

Protitumorska učinkovitost genskega elektroprenosa plazmidne DNA z zapisom za rekombinatno protitelo proti CTLA-4 v kombinaciji z obsevanjem

Boštjan Markelc^{1,2}, Simona Kranjc Brezar^{1,3}, Tanja Jesenko^{1,3}, Tim Božič^{1,3}, Maja Čemažar^{1,4}, Liesl Jacobs⁵, Kevin Hollevoet⁵, Gregor Serša^{1,2}

¹Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, Ljubljana, 1000, Slovenija, ²Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, 1000, Slovenija,

³Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, Ljubljana, 1000, Slovenija, ⁴Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem, Polje 42, Izola, 6130, Slovenija, ⁵Laboratorij za terapevtska in diagnostična protitelesa, KU Leuven – Univerza v Leuvnu, Leuven, Belgija

bmarkelc@onko-i.si

Raziskava je prejela financiranje ARRS preko raziskovalnega programa P3-0003 in programa mladih raziskovalcev. Raziskava je prejela financiranja v okviru sodelovanja CELSA.

ZAKLJUČKI

V raziskavi smo potrdili, da po GET pDNA-aCTLA4 pride do izražanja mAbs proti CTLA-4, pri čemer je njihova koncentracija v krvnem obtoku nizka. Pokazali smo tudi, da je intratumorski GET pDNA-aCTLA4 bolj učinkovit v kombinaciji s frakcioniranim obsevanjem (3x 5 Gy) kot v kombinaciji z enkratno dozo 10 Gy. Raziskava je pokazala potencial kombinacije intratumorskega GET pDNA-aCTLA4 ter radioterapije.

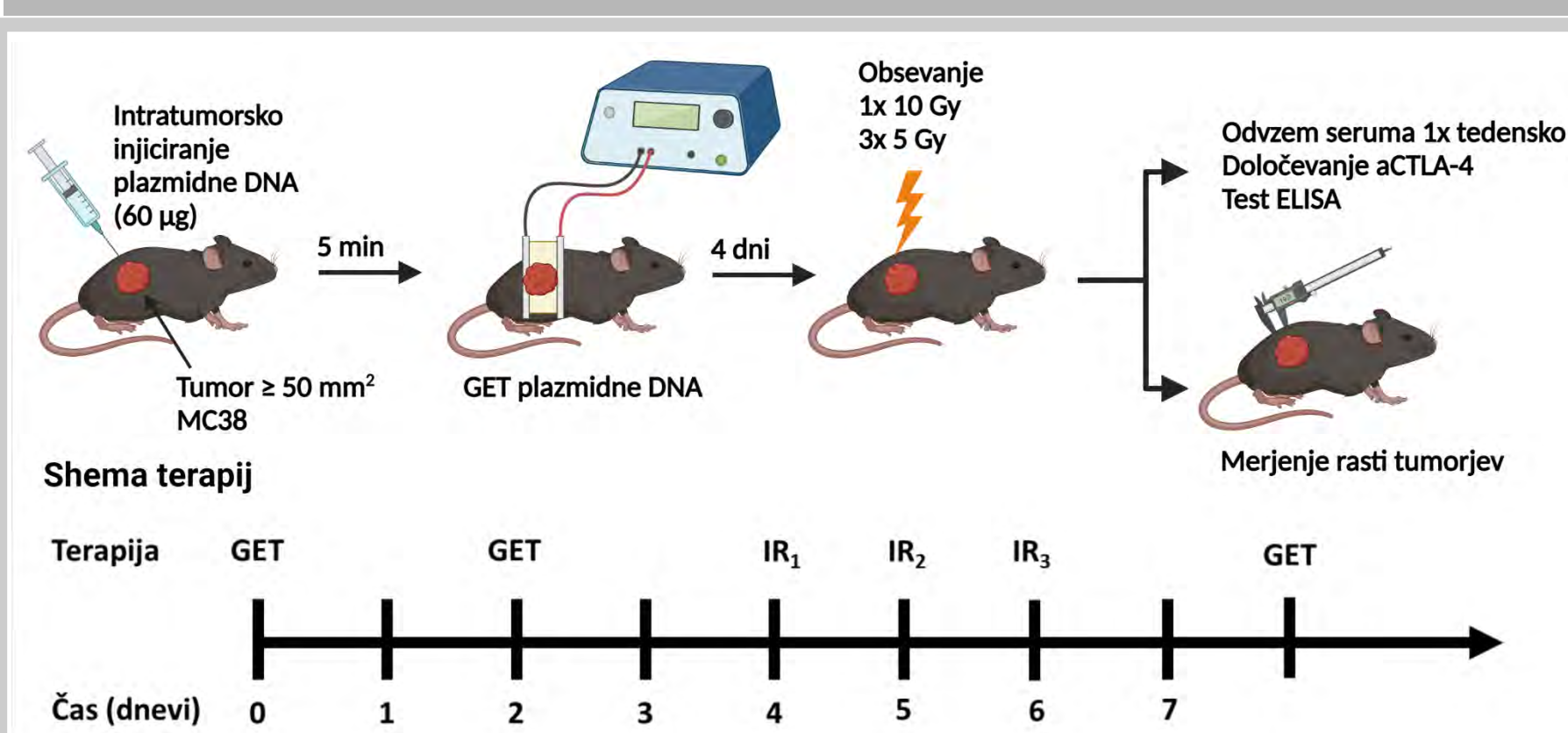
UVOD

Rekombinantna monoklonska protitelesa (mAbs), ki ciljajo imunske kontrolne točke (IKT) so med najbolj obetavnimi pristopi zdravljenja raka. Leta 2011 je bila odobrena uporaba sistemske infuzije protitelesa ipilimumab proti citotoksičnemu T-limfocitnemu antigenu-4 (CTLA-4) za zdravljenje melanoma, čemur je sledila odobritev več drugih mAbs, ki ciljajo tudi druge IKT. Prenos genov, ki kodirajo za mAbs predstavlja stroškovno učinkovito alternativo konvencionalni proizvodnji, čiščenju in sistemski infuziji le teh. Ta inovativni pristop uporablja DNA, ki kodira za mAbs, namesto infuzije samih protiteles, kar omogoča, da se le ta proizvajajo v pacientovem telesu tekom daljšega časovnega obdobja. Pokazalo se je tudi, da se z intratumorskim injiciranjem imunomodulatornih mAbs lahko izognemo visokim koncentracijam le teh v krvi in s tem povezano sistemsko toksičnostjo. Hkrati pa se lahko dosežejo višje intratumorske koncentracije v primerjavi s sistemsko infuzijo. Vendar so bile tudi pri tem pristopu potrebne pogoste aplikacije mAbs.

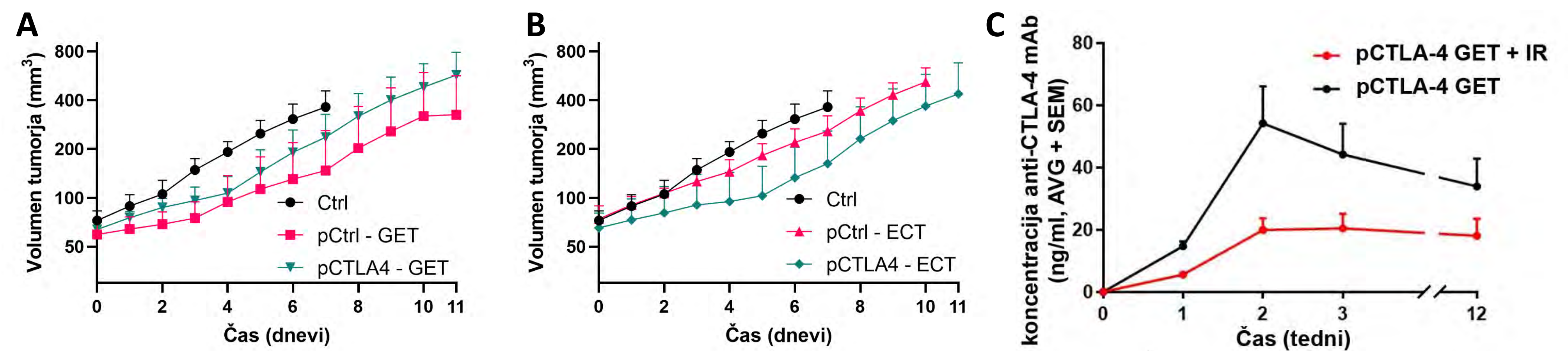
NAMEN

Namen raziskave je bil raziskati protitumorski učinek genskega elektroprenosa plazmidne DNA, ki kodira za rekombinantno protitelo proti CTLA-4 (pCTLA4), v kombinaciji z obsevanjem na mišje tumorje raka debelega črevesja MC38.

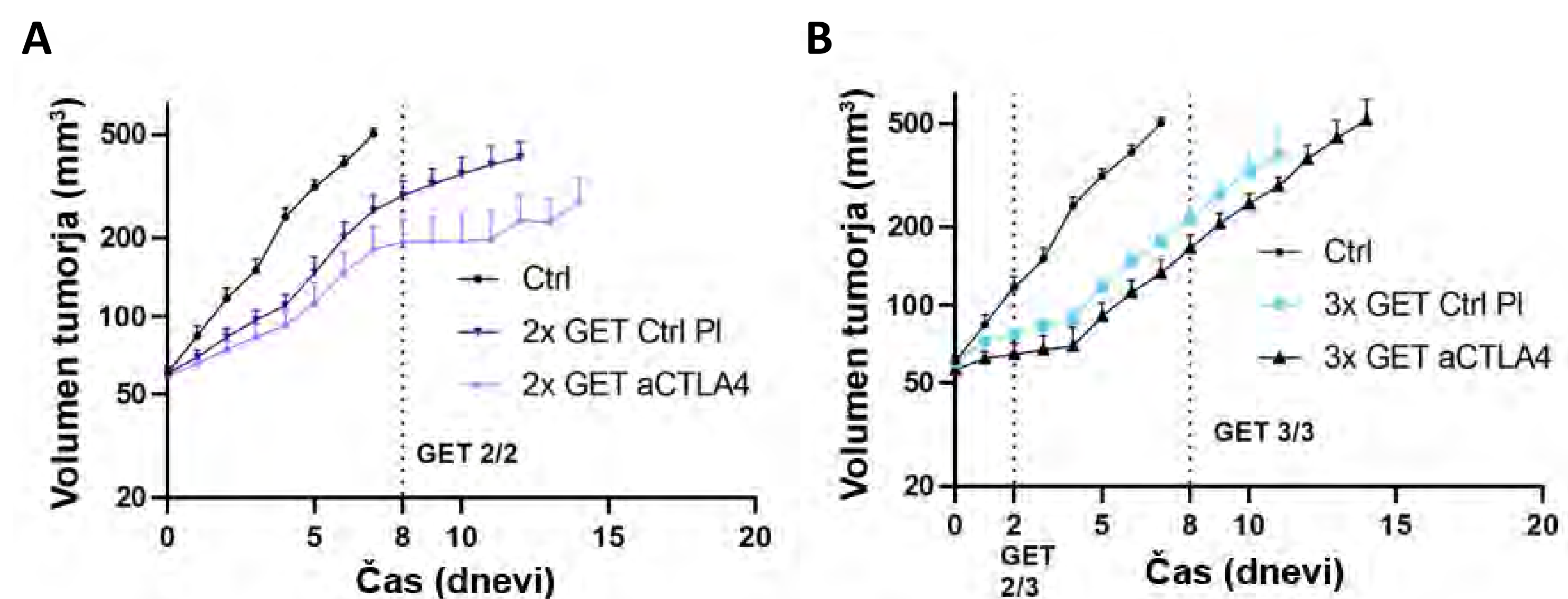
METODE



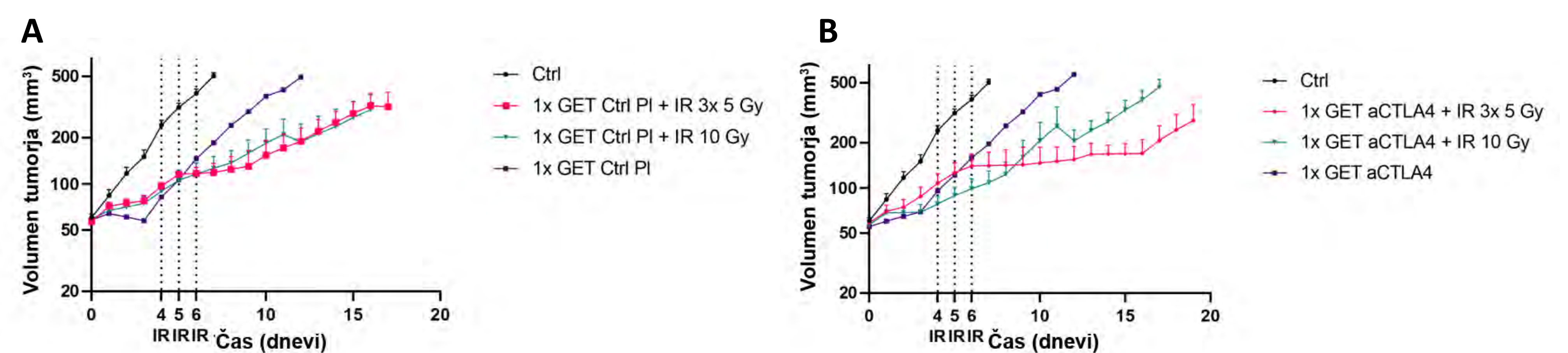
REZULTATI



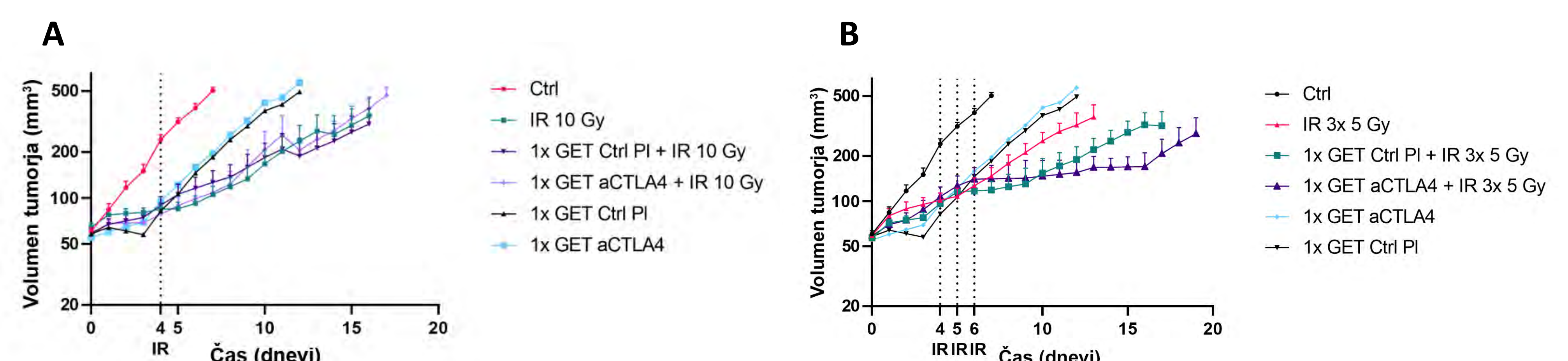
Protitumorski učinek in serumska koncentracija anti-CTLA-4 po genskem elektroprenosu pCTLA4. A) Protitumorski učinek genskega elektroprenosa kontrolne plazmidne DNA (pCtrl) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za genski elektroprenos (GET: 8 pulzov, 600 V/cm, 5 ms, 1 Hz), B) Protitumorski učinek genskega elektroprenosa kontrolne plazmidne DNA (pCtrl) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz), C) Koncentracija anti-CTLA-4 protiteles serumu miši po genskem elektroprenosu pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v tumorje in obsevanju tumorjev. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM.



Protitumorski učinek večkratnega genskega elektroprenosa pCTLA4. A) Protitumorski učinek dvakratnega genskega elektroprenosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz). B) Protitumorski učinek trikratnega genskega elektroprenosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz). Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM. GET 1 je bil izveden na dan 0. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM.



Protitumorski učinek genskega elektroprenosa pCtrl ali pCTLA4 v kombinaciji z obsevanjem. A) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektroprenosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem z enkratno dozo 10 Gy, ali frakcionirano dozo 3x 5 Gy. B) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektroprenosa plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem z enkratno dozo 10 Gy, ali frakcionirano dozo 3x 5 Gy. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM. GET je bil izveden na dan 0.



Protitumorski učinek genskega elektroprenosa pCtrl ali pCTLA4 v kombinaciji z obsevanjem. A) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektroprenosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ali pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem z enkratno dozo 10 Gy. B) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektroprenosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ali pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem s frakcionirano dozo 3x 5 Gy. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM. GET je bil izveden na dan 0.