

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Rola MCPIP1 w inicjacji i rozwoju nowotworu skóry”

2. Czas trwania projektu 3 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) nowotwory skóry, keratynocyty, MCPIP1, stan zapalny

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) – A

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Nowotwory skóry to jedne z najczęściej występujących nowotworów wśród ludzi. Spośród wszystkich postaci nowotworów skóry największą część stanowi rak podstawnocomórkowy oraz kolczystocomórkowy (SSCs). Ryzyko rozwoju nowotworu skóry występuje szczególnie u osób narażonych na długotrwałe działanie promieniowania UV oraz u osób poddanych immunosupresji związanej z chemioterapią lub przeszczepieniem narządów. Rozwojowi raka skóry i dysplazji naskórka sprzyjają również czynniki genetyczne.

Gen *Zc3h12a*, koduje białko MCPIP1, które jest negatywnym regulatorem stanu zapalnego. Mechanizm działania MCPIP1 opiera się na właściwościach RNazy i polega na degradacji mRNA cytokin prozapalnych oraz transkryptów genów zaangażowanych w podstawowe procesy komórkowe takie jak proliferacja, różnicowanie, metabolizm czy procesy angiogenezy.

Celem projektu jest określenie szczegółowej roli MCPIP1 w inicjacji i rozwoju nowotworu skóry. W projekcie wykorzystane zostaną myszy z warunkowym wyłączeniem genu *Zc3h12a* w naskórku za pomocą systemu Cre/loxP – myszy z aktywną rekombinazą Cre pod promotorem keratyny

14 (K14Cre). Do indukcji mysiego modelu nowotworu skóry użyta zostanie dwustopniowa strategia polegająca na stosowaniu związku DMBA i TPA. W trakcie eksperymentu oceniany będzie stopień rozwoju nowotworu skóry, a po uśmierceniu zwierząt skóra wraz z guzami poddana zostanie analizie biochemicznej, immunofluorescencyjnej oraz histologicznej. Zastosowanie wielu komplementarnych metod zaadaptowanych do badań czynności naskórka pozwoli nam lepiej zrozumieć złożoną funkcję białka MCPIP1 w rozwoju nowotworów skóry, co w konsekwencji może przyczynić się do poznania szczegółowej roli białka MCPIP1 i odkryciu nowych metod terapeutycznych możliwych do zastosowania w nowotworach skóry.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek: mysz domowa

Liczba: 156 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia:

Przed zaplanowaniem całego doświadczenia sprawdzono dostępną, istniejącą już wiedzę dotyczącą tematyki poruszanej we wniosku badawczym. Informacji szukano w bazach danych takich jak: PUBMED, Google Scholar, ScienceDirect oraz Web of Science (JCR).

Zastosowane słowa kluczowe:

Skin diseases/Keratinocytes proliferation/skin inflammation/skin grafting/skin cancers/mouse model of skin cancer/ multi-stage chemical carcinogenesis in mouse skin/ DMBA/TPA/MCPIP1/Zc3h12a gene/wound healing/ mouse wound healing models.

Dokonując szczegółowej analizy istniejących danych stwierdzono, że:

- zastosowanie mysich modeli jest bardziej uzasadnione niż wykorzystanie linii komórkowych, które w pełni nie odzwierciedlają złożoności procesów zachodzących w skórze
- z dotychczasowej wiedzy wynika, że białko MCPIP1 jest zlokalizowane w warstwie granularnej naskórka, a jego poziom wzrasta w trakcie różnicowania ludzkich pierwotnych keratynocytów. Ponadto, białko MCPIP1 jako RNaza ma kluczowe znaczenie w kontroli proliferacji i migracji keratynocytów
- dodatkowo, nasz Zespół wykazał, że poziom białka MCPIP1 jest zaburzony w skórze łuszczykowej pobranej od pacjentów. Wykazaliśmy również, że poziom mRNA MCPIP1 u myszy z wyindukowaną łuszczyką jest podwyższony, z kolei jego poziom spada u myszy pozbawionych receptorów dla IL-17
- do tej pory liczne badania nad nowotworowymi liniami komórkowymi (neuroblastoma, ccRCC) wykazały, że białko MCPIP1 ma istotny wpływ na progresję nowotworową wpływając na proliferację, migrację, wzrost komórek, a także ich metabolizm oraz procesy angiogenezy.

Mysi model pozbawiony genu *Zc3h12a* w całym organizmie stanowi pewne ograniczenia, ponieważ myszy te spontanicznie rozwijają stan zapalny i umierają w 12-tygodniu życia. Dlatego, w tym projekcie

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

stworzony został mysi model posiadający warunkowo wyłączony gen *Zc3h12a* w keratynocytach warstwy bazalnej naskórka.

Zasada ograniczenia:

W badaniach zaplanowano wykorzystanie optymalnej liczby zwierząt, tak aby jak najlepiej uzyskać wiarygodne wyniki oraz prawidłową statystykę. Zaplanowana maksymalna ilość zwierząt w eksperymencie pozwoli uzyskać materiał wystarczający na wszystkie zaplanowane analizy biochemiczne, histologiczne oraz molekularne.

Zasada udoskonalenia:

Zwierzęta będą przebywały w bardzo dobrych warunkach, w zwierzętarni o standardzie SPF (ang. specific pathogen free-zwierzęta wolne od specyficznych patogenów występujących u danego gatunku). Wszystkie zwierzęta będą utrzymywane w kontrolowanych warunkach otoczenia (cykl światło/ciemność: 14/10h; temp.: 22+/-2°C; wilgotność: 55+/-10%, wynikająca z wilgotności pomieszczenia: 55%; liczba (krotność) wymiany powietrza w pomieszczeniu: 20/h, zwierzęta przetrzymywane są w klatkach IVC). W trakcie eksperymentów zwierzęta będą miały nieograniczony dostęp do wody i pożywienia. Zwierzęta będą utrzymywane w grupach po 4-5 osobników. Przed rozpoczęciem eksperymentu zwierzęta będą poddane handlingowi i przyzwyczajone do eksperymentatora w celu minimalizacji stresu.

Powyższe argumenty umacniają zasadność wykorzystania myszy pozbawionych ekspresji genu *Zc3h12a* w naskórku jako jednego z modeli służącego do badania wpływu białka MCP1 na procesy fizjologiczne i patofizjologiczne zachodzące w skórze. Uzyskanie danych z proponowanego projektu umożliwi nam pogłębienie wiedzy w zakresie nie tylko funkcji białka MCP1, ale także na temat funkcjonowania naskórka i przede wszystkich zaburzeń zachodzących w skórze co w przyszłości może pomóc w opracowaniu nowych strategii terapeutycznych przeciwko chorobą skóry o podłożu stanu zapalnego.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.