



Oktatás, kutatás, gyógyítás: 250 éve
az egészség szolgálatában

SEMMELWEIS EGYETEM

Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Igazgató

Prof. Buzás Edit, egyetemi tanár

Opponensi bírálat Dr. Koncz Gábor „Apoptotikus és nem apoptotikus sejthalál folyamatok szerepe az immunválasz szabályozásában” című MTA doktori értekezéséről

A megfelelően szabályozott immunválasz központi szerepet játszik szervezetünk homeosztázisának fenntartásában, nem csak a kórokozók elpusztításával, hanem például a tumorsejtek eliminálásával, vagy az autoimmunitás kialakulásának megakadályozása által is. Az immunválasz fontos pillérei a sejthalál mechanizmusok, amelyek hibás működése daganatos, gyulladásos, autoimmun, fertőzőes betegségekkel, és számtalan más patológiás állapottal is összefüggésbe hozható, így feltérképezésük és megértésük a gyakorlatban is hasznosítható, fontos új felfedezésekhez vezethet. Bár az apoptózis intenzíven kutatott terület az immunrendszeren belül is, Dr. Koncz Gábor munkássága a sejthalál mechanizmusoknak kevésbé ismert aspektusaira fókuszált, mint a nekroptózis, vagy a sejthalál receptorok, mintázatfelismerő receptorok és az apoptózis belső útvonala közötti kereszt-kommunikáció. A dolgozat témafelvetései korszerűek, nagy érdeklődéssel olvastam az új tudományos eredményeket.

A disszertáció elsősorban in vitro eredményeket mutat be (a pancreatitis modell kivételével), amelyek során változatos és széles körű technikákat alkalmaz: sejtek genetikai módosítása, RNS és fehérje szintű expressziós mérés, inhibitorokkal való kezelés, apoptotikus és nekroptózis tesztek, áramlási citometria stb. Az alkalmazott technikákat a Jelölt 10 oldal hosszúságban mutatja be, amely a dolgozat megértése szempontjából elég, további részletek pedig az eredeti közleményekben elérhetők.

Formai bírálat

A disszertáció összesen 96 oldal hosszú, amelyet a Köszönetnyilvánítás és a 169 publikációt felsoroló Irodalomjegyzék követ. A dolgozat a Tartalomjegyzékkel indul, amelyet a Fontosabb rövidítések jegyzéke követ. Minthogy a disszertáció szövege számtalan molekula és vegyület rövidítését tartalmazza, így ez a fejezet jelentős segítséget nyújtott a bírálónak az értelmezésben. A rövid, általános Bevezetés elhelyezi a dolgozat témáját az immunológián belül, majd a 23 oldalas Irodalmi áttekintésben az eredmények megértését segítő megfelelő mennyiségű, de nem túlságosan sok információt kapunk az apoptózis külső és belső útvonaláról, a nekroptózisról, kaszpáz-9-ről, a Fas-FasL-ről, BAFF-ről, a makrofág és dendritikus sejt alpopulációkról stb. A világosan megfogalmazott célkitűzéseket az Anyag és módszer fejezet követi, majd az Eredmények ismertetésére kerül sor 9 pontban kifejtve, a célkitűzések logikája mentén. Ezt követi a 10 oldalas diszkusszió, majd Dr. Koncz Gábor 3 oldalban foglalja össze a dolgozat legfontosabb következtetéseit.

A dolgozat 54 ábrát tartalmaz, alapvetően igényesen elkészített, olvasmányos, a magyar szaknyelvet megfelelően használó, koherens munka, amely azonban viszonylag nagyobb számban tartalmaz elütéseket. Az eredményeket bemutató ábrák magyar nyelvűek, a bíráló számára nem világos okok miatt azonban a bevezetésben az ábrafeliratok lefordítása elmaradt. A bevezető ábráin több hiányosság is felfedezhető: az 5. ábrán például talán a legfontosabb, a receptor-citoszkeleton kapcsolat nincs rajta, a 6. ábráról hiányzik a RIPK1, a 10. ábra annyira

bonyolult, hogy segítség nélkül nehezen értelmezhető, a 11. ábrán szereplő M2a-d altípusok magyarázatát pedig nem találtam a szövegben. A 26B ábrán nem láthatók szórások, a 39. ábráról pedig lemaradtak a feliratok, hogy melyik blot jel mire vonatkozik. A dolgozat logikája követhető, bár ebben további segítséget nyújtott volna az olvasónak az eredmények nagyobb fejezetei végén összefoglaló, magyarázó, a nem mindig egyszerű molekuláris folyamatokat bemutató ábrák készítése. Összességében a bíráló véleménye alapján a dolgozat gondosan megszerkesztett mű, az irodalomjegyzék pedig naprakész publikációkat tartalmaz.

A tartalom bírálata

A dolgozat legfontosabb új eredményei a bíráló véleménye szerint:

1. Az érett B sejtekben a B sejt receptor (BCR) aktivációt követően a Gab2 adapter fehérje tirozinon foszforilálódik, míg éretlen B sejtekben ez nem volt megfigyelhető. A Gab2 adapter protein foszforilálódása az anti-apoptotikus PI3K-AKT útvonal aktivációját idézi elő, és az ERK kötődése és foszforilációja is eltérést mutatott.
2. A Fas-indukált apoptózissal szemben a BCR túlélő jeleket indukál a B sejtekben, amely hatását a BAFFR és a TLR9 stimuláció is fokozta egér sejtekben.
3. A Fas-mediált jelátvitelt B sejtekben az SHP1 tirozin foszfatáz, valamint a Vav Rho/Rac guanin nukleotid csere faktor reverzibilisen szabályozzák. Az SHP1 foszfatáz által defoszforilált Vav kompetitíven gátolja a Fas és a sejtvez közötti kapcsolatokat, ami megakadályozza a Fas receptor endocitózisát, és a sejthalál szignál kiváltását.
4. A sejthalál receptorok és a mintázatfelismerő receptorok egymással kölcsönhatnak a sejthalál kiváltásában. A bakteriális flagellin a TLR5-ön keresztül önmagában nem volt hatásos, azonban fokozta a sejthalál receptorok stimulálásával kiváltott apoptózist, amely részben RIPK1-függő apoptotikus jelpályák aktiválásával magyarázható.
5. Az immunválasz citotoxikus mechanizmusai szabályozzák a sejthalál immunológiai kimenetelét is. Kimutatták, hogy a citotoxikus T sejtek a Fas receptor jelenlétében és hiányában, valamint sejt felszíni és extracelluláris vezikulákon szekretált FasL esetében más sejthalál folyamatokat indukálnak, többek között RIPK1-dependens és independens mechanizmus által, amely a molekuláris környezet döntő hatását bizonyítja a sejthalál típusának kiválasztásában. LPS aktiváció hatására az éretlen dendritikus sejtek is apoptózist válthatnak ki TNF szekréció által, mely citotoxikus hatást a dexametazon csökkenti.
6. A sejthalál és mintázatfelismerő receptorok stimulálása nekroptózist indukál, amely kaszpáz-9-től függ. A kaszpáz-9 in vivo hozzájárul a cerulein által kiváltott hasnyálmirigy-gyulladás kialakulásához, és szabályozza a nekroszóma kialakulását.
7. Eltérést mutattak ki az M1 és M2 makrofágoknak a nekroptózissal szembeni érzékenységében, például a TAK1 inhibitor alkalmazásakor.
8. Igazolták, hogy a hasonló alapon működő kemoterápiás szerek (pl. egyes platina alapú, illetve antraciklin szerek) eltérő hatással lehetnek a makrofágok és dendritikus sejtek citokintermelésére, érett sejtekké való differenciálódására és T-sejt polarizációs képességére.

Szcientometriai mutatók

A Jelölt 42 angol nyelvű in extenso közleményt jegyez, amelyek közül 32 a PhD fokozat megszerzése után keletkezett. 8 publikációban első, míg 11 esetében utolsó szerzős pozíciót foglal el. Hirsch-indexe 17, független hivatkozásainak száma 802. A tudományos közlemények közül 12 képezi a dolgozat alapját.

A dolgozattal kapcsolatban felmerült kérdéseim:

1. A 22. ábrán anti-IgG jelenlétében a PI3K és PKC inhibitorok esetében szignifikáns eredményt kaptak, míg a p38 és a TAK1 gátló alkalmazásakor hasonló mértékű, de nem szignifikáns az eltérés. Mit gondol, az elemszám növelésével előfordulhat-e, hogy ebben a két utóbbi esetben is szignifikáns lesz az eredmény, amely megváltoztathatja a jelátviteli útvonalak aktiválódásával kapcsolatos következtetéseket?
2. Az 57. oldal alapján a T sejtek felülűszója és a rekombináns FasL eltérő apoptózis mechanizmust indukál, RIPK1 függően vagy függetlenül. Mi lehet ennek a magyarázata, és a jelentősége? A végeredményt tekintve (sejthalál) várható-e eltérés?
3. A 61. oldal szerint a dendritikus sejtek (DC) TNF szekréció által indukálnak sejthalált, ugyanakkor a TNF nem minden sejten hatásos. Megfigyelhető-e korreláció a DC-k sejtspecifikus hatása és az egyes sejttípusok TNF-re való érzékenysége között? Az érett DC-k is RIPK1 függően fejtik-e ki a hatásukat?
4. A 74. oldalon felmerül, hogy az 5Z-7/Z-VAD indukált nekroptózis egy potenciális terápiás lehetőség a tumor mikrokörnyezetben a pro/antiinflammatorikus makrofágok egyensúlyának szabályozására. Minthogy a nekroptózis más sejtekben is indukálódhat, hogyan lehetne ezt az eredményt a makrofágokra specifikussá tenni, amely klinikailag is használható lenne?
5. A 77. oldal meglepő eredménye, hogy a hasonló kémiai jellemzőkkel rendelkező kemoterápiás szerek eltérő hatást váltanak ki a DC-k differenciálódására, illetve kemotaxisára is. Hogyan magyarázná a jelölt a gyakran egymással ellentétes adatokat? Van-e ezek alapján olyan, átfedő spektrumú hatóanyag, amelyet előnyben kellene részesíteni másokkal szemben a gyakorlatban?

Összefoglalás

A fentieket összefoglalva elmondható, hogy Dr. Koncz Gábor habitusa, valamint a bemutatott, rendkívül eredményes kutatói pályája során keletkezett, nemzetközileg is fontos tudományos újdonságokat felvonultató, igényesen összeállított értekezés nyilvános vitára bocsátható, és sikeres védelem esetén messzemenően javaslom az MTA doktora fokozat odaítélését. Gratulálok a Jelöltnek eddigi tudományos munkásságához!

Budapest, 2024. szeptember 16.



Dr. Wiener Zoltán, PhD, egyetemi docens, az MTA doktora
Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Molekuláris Onkobiológiai
Kutatócsoport
1089 Budapest, Nagyváradi tér 4.
Tel: (1)210-2930 / 56432
E-mail: wiener.zoltan@semmelweis.hu