

mgr Anna Sosnowska

**Zbadanie roli arginaz i mechanizmów przeciwnowotworowego działania
inhibitorów arginazy**

**Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. med. Jakub Gołęb

**Zakład Immunologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny**



**Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

Warszawa 2020

STRESZCZENIE

Coraz więcej danych wskazuje, że mechanizmy immunoregulacyjne w złożonym mikrośrodowisku nowotworu należą do głównych przeszkód w uzyskaniu skutecznej odpowiedzi klinicznej na immunoterapię. Między innymi, jedną z ważniejszych cech mikrośrodowiska nowotworu, która zaburza lokalną odpowiedź immunologiczną przeciwko komórkom nowotworowym, jest metabolizm aminokwasów, w tym L-argininy. Arginaza (ARG) jest enzymem degradującym L-argininę, która ma znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania limfocytów T, biorących udział w skutecznej przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. W mikrośrodowisku różnych typów nowotworów odnotowano wysoką aktywność ARG, a coraz więcej obserwacji wskazuje, że koreluje ona z niekorzystnymi wynikami klinicznymi chorych na nowotwory. Dlatego też, w ramach tego projektu skupiono się na zbadaniu roli ARG w mikrośrodowisku nowotworu oraz na badaniach mechanizmu hamowania ARG w celu zmniejszenia immunoregulacyjnych właściwości mikrośrodowiska nowotworu.

Ekspresję ARG zbadano szczegółowo w mikrośrodowisku mysiego guza płuc na różnych etapach progresji nowotworu. W rezultacie ekspresję ARG stwierdzono w komórkach szpikowych związanych z nowotworem, głównie w makrofagach. Podwyższona ekspresja ARG została powiązana z zaawansowanym stadium nowotworu i korelowała z upośledzoną proliferacją *in vivo* antygenowo specyficznych limfocytów T. Dodatkowo, stężenie L-argininy w osoczu zmniejszało się wraz z progresją nowotworu, co sugeruje podwyższoną aktywność ARG. W warunkach *in vitro* zbadano wpływ braku L-argininy w pożywce oraz wpływ rekombinowanej ARG1 na proces namnażania limfocytów T. Deficyt L-argininy spowodował upośledzoną proliferację limfocytów T, obniżenie ekspresji cząsteczek CD3ε i CD3ζ oraz zmniejszenie produkcji cytokin. Wszystkie zaobserwowane zmiany zostały zniesione pod wpływem działania inhibitorów ARG. Do wyjaśnienia immunomodulującego wpływu ARG1 na rozwój antygenowo swoistej odpowiedzi immunologicznej wykorzystano myszy transgeniczne z niedoborem ARG1. Uzyskane wyniki wskazują, że myszy z niedoborem ARG1 rozwijają lepszą odpowiedź immunologiczną i mają wyższy odsetek, a także liczbę limfocytów T naciekających guz. Wyniki przeprowadzonych badań ukazują również negatywny wpływ zwiększonej ekspresji ARG1 na wzrost guzów *in vivo*, powodując przyspieszoną progresję mysiego raka płuc i czerniaka. Ponadto *in vivo*

zbadano działanie przeciwnowotworowe nowego drobnocząsteczkowego inhibitora ARG OAT-1746 w modelu mysiego nowotworu płuc. Aktywność przeciwnowotworową OAT-1746 zbadano w monoterapii, jak również w połączeniu z innymi immunoterapiami, w tym z inhibitorem punktu kontrolnego anty-PD-1 i agonistą stymulatora genów interferonu (STING). Monoterapia z użyciem OAT-1746 znacząco zahamowała wzrost nowotworu, jak również wydłużyła przeżycie myszy. Ponadto, działanie to zostało spotęgowane w terapii skojarzonej. Ostatecznie zbadano mechanizm działania OAT-1746. Uzyskane wyniki sugerują, że OAT-1746 działa poprzez modyfikację proporcji określonych subpopulacji limfocytów T w mikrośrodowisku nowotworu, zwłaszcza poprzez przekierowanie równowagi w kierunku mniej immunosupresyjnego fenotypu limfocytów T.

Podsumowując, wyniki zawarte w niniejszej pracy doktorskiej wskazują, że aktywność ARG1 upośledza odpowiedź limfocytów T, oraz że modulacja właściwości mikrośrodowiska nowotworu poprzez hamowanie enzymatycznej aktywności ARG jest obiecującym podejściem immunoterapeutycznym, które wzmacnia przeciwnowotworową odpowiedź immunologiczną.