



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

COMPRENSIÓ DE LA MECANOTRANSDUCCIÓ MITJANÇADA PER YAP EN CÀNCER DE PÀNCREES

Dr. Pere Roca-Cusachs Soulere

IBEC Institut de Bioenginyeria de Catalunya

Dr. Miguel A. del Pozo Barriuso

Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III

1. Resum

Introducció breu

La rigidesa mecànica anormal dels teixits és una característica distintiva de la major part de tipus de tumors sòlids (1) i, de fet, la rigidesa tissular impulsa la progressió tumoral (2). La identificació recent de la importància d'aquest factor mecànic ha portat a la idea de dirigir-se a aquesta interacció mecànica com una estratègia completament nova per a la teràpia del càncer (3). El potencial d'aquest concepte és especialment rellevant en el càncer de pàncrees, el tipus més comú del qual és l'adenocarcinoma ductal pancreàtic (PDAC) (més del 90%): tant els esdeveniments precursors com la pancreatitis crònica, com la desmoplàsia extensa i la fibrosi característiques d'aquests tumors, indueixen una rigidesa substancial del teixit (4, 5). Alhora, aquestes propietats mecàniques poden tenir un impacte profund en diferents aspectes de la malaltia, des de la transformació neoplàsica fins a la invasivitat i la metàstasi, passant per la recaiguda i la resistència terapèutica. La intervenció selectiva de l'efecte mecànic al PDAC, en contraposició a l'atenuació perjudicial i inespecífica de la fibrosi (6), es podria aconseguir dirigint-se als reguladors transcripcionals YAP/TAZ, que es localitzen al nucli en resposta a la força mecànica (7) i impulsen l'aparició i la progressió del PDAC (8). Tot i això, continuen sense ser clars els mecanismes específics pels quals YAP respon als senyals mecànics en el càncer de pàncrees i com podrien aprofitar-se en la terapèutica. D'acord amb la nostra investigació prèvia i les dades preliminars (explicades més endavant), la nostra hipòtesi és que xarxes específiques de mecanotransducció impulsen diferents aspectes de l'aparició i la progressió del tumor de pàncrees mitjançant la regulació de la importació i la funció nuclear de YAP.

Els objectius principals d'aquest projecte són:

- (i) Entendre els mecanismes pels quals YAP respon a senyals mecànics en l'adenocarcinoma ductal pancreàtic (PDAC) i identificar oportunitats terapèutiques potencials.
- (ii) Caracteritzar-ne l'impacte en diferents aspectes clau de la malaltia.

Aquests objectius principals s'emmarquen en els objectius específics següents:

Objectiu 1. Identificar els mecanismes mecanosensors de YAP activats a la membrana plasmàtica (MP) cel·lular

Les nostres investigacions recents demostren que la mecanosensibilitat intervinguda per les invaginacions nanoscòpiques de l'MP, anomenades *cavèoles*, i el citoesquelet d'actina regulen la fosforilació i la funció de YAP. Explorarem com aquests mecanismes modulen la posterior senyalització de YAP en resposta a senyals mecànics.

Objectiu 2. Identificar els mecanismes mecanosensors de YAP desencadenats al nucli

Les nostres dades preliminars donen suport a la tesi que la força mecànica exercida directament sobre el nucli, i específicament sobre els porus nuclears, regula la importació activa de YAP al nucli i, per tant, la seva funció transcripcional. Abordarem aquesta hipòtesi per dilucidar el mecanisme subjacent.

Objectiu 3. Avaluat les implicacions funcionals

Després de desentranyar els mecanismes mecanosensors específics dels objectius 1 i 2, n'avaluarem les implicacions en la progressió del càncer.

2. Resultats

Els resultats d'aquest projecte es poden resumir de la manera següent:

- Hem identificat que la mecanosensibilitat de YAP està regulada pel transport nucleocitoplasmàtic, i hem identificat elements estructurals dins dels complexos de porus nuclear que suprimeixen aquesta mecanosensibilitat. També hem identificat el mecanisme pel qual la força afecta el transport nucleocitoplasmàtic (Andreu *et al.*, Nat. Cell. Biol. 2022).
- Hem identificat la molècula que permet transportar YAP al nucli, la importina 7 (Garcia-Garcia *et al.*, Nat Comms 2022). En models de càncer, la interferència amb imp7 redueix la progressió tumoral, cosa que suggereix que aquesta molècula té implicacions importants en el càncer.
- Hem identificat un nou tipus de microestructura de membrana anomenada *dolina*, formada per la proteïna caveolina-1. Aquest tipus d'estructura respon a forces

mecàniques i contribueix a la localització de YAP al nucli (Lolo *et al.*, Nat Cell Biol 2023).

- Hem emprat aquests coneixements per desenvolupar sensors fluorescents de mecanotransducció nuclear. En comparar aquests sensors amb YAP en línies cel·lulars de càncer, s'ha revelat una propietat fonamental de YAP: les respostes de YAP es poden dividir en una resposta mecanosensible i una resposta de densitat cel·lular (adhesió cèl·lula-cèl·lula), que semblen independents.
- La modulació de la mecànica nuclear a través de les làmines pot abolir les respostes de YAP tant amb relació a l'augment de la rigidesa tissular com a la transició epitelial-mesenquimàtica.
- Finalment, hem desvelat un mecanisme pel qual les cèl·lules poden impedir la mecanotransducció de YAP i, en general, la mecanotransducció nuclear, per l'adherència a una matriu rica en laminina, present en la matriu extracel·lular sana. Aquest mecanisme podria estar regulant la mecanotransducció en el càncer, com s'ha observat en mostres de pacients (Kechagia *et al.*, Nat. Mater. 2023).

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Els nostres resultats tenen diverses implicacions, que es poden dividir en 3 categories principals. En primer lloc, i en relació amb els mecanismes intervinguts per membrana, hem descobert les dolines de caveolina-1, estructures noves que permeten l'entrada nuclear de YAP davant forces de rang baix-mitjà (Nat Cell Biol 2023), diferents de les caveòles que indueixen l'acumulació nuclear de YAP només a forces altes, probablement més lligades a condicions patològiques. L'entrada nuclear de YAP és clau en molts tumors i, per això, comprendre el mecanisme molecular bàsic que la regula seria clau per a la clínica en el futur. Basant-nos en el nostre descobriment que la importina 7 importa YAP al nucli (Nat Comms 2022), estem en procés d'establir un assaig ELISA basat en la interacció d'alta afinitat entre els 2 socis, que té potencial per ser utilitzat en el diagnòstic molecular del càncer i el pronòstic en el futur. De la mateixa manera, la continuació d'aquesta línia de recerca prometedora podria identificar mitjans per bloquejar l'entrada nuclear de YAP al càncer i, per tant, es podria utilitzar per a la teràpia selectiva en el futur.

En segon lloc, el desenvolupament de sensors fluorescents de mecanotransducció nuclear implica que ara podem construir molècules sintètiques que responguin per força. En unir aquests sensors a dominis transcripcionals, s'obre la possibilitat de desenvolupar un sistema artificial i sintètic de mecanotransducció. Aquest sistema es podria utilitzar en teràpia gènica perquè les cèl·lules detectin teixits cancerosos alterats mecànicament i en reverteixin els efectes. En el futur, això podria conduir a tractaments que normalitzin l'estroma alterat al càncer de pàncrees i altres tipus de càncer. Ara treballem activament en aquest concepte i, de fet, recentment hem obtingut una subvenció avançada de l'ERC destinada precisament a explorar aquesta idea.

Finalment, els nostres resultats mostren en diferents contextos que la modulació de les propietats mecàniques del nucli (alterant els nivells de laminina o afectant el citosquelet de queratina a través de la laminina) altera dràsticament la mecanosensibilitat de YAP i les respostes cel·lulars subsegüents. Comprendre això amb detall requereix més estudis, i un dels aspectes clau és si podem regular la mecànica nuclear d'una forma mínimament invasiva que afecti la mecanosensibilitat. Aquest treball està actualment en curs, però preveiem que podria conduir al desenvolupament de noves teràpies adreçades a la mecànica nuclear per al tractament del càncer.

4. Bibliografia científica generada

1. Terri M, Sandoval P, Bontempi G, Montaldo C, Tomero-Sanz H, de Turrís V, Trionfetti F, Pascual-Antón L, Clares-Pedrero I, Battistelli C, Valente S, Zwergel C, Mai A, Rosanò L, del Pozo MA, Sánchez-Álvarez M, Cabañas C, Tripodi M, López-Cabrera M, Strippoli R.

HDAC1/2 control mesothelium/ovarian cancer adhesive interactions impacting on Talin-1-a5b1-integrin-mediated actin cytoskeleton and extracellular matrix protein remodeling.

Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 43(1) 27 (2024).

<https://doi.org/10.1186/s13046-023-02930-8>.

2. Lolo F-N, Walani N, Seemann E, Zalvidea D, Pavón DM, Cojoc G, Zamai M, de Lesegno CV, Martínez de Benito F, Sánchez-Álvarez M, Uriarte JJ, Echarri A, Jiménez-

Carretero D, Escolano JC, Sánchez SA, Caiolfa VR, Navajas D, Trepas X, Guck J, Lamaze C, Roca-Cusachs P, Kessels MM, Qualmann B, Arroyo M, Del Pozo MA. *Caveolin-1 dolines form a distinct and rapid caveolae-independent mechanoadaptation system.*

Nat Cell Biol. 25, 120-133 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41556-022-01034-3>.

3. Pesce M, Duda GN, Forte G, Girao H, Raya A, Roca-Cusachs P, Sluijter JPG, Tschöpe C, Van Linthout S.

Cardiac fibroblasts and mechanosensation in heart development, health and disease.

Nature Reviews Cardiology, 20 (5) 309-324 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41569-022-00799-2>.

4. Noordstra I, Díez Hermoso M, Schimmel L, Bonfim-Melo A, Currin-Ross D, Duong CN, Kalappurakkal JM, Morris RG, Vestweber D, Mayor S, Gordon E, Roca-Cusachs P, Yap AS.

An E-cadherin-actin clutch translates the mechanical force of cortical flow for cell-cell contact to inhibit epithelial cell locomotion.

Developmental Cell, 58 (18) 1748-1763e6 (2023).

<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2023.06.011>.

5. Kechagia Z, Roca-Cusachs P.

Cytoskeletal safeguards: Protecting the nucleus from mechanical perturbations.

Current Opinion in Biomedical Engineering, 28: 100494 (2023).

<https://doi.org/10.1016/j.cobme.2023.100494>.

6. Kechagia Z, Sáez P, Gómez-González M, Canales B, Viswanadha S, Zamarbide M, Andreu I, Koorman T, Beedle AEM, Elosegui-Artola A, Derksen PWB, Trepas X, Arroyo M, Roca-Cusachs P.

The laminin-keratin link shields the nucleus from mechanical deformation and signalling.

Nature Materials, 22, 1409-1420 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41563-023-01657-3>.

7. Quiroga X, Walani N, Disanza A, Chavero A, Mittens A, Tebar F, Trepas X, Parton RG, Geli MI, Scita G, Arroyo M, Le Roux A-L, Roca-Cusachs P.

A mechanosensing mechanism controls plasma membrane shape homeostasis at the nanoscale.

eLife, 12: e72316 (2023). <https://doi.org/10.7554/eLife.72316>.

8. Beedle AEM, Roca-Cusachs P.

The reversibility of cellular mechano-activation.

Current Opinion in Cell Biology, 84: 102229 (2023).

<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2023.102229>.

9. Urbanska M, Ge Y, Winzi M, Abuhattum S, Herbig M, Kraeter M, Toepfner N, Durgan J, Florey O, Dori M, Calegari F, Lolo F-N, Del Pozo MA, Taubenberger A, Cannistraci CV, Guck J.

De novo identification of universal cell mechanics regulators.

eLife, 12:RP87930 (2023). <https://doi.org/10.7554/eLife.87930.1>.

10. Aizarna Lopetegui U, García C, Renero-Lecuna C, González P, Villaluenga I, del Pozo MA, Sánchez-Álvarez M, Henriksen-Lacey M, Jimenez de Aberasturi D.

Remodeling arteries: studying the mechanical properties of 3D-bioprinted hybrid photoresponsive materials.

J. Mater. Chem. B. 11, 9431-9442 (2023). <https://doi.org/10.1039/d3tb01480k>.

11. Sotodosos-Alonso L, Pulgarin-Alfaro M, del Pozo MA.

Caveolae Mechanotransduction at the Interface between Cytoskeleton and Extracellular Matrix. Cells, 12(6), 942 (2023). <https://doi.org/10.3390/cells12060942>.

12. Aboy-Pardal MCM, Jiménez-Carretero D, Terrés-Domínguez S, Pavón DM, Jiménez-Jiménez V, Sánchez-Cavo F, Del Pozo MA.

A Deep Learning algorithm for the localization and analysis of caveolae in electron microscopy images.

Comput Struct Biotechnol J. 21, 224-237 (2023).

<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.062>.

13. García-García M, Sánchez-Perales S, Jarabo P, Calvo E, Huyton T, Fu L, Chun Ng S, Sotodosos-Alonso L, Vázquez J, Casas-Tintó S, Görlich D, Echarri A, Del Pozo MA.

Mechanical control of nuclear import by Importin-7 is regulated by its dominant cargo YAP.

Nature Communications, 13, 1174 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28693-y>.

14. Andreu I, Granero-Moya I, Garcia-Manyes S, Roca-Cusachs P.

Understanding the role of mechanics in nucleocytoplasmic transport.

APL Bioengineering, 6 (2) 020901 (2022). <https://doi.org/10.1063/5.0076034>.

15. Andreu I, Granero-Moya I, Chahare NR, Clein K, Molina-Jordán M, Beedle AEM, Elosegui-Artola A, Abenza JF, Rossetti L, Trepas X, Raveh B, Roca-Cusachs P.

Mechanical force application to the nucleus regulates nucleocytoplasmic transport.

Nature cell biology, 24 (6) 896–905 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41556-022-00927-7>.

16. Lolo F-N, Pavón DM, Grande A, Elósegui Artola A, Segatori VI, Sánchez S, Trepas X, Roca-Cusachs P, del Pozo MA.

Caveolae couple mechanical stress to integrin recycling and activation.

eLife, (11) e82348 (2022). <https://doi.org/10.7554/eLife.82348>.

17. Sánchez-Álvarez M, Del Pozo MA.

An unexpected role for PD-L1 in front-rear polarization and directional migration.

Journal of cell biology, 221(5): e202203137 (2022).

<https://doi.org/10.1083/jcb.202203137>.

18. Sánchez-Álvarez M, Del Pozo MA, Bosch M, Pol A.

Insights Into the Biogenesis and Emerging Functions of Lipid Droplets From Unbiased Molecular Profiling Approaches.

Front Cell Dev Biol. 10, 901321 (2022). <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.901321>.

19. Andreu I, Falcones B, Hurst S, Chahare N, Quiroga X, Le Roux A-L, Kechagia Z, Beedle AEM, Elosegui-Artola A, Trepas X, Farré R, Betz T, Almendros I, Roca-Cusachs P.

The force loading rate drives cell mechanosensing through both reinforcement and cytoskeletal softening.

Nature Communications, 12 (1) 4229 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24383-3>.

20. Le Roux A-L, Tozzi C, Walani N, Quiroga X, Zalvidea D, Trepas X, Staykova M, Arroyo M, Roca-Cusachs P.

Dynamic mechanochemical feedback between curved membranes and BAR protein self-organization.

Nature Communications, 12 (1) 6550 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26591-3>.

21. Del Pozo MA, Lolo F-N, Echarri A.

Caveolae: Mechanosensing and mechanotransduction devices linking membrane trafficking to mechanoadaptation.

Current opinion in cell biology, 68, 113-123 (2021).

<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.10.008>.

22. Shi Y, Ye Z, Lu G, Yang N, Zhang J, Wang L, Cui J, Del Pozo MA, Wu Y, Xia D, Shen HM.

Cholesterol-enriched membrane micro-domain deficiency induces doxorubicin resistance via promoting autophagy in breast cancer.

Mol Ther Oncolytics, 23, 311-329 (2021).

<https://doi.org/10.1016/j.omto.2021.10.005>.

23. Albacete-Albacete L, Sánchez-Álvarez M, del Pozo, MA.

Extracellular Vesicles: An Emerging Mechanism Governing the Secretion and Biological Roles of Tenascin-C.

Frontiers in immunology, 12, 671485 (2021).

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.671485>.

24. Navarro-Lérida I, Sánchez-Álvarez M, del Pozo MA.

Post-Translational Modification and Subcellular Compartmentalization: Emerging Concepts on the Regulation and Physiopathological Relevance of RhoGTPases.

Cells, 10(8), 1990 (2021). <https://doi.org/10.3390/cells10081990>.

25. Sánchez-Álvarez M, Sailem H, Lolo F, Pascual-Vargas P, Fulgoni G, Arias-García M, Del Pozo MA, Bakal C.

PERK-dependent reciprocal crosstalk between ER and non-centrosomal microtubules coordinates ER architecture and cell shape.

En segona ronda de revisió a Cell Reports (CELL-REPORTS-D-22-03491). bioRxiv preprint (2021). <https://doi.org/10.1101/2021.01.19.426991>.

26. Albacete-Albacete L, Navarro-Lérida I, López JA, Martín-Padura I, Astudillo AM, Ferrarini A, Van-Der-Heyden M, Balsinde J, Orend G, Vázquez J, Del Pozo MA.

ECM deposition is driven by caveolin-1-dependent regulation of exosomal biogenesis and cargo sorting.

J Cell Biol. 219 (11):e202006178 (2020). <https://doi.org/10.1083/jcb.202006178>.

27. Bosch M, Sánchez-Álvarez M, Kapetanovic R, Fajardo A, Dutra F, Moreira L, López JA, Campo R, Templin RM, Marí M, Morales-Paytuví F, Gubern A, Tebar F, Enrich C, Vázquez J, Del Pozo MA, Sweet MJ, Bozza PT, Gross SP, Parton RG, Pol A.

Mammalian lipid droplets are innate immune hubs integrating cell metabolism and host defense.

Science, 370, eaay8085 (2020). <https://doi.org/10.1126/science.aay8085>.

28. Strippoli R, Sandoval P, Moreno-Vicente R, Rossi L, Battistelli C, Terri M, Pascual-Antón L, Loureiro M, Matteini F, Calvo E, Jiménez-Heffernan JA, Gómez MJ, Jiménez-Jiménez V, Sánchez-Cabo F, Vázquez J, Tripodi M, López-Cabrera M, Del Pozo MA.

Caveolin1 and YAP drive mechanically induced mesothelial to mesenchymal transition and fibrosis.

Cell Death Dis. 11, 647 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02822-1>.

29. Lolo FN, Jiménez-Jiménez V, Sánchez-Álvarez M, Del Pozo MÁ.

Tumor-stroma biomechanical crosstalk: a perspective on the role of caveolin-1 in tumor progression.

Cancer Metastasis Rev, 39, 485-503 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09900-y>.