

Abstrakt

Melanom představuje významnou a často smrtelnou formu rakoviny, přičemž metastáze jsou primární příčinou úmrtí souvisejících s rakovinou. Během metastáz nádorové buňky migrují skrze omezené prostory. Imunoterapie má za cíl stimulovat imunitní systém k eliminaci nádorů, ale i za souběžného použití společně s tradiční chemoterapií, má stále jen <50% úspěšnost. Chemoterapeutické léky indukují smrt nádorových buněk, primárně prostřednictvím apoptózy, která je "imunologicky tichá" a nevyvolává zánět ani infiltraci imunitních buněk do nádoru. Proteiny CLASP chrání organely a celistvost buněk během metastáz nádorových buněk; když jsou tyto proteiny CLASP odstraněny, migrující nádorové buňky umírají mechanickou smrtí. Imunologický dopad odstranění proteinů CLASP, které následně indukují smrt buněk, zůstává neznámý. Tato studie si klade za cíl prozkoumat, zda makrofágy, vrozené imunitní buňky, které signalizují umírající sousední buňky, specificky vyvolávají zánětlivé cytokinové odpovědi na mechanickou, na rozdíl od chemoterapeutické, smrti melanomových buněk. Aby se modelovala mechanická smrt buněk během metastatické migrace, byl odstraněn CLASP1, stabilizující proteiny mikrotubulů, a buňky byly fyzicky stlačeny, aby simulovaly síly, kterým buňky odolávají během metastáz. Chemoterapie byla simulována použitím inhibitoru B-Raf a induktoru apoptózy staurosporinem. Lidské buňky THP-1, diferencované do fenotypu podobného makrofágům, byly použity k reprezentaci makrofágů v okolí nádoru. Studie měřila cytokinové odpovědi makrofágů po expozici supernatantům melanomových buněk (neléčených, mechanicky zabíjených nebo léčených chemoterapeutickými léky). Aby se zajistila selektivita, byly testovány dávky staurosporinu nebo inhibitoru B-Raf, které zabíjely lidské melanomové buňky 1205Lu bez ovlivnění makrofágů. Měření smrti buněk melanomu a makrofágů bylo provedeno pomocí testu ATPlite v různých časových bodech a dávkách léků. Následné experimenty s přenosem supernatantu byly hodnoceny cytokinové odpovědi makrofágů pomocí ELISA nebo qPCR.

Předběžná pozorování naznačila, že hladiny CXCL10 se lišily u makrofágů vystavených supernatantům z různých podmínek. Zejména makrofágy vystavené supernatantům ze stlačených melanomových buněk 1205Lu s odstraněným CLASP vykazovali uvolňování CXCL10. Naopak supernatanty z melanomových buněk, ke kterým byl přidán inhibitor B-Raf nebo staurosporin tento jev nevykazovaly. Tato pozorování naznačují možný rozdíl v odpovědi makrofágů v závislosti na způsobu smrti buněk melanomu. Další výzkum s opakovanými a statisticky analyzovanými experimenty je nezbytný k ověření těchto zjištění a k plnému pochopení

implikací a změn mezi biologickými replikáty. Tento přístup by však mohl mít potenciál přivolat imunitní buňky na místo rakoviny a aktivovat imunitní odpověď, která by mohla nakonec vést k novým kombinovaným antimigračním lékům používaným v imunoterapii.

Klíčová slova: mechanická buněčná smrt, makrofágy, THP-1, CLASP, inhibitor B-Raf, zánět, rakovina, imunitní odpověď, CXCL10