

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Molekularni mehanizmi imunološkog djelovanja PVR (CD155) u virusnoj i tumorskoj patogenezi		
Trajanje projekta	01.09.2018 (ili kasniji datum izdavanja dozvole) -01.09.2022.		
Ključne riječi (najviše do 5)	PVR, citomegalovirus, imunološki nadzor, tumor		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):		
	Temeljno istraživanje	da	ne
	Translacijska i primijenjena istraživanja	da	ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja	da	ne
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje	da	ne
	Očuvanje vrste	da	ne
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje	da	ne
	Forenzička ispitivanja	da	ne
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima	da	ne
Opišite ciljeve projekta (na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Predloženo originalno znanstveno istraživanje usmjereno je na molekularne mehanizme imunološkog djelovanja proteina PVR(CD155) u virusnoj i tumorskoj patogenezi. PVR je ligand za inhibirajuće (TIGIT) i aktivirajuće (DNAM-1) receptore. Cilj prvog dijela istraživanja je odrediti utjecaj citomegalovirusa (CMV) na regulaciju PVR-a i odrediti posljedice te regulacije na imunološki odgovor <i>in vivo</i> . U tu svrhu ispitat će se podložnost mišjeg citomegalovirusa (MCMV) s uklonjenim m154-genom, obzirom da isti utječe na PVR, komponentama prirodnog i stečenog imunološkog odgovora. U drugom dijelu istraživanja imunobiologije proteina PVR i njegovih receptora, koristit će se nekoliko prethodno razvijenih monoklonskih antitijela na humani PVR. Naime, dokazano je njihovo snažno antitumorsko djelovanje na tumorske stanične linije <i>in vitro</i> . Cilj projekta je ispitati njihovu potencijalnu učinkovitost u <i>in vivo</i> kontekstu.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Očekuje se da će dobiveni rezultati proširiti spoznaje o regulaciji PVR-a i njegovom značaju u imunološkom nadzoru, a dugoročno pridonijeti translaciji tog znanja u razvoj novih imunoterapeutskih pripravaka. Jedan od ciljeva projekta je i karakterizacija protutijela specifičnog za humani PVR, kako bi se koristilo kao alat u ciljanoj tumorskoj terapiji. Ideja je zasnovana na činjenici da mnogi tumori hiper-eksprimiraju PVR, što bi moglo biti od koristi kod razvoja antitumorskih pripravaka zasnovanih na protutijelima.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	U istraživanju će se koristiti laboratorijski miševi. Približan broj miševa koji se planiraju koristiti u istraživanju tijekom četiri godine je 1134.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Životinjama će biti injiciran mišji citomegalovirus te će u određenom vremenskom periodu nakon infekcije biti usmrćene, a njihovi organi, tkiva ili stanice analizirani. Pojedinih grupama životinja će biti injicirana protutijela u svrhu deplecije/blokade pojedinih staničnih populacija/receptora. Moguća je prolazna blaga nelagoda neposredno nakon injekcije te će se životinje pratiti nakon injiciranja. Očekivana razina težine postupka za ovaj dio projekta je blaga (ukupno približno 870 životinja). U dijelu projekta koji uključuje ispitivanje anti-tumorskog djelovanja anti-PVR protutijela, očekivana razina težine postupka je umjerena (ukupno približno 264 životinja) zbog prisustva tumorske mase supkutano na pokusnim životinjama i mogućeg razvoja reakcije GVHD.		
Primjena načela 3R			
1. Zamjena	Životinje će se koristiti s obzirom da su citomegalovirusi strogo specifični za vrstu te ne postoje druge vrste podložne MCMV-u na		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	kojima bi se mogla provoditi predložena istraživanja. Iako će većina molekularnih mehanizama biti uspostavljena na <i>in vitro</i> modelima, oni ne mogu u potpunosti zamijeniti <i>in vivo</i> pokuse, koji omogućuju rasvjetljavanje složenih interakcija između imunoloških staničnih receptora i populacija stanica imunološkog sustava, koje su temeljni fokus ovog projekta. Samo MCMV <i>in vivo</i> model istraživače može dovesti do funkcionalnog rezultata PVR deregulacije i tako im dati vrijedne informacije o HCMV- i tumorskoj imunomodulaciji ekspresije PVR-a. MCMV i HCMV imaju velik broj očuvanih funkcionalnih homologa. Također, i sama molekula PVR, zajedno sa svojim glavnim interakcijskim partnerima TIGIT i DNAM-1, je u potpunosti očuvana između miševa i ljudi.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	U pojedinim grupama životinjama uključenim u istraživanje koristit će se najmanji mogući broj životinja koji omogućava dobivanje statistički relevantnih podataka.
3. Pобољшanje Objasniti izbor vrsta i zašto su korišteni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve. Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje.	Citomegalovirusi su specifični za vrstu, a infekcija miševa MCMV-om je najčešće korišteni model za izučavanje HCMV infekcije, s obzirom na veliku sličnost MCMV-a i HCMV-a u imunobiologiji i patogenezi. Stoga u našem istraživanju možemo koristiti samo predloženi mišji model. Također, humana anti-PVR protutijela s potencijalnim anti-tumorskim učinkom ne možemo ispitivati na ljudima bez preliminarnih rezultata dobivenih korištenjem humaniziranog mišjeg modela. U planiranom istraživanju očekivana razina težine postupaka je blaga/umjerena. Životinje će po injiciranju biti praćene na znakove nelagode ili stresa koji su jači od blagih/umjerenih bez brzog oporavka te će u slučaju istih životinje biti usmrćene sukladno važećoj regulativi. Općenito, očekuje se da će životinje osjetiti samo BLAGU/UMJERENU nelagodu te će biti usmrćene ako problemi sa zdravljem ili dobrobiti prerastu tu razinu. Tijekom pokusa životinje će biti smještene u grupama u individualno ventiliranim kavezima. Na kraju pokusa životinje će biti eutanazirane sukladno važećoj regulativi.