

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Genetycznie zmodyfikowane komórki dendrytyczne jako składnik skojarzonej terapii immunomodulującej mikrośrodowisko nowotworowe w modelu mysiego raka jelita grubego MC38**
2. Czas trwania projektu: **03.02.2020 – 03.02.2023**
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) cytokiny IL-12 i IL-18 lub IL-15/IL-15R, nanokoniugaty metotreksatu, szczepionki komórkowe na bazie komórek dendrytycznych, terapia przeciwnowotworowa, MC38
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) ...**A.....**

A. Badania podstawowe

- B. Badania translacyjne lub stosowane
- C. Badania mające na celu zachowanie gatunku
- D. Badania z zakresu medycyny sądowej
- E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich
- F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania
- G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego
- H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Celem projektu jest opracowanie wieloskładnikowej chemioimmunoterapii w modelu mysiego raka jelita grubego MC38. Zamierzamy określić wpływ zastosowania komórek dendrytycznych pochodzenia szpikowego (*bone marrow dendritic cells*, BM-DCs) genetycznie zmodyfikowanych do równoczesnego wytwarzania IL-12 i IL-18 lub IL-15/IL-15R, stymulowanych antygenami nowotworowymi (*tumor antigens*, TAg) na immunomodulację mikrośrodowiska nowotworowego. Immunoterapia wspomagana będzie poprzez podanie przeciwciał skierowanych przeciwko receptorowi IL-10, które wspierają polaryzację odpowiedzi odpornościowej. Powyższą immunoterapię połączymy z chemioterapią nanokoniugatem metotreksatu i hydroksyetyloskrobii (MTX-HES). Projekt jest kontynuacją badań nad wpływem chemioimmunoterapii stosowanej u myszy z podskórnie rosnącymi nowotworami. W trakcie wcześniejszych eksperymentów z użyciem myszy NOD/SCID obarczonych nowotworem MV-4-11 uzyskano 89,7% zahamowanie wzrostu nowotworu w grupie myszy traktowanych MTX-

HES, w porównaniu do 18,9% dla grupy myszy traktowanych MTX. Ponadto badania przeprowadzone w ortotopowym modelu mysiego raka sutka 4T1 wykazały większą aktywność przeciwnowotworową nanokoniugatów. Na podstawie przeprowadzonych wcześniej badań chcemy rozszerzyć badania nad aktywnością przeciwnowotworową w innym modelu mysiego nowotworu. Wykorzystując technikę Real Time PCR zbadaliśmy ekspresję α receptora folianowego (FR α) w komórkach linii MC38–w odniesieniu do komórek linii 4T1 odnotowaliśmy ponad 3-krotnie wyższy poziom ekspresji FR α .

Uzasadnione zatem jest wykonanie eksperymentów w modelu MC38, w których chemioterapia nanokoniugatami MTX-HES zostanie uzupełniona immunoterapią.

Cele procedur zaplanowane w niniejszym projekcie zaklasyfikowano jako badania podstawowe, a same procedury zaliczane są do procedur o umiarkowanej lub dotkliwej kategorii dotkliwości.

Klasyfikacja celu procedury: Badania podstawowe–onkologia, niezależna od badanego układu.

Oczekujemy, że stosowana chemioimmunoterapia doprowadzi do pełnej reaktywacji układu odpornościowego gospodarza i indukcji swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej oraz przyczyni się do opracowania podstaw nowej skojarzonej terapii przeciwnowotworowej

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Łącznie w doświadczeniach wykorzystanych będzie **409** myszy gatunku *mus musculus* (6-8 tygodniowe samice)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziliśmy istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach badawczych: PubMed, Google Scholar, ScienceDirect, Web of Science (JCR).

Wykorzystaliśmy następujące słowa kluczowe: dendritic cell-based vaccines; IL-12; IL-18; IL-15/IL-15R; anti-IL-10R therapy; methotrexate conjugate; MTX-HES, methotrexate-hydroxyethyl starch nanoconjugate, methotrexate cancer therapy; chemoimmunotherapy; immunotherapy; colon carcinoma chemoimmunotherapy.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzamy, że: badania zaplanowane w ramach niniejszego projektu są nowatorskie i do tej pory nie zostały opisane. Dotychczas opisano wykorzystanie koniugatów MTX w terapii przeciwnowotworowej, jednak zastosowanie nanokoniugatów składających się z MTX oraz hydroksyetyloskrobii jest niszowym zagadnieniem. Brak jest także doniesień dotyczących wykorzystania komórek dendrytycznych nadprodukujących jednocześnie IL-12 i IL-18 w terapii przeciwnowotworowej, a także połączenia takich komórek dendrytycznych z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko receptorowi IL-10. Nie istnieją także doniesienia, które łączyłyby te wszystkie elementy w skojarzoną terapię przeciwnowotworową. Połączenie wspomnianych elementów terapeutycznych przyczyni się do opracowania nowej strategii chemioimmunoterapii.

Brak jest danych w zakresie: wykorzystania komórek dendrytycznych nadprodukujących jednocześnie IL-12 i IL-18 i/lub IL-15/IL-15R w terapii przeciwnowotworowej, a także połączenia takich komórek dendrytycznych z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko receptorowi IL-10. Ponadto nie ma doniesień dotyczących wykorzystania takiej strategii immunoterapeutycznej z chemioterapią nanokoniugatami MTX-HES.

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: opracowanie strategii skojarzonej terapii przeciwnowotworowej opartej na chemioterapii nanokoniugatami metotreksatu i polisacharydowego nośnika, oraz immunoterapii w postaci szczepionek komórkowych na bazie dojrzałych komórek dendrytycznych zmodyfikowanych do nadprodukcji jednocześnie IL-12 oraz IL-18 i/lub IL-15/IL-15R, która dodatkowo będzie wspomagana przez zastosowanie przeciwciał anti-IL-10R (jako okresowego modulatora mechanizmów supresyjnych).

A/ Rozwinięcie poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: wykorzystania zmodyfikowanych komórek dendrytycznych do jednoczesnej nadprodukcji IL-12 oraz IL-18 i/lub IL-15/IL-15R stosowanych w połączeniu z przeciwciałami anti-IL-10R oraz nanokoniugatami MTX-HES jako skojarzonej terapii immunomodulującej mikrośrodowisko nowotworu w modelu mysiego raka jelita grubego MC38.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: opracowaniu nowej strategii skojarzonej terapii składającej się z immunoterapii wykorzystującej zmodyfikowane komórki dendrytyczne do jednoczesnej nadprodukcji IL-12 oraz IL-18 i/lub lub IL-15/IL-15R uzupełnionej o zastosowanie przeciwciał anti-IL-10R, oraz chemioterapii nanokoniugatami MTX-HES. Oczekujemy, że zastosowanie takiego schematu terapeutycznego doprowadzi to do pełnej reaktywacji układu odpornościowego gospodarza i indukcji silnej i swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Materiał pobrany od myszy po zakończeniu eksperymentów (m.in. śledzony) zostanie przeanalizowany *ex vivo*. Jako punkt odniesienia w interpretacji otrzymanych wyników w eksperymentach *ex vivo* stosowane są śledzone pobrane od myszy zdrowych, którym nie podano komórek nowotworowych. Zgodnie z zasadą 3R, aby zmniejszyć całkowitą liczbę myszy niezbędną do przeprowadzenia niniejszych badań (łącznie z analizą *ex vivo*) od myszy od których zostaną pobrane kości (nieuwzględnione we wniosku), służące jako źródło szpiku kostnego niezbędnego do przygotowania szczepionek komórkowych, pobrane zostaną również śledzone, które następnie zostaną wykorzystane do analiz *ex vivo*.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.