

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena aktywności przeciwnowotworowej chemioimmunoterapii z udziałem nanokoniugatów metotreksatu oraz szczepionek na bazie komórek dendrytycznych z wyciszoną ekspresją receptora IL-10.
2. Czas trwania projektu 04.05.2016 – 04.05.2018
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) chemioterapia, nanokoniugaty, metotreksat, szczepionki komórkowe na bazie komórek dendrytycznych, IL-10R
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 projektu jest opracowanie schematu skojarzonej terapii opartej na immunomodulującej dawce nanokoniugatów składających się z metotreksatu (MTX) i polisacharydowego nośnika jakim jest hydroksyetyloskrobia (HES) i wspomaganej immunoterapią w formie szczepionek komórkowych na bazie stymulowanych antygenami nowotworowymi komórek dendrytycznych. Projekt ten jest kontynuacją dotychczasowych badań, w których wykazano przeciwnowotworową aktywność nanokoniugatów. W trakcie wcześniejszych eksperymentów z użyciem myszy NOD/SCID obarczonych nowotworem MV-4-11 uzyskano 89,7% zahamowanie wzrostu nowotworu w grupie myszy traktowanych koniugatem MTX-HES, w porównaniu do 18,9% dla grupy myszy traktowanych wolnym MTX. Uzasadnione zatem jest wykonanie dalszych eksperymentów, w których chemioterapia nanokoniugatami MTX zostanie uzupełniona immunoterapią. Ze względu na obecność w środowisku rozwijającego się nowotworu czynników immunosupresorowych (np. interleukina 10; IL-10), hamujących odpowiedź odpornościową, w immunoterapii zaplanowano wykorzystanie szczepionek komórkowych na bazie komórek dendrytycznych z wyciszoną

ekspresją receptora IL-10. Obniży to wrażliwość komórek dendrytycznych na obecną w mikrośrodowisku nowotworu IL-10 i ukierunkuje oraz wzmocni odpowiedź przeciwnowotworową.

Cele procedur zaplanowane w niniejszym projekcie zaklasyfikowane są do badań podstawowych, 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 silnej i swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej oraz przyczyni się do opracowania podstaw nowej strategii, w której wykorzystywane będą immunomodulujące dawki nanokoniugatów MTX-HES.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Łącznie w doświadczeniach wykorzystanych będzie **255** 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: methotrexate conjugate; methotrexate cancer therapy; chemoimmunotherapy; immunotherapy; dendritic cells vaccines, IL-10R, dendritic cells IL-10R; shIL-10R, siIL-10R, 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 było opisywane wykorzystanie koniugatów MTX w terapii przeciwnowotworowej, jednak zastosowanie nanokoniugatów MTX oraz hydroksyetyloskrobii jest niszowym zagadnieniem. Doniesienia dotyczące wyciszenia receptora interleukiny 10 w komórkach dendrytycznych, stosowanych w szczepionkach komórkowych są nieliczne. Połączenie wspomnianych dwóch elementów terapeutycznych, może przyczynić się do opracowania nowej strategii chemioimmunoterapii.

Brak jest danych w zakresie: immunomodulujących, niskich dawek koniugatów MTX-HES, które połączone są z okologuzowym podawaniem szczepionek komórkowych na bazie komórek dendrytycznych z wyciszoną ekspresją receptora interleukiny 10 (IL-10R) w terapii przeciwnowotworowej.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: opracowanie chemioimmunoterapii opartej na immunomodulującej dawce nanokoniugatów składających się z metotreksatu i polisacharydowego nośnika, która wspomagana będzie immunoterapią w postaci szczepionek komórkowych na bazie stymulowanych antygenami nowotworowymi komórek dendrytycznych z wyciszoną ekspresją IL-10R.

A/ Rozwinięcie poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: zastosowania nanokoniugatów metotreksatu oraz wpływu wyciszenia ekspresji receptora IL-10 w komórkach dendrytycznych wchodzących w skład

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

szczepionek komórkowych w terapii myszy obarczonych rakiem jelita grubego MC38.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: opracowaniu nowej strategii chemioimmunoterapii, w której poznana immunomodulująca dawka nanokoniugatów MTX-HES skojarzona będzie z immunoterapią opartą na bazie komórek dendrytycznych z wyciszoną ekspresją receptora IL-10 i stymulowanych antygenami nowotworowymi. Oczekujemy, że doprowadzi to do pełnej reaktywacji układu odpornościowego gospodarza i indukcji silnej i swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej oraz przyczyni się do opracowania podstaw nowej strategii chemioimmunoterapii, w której wykorzystywane będą immunomodulujące dawki nanokoniugatów MTX-HES.

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 śledzony 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 śledzony, które następnie zostaną wykorzystane do analiz *ex vivo*.