

DIPARTIMENTO DI MEDICINA INTERNA

PROGETTO

Identificazione delle proteine espresse nel cancro del colon-retto mediante proteomica

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof. **Roberto Mazzanti**

COLLABORATORI: O. Fantappiè, M. Sollazzo, S.Elfering, P. Pantaleo, P.Bechi, F.Cianchi, A. Ettl, C. Giulivi

Lo sviluppo e la progressione del cancro sono processi multi-step in cui il controllo della proliferazione cellulare è progressivamente perturbato, e deriva dalla perdita di geni soppressori del tumore oppure dall'attivazione di oncogeni o da entrambi i fenomeni. Il cancro del colon retto rappresenta un buon modello per studiare lo sviluppo e la progressione dei tumori umani, dato che le cellule epiteliali della mucosa del colon seguono spesso un processo sistematico di proliferazione cellulare, differenziazione, formazione dell'adenoma ed eventualmente trasformazione in cancro.

Lo scopo del nostro studio è stato quello di identificare, mediante l'approccio proteomico, le differenze biochimiche di alcune vie metaboliche nel cancro del colon umano e nella mucosa sana del colon dello stesso paziente, identificando proteine diversamente e poco espresse, quando il cancro è ad uno stadio relativamente precoce. L'identificazione di proteine caratteristicamente espresse nel tumore potrebbe portare alla scoperta di nuovi marcatori utili nella diagnosi o nella prognosi di questi pazienti, ma forse potrebbe essere utile anche per mettere a punto nuove strategie terapeutiche allo scopo di indirizzare la terapia su precisi bersagli molecolari, minimizzando l'effetto sul tessuto sano.

I campioni di tessuto usati per i nostri esperimenti sono stati ottenuti da pazienti (4 uomini; 4 donne; età media: 64 anni; range di età: 46-81 anni) sottoposti a resezione chirurgica per adenocarcinoma primario sporadico del colon-retto. I campioni di colon sano e tumorale di ciascun paziente sono stati analizzati mediante elettroforesi bidimensionale e gli spots corrispondenti alle proteine diversamente espresse sono stati identificati mediante analisi MALDI-ToF-MS e

mediante analisi Western Blotting. L'attenzione è stata indirizzata a proteine abbondantemente espresse.

Utilizzando l'approccio proteomico sono state identificate 11 proteine dai tessuti sani e 15 proteine dai tessuti tumorali e classificate in base alla via metabolica in cui sono coinvolte (Tabella 1). Usando l'analisi Western Blotting abbiamo identificato alcune proteine tra cui BAP-31, Apaf-1, caspase-9, cytochrome c oxidase subunit II e β -subunit di F₀F₁-ATPase (Figura 1). Il numero di proteine identificate diversamente espresse sono rispettivamente 14 per i tessuti normali e 18 per i tessuti tumorali.

In conclusione, questi dati dimostrano che c'è una marcata differenza nell'espressione di importanti proteine tra mucosa sana e tumorale del colon nello stesso paziente. Questa differenza potrebbe essere sfruttata per sviluppare nuove strategie per la diagnosi del cancro. Infine abbiamo osservato che nel tessuto tumorale di colon a stadi precoci o intermedi sono espresse proteine che sono coinvolte nei meccanismi di difesa contro il cancro, suggerendo che una strategia terapeutica potrebbe essere basata su tale differenza biochimica.

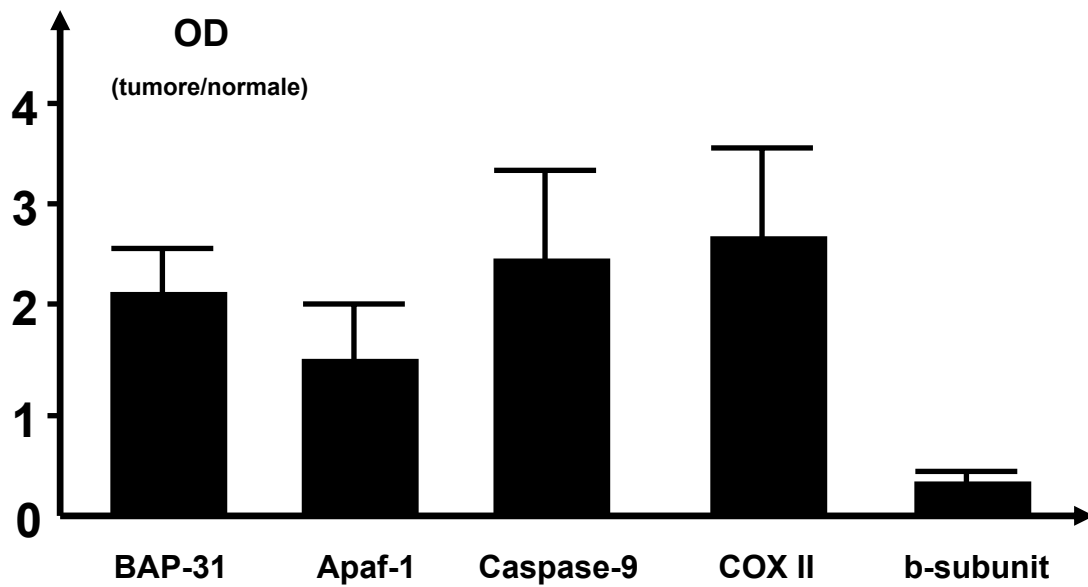
PROTEINE IPER-ESPRESSE NEL TESSUTO NORMALE DI COLON PARAGONATE AL TESSUTO TUMORALE

- NADH-ubiquinone oxidoreductase B18 subunit
- Beta-subunit of F₀F₁-ATPase
- Liver fatty acid-binding protein
- Soluble carrier family 5 Na/glucose cotransporter member 1 (SGT1)
- Beta 1 subunit of Na, K-ATPase
- Eukaryotic translation initiation factor 4E
- Insulin-like peptide INSL 5
- Zn-finger protein 272 (partial sequence)
- Inducible cAMP early repressor type 1
- Protein translation factor SUI1 homolog
- Prefoldin subunit 1
- Glutathione transferase M4
- GTP-binding protein (ral)

PROTEINE IPER-ESPRESSE NEL TESSUTO TUMORALE DI COLON
PARAGONATE AL TESSUTO NORMALE

- Mitochondrial transcription factor 1
- Cytochrome oxidase subunit II
- Lactate dehydrogenase (M)
- p28 Bap31
- Glucosamine-6-sulfatase
- Caspase-9
- Apaf-1
- p53-induced protein SIP27
- Neurofibromatosis type 2 protein isoform Mer162
- Ubiquitin-conjugating enzyme (UEV-1)
- DNA excision repair protein ERCC-1
- Alternative splicing product of P04895 or guanine nucleotide-binding protein G(s), alpha subunit 1
- Replication factor C 37 kDa subunit
- DNA mismatch repair protein MSH2
- G-protein pathway suppressor
- LIM/homeobox protein LHX2
- G-protein G(Y), alpha subunit 11
- G-protein alpha subunit 14

Analisi Western Blots di Bap31, Apaf-1, caspase-9, cytochrome c oxidase subunit II e β -subunit di F0F1-ATPase



BAP31

