

# IMUNOMODULATORNI UČINKI RADIOTERAPIJE IN GENSKEGA ELEKTROPRENOSA PLAZMIDNE DNA Z ZAPISOM ZA KEMOKINA CCL5 IN CCL17 NA MIŠJIH TUMORJIH

Tim Božič<sup>1</sup>, Lucija Kozjek Mencinger<sup>1</sup>, Simona Kranjc Brezar<sup>1,2</sup>, Maja Čemažar<sup>1,3</sup>,  
Boštjan Markelc<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, Ljubljana, 1000 Ljubljana, Slovenija

<sup>2</sup>Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, Ljubljana, 1000 Ljubljana, Slovenija;

<sup>3</sup>Fakulteta za zdravstvene vede, Univerza na Primorskem, Polje 42, Izola, 6310 Izola, Slovenija

<sup>4</sup>Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, 1000 Ljubljana, Slovenija

Elektronski naslov: tbozic@onko-i.si

---

Kemokini so majhni signalni proteini iz družine citokinov, ki inducirajo migracijo imunskih celic. Vrsta in stopnja infiltracije imunskih celic v tumorskem mikrookolju lahko vpliva na potek bolezni in korelira z učinkovitostjo imunoterapij pri bolnikih z rakom. Poleg tega ima tudi obsevanje tumorjev lahko pozitivne imunomodulatorne učinke. Iz navedenih razlogov genski elektroprenos (GET) plazmidne DNA z zapisom za vnetna kemokina CCL5 in CCL17 v kombinaciji s klasično radioterapijo tako predstavlja enega izmed potencialnih pristopov pri zdravljenju raka. Na celičnih kulturah *in vitro*, smo določili kemotaktične lastnosti kemokinov CCL5 in CCL17. Protitumorsko učinkovitost kombinirane terapije GET kemokinov in dveh obsevalnih režimov (enkratna doza 10 Gy ali frakcionirana doza 3x 5 Gy) smo raziskali na mišjih tumorskih modelih raka debelega črevesja CT26 in raka dojke 4T1 *in vivo*. Sestavo tumorskega mikrookolja po kombinirani terapiji smo določevali z imunofluorescenčnim barvanjem antigenov CD4, CD8 in CD31. Testi kemotakse so pokazali, da kemokina CCL5 in CCL17 lahko inducirata migracijo mišjih makrofagov RAW264.7 *in vitro*. Zaostanek v rasti tumorjev CT26 je bil statistično značilno daljši po kombinirani terapiji tumorjev z GET kemokinov pri obeh obsevalnih režimih, pri čemer smo dosegli tudi popolne odgovore tumorjev na zdravljenje. Pri tumorskem modelu 4T1 pa je le GET kemokinov v kombinaciji s frakcioniranim obsevanjem povzročil zaostanek v rasti tumorjev, vendar brez popolnih odgovorov. Primerjava stopnje infiltracije posameznih imunskih celic v tumorsko mikrookolje je pokazala, da se število CD4+ in citotoksičnih CD8+ T limfocitov pri obeh tumorskih modelih poveča po GET kemokinov in zmanjša po samem obsevanju. Zmanjšanje števila imunskih celic je bilo opaženo tudi pri kombinirani terapiji in korelira z zmanjšanjem CD31+ celic, ki označujejo žilje. Rezultati kažejo na potencial kemokinov v imunoterapiji raka, vendar je za njihovo implementacijo potrebna nadaljnja optimizacija kombinirane terapije.