

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena zmian zachodzących w guzie nowotworowym w wyniku podania wektorów hamujących ekspresję cytokin supresorowych – wpływ na reaktywność układu odpornościowego.

2. Czas trwania projektu 01.05.2018-31.12.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): TGF- β , IL-10, IL-10R, mikrośrodowisko nowotworowe, shRNA

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.

Głównym celem zaplanowanych doświadczeń jest ocena zmian zachodzących w guzie nowotworowym po miejscowym zahamowaniu ekspresji cytokin supresorowych takich jak TGF- β oraz IL-10. Cytokiny te, występujące w dużych stężeniach w mikrośrodowisku nowotworu, warunkują supresję układu odpornościowego, prowadzącą do dalszego wzrostu guza. Strategie immunoterapii nowotworu, mające na celu pobudzenie układu odpornościowego do walki z nowotworem często są nieskuteczne, ze względu na obecność czynników supresorowych. Doświadczenia są zaplanowane w ramach kontynuacji wcześniejszych badań, w których oceniano dwa sposoby blokowania tych cytokin. Po zastosowaniu terapii z zastosowaniem przeciwciał neutralizujących IL-10 lub wektorów hamujących ekspresję IL-10 lub TGF- β w połączeniu ze szczepionkami na bazie komórek dendrytycznych obserwowano znaczne zahamowanie wzrostu guzów oraz indukcję silnej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Dlatego zaplanowano dodatkowe doświadczenia, mające na celu określenie zmian zachodzących w guzach nowotworowych po wyciszeniu ekspresji TGF- β , IL-10 i receptora dla IL-10 oraz wpływu na aktywację lokalnej i systemowej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Określona zostanie liczebność subpopulacji komórek supresorowych i efektorowych naciekających guzy nowotworowe (MDSC, Treg, TAM M1,

TAM M2, NK, NKT, Th, Tc), ich aktywność supresorowa, a także profil produkcji cytokin w oraz ekspresji genów warunkujących supresję. Badania rozszerzą wiedzę na temat roli TGF- β i IL-10 w immunosupresji zachodzącej w mikrośrodowisku nowotworu, a także umożliwią zaprojektowanie nowych schematów immunoterapii. Cele procedur zaplanowane w niniejszym projekcie zaklasyfikowane są do badań podstawowych, a same procedury zaliczane są do procedur o umiarkowanej kategorii dotkliwości. **Klasyfikacja celu procedury: Badania podstawowe – onkologia, niezależna od badanego układu.**

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach zostanie wykorzystane 120 myszy (*mus musculus*) szczepu C57BL/6 (6-8 tygodniowe samice).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Wykorzystano następujące słowa kluczowe: TGF- β , IL-10, IL-10R, tumor microenvironment, sh TGF- β , shIL-10, shIL-10R, colon carcinoma microenvironment, MC38 microenvironment.

Na podstawie istniejącej literatury stwierdzono, że badania zaplanowane w ramach niniejszego projektu są nowatorskie i do tej pory nie zostały opisane. Dotychczas opisano wykorzystanie wektorów lentiwirusowych do wyciszenia ekspresji cytokin takich jak TGF- β oraz IL-10 lub receptora dla IL-10 w komórkach nowotworowych *in vitro*, jednak wyciszenie ekspresji tych białek w mikrośrodowisku guza, obejmującym nie tylko komórki nowotworowe, ale również naciekające komórki układu odpornościowego nie zostało jeszcze opisane.

Brak jest danych w zakresie wpływu zahamowania ekspresji TGF- β , IL-10 oraz IL-10R na aktywację odpowiedzi nieswoistej i swoistej w mikrośrodowisku nowotworowym, a także na aktywność komórek supresorowych naciekających guzy.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na zaprojektowanie nowych schematów terapii kombinowanych z wykorzystaniem wektorów hamujących ekspresję wybranych cytokin w celu modulacji mikrośrodowiska nowotworowego w połączeniu z cytostatykami, szczepionkami komórkowymi czy innymi strategiami immunoterapeutycznymi.

Zgodnie z zasadą 3R, przed przystąpieniem do doświadczeń *in vivo* przeprowadzono badania *in vitro* mające na celu określenie wpływu wyciszenia ekspresji TGF- β , IL-10 lub IL-10R na aktywność komórek nowotworowych oraz komórek odpornościowych, takich jak komórki dendrytyczne czy mieloidalne komórki supresorowe. Badania te mogły jednak jedynie w sposób ograniczony umożliwić poznanie wpływu badanych czynników na wybrane komponenty mikrośrodowiska nowotworowego. Dlatego też, badania zaplanowane w ramach projektu zakładają wykorzystanie zwierząt doświadczalnych, ponieważ jedynie tak złożony układ, jakim jest żywy organizm zwierzęcia umożliwia pełną ocenę immunomodulującego wpływu zahamowania ekspresji TGF- β , IL-10 lub IL-10R. Doświadczenia *in vivo* zostały zaplanowane w taki sposób, aby maksymalnie zredukować liczbę zwierząt w

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

eksperymentach. Zaplanowana liczba myszy w grupie to minimalna liczba potrzebna do uzyskania miarodajnych wyników i wykonania analizy statystycznej, a przy tym zapewnia brak potrzeby powtarzania doświadczenia w kolejnych eksperymentach. Wykonując doświadczenie cierpienie zwierząt będzie maksymalnie eliminowane poprzez podawanie leków przeciwbólowych, a w celu polepszenia warunków bytowych myszy zostaną zastosowane elementy wzbogacające środowisko.

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.