

Od wielu lat trwają badania nad sposobem zwiększenia reaktywności układu odpornościowego u chorych na nowotwory, z wykorzystaniem różnych typów immunomodulatorów. W tym celu biorą one udział w regulowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej przez cytokiny, a jednym z narzędzi terapeutycznych umożliwiającym wprowadzenie zmian w mikrośrodowisku nowotworu są komórki dendrytyczne (DC, dendritic cells) - powszechnie uznawane za komórki najskuteczniej prezentujące antygeny. DC modyfikowane genami kodującymi cytokiny takie jak interleukina (IL) 12 i IL-18, mogą wspierać aktywację odpowiedzi przeciwnowotworowej. IL-12 bierze udział w indukcji zarówno komórkowej, jak i humoralnej odpowiedzi odpornościowej. Cytokin funkcjonalnie podobną do IL-12 jest IL-18. Synergistyczne działanie tych dwóch cytokin prowadzi do indukcji odpowiedzi odpornościowej typu Th1. Natomiast pod nieobecność IL-12 w środowisku, IL-18 promuje odpowiedź odpornościową typu Th2. Ze względu na duże znaczenie zarówno DC, jak i IL-12 oraz IL-18 w powstawaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej, wydaje się uzasadnione połączenie obu tych elementów i zastosowanie ich w tworzeniu nowych strategii zwalczania nowotworów. W tym celu, wykorzystane zostaną komórki dendrytyczne pochodzenia szpikowego (BMDC, bone marrow-dendritic cells) modyfikowane genetycznie do długotrwałej, jednoczesnej produkcji IL-12 i IL-18 oraz dodatkowo stymulowane antygenami nowotworowymi (TAg, tumor antigens).

Głównym celem projektu jest określenie wpływu zastosowania komórek dendrytycznych pochodzenia szpikowego (BM-DC, bone marrow-derived dendritic cells) modyfikowanych genetycznie do jednoczesnej produkcji interleukiny (IL) 12 i IL-18 oraz stymulowanych antygenami nowotworowymi (TAg, tumor antigens) na powstawanie odpowiedzi przeciwnowotworowej w modelu mysiego raka jelita grubego MC38. Projekt ten obejmuje również opracowanie i charakterystykę fenotypową i funkcjonalną tych komórek (BM-DC/IL-12/IL-18/TAg).

Jednym z głównych planowanych zadań będzie określenie stopnia pobudzenia odpowiedzi komórkowej przez podanie BM-DC modyfikowanych genetycznie do jednoczesnej produkcji IL-12 i IL-18 oraz stymulowanych TAg (BM-DC/IL-12/IL-18/TAg) w porównaniu do efektu niezależnie transdukowanych i podawanych komórek DC (BM-DC/IL-12/TAg, BM-DC/IL-18/TAg). W badaniach wykonywanych w ramach niniejszego projektu zastosowane będą wektory lentiwirusowe skonstruowane na bazie systemu III generacji.

Punktem wyjścia podczas realizacji I etapu badań będzie skonstruowanie wektora ekspresyjnego niesącego sekwencję kodującą geny IL12 i IL18 oraz opracowanie nowych genetycznych modyfikacji DC do jednoczesnej produkcji IL-12 i IL-18. Następnie, transduktanty DC zostaną poddane stymulacji antygenami nowotworowymi (TAg). Tak zmodyfikowane DC oceniane będą pod względem fenotypowym i funkcjonalnym. W drugim etapie badań, w pełni scharakteryzowane komórki BM-DC/IL-12/IL-18/TAg zostaną wykorzystane jako składnik szczepionek komórkowych w terapii przeciwnowotworowej w modelu mysiego raka jelita grubego MC38. Oceniany będzie wpływ zastosowania opracowanych komórek szczepionkowych BM-DC/IL-12/IL-18/TAg na wzrost guzów oraz pobudzenie odpowiedzi odpornościowej przeciwko podskórnie rosnącemu nowotworowi MC38 w porównaniu do komórek transdukowanych niezależnie (BM-DC/IL-12/TAg, BM-DC/IL-18/TAg). Od myszy nieleczonych i poddanych immunoterapii, pobrane zostaną narządy limfoidalne i tkanka nowotworowa do dalszych analiz. Określona zostanie zdolność komórek szczepionkowych do migracji oraz zmiany zachodząca w tkance nowotworowej i aktywność komórek ledzionowych pod wpływem zastosowanego traktowania.

Poznanie zjawisk związanych z interakcją komórek nowotworowych i komórek układu odpornościowego, pozwala również na ocenę udziału komórek odpornościowych w zwalczaniu nowotworu. W powstawaniu skutecznej odpowiedzi przeciwnowotworowej najważniejszą rolę odgrywają DC, limfocyty T pomocnicze (CD4<sup>+</sup>), limfocyty T cytotoksyczne (CD8<sup>+</sup>) i naturalne komórki cytotoksyczne (NK). Natomiast, w zwiększeniu aktywności tych komórek uczestniczy szereg cytokin, w tym IL-12 i IL-18. Jednym ze sposobów zwalczania choroby nowotworowej jest immunoterapia stosowana coraz częściej jako uzupełnienie konwencjonalnych metod leczenia nowotworów. Ze względu na duże znaczenie zarówno DC, jak i produkowanych przez nie cytokin takich jak IL 12 i IL-18 w powstawaniu odpowiedzi odpornościowej, uzasadnione jest połączenie obu tych elementów i zastosowanie ich w tworzeniu nowych strategii zwalczania nowotworów. W tym celu, wykorzystane zostaną komórki BM-DC modyfikowane genetycznie do długotrwałej, jednoczesnej produkcji IL-12 i IL-18 i dodatkowo stymulowane antygenami nowotworowymi (TAg).