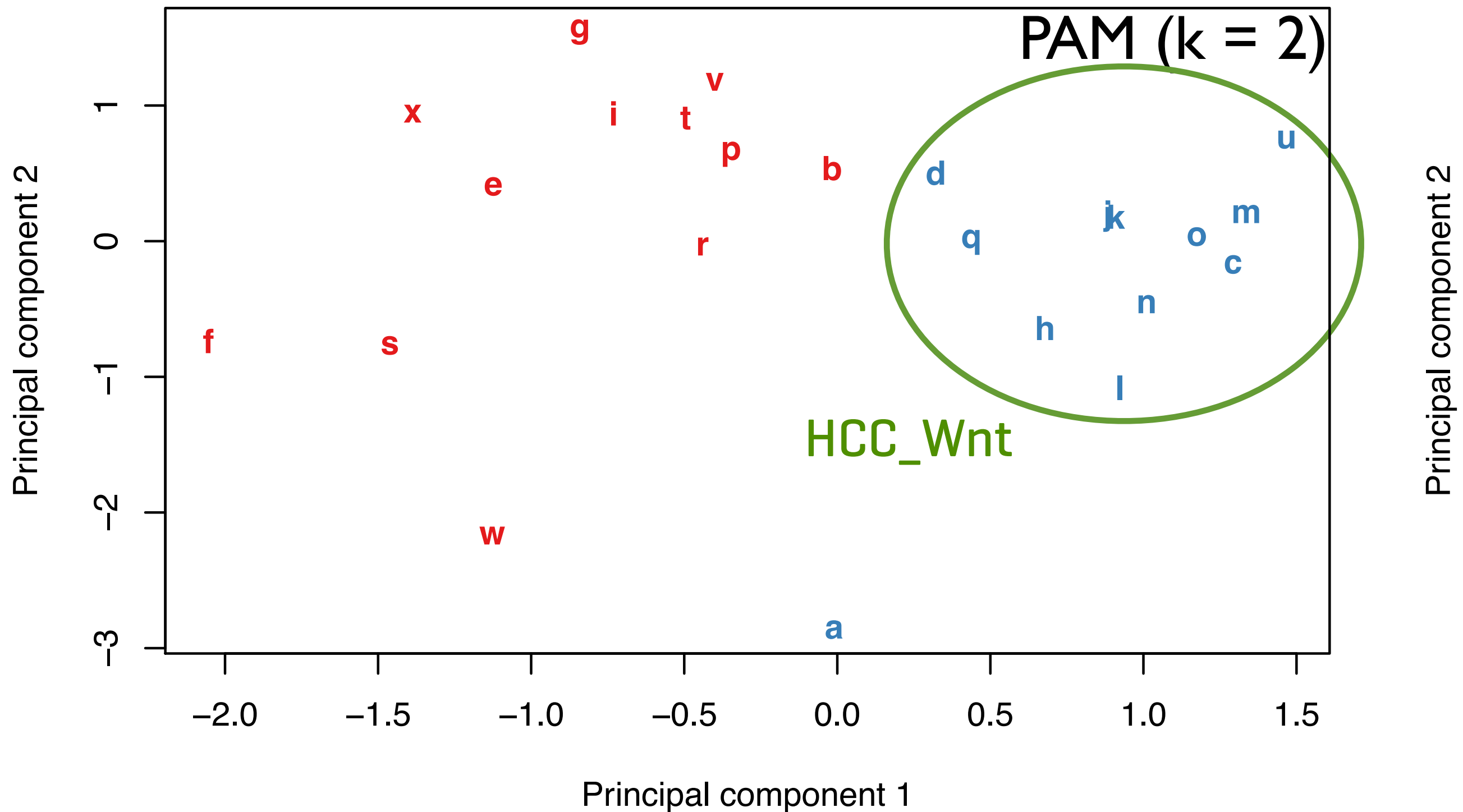
Wnt signatura v HCC - vlastní data



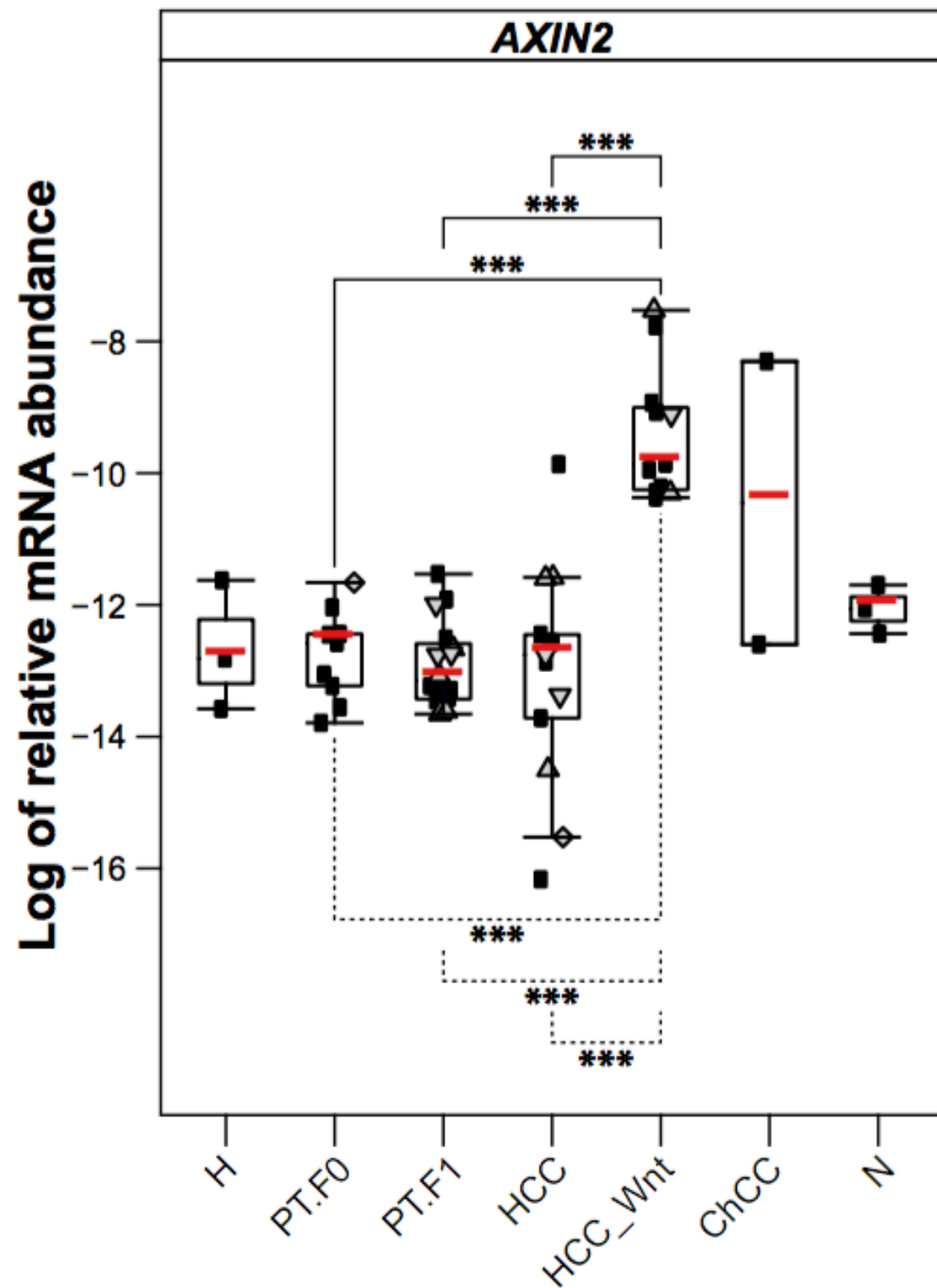
Wnt signatura v HCC - vlastní data



Wnt signatura v HCC - vlastní data



Wnt signatura v HCC - vlastní data



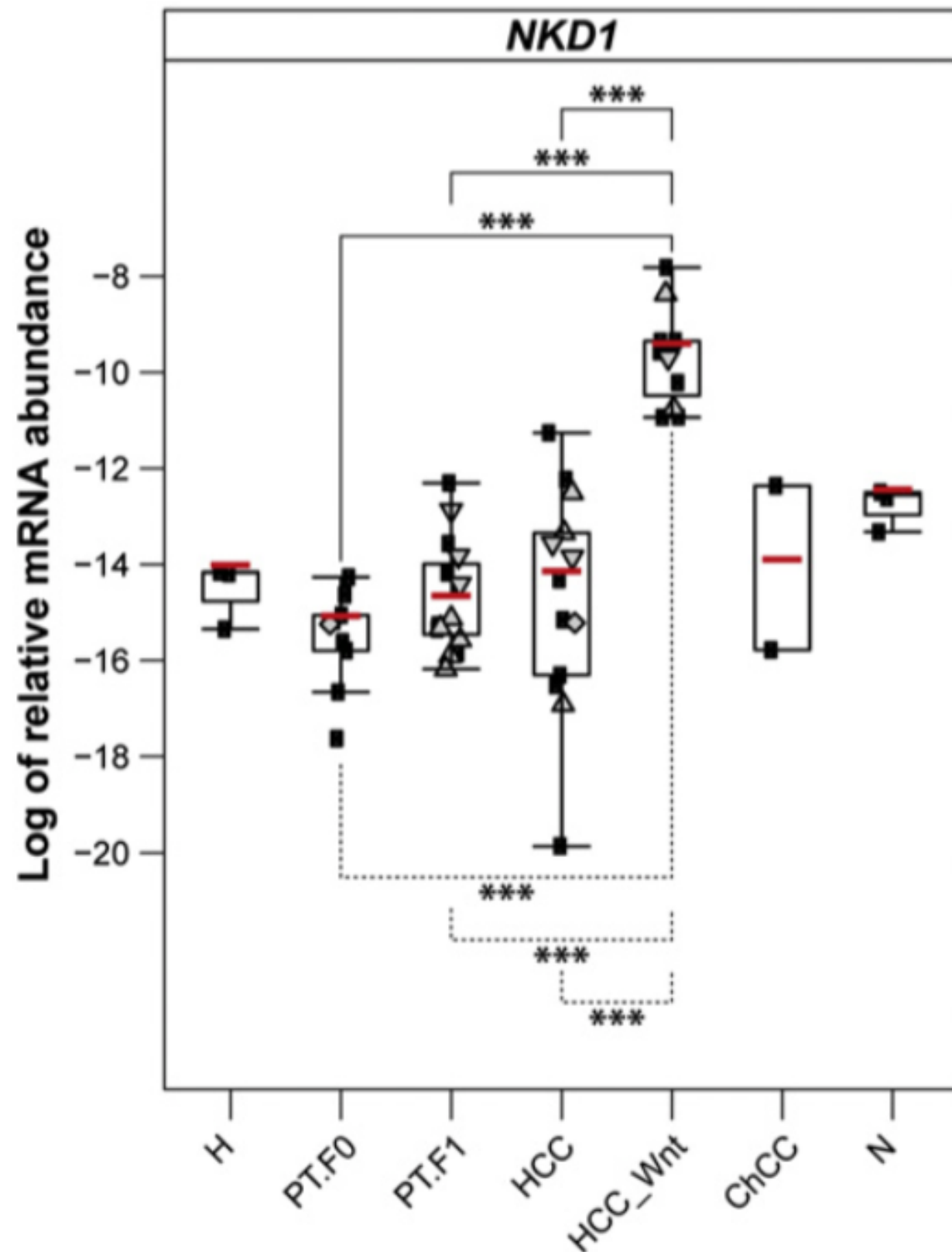
H - zdravá játra

PT.F0 - fibróza

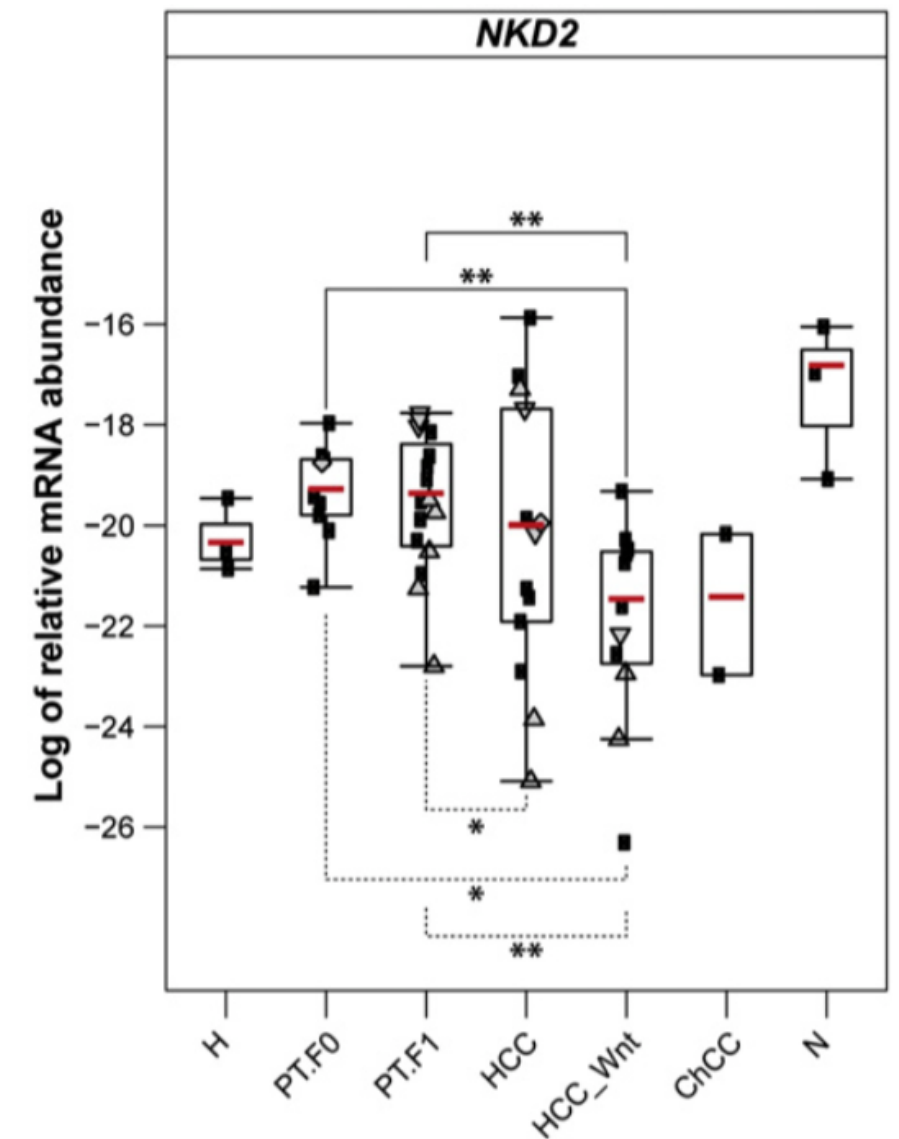
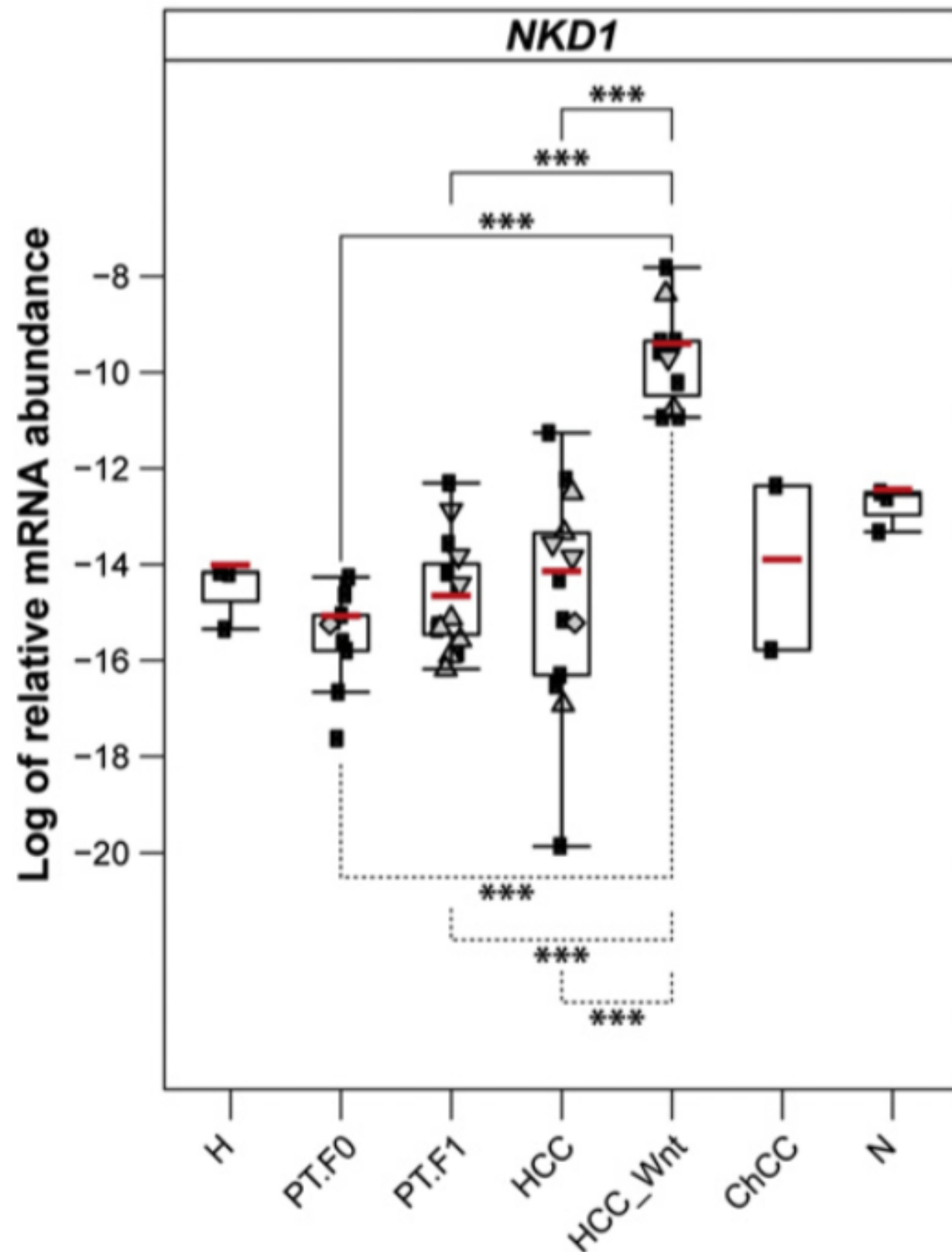
PT.F1 - cirrhóza

HCC - karcinom

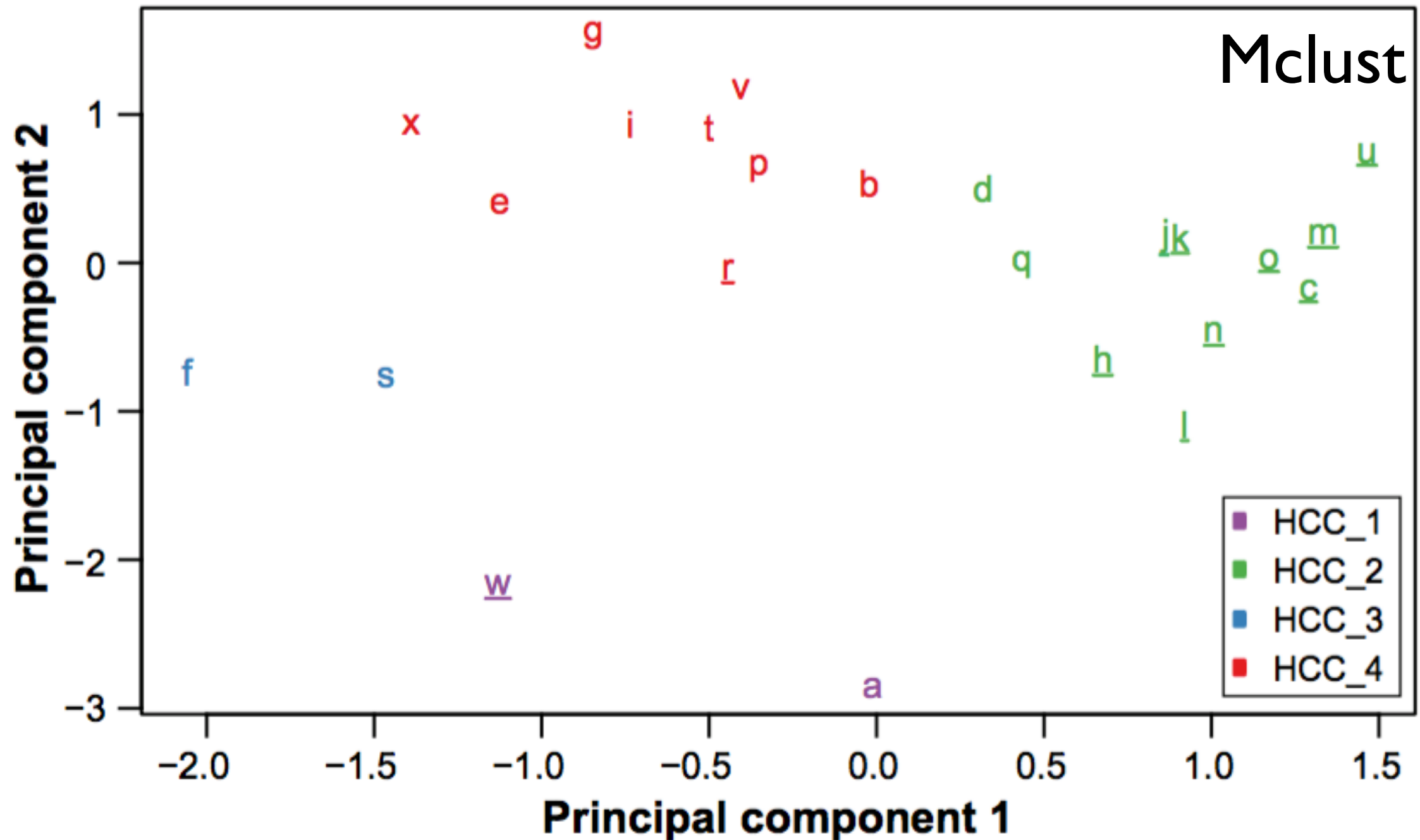
Wnt signatura v HCC - vlastní data



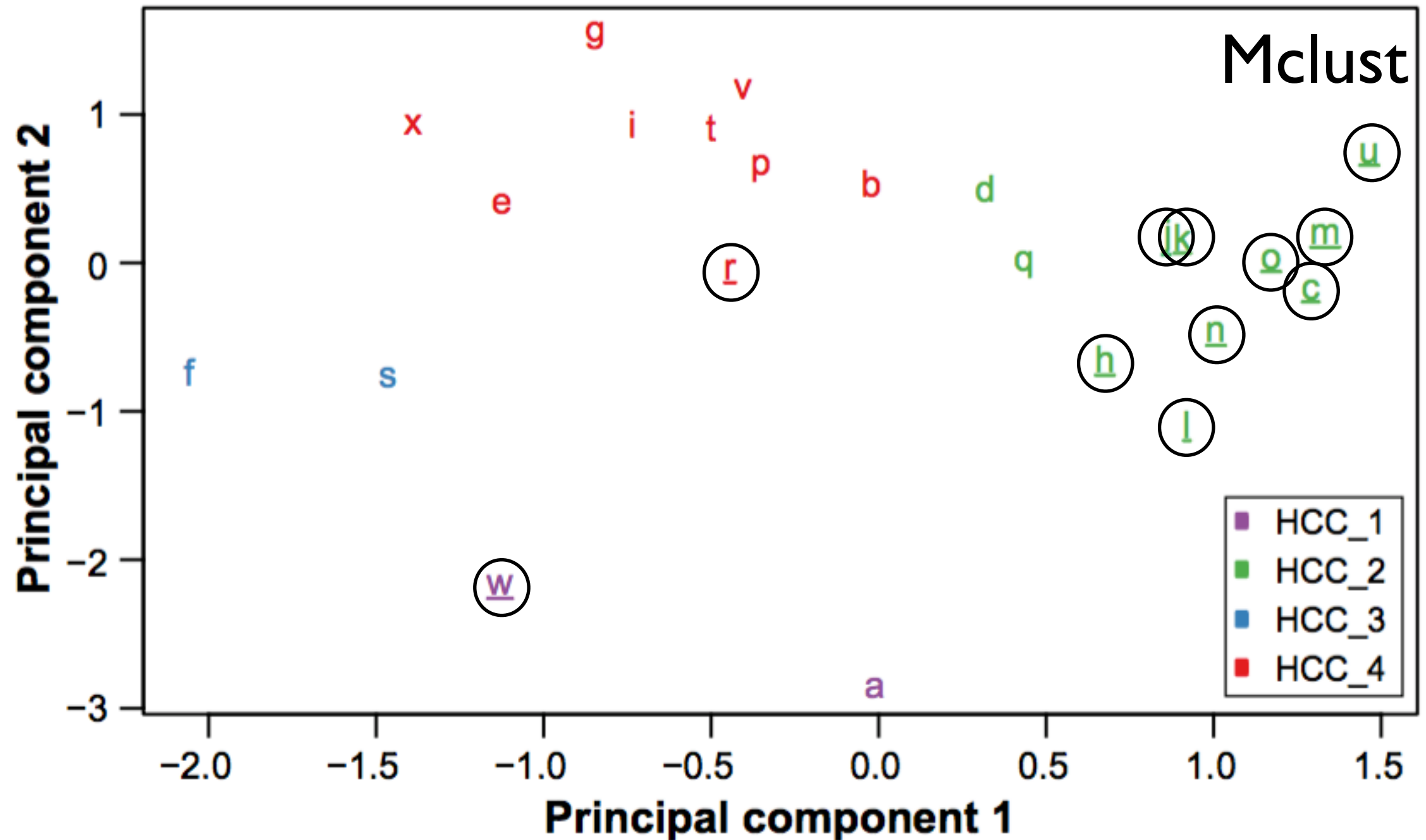
Wnt signatura v HCC - vlastní data



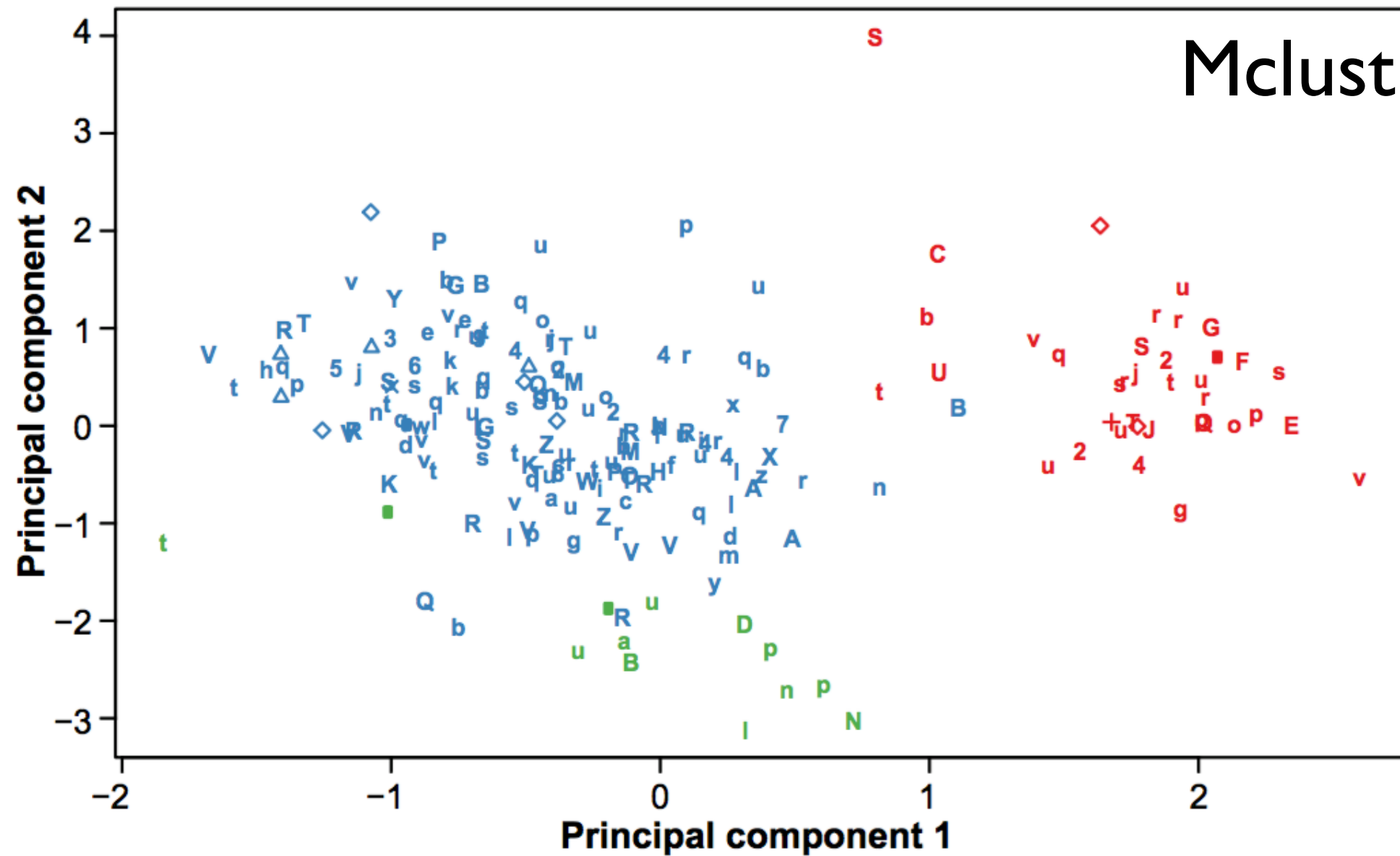
Wnt signatura v mutace v beta kateninu



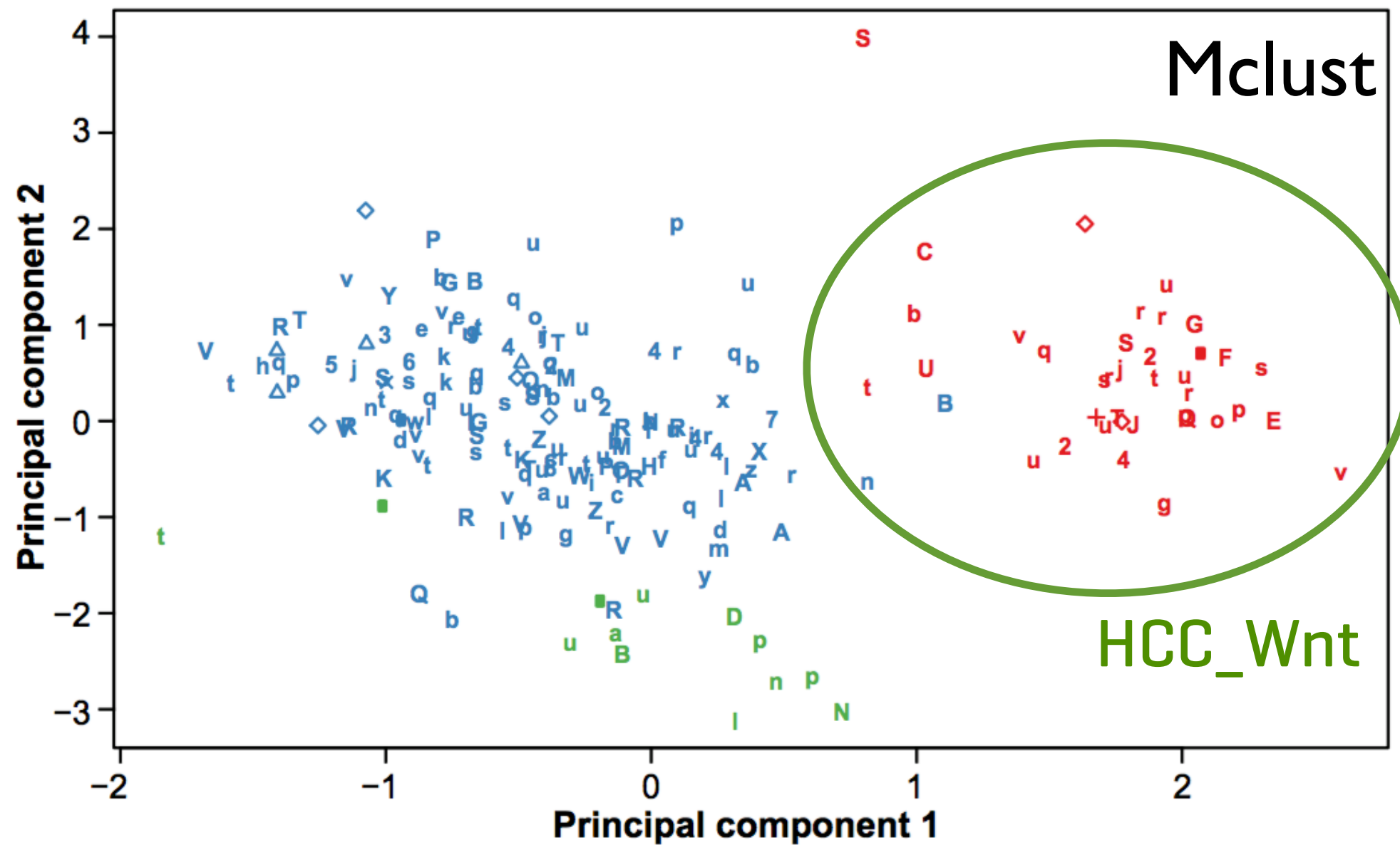
Wnt signatura v mutace v beta kateninu



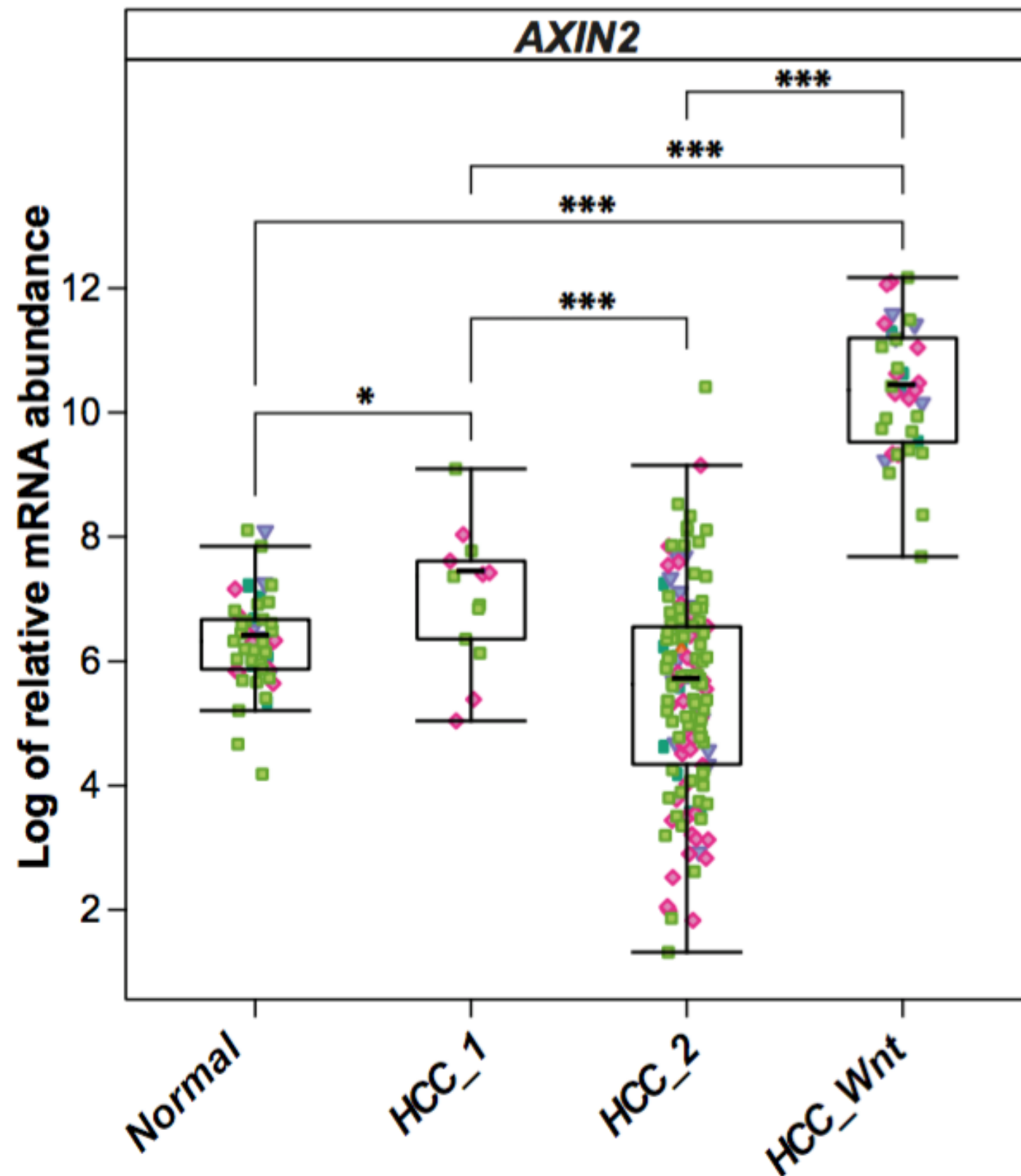
Expresse Nkd1 v HCC - TCGA data



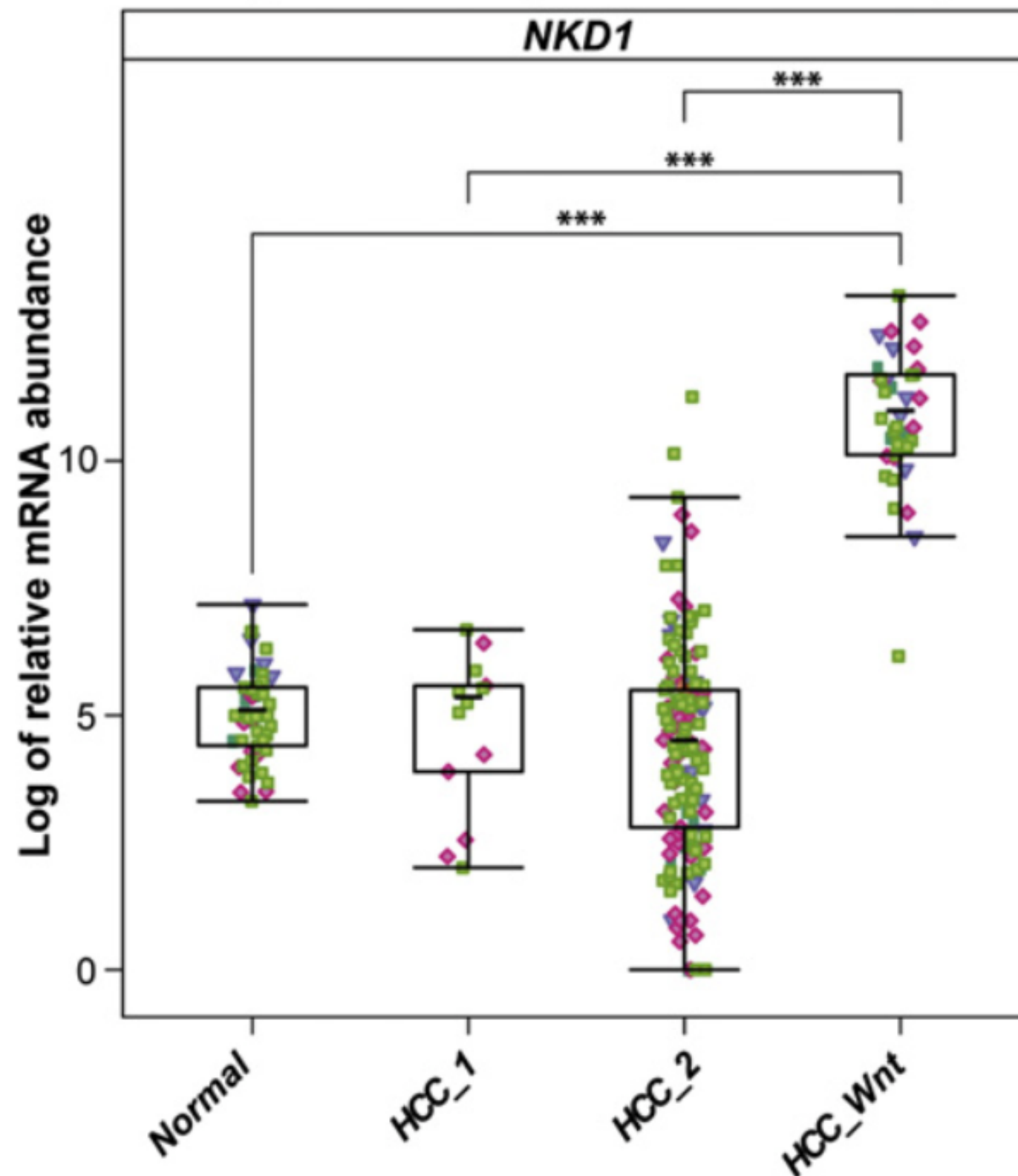
Expresse Nkd1 v HCC - TCGA data



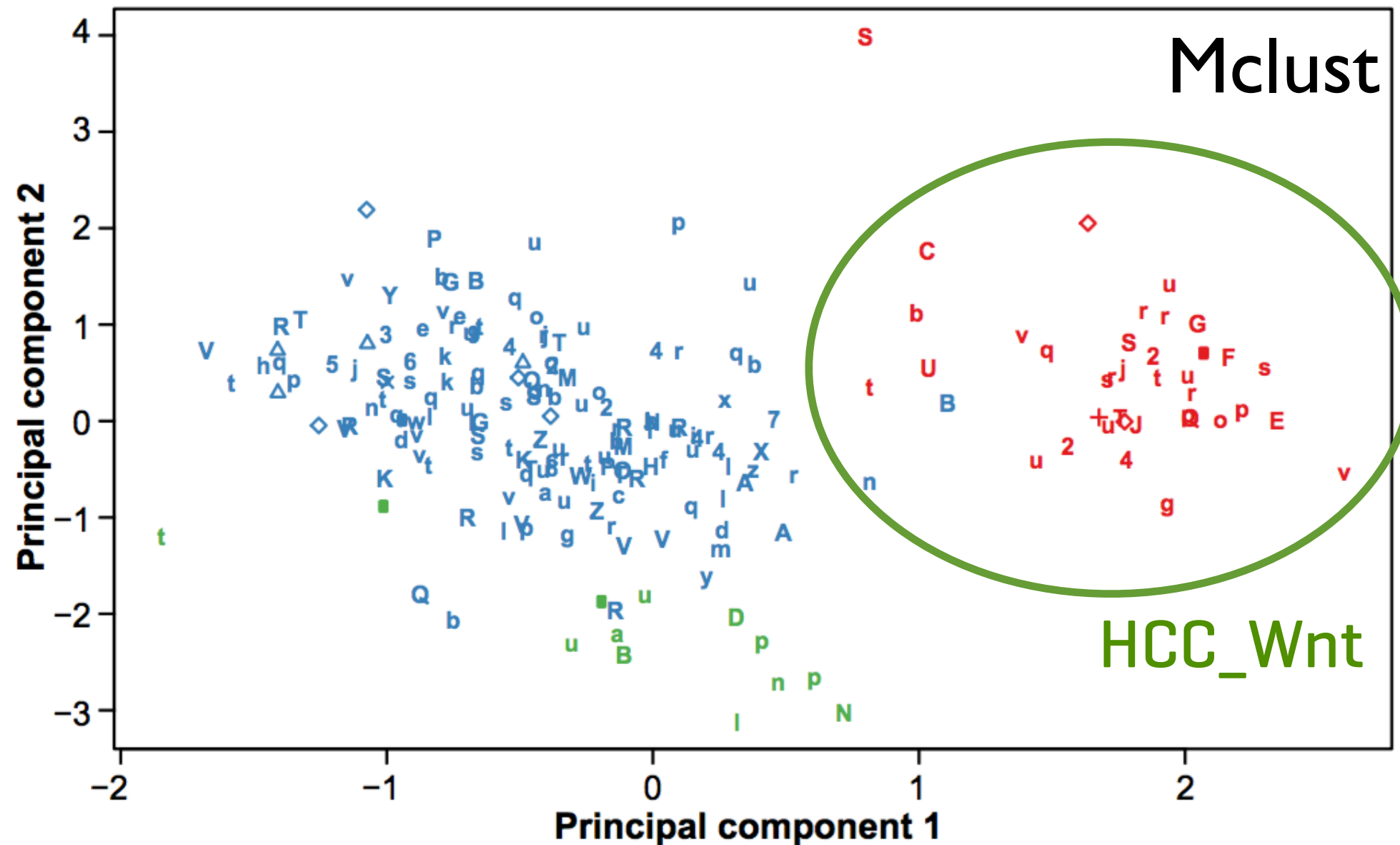
Expresse Nkd1 v HCC - TCGA data



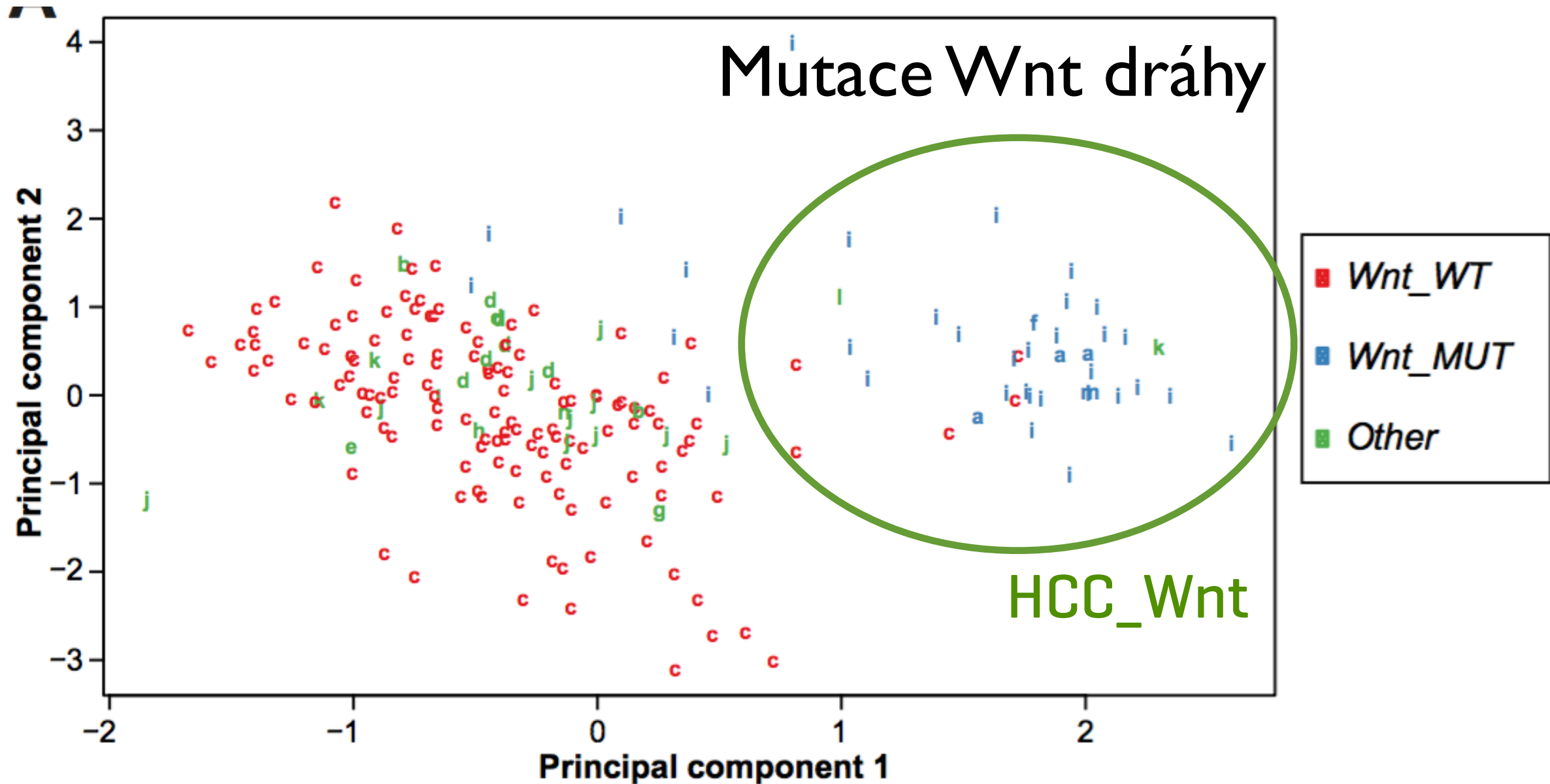
Expresse Nkd1 v HCC - TCGA data



Souvislost exprese Nkd1 s mutacemi ve Wnt-signální dráze



Souvislost exprese Nkd1 s mutacemi ve Wnt-signální dráze



CpG ostrovy a pobřeží

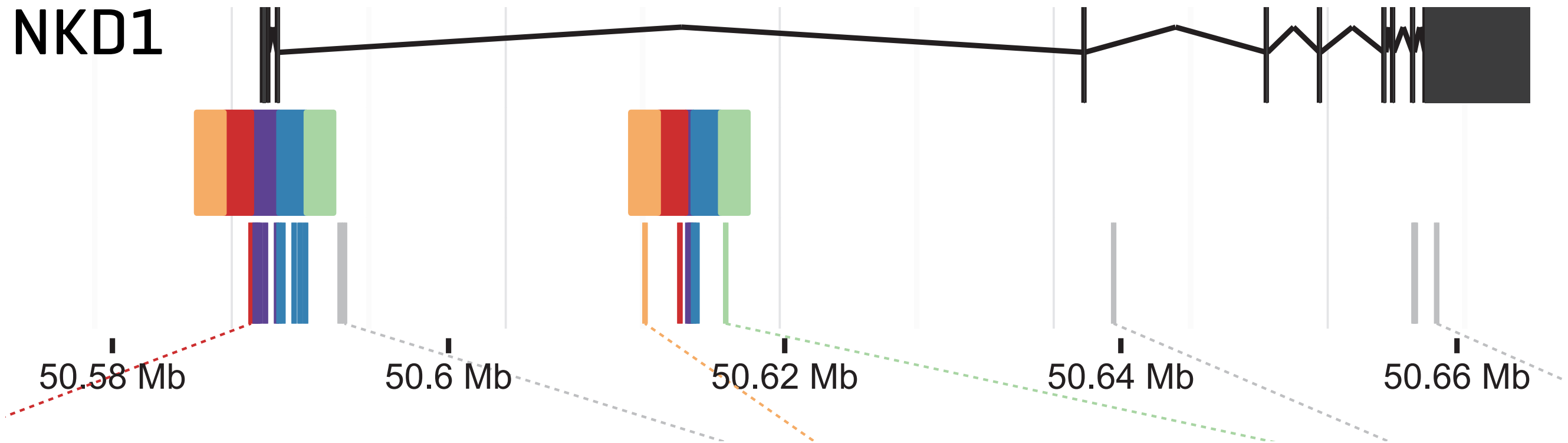
```
CATTCCGCTTCTCTCCAGGTGGCGGTGGGA
GGTGTGTTTGGCTGGGTTCTGTAAGAATAGGCCAGG
CAGCTTCCGCGGGATGCGCTCATCCCCTCTCGG
GGTTCGCTCCCACCGCGCGCGCTTCGGCGGGT
CGGCCTGCGAGATGTTTTCCAGCGGACAATGATTC
CACTCTCGGCGCTCCCATGTTGATCCAGCTCCT
CTGCGGGCGTCAGGACCCCTGGGCCCAGCCCG
CTCCACTCAGTCAATCTTTGTCCCCTATAAGGCG
GATTATCGGGGTGGCTGGGGGCGGCTGATTCGGA
CGAATGCCCTTGGGGGTACCGGGGAGGGAACCTC
CGGGCTCGGCTTTGGCCAGCCCGCACCCCTGGT
TGAGCGCGGCCCGAGGGGCCACAGGGGGCGCTCG
ATGTTCTGTCAGCCCCCGCAGCAGCCCCACTCC
CGGCTCACCCCTACGATTGGCTGGCCCGCCCGAG
CTCTGTGCTGTGATTGGTCACAGCCCGTGTCGCTC
CGGGGCGCGGGGGCGGATACGAGGTGACCGCGCA
GAGGCCAGCTCGGGGCGGTGTCCCGCGCGCGG
GACTGCGGGCGGAGTTTCGCGAGGGCGGAAGCG
GGGCAGTGTGACCGGAGCGGTCTCTGGGAGGCGC
CGCGCGCGCGTGGAGCAGCTCCCCTCTCCGCA
GCCTCACCGCGCGCGTGGCGCGCGCCCTGGCC
TCCCGCACTCGCGCACTCCTGTCCCGCGCCACC
GCCCACCTCCACCTCGATGCGGTGCGGGCTGC
TGCGTGATGGGGCTGCGGAGCGGCGCCCTGCG
```

```
CTCTTAGTTTTGGGTGCATTTGTCTGGTCTTCCAAA
CTAGATTGAAAGCTCTGAAAAAACTATCTTGT
GTTTCTATCTGTTGAGCTCATAGTAGGTATCCAGGA
AGTAGTAGGGTTGACTGCATTGATTTGGGACTACAC
TGGGAGTTTTCTTCCCATCTCCCTTTAGTTTTCT
TTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTCTTTTCTTTT
TTGAGATGTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTT
GTGCAGTGGTGGATCTTGGCTCACTGTAGCCTCC
ACCTCCCAGGTTCAAGCAATTCTACTGCCTTAGCCT
CCCGAGTAGCTGGGATTACAAGCACCCCGCCACCAT
TCCTGGCTAATTTTTTTTTTTGTATTTTAGTTGAGA
CAGGGTTTCACCATGTTGGTGATGCTGGTCTCAGA
CTCCTGGGGCCTAGCGATCCCCCTGCCTCAGCCT
CCCAGAGTGTTAGGATTACAGGCATGAGCCACTGT
ACCCGGCTCTCTCCAGTTTCCAGTTGGAATCAA
GGGAAGTAAGTTTAAGATAAAGTTACGATTTTGAAT
CTTTGGATTGAGAAGAATTTGTACCTTTAACACCT
AGAGTTGAACGTTTCATACCTGGAGAGCCTTAACATT
AAGCCCTAGCCAGCCTCCAGCAAGTGGACATTGGT
CAGGTTTGGCAGGATTCTCCCTGAAGTGGACT
GAGAGCCACACCCTGGCCTGTCACCATACCCATCC
CCTATCCTTAGTGAAGCAAACTCCTTTGTTCCCTT
CTCCTTCTCCTAGTGACAGGAAATATTGTGATCCTA
AAGAATGAAATAGCTTGTACCTCGTGGCCTCAG
```

CpG ostrovy

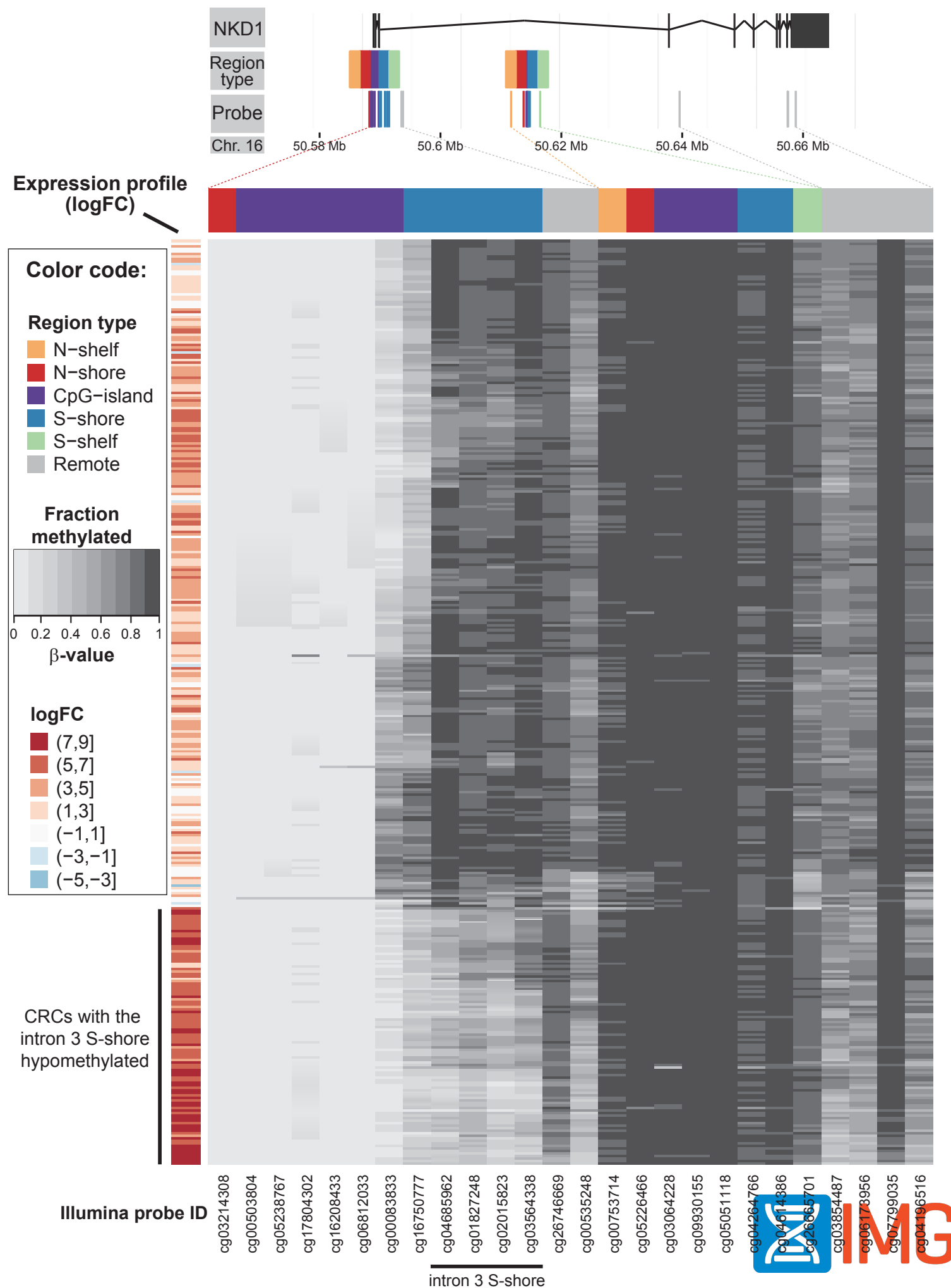
- i. CG dinukleotidy jsou výrazně podrepresentovány v lidském (eukaryotickém) genomu
- ii. obvykle jsou asociovány s promotorovými oblastmi
- iii. metylace cytosinů v CpG ostrůvcích souvisí s genovým silencingem

CpG ostrovy a pobřeží



1. CpG shores [pobřeží] - 2kb okolo ostrůvků
2. CpG shelves [šelfy] - dalších 2kb okolo pobřeží
3. Souvislost mezi metylací CpG pobřeží a expresí genu je ještě silnější

Souvislost exprese Nkd1 s metylací genu v CRC



Shrnutí

1. Mutace v genech Wnt-signální dráhy vedou ke vzniku carcinomů tlustého střeva
2. Míra aktivace souvisí s podtřídou CRC
3. U nádorů jater není žádné konsensuální třídění do podtříd
4. My jsme pozorovali podtřidu nádorů s výrazně aktivovanou Wnt-signální dráhou
5. Navíc jsme použili zpětnovazební člen Wnt signalizace, NKD1, jako marker aktivace dráhy
6. Ukázali jsme, že aktivace tohoto genu je korelována s metylací CpG pobřeží v jeho třetím exonu

Poděkování



Vladimír Kořínek

Stančíková J., Krausová M., Fafílek B., Neroldová M., Dobeš J.,
Horázná M., Janečková L., Vojtěchová M.

3. lékařská fakulta Univerzita Karlova v Praze, Praha

Jiří Švec

Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Martin Oliverius, Milan Jirsa

Děkuji za pozornost!