Oponentský posudek doktorské dizertační práce

# p63 expression and signaling in cancer

**Mgr. Michaely Štenckové**

účastníka doktorského studijního programu na Přírodovědecké fakultě MU v Brně

Obor: Molekulární a buněčná biologie a genetika
Oponent: prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc., Ústav klinické a molekulární patologie & Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Hněvotínská 3, 77515 Olomouc

---

**Obecná charakteristika**

Dizertační práce o rozsahu 62 stran textu, 2 stran bibliografického záznamu, 1 strany poděkování, 1 strany s popisem finanční podpory, 1 strany prohlášení o samostatném vypracování disertace, 2 stran souhrnů v českém a anglickém jazyce, 2 stran obsahu, 19 stran použité literatury zahrnující 200 záznamů, 3 stran seznamu publikací autorky vztahujících se k předmětu disertace. Kopie vlastních publikací souvisejících s tématem disertace jsou součástí zvláštní přílohy v elektronické formě. Do textu disertace je vloženo 7 tabulek a 17 obrázků včetně grafů. Formální úprava a členění textu odpovídají požadavkům kladeným na tento typ práce. Jednotlivé kapitoly tvoří přehledné celky, které stručně a vyčerpávajícím způsobem informují o zvolené problematice. Literární odkazy jsou vhodně vybrány, obrazové přílohy jsou přiměřené.

Práce se zabývá aktuální onkologickou problematikou související se studiem nádorových kmenových buněk (CSCs) v karcinomech prsu a prostaty. V této souvislosti věnuje pozornost významu různých forem proteinu p63 a regulaci jejich exprese. V úvodní kapitole (celkem o rozsahu 15 stran) se autorka zabývá obecným přehledem informací o struktuře a regulaci exprese genu a proteinu p63, jeho izoformách a o fyziologické úloze ve tkáni mléčné žlázy a prostaty. Navazuje pak shrnutím současných poznatků o těchto molekulách v nádorech prsu a prostaty. Podává rovněž ucelenou informaci o histologických typech a molekulárních subtypech karcinomu prsu i o vztahu mezi p63 a nádorovými kmenovými buňkami. Srozumitelným způsobem dále popisuje hlavní signální dráhy, které expresi p63 regulují.

**Cíle práce**

Hlavními cíli dizertační práce bylo zodpovězení otázek, zda v karcinomech prsu je exprese p63 vázána na nádorové kmenové buňky, jakým způsobem je v nich tato exprese regulována, zda existuje spojitost mezi p63 a Stat3, zda fosforylační stav Stat3 ovlivňuje fenotyp nádoru a zda podobná souvislost mezi nádorovými kmenovými buňkami a p63 existuje i v karcinomech prostaty. Cíle dizertace byly vytýčeny jasně a srozumitelně.

**Použitá metodika**

Metodický přístup k řešení problematiky popsaný na 12 stranách textu byl adekvátní. Použité postupy zahrnovaly řadu laboratorních a statistických metod souvisejících se způsobem získání tkáňových vzorků, jejich histologickým a imunohistochemickým vyšetřením, použitých buněčných liniích, xenotransplantátech nádorů, aplikaci růstových faktorů, různých inhibitorů signalizace, průtokové cytometrie, RT-qPCR, Western blottingu, tkáňových mikroerejí a dalších speciálních postupů. Autorka prokázala zvládnutí široké škály moderních metod.

**Dosažené výsledky**

Jak uvádí autorka v úvodu své dizertační práce, protein p63 patří do rodiny proteinu p53 a má dvě hlavní izoformy, TAp63 a ΔNp63, které jsou transkribovány za účasti dvou odlišných promotorů genu TP63. TAp63 obsahuje transaktivační doménu podobnou proteinu p53 a chová se jako nádorový supresor, zatímco izoforma ΔNp63 tuto doménu postrádá, vykazuje vlastnosti onkoproteinu a je zapojená do regulace kmenových buněk. Autorka přesvědčivě dokazuje, že exprese ΔNp63/p40 v ER+ a HER2+ karcinomech prsu koreluje s fenotypem nádorových „basal/mesenchymal cancer stem-like“ buněk a že tato izoforma je často přítomná v luminálních typech karcinomu prsu, stejně jako v buněčných liniích z nich odvozených. Rovněž dokládá, že tato exprese je regulována signální dráhou zprostředkovanou inzulinem a růstovým faktorem IGF-1, která je řízena kinázami skupiny PI3K/MAPK a redukována orálními antidiabetiky ovlivňujícími hladinu glukózy. V experimentech na buněčných liniích odvozených od TNBC autorka popsala poškození signalizace mTOR po „knock-out“ p63 a změny fosforyace transkripčního faktoru Stat3. Vzhledem k tomu, že tyto proteiny jsou důležitými regulátory normálních i nádorových kmenových buněk, může mít toto zjištění klinicko-patologickou relevanci a to nejen v TNBC, ale i v karcinomech prostaty. Podobně jako v karcinomech prsu i v karcinomech prostaty byla exprese ΔNp63 asociována s fenotypem bazálních buněk, avšak obecně byla exprese p63 v prostatě mnohem méně častá, než v mléčné žláze.

**Splnění cílů**

Předložená práce přesvědčivě dokumentuje, že exprese izoforem p63 se v karcinomech prsu a prostaty liší a koreluje s rozdílnými buněčnými fenotypy. Zatímco exprese ΔNp63 je spojená s fenotypem bazálních kmenových buněk, exprese TAp63 chybí u hormonálně pozitivních nádorů prsu a je typická pro nádorové buňky se znaky luminální diferenciace u karcinomu prostaty. Autorka rovněž prokázala regulaci ΔNp63 u nenádorových buněk karcinomu prsu luminálního typu s parakrinní inzulinovou/IGF-1 signalizací a korelaci exprese Stat3 fosforylovaného na serinu 727 s bazálním buněčným fenotypem nezávisle na ΔNp63. Poskytla tak další důkaz heterogenity nádorových kmenových buněk.

Dosažené výsledky dokazují význam studií zaměřených na jednotlivé izoformy p63 a dokládají nezbytnost dalšího výzkumu k poodhalení molekulárních drah regulujících jejich expresi a funkci, zejména v souvislosti s jejich potenciální úlohou při terapii nádorů. To stejně platí pro studium významu fosforylace Stat3 v regulačních procesech.

Tím byly stanovené cíle splněny. Disertační práce **Mgr. Michaely Štenckové** je hodnotným příspěvkem, akcentujícím současné trendy onkologického výzkumu a přinášejícím nové podněty pro práci kliniků.

**Poznámky a otázky**

1) Jak autorka posuzuje možnosti stanovení exprese izoforem p63 v běžné diagnostickém praxi na odděleních histopatologie? Jsou v práci použité protilátky běžně komerčně dostupné a validované pro použití v humánní diagnostice?
2) V práci je odkazováno na velký počet imunohistochemických vyšetření exprese různých znaků. Metodika je precizně popsána, avšak z práce nevyplývá, zda je autorka prováděla sama, nebo byly prováděny v některé histopatologické laboratoři v MOÚ nebo jinde v Brně. Může to autorka upřesnit?
3) Orientaci v dizertační práci by přispělo, kdyby k textu byly přidány seznamy použitých zkratek a do textu zařazených tabulek a obrázků.
4) V textu je použito několik méně přesných termínů týkajících se označení histologických typů nádorů jako subtypů.

**Závěr**

**Mgr. Michaela Štencková** předložila kvalitní dizertační práci, která svědčí o schopnosti samostatné vědecké práce a přiměřené kritičnosti. Autorka dosáhla několika prioritních poznatků a prokázala svůj tvůrčí potenciál i hluboké teoretické a odborné znalosti. Disertace odpovídá požadavkům, které stanovuje paragraf 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb., a proto navrhuji, aby po absolvování obhajoby jí byl udělen akademický titul doktor, ve zkratce Ph.D.

**Autorka prokázala tvůrčí schopnosti v dané oblasti výzkumu a práce splňuje požadavky standardně kladené na dizertační práce v daném oboru.**

V Olomouci dne 23. června 2022 prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.