

Opponensi vélemény

Dr Uhrer Ferenc „ A mesenchymális őssejtek eredete, sokfélesége és funkciója” c. akadémiai értekezéséről.

A mesenchymális őssejtek a rendkívül aktuális és nagy horderejű őssejt kutatásnak egyik legizgalmasabb tárgyát képviselik. A szöveti őssejtek potenciális therápiás felhasználása miatt különösen fontos e sejtek pontosabb megismerése, jellemzése, valamint feltétlenül szükségesek, mondhatni megkerülhetetlenek a velük végzett *in vitro* és *in vivo* kísérletek. Ezeknek a kívánalmaknak maximálisan eleget tesz a jelölt a doktori értekezésben ismertetett munkával.

A tudományos munka az alábbiakra terjed ki:

Különböző eredetű , egér, illetve emberi stroma sejtek izolálása és jellemzése felszíni markereik, valamint „genetikai ujjlenyomataik” alapján

A mesenchymális őssejtek funkcionális vizsgálata, ezen belül a haematopoézisre gyakorolt hatásuk vizsgálata, különös tekintettel a myelodysplasiás betegség esetében.

Vizsgálta az MSC sejtek egyik fő mediátorának, a galektin-1-nek hatását a haematopoézisben

Tanulmányozta az MSC sejtek szerepét az immunosuppresszióban és gyulladás-gátlásban

Rendkívül fontos gyakorlati jelentősége van, hogy a streptozotocin-indukált diabetes lehetséges őssejt-terápiáját is vizsgálta kísérletes egér modellben..

A doktori tézisek alapjául szolgáló idegen nyelvű 14 közlemény közül a jelölt 13-ban utolsó szerző, mely iskolateremtő habitusát is bizonyítja. Az értekezés témájából további 18 magyar nyelvű közlemény jelent meg., melyben a jelölt első vagy utolsó szerző. A scientometriai adatok nyilván megfelelnek az MTA követelmény rendszerének, előzetes habitus vizsgálat alapján is.

Az értekezés terjedelme 148 oldal, melyet 23 oldalnyi, több mint 300 irodalmi hivatkozás egészít ki., ami nemcsak a téma sokszínűségét, de a jelölt alapos tájékozottságát is bizonyítja. A bevezetés 38 oldal terjedelmű, rendkívül részletes, alapos ismertetése az MSC-ről eddig megismert adatoknak. A megértést számos igen jól szerkesztett ábra segíti elő. A mintegy 20 oldalas megbeszélésből kitűnik, hogy a jelölt a bőség zavarával küzd, mert saját

eredményeinek megbeszélésén kívül számos olyan adatot illeszt be újra, melynek talán a bevezetésben lett volna a helye.

A bemutatott munka *in vitro* és *in vivo* kísérleteken alapszik, a methodikai lehetőségek imponálóan széles választékával. A mesenchymális őssejtek izolálása és tenyésztése profi módon történt, karakterizálásuk folyamán áramlási cytometriai méréseket, cytokin meghatározásokat végeztek, és genetikai ujjlenyomatuk méréséhez korszerű PCR módszereket alkalmaztak. Ezen kívül Western blot, immunhisztokémia és immunfluoreszcencia egészítette ki a methodikai arzenált. *In vivo* kísérletük célja a diabeteses állatmodell alkalmazása, streptozotocin (STZ) indukált diabétessel, majd ezt követően transplantációs kísérletek végzése színgén csontvelői magvas sejtekkel és mesenchimális őssejtekkel.

Tekintettel arra, hogy az értekezés alapját képező dolgozatok lektorált, színvonalas nemzetközi és hazai folyóiratokban jelentek meg, és mindegyik átesett a közlések során a szigorú szakmai bírálaton, a közölt adatokkal kapcsolatosan érdemi szakmai kifogásom nincs. Ehelyett csupán néhány kérdésre várom a jelölt választát

1. A mesenchymális őssejtek felszíni markerei eltérnek a haemopoetikus őssejtekétől, így pl. CD34 negatívak. A dolgozatban számos egyéb különbségről is beszámol, nincs adat azonban a CD133-ról, amit a humán őssejtek másik jellemző markerének tartanak. A CD 133 (prominin) szerepét hangsúlyozzák mind a pluripotens haematopoetikus őssejtek izolálásában, mind a CD133 pozitív sejtek therapiás alkalmazásában. Ennek a markernek az összehasonlító vizsgálatát miért nem tartották fontosnak elvégezni?
2. Munkájának kiemelkedő része az I. típusú diabetes modell vizsgálata, illetve a therapiás lehetőség megközelítése mesenchymális őssejtekkel. Mint ismeretes, a β -sejtek pótlása nem megoldás a gyógyításban, ha az autoimmun folyamatot nem sikerül megállítani. Kísérleteiben sem a csontvelő transzplantáció sem az MSC kezelés külön-külön nem javította a cukorbetegséget a streptozotocin kezelt állatokban, csak a kotranszplantáció, ami kiváló és egyben gondolat ébresztő eredmény. Bizonyította, hogy a regenerálódó sejtek nem donor eredetűek. Azt is bizonyította, hogy az MSC sejtek immunsuppresszív hatásuk miatt gátolják a β -sejt specifikus T sejt választ. Ennek fényében miért volt szükség besugárzásra majd csontvelő transzplantációra IS ?
3. A STZ elsősorban β -sejt toxikus, míg az un NOD egerek (hasonlóan a BB patkányokhoz) diabeteise inkább autoimmun mechanizmuson alapul. Tervezik-e a

jövőben, hogy ezen a modellen is bizonyítsák az MSC és BMC kotranszplantációjának hatásosságát, illetve az MSC jelentőségét?

4. Vizsgálták-e a kotranszplantációt követően a regulatorikus T sejtek arányát?
5. Az MSC-k által kibocsátott mediátorok pozitív hatásúak lehetnek a β - sejtek regenerációjára. Ennek a folyamatnak a pontosabb jellemzéséhez nem terveznék-e egy *in vitro* modell kidolgozását? Langerhans szigetek kinyerésére lehetőség volna kísérleti állatból, vagy akár humán szigetek izolálására is cadaverből. (Lacy P.E. et al.: Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. Diabetes 1967. 16: 35.; Ricordi,C. et al.: An automated method for the isolation of human pancreatic islets Diabetes 1988 37: 413.) Lehetséges volna-e így egy megbízható *in vitro* rendszer tanulmányozása egér, vagy humán MSC sejtek és tenyésztett β - sejtek koinkubációjával ?
6. A bevezető részben a 10. ábra szemlélteti az MSC-k terápiás alkalmazásának potenciális lehetőségeit. Bár itt konkrétan nincs feltüntetve, de kísérleteik tükrében mi a véleménye az MSC-k alkalmazásáról myelodysplaziás syndromában?

A jelölt az értekezés végén az új megállapításokat 12 pontban foglalta össze, melyek közül az alábbiakat emelném ki:

- Bizonyította a mesenchymális őssejtek sokféleségét, és megállapította, hogy génexpressziós profiljuk alapján is jellemezhető eredeti lokalizációjuk.
- Bizonyította, hogy az MSC sejtek befolyásolják a vérképző elődsejtek növekedését és repopulációját.
- Megállapította, hogy myelodysplasiás betegekben a Notch jeltovábbító rendszer zavart szenved.
- Jellemezte a galektin-1 hatását a vérképző elődsejtekre, valamint gyulladásgátlásban betöltött szerepét.
- Kidolgozott az 1-es típusú DM gyógyítására alkalmas preklinikai állatmodellt, melyben szingén csontvelő graft és szingén, szemiallogén vagy allogén mesenchymális őssejtek egyidejű transzplantációjával a STZ indukálta diabetes gyógyítható volt.
- Kimutatta, hogy a terápiás hatás közvetett úton, szolubilis mediátorok révén valósul meg, de a beadott sejtek nem differenciálódnak β sejtekké. A

mesenchymális őssejtek biztosították a Langerhans szigetek regenerációját, és megakadályozták az autoreaktív T-sejt választ.

A magas szintű módszertant és új megállapításokat tartalmazó tudományos munka véleményem szerint kimeríti a nyilvános vitára bocsátás követelményeit és eredményes nyilvános vita esetén az MTA doktori fokozat odaítélésének kritériumait.

Mindezek alapján javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását és eredményes nyilvános vita esetén az MTA doktori cím odaítélését.

Szeged 2013. szeptember 5

Dr Mándi Yvette

az MTA doktora.