

Czerniak skóry powstaje w wyniku transformacji nowotworowej melanocytów. Melanocyty to komórki skóry zdolne do pochłaniania promieniowania UV i produkcji melaniny, naturalnego barwnika odpowiedzialnego za pigmentację skóry. Do czynników sprzyjających przemianie nowotworowej melanocytów zalicza się promieniowanie UV, liczbę i kształt znamion, wiek oraz czynniki genetyczne. Pomimo poprawy wskaźników przeżycia pacjentów z czerniakiem dzięki nowym terapiom, czerniak nadal stanowi poważny problem kliniczny. Obecne metody leczenia obejmują radioterapię, chemioterapię, zabiegi chirurgiczne oraz nowoczesne leczenie farmakologiczne, w tym terapię ukierunkowaną molekularnie z wykorzystaniem selektywnych inhibitorów kinazy BRAF^{V600} (dabrafenib, enkorafenib i wemurafenib) oraz MEK1/2 (trametynib, binimetinib i kobimetynib). Terapia ukierunkowana molekułami jest stosowana u pacjentów z mutacjami w genie kodującym kinazę BRAF, występującymi w 50–70% przypadków czerniaka. Drugą szeroko stosowaną terapią jest immunoterapia wykorzystująca inhibitory immunologicznych punktów kontrolnych (ICIs). W warunkach fizjologicznych immunologiczne punkty kontrolne chronią zdrowe tkanki przed nadmierną odpowiedzią zapalną, jednak czerniak może wykorzystywać ten mechanizm do tłumienia odpowiedzi immunologicznej. Obecnie stosowana immunoterapia obejmuje przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi programowanej śmierci komórki (PD-1) – nivolumab i pembrolizumab, jego ligandowi (PD-L1) – atezolizumab, cytotoksycznemu antygenowi związanemu z limfocytami T 4 (CTLA-4) – ipilimumab oraz genowi aktywującemu limfocyty 3 (LAG-3) – relatlimab.

Odpowiedź na immunoterapię zależy od mikrośrodowiska nowotworu, a jednym z jego kluczowych elementów jest interferon-gamma (IFN- γ) wydzielany przez komórki układu odpornościowego. IFN- γ jako cytokina prozapalna wzmacnia odpowiedź immunologiczną poprzez zwiększenie prezentacji antygenów przez komórki odpornościowe oraz przyciąganie efektorowych komórek odpornościowych do sąsiedztwa nowotworu. Głównym problemem terapii farmakologicznych jest nabywanie na nie oporności przez komórki czerniaka. Oporność na immunoterapię może być spowodowana długotrwałą ekspozycją na IFN- γ , jak również brakiem odpowiedzi na IFN- γ . Zdolność komórek czerniaka do adaptacji do mikrośrodowiska, włączając w to odpowiedź na IFN- γ , jest związana z jego plastycznością. Kluczowym czynnikiem plastyczności czerniaka jest czynnik transkrypcyjny związany z mikroftalmią (MITF). Wysoka ekspresja MITF charakteryzuje zróżnicowany fenotyp czerniaka. Poziom MITF wykazuje tendencję odwrotną do ekspresji receptora czynnika wzrostu nerwów (NGFR). Zmiany fenotypowe prowadzące do niskiej ekspresji MITF mogą prowadzić do zwiększonej wrażliwości komórek czerniaka na nieapoptotyczne śmierci komórkowe, lecz wysoki poziom NGFR może wspierać unikanie odpowiedzi immunologicznej. Jednym z nowo opisanych markerów zarówno stopnia zróżnicowania czerniaka i jego odpowiedzi na immunoterapię przy wykorzystaniu ICIs jest białko regulujące sygnał α (SIRP α). Jego wysoki poziom jest związany ze zróżnicowanym fenotypem czerniaka i odpowiedzią na immunoterapię.

Celem projektu jest ocena zmian fenotypowych komórek czerniaka indukowanych w odpowiedzi na krótką i długą ekspozycję na IFN- γ oraz określenie, czy zmiany te zwiększają wrażliwość komórek czerniaka na disulfidoptozę. Badania będą prowadzone na komórkach naiwnych i opornych na terapię celowaną, aby odzwierciedlić odpowiedź pacjenta na immunoterapię, zaś uzyskanie komórek zaadaptowanych do obecności IFN- γ posłuży jako model oporności na immunoterapię z wykorzystaniem ICIs. Disulfidoptoza to niedawno opisana forma nieapoptotycznej śmierci komórkowej, zachodząca w komórkach z wysoką ekspresją *SLC7A11*, komponentu transportera xCT, pod wpływem głodu glukozy spowodowanego zahamowaniem wychwytu glukozy przez białko GLUT1. W tych warunkach dochodzi do wzrostu stresu komórkowego (*disulfide stress*), który prowadzi do zaburzenia cytoszkieletu β -aktynowego i jego degradacji. W proponowanym wniosku będziemy wykorzystywać WZB117 (inhibitor GLUT1/2/4) i GNE-140 (inhibitor dehydrogenazy mleczanowej, LDH), które mogą powodować przełączenie metabolizmu w komórce poprzez zmniejszony pobór glukozy. Zakładamy, że związki te będą indukować disulfidoptozę w skojarzeniu z ekspozycją komórek na IFN- γ , co umożliwi analizę molekularnych mechanizmów prowadzących do śmierci komórki na drodze disulfidoptozy.

Głównym oczekiwanym rezultatem projektu jest ocena zmian fenotypowych zachodzących w komórkach czerniaka podczas początkowej odpowiedzi oraz nabytej oporności na immunoterapię z wykorzystaniem ICIs. Wykorzystany model badawczy pozwoli na ocenę, czy zmiany indukowane przez IFN- γ mogą zostać potencjalnie wykorzystane w opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych z wykorzystaniem potencjalnych induktorów disulfidoptozy - inhibitorów LDH lub GLUT1.