

Glejak wielopostaciowy (GBM) jest najczęściej występującym złośliwym nowotworem mózgu o bardzo złym rokowaniu i medianie przeżycia około 10 miesięcy. Obecnie istniejące metody terapii charakteryzują się bardzo niską skutecznością, ponieważ komórki nowotworowe przeżywają w 90% przypadków. Dane te uzasadniają konieczność opracowania nowego podejścia terapeutycznego w leczeniu GBM. Nową, obiecującą metodą leczenia nowotworów może być immunoterapia – terapia wykorzystująca potencjał komórek układu odpornościowego, szczególnie limfocytów T cytotoksycznych do znajdowania i niszczenia komórek nowotworowych. Wśród komórek układu odpornościowego, które wykazują aktywność przeciwnowotworową, szczególnie interesujące są limfocyty T posiadające receptor komórek T (ang. TCR, *T cell receptor*) zbudowany z łańcuchów  $\gamma$  i  $\delta$ . U ludzi wyróżnić można dwie główne populacje komórek T  $\gamma\delta$ , które wykazują działanie przeciwnowotworowe: komórki  $V\delta 2^+$  - dominujące we krwi obwodowej i komórki  $V\delta 1^+$  - zlokalizowane głównie w tkankach obwodowych. Wykazano, że komórki  $V\delta 2^+$  rozpoznają fosfoantygeny pochodzące ze szlaku mewalonianu komórek ssaczych, który jest wysoce aktywny po zakażeniu komórek lub ich transformacji nowotworowej. Z kolei komórki  $V\delta 1^+$  reagują na cząsteczki MIC-A i MIC-B, związane z układem zgodności tkankowej MHC klasy I, i na białka z grupy UL16BP, które są produkowane przez komórki nowotworowe oraz komórki poddane stresowi. Mechanizmy wiązania ligandu przez receptor  $\gamma\delta$  TCR i aktywacja komórek T  $\gamma\delta$  wciąż nie są w pełni poznane. Nie jest zatem jasne, dlaczego w niektórych typach nowotworów komórki T  $\gamma\delta$  zmieniają fenotyp z cytotoksycznego na regulatorowy i promujący wzrost guza. Wykazano, że u pacjentów z GBM komórki  $V\delta 1^+$  hamują odpowiedź immunologiczną (fenotyp immunosupresyjny). Jednak zastosowanie odpowiedniej procedury namnożenia komórek  $V\delta 1^+$  w warunkach *in vitro* może wpłynąć na zmianę ich fenotypu na cytotoksyczny, tak aby mogły być wykorzystane w immunoterapii u ludzi. Jak dotąd, w badaniach przedklinicznych terapii GBM na myszach laboratoryjnych, z powodzeniem zostały przetestowane tylko komórki  $V\delta 2^+$ . W modelu białaczki wykazano natomiast, że komórki  $V\delta 1^+$  mają zdolność do hamowania rozrostu komórek nowotworowych. Dostępne dane literaturowe dowodzą, że iniekcja śródczaszkowa komórek  $V\delta 2^+$  myszom z GBM prowadzi do niszczenia guza, co dowodzi potencjału komórek T  $\gamma\delta$  do immunoterapii GBM. W eksperymentach tych brakowało jednak w mikrośrodku guza ludzkich leukocytów, które mogły niekorzystnie wpłynąć na wyniki terapii. Na przykład, guzy nowotworowe są często naciekane przez regulatorowe limfocyty T, które hamują odpowiedź immunologiczną wobec guza. Podobnie, cytotoksyczne funkcje limfocytów T maleją w miarę upływu czasu z powodu tzw. wyczerpania, w którym pośredniczą receptory hamujące na limfocytach T i otaczających je komórkach w mikrośrodku guza. Nie wiadomo zatem, czy cytotoksyczność komórek T  $\gamma\delta$  względem GBM, wykazana przez badaczy na myszach pozbawionych układu odpornościowego, jest skuteczna w immunokompetentnym mikrośrodku glejaka wielopostaciowego. Odpowiedź na to pytanie jest kluczowa w kontekście poznania potencjału translacyjnego komórek T  $\gamma\delta$  w klinicznym leczeniu GBM. Kolejnym istotnym czynnikiem w kontekście immunoterapii GBM są glukokortykoidy. Znalazły one zastosowanie w paliatywnym leczeniu nowotworów mózgu jako środek łagodzący zwiększone ciśnienie śródczaszkowe i obrzęki mózgu. Ubocznym efektem ich stosowania jest jednak zmniejszona liczba komórek układu odpornościowego we krwi pacjentów. Ponadto, glukokortykoidy mogą hamować ścieżkę sygnałową inicjowaną przez receptor TCR, co może silnie oddziaływać na efektywność immunoterapii komórkami T  $\gamma\delta$ .

Mając na uwadze stan wiedzy w tym obszarze, chcielibyśmy porównać funkcje efektorowe komórek  $V\delta 1^+$  i  $V\delta 2^+$  wobec komórek glejaka *in vitro*, aby określić, która populacja może znaleźć zastosowanie w immunoterapii. Dzięki współpracy z neurochirurgami będziemy dysponować tkankami glejaka w celu izolacji komórek GBM. W warunkach *in vivo* scharakteryzujemy aktywność cytotoksyczną komórek T  $\gamma\delta$  w ludzkim, immunosupresyjnym środowisku nowotworu. W tym celu do myszy pozbawionych układu odpornościowego wprowadzimy ludzkie komórki układu odpornościowego oraz komórki GBM. Zastosowanie myszy „humanizowanych” pozwoli zweryfikować skuteczność immunoterapii z wykorzystaniem limfocytów T  $\gamma\delta$  w otoczeniu najbardziej zbliżonym do mikrośrodowiska glejaka. Po raz pierwszy zostanie zbadany wpływ humanizowanego mikrośrodowiska nowotworu na aktywność komórek T  $\gamma\delta$ . Przede wszystkim skupimy się na wysokorozdzielczej mikroskopii przyżyciowej, aby zbadać dynamikę migracji limfocytów T  $\gamma\delta$  i ich interakcje w mikrośrodku nowotworu. Ustalimy, czy bezpośredni kontakt z komórkami GBM lub innymi komórkami otaczającymi guz jest niezbędny do procesu niszczenia komórek nowotworowych. Na koniec zbadamy, jak glukokortykoidy oddziałują na funkcje natywnych komórek T  $\gamma\delta$  oraz pozbawionych receptora dla glukokortykoidów. Do tej pory, nikt nie podjął się przeprowadzenia takich analiz, mają one zatem charakter nowatorski. Zdobyta wiedza w znacznym stopniu przyczyni się do rozwoju nowych metod terapeutycznych GBM, takich jak immunoterapia z wykorzystaniem komórek T  $\gamma\delta$ .