

Abstrakt

Signální dráhy musí být velmi citlivě nastaveny, aby umožnily přiřadit stimulaci receptoru signál o vhodné síle a trvání. Špatně regulované signální dráhy mohou být velmi nebezpečné. V důsledku špatné regulace signálních drah mohou vznikat autoimunitní onemocnění, imunodeficience, sterilní záněty nebo nekontrolovatelná proliferace buněk a vznik nádorů. V mé dizertační práci se soustředím na roli transmembránových a s membránami asociovaných adaptorových proteinů a kináz v receptorových signálních drahách.

Jako první jsem porovnával role kináz z rodiny SRC (SFK) v iniciaci signalizace přes antigenně specifické receptory B a T buněk. Tato práce vedla k vytvoření rukopisu, kde jsme re-evaluovali recentní studie naznačující, že kináza Syk by mohla iniciovat signalizaci BCR nezávisle na SFK. V naší práci ukazujeme, že iniciace signalizace BCR vyžaduje, na rozdíl od TCR, jen velmi nízkou aktivitu SFK. Signalizaci BCR, která by byla nezávislá na SFK jsme však nepozorovali. Dále ukazujeme, že k iniciaci signalizace přes TCR je potřeba překonat vyšší práh aktivity SFK než u signalizace BCR z několika různých důvodů. Těmi jsou zejména rozdíly mezi kinázami SYK a ZAP-70, rozdíly ve struktuře BCR a TCR a separace TCR a adaptorového proteinu LAT, který je kritickým organizátorem TCR signalozomu. Naše data tedy ukazují, že signalizace TCR detekuje aktivitu SFK na několika úrovních. V naší práci dále diskutujeme, jak zapadá náš model víceúrovňové detekce aktivity SFK do současného modelu TCR signalizace a antigenní diskriminace.

Chemokinový receptor CXCR4 je další velmi důležitý receptor leukocytů. CXCR4 reguluje migraci a zadržování leukocytů a jejich progenitorů v kostní dřeni a je tedy nezbytný pro správnou hematopoézu. Naše práce ukazuje, že CXCR4 je regulován novým dříve necharakterizovaným transmembránovým adaptorovým proteinem WBP1L (WW binding protein 1 like), také označovaným jako OPAL1 (Outcome predictor of acute leukemia 1). Zvýšená exprese proteinu WBP1L byla nalezena v buňkách dětských pacientů s nejčastějším typem akutní lymfoblastické leukémie, ale funkce proteinu WBP1L byla neznámá. V naší publikaci zařazené do této dizertační práce ukazujeme, že WBP1L reguluje pomocí interakce s NEDD4 ubiquitin ligázami expresi a aktivitu CXCR4 a velmi pravděpodobně i další signální dráhy na CXCR4 nezávislé. Tím následně ovlivňuje migraci a další funkce hematopoetických progenitorů a kmenových buněk, včetně jejich

schopnosti obnovit funkci kostní dřeně po transplantaci. Naše práce tedy ukazuje, že WBP1L reguluje důležité procesy spojené s hematopoézou, které jsou klinicky relevantní a důležité i z pohledu biologie leukemií.

Dále jsem během doktorského studia přispěl k publikaci, která měla za cíl charakterizovat mechanismus, jakým membránový adaptorový protein PSTPIP2 reguluje zánět. Absence PSTPIP2 v myším modelu vede ke vzniku autoinflamatorního onemocnění nazývaného chronická multifokální osteomyelitida (CMO). Toto onemocnění je způsobené produkcí prozánětlivého cytokinu IL-1 β neutrofilními granulocyty. V naší práci se nám podařilo zjistit, že neutrofilní granulocyty z těchto myší mají kromě toho i zvýšenou produkci reaktivních kyslíkových radikálů (ROS). Umlčením enzymu NADPH oxidáza, který je zodpovědný za produkci ROS, genetickým vyřazením jeho podjednotky gp91phox jsme zabránili zánětlivé destrukci kostí, která je s tímto onemocněním spojená. Tato data tedy ukazují, že deregulace produkce ROS je jedním z hlavních patologických mechanismů autoinflamatorního onemocnění CMO a může být relevantní i pro lidská autoinflamatorní onemocnění spojená s poškozením kostí.

Pro výše zmíněné projekty bylo velmi důležité vytvořit metodiku, která by nám umožnila exprimovat různé cDNA konstrukty v hematopoetických progenitorech a v dendritických buňkách a makrofázích diferencovaných z těchto progenitorů. Naši relativně levnou a efektivní metodiku jsme shrnuli v článku, který je také součástí mé dizertační práce.

Data obsažená v mé dizertační práci ukazují zásadní roli membránových adaptorových proteinů a kináz v regulaci signální transdukce rozličnými receptory leukocytů. Tím také demonstrují skutečnost, že tyto proteiny ovlivňují leukocyty na více úrovních, včetně jejich vývoje, migrace a účasti na imunitní odpovědi.