

Czerniak to agresywny rak skóry, którego częstość występowania wzrasta na całym świecie. Obecnie leczenie chorych na czerniaka skóry obejmuje zabieg chirurgiczny, a schemat leczenia uzupełniającego z udziałem inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych lub inhibitorów kinaz BRAF lub MEK jest zwykle dostosowywany indywidualnie do sytuacji klinicznej pacjenta. Pomimo wykorzystania tych nowatorskich terapii, u około połowy pacjentów z czerniakiem nowotwór ten wymyka się spod kontroli immunologicznej i rozwija pierwotną lub nabytą oporność na terapię, co pozostaje głównym problemem terapeutycznym.

Egzosomy są jedną z klas tzw. pęcherzyków pozakomórkowych uwalnianych przez komórki do ich środowiska i uczestniczących w komunikacji między-komórkowej. Składniki egzosomów są specyficzne dla komórek z których są uwalniane, mogą więc być swoistymi markerami odzwierciedlającymi cechy tych komórek. Obecne w płynach ustrojowych (osocze/surowica) pacjentów z rozpoznaniem czerniaka egzosomy produkowane przez komórki guza (ang. melanoma tumor-derived exosomes, MTEX) mogą być ekwiwalentem komórek czerniaka i służyć jako odpowiednik tzw. "płynnej biopsji" pozwalając na nieinwazyjne diagnozowanie i monitorowanie rozwoju choroby. Jedną z funkcji, którą przypisuje się egzosomom produkowanym przez komórki nowotworowe jest hamowanie odpowiedzi immunologicznej w reakcji na rozwijający się nowotwór, np. poprzez inicjowanie przekształcania się komórek układu immunologicznego w komórki hamujące odpowiedź immunologiczną. Egzosomy mogą nie tylko ułatwiać ucieczkę nowotworu spod nadzoru immunologicznego, ale również promować jego rozwój przez przenoszenie cząsteczek sygnałowych między komórkami modulując mikrośrodowisko guza. Wyniki badań nad funkcjonalnymi oddziaływaniami egzosomów MTEX z komórkami układu immunologicznego oraz komórkami nowotworowymi mogą ułatwić zrozumienie skomplikowanej komunikacji występującej w mikrośrodowisku guza.

Celem projektu jest zbadanie roli białka PD CD6IP (białko oddziałujące z białkiem programowanej śmierci komórki-6) obecnego w MTEX pochodzących z osocza pacjentów chorujących na czerniaka w regulacji immunologicznej oraz w promowaniu progresji nowotworu. Badania zostaną przeprowadzone z wykorzystaniem ilościowej celowanej proteomiki realizowanej technikami spektrometrii mas oraz funkcjonalnej analizy MTEX inkubowanych z komórkami układu immunologicznego lub komórkami nowotworowymi. Zakładamy, że projekt potwierdzi możliwość potencjalnego wykorzystania białka PD CD6IP jako prognostycznego markera progresji czerniaka po leczeniu onkologicznym.

Nasza dotychczasowa analiza sygnatury peptydów MTEX izolowanych z osocza pacjentów z przerzutowym czerniakiem wykazała, że PD CD6IP jest białkiem, którego poziom najsilniej odróżnia pacjentów z progresją choroby po terapii onkologicznej (progressive disease, PD) od pacjentów u których choroba jest stabilna lub nie stwierdza się objawów rozwoju choroby (no evidence of disease/stable disease, NED/SD). Ekspresja białka PD CD6IP była obniżona lub nieobecna w MTEX pacjentów z NED/SD, podczas, gdy u pacjentów z PD była istotnie podwyższona.

Aby wyjaśnić powyższą obserwację i sprawdzić dlaczego podwyższony poziom białka PD CD6IP w MTEX wiąże się z progresją czerniaka, przeprowadzimy analizę funkcjonalną egzosomów wytwarzanych przez linię komórek czerniaka wykazujących ekspresję PD CD6IP i równoległe przez tę samą linię komórkową z usuniętym genem kodującym to białko (tzw. knock-out uzyskany z wykorzystaniem technologii CRISPR). Egzosomy uwalniane przez oba warianty linii komórek czerniaka będziemy inkubować z pierwotnymi ludzkimi komórkami układu odpornościowymi badając wpływ PD CD6IP na aktywację ich przeżycia, proliferację, produkcję cytokin i funkcje efektorowe. Następnie, korzystając z tego samego modelu określimy, czy obecność białka PD CD6IP w egzosomach wpływa na wzrost komórek czerniaka, przeżycie i odporność na terapię. Oczekujemy, że wyniki tych doświadczeń potwierdzą udział PD CD6IP w regulacji immunologicznej za pośrednictwem egzosomów lub we wzroście guza (lub w obu tych procesach).

Realizacja proponowanego projektu umożliwi zbadanie roli białka PD CD6IP w progresji czerniaka. Ponadto, realizacja projektu dostarczy nowej wiedzy na temat udziału egzosomów w komunikacji między komórkami guza nowotworowego a komórkami immunologicznymi z jego mikrośrodowiska. Wyniki projektu, poza istotnym znaczeniem poznawczym, będą miały potencjalne znaczenie aplikacyjne dla opracowania nowatorskiego podejścia do tzw. płynnej biopsji nowotworu.

Projekt będzie realizowany we współpracy z prof. Whiteside oraz prof. Ferrone, światowej klasy ekspertami w dziedzinie molekularnej immunologii nowotworów, będąc doskonałą okazją dla osób realizujących projekt do wykonywania proponowanych badań w optymalnym środowisku umożliwiającym efektywną i pomyślną realizację zaplanowanych badań. Dotychczasowa współpraca naukowa między wszystkimi partnerami jest udokumentowana wspólnym dorobkiem publikacyjnym.