

Proces angiogenezy jest ważnym elementem mikrośrodowiska guza, wpływającymi bezpośrednio na wzrost i przerzutowanie komórek nowotworowych. Komórki układu odpornościowego m.in. limfocyty T i neutrofile stanowią jedną z pierwszych linii obrony m.in. przed rozwojem nowotworu. Wzrost liczby neutrofilii we krwi obwodowej (ponad dziewięciokrotny w stosunku do prawidłowego poziomu) jest jednak związany z powstaniem niekorzystnego stosunku neutrofilii do limfocytów (ang. NLR - Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio), który koreluje ze złym rokowaniem u pacjentów z rozpoznaniem nowotworu żołądka, śluzakowłóknakiomiesaka oraz nowotworu regionu głowy i szyi. Prawdopodobnie jest to związane z istnieniem populacji neutrofilii o działaniu pro-onkogennym, która promuje rozwój guza poprzez m.in. stymulację proliferacji, migracji oraz angiogenezę komórek endotelialnych. Dotychczas nie wyjaśniono mechanizmu tej stymulacji, co uniemożliwia planowanie terapii mającej na celu jej zahamowanie.

Małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe należą do grupy pęcherzyków zewnątrzkomórkowych i są uwalniane przez wszystkie typy komórek. Uczestniczą one w wielu procesach w tym m.in. komunikacji międzykomórkowej czy modulacji zachowania komórek układu odpornościowego. Składniki małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych są specyficzne dla komórek z których są uwalniane, mogą więc być swoistymi markerami odzwierciedlającymi cechy tych komórek, a także nośnikiem sygnałów dla komórek docelowych. W przypadku małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych uwalnianych przez neutrofile wykazano, że powodują wzrost proliferacji komórek mięśni gładkich dróg oddechowych. W związku z tym istnieje możliwość stymulacji angiogenezy przez małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe bez bezpośredniego kontaktu typu neutrofile-komórki śródbłonna. Wyniki badań nad mechanizmem, za pośrednictwem którego neutrofile modulują proces angiogenezy w mikrośrodowisku guza pozwolą na poznanie biologii guza nowotworowego oraz w przyszłości na zaplanowanie terapii, której celem byłoby zahamowanie procesu angiogenezy i wzrostu guza.

W proponowanym projekcie wnioskodawca zweryfikuje hipotezę, że małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe uwalniane przez neutrofile (NEX) odgrywają kluczową rolę w zależnej od neutrofilii modulacji angiogenezy.

Dotychczasowe badania wskazują, że pro-onkogenne neutrofile gromadzą się w otoczeniu guza i wspierają jego rozwój poprzez stymulację procesu angiogenezy. Neutrofile pro-onkogenne wydzielają duże ilości czynników proangiogennych takich jak VEGF i MMP9. Oddziałują one na komórki śródbłonna powodując zwiększoną proliferację oraz stymulując do tworzenia struktur odpowiadającym naczyniom krwionośnym. Powyższych właściwości nie stwierdzono w przypadku „anty-nowotworowych” neutrofilii, co zostało potwierdzone w badaniach *in vivo* na mysim modelu raka jamy ustnej.

Ponadto, zakładając rolę receptora interferonu typu 1 w regulacji przełączania między fenotypem przeciwnowotworowym a proonkogennym neutrofilii, wnioskodawca zweryfikuje rolę receptora interferonu typu 1 w komunikacji między neutrofilami a komórkami śródbłonna za pośrednictwem NEX. Uzyskane wyniki pozwolą ocenić udział małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych uwalnianych przez neutrofile w mechanizmie modulacji mikrośrodowiska nowotworu przez pro-onkogenne neutrofile związane z nowotworem. Ponadto badanie pomoże zidentyfikować składniki molekularne NEX, które mogą stać się potencjalnym celem terapeutycznym.

W celu wyjaśnienia mechanizmu za pośrednictwem, którego neutrofile regulują proces angiogenezy wnioskodawca przeprowadzi analizę funkcjonalną małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych uwalnianych przez neutrofile o właściwościach „pro-onkogennych” oraz „antynowotworowych”. Neutrofile zostaną uzyskane z mysich komórek progenitorowych, które zostaną warunkowo unieśmiertelnione z wykorzystaniem metody transfekcji retrowirusowej. Małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe uzyskane z każdego z wariantów funkcjonalnych neutrofilii będą ko-inkubowane z linią komórek śródbłonna. Ponadto wnioskodawca oceni wpływ pęcherzyków na komórki śródbłonna w kontekście proliferacji, migracji oraz zdolności do tworzenia struktur przypominających naczynia krwionośne. Wnioskodawca planuje również zbadanie roli dwóch nadreprezentowanych białek obecnych w małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych uwolnionych z pro-onkogennych neutrofilii na fenotyp komórek śródbłonna w modelu *in vivo*. Uzyskane wyniki pozwolą poznać rolę małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w modulacji procesu angiogenezy oraz zweryfikować ich potencjalne działanie terapeutyczne.

Realizacja proponowanego projektu pozwoli na zbadanie mechanizmu, za pośrednictwem którego neutrofile mogą modulować proces angiogenezy niezbędny dla rozwoju nowotworu. Ponadto, realizacja projektu, poza istotnym znaczeniem poznawczym pozwoli określić czy małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe uwalniane przez neutrofile mogą mieć potencjalne zastosowanie terapeutyczne.

Projekt będzie realizowany we współpracy z zespołem prof. Jadwigi Jabłońskiej, która jest ekspertem w dziedzinie molekularnej immunologii oraz funkcji neutrofilii w procesie nowotworzenia, co będzie doskonałą okazją do wykonywania proponowanych badań w optymalnym środowisku naukowym umożliwiającym efektywną i pomyślną realizację zaplanowanych zadań.