

Ocena wpływu normalizacji unaczynienia guza na skuteczność terapeutycznych szczepionek czerniakowych w modelu mysim

Czerniak w fazie rozsiewu jest wciąż chorobą nieuleczalną. Pomimo ostatnich przełomów związanych z leczeniem ukierunkowanym na mutacje w genach czerniaka, czy też regulacją własnych obronnych mechanizmów przeciwnowotworowych (immunoterapia) nie udaje się całkowicie wyeliminować czerniaka. Lecznicze szczepionki rakowe, pomimo skutecznej aktywacji komórek obronnych skierowanych na komórki nowotworowe są przez nie inaktywowane. Przyczyną tego są zdolności guza nowotworowego, uważanego obecnie za doskonale funkcjonujący narząd, do „wyłączenia” mechanizmów obronnych człowieka. Dochodzi do tego skutek zachodzącego wewnątrz guza niedotlenienia (hipoksja), które powoduje aktywację łańcucha zdarzeń, które obejmują m.in. tworzenie patologicznych naczyń krwionośnych (neoangiogeneza). Naczynia są nieszczelne, poskręcane, przepuszczają różnego rodzaju komórki i nie zapewniają dostarczenia odpowiedniej ilości tlenu, co pogłębia hipoksję. W guzie tworzy się swoiste mikrośrodowisko. Komórki nowotworowe niszcą uzbrojone komórki odpornościowe, w wyniku czego dochodzi do „porażenia” obrony guza, który dalej się rozrasta, przerzutuje i finalnie prowadzi do śmierci pacjenta. Szczególnie oporna na wszelkiego rodzaju terapie jest frakcja komórek nowotworowych określanych jako macierzyste komórki nowotworowe (MKN) lub inicjujące komórki rakowe, napędzające progresję nowotworu.

Celem głównym planowanego projektu jest połączenie swoistej aktywacji układu odpornościowego skierowanego na komórki czerniaka przy pomocy leczniczych szczepionek rakowych skonstruowanych na bazie MKN z metodami normalizowania niedotlenienia guza (normoksja) w modelu czerniaka mysiego. Celem drugorzędowym jest zrozumienie mechanizmów cząsteczkowych leżących u podłoża interakcji zachodzących między nowotworem i gospodarzem oraz rolę MKN i unaczynienia guza w procesie modelowania jego mikrośrodowiska. Cele szczegółowe obejmują porównanie wyników leczenia samą szczepionką z podawaniem samego leku podwyższającego stężenie tlenu w guzie (normoksja) oraz skojarzenia obu terapii. Ponadto, badane będą mechanizmy prowadzące do eliminacji guzów ze szczególnym uwzględnieniem komórek MKN. Monitorowane będzie stężenie tlenu, „naprawa” patologicznych naczyń, obecność na komórkach nowotworowych oraz obronnych cząsteczek zabijających komórki immunologiczne. Do analiz stosowany będzie tzw. model „guzów żelowych”. Polega on na tym, że pewne substancje żelowe w temp. 4 stopni C występują w formie płynnej, natomiast w temp. 37 stopni C żelują. Do substancji w stanie płynnym dodane będą komórki szczepionek lub komórki wyjściowe czerniaka, które wstrzyknięte myszom pod skórę będą żelować i tworzyć żelowe guzki. Te z kolei będą naciekane przez komórki odpornościowe, które następnie będą izolowane z wyciętych guzków żelowych i analizowane. Pozwoli to na ocenę mechanizmów aktywacji układu odpornościowego oraz mechanizmów eliminacji komórek nowotworowych. W celu oceny składu komórkowego mikrośrodowiska guza, wyjściowe komórki czerniakowe wstrzykiwane będą podskórnie (bez żelu). Po czasie, gdy osiągną odpowiedni rozmiar, będą usuwane, utrwalane, krojone na skrawki mikroskopowe, barwione i oceniane pod mikroskopem.

Zgromadzenie powyższych danych pozwoli na projektowanie nowych bardziej skutecznych leków biologicznych i aktywnych małych cząsteczek. Mamy coraz więcej danych wskazujących na to, że rak potrafi się oprzeć terapii jednym lekiem i konieczne jest łączenie kilku razem, szczególnie charakteryzujących się różnymi mechanizmami działania. Spodziewamy się więc, że planowany projekt badawczy dostarczy nam wiedzy podstawowej, która w przyszłości zastosowana będzie w praktyce.

Projekt będzie realizowany we współpracy z Prof. C. Kieda oraz Prof. JM. Lehn (Francja). Prof. LM Lehn jest twórcą podstawowego leku normalizującego hipoksję. Prof. Kieda i Prof. Lehn są współtwórcami nowych pochodnych leku podstawowego.