

**dr Agnieszka Graczyk-Jarzynka**  
**Zakład Immunologii**

## **Modulacja N-glikozylacji jako narzędzie zwiększające skuteczność terapii CAR-T**

Immunoterapia nowotworów cieszy się w ostatnich latach rosnącym zainteresowaniem. Prawdziwym przełomem w dziedzinie immunoterapii stało się opracowanie technologii chimerycznych receptorów antygenowych – w skrócie CAR (ang. chimeric antigen receptor). Metoda ta polega na genetycznej modyfikacji limfocytów T w celu ukierunkowania ich aktywności cytotoksycznej na komórki posiadające na swojej powierzchni antygen (odpowiednie białko) rozpoznawany przez receptor CAR. Rozpoznanie antygeny aktywuje potężny atak limfocytów CAR-T na komórki nowotworowe. Sam receptor CAR ma budowę modułową i składa się z domeny pochodzącej z przeciwciała odpowiedzialnej za rozpoznawanie antygeny, wewnętrznych domen aktywujących pochodzących od naturalnych komórek T oraz domen ko-stymulujących, które wpływają na ogólną odpowiedź limfocytów CAR-T. Warto zauważyć, że białka błonowe na powierzchni komórek nowotworowych, jak i na limfocytach CAR-T, pokryte są gęstą warstwą reszt cukrowych zwanej glikokaliksem. Reszty cukrowe dodawane są do białek m.in. w wyniku procesu nazywanego N-glikozylacją. Zaburzenia tego procesu w komórkach nowotworowych mogą spowodować, że stają się one niewidoczne dla komórek CAR-T i przez to odporne na tę formę terapii. W celu odwrócenia nieprawidłowej N-glikozylacji komórek nowotworowych, eksplorowano kilka opcji, takich jak modyfikacje genetyczne komórek nowotworowych i użycie substancji zwanej 2-deoksy-D-glukozą (2DG). To podejście znacząco zwiększyło skuteczność komórek CAR-T w rozpoznawaniu i eliminacji różnych typów komórek rakowych. W przypadku limfocytów T wiadomo, że ich aktywacja powoduje nasilenie wewnątrzkomórkowych procesów N-glikozylacji. Jednakże, niewiele wiadomo, w jaki sposób modulacja procesu N-glikozylacji może wpływać na aktywność limfocytów CAR-T, a szczególnie na ich zdolność rozpoznania nowotworów.

Nasze wstępne dane sugerują, że modyfikacja globalnej N-glikozylacji w komórkach CAR-T za pomocą substancji takich jak swansonina lub kifunezyna zwiększa skuteczność komórek CAR-T w walce z komórkami nowotworowymi. Zaobserwowano to w różnych aspektach funkcjonalności komórek CAR T, takich jak degranulacja komórek CAR-T, produkcja cytokin oraz zdolność komórek CAR-T do eliminacji komórek nowotworowych.

Nasza hipoteza badawcza zakłada, że ekspozycja komórek CAR-T na wybrane modulatory szlaku N-glikozylacji może indukować zmiany, prowadzące do wzrostu aktywności komórek CAR-T. W celu dokładniejszego poznania tego zjawiska w naszych badaniach zaplanowaliśmy identyfikację zmian w składzie N-glikanów na powierzchni komórek CAR-T po aktywacji i po zastosowaniu globalnych inhibitorów N-glikozylacji za pomocą zaawansowanej spektrometrii mas. Zbadamy, które enzymy N-glikozylacji są najbardziej zaangażowane w ten proces. Następnie użyjemy bardziej ukierunkowanych modyfikatorów N-glikozylacji, aby ocenić ich wpływ na funkcjonalność komórek CAR-T. Ponadto, planujemy zbadać, czy manipulacja genetyczna wybranych enzymów szlaku N-glikozylacji w komórkach CAR-T zwiększy ich potencjał do eliminacji komórek nowotworowych.

Głównym celem projektu jest odkrycie i opisanie zmian w profilu N-glikozylacji komórek CAR-T pojawiających się w odpowiedzi na rozpoznanie antygenów na komórce nowotworowej, a w szczególności tych, które po zastosowaniu globalnych inhibitorów tego procesu, poprawiają działanie limfocytów CAR T. Zbadanie tego procesu pomoże nam zidentyfikować, które z enzymów zaangażowanych w proces N-glikozylacji można wyłączyć w celu poprawienia rozpoznania komórek nowotworowych przez limfocyty CAR-T. Nasze badania w bardziej dalekosiężnej perspektywie mają na celu poprawienie skuteczności immunoterapii opartej na limfocytach CAR-T, a w szczególności jej działania w nowotworach litych, gdzie optymalne oddziaływania pomiędzy limfocytami CAR-T a komórkami nowotworowymi, wydają się być kluczowe dla powodzenia immunoterapii.