Proposta di tema di ricerca per il XXXIX ciclo del Dottorato di ricerca in Nutraceuticals, Functional Foods and Human Health

Tutor proponente Giulia Russo

Co-tutor proponente Annapina Russo

β -carotene e 5-FU: una nuova strategia terapeutica per il superamento della chemioresistenza mediata da uL3 in cellule di cancro del colon.

Il cancro del colon-retto (CRC) è una delle principali cause di morte per cancro in tutto il mondo. Lo sviluppo della resistenza ai farmaci è la causa più comune di recidiva del CRC, pertanto il superamento della chemioresistenza è una delle sfide più importanti nel trattamento di questa patologia. Nel nostro laboratorio abbiamo identificato nella proteina ribosomale umana uL3 un elemento chiave nella risposta al 5-fluorouracile (5-FU) utilizzando come modello sperimentale cellule di cancro del colon prive di p53. In particolare, abbiamo dimostrato che bassi livelli di uL3 si associano a resistenza a farmaci come il 5-FU ed altri chemioterapici, ad alterazione della motilità cellulare, a transizione epitelio-mesenchimale e a disregolazione del processo autofagico. Dati recenti indicano che i prodotti naturali, come il β -carotene, hanno la capacità di potenziare la risposta delle cellule tumorali ai chemioterapici e possono quindi, rappresentare una possibile scelta per il superamento della chemioresistenza. I risultati ottenuti nel nostro laboratorio dimostrano che il trattamento combinato 5-FU e β -carotene, in cellule di cancro del colon chemioresistenti, che non esprimono p53 e stabilmente silenziate per uL3, induce arresto del ciclo cellulare e apoptosi, in queste cellule si osserva inoltre una riduzione nei livelli di espressione di geni per specifiche proteine della superfamiglia dei trasportatori ABC. Mediante saggi di co-immunoprecipitazione, dopo trattamento delle cellule con 5-FU e β -carotene, abbiamo dimostrato che il fattore di inizio traduzione eIF4A, un componente del complesso eIF4F, interagisce specificamente con uL3. Sulla base di questi risultati, l'obiettivo di questo progetto è comprendere il ruolo di uL3 nella riprogrammazione traduzionale mediata dalla famiglia dei fattori di inizio traduzione. A tal fine sarà studiata l'influenza del complesso uL3/eIF4A sul traslatoma in cellule chemioresistenti trattate con 5-FU o con la combinazione 5-FU più β -carotene, utilizzando la tecnica del "ribosome profiling" e l'analisi high-throughput degli mRNA associati al ribosoma attivo traduzionalmente. L'efficacia della terapia proposta nel superare la chemioresistenza sarà saggiata in vivo utilizzando il sistema della membrana corio-allantoidea dell'embrione di pollo.

β -carotene plus 5-FU: a promising strategy to fight uL3-mediated drug resistance in colon cancer cells

Colorectal cancer (CRC) is one of the leading causes of cancer-related deaths worldwide. The development of drug resistance is the most common cause of colon tumor recurrence; how to overcome it is a key issue for cancer treatment. In our laboratory, we have identified the human ribosomal protein uL3 as a key sensor in the cell response to 5-fluorouracil in colon cancer cells lacking p53. Specifically, uL3 downregulation is associated with 5-FU drug resistance, alteration in cell motility, epithelial-mesenchymal transition and autophagy. Emerging evidence indicates that natural products, like β -carotene, have the ability to enhance cancer cell response to cytotoxic drugs and may provide a safer choice to defeat drug resistance in cancer. Results from our laboratory, demonstrate that the combined treatment of 5-FU plus β -carotene in chemoresistant colon cancer cells deleted of p53 and stably silenced for uL3 induces cell cycle arrest and apoptosis, associated with a reduction in the expression levels of specific ABC transporter genes. Furthermore, co-

immunoprecipitation assays in our cells treated with 5-FU plus β -carotene, demonstrated that eIF4A, a component of the eIF4F complex, specifically interacts with uL3 in vitro. Based on these results, the goal of this project is to elucidate the role of uL3 in translational reprogramming mediated by eIFs. For this purpose, the influence of the of uL3/eIF4A complex on “translatome” and associated mRNAs will be investigated in cells treated with 5-FU or with a combined therapy of 5-FU plus β -carotene by using the “ribosome profiling” technique and high-throughput analysis of ribosome-associated mRNAs. Additionally, the chorioallantoic membrane (CAM) assay will be utilized to evaluate how well the suggested therapy works in overcoming chemoresistance.

References

1. Lee LJ, Papadopoli D, Jewer M, Del Rincon S, Topisirovic I, Lawrence MG, Postovit LM. Cancer Plasticity: The Role of mRNA Translation. *Trends Cancer*. 2021 Feb;7(2):134-145. doi: 10.1016/j.trecan.2020.09.005.
2. Pelletier J, Graff J, Ruggero D, Sonenberg N. Targeting the eIF4F translation initiation complex: a critical nexus for cancer development. *Cancer Res*. 2015 Jan 15;75(2):250-63. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2789.
3. Esposito D, Crescenzi E, Sagar V, Loreni F, Russo A, Russo G. Human rpL3 plays a crucial role in cell response to nucleolar stress induced by 5-FU and L-OHP. *Oncotarget*. 2014 Nov 30;5(22):11737-51. doi: 10.18632/oncotarget.2591.
4. Russo A, Saide A, Smaldone S, Faraonio R, Russo G. Role of uL3 in Multidrug Resistance in p53-Mutated Lung Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2017 Mar 3;18(3):547. doi: 10.3390/ijms18030547.
5. Pecoraro A, Carotenuto P, Russo G, Russo A. Ribosomal protein uL3 targets E2F1 and Cyclin D1 in cancer cell response to nucleolar stress. *Sci Rep*. 2019 Oct 28;9(1):15431. doi: 10.1038/s41598-019-51723-7.
6. Pecoraro A, Carotenuto P, Franco B, De Cegli R, Russo G, Russo A. Role of uL3 in the Crosstalk between Nucleolar Stress and Autophagy in Colon Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2020 Mar 20;21(6):2143. doi: 10.3390/ijms21062143