

Celem Projektu jest sprawdzenie skuteczności wprowadzania do guza nowotworowego **terapeutycznego wirusa** za pomocą **komórek macierzystych** pełniących rolę nośnika ochronnego dla przeniesionego wirusa. Zastosowanie takiego **układu terapeutycznego** składającego się z wirusa „ukrytego” w nośniku ma za zadanie zwiększyć skuteczność niszczenia guza za pomocą terapii tzw. onkolitycznej.

Niektóre wirusy mają zdolność infekowania i namnażania w wielu typach komórek nowotworowych. Właściwość ta umożliwia wykorzystanie takich wirusów do niszczenia komórek rakowych, co w efekcie może doprowadzić do rozpadu guza czyli tzw. onkolizy. Jednakże tylko w przypadku wydajnego dostarczenia onkolitycznego wirusa do guza powstają warunki do jego rozpadu, podczas gdy sąsiadująca tkanka prawidłowa pozostaje niezmienną.

Preferowane w onkologii klinicznej dożylnie podawanie preparatu leczniczego może napotkać jednak, w przypadku terapii onkolitycznej, na przeszkodę w postaci reakcji układu odpornościowego biorcy na dożylnie wstrzyknięcie wirusa. Terapeutyczny wirus może być wtedy zniszczony lub/i być usuwany z organizmu zanim dotrze do guza. Dlatego w Projekcie proponuje się podawanie wirusa onkolitycznego w osłonie, wykorzystując do ochrony wyizolowane ze szpiku kostnego **mezenchymalne komórki macierzyste (MSC)**. Są one słabo immunogenne i cechuje je duży tropizm (skłonność podążania) w kierunku środowiska prozapalnego jakim jest w istocie rzeczy ognisko nowotworowe.

Aby zwiększyć skuteczności działania proponowanego układu terapeutycznego w Projekcie zbadane zostaną trzy **zrekombinowane onkolityczne wirusy myksomatozy (MYXV)**. Dzięki temu, że wirus ten nie jest chorobotwórczy dla człowieka ani np. myszy, (zaraźliwy jest tylko dla przedstawicieli rodziny zającowatych) oraz z powodu swej wybiórczości wobec komórek nowotworowych, zrekombinowane wirusy MYXV budzą wielkie nadzieje w leczeniu raka.

Pierwszy proponowany wirus MYXV koduje dodatkowo interleukinę 15 (IL-15), cytokinę która pobudza limfocyty T, indukuje proliferację komórek tzw. „naturalnych zabójców” (NK) oraz przyczynia się do uwalniania interferonu gamma (IFN γ), co bezpośrednio pobudza silną odpowiedź przeciwnowotworową. Do drugiego wirusa MYXV wprowadzono gen kodujący czynnik martwicy nowotworu LIGHT/TNFSF14), który przyczynia się do zwiększania napływu limfocytów T do guza. Natomiast trzeci wirus MYXV został pozbawiony w drodze manipulacji genetycznych genu M011L kodującego homolog białka Bcl-2, co umożliwia pobudzenie apoptozy zainfekowanych przez MYXV komórek nowotworowych.

W Projekcie zostaną najpierw wyizolowane komórki MSC pochodzące ze szpiku kostnego mysiego oraz ludzkiego. Wyizolowane komórki MSC zostaną zainfekowane *in vitro* rekombinowanymi wirusami MYXV. Następnie sprawdzona zostanie zdolność komórek MSC zainfekowanych wirusem do przemieszczania się w kierunku komórek nowotworowych oraz przekazywania im infekcji wirusowej. Innymi słowy zostanie sprawdzona podatność (tzw. permisywność) badanych komórek nowotworowych na zakażenie wirusem MYXV przenoszonym przez zainfekowane nim komórki MSC (czyli przez układ terapeutyczny). W wypadku stwierdzenia permisywności oczekiwane jest zniszczenie (obumieranie) hodowanych komórek rakowych.

Otrzymane układy terapeutyczne zostaną następnie wstrzyknięte dożylnie myszom mającym wywołany doświadczalnie guz nowotworowy (trudne w leczeniu agresywne nowotwory: czerniak, glejak lub rak trzustki); przeprowadzona zostanie biologiczna ocena przydatności układów terapeutycznych (tj. zmodyfikowanego wirusa „ukrytego” w komórkach macierzystych) do niszczenia wspomnianych guzów (pierwotnych i przerzutów). Hipoteza badawcza zakłada, że terapeutyczny wirus MYXV będzie chroniony przed reakcją układu odpornościowego biorcy i dopiero po uwolnieniu z komórek MSC w sąsiedztwie guza nowotworowego przystąpi do niszczenia komórek rakowych co doprowadzi w końcu do niszczenia guza. Dodatkowo w wyniku takiej onkolizy ma miejsce uwolnienie oraz zwiększona prezentacja antygenów nowotworowych, co wpływa na nasilenie całościowej odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Równolegle zbadane zostanie rozprzestrzenianie się wirusa u leczonych myszy oraz odpornościowa odpowiedź biorcy skierowana przeciwko wirusowi tzw. testem neutralizacji wirusa oraz przez zbadanie poziomu przeciwciał antywirusowych. Pobrane od myszy skrawki tkanki nowotworowej zostaną zbadane histopatologicznie i oznaczony w nich zostanie za pomocą immunohistochemii poziom komórek biorących udział w immunologicznej odpowiedzi przeciwnowotworowej (limfocytów T oraz komórek NK).

Zaproponowany sposób zwiększenia skuteczności terapii onkolitycznej nie został dotąd w pełni opisany/wykorzystany. Sugerowana terapia jest więc próbą odpowiedzi na pilną potrzebę zwiększenia skuteczności leczenia czerniaka, glejaka i raka trzustki, nowotworów stanowiących duże wyzwanie dla nauki oraz kosztów opieki zdrowotnej dla wielu społeczeństw. Wyniki proponowanych badań powinny przyczynić się do lepszego zrozumienia uwarunkowań terapii na poziomie molekularnym i doprowadzić do opracowania mniej kosztownych metod leczenia.