

Rak jelita grubego jest jednym z najczęściej występujących nowotworów. Szczyt zapadalności dla tego typu nowotworu przypada na piątą dekadę życia, co najczęściej ma związek ze specyfiką biologii powoli postępującej kancerogenezy. Pogłębiający się wraz z wiekiem proces starzenia się układu immunologicznego zwiększa zapadalność na określone schorzenia chorobowe. Rozłożony w czasie proces transformacji nowotworowej angażuje odpowiedź immunologiczną i wytwarza warunki odpowiadające przewlekłemu stanowi zapalnemu, który jest jednocześnie ważnym podłożem patogenetycznym uwarunkowanych zapalnie nowotworów. Aktywność sekrecyjna komórek nowotworowych może powodować zmianę immunofenotypu komórek immunologicznych oraz modyfikację mikrośrodowiska pozakomórkowego, co umożliwia ominięcie mechanizmów obronnych gospodarza.

Cytokiny należą do białek o multipotencjalnych właściwościach, a ich zdolność do regulacji odpowiedzi immunologicznej może być istotna w procesie progresji nowotworowej. Interleukina 10 (IL10) jest cytokiną o silnym działaniu immunosupresyjnym, a jej efekt biologiczny, który wywiera na komórki docelowe zachodzi poprzez interakcję z receptorem błonowym α (IL10RA). Istnieją doniesienia sugerujące istotne znaczenie IL10 w rozwoju raka jelita grubego.

Uzyskane przez nas wyniki sugerują regulację przez raka jelita grubego odpowiedzi immunologicznej w wyniku indukcji ekspresji receptora IL10RA na poziomie białka. W naszych badaniach stwierdziliśmy istotnie wyższą ekspresję receptora IL10RA w marginesie chirurgicznym nowotworu, będącym w istocie prawidłową tkanką pod względem morfologicznym, aniżeli w samym ognisku raka. Ponadto odnotowaliśmy niższą ekspresję IL10RA w kontroli prawidłowej pochodzącej z przeprowadzonych autopsji, aniżeli w prawidłowej tkance marginesu chirurgicznego pobranej od pacjenta ze zdiagnozowanym nowotworem jelita grubego. Jest to cenna obserwacja, która wydaje się potwierdzać uprzednie hipotezy zakładające systemową immunosupresję odpowiedzi immunologicznej przez postępujący proces nowotworowy. Interesującym spostrzeżeniem jest również lokalizacja receptora IL10RA, który poza wyraźną reakcją błonową, był również uwidoczniiony w cytoplazmie, a miejscami także w obrębie jądra komórkowego, co może sugerować syntezę i uwalnianie receptora przez komórki nowotworowe.

Egzocytoza jest jedną z form transportu pozakomórkowego, który opiera się na uwalnianiu przez komórkę do otoczenia licznych pęcherzyków. Egzosomy są klasyfikowane w kategorii pęcherzyków egzocytarnych, których średnica nie przekracza 150 nm. Zdolność pęcherzyków do transportu licznych białek błonowych i regulatorowych, w tym niekodującego RNA i kwasów deoksyrybonukleinowych, sugeruje pośrednictwo w pełnieniu ważnych biologicznie funkcji na poziomie molekularnym komórki. Jedną z aktualnych hipotez zakłada modyfikację przez egzosomy aktywności komórek immunologicznie kompetentnych.

Celem rozprawy doktorskiej jest potwierdzenie transportu receptora IL10RA przez egzosomy w raku jelita grubego oraz wykazanie istotności tego procesu w indukowaniu anergii komórkowej względem immunofenotypu komórek zapalnych naciekających guz. W tym celu egzosomalne cargo zostanie ocenione przy pomocy transmisyjnej mikroskopii elektronowej z celowaną reakcją z zastosowaniem złota koloidalnego (immunogold) oraz niezależnych analiz proteomicznych. Immunohistochemiczna ocena tkanki pod kątem antygenów CD45, CD3, CD4 i CD8 pozwoli określić immunofenotyp komórek zapalnych. Potwierdzenie obecności IL10RA w badanych egzosomach podkreśli istotność transportu pozakomórkowego w modyfikacji funkcji odpornościowych. Jednoczesna analiza immunohistochemiczna ekspresji czynnika transkrypcyjnego STAT3 oraz kinaz tyrozynowych JAK1/TYK2 na poziomie białka i genów w badanej tkance pozwoli ocenić zakres aktywacji receptora IL10.

W projekcie badawczym zostanie także przeprowadzona ocena nasilenia egzocytozy za pomocą niezwykle nowatorskiej procedury, jaką jest Powierzchniowo wzmocniona spektroskopia Ramana (SERS). W połączeniu z oceną immunohistochemiczną ekspresji markerów egzosomalnych (CD9, CD63) między rakiem jelita grubego, a tkanką prawidłową uzyskane wyniki pozwolą lepiej poznać znaczenie egzocytocy w patogenezie nowotworów. Reakcje kontrolne na egzosomy zostaną ocenione metodą Western Blot.