

## Az „affinitáshangolt” HER2-specifikus CAR T sejtek tumorelles hatást mutatnak in vitro emlőtumor modellben

A kiméra antigénreceptorokkal (CAR) módosított T sejtek alkalmazásának egy jelentős korlátja az úgynevezett on-target/off-tumor hatás, melyben a CAR T sejtek citotoxikus választ indukálnak a tumor-asszociált antigént (TAA) kismértékben kifejező normál szövet ellen. Azt feltételezzük, hogy az a CAR receptorok „affinitáshangolásával” elő lehet állítani olyan effektorokat, amelyek még felismerik a tumort, ugyanakkor már nem aktiválódnak a normál sejtekre jellemző kis TAA denzitás mellett. Ennek érdekében jelen kutatásunkban különböző affinitású HER2 specifikus CAR-okkal módosítottuk a T sejteket, majd vizsgáltuk in vitro hatékonyságukat HER2 target jelenlétében.

Kísérleteinkben a humán PBMC-t retrovirális transzdukcióval módosítottuk különböző affinitású II. generációs HER2 specifikus CAR-okkal (HER2<sup>5+</sup>-; HER2<sup>4+</sup>-; HER2<sup>3+</sup>-; HER2<sup>2+</sup>-; HER2<sup>+</sup>-CARok). A konstruktok hasonló mértékben (~20%) expresszáldottak a T sejtek felszínén. Ezt követően klasszikus immunológiai módszerekkel vizsgáltuk a különböző affinitású HER2-CAR T sejtek aktiválódását (IFN $\gamma$  és IL2 ELISA) és tumorelles hatását (ölési esszé) immobilizált HER2, illetve HER2-t expresszáldó MDA-HER2 és JIMT-1 emlőtumor sejtvonalak jelenlétében. Kontroll targetként HER2 negatív MDA, kontroll effektorként nem módosított T sejteket használtunk.

Megállapítottuk, hogy 1 $\mu$ g/ml immobilizált HER2 jelenlétében a CAR T sejtek által szekretált IFN $\gamma$  mennyisége a konstruktok affinitásával arányosan nőtt. Ugyanakkor, az IL2 koncentrációt vizsgálva azt találtuk, hogy az affinitás növelésével az IL2 szekréció szaturálódott (HER2<sup>3+</sup>, HER2<sup>4+</sup> és HER2<sup>5+</sup>-CAR kultúrák). A HER2-pozitív MDA-HER2 és JIMT-1 emlőtumor sejtvonalak jelenlétében hasonló tendenciákat láttunk azzal a különbséggel, hogy a HER2<sup>3+</sup>-CAR-ok rendre magasabb fokú citokin szekréciót indukáltak, mint az affinisabb HER2<sup>4+</sup>-CAR-ok. Végezetül megállapítottuk, hogy a legkisebb affinitású HER2<sup>+</sup>-CAR T sejt kivételével az összes vizsgált konstruktt sikeresen eliminálta a target sejteket, ugyanakkor, az ölési hatékonyságok nem különböztek szignifikánsan.

Kísérleteinkben sikeresen állítottunk elő különböző affinitású HER2 specifikus CAR-okat kifejező humán T sejt készítményeket, amelyek egy kivételével (HER2<sup>+</sup>-CAR) felismerték és eliminálták a HER2-t kifejező tumorsejteket. Jelen eredményeinkre alapozva a jövőben szeretnénk az effektor sejtek aktiválódását a HER2-t kismértékben expresszáldó normál szöveti sejtek ellen is vizsgálni, majd eredményeinket állatkísérletes modellben validálni.