

Obecnie nowotwór nie jest uważany za lokalne nagromadzenie klonalnych komórek rakowych, ale raczej za dobrze zorganizowany „narząd” złożony z oddziałujących ze sobą różnego typu komórek zrębu, komórek rakowych oraz macierzy zewnątrzkomórkowej. Środowisko w obrębie guza nosi nazwę mikrośrodowiska guza (TME). Wśród komórek tworzących zrąb główne wyróżniamy mezenchymalne komórki podścieliska, oraz komórki układu naczyniowego i odpornościowego. Komórki w obrębie TME znajdują się w ciągłych interakcjach i, co ważniejsze, interakcje te nieustannie modyfikują zarówno komórki rakowe jak i pozostałe komórki TME. Zatem zastosowanie podejścia terapeutycznego mające na celu zniszczenie samych komórek rakowych nie wystarczy, aby zabić raka. Dlatego obecnie bardzo intensywnie badane są podejścia wielokierunkowe, w których jednocześnie hamowanych jest kilka typów komórek zrębu.

Immunoterapia jest jedną z najintensywniej badanych metod leczenia raka. Immunoterapia to zabiegi wykorzystujące system obronny (system immunologiczny) organizmu w celu walki z rakiem. Można wyróżnić dwie formy immunoterapii: i) adoptywne terapie komórkowe polegające na wprowadzeniu dodatkowych komórek odpornościowych w celu rozpoznania i zaatakowania komórek rakowych, oraz ii) zastosowanie leków stymulujących istniejącą już odpowiedź immunologiczną, tak aby pomóc jej bardziej wydajnie atakować komórki rakowe. Wewnątrz „narządu” typu guz gromadzą się komórki odpornościowe, które jednak nie działają prawidłowo; w TME promują one procesy związane z rozwojem guza. Jednak zastosowanie odpowiednich środków terapeutycznych może je zmodyfikować, tak aby przywrócić odpowiedź przeciwnowotworową.

Jednym ze sposobów modyfikacji komórek odpornościowych w guzie jest zastosowanie terapeutycznych molekuł oligonukleotydowych (oligoterapeutyki). Tego typu leki będą zastosowane w projekcie tj. Oligoterapeutyki CpG-siSTAT3 i aptCTLA4-siSTAT3. Hamują one ekspresję białka przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji 3 (STAT3). Sygnalizacja STAT3 w TME jest kluczowym regulatorem tzw. cech charakterystycznych dla nowotworów (z ang. hallmark of cancers). CpG-STAT3siRNA jest lekiem, który wycisza ekspresję STAT3 przy jednoczesnej indukcji szlaku TLR9 w komórkach immunologicznych o pochodzeniu szpikowym (myeloid cells), podczas gdy aptCTLA4-siSTAT3 wycisza STAT3 w limfocytach. Hamowanie cząsteczki STAT3 w komórkach immunologicznych o pochodzeniu szpikowym i limfocytach w obrębie TME przywraca odpowiedź przeciwnowotworową.

Chociaż wykazano, że zastosowanie konstruktów oligoterapeutycznych w leczeniu raka skutkowało dobrymi rezultatami, to jednak ich zastosowanie *in vivo* jest nadal ograniczone. Wrażliwość na nukleazy znajdujące się w surowicy, toksyczność oraz potencjalne skutki uboczne ograniczają ich zastosowanie. Jednym ze sposobów pozwalającym na zwiększenie potencjału stosowania oligoterapeutyków *in vivo* jest użycie odpowiedniego systemu dostarczania leków w postaci nanonośników. W projekcie proponujemy zastosowanie nanosfer wykonanych z bioinżynieryjnego jedwabiu pajęczego jako nośniki terapeutyków opartych na oligonukleotydach.

Jedwabne biomateriały są biokompatybilne, biodegradowalne, nietoksyczne i mają liczne potencjalne zastosowania biomedyczne. W naszym Laboratorium prowadzimy badania związane z opracowaniem systemu dostarczania leków z wykorzystaniem bioinżynierowanego jedwabiu. Opracowaliśmy platformę selektywnego dostarczania leku cytotoksycznego (doksorubicyny) do komórek raka piersi z nadeskpresją Her2 w oparciu o wykorzystanie jedwabnych sfer. W obecnym projekcie chcemy zastosować jedwabne nośniki do bezpiecznego, selektywnego i skutecznego dostarczania oligoterapeutyków. Badania wstępne *in vitro* wykazały, że jedwabne sfery nie tylko skutecznie dostarczały oligoterapeutyk CpG-siSTAT3 do celowanych komórek, ale także modyfikowały (wydłużały) kinetykę jego przetwarzania i aktywności w porównaniu z dostarczaniem samego CpG-siSTAT3. Stawiamy hipotezę, że wydłużenie czasu działania oligoterapeutyku poprzez zastosowanie jedwabnego nośnika będzie znacząco wpływało na aktywność CpG-siSTAT3 *in vivo*.

Celem projektu jest wytworzenie i charakterystyka jedwabnych sfer, które zawierają oligoterapeutyki, a następnie zbadanie ich potencjału terapeutycznego *in vitro* i *in vivo*. Przeprowadzimy badania sprawdzające czy powstałe nośniki dostarczają oligoterapeutyki komórkom odpornościowym w TME w mysich modelach raka piersi oraz czy jest to korzystne pod względem niszczenia guza.

W oparciu o uzyskane wyniki opracujemy nowe podejście terapii przeciwnowotworowej, które będzie polegało na aktywacji odpowiedzi immunologicznej w mikrośrodowisku guza poprzez zastosowanie oligoterapeutyków dostarczonych za pomocą jedwabnych nośników. Proponowana technologia ma charakter uniwersalny i może być zastosowana do leczenia każdego typu nowotworu.