

Lek. Tomasz Grzywa

„ Zbadanie roli komórek erytroidalnych wykazujących ekspresję cząsteczki CD71 (CECs) w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego”

Streszczenie w języku polskim

Komórki erytroidalne wykazujące ekspresję cząsteczki CD71 (CEC, ang. CD71+ erythroid cells) to progenitory i prekursor erytrocytów o niedawno zidentyfikowanej roli w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego. Głównym czynnikiem indukującym ekspansję komórek CEC jest niedokrwistość. Jak dotąd jednak nie wykazano immunoregulatorowej roli komórek CEC w warunkach niedokrwistości. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej składającej się z cyklu trzech publikacji było opisanie roli komórek CEC w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego oraz zbadanie wpływu tych komórek na odpowiedź immunologiczną w niedokrwistości.

Pierwszą publikacją wchodzącą w skład cyklu jest praca przeglądowa pt. “The role of CD71+ erythroid cells in the regulation of the immune response” opublikowana w czasopiśmie *Pharmacology & Therapeutics*. W artykule omówiono mechanizmy regulacji erytropoezy oraz opisano rolę komórek CEC w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego w fizjologicznych i patologicznych procesach zachodzących u myszy oraz ludzi. Opisano między innymi rolę komórek CEC u noworodków, u kobiet w ciąży, w czasie wykształcania tolerancji matczyno-łożyskowej, w chorobie nowotworowej, chorobach zakaźnych, chorobach zapalnych, oraz w niedokrwistości. Następnie opisano poznane mechanizmy regulacji odpowiedzi odpornościowej przez komórki CEC, w tym hydrolizę L-argininy przez arginazę (ARG), wytwarzanie transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β , ang. transforming growth factor β), regulację przez cząsteczki tworzące tak zwane punkty kontroli układu odpornościowego, wydzielanie immunomodulujących cytokin oraz wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT). W pracy opisano potencjalne strategie terapeutyczne mające na celu regulację procesu powstawania oraz dojrzewania komórek CEC, jak również sposoby modulowania ich właściwości immunoregulatorowych. Dodatkowo, w pracy przedyskutowano braki w wiedzy dotyczącej komórek CEC, które wymagają dalszych badań oraz omówiono kierunki i perspektywy dalszych badań nad rolą tych komórek.

W pracy pt. „Tumor Immune Evasion Induced by Dysregulation of Erythroid Progenitor Cells Development” opublikowanej w czasopiśmie *Cancers* opisano zmiany w procesie erytropoezy, które indukowane są przez chorobę nowotworową. Na podstawie dostępnej literatury przedstawiono zaburzenia w procesie powstawania oraz różnicowania komórek CEC w różnych typach nowotworów. Następnie opisano rolę komórek CEC w procesach immunoregulacji oraz porównano ich funkcje z komórkami układu odpornościowego o dobrze opisanej roli w regulacji odpowiedzi przeciwnowotworowej, między innymi z komórkami supresorowymi pochodzenia szpikowego (MDSCs, ang. myeloid-derived suppressor cells) i limfocytami T regulatorowymi. Następnie przedstawiono rolę komórek CEC w regulacji odpowiedzi przeciwnowotworowej oraz systemowej odpowiedzi odpornościowej u chorych z nowotworem. Dodatkowo opisano wpływ komórek CEC na proliferację i inwazyjność komórek nowotworowych oraz progresję choroby, w zależności od etapu różnicowania komórek CEC. Ponadto opisano mechanizmy prowadzące do ekspansji komórek CEC, które są zaangażowane w zwiększenie ryzyka progresji choroby nowotworowej oraz potencjalne strategie terapeutyczne promujące dojrzewanie komórek CEC i zmniejszające ich ekspansję. Ostatecznie przedstawiono kliniczne znaczenie komórek CEC jako regulatorów progresji choroby oraz markerów prognostycznych.

Trzecią publikacją wchodzącą w skład rozprawy doktorskiej jest artykuł oryginalny pt. „Potent but transient immunosuppression of T-cells is a general feature of CD71+ erythroid cells” opublikowany w

czasopiśmie *Communications Biology*. W pracy opisano ekspansję komórek CEC we wczesnych stadiach ich dojrzewania w mysich modelach ostrej niedokrwistości. Wykazano, że ekspansja komórek CEC nie wpływa na wytwarzanie przeciwciał klasy IgG przeciwko owalbuminie (OVA, ang. ovalbumin) w odpowiedzi na immunizację u myszy z niedokrwistością ani na produkcję czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α , ang. tumor necrosis factor α) przez komórki wykazujące ekspresję cząsteczki CD11b w śledzeniu. Wykazano natomiast, że niedokrwistość i towarzysząca jej ekspansja komórek CEC prowadzą do upośledzenia proliferacji limfocytów T cytotoksycznych rozpoznających peptyd pochodzący z OVA. Następnie w doświadczeniach *ex vivo* wykazano, że komórki CEC indukowane niedokrwistością są odpowiedzialne za upośledzenie proliferacji limfocytów T. Opisano wysoką ekspresję mitochondrialnej izoformy ARG – ARG2, oraz wydzielanie dużych ilości RFT w mysich komórkach CEC. Następnie wykazano, że kluczowymi mechanizmami regulacji limfocytów T przez komórki CEC w niedokrwistości są ARG2 i RFT. Ponadto potwierdzono, że komórki CEC znajdujące się we wczesnych stadiach dojrzewania, mianowicie przed enukleacją, są odpowiedzialne za hamowanie proliferacji limfocytów T. W dalszej części pracy opisano ekspansję komórek CEC w krwi osób z niedokrwistością oraz ich wpływ na zahamowanie wytwarzania interferonu γ (IFN- γ) przez limfocyty T. Zaobserwowano, że w komórkach CEC wyizolowanych ze szpiku zdrowych dawców dochodzi do wytwarzania obu izoform ARG oraz zbadano rolę tych enzymów w regulacji proliferacji limfocytów T. Wykorzystując komórki CEC różnicowane z komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMCs, ang. peripheral blood mononuclear cells) zdrowych dawców krwi oraz modelowe ludzkie linie komórek erytroidalnych opisano rolę ARG i RFT w regulacji odpowiedzi T-komórkowej przez ludzkie komórki CEC. Wykazano, że komórki CEC znajdujące się we wczesnych stadiach dojrzewania mają najsilniejsze właściwości immunoregulatorowe, które zanikają wraz z dalszym różnicowaniem komórek CEC.

Podsumowując, przedstawione w niniejszej pracy doktorskiej wyniki wskazują, iż komórki CEC pełnią istotne funkcje immunoregulatorowe w wielu fizjologicznych i patofizjologicznych warunkach. Opisano rolę komórek CEC w regulacji odpowiedzi immunologicznej w niedokrwistości i zależność tej regulacji od ARG i RFT. Wykazano, że immunoregulatorowe właściwości komórek CEC ulegają znacznym zmianom w trakcie ich różnicowania i są najsilniejsze we wczesnych stadiach dojrzewania. Modułacja dojrzewania komórek CEC oraz wykorzystywanych przez nie mechanizmów regulacji odpowiedzi immunologicznej są obiecującymi strategiami terapeutycznymi w wielu jednostkach chorobowych.