

mgr inż. Joanna Marczyńska

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.:

Rola metaloproteinazy ADAM17 w zależnej od ICOSL odpowiedzi humoralnej

ADAM17 (ang. *A Disintegrin And Metalloprotease 17*) to enzym z grupy metaloproteinaz, który modeluje powierzchnię komórki poprzez proteolityczne usuwanie zewnątrzkomórkowych domen białek, zakotwiczonych w błonie komórkowej. Do substratów tego enzymu należą m.in. cytokiny (TNF α), receptory dla cytokin (IL-6R), czynniki wzrostu (TGF) oraz cząsteczki adhezyjne (L-selektyna). ADAM17 jest niezbędny do prawidłowego rozwoju organizmu, o czym świadczy fakt, iż zwierzęta z całkowitym deficytem tego enzymu umierają w okresie okołoporodowym. Z tego względu niemożliwe było zbadanie *in vivo* roli, jaką ADAM17 może pełnić w kształtowaniu odpowiedzi humoralnej. Dopiero opracowanie unikatowego modelu badawczego, tj. transgenicznych myszy ADAM17 ex/ex umożliwiło takie badania. U myszy ADAM17 ex/ex ekspresja funkcjonalnego białka ADAM17 została zredukowana we wszystkich tkankach do ok. 5% w stosunku do myszy typu dzikiego. Dlatego też podjęto się w niniejszej rozprawie weryfikacji hipotezy, że ADAM17 jest bezpośrednio zaangażowany w kształtowanie odpowiedzi humoralnej.

W celu indukcji odpowiedzi immunologicznej, myszy ADAM17 ex/ex (ex/ex) oraz kontrolne myszy typu dzikiego ADAM17 wt/wt (wt/wt) immunizowano mieszaniną owoalbuminy (OVA) wraz z adiuwantami Poly I:C i anty-mCD40. Po upływie 7 dni od immunizacji pobierano drenujące węzły chłonne, śledzionę oraz surowicę. Pobrane organy analizowano immunohistochemicznie lub za pomocą cytometrii przepływowej. W surowicy analizowano poziom różnych klas immunoglobulin specyficznych względem antygeny OVA.

Wykazano, że odpowiedź immunologiczna u myszy z deficytem ADAM17 charakteryzowała się znaczącym powiększeniem drenujących węzłów chłonnych i śledziony na skutek zwiększenia liczby limfocytów T i B oraz komórek plazmatycznych w stosunku do myszy wt/wt . Ponadto, w surowicy odnotowano znaczący wzrost stężenia immunoglobulin OVA-specyficznych klas IgG1 i IgG2a.

Wysunięto hipotezę, iż w nadmierną produkcję immunoglobulin mogą być zaangażowane cząsteczki o charakterze kostymulującym. Dlatego też testowano takie cząsteczki jak ICOSL oraz CD40, obecne na limfocytach B jako potencjalne substraty dla ADAM17.

Limfocyty B wyizolowane z nieimmunizowanych myszy wt/wt oraz ex/ex poddawano stymulacji wybranymi czynnikami. Wykazano, że u myszy ex/ex ilość ICOSL na powierzchni stymulowanych komórek była istotnie wyższa niż na limfocytach B myszy wt/wt . W celu

określenia znaczenia oddziaływania pomiędzy ICOSL a ADAM17 dla rozwoju odpowiedzi humoralnej, wygenerowano myszy z jednoczesnym deficytem ADAM17 i ICOSL, u których po immunizacji nie obserwowano tak silnej odpowiedzi, jak u myszy *ex/ex*, w stosunku do myszy kontrolnych.

Wyniki te pozwalają na zaproponowanie nowego modelu regulacji odpowiedzi humoralnej. ADAM17, poprzez regulację dostępności lub poziomu ICOSL, może wpływać na czas interakcji pomiędzy ICOSL i cząsteczką ICOS. Deficyt aktywnego enzymu może zatem prowadzić do przedłużonego oddziaływania pomiędzy tymi białkami, a konsekwencją wydłużonego kontaktu może być silniejsza odpowiedź humoralna u myszy pozbawionych funkcjonalnego ADAM17. Niniejsza rozprawa poszerza wiedzę na temat regulacji odpowiedzi humoralnej, po raz pierwszy wskazując na ADAM17 jako na czynnik kontrolujący siłę odpowiedzi immunologicznej poprzez wpływ na ICOSL.

Rozprawa zawiera dane opublikowane w pracy:

„*The Role of Metalloproteinase ADAM17 in Regulating ICOS Ligand-Mediated Humoral Immune Responses*”, która ukazała się drukiem 15 września 2014 r. nakładem wydawnictwa *The Journal of Immunology* (vol. 193, no. 6, 2753-2763).

Autorami pracy są:

Joanna Marczyńska, Aleksandra Ozga, Agnieszka Włodarczyk, Monika Majchrzak-Górecka, Paulina Kulig, Magdalena Banaś, Dominika Michalczyk-Wetula, Paweł Majewski, Andreas Hutloff, Jeanette Schwarz, Athena Chalaris, Jürgen Scheller, Stefan Rose-John i Joanna Cichy.