

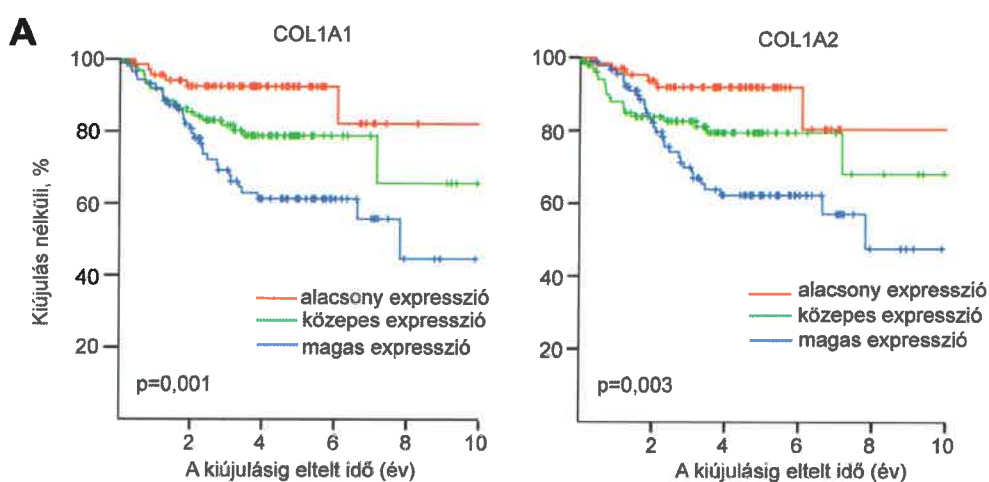
Válaszok Prof. Prohászka Zoltán bírálatban felvetett megjegyzéseire, kérdéseire

Szeretném megköszönni Professzor Úrnak, hogy elvállalta a dolgozatom bírálatát. A loss-of heterozygosity (LOH) kifejezés használatával kapcsolatos megjegyzéssel egyetértek, és elnézést kérek a hibáért. Kérem fogadja az alábbiakban a válaszaimat.

1, A kollagén EV-szekrécióna gyakorolt hatásával kapcsolatos kérdés:

A VI-os cikkben bemutatott kísérletek egyik célja az EV szekrécióna szabályozó tényezők feltárása volt. Ezzel kapcsolatban vizsgálták az *in vivo* kollagén expresszió (nyilvánosan elérhető adatbázisból), és az *in vitro* hatások (organoid kultúrában) szerepét. A 30. ábrán bemutatott Kaplan-Meier görbék és expressziós adatok eltérést mutatnak az A1 és A2 kollagén között, az A2 expresszió szerint bontott túlélési görbék keresztesződnek a követés kb. 2. évében. Milyen tényezők állhatnak a jelenség hátterében? Befolyásolhatja-e ez a jelenség az *in vitro* rendszerben tett megfigyelések általánosíthatóságát? A matrigél-kollagén kísérletekben alkalmazott kollagén készítményben milyen arányban fordult elő A1 és A2 kollagén?

Az I-es típusú kollagén egy heterotrimer molekula, amely két $\alpha 1$ láncból és egy $\alpha 2$ láncból áll [1]. A Col1a1-ről már leírták, hogy serkenti a vastag- és végbélrák (CRC) sejtek migrációját és a metasztázis képzést [2], a Col1a2 esetében viszont az irodalmi adatok ellentmondásosak. Kísérleteinkhez az Ibidi által forgalmazott, patkányfarokból izolált kollagén-I készítményt használtuk, amely esetében a gyártó nem közölt információt az A1 és az A2 arányáról. A 30A. ábra alapján (ld. alább) az A2 kollagén esetében bár a magas és közepes expressziós szinttel rendelkező betegek túlélési görbéi a korai stádiumnál kereszteszik egymást, 2 év után azonban élesen elválnak egymástól. Az alacsony és a magas expresszióval jellemezhető betegeket ábrázoló görbék azonban már kb. az első év után szétválnak. Érdeemes megjegyezni, hogy a Col1a1 esetében is a magas és közepes szinttel rendelkező betegek görbéje a 2 éves túlélésig együtt fut, és csak utána válnak szét egymástól. Mindezek alapján a túlélést tekintve mind a Col1a1, mind pedig a Col1a2 esetében hasonló mintázat rajzolódik ki, nem valószínű, hogy biológiai értelemben lényeges eltérés lenne közöttük. Fontos azonban megjegyezni, hogy *in vivo* az extracelluláris mátrix komplex struktúra, melyben a kollagén-I hatását más extracelluláris molekulák finomhangolhatják. Munkacsoportunk nem publikált eredményei is arra utalnak, hogy más rekombináns extracelluláris mátrix fehérjéknek (pl. thrombospondin-1) a kollagén-I mátrixba való integrálása kis mértékben befolyásolja a CRC sejtek osztódását, illetve extracelluláris vezikula kibocsátását, habár a Matrigel és a kollagén-I közötti alapvető eltérések megmaradnak. Tehát mint általában az *in vitro* rendszereknél, az organoidok esetében sem várható el a teljes egyezés az *in vivo* helyzettel.



30A. ábra. A jelzett gének Kaplan-Meier túlélési diagramja (alacsony expresszió: z-score normalizált adatok $< -0,5*SD$, magas expressziós csoport: expressziós szint $> 0,5*SD$, közepes: $-0,5*SD < z\text{-score}$ normalizált érték $< 0,5*SD$). A log rank tesztből származó p-értéket mutatjuk.

2, Az EV-k daganatsejtek általi felvételét befolyásoló tényezőkkel kapcsolatos kérdés:

Kiemelkedően jelentősnek tartom a XII. cikk témaválasztását és eredményeit, különösen amiatt, hogy az mRNS alapú COVID vakcinák "áttörték a falat", és világosan látszik a lipid partikulumok terápiás alkalmazásának jövője. A XII-es cikkben megállapította, hogy mind a sejtek összetétele, mint az EV-k felszíni fehérje expressziója hatással van a vezikula felvételre, jelen munkájában az IFITM1 szerepét igazolta. Ismert, hogy természetes antitestek célpontja is lehet az EV-k membránstruktúrája (mind lipid-, fehérje- vagy szénhidrát antigének által), amelyek az EV-k opszonizálása révén interferenciát okozhatnak ebben a mechanizmusban. Mit gondol, a cikkben leírt mechanizmust érintheti-e, befolyásolhatja-e egy ilyen opszonizációs jelenség?

Az utóbbi néhány év jelentős felfedezése, hogy az EV-k fehérje koronával vannak körbevéve [3], amely korona egyes komponensei általánosak az EV-kre nézve, függetlenül az EV-eket kibocsátó sejtektől [3]. Azonosítható továbbá az EV koronafehérjék egy olyan csoportja, amely vírusok körül is megtalálható (pl. ApoA1, FibA, ApoE, [3]). A különböző nanorészecskék felületével kölcsönhatásba lépő fehérjék vagy elősegítik a nanorészecskék sejtekbe való felvételét, azaz opszoninként működnek (például az LDL, IgG és C3b), vagy csökkentik a felvételt azáltal, hogy diszopszoninként funkcionálnak (például az albumin, az ApoA4, ApoC3) [4]. Egy nemrég megjelent tanulmány is megerősítette, hogy komplement komponensek (C3, C4), valamint immunglobulinok a fehérjekorona részei lehetnek, és a liposzómákhoz kötődő IgG serkenti az Fc-receptor általi felvételt makrofágok esetében [5]. Bár az EV-k fehérjekorona esetében ugyanezt a hatást nem sikerült egyértelműen bizonyítani [5], az adatok valóban felvetik annak a lehetőségét, hogy az EV-k endocitózis általi felvételét befolyásolják a természetes antitestek, amelyek szintén a fehérjekorona részei lehetnek. Ennek a koronának a változásai, valamint az összetételét befolyásoló tényezők jelenleg intenzív kutatás alatt állnak. Fontos azonban megemlíteni, hogy az IFITM-ek szerepe elsősorban a membránfúzió negatív szabályozójaként elfogadott, a hatásmechanizmus pontos módja azonban még nem világos. Az IFITM-ek befolyásolhatják a membrán fluiditását, a lipidek eloszlását és a fúziós pórus méretét is [6], így indirekt módon vehetnek részt az endocitotikus folyamatok szabályozásában. Ebben az esetben tehát várhatóan az EV-k koronájának változása közvetlenül nem befolyásolja az IFITM1 általi felvétel gátlását.

Felhasznált irodalom

1. Li X, Sun X, Kan C et al. COL1A1: A novel oncogenic gene and therapeutic target in malignancies. *Pathol Res Pract.* 2022;236:154013.
2. Zhang Z, Wang Y, Zhang J et al. COL1A1 promotes metastasis in colorectal cancer by regulating the WNT/PCP pathway. *Mol Med Rep.* 2018;17:5037-5042.
3. Toth EA, Turiak L, Visnovitz T et al. Formation of a protein corona on the surface of extracellular vesicles in blood plasma. *J Extracell Vesicles.* 2021;10:e12140.
4. Buzas EI. Opportunities and challenges in studying the extracellular vesicle corona. *Nat Cell Biol.* 2022;24:1322-1325.
5. Dietz L, Oberlander J, Mateos-Maroto A et al. Uptake of extracellular vesicles into immune cells is enhanced by the protein corona. *J Extracell Vesicles.* 2023;12:e12399.
6. Bailey CC, Zhong G, Huang IC et al. IFITM-Family Proteins: The Cell's First Line of Antiviral Defense. *Annu Rev Virol.* 2014;1:261-283.

Végül szeretném ismét megköszönni Professzor Úrnak a dolgozatom értékelését, és kérem a fenti válaszaim szíves elfogadását.

Budapest, 2024. január 8.



Wiener Zoltán