

Doktorant: Ewelina Dobosz

Promotor: dr hab. Joanna Koziel

Temat rozprawy: Rola białka MCPIP-1 w regulacji homeostazy komórek nabłonkowych poprzez kontrolę ekspresji IL-8

Nabłonek jest tkanką stanowiącą pierwszą linię obrony organizmu w kontakcie ze środowiskiem zewnętrznym. Z jednej strony tworzy on fizyczną barierę, z drugiej zaś pełni funkcję regulatorową definiując zagrożenie drobnoustrojami i rekrutując pozostałe komponenty układu odpornościowego. Konsekwencją indukowanego tą drogą procesu zapalnego jest eliminacja zakażenia. Jednakże komórki nabłonkowe będąc intensywnie ekspozycjonowane na liczne drobnoustroje, w tym stanowiące składową fizjologicznej flory organizmu, mają rozwinięte mechanizmy, które zabezpieczają je przed nadmierną reaktywnością, która z kolei prowadziłaby do niekontrolowanego rozwoju stanu zapalnego i uszkadzała otaczające tkanki. Jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za obniżoną wrażliwość komórek nabłonkowych jest przykładowo niska ekspresja receptorów TLRs (ang. *Toll-like receptors*), które rozpoznają molekularne wzorce patogenności bakterii. Istotną rolę w tym procesie odrywają także negatywne regulatory szlaków przekazu sygnału od receptorów TLRs, w tym SIGIRR, A20, CYLD, czy USP4. Z powyższych względów w przedstawionych w tej pracy badaniach podjęto próbę zdefiniowania roli białka MCPIP-1 (ang. *monocyte chemoattractant protein induced protein-1*), zwanego również Regnazą-1, zaliczanego do negatywnych regulatorów stanu zapalnego, którego funkcja w komórkach nabłonkowych nie została dotychczas opisana.

W toku prowadzonych badań udowodniono, że komórki nabłonkowe pochodzące z różnych organów charakteryzują się wysoką konstytutywną ekspresją tego białka. Ponieważ MCPIP-1 wykazuje aktywność RNazową względem transkryptów szeregu cytokin prozapalnych, takich jak: IL-1 β , IL-6, IL-12p40, stąd postanowiono ocenić, czy białko to wpływa na regulację produkcji IL-8. Chemokina ta jest kluczowa dla nabłonka i warunkuje rekrutację komórek odpornościowych do miejsca infekcji. Stosując modele *in vitro* linii nieśmiertelnionych komórek nabłonkowych HeLa i Caco-2 wykazano, że modulacja poziomu MCPIP-1 metodami inżynierii genetycznej istotnie wpływa na ekspresję IL-8. W toku prowadzonych badań nad molekularnym mechanizmem poczynionych obserwacji

dowodzono, że regulacja IL-8 odbywa się dwutorowo. Z jednej strony MCPIP-1 wpływa na syntezę białka *de novo* poprzez zmiany aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Drugi mechanizm polega na degradacji transkryptu IL-8, który stanowi substrat dla aktywności RNazowej MCPIP-1.

W drugiej części badań podjęto próbę oceny roli MCPIP-1 w regulacji odpowiedzi nabłonka na zakażenie bakteryjne. W tym celu zastosowano model infekcji komórek nabłonkowych bakteriami Gram-dodatnimi i Gram-ujemnymi. Prowadzone badania dowiodły, że w odpowiedzi na infekcje bakteriami Gram-ujemnymi, w tym *Escherichia coli*, w komórkach nabłonkowych dochodzi do spadku poziomu MCPIP-1, co warunkuje wzrost ekspresji IL-8. Doświadczenia mające na celu identyfikację mechanizmu prowadzącego do obniżenia poziomu białka MCPIP-1 wykazały, że obserwowany fenomen nie jest skutkiem zahamowania syntezy *de novo*, regulacji poziomu transkryptu, czy proteolizy białka MCPIP-1 wywołanej obecnością enzymów bakteryjnych. Wykazano natomiast, że infekcja angażuje w komórkach nabłonkowych mechanizm degradacji proteasomalnej oraz aktywuje parakaspazę MALT-1 (ang. *mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1*), dla której MCPIP-1 stanowi substrat, co skutkuje spadkiem poziomu badanego białka. Ostatecznie dowiedziono, że degradacja MCPIP-1 wywołana infekcją jest procesem przejściowym, który prowadzi do gwałtownej sekrecji IL-8, a tym samym uruchomienia mechanizmów sprzyjających eliminacji zakażenia.

Podsumowując, zaprezentowane w niniejszej pracy badania wskazują, że białko MCPIP-1 należy zakwalifikować jako istotne w utrzymaniu homeostazy nabłonka w warunkach fizjologicznych oraz kontroli rozwijającego się w odpowiedzi na infekcję stanu zapalnego.

Ewelina Dobson