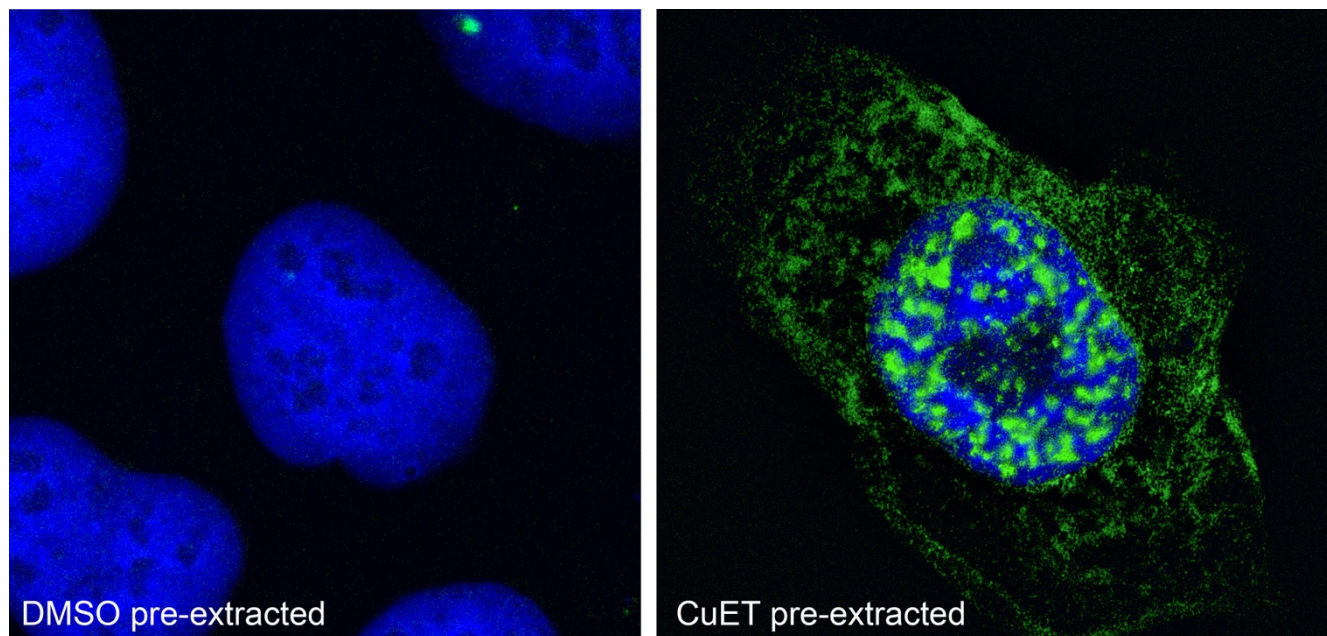


Årlige højdepunkt 1

Lægemiddelet Disulfiram (Antabus) mod alkoholmisbrug rammer kræft via nøglekomponenten i cellernes genbrugsmaskineri: p97/NPL4 segregasen (Skrott Z. et al., Nature 2017)

Ved genbrug af allerede godkendt medicin, har vi identificeret en uventet metode til at behandle en bred vifte af menneskelige tumorer. Denne måde at behandle kræft på rammer NPL4 proteinet, der er en co-faktor for p97VCP segregasen. Dette kompleks er et centralt element i proteasomet i det cellulære protein-genbrugsmaskineri, der spiller en rolle i flere cellulære processer såsom autofagi. p97-NPL4 komplekset virker ved at genkende proteiner bundet med ubiquitin i diverse organeller og cellulære strukturer, ekstrahere disse proteiner og levere dem til proteasomet til nedbrydning og genbrug. Vi opdagede at det FDA-godkendte stof disulfiram (antabus) kan bruges til at ramme NPL4. Vores resultater viser at disulfiram hurtigt bliver metaboliseret til et kompleks bestående af ditiocarb og kobber og at det er dette aktive anti-kræft stof der fortrinsvis akkumulerer i tumorer og *in vivo* binder til NPL4 proteinets formodede zinkfinger-domæne. Denne binding udløser aggregering og immobilisering af det ellers ekstremt dynamiske og mobile p97-NPL4 kompleks og forårsager, på grund af cellernes manglende evne til at genbruge skadede eller misfoldede proteiner, et alvorligt endogent stress der leder til heat-shock respons og celledød. Disse eksperimentelle data er yderligere blevet forstærket af epidemiologiske studier fra det danske cancer- og behandlingsregister, metoder til at påvise den aktive metabolit i blod og væv og identifikation af en biomarkør som en kandidat til at vejlede kommende kliniske studier med kombination af disulfiram og kobber tilskud for at øge dannelsen af den aktive anti-kræft metabolit. Adskillige af sådanne kliniske studier bliver allerede nu forberedt eller sat i gang baseret på vores resultater og med vores hjælp i Danmark, Sverige, Norge og Tjekkiet. Dette større studie udgør et signifikant skridt mod at opnå et af hovedmålene med CARD-projektet, nemlig at identificere og udnytte innovative strategier til at ramme kræftsygdommens svagheder i autofagi, cellernes genbrugsmaskineri.

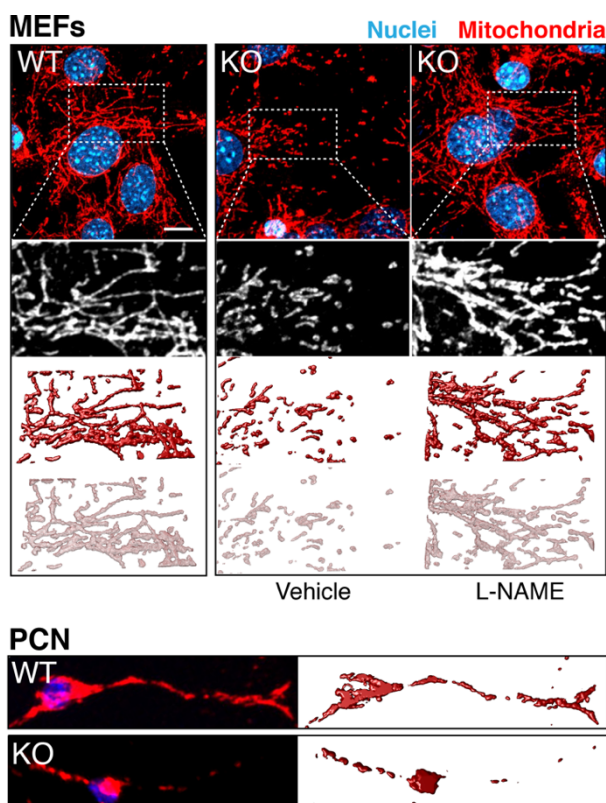


Aggregering af NPL4 komplekser in celler behandlet med CuET, den aktive metabolit af disulfiram. I menneskelige kræftceller der er blevet præ-ekstraheret for at fjerne frit bevægelige proteiner og deres DNA (nukleus) farvet blå, er det fluorescensmærkede protein NPL4 (grøn) fjernet fra cellerne der er ubehandlede og vokser under kontrolforhold (til venstre, markeret med DMSO). I skarp kontrast er de samme celler der er blevet behandlet med anti-kræft-metabolitten fra disulfiram/antabus (markeret med CuET, til højre). Dette resulterer i uopløseligt aggregeret NPL4 (grøn) der blokerer cellernes proteingenbrugsmaskineri og leder til celledød i kræftceller.

Årlige højdepunkt 2

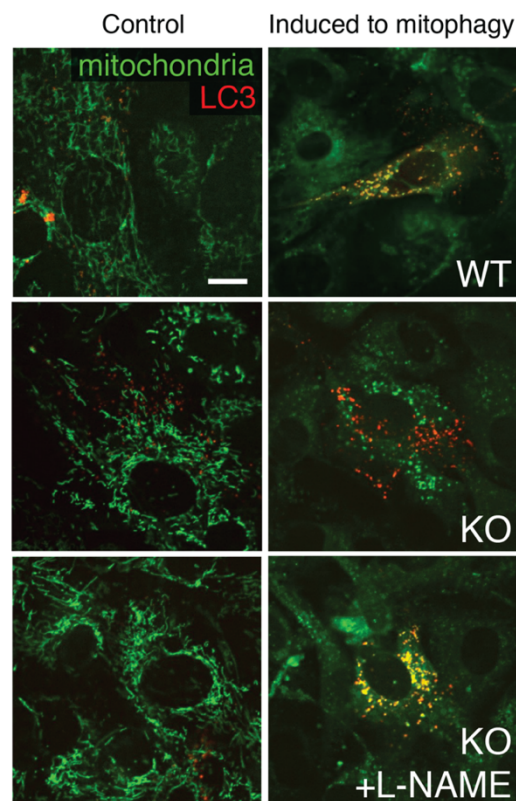
S-nitrosylering er en prototypisk redox-baseret posttranslational modifikation, som igangsættes af kvælstofoxid og hyppigt er dysreguleret ved sygdom. S-nitrosoglutathion reductase (GSNOR) regulerer S-nitrosylering af protein ved at virke som en proteindenitrosylase. GSNOR-mangel resulterer i tumorgenese og neuromuskulære forstyrrelser og påvirker generelt metabolisk, kardiovaskulær og immunfunktion. Vi har observeret, at celler med GSNOR-mangel udviser fragmenterede mitokondrier, som ikke i tilstrækkelig grad bliver genkendt til bortskaffelse på grund af den selektive S-nitrosylering af de proteiner, som regulerer mitokondriedynamikkerne (Drp1) og mitofagi (Parkin). Akkumulering af mitokondrieskade anerkendes almindeligvis som et aldersrelateret fænomen koblet med de uundgåelige sideeffekter fra oxidativ metabolisme. Faktisk viser mus som mangler GSNOR (*Gsnor*-KO) fænotyper, som er typiske for aldring. Vi har også observeret, at GSNOR ekspression fysiologisk aftager ved aldring, men derimod ikke ændrer sig hos usædvanligt langtlevende individer.

Vores fund forbinder GSNOR med lang levetid hos pattedyr og antyder en molekylær forbindelse mellem protein S-nitrosylering og mitokondriekvalitetskontrol i aldring med direkte behandlingsmæssig betydning, særligt for kræft, hvor aldring er en betydningsfuld risikofaktor.



S-nitrosylering øger mitokondriel fragmentering.

Konfokal mikroskopanalyse af *wild-type* (WT) og *Gsnor*-KO embryone fibroblaster fra mus (MEFs, Øverste række) eller primære kortikale neuroner (PCN, Nederste række) farvet DNA (blå) og mitokondriel TOM20 (rød). 3D afbildning af z-stacks er vist nedenunder for at fremhæve forskelle i mitokondrienetværk, som synes stærkt fragmenterede for *Gsnor*-KO (kraftig S-nitrosylering). L-NAME – et kemisk stof, der anvendes til at modvirke S-nitrosylering – genskaber den korrekte (aflange) mitokondriemorfologi



S-nitrosylering svækker mitofagi.

Stillbilleder af live-imaging analyser af *wild-type* (WT) og *Gsnor*-KO celler udført med et Spinning Disk konfokalt mikroskop. LC3-cherry (rød) og Mitotracker Green (grøn) visualiserer henholdsvis autofagosomer og mitokondrier. Cellerne blev behandlet med et frakoblende molekyle for at inducere mitofagi. *Gsnor*-KO celler er ude af stand til at opsluge skadede mitokondrier i autofagosomerne (fremhævet med en gul fluorescens fremkommet ved blanding af rød og grøn). Inkubation med L-NAME genskaber en korrekt mitofagi.