

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Mechanizm epigenetycznej inaktywacji supresora nowotworów - receptora SIGIRR

2. Czas trwania projektu: 3 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): rak jelita grubego, SIGIRR, model AOM/DSS, xenograft

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): Badania podstawowe

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.

Rak jelita grubego należy do najczęściej diagnozowanych nowotworów złośliwych przewodu pokarmowego. W Europie rocznie diagnozuje się 450.000 nowych zachorowań, w tym 12.000 w Polsce. Rozwój raka jelita grubego jest złożonym wieloetapowym procesem, dlatego ważne jest szczegółowe poznanie mechanizmu jego powstawania, przebiegu i przerzutowania. Najnowsze badania wskazują, że inaktywacja genów supresorowych (hamujących procesy wzrostu i różnicowania się komórek) jest kluczową zmianą, która zachodzi na drodze do powstania nowotworu jelita grubego. Rodzina receptorów TLR/IL-1R (ang. Toll-like receptors and IL-1 receptor) jest częścią wrodzonego układu odporności i pełni ważną rolę w rozpoznawaniu patogenów oraz wywoływaniu reakcji zapalnej. Z drugiej strony nadmierna, niekontrolowana i nieprawidłowo ukierunkowana odpowiedź immunologiczna wiąże się z rozwojem wielu chorób zapalnych i nowotworowych - dlatego ważne jest poznanie mechanizmów jej regulacji. Przykładem negatywnego regulatora odpowiedzi immunologicznej jest receptor SIGIRR (ang. single immunoglobulin IL-1 receptor related molecule), który działa jako negatywny regulator przekazu sygnału od receptorów TLR/IL-1R oraz jak supresor nowotworów w mysim modelu raka jelita grubego. Nasze najnowsze odkrycia dodatkowo pokazały, że białko SIGIRR ulega inaktywacji w przebiegu raka jelita grubego, poprzez zwiększoną ekspresję nowej izoformy białka SIGIRR - SIGIRR^{ΔE8}. Krótsza forma SIGIRR^{ΔE8} blokuje działanie receptora SIGIRR, co prowadzi do nasilonego przekazu sygnału od receptorów TLR/IL-1R, czego efektem jest z kolei zwiększona liczba guzów w jelicie grubym.

Opierając się na powyższych wynikach wysuwam hipotezę, iż podczas rozwoju raka jelita grubego, białko SIGIRR ulega inaktywacji poprzez oddziaływanie z krótszą formą SIGIRR^{ΔE8}, która dodatkowo może mieć charakter onkogenny, promujący rozwój nowotworu. Celem mojego projektu jest zbadanie mechanizmu regulacji

ekspresji izoformy SIGIRR^{ΔE8} oraz zbadanie mechanizmu promowania rozwoju nowotworu przez formę SIGIRR^{ΔE8}.

Wyniki uzyskane w proponowanym projekcie mogą mieć ważne znaczenie w poznaniu jednego z mechanizmów nowotworzenia. Dodatkowo, moje dotychczasowe wyniki wskazują również na korelację pomiędzy ekspresją białka SIGIRR^{ΔE8} a zaawansowaniem i nasileniem choroby nowotworowej. Uzyskane rezultaty mogą mieć zatem ważne kliniczne implikacje związane z wykorzystaniem receptora SIGIRR jako biomarkera w diagnostyce, prognozowaniu i przewidywaniu skuteczności terapii przeciwnowotworowej.

W moich badaniach wykorzystam następujące zwierzęce modele badawcze: myszy transgeniczne (SIGIRR^{WT} i SIGIRR^{ΔE8}) w mysim modelu raka jelita grubego AOM/DSS (procedura nr 1) oraz myszy model xenograft (ocena roli mikrośrodowiska w rozwoju nowotworu, zbadanie wpływu krótszej formy SIGIRR^{ΔE8} i jego mutantów na tempo wzrostu i metabolizm nowotworu) (procedura nr 2).

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Całkowita liczba wnioskowanych zwierząt (myszy) wynosi: **873**.

Gatunek	Wiek/stadium rozwoju	Liczba
SIGIRR WT	8-12 tygodni	9
SIGIRR KO	8-12 tygodni	9
SIGIRR Tg ^{WTFabpl}	8-12 tygodni	9
SIGIRR Tg ^{ΔE8Fabpl}	8-12 tygodni	9
SIGIRR Tg ^{ctrFabpl}	8-12 tygodni	9
SIGIRR WT/SIGIRR Tg ^{WTFabpl}	8-12 tygodni	93
SIGIRR WT/SIGIRR Tg ^{ΔE8Fabpl}	8-12 tygodni	93
SIGIRR WT/SIGIRR Tg ^{ctrFabpl}	8-12 tygodni	93
SIGIRR KO/SIGIRR Tg ^{WTFabpl}	8-12 tygodni	93
SIGIRR KO/SIGIRR Tg ^{ΔE8Fabpl}	8-12 tygodni	93
SIGIRR KO/SIGIRR Tg ^{ctrFabpl}	8-12 tygodni	93
NOD/SCID (NOD.CB17- <i>Prkdc</i> ^{scid} /J)	8-12 tygodni	270
Całkowita liczba wnioskowanych zwierząt		873

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

___EBSCO; ___PUBMED; ___Google Scholar; ___AGRICOLA; ___ScienceDirect; ___Web of Science (JCR);

___.....

Wykorzystałam/em słowa kluczowe:

SIGIRR^{ΔE8}/ AOM/DSS/ colorectal cancer

SIGIRR^{ΔE8}/ xenograft

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że: nie istnieje literatura opisująca rolę nowej izoformy białka SIGIRR - SIGIRR^{ΔE8} zarówno w mysim modelu raka jelita grubego (model AOM/DSS) jak i w modelu xenograft.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: proponowane badania mają nowatorski charakter.

B. Brak jest danych dotyczących: odnośnie roli nowej izoformy białka SIGIRR - SIGIRR^{ΔE8} zarówno w mysim modelu raka jelita grubego (model AOM/DSS) jak i w modelu xenograft.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: poznanie jednego z mechanizmów nowotworzenia w przypadku raka jelita grubego.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku poznania mechanizmów nowotworzenia.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na wykorzystaniu receptora SIGIRR jako biomarkera w diagnostyce, prognozowaniu i przewidywaniu skuteczności terapii przeciwnowotworowej.

ZASTĄPIENIE

Celem projektu jest zbadanie wpływu nowej izoformy białka SIGIRR - SIGIRR^{ΔE8} na proces powstawania i przebieg raka jelita grubego. Tak postawione pytanie wymaga całego organizmu i wszystkich elementów związanych z procesem nowotworzenia (np. różne rodzaje zaangażowanych komórek: epitelium czy komórki układu odpornościowego). W naszych badaniach przeprowadzimy procedury określające wpływ białka SIGIRR^{ΔE8} na mikrośrodowisko i biologię guza w raku jelita grubego. W tym celu zmutowane z użyciem techniki CRISPR, komórki HT-29 zostaną wszczepione podskórnie myszom (model xenograft). Guzy zostaną zbadane techniką Western Blot (aktywacja NFκB i mTOR) i technikami immunohistochemicznymi (prolifерacja komórek i apoptoza). Dodatkowo rola krótszej formy receptora SIGIRR^{ΔE8} zostanie zbadana z wykorzystaniem myszy transgeniczných (SIGIRR^{WT} i SIGIRR^{ΔE8}) w mysim modelu raka AOM/DSS.

OGRANICZENIE

W metodach doświadczalnych zostaną wykorzystane grupy zwierząt z odpowiednią liczebnością wymaganą do analizy testów statystycznych, która została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia wyników istotnych statystycznie.

UDOSKONALENIE

Zarówno w przypadku modelu xenograft jak i mysim modelu AOM/DSS, zaplanowane procedury wykonywane na zwierzętach wiążą się jedynie z krótkotrwałym, umiarkowanym odczuwaniem bólu, a objawy nie są procesem długotrwałym i stopniowo zanikają. W naszych badaniach nie występuje trwale uszkodzenie organizmu zwierząt, a badania prowadzimy najdłużej do 60 dnia. Zwierzęta wykorzystywane w doświadczeniach będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby w jak największym stopniu ograniczyć ból, cierpienie i dystres.

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