Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Az immunválasz módosítása kis molekulasúlyú anyagokkal és ezek hatása különböző daganattípusokra

Gulyás Dominik Ádám

Témavezetők: Dr. Lőrincz Márta és Dr. Dénes Béla

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2024.

Témavezetők:

……

Dr. Lőrincz Márta
Állatorvostudományi Egyetem,
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

……

Dr. Dénes Béla
Állatorvostudományi Egyetem,
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

……..

Gulyás Dominik Ádám

Tartalomjegyzék

1. Előzmények..... 3

2. Célkitűzések..... 6

3. Anyagok és módszerek 8

4. Eredmények és megbeszélés 13

5. Új tudományos eredmények..... 23

6. Az értekezés témájában született közlemények ... 25

1. Előzmények

A modern időkben a daganatos megbetegedések okozta elhalálozások száma a szív- és érrendszeri betegségek után a második leggyakoribb halálok a fejlett országokban. Számos jelenleg is alkalmazott módszer érhető el a különböző daganatok kezelésére, beleértve a lokális eljárásokat, mint a műtéti eltávolítás vagy a sugárterápia. Továbbá a szisztémás beavatkozásokat, például a citotoxikus szerek alkalmazását. Ezek az ún. hagyományos terápiás módszerek sok hátránnyal járnak, akár hatásosság, akár költséghatékonyság szempontjából. A daganatos sejtproliferációk esetében először a gazdaszervezet veleszületett immunrendszere próbálja megakadályozni a neoplasztikus sejtek osztódását. Az immunválasz elkerülése révén egyes daganatok képesek inaktiválni a tumor közvetlen környezetében jelenlévő T limfocitákat, így elősegítve a daganatos sejtek szabad proliferációját.

Az elmúlt két évtizedben az immunterápiás eljárások meghatározó szerepet töltenek be az onkológiai beavatkozások fejlődésében. A hatékonyság érdekében jelenleg ezeket a hagyományos terápiás módszerekkel (pl. műtéti beavatkozás vagy sugárkezelés) kombinálva

használják a daganatos betegségek gyógykezelése során. Hosszabb távon az a cél, hogy az immunrendszer manipulációjával elérhető kezelések monoterápiaként a klinikai gyakorlatban is megjelenjenek. Gyakorlatilag paradigmaváltásnak vagyunk tanúi. Ennek bizonyitéka a két kutató, James P. Allison és Tasuku Honjo orvosi Nobel-díja, amit a modern immunterápiás stratégiákban elért úttörő munkájukért kaptak 2018-ban. A veleszületett immunrendszer, különösen a dendritikus sejtek szerepének felismerése a daganatok elleni immunválaszban, szintén Nobel-díjat eredményezett 2011-ben.

Ismeretes, hogy a tumor-specifikus antigéneket felismerni képes T limfociták megtalálhatók a neoplasztikus lézió mikrokörnyezetében. Ugyanakkor a kialakult daganat immunszuppresszív környezetet képes kialakítani, amely az effektor T sejtek funkciócsökkenéséhez vezet. Az immunterápiás beavatkozások révén az immunrendszer „megerősödik”, lehetővé téve a tumor elpusztítását. Ez a terápia nemcsak a primer tumor helyén vált ki erőteljes daganatellenes választ, hanem hatékony a test más pontjain megjelenő áttétek ellen is. Az elmúlt években a különböző

immunterápiás beavatkozások hatékonyságát igazolták rosszindulatú, ún. malignus daganatok – előrehaladott melanoma, tüdőkarcinóma, gyomor adenokarcinóma és vesesejtes karcinóma – kezelésében.

Jelenleg számos immunterápiás eljárás áll rendelkezésre, amelyek közül kutatócsoportunk az *in situ* vakcinázás módszerét és annak működését vizsgálta. Kísérleteink során immunválaszt serkentő anyagokat injektáltunk lokálisan a daganatsejtek közé. Az *in situ* vakcinázás a tumor mikrokörnyezetében a tumorasszociált antigének felhasználásával képes specifikus adaptív immunválaszt kialakítani.

2. Célkitűzések

Kutatásaink során az *in situ* vakcinázás daganatképződésre gyakorolt hatását értékeltük különböző egérmodellek alkalmazásával. Célunk volt a különböző alacsony molekulasúlyú terápiás szerekkel történő kezelések hasonlóságainak és különbségeinek vizsgálata két daganattípus esetében. A hangsúlyt, az általunk fontosnak tartott paraméterek – a túlélési idő és arány, a primer tumor demarkációjának előfordulása és az áttétes progresszió – vizsgálatára helyeztük. A feltett kérdések megválaszolásának érdekében a következő célkitűzéseket fogalmaztuk meg:

1) A szakirodalmi adatok értékelése után döntöttünk az egér monoklonális anti-OX40 ellenanyag és a CpG (TLR-9 ligandum) kezelés hatékonyságának vizsgálata mellett. Az *in vivo* egérmodellben elvégzett kísérleteinkben, két, korábban nem használt sejtvonalat alkalmaztunk.

2) Továbbá célunk volt a lipopoliszacharid (TLR-4 ligandum) kezelés vizsgálata egy agresszív tumoros sejtvonalon, abból a célból, hogy egy eddig nem használt sejtvonal alkalmazásával is megerősítsük

vagy megcáfoljuk mások korábban publikált eredményeit.

3) Célúl tűztük ki a kereskedelmi forgalomban kapható TLR és RLR ligandként működő hajtű RNS (3p-hpRNS, RIG-I agonista) hatékonyságának vizsgálatát a daganatok kezelésében.

4) Különböző hajtűvégződésű nukleinsavak (negatív egyszálú RNS és egyszálú DNS) kipróbálása a daganatos megbetegedések kezelésére, mint eredeti ötlet, szintén céljaink között szerepelt.

3. Anyagok és módszerek

Vizsgálati terv

A vizsgálatok kezdetén a tumorsejteket *in vitro* körülmények között tenyésztettük. Ezt követően a korábbi kísérletek és szakirodalmi adatok alapján, előre meghatározott számú sejtet ültettünk be egerek bal vagy jobb combjába, bőr alá. A beültetés után a kísérleti állatokat véletlenszerűen osztottuk kontroll és kezelt csoportokba. Amikor a tumor átmérője elérte az 5-8 (vagy 8-12) mm-t, megkezdtük a kezelést, intratumorális injekció formájában. A kezeléseket minden csoportban további két alkalommal megismételtük, ugyanakkor a kontrollcsoport egerei (az utolsó kísérlet kivételével) nem kaptak injekciót. Az állatokat a kezelések után folyamatosan figyeltük. A tumorméretet és a fiziológiai paramétereket mind a kontroll, mind a kezelt csoportok egereinél feljegyeztük. Az egerek állapotát naponta értékeltük. Az elhullott állatokat felboncoltuk, majd a szervekből a későbbiekben szövettani vizsgálatot végeztünk. A kezelés hatékonyságát az állatok túlélési arányával, a primer tumor progressziójának és

morfológiájának változásával, valamint az áttétek alapján értékeltük.

Daganatos sejtvonalak

Kísérleteinkben két különböző tumorsejtvonalat alkalmaztunk. Az első esetben MB49 egér húgyhólyag tumor sejtvonallal dolgoztunk. A kísérlet megkezdése előtt az MB49 karcinóma sejtvonalat C57BL6/N egerekhez adaptáltuk. Összesen $1x10^7$ sejtet injektáltunk bőr alá, 0,2 ml szuszpenzióban, az egerek bal *musculus biceps femoris* régiójába. A második sejtvonal a Renca CRL-2947 vese adenokarcinóma volt. Ebben az esetben összesen $3x10^5$ sejtet implantáltunk az előbb ismertetett módon.

Kísérleti egerek

A disszertáció alapját képző kísérletek során összesen 30, 4-5 hetes, 17 g súlyú C57BL6/N nőstény egeret, és 102, 4-5 hetes, 17 g súlyú BALB/c nőstény egeret használtunk. Az állatok tartása és gondozása a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) Állat-egészségügyi Diagnosztikai Igazgatósága által kiadott „Laboratóriumi állatok gondozása és felhasználása” című

dokumentumban megfogalmazott irányelvek alapján történt.

Terápiás anyagok

Miután az implantált daganatok átmérője elérte az 5-8 (vagy 8-12) mm-t, megkezdtük az egerek intratumorális kezelését. A kezelésekhez használt koktélokat – a kereskedelmi forgalomban kapható nem metilált CpG oligodeoxinukleotidot (TLR9 ligand), patkányban termelt egér specifikus monoklonális anti-CD134/OX40L receptor ellenanyagot (anti-OX40), lipopoliszacharidot (LPS – TLR4 ligand), és az 5' trifoszfát hajtű RNS-t (3p-hpRNA – RIG-I ligand) – különböző kombinációkban és dózisokban alkalmaztuk. Ezen kívül, laboratóriumunkban – a „Molecular genetic analysis of populations, a practical approach" protokollja alapján – tisztított nukleinsavakat izoláltunk és használtunk. A nukleinsavakat több vírusból nyertük. Alkalmaztuk az influenza A vírus, teljes RNS-ét (IV-RNS), amely a PR8 egérhez adaptált influenza vírustörzsből származott, továbbá sertés parvovírus 1 izolátumból származó teljes DNS-t (PPV1-DNSS) is használtunk. A kezelésekhez az anyagokat

pirogénmentes vízben oldottuk fel, majd a daganatok központi részébe injektáltuk.

Kíméletes végpontok

Az állatkísérleteket a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állat-egészségügyi Diagnosztikai Igazgatósága állatkísérleti etikai bizottságának jóváhagyásával végeztük el. Az állatkísérleti protokollokat a Pest Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-biztonsági és Állat-egészségügyi Osztálya hagyta jóvá (engedélyszám: PE/EA/00922-7/2021). A kíséreltek során, amennyiben az egerek daganatainak mérete elérte a 20 mm-t, illetve, ha az állat krónikus fájdalom vagy szenvedés jeleit mutatta, továbbá egészségi állapotuk jelentősen romlott, az egereket CO_2 alkalmazásával túlaltattuk. Az állatok kiirtása a National Institute for Health (USA) által kiadott „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”-ben foglalt irányelvek szerint történt.

Post mortem adatgyűjtés

Az *in vivo* kísérletek során minden elhullott állatot felboncoltunk. A vizsgálatok a primer tumor méretének meghatározására, a belső szervek esetleges

makroszkóposan észlelhető változásainak felmérésére, valamint hasűri folyadékgyülem jelenlétének megállapítására irányultak. Az áttéteket és egyéb, a daganattal közvetlenül vagy közvetetten összefüggő elváltozásokat makroszkóposan és/vagy mikroszkóposan azonosítottuk, melyhez a primer tumoron kívül, a lépből, májból, vesékből, agyból és tüdőből vettünk mintát szövettani vizsgálatok céljából. Vizsgálataink során a tumorok konzisztenciájáról, méreteiről, környezetükről és az esetleges elhalásos vagy gyulladásos gócok jelenlétéről is gyűjtöttünk információt. A szervekből készült metszeteket hematoxilin-eozin festéssel tettük vizsgálhatóvá.

4. Eredmények és megbeszélés

Első kísérlet – MB49 sejtvonal

Ebben a vizsgálatban két patogén asszociált molekuláris mintázatra (PAMP) építettük a kezeléseinket: a metilálatlan CpG oligonukleotidra (CpG – TLR9 ligand), és a lipopoliszacharidra (LPS – TLR4 ligand). Ezeket kombináltuk egy agonista monoklonális ellenanyaggal, amely specifikusan képes kötődni az OX40 receptorhoz (anti-OX40), amit aktivált T sejtek expresszálnak. Ugyanis korábbi vizsgálatok a CpG + anti-OX40 kombinációval, illetve az LPS kezeléssel is kedvező eredményeket írtak le különböző daganatok kezelése esetén. Erre alapozva feltételeztük, hogy az anti-OX40 és a CpG kombinációja képes lehet tumorellenes immunválaszt kiváltani, továbbá felszámolni a már kialakult daganatokat és megakadályozni az áttétek kialakulását is. A korábbi pozitív tapasztalatok alapján LPS-t is kombináltunk anti-OX40-el, és szintén kipróbáltunk kezelésként.

Túlélési idők értékelése

A kísérleti időszak 120 napig tartott, ami humán életidőben mérve hozzávetőlegesen tíz évnek felel meg.

A hatvanadik napra a kontroll és LPS + anti-OX40 csoportokban az összes állat elhullott, míg öt egyed a CpG + anti-OX40 csoportban életben volt. A következő 60 nap során további két egér elhullott el (vagy el kellett altatni romló egészségi állapotuk miatt), daganatos elváltozások nélkül. Figyelemre méltó, hogy a CpG + anti-OX40 csoportból három egér a kísérlet végéig életben maradt. A CpG + anti-OX40 csoport medián túlélési ideje (69,5 nap) szignifikánsan meghaladta a kontroll csoportét (28,5 nap, $p<0,0042$) és az LPS + anti-OX40 csoportét (32 nap, $p=0,0018$). Ugyanakkor a LPS + anti-OX40 és a kontroll csoportok eredményei között nem volt szignifikáns különbség.

A primer tumor méretváltozásai és megjelenése

Három nappal az utolsó kezelést követően a primer tumorok méretét minden kísérleti csoportban lemértük és összehasonlítottuk a kezelés előtti méretekkel (5-8 mm). A CpG + anti-OX40 kezeléssel kapcsolatban ígéretes eredményeket kaptunk, mivel 10 egérből 4 esetében a tumor mérete 20-50%-kal csökkent, további 1 esetben teljesen eltűnt, míg 2 esetben a szöveti proliferáció leállt. Ezzel szemben, mind az LPS + anti-OX40, mind a kontroll

csoportokban a daganatok átlagos átmérője jelentősen növekedett. A kontroll csoportban 5 állatot el kellett altatni, mivel a tumor mérete meghaladta 20 mm-es küszöbértéket.

Áttétek előfordulása

A tüdőáttétek tekintetében is hasonlóan kedvező eredményeket figyeltünk meg a CpG + anti-OX40 kezelést követően. Ebben a csoportban az áttétek előfordulása öt esetben (50%) volt kimutatható. Ezzel szemben mind az LPS + anti-OX40-el kezelt, mind a kontroll csoportokban minden esetben tüdőáttéteket találtunk. Májáttétet a CpG + anti-OX40 koktéllal kezelt egereknél két esetben (20%), az LPS + anti-OX40 kezelt csoportban hat esetben (60%), míg a kontroll csoportban négy esetben (40%) figyeltünk meg. Vesedaganatot 3 esetben találtunk: egy esetben a CpG + anti-OX40 csoportban és két esetben az LPS + anti-OX40-nel kezelt csoportban. Viszont a kontroll csoport egereiben nem találtunk vesedaganatot. Sem a lépben, sem az agyszövetben nem találtunk daganatsejt proliferációjóra utaló jeleket. Összességében ezek az eredmények azt mutatják, hogy a CpG + anti-OX40 koktéllal kezelt

csoportban alacsonyabb az áttétek kialakulásának gyakorisága az LPS + anti-OX40 és a kontroll csoportokhoz képest.

Második kísérlet – Renca sejtvonal I.

Szakirodalmi adatokra és korábbi eredményeinkre alapozva feltételeztük, hogy az anti-OX40 és CpG egyidejű alkalmazása daganatellenes immunválasz kiváltására képes. Ugyanakkor kiderült, hogy a LPS, az alkalmazott koncentrációban, az általunk beültetett rosszindulatú daganat esetében hatástalan volt. Ebből kifolyólag a CpG mellett, egy RIG-I ligandum (3p-hpRNA) hatékonyságának vizsgálatát is megkezdtük. Ugyanis a RIG-I ligandum alternatív útvonalakon keresztül képes aktiválni a tumor sejtek által elnyomott immunválaszt, valamint gátolni az immunválaszt akadályozó regulátor sejteket.

Túlélési idők értékelése

A kísérletet 28 nappal a tumor implantációját követően fejeztük be, vagyis az előzetes terveinkhez képest korábban. Ennek egyik oka a tumor rendkívül agresszív növekedése, valamint az, hogy a daganat sok esetben az

állatok hasürege felé kezdett növekedni. Ennek következtében a tumorok detektálása nehézségekbe ütközött. Az egerek többségében (30-ból 28 esetben) a 26. napon az elsődleges tumor mérete meghaladta a meghatározott 20 mm-es „kíméletes végpontot”, ami az állatok eutanáziáját tette szükségessé. Az utolsó két egeret (mindkét kezelési csoportból egy-egy) két nappal később altattuk el. Feltételezhető, hogy a kezelések késői megkezdése (a tumor implantációját követő 14. napon) hozzájárult a daganat visszafordíthatatlan progressziójához.

A primer tumor méretváltozásai és megjelenése

A primer tumor méreteit a kezelések megkezdése előtt, valamint az utolsó kezelést követően hat nappal mértük mindhárom kísérleti csoportban. Egyik kezelés sem mutatott statisztikailag szignifikáns hatást a daganat növekedésére. Ugyanakkor érdekes különbségek jelentkeztek a kezelt és kezeletlen csoportok között, ami a primer tumorok morfológiáját és a metasztatikus progressziót illeti. A CpG + anti-OX40 és a CpG + 3p-hpRNA kezelt csoportokban az elsődleges tumorok kezdeti demarkáció jeleit mutatták, míg a

kontrollcsoportban a daganatok diffúz megjelenését figyeltünk meg.

Áttétek előfordulása

A szakirodalmi adatok szerint a Renca sejtvonalak hagyományosan csak intravénás vagy veseszövetbe való injektálást követően indukálnak metasztázisokat. Vizsgálataink azt mutatták, hogy a bőr alá implantált daganatsejtek esetében is megjelentek az áttétek. A szövettani vizsgálatok során a kezelt és a kontroll csoportokból származó egerek tüdő, vese és máj mintáiban a metasztázisok előfordulásának gyakoriságát is értékeltük. A kontroll csoportban az egerek 70%-ban találtunk áttéteket a tüdőszövetben, míg a kezelt csoportokban egyetlen esetben sem. Áttétek kizárólag a tüdőben voltak kimutathatók.

Harmadik kísérlet – Renca sejtvonal II.

A korábbi két kipróbált kezelés (CpG + anti-OX40 és CpG + 3p-hpRNA) mellett, további három kezelési kombinációt is alkalmaztunk (3p-hpRNA önmagában, IV-RNA + anti-OX40, és PPV1-DNS + anti-OX40). Figyelembe véve a Renca CRL-2947 sejtvonal agresszív

természetét, a kezelést a korábbi kísérlethez képest korábban kezdtük. Az elsődleges tumor méreteit a kezelést követően nem csak egyszer, hanem négy alkalommal mértük. Ezzel lehetővé vált a kezelések hatásosságának időbeli meghatározása. Az eredmények minden vizsgált paraméter tekintetében kedvezőek voltak az előző kísérlethez képest.

Túlélési idők értékelése

A tumor implantáció után 38 nappal a kezeletlen csoport egereinek mindössze 20%-a maradt életben. A különböző kezelési csoportok túlélési arányai a következők voltak: CpG + anti-OX40: 70% (szignifikáns, p=0,0103), CpG + 3p-hpRNA: 50% (nem szignifikáns), 3p-hpRNA: 50% (szignifikáns, p=0,0467), IV-RNA + anti-OX40: 60% (szignifikáns, p=0,0349), és PPV1-DNS + anti-OX40: 40% (nem szignifikáns). A túlélési időket tekintve a CpG + anti-OX40, 3p-hpRNA és IV-RNA + anti-OX40 csoportok statisztikailag szignifikánsan magasabb medián túlélési időket mutattak a kezeletlen csoporthoz képest.

A primer tumor méretváltozásai és megjelenése

A medián túlélési idő mellett a primer tumorok méretváltozásait is vizsgáltuk. A daganatok méreteit a beültetés után a 17., 24., 31. és a 38. napon mértük. Ezzel értékeltük a kezelt és kontrollcsoportok közötti különbségeket. A 17. napon a CpG + anti-OX40, CpG + 3p-hpRNA, 3p-hpRNA és IV-RNS + anti-OX40 csoportok nem mutattak szignifikáns különbségeket az elsődleges daganat méretében. Ugyanakkor a PPV1-DNS + anti-OX40 ($p=0,0014$) csoport szignifikánsan nagyobb tumor méreteket mutatott a kontrollcsoporthoz képest. A 24. napon jelentős különbségeket tapasztaltunk. A CpG + anti-OX40 csoport ($p=0,0001$), a CpG + 3p-hpRNA csoport ($p<0,0001$), az IV-RNS + anti-OX40 csoport ($p=0,0002$) és a PPV1-DNS + anti-OX40 csoport ($p=0,0146$) szignifikánsan kisebb tumor méreteket mutattak a kontroll csoportban mért értékekhez képest. A 3p-hpRNA csoport ekkor sem mutatott szignifikáns különbséget. A 31. napon hasonló tendenciát tapasztaltunk, de kevésbé pozitív eredményekkel. Ezen a mérési napon a CpG + anti-OX40 és CpG + 3p-hpRNA csoportok különböztek szignifikánsan (p-értékek: 0,0007 és 0,0006). A 3p-hpRNA csoport továbbra sem mutatott

szignifikáns különbségeket, de az IV-RNS + anti-OX40 és PPV1-DNS + anti-OX40 csoportok eredményei sem voltak már szignifikánsak ezen a napon. A 38. napon az alacsony mintaszám nem volt elegendő a statisztikai szignifikancia kimutatásához. A CpG + anti-OX40, CpG + 3p-hpRNA, 3p-hpRNA, IV-RNS + anti-OX40 és PPV1-DNA + anti-OX40 csoportok egyike sem mutatott szignifikáns különbségeket. Ebben a kontextusban megfigyeltük, hogy minden kezelés (kivéve a 3p-hpRNA csoportot) legalább egy ponton pozitív hatást gyakorolt az elsődleges tumor méretváltozásaira. Azonban a kezelés hatásainak megszűnése után a kezelt egerekben is megindult a tumorok növekedése.

Metasztázisok előfordulása

A metasztázisok előfordulása a CpG + anti-OX40, CpG + 3p-hpRNA, IV-RNS + anti-OX40 és 3p-hpRNA csoportokban 25,0%, 33,3%, 12,5%, illetve 37,5% volt. A kontroll, PBS-el kezelt csoportban az egerek 77,7%-ál találtunk metasztázisokat. A PPV1-DNS + anti-OX40 csoportban (62,5%) kevesebb áttét fordult elő a kezeletlen csoporthoz képest, viszont magasabb volt az előfordulás a többi kezelt csoporthoz viszonyítva.

Megbeszélés

Vizsgálataink során pozitív eredményeket értünk el az egér húgyhólyag-karcinóma kezelésében a CpG és az agonista anti-OX40 alkalmazásával, ami bíztató a TLR agonisták és antagonisták további kutatásait illetően. A különböző TLR és RLR ligandumok (CpG, 3p-hpRNA, IV-RNS, PPV1-DNS), valamint az agonista anti-OX40 kombinációinak alkalmazása a Renca sejtekkel végzett kísérleteink során szintén ígéretes eredményeket mutatnak; és megerősítik azt az elképzelést, hogy az ezekkel az anyagokkal végzett kezeléseknek a daganat terápiában komoly szerepük lehet. Az *in situ* vakcinázás a daganat antigénjeinek ismeretlensége ellenére is specifikusságot és hatásos terápiát kínálhat, úgy az embergyógyászatban, mint az állatorvoslásban. Az elért eredmények – beleértve a megnövekedett túlélési időt, továbbá az elsődleges daganatok méretének és az áttétek előfordulásának csökkenését – szilárd alapot biztosítanak további kutatásokhoz. A terápiás eredmények a kezelési protokollok finomításával tovább javíthatók.

5. Új tudományos eredmények

1. Először végeztünk kombinált anti-OX40 és CpG (TLR-9 ligand) kezelést két *in vivo* egérmodell alkalmazásával (MB49 sejtvonalból származó hólyagkarcinóma és Renca CRL-2947 sejtvonalból származó vese adenokarcinóma). Mindkét esetben jelentős javulást értünk el: a primer tumorok mérete szignifikánsan csökkent, a túlélési idő szignifikánsan meghosszabbodott, továbbá a korai demarkáció jeleit lehetett megfigyelni és az áttétek előfordulása tendenciózusan csökkent.

2. Másoktól eltérően negatív eredményeket kaptunk az anti-OX40 kezeléssel kombinált LPS (TLR-4 ligand) esetében. A kezelések nem hoztak kedvező eredményeket az egér hólyagrák modellben, a tumorok mérete és demarkációja, az áttétek előfordulása és a túlélési idők hossza tekintetében sem.

3. Először vizsgáltunk harpin RNS (3p-hpRNS, RIG-I agonista) kezelést önmagában és CpG-vel kombinálva egér vese adenokarcinóma daganat modellben. Mindkét kezelés az anti-OX40 és a CpG kezeléshez

hasonló pozitív eredményeket adott, beleértve a primer tumor méretének csökkenését és a korai demarkáció előfordulását (tendenciózusan); az áttétek előfordulásának csökkenését (tendenciózusan) és a túlélési idő meghosszabbodását (szignifikánsan).

4. Először vizsgáltunk nukleinsavat (PR8 egérhez adaptált influenzavírus törzsből izolált influenzavírus RNS-t és az Immunológiai Kutatócsoport által izolált sertés parvovírus 1 típusú DNS-t) egér vese adenokarcinóma modell kezelésére anti-OX40-nel kombinálva. Mindkét kezelés hatására szignifikánsan csökkent a primer tumor mérete, megfigyelhető volt a korai demarkáció, tendenciózusan csökkent az áttétek előfordulása és a túlélési idő meghosszabbodott (RNS – szignifikáns, DNS – tendencia).

6. Az értekezés témájában született közlemények

1. Gulyás D., Kovács G., Jankovics I., Hidvégi M., Dénes B., Kálfalvy-Molnár L., Nagypál R., Lőrincz M.: **Antimetastatic effect of intratumoral Treg antagonists in mice with renal cancer.** Acta Vet Hung. 2024 Jun 18. *doi: 10.1556/004.2024.01037.*

2. Gulyás D., Földi D., Kovács G, Dénes B., Lőrincz M.: **A különböző immunológiai alapú terápiák alkalmazása a daganatok elleni küzdelemben (Utilization of various immunotherapies against cancer)**; Magyar Állatorvosok Lapja, 146 (3). pp. 167-180. ISSN 0025-004X. (2024.03). *doi: 10.56385/magyallorv.2024.03.167-180.*

3. Gulyás D., Kovács G., Jankovics I., Mészáros L., Lőrincz M., Dénes B.: **Effects of the combination of a monoclonal agonistic mouse anti-OX40 antibody and toll-like receptor agonists: Unmethylated CpG and LPS on an MB49 bladder cancer cell line in a mouse model.** PLoS One. 2022 Jul 8;17(7):e0270802. *doi: 10.1371/journal.pone.0270802.*