

AUTOREFERAT

Dr Marek Wagner

Centrum Nauk o Życiu i Biotechnologii
Sieć Badawcza Łukasiewicz –
PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii

Wrocław, 2025

1. Imię i nazwisko.

Marek Wagner

(ORCID: 0000-0003-3967-9527)

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe ~~lub artystyczne~~ – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2013 Doctor of Philosophy (PhD).

Wydział Medyczny, Instytut Biomedycyny, Uniwersytet w Bergen, Norwegia
(*Faculty of Medicine, Department of Biomedicine, University of Bergen, Norway*).

Badania do pracy doktorskiej zatytułowanej „*Funkcjonalna heterogeniczność i plastyczność makrofagów w mysich modelach nowotworowych*” (w oryginale „*Functional heterogeneity and plasticity of macrophages in murine tumor models*”) zostały przeprowadzone w laboratorium kierowanym przez prof. Rolfa Bjerkviga na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii oraz w laboratorium kierowanym przez prof. Michaela Klagsbruna w Szpitalu Dziecięcym oraz Wyższej Szkole Medycznej Uniwersytetu Harvarda (*Boston Children's Hospital and Harvard Medical School*) w Bostonie, USA.

Promotor główny: prof. Rolf Bjerkvig

Promotorzy pomocniczy: prof. Helge Wiig, prof. Hans Petter Eikesdal

2009 Dyplom magistra na kierunku biotechnologia.

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach.

Badania do pracy magisterskiej zatytułowanej „*Wpływ inhibitora cytokiny HMGB1 – glicyryzyny na wzrost czerniaka B16F10 u myszy*” zostały przeprowadzone w Zakładzie Biologii Molekularnej, Centrum Onkologii - Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gliwicach.

Promotor: prof. dr hab. Stanisław Szala.

2007 Dyplom licencjata na kierunku biotechnologia.

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach.

Praca licencjacka zatytułowana *”Wykorzystanie bakterii w leczeniu chorób nowotworowych”* została wykonana w Katedrze Mikrobiologii, Uniwersytet Śląski w Katowicach.

Promotor: prof. Zofia Piotrowska-Seget

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

01.2023 – obecnie

Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii, Wrocław, Polska.

Stanowisko: Młodszy Lider Grupy Badawczej, Grupa Badawcza Odporności Wrodzonej (*Junior Group Lider, Innate Immunity Research Group*).

09.2021 – 12.2022

RIKEN Instytut Badań Fizycznych i Chemicznych, IMS Zintegrowane Centrum Nauk Medycznych, (RIKEN, IMS Center for Integrative Medical Sciences), Jokohama, Japonia.

Stanowisko: Starszy naukowiec wizytujący w laboratorium kierowanym przez prof. Shigeo Koyasu.

Pobyt badawczy finansowany z grantu FRIPRO Mobility Grant (The Research Council of Norway).

04.2020 – 09.2023

Wydział Medyczny, Instytut Biomedycyny, Uniwersytet w Bergen, Norwegia.

Stanowisko: Starszy naukowiec w laboratorium kierowanym przez prof. Helge Wiiga.

09.2016 – 12.2017

**RIKEN Instytut Badań Fizycznych i Chemicznych, IMS
Zintegrowane Centrum Nauk Medycznych, Jokohama,
Japonia.**

Stanowisko: Naukowiec (Postdoc) wizytujący w laboratorium kierowanym przez prof. Shigeo Koyasu.

Pobyt badawczy finansowany ze środków wewnętrznych Uniwersytetu w Bergen w Norwegii.

09.2015 – 08.2019

**Wydział Medyczny, Instytut Biomedycyny, Uniwersytet
w Bergen, Norwegia.**

Stanowisko: Naukowiec (Postdoc) w laboratorium kierowanym przez prof. Helge Wiiga.

03.2014 – 08.2015

**Wydział Medyczny, Instytut Biomedycyny, Uniwersytet
w Bergen, Norwegia.**

Stanowisko: Asystent naukowy w laboratorium kierowanym przez prof. Helge Wiiga.

07.2010 – 02.2011

**Szpital Dziecięcy oraz Wyższa Szkoła Medyczna
Uniwersytetu Harvarda (Boston Children's Hospital
and Harvard Medical School), Boston, USA.**

Stanowisko: Doktorant wizytujący w laboratorium kierowanym przez prof. Michaela Klagsbruna.

Pobyt badawczy finansowany ze środków wewnętrznych Uniwersytetu w Bergen w Norwegii.

05.2010 – 09.2013

**Wydział Medyczny, Instytut Biomedycyny, Uniwersytet
w Bergen, Norwegia.**

Stanowisko: Doktorant w laboratorium kierowanym przez prof. Rolfa Bjerkviga.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).
Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

Podstawę habilitacji stanowi cykl powiązanych tematycznie artykułów, w skład którego wchodzi cztery oryginalne publikacje naukowe oraz dwie publikacje przeglądowe, opatrzone tytułem:

”Interakcje międzykomórkowe w mikrośrodku czerniaka: nowe kierunki badań i ich znaczenie terapeutyczne”

4.2. Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych.

Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, składających się na cykl habilitacyjny, obejmuje cztery prace oryginalne oraz dwie prace przeglądowe. Łączny Impact Factor (IF) prac, zgodnie z rokiem ich publikacji, wynosi **89.62**, natomiast na dzień 27.02.2025 wynosi **90.1**. Odpowiada to wartości **810** punktów MNiSW według roku publikacji oraz **960** punktów na dzień 27.02.2025. Zgodnie z obowiązującymi wytycznymi, w każdej z prac zazaczyłem swój wkład merytoryczny w jej powstanie. Należy podkreślić, że w pierwszej publikacji z cyklu pierwsze autorstwo jest dzielone. Kolejność artykułów wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego została uporządkowana tematycznie

Publikacja 1.

Lund AW[#], **Wagner M[#]**, Fankhauser M, Steinskog ES, Broggi MA, Spranger S, Gajewski TF, Alitalo K, Eikesdal HP, Wiig H, Swartz MA. Lymphatic vessels regulate immune microenvironments in human and murine melanoma. *J Clin Invest.* 2016 Sep 1;126(9):3389-402. doi: 10.1172/JCI79434.

[#]Contributed equally to this work

IF (2016): 12.784 || IF (Na dzień 27.02.2025): 13.3

Pkt. MNiSW (2016): 50 || Pkt. MNiSW (Na dzień 27.02.2025): 200

Liczba cytowań (Na dzień 27.02.2025): 158

Indywidualny wkład w autorstwo:

Mój udział w pracy jako równorzędny pierwszy autor polegał na współtworzeniu koncepcji pracy, opracowaniu i przeprowadzeniu większości eksperymentów z wykorzystaniem mysiego modelu czerniaka za pomocą technik cytometrii przepływowej, histochemii, immunohistochemii, analizy cytokin przy użyciu proteome profiler mouse cytokine array oraz Western blot. W ramach tego projektu badawczego zajmowałem się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników wykorzystanych w manuskrypcie. Brałem udział w przygotowaniu manuskryptu oraz dokonałem jego krytycznej oceny całościowej, jak i odpowiedzi na recenzje.

Publikacja 2.

Wagner M*, Steinskog ES, Wiig H. Blockade of lymphangiogenesis shapes tumor-promoting adipose tissue inflammation. *Am J Pathol.* 2019 Oct;189(10):2102-2114. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.06.010.

**Corresponding author*

IF (2019): 3.491 || IF (Na dzień 27.02.2025): 4.7

Pkt. MNiSW (2019): 140 || Pkt. MNiSW (Na dzień 27.02.2025): 140

Liczba cytowań (Na dzień 27.02.2025): 8

Indywidualny wkład w autorstwo:

Mój udział w pracy polegał na stworzeniu koncepcji pracy, opracowaniu oraz przeprowadzeniu wszystkich eksperymentów z wykorzystaniem mysiego modelu czerniaka. W ramach tego projektu badawczego zajmowałem się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników wykorzystanych w manuskrypcie. Przygotowałem pierwotną wersję manuskryptu oraz dokonałem jego krytycznej oceny całościowej, uwzględniając uwagi współautorów, oraz udzieliłem odpowiedzi na recenzje.

Publikacja 3.

Wagner M*, Koyasu S. A 3D skin melanoma spheroid-based model to assess tumor-immune cell interactions. *Bio Protoc.* 2020 Dec 5;10(23):e3839. doi: 10.21769/BioProtoc.3839.

**Corresponding author*

IF (2020): Brak || IF (Na dzień 27.02.2025): 1

Pkt. MNiSW (2020): 20 || Pkt. MNiSW (Na dzień 27.02.2025): 20

Liczba cytowań (Na dzień 27.02.2025): 2

Indywidualny wkład w autorstwo:

Mój udział w pracy polegał na stworzeniu koncepcji pracy, opracowaniu oraz przeprowadzeniu wszystkich eksperymentów. W ramach tego projektu badawczego zajmowałem się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników wykorzystanych w manuskrypcie. Przygotowałem pierwotną wersję manuskryptu oraz dokonałem jego krytycznej oceny całościowej, uwzględniając uwagi współautora, oraz udzieliłem odpowiedzi na recenzje.

Publikacja 4.

Wagner M*, Ealey KN, Tetsu H, Kiniwa T, Motomura Y, Moro K, Koyasu S. Tumor-derived lactic acid contributes to the paucity of intratumoral ILC2s. *Cell Rep.* 2020 Feb 25;30(8):2743-2757.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2020.01.103.

**Corresponding author*

IF (2020): 9.423 || IF (Na dzień 27.02.2025): 7.5

Pkt. MNiSW (2020): 200 || Pkt. MNiSW (Na dzień 27.02.2025): 200

Liczba cytowań (Na dzień 27.02.2025): 51

Indywidualny wkład w autorstwo:

Mój udział w pracy polegał na współtworzeniu koncepcji pracy, opracowaniu oraz przeprowadzeniu wszystkich eksperymentów *in vitro* oraz większości eksperymentów *in vivo*

z wykorzystaniem mysiego modelu czerniaka. Dodatkowo przeprowadziłem kompleksową analizę ludzkiego czerniaka. W ramach tego projektu badawczego zajmowałem się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników wykorzystanych w manuskrypcie. Przygotowałem pierwotną wersję manuskryptu oraz dokonałem jego krytycznej oceny całościowej, uwzględniając uwagi współautorów, oraz udzieliłem odpowiedzi na recenzje.

Publikacja 5.

Wagner M*, Koyasu S. Cancer immunoediting by innate lymphoid cells. *Trends Immunol.* 2019 May;40(5):415-430. doi: 10.1016/j.it.2019.03.004.

**Corresponding author*

IF (2019): 13.422 || IF (Na dzień 27.02.2025): 13.1

Pkt. MNiSW (2019): 200 || Pkt. MNiSW (Na dzień 27.02.2025): 200

Liczba cytowań (Na dzień 27.02.2025): 37

Indywidualny wkład w autorstwo:

Mój udział w pracy polegał na przeglądzie literatury oraz stworzeniu koncepcji pracy. Przygotowałem pierwotną wersję manuskryptu oraz dokonałem jego krytycznej oceny całościowej, uwzględniając uwagi współautora, oraz udzieliłem odpowiedzi na recenzje.

Publikacja 6.

Wagner M*, Nishikawa H, Koyasu S. Reinventing type 2 immunity in cancer. *Nature.* 2025 Jan;637(8045):296-303. doi: 10.1038/s41586-024-08194-2.

**Corresponding author*

IF (2025): 50.5 || IF (Na dzień 27.02.2025): 50.5

Pkt. MNiSW (2025): 200 || Pkt. MNiSW (Na dzień 27.02.2025): 200

Liczba cytowań (Na dzień 27.02.2025): 1

Indywidualny wkład w autorstwo:

Mój udział w pracy polegał na przeglądzie literatury oraz stworzeniu koncepcji pracy. Przygotowałem pierwotną wersję manuskryptu oraz dokonałem jego krytycznej oceny całościowej, uwzględniając uwagi współautorów, oraz udzieliłem odpowiedzi na recenzje.

Liczba cytowań według bazy *Scopus*.

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wprowadzenie

Czerniak (łac. *melanoma malignum*) jest jednym z najbardziej złośliwych nowotworów skóry, wywodzącym się z neuroektodermalnych komórek melanocytarnych. Melanocyty to komórki odpowiedzialne za wytwarzanie melaniny, barwnika, który nadaje ciemniejszy odcień skóry w odpowiedzi na promieniowanie ultrafioletowe (UV). W związku z tym najczęstszą lokalizacją czerniaka jest skóra. Może on jednak występować również w obrębie błon śluzowych (np. w jamie ustnej, odbycie, sromie) oraz w obrębie błony naczyniowej gałki ocznej.

Jak podaje Krajowy Rejestr Nowotworów, czerniak stanowi nieco ponad 2% wszystkich nowotworów złośliwych i 5–7% nowotworów skóry. W Polsce w 2021 roku zarejestrowano 1876 przypadków zachorowań u mężczyzn oraz 2218 u kobiet. W wyniku tej choroby zmarło 661 mężczyzn i 616 kobiet, co plasuje czerniaka jako główną przyczynę zgonów spowodowanych nowotworami skóry [1]. Co więcej, czerniak charakteryzuje się najwyższą dynamiką wzrostu liczby zachorowań w porównaniu z innymi nowotworami. W okresie od 1980 do 2020 roku liczba przypadków zachorowań na czerniaka wzrosła trzykrotnie.

Promieniowanie UV, a w szczególności promieniowanie UVB o średniej długości fali 290–320 nm, odgrywa kluczową rolę w transformacji nowotworowej melanocytów, bezpośrednio wywołując mutacje w DNA. Jednak wpływ UV na mutacje jest złożony i zróżnicowany w zależności od rodzaju czerniaka. Co więcej, współczesna klasyfikacja molekularna opiera się w dużej mierze na mutacjach, które nie są bezpośrednio związane z działaniem promieniowania UV. Przykładem może być potwierdzenie ponad 20 lat temu karcynogennej roli mutacji BRAF w powstawaniu czerniaka, która występuje u ponad 50% pacjentów, co zapoczątkowało rozwój terapii celowanej w leczeniu tej choroby [2]. Warto

podkreślić, że w miarę postępu choroby czerniaki mogą nabywać kolejne mutacje, zwłaszcza w fazie tworzenia przerzutów. Dodatkowo, różne komórki nowotworowe u tego samego pacjenta mogą zawierać odmienne mutacje, które wpływają na rozwój oporności na leczenie.

Terapie molekularne zazwyczaj przynoszą szybkie efekty, skutecznie spowalniając rozwój nowotworu. Niestety, u niektórych pacjentów z czasem dochodzi do wystąpienia oporności i nawrotu choroby. W takich przypadkach konieczna jest zmiana strategii leczenia, na przykład poprzez zastosowanie immunoterapii. Jest to nowoczesna metoda, która wykorzystuje układ odpornościowy pacjenta do zwalczania nowotworu. Mimo że działa wolniej niż terapie molekularne, to zapewnia bardziej trwałe efekty, które mogą utrzymywać się przez wiele lat.

Komórki układu odpornościowego, w tym komórki stanu zapalnego, są często obserwowane zarówno w zmianach przednowotworowych, jak i w rozwiniętych nowotworach, gdzie mogą łagodzić, jak i przyspieszać postęp choroby. Jest to uzależnione od wielu czynników, w tym od rodzaju aktywowanej odpowiedzi układu odpornościowego. Na przykład, obecność cytotoksycznych limfocytów T CD8⁺ w guzach nowotworowych, w tym czerniaka, z reguły koreluje z dobrym rokowaniem [3, 4]. Niemniej jednak, komórki nowotworowe, aby uciec spod nadzoru immunologicznego, są zdolne do kształtowania mikrośrodowiska guza. W tym celu wykorzystują różne mechanizmy, między innymi indukcję tolerancji immunologicznej poprzez ekspresję ligandów hamujących aktywację limfocytów T, takich jak ligand 1 programowanej śmierci komórki (programmed death ligand 1, PD-L1). Komórki nowotworowe rekrutują również komórki o działaniu immunosupresyjnym. Dla przykładu, obecność alternatywnie aktywowanych makrofagów (tzw. makrofagi o fenotypie M2) zazwyczaj wiąże się z mikrośrodowiskiem sprzyjającym progresji nowotworu [5, 6]. Rekrutacja ta jest wspomagana między innymi przez produkcję i gromadzenie kwasu mlekowego w niedotlenionych rejonach guza nowotworowego [6, 7].

Współczesna immunoterapia w leczeniu czerniaka opiera się głównie na inhibitorach punktów kontrolnych układu immunologicznego, jak na przykład receptor programowanej śmierci 1 (programmed death 1, PD-1) lub antygen 4 cytotoksycznych limfocytów T (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4, CTLA-4), co umożliwia aktywację i wzmocnienie odpowiedzi limfocytów T przeciwko nowotworowi. Efektywność inhibitorów punktów kontrolnych układu immunologicznego zależy jednak od obecności nacieku komórek układu odpornościowego, zwłaszcza cytotoksycznych limfocytów T CD8⁺, w guzie nowotworowym [8, 9]. Wciąż jednak nie wiadomo, co decyduje o zdolności pacjenta do wytworzenia endogennej odpowiedzi immunologicznej przeciwko nowotworowi [10].

W przypadku braku takiej odpowiedzi mamy do czynienia z „guzem zimnym” (ang. „*cold tumor*”), który, w przeciwieństwie do „guzów gorących” (ang. „*hot tumors*”), unika rozpoznania przez układ odpornościowy i nie indukuje reakcji zapalnej, co sprawia, że immunoterapia jest wobec niego nieskuteczna [11].

Jednym z celów moich badań była analiza roli naczyń limfatycznych w kształtowaniu procesów immunologicznych w mikrośrodowisku czerniaka, aby lepiej zrozumieć, w jaki sposób ten proces wpływa na rozwój nowotworu. Znaczenie naczyń limfatycznych w rozwoju nowotworów było dotychczas często pomijane, gdyż wcześniejsze badania koncentrowały się głównie na roli naczyń krwionośnych w tym procesie. Miało to związek, między innymi, z brakiem specyficznych markerów naczyń limfatycznych, co utrudniało zrozumienie ich funkcji [12]. Niemniej jednak odkrycie czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego C (vascular endothelial growth factor C, VEGFC), który wiąże się z receptorem VEGFR3 na powierzchni komórek naczyń limfatycznych, zmieniło tę sytuację, umożliwiając głębsze zrozumienie procesu formowania nowych naczyń limfatycznych, czyli limfangiogenezy, i jej roli w progresji nowotworów [13].

Główną funkcją naczyń limfatycznych jest transport płynu śródmiąższowego (czyli płynnej fazy otaczającej komórki w tkankach) z powrotem do krążenia krwi [14, 15]. Wraz z narządami limfatycznymi (m.in. węzłami chłonnymi) tworzą one również układ limfatyczny [14]. Z wyjątkiem tkanek pozbawionych naczyń, takich jak naskórek, chrząstka i rogówka, oraz kilku ukrwionych narządów, takich jak siatkówka i mózg (z wyjątkiem opony twardej [16, 17]), wszystkie narządy zawierają ślepo zakończone włosowate naczynia limfatyczne. Włosowate naczynia limfatyczne to cienkościenne naczynia, które w porównaniu z włosowatymi naczyniami krwionośnymi są stosunkowo duże. Są one zbudowane z pojedynczej warstwy luźno przylegających komórek śródbłonna. Naczynia te nie są otoczone perycytami ani komórkami mięśni gładkich i charakteryzują się brakiem ciągłej błony podstawnej. Transportują spływający płyn śródmiąższowy, zwany limfą, do większych naczyń limfatycznych, przepływając przez węzły chłonne. Większe naczynia limfatyczne są wyścielone mięśniami gładkimi, które napędzają ruch limfy spontanicznymi skurczami. Są one również wyposażone w zastawki jednokierunkowe, które zapobiegają cofaniu się limfy, dzięki czemu ostatecznie trafia ona do krążenia ogólnoustrojowego w połączeniach limfatyczno-naczyniowych w okolicy szyjnej [14].

Guzy nowotworowe na ogół są pozbawione naczyń limfatycznych, a te, które występują, są zazwyczaj zapadnięte i нефunkcjonalne. Skutkuje to akumulacją płynu śródmiąższowego, zawierającego między innymi produkty przemiany materii, oraz wzrostem

jego ciśnienia [15]. Podwyższone ciśnienie płynu śródmiąższowego zmniejsza skuteczność dostarczania leków przeciwnowotworowych, sprzyja większej odporności na terapię oraz wspiera rozwój agresywnego fenotypu nowotworu. Jednakże na obrzeżach guza często dochodzi do stymulacji powstawania nowych naczyń limfatycznych. Obecność tych naczyń jest wystarczająca, aby umożliwić powstawanie przerzutów, a ich gęstość koreluje z gorszym rokowaniem u pacjentów z czerniakiem [18].

Komórki nowotworowe przemieszczają się przez naczynia limfatyczne, wędrując do zatoki podtorebkowej węzła chłonnego, gdzie mogą naciekać jego zrąb i przedostawać się do krążenia krwi poprzez żyłki o wysokim śródbłonku (high endothelial venules, HEV). Alternatywnie, mogą przemieszczać się dalej przez naczynia limfatyczne i serię węzłów chłonnych, aby ostatecznie trafić do krążenia ogólnoustrojowego. Komórki nowotworowe mogą również naciekać poprzez torebkę węzła chłonnego (extracapsular spread, ECS) do otaczającej węzeł tkanki tłuszczowej, co w przypadku pacjentów z czerniakiem koreluje ze znacznie gorszym rokowaniem [19, 20].

Niemniej jednak, naczynia limfatyczne odgrywają również istotną rolę w indukcji odpowiedzi immunologicznej. Ich brak, a tym samym brak drenażu limfatycznego, uniemożliwia migrację obwodowo aktywowanym komórkom dendrytycznym do węzłów chłonnych, co zakłóca proces aktywacji odpowiedzi immunologicznej [21]. Mimo to, rola naczyń limfatycznych w indukcji odpowiedzi immunologicznej związanej z rozwojem guza nowotworowego pozostaje niejasna. Wiadomo, że w przypadku transplantacji tkanek limfangiogeneza może wspierać odrzucenie przeszczepów, co zostało wykazane w przypadku transplantacji rogówki. Z drugiej strony, stymulacja limfangiogenezy może sprzyjać wygaszaniu przewlekłego procesu zapalnego, co może stanowić nową strategię leczenia przewlekłych chorób skóry, a być może także innych narządów [22-24]. Te obserwacje sugerują, że naczynia limfatyczne pełnią różnorodne i złożone funkcje w regulacji lokalnych procesów immunologicznych, zarówno poprzez ich indukcję, jak i wygaszanie. Jednym z celów moich badań była analiza roli naczyń limfatycznych w kształtowaniu procesów immunologicznych w mikrośrodku czerniaka, ze szczególnym uwzględnieniem indukcji przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej.

Struktury limfatyczne, w tym naczynia limfatyczne i węzły chłonne, są powszechnie obecne w tkance tłuszczowej. Tkanka tłuszczowa z kolei ma istotny wpływ na wzrost guza, szczególnie gdy staje się źródłem przewlekłego stanu zapalnego [25-28]. Wpływ naczyń limfatycznych na regulację stanu zapalnego tkanki tłuszczowej w kontekście rozwijającego się guza nowotworowego był dotychczas pomijany, mimo że niektóre nowotwory, w tym

czerniak, rozwijają się w bliskim sąsiedztwie tkanki tłuszczowej, nierzadko ją infiltrując. W moich dalszych badaniach skupiłem się na analizie roli naczyń limfatycznych w regulacji stanu zapalnego tkanki tłuszczowej, aby lepiej zrozumieć, w jaki sposób ten proces wpływa na rozwój czerniaka.

Tkanka tłuszczowa jest również źródłem nowo odkrytych komórek układu odpornościowego, obecnie znanych jako wrodzone komórki limfoidalne grupy 2 (group 2 innate lymphoid cells, ILC2) [29]. ILC2 należą do rodziny wrodzonych komórek limfoidalnych (innate lymphoid cells, ILC), które są limfocytami nie wykazującymi ekspresji receptorów antygenowych (T-cell receptor, TCR). Na podstawie ekspresji czynników transkrypcyjnych oraz produkcji cytokin podzielono je na pięć podtypów: komórki NK (natural killer cells, NK), ILC1, ILC2, ILC3 oraz komórki indukujące tkankę limfatyczną (lymphoid tissue inducer cells, LTi) [30]. ILC1 produkują cytokiny typu 1, takie jak IFN- γ i TNF- α , oraz wykazują ekspresję czynnika transkrypcyjnego T-bet. W przeciwieństwie do komórek NK, nie są cytotoksyczne i mogą rozwijać się bez eomesoderminy (eomes), która jest kluczowa dla różnicowania komórek NK. Z kolei ILC2, wytwarzają cytokiny typu 2, takie jak IL-4, IL-5 i IL-13. Ich rozwój zależy od ekspresji czynników transkrypcyjnych, takich jak GATA3 oraz ROR α . Kolejną grupą są ILC3 oraz komórki LTi, które produkują IL-22 i/lub IL-17. Ich rozwój jest uzależniony od obecności czynnika transkrypcyjnego ROR γ t. Komórki LTi dodatkowo wytwarzają limfotoksynę (LT) i powstają w wyniku odmiennego procesu rozwojowego niż ILC3.

ILC2, poprzez produkcję zwiększonych ilości cytokin typu 2, odgrywają kluczową rolę w indukcji odpowiedzi immunologicznej typu 2, pierwotnie związanej z ochroną przed pasożytami (tzw. helminetami) [29]. W kontekście choroby nowotworowej dotychczas przypisywano im wyłącznie udział w kształtowaniu mikrośrodowiska sprzyjającego rozwojowi nowotworów. Mechanizm ten jest związany z rekrutacją komórek immunosupresyjnych, w tym makrofagów o fenotypie M2 oraz komórek supresorowych pochodzenia mieloidalnego (myeloid-derived suppressor cells, MDSC), co zostało wykazane w przypadku raka piersi [31]. Biorąc pod uwagę, że obecność ILC2 została potwierdzona także w tkankach barierowych, takich jak skóra, postanowiłem zbadać ich potencjalną rolę w rozwoju czerniaka.

Otrzymane wyniki badań dotyczące roli ILC2 oraz odpowiedzi immunologicznej typu 2 w nowotworzeniu postanowiłem opublikować w formie dwóch artykułów przeglądowych, które zostały uwzględnione w cyklu habilitacyjnym. Artykuły te nie tylko podsumowują aktualny stan wiedzy na temat funkcji ILC2 w mikrośrodowisku nowotworowym, ale także

przedstawiają nową hipotezę dotyczącą roli odpowiedzi immunologicznej typu 2 w procesie nowotworzenia.

Cel naukowy

Celem niniejszej pracy jest szczegółowa analiza interakcji międzykomórkowych w mikrośrodku czerniaka, ze szczególnym uwzględnieniem roli naczyń limfatycznych oraz wrodzonych komórek limfoidalnych grupy 2 (ILC2). Badania mają na celu zrozumienie ich bezpośredniego i pośredniego wpływu na rozwój nowotworu oraz opracowanie nowych strategii terapeutycznych opartych na modulacji procesów immunologicznych.

Cele szczegółowe

1. Analiza wpływu naczyń limfatycznych na kształtowanie procesów immunologicznych w mikrośrodku czerniaka, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w indukcji przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej (**Publikacja 1**).
2. Zbadanie roli naczyń limfatycznych w regulacji stanu zapalnego tkanki tłuszczowej w rozwoju czerniaka (**Publikacja 2**).
3. Zbadanie mechanizmów interakcji pomiędzy komórkami nowotworowymi a wrodzonymi komórkami limfoidalnymi grupy 2 (ILC2) oraz ich roli w rozwoju czerniaka. (**Publikacja 3** oraz **4**).
4. Przedstawienie mechanizmów stosowanych przez komórki nowotworowe w celu uniknięcia rozpoznania i eliminacji przez ILC (**Publikacja 5**).
5. Przedstawienie nowej roli odpowiedzi immunologicznej typu 2 w procesie nowotworzenia (**Publikacja 6**).

Uzyskane wyniki

Publikacja 1.

Lund AW[#], Wagner M[#], Fankhauser M, Steinskog ES, Broggi MA, Spranger S, Gajewski TF, Alitalo K, Eikesdal HP, Wiig H, Swartz MA. Lymphatic vessels regulate immune

microenvironments in human and murine melanoma. *J Clin Invest.* 2016 Sep 1;126(9):3389-402. doi: 10.1172/JCI79434.

[#]*Contributed equally to this work*

Głównym celem pracy było zbadanie w jaki sposób naczynia limfatyczne wpływają na kształtowanie procesów immunologicznych w mikrośrodku czerniaka, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w indukcji przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej.

Analiza próbek ludzkiego czerniaka z wykorzystaniem ogólnodostępnej bazy danych The Cancer Genome Atlas (TCGA) wykazała, że ekspresja genów kodujących markery związane z komórkami śródbłonna naczyń limfatycznych, takich jak *PDPN* (podoplanin), *LYVE1* (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1) oraz *VEGFC* – które wspólnie tworzą opracowany przez nas wskaźnik limfatyczny (lymphatic score, LS) – koreluje z ekspresją genów specyficznych dla różnych komórek układu odpornościowego, w tym *CD45* (*PTPRC*), *CD11B* (*ITGAM*), *F480* (*ADGRE1*), *KLRB1*, *CD3D*, *CD8A*, *CD4* oraz *FOXP3*.

Biorąc pod uwagę pozytywną korelację między LS a markerami komórek układu odpornościowego w ludzkim czerniaku, eksperymentalnie zbadalem rolę naczyń limfatycznych w indukcji stanu zapalnego oraz odpowiedzi immunologicznej przeciwko czerniakowi. W pracy wykorzystałem transgeniczne myszy K14-VEGFR3-Ig, które są pozbawione naczyń limfatycznych w skórze na skutek kontrolowanej przez promotor keratynowy (K14) ekspresji receptora VEGFR3. Receptor ten wiąże się z VEGF-C oraz VEGF-D, neutralizując je i zapobiegając limfangiogenezie w skórze. Wyniki moich badań pokazały, że guzy czerniaka B16F10 rozwijające się w myszach K14-VEGFR3-Ig wykazywały znacznie mniejszą infiltrację leukocytów oraz niższy poziom cytokin prozapalnych w porównaniu z guzami rozwijającymi się w myszach typu dzikiego (WT). Szczegółowa analiza wykazała znaczące zmniejszenie liczebności dominujących populacji komórek układu odpornościowego, w tym limfocytów T i B, komórek prezentujących antygen, jak również limfocytów T regulatorowych oraz prozapalnych monocytów, w guzach rozwijających się w myszach K14-VEGFR3-Ig. Wyniki te sugerują, że brak naczyń limfatycznych znacząco zmienia dynamikę mikrośrodowiska guza, osłabiając indukcję odpowiedzi immunologicznej i prowadząc do ograniczonej rekrutacji komórek odpornościowych. Zdolność komórek dendrytycznych do migracji z guza do węzłów chłonnych była również ograniczona. Zgodnie z oczekiwaniami, myszy K14-VEGFR3-Ig

wykazywały zmniejszoną podatność na rozwój spontanicznych przerzutów do płuc z pierwotnych czerniaków B16F10.

Dodatkowe eksperymenty z wykorzystaniem szczepionki profilaktycznej skierowanej przeciwko komórkom B16F10, wykazującym ekspresję ovalbuminy (B16F10.OVA), potwierdziły, że brak naczyń limfatycznych znacząco osłabia indukcję odpowiedzi immunologicznej, prowadząc do zmniejszonej infiltracji guzów przez limfocyty T specyficzne dla komórek B16F10.OVA oraz braku zahamowania ich wzrostu. Pomimo osłabionej indukcji odpowiedzi immunologicznej w myszach K14-VEGFR3-Ig wobec guzów B16F10.OVA, adoptywny transfer aktywowanych *ex vivo* limfocytów T znacząco zahamował wzrost guzów u tych myszy.

Podsumowując, otrzymane wyniki sugerują, że obecność naczyń limfatycznych oraz ich funkcja drenażowa mają kluczowe znaczenie dla indukcji odpowiedzi immunologicznej przeciwko czerniakowi.

Publikacja 2.

Wagner M*, Steinskog ES, Wiig H. Blockade of lymphangiogenesis shapes tumor-promoting adipose tissue inflammation. *Am J Pathol.* 2019 Oct;189(10):2102-2114. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.06.010.

**Corresponding author*

Głównym celem pracy było zbadanie roli naczyń limfatycznych w regulacji stanu zapalnego tkanki tłuszczowej w rozwoju czerniaka. Tkanka tłuszczowa często zlokalizowana jest w pobliżu guzów nowotworowych, w tym szczególnie czerniaka, i może stymulować rozwój guza, zwłaszcza gdy staje się źródłem przewlekłego stanu zapalnego.

Korzystając z myszy transgenicznych K14-VEGFR3-Ig, zaobserwowałem istotne zmiany w tkance tłuszczowej otaczającej guzy czerniaka B16F10. Jednym z najistotniejszych odkryć było wykazanie, że blokada limfangiogenezy prowadzi do selektywnej akumulacji w tkance tłuszczowej makrofagów o fenotypie M2, które są oznaczone markerem CD301 (CLEC10A). U myszy K14-VEGFR3-Ig makrofagi te wykazywały zwiększoną proliferację, co może wyjaśniać ich wyższą liczbę.

Jak wykazałem w poprzedniej publikacji (**Publikacja 1**), indukcja odpowiedzi immunologicznej zależy od obecności naczyń limfatycznych i ich funkcji drenażowej. Guzy rozwijające się u myszy K14-VEGFR3-Ig wykazywały znacząco obniżoną ekspresję

mediatorów prozapalnych w porównaniu do guzów rozwijających się u myszy WT. Mediatory prozapalne, takie jak cytokiny typu 1 (np. IFN- γ), są znane z roli w modulowaniu funkcji makrofagów o fenotypie M2, w tym przez hamowanie ich funkcji immunosupresyjnych. Uwzględniając tę cechę, makrofagi z tkanki tłuszczowej u myszy K14-VEGFR3-Ig mogą być bardziej podatne na lokalne mikrośrodowisko, które wzmacnia ich odpowiedź immunosupresyjną. Z kolei zwiększona liczba makrofagów o fenotypie M2 w tkance tłuszczowej otaczającej guzy czerniaka B16F10 u myszy K14-VEGFR3-Ig tworzy sprzyjające środowisko dla rozwoju nowotworów. W rezultacie guzy rozwijały się znacznie szybciej w tkance tłuszczowej u myszy K14-VEGFR3-Ig i były bardziej unaczynione w porównaniu do myszy WT. Ponadto, gdy komórki czerniaka zostały podane myszom wraz ze świeżo wyizolowanymi z tkanki tłuszczowej makrofagami, wzrost nowotworu był znacznie szybszy, a guzy bardziej unaczynione.

Rola tkanki tłuszczowej i makrofagów została również potwierdzona w badaniach na ludzkich próbkach czerniaka z wykorzystaniem bazy danych TCGA. Analiza ekspresji genu *FABP4*, kodującego białko wiążące kwasy tłuszczowe, wykazała korelację z genami kodującymi markery makrofagów o fenotypie M2, w tym *CLEC10A*. Co istotne, zwiększona ekspresja *FABP4* była związana z krótszym czasem przeżycia pacjentów.

Podsumowując, wyniki powyższych badań sugerują, że naczynia limfatyczne odgrywają kluczową rolę w rozwoju czerniaka poprzez regulację stanu zapalnego w tkance tłuszczowej, a ich brak może wpływać na rozwój mikrośrodowiska sprzyjającego wzrostowi guza.

Publikacja 3.

Wagner M*, Koyasu S. A 3D skin melanoma spheroid-based model to assess tumor-immune cell interactions. *Bio Protoc.* 2020 Dec 5;10(23):e3839. doi: 10.21769/BioProtoc.3839.

**Corresponding author*

W celu lepszego zrozumienia mechanizmów interakcji między komórkami nowotworowymi a komórkami układu odpornościowego stworzyłem trójwymiarowy model czerniaka w formie sferoidów. Stanowiło to główny cel niniejszej pracy, którą opublikowałem jako artykuł metodyczny. Sferoidy stanowią cenne narzędzie badawcze, mogące wypełnić lukę między tradycyjnymi dwuwymiarowymi kulturami komórek nowotworowych a bardziej złożonymi guzami litymi, z którymi dzielą kluczowe cechy biologiczne, takie jak struktura

przestrzenna, gradient tlenu oraz substancji odżywczych, a także produktów przemiany materii. Dzięki temu sferoidy lepiej odwzorowują warunki panujące w mikrośrodku guza, w tym hipoksję oraz metaboliczne zmiany adaptacyjne. W badaniach nad nowotworami istotnym wyzwaniem jest uchwycenie dynamicznych i wzajemnych interakcji między komórkami guza a komórkami układu odpornościowego, które mogą tłumić odpowiedź immunologiczną i wpływać na rozwój i progresję nowotworu.

W pracy tej zastosowałem prostą metodę generowania sferoidów, znaną jako metoda wiszącej kropli (ang. *hanging drop method*). Technika ta, ze względu na swoją prostotę oraz brak konieczności użycia specjalistycznego sprzętu, umożliwia szybkie i efektywne tworzenie trójwymiarowych agregatów komórek nowotworowych. Sferoidy powstają w wyniku samoorganizacji komórek w zawiesinie, które pod wpływem grawitacji tworzą jednorodne struktury.

Wykorzystanie sferoidów, w przeciwieństwie do dwuwymiarowych kultur komórek nowotworowych B16F10, doprowadziło do opracowania kolejnej publikacji (**Publikacja 4**). W badaniach sferoidy wytworzone z komórek czerniaka B16F10 były współhodowane z komórkami ILC2, co umożliwiło analizę wpływu nowotworu na funkcje tych komórek. Współhodowle prowadzono w wariancie pośrednim, z użyciem porowatych membran, które umożliwiały wymianę sygnałów chemicznych, jednocześnie izolując komórki fizycznie. Takie podejście pozwoliło na zbadanie interakcji o charakterze biochemicznym.

Prezentowana praca dostarcza nowego narzędzia badawczego do analizy złożonych interakcji między komórkami nowotworowymi a komórkami mikrośrodowiska guza, zwłaszcza komórkami układu odpornościowego.

Publikacja 4.

Wagner M*, Ealey KN, Tetsu H, Kiniwa T, Motomura Y, Moro K, Koyasu S. Tumor-derived lactic acid contributes to the paucity of intratumoral ILC2s. *Cell Rep.* 2020 Feb 25;30(8):2743-2757.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2020.01.103.

**Corresponding author*

Głównym celem pracy było zbadanie mechanizmów interakcji między komórkami nowotworowymi czerniaka a ILC2 oraz określenie ich roli w rozwoju nowotworu. W badaniach zastosowałem współhodowlę z wykorzystaniem modelu 3D czerniaka w formie

sferoidów z komórkami ILC2, co pozwoliło wykazać, że komórki nowotworowe, dzięki intensywnemu metabolizmowi glukozy, produkują znaczne ilości kwasu mlekowego. Powoduje to zakwaszenie mikrośrodowiska, które niekorzystnie wpływa na ILC2, prowadząc do zahamowania ich proliferacji, funkcji efektorowych i przeżywalności. W obecności wysokiego stężenia kwasu mlekowego ILC2, stymulowane przez IL-33, tracą zdolność do produkcji cytokin typu 2, w tym IL-5, niezbędnej do aktywacji eozynofiliów.

Oprócz badań *in vitro* wykorzystałem również model *in vivo*, który potwierdził, że kwas mlekowy jest kluczowym czynnikiem redukującym liczebność ILC2. W modelu czerniaka B16F10 o obniżonej produkcji kwasu mlekowego (LDHA^{low}) guzy charakteryzowały się wolniejszym tempem wzrostu oraz wyraźnym zwiększeniem liczby ILC2 i eozynofiliów. Podanie IL-33 myszom dodatkowo nasiliło ten efekt, prowadząc do dalszego wzrostu liczby ILC2 i eozynofiliów oraz silniejszego hamowania wzrostu guza. Zahamowanie wzrostu guza wiązało się z cytotoksycznym działaniem eozynofiliów, które wydzielają cytotoksyczne cząsteczki, takie jak główne białko zasadowe (major basic protein, MBP).

Analiza próbek ludzkiego czerniaka z wykorzystaniem bazy danych TCGA wykazała, że ekspresja *IL33* koreluje dodatnio z genami kodującymi markery charakterystyczne dla ILC2 oraz eozynofiliów, podczas gdy ekspresja *LDHA* koreluje ujemnie z genami kodującymi markery tych komórek. Co więcej, zwiększona ekspresja *IL33* oraz *SIGLEC8*, markera związanego z eozynofilami, była związana z dłuższym czasem przeżycia pacjentów.

Wyniki moich badań sugerują, że nowotwory aktywnie manipulują mikrośrodowiskiem poprzez zmiany metaboliczne, aby unikać ataku ze strony układu odpornościowego. Badania te wskazują również na przeciwnowotworową rolę komórek ILC2, co rzuca nowe światło na znaczenie odpowiedzi immunologicznej typu 2 w kontekście chorób nowotworowych, którym dotychczas przypisywano głównie rolę w kształtowaniu mikrośrodowiska sprzyjającego rozwojowi nowotworów.

Publikacja 5.

Wagner M*, Koyasu S. Cancer immunoediting by innate lymphoid cells. *Trends Immunol.* 2019 May;40(5):415-430. doi: 10.1016/j.it.2019.03.004.

**Corresponding author*

Głównym celem pracy było omówienie roli wrodzonych komórek limfoidalnych (ILC) w procesie „immunoedytowania nowotworów” (ang. *“cancer immunoediting”*). Proces ten opisuje interakcje układu odpornościowego z komórkami nowotworowymi i składa się z trzech faz: „eliminacji”, „równowagi” i „ucieczki”. W fazie „eliminacji” układ odpornościowy rozpoznaje i niszczy komórki nowotworowe. W fazie „równowagi” części komórek nowotworowych udaje się przetrwać, ale ich wzrost pozostaje pod kontrolą układu odpornościowego. W fazie „ucieczki” komórki nowotworowe rozwijają mechanizmy unikania odpowiedzi immunologicznej co prowadzi do wzrostu guza. Proces ten odzwierciedla ewolucję nowotworu w odpowiedzi na presję immunologiczną.

Praca koncentruje się na analizie, w jaki sposób ILC modulują odpowiedź immunologiczną. Uwaga poświęcona mechanizmom, dzięki którym ILC wpływają na rozwój nowotworów, otwiera nowe możliwości w immunoterapii. Manipulacja funkcjami ILC może prowadzić do opracowania skuteczniejszych strategii terapeutycznych, zwłaszcza w przypadku nowotworów opornych na tradycyjne metody leczenia. W pracy tej omówione są także różnice w roli ILC w poszczególnych fazach immunoedytowania, podkreślając znaczenie dynamicznej interakcji między komórkami nowotworowymi a układem odpornościowym. Praca porusza również kwestie manipulacji mikrośrodowiskiem przez komórki nowotworowe, m.in. poprzez zmiany metaboliczne, takie jak produkcja kwasu mlekowego (**Publikacja 4**), co pozwala guzom unikać odpowiedzi immunologicznej. Na koniec przedstawiono perspektywy terapeutyczne, w tym potencjalne zastosowanie ILC w zwiększaniu skuteczności odpowiedzi przeciwnowotworowej oraz ograniczaniu mechanizmów ucieczki guza.

Publikacja 6.

Wagner M*, Nishikawa H, Koyasu S. Reinventing type 2 immunity in cancer. *Nature*. 2025 Jan;637(8045):296-303. doi: 10.1038/s41586-024-08194-2.

**Corresponding author*

Głównym celem pracy było przedstawienie przeciwnowotworowej roli odpowiedzi immunologicznej typu 2. Dotychczas dominowało przekonanie, że odpowiedź immunologiczna typu 2, kojarzona z walką z pasożytami, sprzyja głównie rozwojowi nowotworów, na przykład ze względu na częstą obecność w mikrośrodowisku nowotworowym komórek zaangażowanych w tę odpowiedź, takich jak makrofagi o fenotypie

M2 oraz MDSC. Jednak analiza dostępnej literatury naukowej, uzupełniona wynikami naszych badań (**Publikacja 4**), pozwoliła mi wysunąć hipotezę, że wpływ odpowiedzi immunologicznej typu 2 na powstawanie nowotworów może być bardziej złożony, niż dotychczas sądzono.

4.4. Podsumowanie osiągnięć. Znaczenie i zastosowanie uzyskanych wyników, wkład w rozwój dyscypliny naukowej.

Podsumowanie

Badania opisane w cyklu powiązanych tematycznie artykułów dostarczają istotnych informacji na temat interakcji zachodzących w mikrośrodowisku czerniaka, pogłębiając naszą wiedzę w tym zakresie. Ponadto wskazują na potencjalne kierunki nowych badań, mających na celu stworzenie nowych terapii oraz narzędzi diagnostycznych, które mogłyby umożliwić wcześniejsze wykrywanie zmian nowotworowych i przyczynić się do poprawy skuteczności leczenia.

W pierwszej części przeanalizowano rolę naczyń limfatycznych w rozwoju czerniaka w kontekście indukcji odpowiedzi immunologicznej. Naczynia limfatyczne, w porównaniu do naczyń krwionośnych, były dotychczas stosunkowo słabo zbadane. Uważano je głównie za biernych uczestników przerzutowania, stanowiących jedną z dróg przemieszczania się komórek nowotworowych. Obecnie jednak wiadomo, że ich obecność jest kluczowa dla aktywacji układu odpornościowego, co stanowi podstawę immunoterapii.

Czerniak jest szczególnie atrakcyjnym celem immunoterapii ze względu na swoją wysoką immunogenność. Immunoterapia, szczególnie z wykorzystaniem inhibitorów punktów kontrolnych, takich jak anty-PD-1 i anty-CTLA-4, zrewolucjonizowała leczenie nowotworów. Jednakże jej efektywność jest uzależniona od obecności w mikrośrodowisku nowotworowym komórek efektorowych, zwłaszcza cytotoksycznych limfocytów T CD8⁺. Wciąż nie jest jasne, co decyduje o zdolności konkretnego pacjenta do wygenerowania endogennej odpowiedzi immunologicznej przeciwko własnemu nowotworowi. W niniejszej pracy przeanalizowano rolę naczyń limfatycznych w indukcji takiej odpowiedzi. Opracowano wskaźnik LS (ang. *lymphatic score*) oparty na ekspresji genów kodujących markery naczyń limfatycznych, takich jak *PDPN*, *LYVE1* i *VEGFC*. *PDPN* oraz *LYVE1* wykazywały istotną korelację zarówno między sobą, jak i z *VEGFC*, nie korelując jednocześnie z innymi czynnikami *VEGF*, co wskazuje na specyficzność szlaku sygnalizacyjnego VEGF-

C/VEGFR3. Pacjenci z wysokim wskaźnikiem LS wykazywali konsekwentnie wyższą ekspresję markerów immunologicznych, podczas gdy pacjenci z niskim wskaźnikiem charakteryzowali się obniżoną ekspresją tych samych markerów.

Niniejsze badanie było pierwszym, które na podstawie materiału ludzkiego sugeruje, że ekspresja markerów związanych z naczyniami limfatycznymi może stanowić predyktor środowiska immunologicznego w czerniaku, co może zostać wykorzystane jako narzędzie diagnostyczne w klasyfikacji pacjentów kwalifikujących się do immunoterapii, szczególnie tej opartej na inhibitorach punktów kontrolnych. Kluczowym wyzwaniem pozostaje jednak identyfikacja metod pozwalających na zahamowanie funkcji naczyń limfatycznych, które sprzyjają przerzutowaniu. Wyniki badań wykazały, bowiem, że u myszy K14-VEGFR3-Ig, pozbawionych naczyń limfatycznych w skórze, liczba przerzutów czerniaka B16F10 była niższa w porównaniu do myszy WT. Ta wiedza może znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej. Odpowiednie modulowanie funkcji naczyń limfatycznych, np. poprzez promowanie drenażu i prezentacji antygenów lub blokowanie funkcji przerzutowej naczyń, mogłoby prowadzić do zwiększenia efektywności immunoterapii lub zmniejszenia ryzyka przerzutów.

W następnej części badań skupiono się na analizie wpływu naczyń limfatycznych na regulację stanu zapalnego tkanki tłuszczowej otaczającej guz czerniaka. Wpływ naczyń limfatycznych na stan zapalny w tkance tłuszczowej w kontekście rozwijającego się guza nowotworowego był dotychczas pomijany, mimo że niektóre nowotwory, w tym czerniak, rozwijają się w bezpośrednim sąsiedztwie tkanki tłuszczowej, nierzadko ją infiltrując. Obecnie wiadomo, że tkanka tłuszczowa może aktywnie stymulować jego rozwój, zwłaszcza gdy staje się źródłem przewlekłego stanu zapalnego. Badania wykazały, że brak naczyń limfatycznych zmienia środowisko zapalne w tkance tłuszczowej, prowadząc do selektywnej akumulacji makrofagów o fenotypie M2, oznaczonych markerem CD301 (CLEC10A), które tworzą mikrośrodowisko sprzyjające rozwojowi czerniaka B16F10. Ekspresja markerów takich jak *FABP4* i *CLEC10A* w materiale ludzkim może stanowić narzędzie prognostyczne, umożliwiające lepszą ocenę agresywności nowotworu i dostosowanie terapii do indywidualnych potrzeb pacjenta. Ponadto makrofagi oznaczone markerem CD301 (CLEC10A) mogą stanowić potencjalny cel terapeutyczny. Otrzymane wyniki wskazują na modulację funkcji tkanki tłuszczowej jako nowy kierunek terapeutyczny w celu zahamowania wzrostu guza. Jest to szczególnie istotne w kontekście globalnego wzrostu zachorowań na otyłość, która zwiększa ryzyko raka prostaty i żołądka u mężczyzn, raka piersi

(po menopauzie), macicy, szyjki macicy i jajników u kobiet, a także raka przełyku, wątroby, pęcherzyka żółciowego, trzustki, jelita grubego i nerek u obu płci.

Ostatnia część badań poświęcona była analizie roli nowo odkrytych komórek ILC2 w rozwoju czerniaka. Komórki te, mimo że pierwotnie odkryte w tkance tłuszczowej [29], są obecne przede wszystkim w tkankach barierowych, takich jak skóra [32]. Zbadanie interakcji między komórkami nowotworowymi a ILC2 było możliwe dzięki wykorzystaniu modelu 3D w postaci sferoidów. Model ten, dzięki swojej prostocie i elastyczności, może być szeroko stosowany w badaniach nowotworowych, umożliwiając łatwe wprowadzanie dodatkowych modyfikacji eksperymentalnych oraz testowanie nowych terapii. Wykorzystanie tego modelu wykazało, że komórki czerniaka B16F10, poprzez produkcję kwasu mlekowego, hamują proliferację, funkcje efektorowe oraz przeżywalność ILC2 w warunkach *in vitro*. Negatywna rola kwasu mlekowego produkowanego przez komórki nowotworowe *in vivo* została potwierdzona przez zmniejszenie ekspresji genu *LDHA* w komórkach B16F10. Guzy, w których produkcja kwasu mlekowego była zmniejszona, rosły wolniej i charakteryzowały się zwiększoną liczbą ILC2, którym towarzyszyły eozynofile. Efekt ten został spotęgowany przez IL-33, której podanie dodatkowo hamowało wzrost czerniaka, charakteryzującego się bardziej intensywną infiltracją ILC2 oraz eozynofili. Analiza bazy danych TCGA wykazała, że ekspresja genu *IL33* koreluje ze zwiększoną przeżywalnością u pacjentów z czerniakiem. Ekspresja tego genu koreluje również z markerami charakterystycznymi dla ILC2, w odróżnieniu od genu kodującego kwas mlekowy, *LDHA*. Zwiększona przeżywalność u pacjentów z czerniakiem została także skorelowana z ekspresją markera eozynofilii *SIGLEC8*, co może sugerować o ich przeciwnowotworowej roli. Możliwość wzmocnienia przeciwnowotworowej roli ILC2 poprzez ich aktywację lub modyfikację mikrośrodowiska na takie, które w mniejszym stopniu hamuje ich aktywność (m.in. poprzez zmiany metaboliczne, takie jak zahamowanie produkcji kwasu mlekowego), rodzi nadzieję na opracowanie efektywnych terapii przeciwnowotworowych.

Podsumowując, badania opisane w cyklu powiązanych tematycznie artykułów pogłębiają naszą wiedzę w zakresie interakcji zachodzących w mikrośrodowisku czerniaka. Zrozumienie roli naczyń limfatycznych w guzie nowotworowym, ich wpływu na otaczającą tkankę tłuszczową oraz roli ILC2 otwiera perspektywy dla terapii ukierunkowanych na mikrośrodowisko nowotworowe.

4.5. Dalsze plany badawcze.

Odkrycie, że ILC2 mogą odgrywać istotną rolę przeciwnowotworową, rzuca nowe światło na dotychczasowe postrzeganie odporności typu 2, w której ILC2 są zaangażowane, w kontekście rozwoju nowotworów. Do tej pory odporność typu 2 była głównie kojarzona ze wspieraniem progresji nowotworów. Przeciwnowotworowy potencjał odporności typu 2, który był w dużej mierze pomijany lub po prostu ignorowany, wymaga jednak dalszych badań, w których zamierzam aktywnie uczestniczyć.

Pierwotną rolą ILC2 jest ochrona przed pasożytami wnikającymi do organizmu i powodującymi w nim spustoszenie. Jednakże komórki nowotworowe rozprzestrzeniają się i wyniszczają organizm podobnie jak pasożyty. Analiza dostępnej literatury naukowej, uzupełniona wynikami naszych badań, pozwoliła mi wysunąć hipotezę, że ILC2 z ewolucyjnego punktu widzenia mogły przystosować się do obrony przed komórkami nowotworami. Lepsze zrozumienie mechanizmów przeciwnowotworowej aktywności ILC2 może stanowić podstawę do opracowania innowacyjnych strategii terapeutycznych.

W swojej dalszej pracy, prowadzonej obecnie w Sieci Badawczej Łukasiewicz – PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii we Wrocławiu, realizuję projekt badawczy finansowany przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu Sonata Bis 12. Jego celem jest analiza mechanizmów przeciwnowotworowej aktywności ILC2, ze szczególnym uwzględnieniem ich interakcji z innymi komórkami obecnymi w mikrośrodowisku czerniaka.

Równie istotnym aspektem moich badań jest identyfikacja nowych aktywatorów i inhibitorów ILC2. Wzmocnienie przeciwnowotworowej odpowiedzi ILC2 lub zahamowanie ich działań sprzyjających rozwojowi nowotworu mogłoby umożliwić skuteczniejsze wykorzystanie tych komórek w terapii nie tylko czerniaka, ale także innych nowotworów, w tym raka piersi, w którym ILC2 wykazują właściwości wspierające progresję choroby.

Identyfikacja czynników aktywujących oraz hamujących ILC2 jest ściśle związana z ich heterogennością. ILC2 wykazują znaczną różnorodność pod względem ekspresji markerów powierzchniowych; na przykład ILC2 obecne w płucach charakteryzują się ekspresją receptora chemokiny C-C typu 4 (CCR4), podczas gdy ILC2 w jelitach wykazują ekspresję receptora C-C typu 2 (CCR2) [33, 34]. Zidentyfikowanie specyficznych podtypów ILC2 oraz analiza ich zdolności do migracji i osiedlania się w określonych tkankach, a także określenie roli, jaką odgrywają w procesie chorobotwórczym, może przyczynić się do opracowania precyzyjniejszych narzędzi diagnostycznych i bardziej skutecznych strategii terapeutycznych.

Bazując na wynikach badań przedklinicznych, chciałbym przeanalizować obecność specyficznych podtypów ILC2 w różnych rodzajach nowotworów u ludzi, koncentrując się

szczególnie na nowotworach skóry na różnych etapach ich rozwoju – od łagodnych zmian barwnikowych po formę przerzutową czerniaka. Głównym celem moich badań jest skorelowanie obecności tych komórek ze stadium rozwoju choroby, co pozwoli na lepsze zrozumienie ich potencjalnej roli w progresji nowotworu. Wśród dostępnych narzędzi diagnostycznych zamierzam zastosować w szczególności techniki immunofluorescencyjnej mikroskopii wieloparametrycznej, które umożliwią jednoczesną analizę wielu markerów w jednej próbce tkankowej, pozwalając na szczegółową ocenę fenotypu i lokalizacji ILC2 w kontekście mikrośrodowiska nowotworowego. Wśród strategii terapeutycznych jedną z najbardziej obiecujących metod jest adoptywny transfer komórek. Polega on na izolacji ILC2 z odpowiednich tkanek pacjenta, ich stymulacji *ex vivo* za pomocą specyficznych aktywatorów, a następnie ponownym podaniu w celu modulacji odpowiedzi immunologicznej. Stworzenie w pełni skutecznej strategii terapeutycznej z wykorzystaniem ILC2 wymaga jednak odpowiedzi na przedstawione powyżej pytania.

4.6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.

Prace przed uzyskaniem tytułu doktora.

Moje zainteresowanie badaniami nad chorobami nowotworowymi rozpoczęło się w trakcie studiów licencjackich na kierunku biotechnologia na Uniwersytecie Śląskim w Katowicach. Zainteresowanie to zaowocowało powstaniem pracy licencjackiej zatytułowanej „Wykorzystanie bakterii w leczeniu chorób nowotworowych”, której realizacja miała miejsce w Katedrze Mikrobiologii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach pod opieką prof. Zofii Piotrowskiej-Seget. Podczas studiów licencjackich odbywałem również wolontariat w Zakładzie Biologii Molekularnej kierowanym przez prof. Stanisława Szalę w Instytucie Onkologii w Gliwicach. Zainteresowania naukowe prof. Szali koncentrowały się wówczas na badaniach nad naczyniami krwionośnymi w guzach nowotworowych, co pozwoliło mi poznać ich rolę oraz możliwości modulacji w terapii czerniaka. Wyniki tej współpracy zaowocowały publikacją, której jestem współautorem, wykazującą, że połączenie przeciwanngiogennej wazostatyny z cyklofosfamidem w określonych schematach dawkowania optymalizuje zahamowanie wzrostu czerniaka B16F10 poprzez normalizację naczyń krwionośnych, co prowadzi do poprawy dotlenienia guza oraz struktury sieci naczyniowej, stanowiąc strategię poprawy skuteczności chemioterapii.

Praca oryginalna:

- Cichon T, Jarosz M, Smolaczyk R, Ogorek B, Matuszczak S, **Wagner M**, Mitrus I, Sochanik A, Jazowiecka-Rakus J, Szala S. Vasostatin increases oxygenation of B16-F10 melanoma tumors and raises therapeutic efficacy of cyclophosphamide. *Acta Biochim Pol.* 2012; 59(3):377-81.

Wolontariat w Instytucie Onkologii umożliwił mi również realizację pracy magisterskiej pt. „*Wpływ inhibitora cytokiny HMGB1 – glicyryzyny na wzrost czerniaka B16F10 u myszy*” w tym samym zakładzie, którą obroniłem w 2009 roku na Uniwersytecie Śląskim z wynikiem celującym. W swojej pracy skupiłem się na analizie roli glicyryzyny – inhibitora białka o dużej ruchliwości elektroforetycznej (High Mobility Group Box 1, HMGB1) – w terapii czerniaka. HMGB1 to wysoko konserwatywne białko jądrowe, które w przestrzeni zewnątrzkomórkowej pełni rolę alarminy, wywołując stan zapalny, w tym indukcję angiogenezy. Wyniki mojej pracy wykazały, że glicyryzyna poprawia skuteczność terapii CAMEL, peptydu indukującego nekrotyczną śmierć komórkową. Glicyryzyna hamuje formowanie naczyń krwionośnych oraz zmniejsza stan zapalny wywołany przez obecność HMGB1 w środowisku zewnątrzkomórkowym, co prowadzi do zahamowania wzrostu czerniaka B16F10 u myszy. Stosowanie glicyryzyny może zatem poprawić efektywność terapii przeciwnowotworowej, zwłaszcza w przypadku leków indukujących śmierć komórkową typu nekrozy.

W trakcie studiów magisterskich odbyłem również trzymiesięczne wakacyjne praktyki studenckie w Zakładzie Biologii Molekularnej, kierowanym przez prof. Ericha Gulbinsa na Uniwersytecie Duisburg-Essen w Niemczech. Praktyki te zakończyły się publikacją artykułu naukowego, którego jestem współautorem, opisującego mechanizm, dzięki któremu przeciwnowotworowy lek gemcytabina indukuje śmierć komórek glejaka poprzez aktywację kwaśnej sfingomielinazy, prowadzącą do akumulacji ceramidu w lizosomach i indukcji śmierci komórkowej.

Praca oryginalna:

- Dumitru CA, Sandalcioğlu IE, **Wagner M**, Weller M, Gulbins E. Lysosomal ceramide mediates gemcitabine-induced death of glioma cells. *J Mol Med (Berl).* 2009 Nov;87(11):1123-32. doi: 10.1007/s00109-009-0514-8.

Zdobyte wówczas doświadczenie pozwoliło mi na rozpoczęcie studiów doktoranckich na Wydziale Medycznym Instytutu Biomedycyny Uniwersytetu w Bergen w Grupie Badań Translacyjnych nad Rakiem, kierowanej przez prof. Rolfa Bjerkviga, którego zainteresowania naukowe ponadto koncentrowały się na badaniach nad naczyniami krwionośnymi w guzach nowotworowych, czego przykładem jest praca przeglądowa na ten temat, której jestem współautorem.

Praca przeglądowa:

- Johannessen TC, **Wagner M**, Straume O, Bjerkvig M, Eikesdal HP. Tumor vasculature: the Achilles heel of cancer? *Expert Opin Ther Targets*. 2013 Jan;17(1):7-20. doi: 10.1517/14728222.2013.730522.

W trakcie studiów doktoranckich miałem również możliwość pracy naukowej na Uniwersytecie Harvarda w Bostonie, USA. Jako członek Programu Badań nad Biologią Naczyń w Szpitalu Dziecięcym oraz Wyższej Szkole Medycznej Uniwersytetu Harvarda (The Vascular Biology Program, Boston Children's Hospital and Harvard Medical School) w laboratorium kierowanym przez prof. Michaela Klagsbruna oraz pod opieką dr. Andrew Dudleya, miałem okazję zgłębić wiedzę i ekspertyzę na temat roli naczyń krwionośnych w nowotworzeniu, co ukierunkowało tematykę badawczą mojego doktoratu. Warto nadmienić, że Program Badań nad Biologią Naczyń został założony przez zmarłego prof. Judaha Folkmana, twórcę dziedziny badań nad angiogenezą. W trakcie pobytu badawczego w USA szczególnie zainteresowała mnie rola tkanki tłuszczowej w nowotworzeniu. W tamtym okresie tkanka tłuszczowa była pomijana w badaniach nad wzrostem i rozwojem guzów, mimo że wiele guzów rozwija się w jej bliskim sąsiedztwie lub przerzutuje do węzłów chłonnych, często osadzonych w tkance tłuszczowej. W pionierskich, jak na owe czasy, badaniach, które kontynuowałem w Norwegii, wykazałem, że rozwijający się w tkance tłuszczowej guz indukuje w niej stan zapalny. Tkanka tłuszczowa była źródłem makrofagów, których rekrutacja była indukowana zarówno przez aktywną, jak i pasywną sekrecję kwasów tłuszczowych poprzez komórki tłuszczowe. Makrofagi obecne w tkance tłuszczowej w pobliżu guza wykazywały fenotyp podobny do makrofagów związanych z nowotworem oraz przyczyniały się do stymulacji angiogenezy, a w konsekwencji do wzrostu czerniaka B16F10. Otrzymane wyniki wskazują, że modulacja rekrutacji lub polaryzacja makrofagów może spowolnić progresję nowotworów rozwijających się w tkance tłuszczowej. Rezultaty

moich badań zaowocowały dwiema oryginalnymi oraz jedną przeglądową pracą, których jestem pierwszym autorem.

Prace oryginalne:

- **Wagner M**, Bjerkvig R, Wiig H, Melero-Martin JM, Ruei-Zeng L, Klagsbrun M, Dudley AC. Inflamed tumor-associated adipose tissue is a depot for macrophages that stimulate tumor growth and angiogenesis. *Angiogenesis*. 2012 Sep;15(3):481-95. doi: 10.1007/s10456-012-9276-y.
- **Wagner M**, Bjerkvig R, Wiig H, Dudley AC. Loss of adipocyte specification and necrosis augment tumor-associated inflammation. *Adipocyte*. 2013 Jul 1;2(3):176-83. doi: 10.4161/adip.24472.

Praca przeglądowa:

- **Wagner M**, Dudley AC. A three-party alliance in solid tumors: Adipocytes, macrophages and vascular endothelial cells. *Adipocyte*. 2013 Apr 1;2(2):67-73. doi: 10.4161/adip.23016.

W trakcie studiów doktoranckich zainteresowałem się również biologią naczyń limfatycznych, których rozwój i funkcjonowanie jest ściśle związany z naczyniami krwionośnymi. Tę możliwość stworzyła współpraca z prof. Helge Wiigiem, kierownikiem Grupy Badań nad Układem Sercowo-Naczyniowym na Wydziale Medycznym Instytutu Biomedycyny Uniwersytetu w Bergen. Współpraca ta, mająca wpływ na rozwój mojej dalszej kariery, zaowocowała publikacją naukową, której jestem współautorem, opisującą, że w modelu myszy transgenicznym K14-VEGFR3-Ig z pierwotnym obrzękiem limfatycznym, brak limfatycznych naczyń skórnych, powstały na skutek zahamowania sygnalizacji VEGFR-3 w skórze, doprowadził do zmniejszenia odpływu płynu tkankowego i zwiększenia ciśnienia śródmiąższowego w obszarach obrzęku, ale nie wywołał zwłóknienia ani zapalenia. Pomimo wysokiej koncentracji białka w przestrzeni śródmiąższowej, przewlekły obrzęk nie był wystarczający do wywołania charakterystycznych zmian zapalnych, co może wpłynąć na zrozumienie patofizjologii obrzęku limfatycznego. Mój wkład w projekt obejmował analizę komórek układu odpornościowego z wykorzystaniem immunohistochemii oraz cytometrii przepływowej.

Praca oryginalna:

- Markhus CE, Karlsen TV, **Wagner M**, Svendsen OS, Tenstad O, Alitalo K, Wiig H. Increased interstitial protein because of impaired lymph drainage does not induce fibrosis and inflammation in lymphedema. *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol.* 2013 Feb;33(2):266-74. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300384.

Prace po uzyskaniu tytułu doktora.

W 2014 roku, po zakończeniu badań do rozprawy doktorskiej, dołączyłem do Grupy Badań nad Układem Sercowo-Naczyniowym kierowanej przez prof. Helge Wiiga, gdzie kontynuowałem pracę badawczą nad naczyniami limfatycznymi.

Moje badania nad naczyniami limfatycznymi skupiały się przede wszystkim na ich roli w rozwoju czerniaka, a uzyskane rezultaty uwzględniłem w swoich osiągnięciach habilitacyjnych (**Publikacja 1 i 2**).

Pierwszy poboczny nurt tematyczny moich badań, stanowiący **dodatkowe osiągnięcie naukowe**, skupia się na naczyniach limfatycznych w mysim modelu raka piersi (C3HBA) oraz mięsaka (KHT-1), a także na limfie w szczurzym modelu ostrej białaczki szpikowej (acute myeloid leukemia, AML). W pierwszym z badań komórki C3HBA i KHT-1 podano myszom *Chy* z mutacją inaktywującą receptor VEGFR-3, co powodowało zaburzenia limfangiogenezy w skórze. Wyniki wykazały, że ograniczona liczba naczyń limfatycznych i osłabiony odpływ limfy w mysim modelu *Chy* przyspieszały wzrost guza w obu typach nowotworów. Zaobserwowano także zwiększony udział makrofagów o fenotypie M2, co skutkowało przesunięciem równowagi w kierunku immunosupresji i osłabienia indukcji przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. Jednocześnie w nowotworach C3HBA zaobserwowano znacznie podwyższony poziom IL-6 w płynie śródmiąższowym guza. Terapia z zastosowaniem przeciwciała anti-IL-6R (tocilizumab) skutecznie hamowała wzrost raka piersi, co podkreśla potencjalne znaczenie celowanej terapii IL-6 w leczeniu nowotworów rozwijających się w warunkach zaburzonej limfangiogenezy. Rola analizy płynu śródmiąższowego guza została szczegółowo opisana przeze mnie w publikacji przeglądowej przedstawionej poniżej, natomiast wyniki powyższych badań zostały opublikowane w oryginalnej publikacji naukowej, której jestem współautorem. Mój wkład w projekt obejmował analizę cytokin pro- i przeciwzapalnych z wykorzystaniem techniki Western blot

oraz analizę komórek układu odpornościowego i naczyń z wykorzystaniem immunohistochemii.

Praca przeglądowa:

- **Wagner M**, Wiig H. Tumor interstitial fluid formation, characterization and clinical implications. *Front Oncol.* 2015 May 26;5:115. doi: 10.3389/fonc.2015.00115.

Praca oryginalna:

- Steinskog ES, Sagstad SJ, **Wagner M**, Karlsen TV, Yang N, Markhus CE, Yndestad S, Wiig H, Eikesdal HP. Impaired lymphatic function accelerates cancer growth. *Oncotarget.* 2016 Jul 19;7(29):45789-45802. doi: 10.18632/oncotarget.9953.

Wykorzystując swoje doświadczenie w cytometrii przepływowej, brałem również udział w analizie limfy odpływającej ze śledziony oraz wątroby, z wykorzystaniem szczurzego modelu ostrej białaczki szpikowej. Wyniki tego projektu, opisane w publikacji naukowej, której jestem współautorem, wykazały zmiany w sygnalizacji STAT3 i CREB oraz różnice w profilach białek w limfie i osoczu między AML a grupą kontrolną, co sugeruje, że limfa dostarcza unikalnych informacji o odpowiedzi immunologicznej w narządach infiltrowanych przez białaczkę.

Praca oryginalna:

- Steinskog ESS, Finne K, **Wagner M**, Enger M, Helgeland L, Iversen PO, McCormack E, Wiig H, Tenstad O. Isolation of lymph shows dysregulation of STAT3 and CREB pathways in the spleen and liver during leukemia development in a rat model. *Microcirculation.* 2023 Apr;30(2-3):e12800. doi: 10.1111/micc.12800. Correction. 2024 Feb;31(2):e12850. doi: 10.1111/micc.12850.

Pierwszy poboczny nurt tematyczny obejmuje również wyniki badań przeprowadzonych we współpracy z firmą farmaceutyczną ROCHE w ramach projektu, którego celem była analiza farmakokinetyki dwóch bispecyficznych przeciwciał T (TCB) o różnych powinowactwach do celu nowotworowego w osoczu oraz w płynie śródmiąższowym guza ludzkiego raka żołądka MKN45, a także ocena uwalniania cytokin

w modelu myszy humanizowanej. Mój wkład w projekt obejmował podawanie przeciwciał oraz analizę kinetyki wzrostu guza, a wyniki zostały opublikowane w artykule naukowym którego jestem współautorem.

Praca oryginalna:

- Eigenmann MJ, Karlsen TV, **Wagner M**, Tenstad O, Weinzierl T, Fauti T, Grimm HP, Skogstrand T, Klein C, Sam J, Umana P, Bacac M, Wiig H, Walz AC. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of T-cell bispecifics in the tumour interstitial fluid. *Pharmaceutics*. 2021 Dec 7;13(12):2105. doi: 10.3390/pharmaceutics13122105.

Drugi poboczny nurt tematyczny moich badań, stanowiący **dodatkowe osiągnięcie naukowe** obejmuje badania nad funkcją naczyń limfatycznych w kontekście homeostazy płynu tkankowego oraz procesach regeneracyjnych. W pierwszym z badań wykorzystano model transgenicznym myszy K14-VEGF-C, charakteryzujących się nadmierną ekspresją VEGF-C w skórze, co skutkuje zwiększoną powierzchnią naczyń limfatycznych. Wykazano, że powiększona sieć naczyń limfatycznych ułatwia formowanie limfy i zwiększa produkcję chemokiny CCL21, która działa na receptor CCR7 znajdujący się na powierzchni komórek dendrytycznych, umożliwiając ich migrację w stronę drenujących węzłów chłonnych. Nie zaobserwowano jednak wzmożonej migracji komórek dendrytycznych do drenujących węzłów chłonnych w następstwie miejscowego stanu zapalnego skóry indukowanego izotiocyjanianem fluoresceiny. Mój wkład w projekt obejmował immunofluorescencyjne barwienie i analizę naczyń w próbkach skóry (ang. *whole-mount staining*) oraz cytometrię przepływową węzłów chłonnych. Wyniki badań zostały opublikowane w publikacji naukowej, której jestem współautorem.

Praca oryginalna:

- Karlsen TV, Reikvam T, Tofteberg A, Nikpey E, Skogstrand T, **Wagner M**, Tenstad O, Wiig H. Lymphangiogenesis facilitates initial lymph formation and enhances the dendritic cell mobilizing chemokine CCL21 without affecting migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017 Nov;37(11):2128-2135. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309883.

Opierając się na doświadczeniu zdobytym w pracy z myszami transgenicznymi K14-VEGFR3-Ig oraz K14-VEGF-C nawiązałem również współpracę z prof. Ellen Berggreen z Uniwersytetu w Bergen w ramach projektu, którego celem było zbadanie roli naczyń limfatycznych w gojeniu ran po ekstrakcji zębów. W badaniu, którego wyniki zostały opublikowane w publikacji naukowej, której jestem współautorem, wykazano, że u myszy K14-VEGFR3-Ig opóźnione były epitelizacja i regeneracja kości, co było związane z obniżonym poziomem naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor, EGF) oraz przewlekłym stanem zapalnym. Nadmiernie rozbudowane naczynia limfatyczne w myszach K14-VEGF-C nie przyspieszyły procesu gojenia. Wyniki sugerują, że początkowe naczynia limfatyczne w błonie śluzowej odgrywają kluczową rolę we wczesnym etapie gojenia ran jamy ustnej. Mój wkład w projekt obejmował analizę zębów oraz dziąseł pod kątem profilu cytokinowego z wykorzystaniem techniki Western blot.

Praca oryginalna:

- Virtej A, Marti L, **Wagner M**, Wiig H, Xue Y, Bletsa A, Berggreen E. Contribution of initial lymphatics to oral wound healing after tooth extraction. *Eur J Oral Sci.* 2024 Aug;132(4):e13006. doi: 10.1111/eos.13006.

Po uzyskaniu tytułu doktora współpracowałem również z prof. Hrvojem Mileticem oraz prof. Hansem Hermanem Gerdesem z Uniwersytetu w Bergen nad analizą interakcji między komórkami nowotworowymi a komórkami zrębu guza w warunkach *in vitro* i *in vivo* co stanowi **trzeci poboczny nurt tematyczny** moich badań oraz **dotychczasowe osiągnięcie naukowe**. Współpraca z prof. Mileticem obejmowała badania nad hodowlą ksenograftów ludzkiego glejaka w tradycyjnych dwuwymiarowych kulturach oraz sferoidach, a także optymalizację warunków hodowli w celu zahamowania propagacji komórek zrębowych na rzecz komórek nowotworowych. Natomiast współpraca z prof. Gerdesem koncentrowała się na analizie transferu organelli i białek między komórkami oraz roli tunelujących nanorurek (tunneling nanotubes, TNT) w tym procesie. TNT to struktury błonowe umożliwiające wymianę organelli i białek, takich jak receptor dla transferyny (Tf) skoniugowany z białkiem fluorescencyjnym mCherry (Tf-RmCherry), między komórkami nowotworowymi a zrębowymi. W badaniach *in vitro* wykazano, że proces ten zachodzi w sposób zależny od bezpośredniego kontaktu komórkowego z udziałem białka Rab8. W modelu ksenograftu raka piersi *in vivo* potwierdzono wymianę białek między komórkami nowotworowymi

a zrębowymi, co podkreśla złożoność komunikacji w mikrośrodkowisku guza. Mój wkład w oba projekty obejmował pracę z modelem mysim oraz analizę immunohistochemiczną i immunofluorescencyjną uzyskanych materiałów. Wyniki tych badań zostały opublikowane w publikacjach naukowych, których jestem współautorem.

Prace oryginalne:

- Talasila KM, Brekka N, Mangseth K, Stieber D, Evensen L, Rosland GV, Torsvik A, **Wagner M**, Niclou SP, Mahesparan R, Vintermyr OK, Bjerkvig, Nigro JM, Miletic H. Tumor versus stromal cells in culture-survival of the fittest? *PloS One*. 2013 Dec 2;8(12):e81183. doi: 10.1371/journal.pone.0081183.
- Burtay A, **Wagner M**, Hodneland E, Skaftnesmo KO, Scholermann J, Mondragon IR, Espedal H, Golebiewska A, Niclou S, Bjerkvig R, Kogel T, Gerdes HH. Intercellular transfer of transferrin receptor by a contact-, Rab8-dependent mechanism involving tunneling nanotubes. *FASEB J*. 2015 Nov;29(11):4695-712. doi: 10.1096/fj.14-268615.

Moje zainteresowanie rolą tkanki tłuszczowej w rozwoju chorób nowotworowych nie osłabło po uzyskaniu tytułu doktora, czego dowodem jest praca oryginalna badająca wpływ naczyń limfatycznych na mikrośrodkowisko zapalne w tkance tłuszczowej otaczającej guzy (**Publikacja 2**), uwzględniona w moich osiągnięciach habilitacyjnych. Chroniczny stan zapalny, charakteryzuje również tkankę tłuszczową w otyłości, co jest związane z nasilonym nagromadzeniem prozapalnych makrofagów o fenotypie M1.

W dwóch pracach przeglądowych, stanowiących **czwarty poboczny nurt tematyczny** moich badań oraz **dodatkowe osiągnięcie naukowe** wskazałem, że zwiększona liczba makrofagów o fenotypie M1 oraz produkowane przez nie czynniki zapalne, takie jak reaktywne formy azotu, mogą tworzyć środowisko mutagenne. Taki mechanizm potencjalnie zwiększa ryzyko rozwoju nowotworów oraz wpływa na wyższą śmiertelność z ich powodu. Otyłość jest znanym czynnikiem ryzyka, związanym ze zwiększoną śmiertelnością z powodu raka prostaty i żołądka u mężczyzn, raka piersi (po menopauzie), macicy, szyjki macicy i jajników u kobiet, a także raka przełyku, wątroby, pęcherzyka żółciowego, trzustki, jelita grubego i nerek u obu płci.

Prace przeglądowe:

- **Wagner M***. A dangerous duo in adipose tissue: High-mobility group box 1 protein and macrophages. *Yale J Biol Med*. 2014 Jun 6;87(2):127-33.

**Corresponding author*

- **Wagner M***, Steinskog ES, Wiig H. Adipose tissue macrophages: the inflammatory link between obesity and cancer? *Expert Opin Ther Targets*. 2015 Apr;19(4):527-38. doi: 10.1517/14728222.2014.991311.

**Corresponding author*

W 2010 roku prof. Shigeo Koyasu wraz ze współpracownikami z RIKEN Instytutu Badań Fizycznych i Chemicznych w Jokohamie, Japonia, odkrył w tkance tłuszczowej wrodzone komórki limfoidalne grupy 2 (ILC2), początkowo określane jako naturalne komórki pomocnicze (NH, natural helper cells) [29, 35]. Podczas mojego postdoca oraz późniejszej pracy na stanowisku starszego naukowca na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii, z racji wcześniejszego zainteresowania tkanką tłuszczową, postanowiłem zagłębić się w analizę roli ILC2 w rozwoju czerniaka. Obecnie wiadomo, że ILC2 występują także w tkankach barierowych, takich jak skóra, co ukierunkowało moją dalszą ścieżkę kariery naukowej aż do dnia dzisiejszego. Możliwość realizacji tego projektu stworzyła współpraca z prof. Koyasu, w którego laboratorium miałem okazję pracować w latach 2016–2017 w ramach postdoca oraz 2017–2022 jako starszy naukowiec, w ramach projektu finansowanego przez grant FRIPRO Mobility Grant ufundowany przez Norweską Radę Naukową (The Research Council of Norway).

Wyniki badań zostały uwzględnione w moich osiągnięciach habilitacyjnych (**Publikacje 3, 4, 5 i 6**). Nie włączyłem do nich jednak dodatkowych publikacji przeglądowych, które koncentrowały się na plastyczności ILC oraz roli ILC w nowotworach skóry i tkanki tłuszczowej, co zostało ujęte jako **piąty poboczny nurt tematyczny**.

Prace przeglądowe:

- **Wagner M***, Moro K, Koyasu S. Plastic heterogeneity of innate lymphoid cells in cancer. *Trends Cancer*. 2017 May;3(5):326-335. doi: 10.1016/j.trecan.2017.03.008.

**Corresponding author*

- Bald T, **Wagner M**, Gao Y, Koyasu S, Smyth MJ. Hide and seek: Plasticity of innate lymphoid cells in cancer. *Semin Immunol.* 2019 Feb;41:101273. doi: 10.1016/j.smim.2019.04.001.
- **Wagner M***, Koyasu S. Innate lymphoid cells in skin homeostasis and malignancy. *Front Immunol.* 2021 Oct 8;12:758522. doi: 10.3389/fimmu.2021.758522.

**Corresponding author*

- **Wagner M***, Koyasu S. Cancer immunosurveillance by ILC2s. *Trends Cancer.* 2022 Oct;8(10):792-794. doi: 10.1016/j.trecan.2022.06.010.

**Corresponding author*

- Misawa T, **Wagner M**, Koyasu S. ILC2s and Adipose tissue homeostasis: progress to date and the road ahead. *Front Immunol.* 2022 Jun 16;13:876029. doi: 10.3389/fimmu.2022.876029.

W 2023 roku przyjąłem propozycję pracy w PORT Polskim Ośrodku Rozwoju Technologii, będącym częścią Sieci Badawczej Łukasiewicz, na stanowisku Młodsze Lidera Grupy Badawczej Odporności Wrodzonej. W tym samym roku rozpocząłem i nadal realizuję projekt badawczy finansowany przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu Sonata Bis 12, w którym kontynuuję badania nad mechanizmami przeciwnowotworowej aktywności ILC2 w odniesieniu do czerniaka, zapoczątkowane w Japonii. Ponadto monitoruję powiązany tematycznie projekt badawczy finansowany przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu Miniatura 8, przyznany dr Martynie Stachowicz-Suhs, zatrudnionej na stanowisku postdoc w kierowanej przeze mnie grupie.

Praca przeglądowa:

- Marciniak M, **Wagner M***. Innate lymphoid cells and tumor-derived lactic acid: novel contenders in an enduring game. *Front Immunol.* 2023 Oct 5;14:1236301. doi: 10.3389/fimmu.2023.1236301.

**Corresponding author*

W Łukasiewicz-PORT nawiązałem także ścisłą współpracę z dr Heng-Chang Chenem, Młodszym Liderem Grupy Badawczej Wirusologii Ilościowej, z którym prowadzę badania nad rolą odpowiedzi immunologicznej typu 2 w patologii HIV, co można również zaliczyć do kategorii **dalszych badań naukowych**.

Praca oryginalna:

- Wiśniewski J, Wićcek K, Ali H, Pyrc K, Kula-Păcurar A, **Wagner M**, Chen HC. Distinguishable topology of the task-evoked functional genome networks in HIV-1 reservoirs. *iScience*. 2024 Oct 21;27(11):111222. doi: 10.1016/j.isci.2024.111222.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową ~~albo artystyczną~~ realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

5.1. Współprace z ośrodkami krajowymi i zagranicznymi.

Jednotematyczny cykl prac, stanowiący moje osiągnięcie, zrealizowałem we współpracy z następującymi ośrodkami naukowymi:

1. Department of Biomedicine, **University of Bergen**, Bergen, **Norway** (Eli S. Steinskog, Helge Wiig).
2. Department of Clinical Science, **University of Bergen**, Bergen, **Norway** (Hans P. Eikesdal).
3. Department of Oncology, **Haukeland University Hospital**, Bergen, **Norway** (Hans P. Eikesdal).
4. Department of Cell, Developmental and Cancer Biology and Knight Cancer Institute, **Oregon Health and Science University**, Portland, Oregon, **USA** (Amanda W. Lund).
5. Institute of Bioengineering and Swiss Institute of Experimental Cancer Research (ISREC), **Ecole Polytechnique Federale de Lausanne**, Lausanne, **Switzerland** (Amanda W. Lund, Manuel Fankhauser, Maria A. Broggi, Melody A. Swartz).
6. Institute for Molecular Engineering, **University of Chicago**, Chicago, Illinois, **USA** (Melody A. Swartz).

7. Wihuri Research Institute and Translational Cancer Biology Program, Biomedicum Helsinki, **University of Helsinki**, Helsinki, **Finland** (Kari Alitalo).
8. Department of Pathology, **University of Chicago**, Chicago, Illinois, **USA** (Stefani Spranger, Thomas F. Gajewski).
9. Department of Medicine, **University of Chicago**, Chicago, Illinois, **USA** (Thomas F. Gajewski).
10. Laboratory for Immune Cell Systems, **RIKEN**, IMS Center for Integrative Medical Sciences, Yokohama, **Japan** (Shigeo Koyasu).
11. Department of Microbiology and Immunology, **Keio University School of Medicine**, Tokyo, **Japan** (Shigeo Koyasu).
12. Laboratory for Innate Immune Systems, **RIKEN**, IMS Center for Integrative Medical Sciences, Yokohama, **Japan** (Kafi N. Ealey, Hiroe Tetsu, Tsuyoshi Kuniwa, Yasutaka Motomura, Kazuyo Moro).
13. Department of Medical Life Science, Graduate School of Medical Life Science, **Yokohama City University**, Yokohama, **Japan** (Hiroe Tetsu, Kazuyo Moro).
14. Laboratory for Innate Immune Systems, Department of Microbiology and Immunology, **Osaka University Graduate School of Medicine**, Osaka, **Japan** (Yasutaka Motomura, Kazuyo Moro).
15. Laboratory for Innate Immune Systems, Immunology Frontier Research Center (IFReC), **Osaka University Graduate School of Medicine**, Osaka, **Japan** (Kazuyo Moro).
16. **National Institutes for Quantum Science and Technology**, Chiba, **Japan** (Shigeo Koyasu).
17. Department of Immunology, **Nagoya University Graduate School of Medicine**, Nagoya, **Japan** (Hiroyoshi Nishikawa).
18. Division of Cancer Immunology, Research Institute/EPOC, **National Cancer Center**, Tokyo, **Japan** (Hiroyoshi Nishikawa).

Pozostałe prace powstały we współpracy z następującymi ośrodkami naukowymi:

1. Quantitative Virology Research Group, Population Diagnostics Center, **Łukasiewicz Research Network – PORT Polish Center for Technology Development**, Wrocław, **Poland** (Janusz Wiśniewski, Kamil Więcek, Heng-Chang Chen).

2. Molecular Virology Group, Małopolska Centre of Biotechnology, **Jagiellonian University**, Kraków, **Poland** (Haider Ali, Anna Kula-Păcurar).
3. Virogenetics Laboratory of Virology, Małopolska Centre of Biotechnology, **Jagiellonian University**, Kraków, **Poland** (Krzysztof Pyrc).
4. Department of Clinical Dentistry, Faculty of Health Sciences, **The Arctic University of Tromsø**, Tromsø, **Norway** (Anca Virtej, Ying Xue).
5. Department of Oral Surgery, **Haukeland University Hospital**, Bergen, **Norway** (Anca Virtej).
6. Department of Clinical Dentistry, **University of Bergen**, Bergen, **Norway** (Anca Virtej, Ying Xue, Athanasia Bletsa).
7. Oncology and Cellular Immunology, **QIMR Berghofer Medical Research Institute**, Herston, Queensland, **Australia** (Tobias Bald).
8. Immunology in Cancer and Infection, **QIMR Berghofer Medical Research Institute**, Herston, Queensland, **Australia** (Yulong Gao, Mark J. Smyth).
9. School of Medicine, **University of Queensland**, Herston, Queensland, **Australia** (Yulong Gao, Mark J. Smyth).
10. Wihuri Research Institute and Translational Cancer Biology Program, Biomedicum Helsinki, **University of Helsinki**, Helsinki, **Finland** (Kari Alitalo).
11. Department of Biosciences, **University of Oslo**, Oslo, **Norway** (Anne Burtey).
12. Department of Biomedicine, **University of Bergen**, Bergen, **Norway** (Anca Virtej, Larissa Marti, Tore Reikvam, Anne Tofteberg, Elham Nikpey, Trude Skogstrand, Anne Burtey, Kai Ove Skaftnesmo, Julia Schoelermann, Ivan Rios Mondragon, Heidi Espedal, Tanja Kögel, Hans-Hermann Gerdes, Krishna M. Talasila, Narve Brekka, Lasse Evensen, Gro V. Rosland, Carl Erik N. Markhus, Anja Torsvik, Janice M. Nigro, Hrvoje Miletic, Solfrid J Sagstad, Ning Yang, Tine V. Karlsen, Olav Tenstad, Ellen Berggreen, Helge Wiig, Rolf Bjerkvig).
13. NorLux Neuro-Oncology Laboratory, Department of Oncology, **Centre de Recherche Public de la Santé**, Luxembourg, **Luxembourg** (Anna Golebieweska, Daniel Stieber, Simone P. Nicolu, Rolf Bjerkvig).
14. Department of Pathology, **Haukeland University Hospital**, Bergen, **Norway** (Kjersti Mangseth, Olav K. Vintermyr, Hrvoje Miletic).
15. Department of Neurosurgery, **Haukeland University Hospital**, Bergen, **Norway** (Rupavathana Mahesparan).

16. Department of Anesthesia and Intensive Care, **Haukeland University Hospital**, Bergen, **Norway** (Øyvind Sverre Svendsen).
17. Department of Clinical Science, **University of Bergen**, Bergen, **Norway** (Synnøve Yndestad, Hans P. Eikesdal, Oddbjorn Straume, Erlend Hodneland).
18. Department of Oncology, **Haukeland University Hospital**, Bergen, **Norway** (Synnøve Yndestad, Hans P. Eikesdal, Oddbjorn Straume).
19. Center for Translational Research and Molecular Biology of Cancer, **Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology**, Gliwice Branch, Gliwice, **Poland** (Tomasz Cichoń, Magdalena Jarosz, Ryszard Smolarczyk, Barbara Ogórek, Sybilla Matuszczak, Iwona Mitrus, Aleksander Sochanik, Joanna Jazowiecka-Rakus, Stanisław Szala).
20. Department of Cardiac Surgery, Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, **Harvard University**, Boston, MA, **USA** (Ruei-Zeng Lin, Juan M. Melero-Martin).
21. Vascular Biology Program, Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, **Harvard University**, Boston, MA, **USA** (Michael Klagsbrun).
22. Department of Surgery, Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, **Harvard University**, Boston, MA, **USA** (Michael Klagsbrun).
23. Department of Cell and Molecular Physiology, Lineberger Comprehensive Cancer Center and McAllister Heart Institute, **University of North Carolina at Chapel Hill**, Chapel Hill, NC, **USA** (Andrew Dudley).
24. Department of Molecular Biology, **University of Duisburg-Essen**, Essen, **Germany** (Claudia A. Dumitru, E. Gulbins).
25. Department of Neurosurgery, **University of Duisburg-Essen**, Essen, **Germany** (Ibrahim E. Sandalcioglu).
26. Department of Neurology, **University Hospital Zurich**, Zurich, **Switzerland** (Michael Weller).

W latach 2018–2021, podczas mojego zatrudnienia na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii, współpracowałem z ROCHE Innovation Center w Szwajcarii w projekcie, którego celem była analiza farmakokinetyki i farmakodynamiki bispecyficznych przeciwciał w płynie tkankowym guza nowotworowego z wykorzystaniem modelu ludzkiego raka żołądka.

1. Roche Pharma Research and Early Development, **Roche Innovation Center Zurich, Switzerland** (Tina Weinzierl, Tanja Fauti, Christian Klein, Johannes Sam, Pablo Umana, Marina Bacac).
2. Roche Pharma Research and Early Development, **Roche Innovation Center Basel, Switzerland** (Miro J. Eigenmann, Hans P. Grimm, Antje-Christine Walz).

Aktualna współpraca międzynarodowa.

1. Laboratory for Immune Cell Systems, RIKEN, IMS Center for Integrative Medical Sciences, Yokohama, Japan (Takuma Misawa, Shigeo Koyasu).
2. National Institutes for Quantum Science and Technology, Chiba, Japan (Shigeo Koyasu).
3. Laboratory for Innate Immune Systems, RIKEN, IMS Center for Integrative Medical Sciences, Yokohama, Japan (Kazuyo Moro).
4. Laboratory for Innate Immune Systems, Department of Microbiology and Immunology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan (Kazuyo Moro).
5. Laboratory for Innate Immune Systems, Immunology Frontier Research Center (IFReC), Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan (Kazuyo Moro).
6. Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan (Yasutaka Motomura).
7. Institute of Microbiology, Infectious Diseases and Immunology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Germany (Christoph Klose).

Aktualna współpraca krajowa.

1. Zakład Biochemii Lekarskiej, Katedra Biochemii i Immunochemii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (prof. Małgorzata Krzystek-Korpacka).
2. Grupa Badawcza Wirusologii Ilościowej, Centrum Diagnostyki Populacyjnej, Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii, Wrocław, Poland (dr Heng-Chang Chen).

5.2. Staże.

Od momentu rozpoczęcia studiów doktoranckich pracowałem łącznie w czterech niezależnych jednostkach naukowych. W trakcie doktoratu (2010–2013), realizowanego na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii, część badań (07.2010–02.2011) przeprowadziłem na Uniwersytecie Harvarda, a dokładniej w Szpitalu Dziecięcym oraz Wyższej Szkole Medycznej Uniwersytetu Harvarda w Bostonie w USA (Boston Children's Hospital and Harvard Medical School), w laboratorium kierowanym przez prof. Michaela Klagsbruna pod opieką dr. Andrew Dudleya. Po obronie doktoratu kontynuowałem pracę na Uniwersytecie w Bergen. W trakcie postdoca w ramach środków własnych Uniwersytetu w Bergen spędziłem ponad rok w RIKEN Instytucie Badań Fizycznych i Chemicznych w Japonii (09.2016–12.2017) w laboratorium kierowanym przez prof. Shigeo Koyasu. Ponownie pracowałem w tym laboratorium od 09.2021 do 12.2022 dzięki finansowaniu przyznanemu przez Norweską Radę Naukową. Od 2023 roku jestem Młodszym Liderem Grupy Badawczej w Sieci Badawczej Łukasiewicz – PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii.

Pobyty w wyżej wymienionych jednostkach naukowych odegrały kluczową rolę w moim rozwoju naukowym, umożliwiając mi znaczące poszerzenie wiedzy oraz zdobycie cennego doświadczenia. W trakcie tych wizyt przeprowadziłem szereg badań, których wyniki były prezentowane na międzynarodowych konferencjach, a także opublikowane w uznanych czasopismach naukowych. Ponadto, uzyskane rezultaty stanowiły solidną podstawę merytoryczną, umożliwiającą mi skuteczne aplikowanie o finansowanie kolejnych projektów badawczych, co pozwoliło na kontynuację i rozwój mojej kariery naukowej.

5.3. Kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach.

Podczas swojej kariery naukowej aktywnie starałem się o pozyskiwanie funduszy na realizację badań, w których brałem czynny udział. Część projektów badawczych została zrealizowana dzięki środkom własnym Uniwersytetu w Bergen, jak również wsparciu finansowemu z instytucji zewnętrznych. Efektem tych działań są liczne publikacje, które stanowią wymierny rezultat mojej pracy badawczej. Poniżej przedstawiam projekty badawcze, w których uczestniczyłem, oraz te, którymi kierowałem.

Przed uzyskaniem tytułu doktora.

2010 – 2013

Stypendium doktoranckie ufundowane przez **Western Norway Regional Health Authority** – 1 000 000 NOK – Kierownik i główny wykonawca projektu: Marek Wagner. Projekt zrealizowany. Publikacje z projektu: 2 prace przeglądowe, 2 prace oryginalne.

2012 – 2013

Grant na prowadzenie badań nad rakiem ufundowany przez **The Meltzer Family Fund** – 45 000 NOK – Kierownik i główny wykonawca projektu: Marek Wagner. Projekt zrealizowany. Publikacje z projektu: 2 prace przeglądowe, 1 praca oryginalna.

Po uzyskaniu tytułu doktora.

2014 – 2016

Grant na prowadzenie badań nad rakiem ufundowany przez **The Rakel og Otto-Kristian Bruun's Fund**, UNIFOR Norwegia (Management Foundation of funds and endowments), „*The inflammatory tumor microenvironment and its impact on tumor growth and progression*”- 600 000 NOK – Kierownik projektu: Helge Wiig, główny wykonawca projektu: Marek Wagner. Projekt zrealizowany. Publikacje z projektu: 1 praca przeglądowa, 2 prace oryginalne.

2016 – 2017

Grant na prowadzenie badań nad rakiem (**Legat for forskning av kreftsykdommer**) ufundowany przez Uniwersytet w Bergen, Norwegia, „*The impact of inflammatory microenvironment on melanoma growth and progression*”- 90 000 NOK – Kierownik i główny wykonawca projektu: Marek Wagner. Projekt zrealizowany. Publikacje z projektu: 1 praca przeglądowa, 1 praca oryginalna.

2019 – 2020

Grant na prowadzenie badań nad rakiem (**Legat for forskning av kreftsykdommer**) ufundowany przez Uniwersytet w Bergen,

Norwegia, „*The impact of tumor metabolism on ILC2-mediated immune responses*”- 80 000 NOK – Kierownik i główny wykonawca projektu: Marek Wagner. Projekt zrealizowany. Publikacje z projektu: 2 prace przeglądowe, 1 praca oryginalna.

2020 – 2023

The Research Council of Norway, FRIPRO Mobility Grant, „*Deciphering the molecular and functional heterogeneity of group 2 innate lymphoid cells in cancer.*” - 3 876 000 NOK – Kierownik i główny wykonawca projektu: Marek Wagner. Projekt zrealizowany. Publikacje z projektu: 4 prace przeglądowe, 1 praca oryginalna.

2022 – 2023

Grant na prowadzenie badań nad rakiem ufundowany przez **Dr med. F. G. Gades Legat**, „*Heterogeneity of group 2 innate lymphoid cells in cancer*” – 40 000 NOK – Kierownik i główny wykonawca projektu: Marek Wagner. Projekt zrealizowany. Publikacje z projektu: 1 praca przeglądowa.

2023 – 2027

Narodowe Centrum Nauki, Sonata Bis 12, „*Dissecting the tumoricidal potential of ILC2s in melanoma*” – 3 954 000 PLN – Kierownik projektu: Marek Wagner. Projekt w toku realizacji. Publikacje z projektu: 1 praca przeglądowa.

5.4. Konferencje, sympozja, zjazdy naukowe.

Podczas mojej dotychczasowej kariery naukowej aktywnie uczestniczyłem w licznych konferencjach, sympozjach oraz zjazdach naukowych poświęconych immunologii i onkologii. Prezentowałem wyniki swoich badań zarówno na wydarzeniach krajowych (6 plakatów, Uniwersytet w Bergen, Norwegia), jak i międzynarodowych – w formie plakatów (4 plakaty) oraz wykładów (3 wykłady). Poniżej przedstawiam zestawienie wydarzeń o zasięgu międzynarodowym, podczas których prezentowałem swoje badania.

Przed uzyskaniem tytułu doktora.

1. Gordon Research Conference. Molecular mechanisms in lymphatic function in health and disease. Ventura, CA, USA (2012). Zasięg międzynarodowy. Plakat naukowy.
2. Keystone Symposia on molecular and cellular biology. Adipose tissue biology. Keystone, CO, USA (2013). Zasięg międzynarodowy. Wykład na zaproszenie i plakat naukowy. Wykład zatytułowany: „*Adipose tissue-derived macrophages, endothelial cells and cancer.*”.

Po uzyskaniu tytułu doktora.

1. *Ad hoc* seminarium, Spanish National Cancer Research Centre (CNIO), Madryt, Hiszpania (2016). Zasięg międzynarodowy. Wykład na zaproszenie. Wykład zatytułowany „*The tumor microenvironment and its contribution to melanoma growth and progression*”.
2. Symposium on Bioscience. Takeda Science Foundation, Tokyo, Japonia (2017). Zasięg międzynarodowy. Plakat naukowy.
3. The World Congress on Cancers of the Skin, Sydney, Australia (2018). Zasięg międzynarodowy. Plakat naukowy.
4. *Ad hoc* seminarium, The Medical University of Vienna, Austria (2020). Zasięg międzynarodowy. Wykład na zaproszenie. Wykład zatytułowany: „*Deciphering the molecular and functional heterogeneity of ILC2s in cancer.*”.

5.5. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych.

Od **2019** roku jestem członkiem:

- *The Norwegian Society for Immunology;*
- *The Scandinavian Society for Immunology;*
- *The European Federation of Immunological Societies (EFIS)*
- *The International Union of Immunology Societies (IUIS).*

Od **2023** roku jestem członkiem:

- *The International Eosinophil Society (IES).*

Od 2025 roku jestem członkiem:

- *Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej (PTIDiK)*

6.0. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Działalność dydaktyczna.

Począwszy od studiów doktoranckich, byłem zatrudniany na stanowiskach badawczych, co ograniczało mój rozwój dydaktyczny głównie do pomocy młodszym naukowcom w pracy laboratoryjnej. Niemniej jednak, w 2021 roku miałem okazję prowadzić wykłady na Wydziale Medycznym Uniwersytetu w Bergen w Norwegii. W ramach kursu „*Tumor Biology*” (BMED331) dla studentów studiów magisterskich (10 ECTS) wygłosiłem dwa wykłady: „*Apoptosis*” oraz „*Invasion and Metastasis*”. Zajęcia były prowadzone w języku angielskim, a kurs kończył się egzaminem, w którego organizacji i przeprowadzaniu aktywnie uczestniczyłem. W 2022 roku, podczas mojego pobytu badawczego w Instytucie RIKEN w Japonii, poprowadziłem seminarium „*Tips for Scientific Writing*” skierowane do studentów studiów magisterskich i doktoranckich. Podczas tego spotkania podzieliłem się praktycznymi wskazówkami dotyczącymi skutecznego pisania publikacji naukowych, omawiając kluczowe aspekty struktury, precyzji językowej oraz skutecznego komunikowania wyników badań.

6.2. Opieka nad młodymi naukowcami.

Od 2014 do 2017 roku pełniłem na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii rolę promotora pomocniczego doktorantki Elham Nikpey. Obrona rozprawy doktorskiej zatytułowanej „*Rola mikrośrodowiska zewnątrzkomórkowego i naczyń limfatycznych w regulacji elektrolitów i ciśnienia krwi*” (“*Role of the extracellular microenvironment and lymphatics in electrolyte and blood pressure regulation*”) odbyła się 22 maja 2017 roku. Ponadto efektem naszej współpracy jest poniższa praca oryginalna.

Praca oryginalna:

- Karlsen TV, Reikvam T, Tofteberg A, **Nikpey E**, Skogstrand T, **Wagner M**, Tenstad O, Wiig H. Lymphangiogenesis Facilitates Initial Lymph Formation and Enhances the Dendritic Cell Mobilizing Chemokine CCL21 Without Affecting Migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017 Nov;37(11):2128-2135. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309883.

W latach 2015 – 2017 pełniłem także rolę promotora pomocniczego doktorantki Eli Sihn Samdal Steinskog na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii. Obrona rozprawy doktorskiej zatytułowanej „*Rola mikrośrodowiska oraz naczyń limfatycznych w rozwoju raka*” (“*Role of the microenvironment and lymphatics in cancer development*”) odbyła się 20 października 2017 roku. Ponadto efektem naszej współpracy są cztery prace oryginalne oraz jedna praca przeglądowa.

Prace oryginalne:

- **Steinskog ESS**, Finne K, **Wagner M**, Enger M, Helgeland L, Iversen PO, McCormack E, Wiig H, Tenstad O. Isolation of lymph shows dysregulation of STAT3 and CREB pathways in the spleen and liver during leukemia development in a rat model. *Microcirculation.* 2023 Apr;30(2-3):e12800. doi: 10.1111/micc.12800. Correction. 2024 Feb;31(2):e12850. doi: 10.1111/micc.12850.
- **Wagner M***, **Steinskog ES**, Wiig H. Blockade of lymphangiogenesis shapes tumor-promoting adipose tissue inflammation. *Am J Pathol.* 2019 Oct;189(10):2102-2114. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.06.010.

*Corresponding author

- Lund AW[#], **Wagner M[#]**, Fankhauser M, **Steinskog ES**, Broggi MA, Spranger S, Gajewski TF, Alitalo K, Eikesdal HP, Wiig H, Swartz MA. Lymphatic vessels regulate immune microenvironments in human and murine melanoma. *J Clin Invest.* 2016 Sep 1;126(9):3389-402. doi: 10.1172/JCI79434.

[#]Contributed equally to this work

- **Steinskog ES**, Sagstad SJ, **Wagner M**, Karlsen TV, Yang N, Markhus CE, Yndestad S, Wiig H, Eikesdal HP. Impaired lymphatic function accelerates cancer growth. *Oncotarget*. 2016 Jul 19;7(29):45789-45802. doi: 10.18632/oncotarget.9953.

Praca przeglądowa:

- **Wagner M***, **Steinskog ES**, Wiig H. Adipose tissue macrophages: the inflammatory link between obesity and cancer? *Expert Opin Ther Targets*. 2015 Apr;19(4):527-38. doi: 10.1517/14728222.2014.991311.

**Corresponding author*

Jako Młodszy Lider Grupy Badawczej Odporności Wrodzonej w Sieci Badawczej Łukasiewicz - PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii od 2023 roku pełnię rolę promotora pomocniczego doktoranta Mateusza Marciniaka. Efektem dotychczasowej współpracy jest poniższa praca przeglądowa.

Praca przeglądowa:

- **Marciniak M**, **Wagner M**. Innate lymphoid cells and tumor-derived lactic acid: novel contenders in an enduring game. *Front Immunol*. 2023 Oct 5;14:1236301. doi: 10.3389/fimmu.2023.1236301.

Ponadto pełnię rolę opiekuna praktyk studenckich dla osób związanych z dolnośląskimi uczelniami. W latach 2023–2024 trzy osoby odbyły praktyki pod moim kierunkiem.

6.3. Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych, recenzje artykułów naukowych i prac dyplomowych.

W latach 2023-2024 byłem członkiem komitetu organizacyjnego oraz naukowego międzynarodowej konferencji **PORT for Health: Oncology**, zorganizowanej we Wrocławiu (19 - 20 wrzesień, 2024). Byłem odpowiedzialny za stworzenie programu oraz harmonogramu sesji poświęconej Biologii Nowotworów (ang. *Cancer Biology*), a także wyszukanie i zaproszenie prelegentów.

W ramach pracy jako recenzenta artykułów naukowych, dotychczas dokonałem recenzji 32 artykułów naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *AJP – Heart and Circulatory Physiology*; *Angiogenesis*; *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology (ATVB)* (3 prace); *Bio-protocol* (3 prace); *Cancers* (4 prace); *Cell Reports*; *Cells* (2 prace); *Cellular Immunology*; *Frontiers in Immunology* (2 prace); *Frontiers in Oncology*; *Frontiers in Cardiovascular Medicine*; *Frontiers in Cell and Developmental Biology*; *Heliyon*; *Immunology*; *International Journal of Molecular Sciences*; *Journal of Clinical Medicine*; *Journal of Endocrinology*; *Journal of Molecular Endocrinology*; *Journal of Functional Foods*; *Molecular and Cellular Endocrinology*; *Molecular Medicine*; *PLOS ONE*; *Scientific Reports*; *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*.

Od 2020 roku pełnię funkcję stałego członka komisji recenzentów czasopisma *Bio-protocol* (ang. *Peer Review Board*).

6.4. Udział w pracach komitetów, komisji, zespołów i programów warunkujący działalność organizacyjną i naukowo-dydaktyczną.

W 2016 roku byłem członkiem komisji oceniającej program badawczy w ramach śródkresowej ewaluacji doktoratu Larsa Andreasa Ystaasa na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii.

W 2019 roku uczestniczyłem w pracach komisji oceniającej wniosek o stanowisko postdoca złożony na Uniwersytecie Insubria we Włoszech. W 2022 roku brałem udział w pracach komisji oceniającej wniosek o dofinansowanie projektu dla młodego badacza w początkowej fazie działalności badawczej na Uniwersytecie we Florencji.

6.5. Działalność ekspercka.

Od 2017 roku pełnię funkcję eksperta zarejestrowanego w Rejestrze Ekspertów Naukowych (*Registro dei Revisori dei Prodotti della Ricerca, REPRISE*), który służy do oceny projektów badawczych oraz świadczenia doradztwa w zakresie rozwoju nauki, ustanowionym przez Włoskie Ministerstwo Uniwersytetów i Badań (*Ministero dell'Università e della Ricerca, MUR*). Uczestniczyłem w ewaluacji wniosków grantowych w ramach następujących programów:

- **PRIN 2017** (*Progetti Di Ricerca Di Rilevante Interesse Nazionale*): projekty badawcze o znaczeniu strategicznym dla kraju: **8 ocenionych wniosków grantowych.**
- **PRIN 2020** (*Progetti Di Ricerca Di Rilevante Interesse Nazionale*): projekty badawcze o znaczeniu strategicznym dla kraju: **6 ocenionych wniosków grantowych.**
- **FISR 2020** (*Fondo Integrativo Speciale Per La Ricerca*): projekty badawcze odpowiadające na wyzwania związane z pandemią SARS-CoV-2 i chorobą COVID-19: **30 ocenionych wniosków grantowych.**
- **RICERCA 2.0. 2022:** konkurs na projekty badawcze obejmujące szeroki zakres obszarów badań biomedycznych: **24 ocenione wnioski grantowe.**
- **ICPerMed Recognition 2023:** konkurs skoncentrowany na wspieraniu implementacji medycyny spersonalizowanej poprzez badania: **3 ocenione wnioski grantowe.**

6.6. Nagrody i wyróżnienia.

W 2015 roku, w uznaniu za wybitne osiągnięcia naukowe oraz po nominacji przez Norweską Akademię Nauki i Literatury, miałem zaszczyt jako jedyny reprezentować Uniwersytet w Bergen na 65. Spotkaniu z Laureatami Nagrody Nobla w Lindau. Jednym z wymiennych efektów uczestnictwa w tym wydarzeniu była możliwość przeprowadzenia wywiadu z prof. Richardem J. Robertsem, który wspólnie z prof. Phillipem Sharpem otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny w 1993 roku „za odkrycie genów podzielonych”. Wywiad o charakterze popularnonaukowym został opublikowany na łamach czasopisma *Science*.

- Roberts RJ, **Wagner M.** Do it for love. *Science*. 2015 Jun 19;348(6241):1394. doi: 10.1126/science.348.6241.1394.

W 2018 roku otrzymałem od Fundacji rodziny Meltzer (**The Meltzer Family Fund**,) grant na pokrycie kosztów podróży na konferencję ”The World Congress on Cancers of the Skin”, która odbyła się w Sydney, Australia.

7.0. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

7.1. Wybrane szkolenia i kursy:

- 2009 Szkolenie teoretyczne z zakresu nauk o zwierzętach laboratoryjnych dla naukowców posiadających kategorię C zgodnie z certyfikacją FELASA, Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norwegia.
- 2021 Szkolenie z zakresu rozwijania umiejętności mentorskich w prowadzeniu rozmów zorientowanych na ucznia (CSE001: *Coaching skills for learner-centered conversations*), Imperial College London, UK.
- 2021 Szkolenie z zakresu zarządzania procesami nauczania i uczenia się (GSE2x: *Leaders of Learning*), Harvard University, USA.
- 2021 Szkolenie z zakresu kształtowania sprawiedliwych praktyk edukacyjnych (0.503x: *Becoming a More Equitable Educator: Mindsets and Practices*), Massachusetts Institute of Technology, USA.
- 2021 Szkolenie z zakresu ćwiczenia przywództwa (LEAD1x: *Exercising leadership: Foundational Principles*), Harvard University, USA.
- 2023 Szkolenie teoretyczne dla osób uczestniczących w wykonywaniu procedur, Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych PolLASA, Warszawa, Polska.
- 2023 Szkolenie teoretyczne dla osób wykonujących procedury i dla osób uśmiercających zwierzęta wykorzystywane lub przeznaczone do wykorzystywania do celów naukowych lub edukacyjnych, Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych PolLASA, Warszawa, Polska.
- 2023 Szkolenie teoretyczne dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń oraz ich przeprowadzanie, Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych PolLASA, Warszawa, Polska.

8.0. Sumaryczne zestawienie całego dorobku naukowego.

Mój dorobek naukowy obejmuje **30 publikacji naukowych**, z czego 7 zostało opublikowanych przed uzyskaniem tytułu doktora, a 23 po jego uzyskaniu. Wśród nich znajduje się 17 oryginalnych publikacji naukowych (w tym 5 pierwszoautorskich oraz 1 ze współdzielonym pierwszym autorstwem) oraz 13 artykułów przeglądowych (9 pierwszoautorskich). Ponadto jestem autorem 1 pracy popularnonaukowej oraz 1 rozdziału w monografii.

Łączny współczynnik IF wszystkich prac (z wyłączeniem pracy popularnonaukowej) w roku publikacji wynosi **201.352**, natomiast na dzień 27.02.2025 wynosi **216.1**.

- IF prac opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora w roku publikacji wynosi **15.591**, natomiast na dzień 27.02.2025 wynosi **34.4**.
- IF prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora w roku publikacji wynosi **185.761**, natomiast na dzień 27.02.2025 wynosi **181.7**.

Łączna liczba punktów MNiSW dla wszystkich prac (z wyłączeniem pracy popularnonaukowej) w roku publikacji wynosi **2130**, natomiast na dzień 27.02.2025 wynosi **3530**.

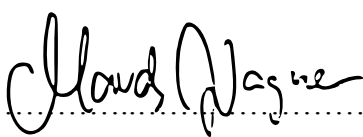
- Punkty MNiSW dla prac opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora w roku publikacji wynoszą **135**, natomiast na dzień 27.02.2025 wynoszą **690**.
- Punkty MNiSW dla prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora w roku publikacji wynoszą **1995**, natomiast na dzień 27.02.2025 wynoszą **2840**.

Liczba cytowań moich prac (z wykluczeniem autocytowań) według bazy *Scopus* na dzień 27.02.2025 wynosi **670**. Indeks Hirscha (z wykluczeniem autocytowań) według bazy *Scopus* na dzień 27.02.2025 wynosi **15**.

9.0. Literatura.

1. <https://onkologia.org.pl>.
2. Davies, H. et al. (2002) Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417 (6892), 949-54.
3. Raskov, H. et al. (2021) Cytotoxic CD8(+) T cells in cancer and cancer immunotherapy. *Br J Cancer* 124 (2), 359-367.
4. Matsushita, H. et al. (2015) Cytotoxic T lymphocytes block tumor growth both by lytic activity and IFN γ -dependent cell-cycle arrest. *Cancer Immunol Res* 3 (1), 26-36.
5. Salmi, S. et al. (2021) The role of FoxP3+ regulatory T cells and IDO+ immune and tumor cells in malignant melanoma - an immunohistochemical study. *BMC Cancer* 21 (1), 641.
6. Colegio, O.R. et al. (2014) Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature* 513 (7519), 559-63.
7. Kythreotou, A. et al. (2018) Pd-L1. *J Clin Pathol* 71 (3), 189-194.
8. Ji, R.R. et al. (2012) An immune-active tumor microenvironment favors clinical response to ipilimumab. *Cancer Immunol Immunother* 61 (7), 1019-31.
9. Gajewski, T.F. et al. (2013) Cancer immunotherapy strategies based on overcoming barriers within the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol* 25 (2), 268-76.
10. Huang, A.C. and Zappasodi, R. (2022) A decade of checkpoint blockade immunotherapy in melanoma: understanding the molecular basis for immune sensitivity and resistance. *Nat Immunol* 23 (5), 660-670.
11. Wu, B. et al. (2024) Cold and hot tumors: from molecular mechanisms to targeted therapy. *Signal Transduct Target Ther* 9 (1), 274.

12. Karaman, S. and Detmar, M. (2014) Mechanisms of lymphatic metastasis. *J Clin Invest* 124 (3), 922-8.
13. Joukov, V. et al. (1996) A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 15 (2), 290-98.
14. Petrova, T.V. and Koh, G.Y. (2020) Biological functions of lymphatic vessels. *Science* 369 (6500).
15. Wiig, H. and Swartz, M.A. (2012) Interstitial fluid and lymph formation and transport: physiological regulation and roles in inflammation and cancer. *Physiol Rev* 92 (3), 1005-60.
16. Aspelund, A. et al. (2015) A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med* 212 (7), 991-9.
17. Louveau, A. et al. (2015) Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 523 (7560), 337-41.
18. Pasquali, S. et al. (2013) Lymphatic biomarkers in primary melanomas as predictors of regional lymph node metastasis and patient outcomes. *Pigment Cell Melanoma Res* 26 (3), 326-37.
19. Bhattacharya, P. and Mukherjee, R. (2021) Lymph node extracapsular extension as a marker of aggressive phenotype: Classification, prognosis and associated molecular biomarkers. *Eur J Surg Oncol* 47 (4), 721-731.
20. Rutkowski, P. et al. (2003) Lymph node status and survival in cutaneous malignant melanoma--sentinel lymph node biopsy impact. *Eur J Surg Oncol* 29 (7), 611-8.
21. Platt, A.M. and Randolph, G.J. (2013) Dendritic cell migration through the lymphatic vasculature to lymph nodes. *Adv Immunol* 120, 51-68.
22. Hos, D. and Cursiefen, C. (2014) Lymphatic vessels in the development of tissue and organ rejection. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 214, 119-41.
23. Huggerberger, R. et al. (2010) Stimulation of lymphangiogenesis via VEGFR-3 inhibits chronic skin inflammation. *J Exp Med* 207 (10), 2255-69.
24. D'Alessio, S. et al. (2014) VEGF-C-dependent stimulation of lymphatic function ameliorates experimental inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 124 (9), 3863-78.
25. Chavakis, T. et al. (2023) Macrophage function in adipose tissue homeostasis and metabolic inflammation. *Nat Immunol* 24 (5), 757-766.
26. Wagner, M. et al. (2012) Inflamed tumor-associated adipose tissue is a depot for macrophages that stimulate tumor growth and angiogenesis. *Angiogenesis* 15 (3), 481-95.
27. Wagner, M. et al. (2013) Loss of adipocyte specification and necrosis augment tumor-associated inflammation. *Adipocyte* 2 (3), 176-83.
28. Wagner, M. and Dudley, A.C. (2013) A three-party alliance in solid tumors: Adipocytes, macrophages and vascular endothelial cells. *Adipocyte* 2 (2), 67-73.
29. Moro, K. et al. (2010) Innate production of T(H)2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit(+)Sca-1(+) lymphoid cells. *Nature* 463 (7280), 540-4.
30. Vivier, E. et al. (2018) Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell* 174 (5), 1054-1066.
31. Jovanovic, I.P. et al. (2014) Interleukin-33/ST2 axis promotes breast cancer growth and metastases by facilitating intratumoral accumulation of immunosuppressive and innate lymphoid cells. *Int J Cancer* 134 (7), 1669-82.
32. Kobayashi, T. and Moro, K. (2022) Tissue-Specific Diversity of Group 2 Innate Lymphoid Cells in the Skin. *Front Immunol* 13, 885642.
33. Ricardo-Gonzalez, R.R. et al. (2018) Tissue signals imprint ILC2 identity with anticipatory function. *Nat Immunol* 19 (10), 1093-1099.
34. Spits, H. and Mjosberg, J. (2022) Heterogeneity of type 2 innate lymphoid cells. *Nat Rev Immunol* 22 (11), 701-712.
35. Spits, H. et al. (2013) Innate lymphoid cells--a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol* 13 (2), 145-9.


.....
(podpis wnioskodawcy)