

Powody podjęcia danej tematyki badawczej: W ostatnich latach obserwujemy znaczący postęp w leczeniu agresywnych nowotworów hematologicznych, takich jak chłoniak z dużych komórek B oraz ostra białaczka limfoblastyczna, których leczenie stanowiło dotychczas jedno z największych wyzwań w onkologii. Niewątpliwy sukces na tym polu odnosi immunoterapia nakierowana na antygen CD19 i wykorzystująca zmodyfikowane genetycznie, przy pomocy chimerycznych receptorów antygenowych (ang. Chimeric Antigen Receptors – CARs), komórki cytotoksyczne – limfocyty T lub komórki NK. Immunoterapia z zastosowaniem CAR-T anty-CD19 pozwala na osiągnięcie całkowitej odpowiedzi na leczenie w przypadku nawet 40-80% pacjentów, co jeszcze do niedawna było całkiem nieosiągalne. Terapia ta od 2021 r. jest także refundowana w Polsce w przypadku pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną. Jednak, mimo tak obiecujących wyników, coraz częściej pojawiają się doniesienia na temat powstawania oporności na terapię CAR-T anty-CD19. Jednym z najczęściej raportowanych mechanizmów oporności jest zmniejszenie ilości CD19 na powierzchni komórek nowotworowych. Pomimo intensywnych badań, wiedza na temat przyczyn i mechanizmów pojawiania się oporności nowotworów na immunoterapię wciąż pozostaje niepełna. Wśród trudności, jakie napotykać naukowcy z całego świata, największym wydaje się ograniczony dostęp do materiału od pacjentów, utrudniający swobodne prowadzenie badań podstawowych w tym obszarze. Jednym z rozwiązań tego problemu byłoby zastosowanie w badaniach podstawowych modelu oporności komórek nowotworowych na terapię CAR-T anty-CD19. W ramach badań wstępnych do niniejszego projektu stworzyliśmy modele komórek nowotworowych chłoniaka i ostrej białaczki limfoblastycznej poddanych długotrwałej ekspozycji na działanie cytotoksycznych komórek CAR-T anty-CD19. W modelach tych zaobserwowaliśmy szereg zmian, w tym spadek ekspresji CD19 na powierzchni komórek nowotworowych, obserwowany także u pacjentów po tej terapii. Ponadto, do otrzymania modeli użyliśmy konstruktów CAR, zawierających domenę kostymulującą 4-1BB lub CD28, identycznych do tych stosowanych w produktach klinicznych. Zastosowanie otrzymanych modeli, w ramach niniejszego projektu, umożliwi nam szeroko zakrojone badania nad rozwijaniem mechanizmów oporności w nowotworach hematologicznych, w tym bezpośrednie porównanie tych mechanizmów w zależności od struktury terapeutycznego CAR.

Cele projektu: Celem naszego projektu będzie szeroka charakterystyka i porównanie modeli *in vitro* chłoniaka i ostrej białaczki limfoblastycznej po długotrwałej ekspozycji na komórki CAR-T anty-CD19, zawierające kliniczne struktury CAR oparte o domenę kostymulującą 4-1BB lub CD28. Z użyciem powyższych modeli zbadamy biologię utraty antygeny CD19 oraz zidentyfikujemy unikalne zmiany fenotypowe towarzyszące rozwojowi oporności na immunoterapię z uwzględnieniem różnic w strukturze CAR w stosowanych produktach terapeutycznych.

Badania realizowane w projekcie: W projekcie zaplanowaliśmy realizację trzech zadań badawczych. W Zadaniu 1. scharakteryzujemy utratę antygeny CD19 poprzez analizę epitopów powierzchniowych oraz całkowitego białka w komórkach nowotworowych po długotrwałej ekspozycji na komórki CAR-T anty-CD19. Przeprowadzimy też szerokie fenotypowanie antygenów powierzchniowych na badanych komórkach nowotworowych w celu znalezienia unikalnych antygenów towarzyszących fenotypowi ucieczki immunologicznej. W Zadaniu 2. przeanalizujemy zmiany transkryptomyczne zachodzące w badanych komórkach nowotworowych, aby zdefiniować czynniki genetyczne utraty CD19, a także zidentyfikować markery oporności na immunoterapię na poziomie transkryptomycznym. W powyższych analizach uwzględnimy także porównanie pod kątem konstrukcji CAR, opartej o domenę 4-1BB lub CD28, zastosowanej do otrzymania modelu. Na koniec, w Zadaniu 3., zweryfikujemy nowo zidentyfikowane markery w próbkach od pacjentów chorych na chłoniaka lub ostrą białaczkę limfoblastyczną opornych na terapię CAR-T anty-CD19.

Oczekiwane wyniki: Mamy nadzieję, że wyniki tego projektu dostarczą nowej wiedzy na temat przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej komórek CAR-T stosowanych w produktach terapeutycznych, a w przyszłości przyczynią się do poprawy skuteczności immunoterapii stosowanych klinicznie. Niewątpliwie, sukces naszego projektu miałby szansę wpłynąć na znaczący rozwój medycyny i zdrowia publicznego.