

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/290



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	L1-2402
Naslov projekta	Dendritične celice - prožilke in oblikovalke celičnih imunskih odzivov
Vodja projekta	1302 Matjaž Jeras
Tip projekta	L Aplikativni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4173
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	311 Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	1683 CELICA, biomedicinski center, d.o.o.
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.09 Farmacija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	3.01
- Veda	3 Medicinske vede
- Področje	3.01 Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

V zadnjih letih je prišlo do velikih sprememb v razumevanju enega najaktualnejših poglavij v imunologiji, to je imunske tolerance. Dendritične celice (DC) in limfociti T, ki so jih do nedavna povezovali predvsem z aktivacijo imunskega odziva, so v zadnjem času postali zelo pomembni zaradi njihove ključne vloge pri vzpostavitvi in vzdrževanju imunske tolerance. Odkritje naravno prisotnih CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatornih limfocitov T (Treg) ter periferno inducibilnih celic Tr1, je skupaj z opredelitvijo takojmenovanih

tolerogenih dendritičnih celic, pomembno spremenilo razumevanje imunske tolerance. S poznavanjem interakcijskih odnosov med omenjenima vrstama celic, ki so nujni za nastanek tolerance v okviru imunskega sistema, pa se porajajo tudi možnosti za njihovo klinično uporabo (tolerogene DC in/ali regulatorni limfociti T), in sicer za modulacijo imunskih odzivov pri vrstah bolezenskih stanj (avtoimunske in kronične vnetne bolezni, presaditve alogenskih organov in tkiv).

Za doseg te obetavnih aplikacij pa je predvsem pomemben razvoj učinkovitih modelov za pridobitev stabilnih tolerogenih dendritičnih celic, ki so sposobne antigensko specifično inducirati nastanek limfocitov T *in vitro* ter za ekspanzijo slednjih. Tolerogene dendritične celice lahko pripravimo z uporabo določenih imunosupresivnih in protivnetnih učinkovin ter citokinov, ki jih dodajamo v celične kulture med njihovo diferenciacijo. Tudi regulatorne limfocite T, še posebej inducibilne celice Tr1, lahko pod posebnimi pogoji pripravimo in namnožimo *in vitro* oziroma *ex vivo*. Izkazalo se je, da so med različnimi stimulatorji njihovega nastanka, med katerimi najpogosteje uporabljamo nezrele, alternativno dozorele in tolerogene DC, pri čemer so najučinkovitejše prav slednje.

Cilj projekta je priprava optimiziranih modelov *in vitro* za pridobitev izdatnih količin stabilnih tolerogenih dendritičnih celic, ki bodo odporne na zorenje. Take DC bomo pripravili s pomočjo, do sedaj v ta namen še neraziskanih, farmakoloških učinkovin in imunosupresivnih biomolekul. Natančno bomo raziskali mehanizme njihove tolerogene preobrazbe, jih fenotipsko in funkcijsko opredelili in preizkusili njihovo sposobnost za indukcijo potencialno klinično uporabnih regulatornih limfocitov T (Tr1) *in vitro*.

ANG

During the last few years, major changes in understanding of one of today's hottest topics in immunology, namely the immune tolerance, took place. Dendritic cells (DCs) and T cells that have previously been predominantly linked to immune activation, have recently become major players in establishing and maintaining the immune tolerance. The discovery of naturally occurring CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory and peripherally inducible Tr1 T lymphocyte subsets, along with characterization of the so-called tolerogenic dendritic cell subsets, importantly changed the understanding of immune tolerance. By knowing the mutual dependence between both cell types which is in most cases essential for the onset of immune tolerance, the possibilities for potential clinical use of both, tolerant DCs and regulatory T cells are arising. These cells could be used for modulation of immune responses in autoimmune and chronic inflammatory diseases, as well as in allogeneic organ and tissue transplantation.

The key for these potential future applications is in the set up of effective *in vitro* models, enabling the preparation of stable tolerogenic DCs, being capable of *in vitro* induction of regulatory T cells and those for expansion of the latter cells. Tolerogenic DCs can be prepared by adding selected immunosuppressive and anti-inflammatory drugs, as well as certain cytokines to cell cultures during DC differentiation. Regulatory T cells, especially Tr1 cells, can be generated *in vitro* or *ex vivo* under special conditions by applying different activating signals, in most cases the immature, alternatively activated and tolerogenic DCs, with most effective being the tolerogenic ones.

The main goal of the project is the set up of optimized *in vitro* models for preparation of substantial quantities of stable tolerogenic DCs, being resistant to various maturation stimuli. In order to achieve this goal, we will screen and use novel, up to now yet unstudied pharmacological substances and biomolecules. We will study the mechanisms of tolerogenic transformation of DCs, their phenotypes and functional properties, as well as their capabilities regarding the *in vitro* induction of potentially clinically applicable regulatory T lymphocytes (Tr1).

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Dendritične celice (DC) so funkcionalno zelo raznolika celična vrsta in predstavljajo najučinkovitejše antigene predstavljajoče celice (APC) v imunskem sistemu. Na osnovi predhodnih raziskav, s katerimi smo ugotovili, da ni flumska kislina povzroči nastanek tolerogenih DC iz človeških monocitov *in vitro*, smo se odločili, da bomo poiskali in preizkusili tovrstno delovanje tudi pri drugih učinkovinah, kar bi lahko uporabili v terapevtske namene, in sicer za celično modulacijo kroničnih imunskih ali vnetnih bolezni (Švajger U, Vidmar A, Jeras M. *Int Immunopharmacol* 2008, 8(7): 997-1005). Pri tem se je kot najbolj obetaven izkazal polifenol resveratrol, ki je močan antioksidant in deluje na številne molekule s pomembno vlogo v procesih celične diferenciacije in aktivacije. Raziskali smo njegove učinke na DC, in sicer tako med njihovo diferenciacijo kot med zorenjem ter ugotovili, da povzroči toleranco DC, še posebej takrat, ko je prisoten že med njihovo diferenciacijo iz človeških monocitov *in vitro*. Poleg tega je resveratrol zmanjšal tudi obseg izražanja kostimulatornih molekul CD40, CD80 in CD86 ter molekul pglavitnega kompleksa tkivne skladnosti (MHC) razreda II na površinah DC. Ob tem pa se je povečalo izražanje inhibitornih, imunoglobulinu podobnih prepisov, ILT3 in ILT4, medtem ko vpliva na ekspresijo molekul HLA-G nismo zasledili. Aktivirane, zrele DC, ki smo jih predhodno obdelali z resveratrolom, so izgubile sposobnost proizvajanja provnetnega citokina IL-12p70, povečale pa so tvorbo IL-10. Poleg tega so le šibko stimulirale alogenske limfocite T in imele zmanjšano sposobnost za indukcijo T-celične migracije. Take DC so izzvale nastanek alogenskih CD4⁺ celic T, ki so proizvajale IL-10, niso pa bile sposobne inducirati za regulatorne limfocite T značilno izražanje transkripcijskega dejavnika FoxP3. Opisane tolerogene učinke lahko

najverjetneje pripišemo delovanju resveratrola na številne molekule, preko katerih vpliva na diferenciacijo DC in translokacijo jedrnega transkripcijskega dejavnika $\text{Nf-}\kappa\text{B}$. Odkrili smo torej nov imunosupresivni učinek znanega naravnega polifenolnega antioksidanta, resveratrola, ki povzroči tvorbo tolerogenih DC, s katerimi lahko induciramo nastanek velikega števila regulatornih limfocitov tipa 1 (Tr1), kar bi lahko potencialno uporabili za modulacijo kroničnih avtoimunskih ali vnetnih bolezni (Svajger et al., *Immunology*, 2010 in Svajger et al. *Int Rev Immunol*, 2012).

Odkrili smo tudi pomembno vlogo aktivacije lektinskega receptorja DC-SIGN (DC-specific ICAM-3 grabbing non-integrin) med procesom diferenciacije DC iz človeških monocitov *in vitro*, ki poteka pod vplivom IL-4. Za njegovo aktivacijo smo uporabili dve vrsti različnih protiteles proti DC-SIGN ter dvojno strukturno različnih organskih spojin, z dokazano sposobnostjo specifične vezave na omenjeni receptor. Aktivacija DC-SIGN z vsakim od štirih izbranih ligandov med procesom diferenciacije DC je imela podoben vpliv na skoraj vse njihove pglavitne fenotipske in funkcijske lastnosti. Na nezreli stopnji so takšne DC izražale le majhno število površinskih diferenciacijskih označevalcev. Po aktivaciji z LPS pa so izrazile majhno število ko-stimulatornih molekul CD80 in CD86 ter večje število inhibitornih molekul ILT3. Poleg tega so vsi uporabljeni ligandi DC-SIGN preprečili translokacijo jedrnega transkripcijskega dejavnika $\text{Nf-}\kappa\text{B}$, izrazito zmanjšali proizvodnjo IL-12p70 in sposobnost na takšen način predhodno obdelanih DC za usmeritev naivnih CD4^+ limfocitov T v celice vrste Th1, potem, ko smo jih stimulirali z močnim aktivatorjem LPS. Po drugi strani pa je aktivacija tovrstnih DC povzročila povečano proizvodnjo IL-10. Fosforilacija STAT6, ki je ključni dejavnik v signalizaciji, ki jo sproži IL-4, se je signifikantno zmanjšala v vseh DC, ki smo jih predhodno obdelali z aktivacijskimi ligandi DC-SIGN. Očitno je torej, da sta signalizacijski poti receptorja DC-SIGN in citokina IL-4 medsebojno povezani oziroma prepleteni. Z nevtralizacijo IL-10 med aktivacijo DC, predhodno obdelanih z ligandi DC-SIGN, pa smo lahko le deloma izboljšali nepopolno dozoretnje DC. Lahko smo torej sklepali, da med diferenciacijo DC, ob sočasni aktivaciji receptorja DC-SIGN, nastane spremenjen celični fenotip, kar je posledica alternativnega in ireverzibilnega diferenciacijskega procesa, saj takšne DC niso sposobne doseči popolnih aktivacijskih zmognosti. Ker lahko receptor DC-SIGN veže številne endogene ligande, bi lahko podobni mehanizmi obstajali tudi v imunskem sistemu *in vivo* ter sodelovali pri vzdrževanju imunske homeostaze. Spremenjene biološke lastnosti DC, ki so nastale v prisotnosti ligandov DC-SIGN med njihovo diferenciacijo smo nadalje opredelili z določanjem signalizacijskih elementov, za katere je znano, da so ključni za njihovo uspešno zorenje. Tako smo primerjali aktivacijo določenih proteinov STAT in celičnih kinaz ter ugotovili, da imajo alternativno diferencirane DC signifikantno spremenjeno modulacijo ključnih proteinov, povezanih z njihovim zorenjem, in sicer: STAT1, STAT3, STAT6 ter p38 MAPK. Gre za pomembne ugotovitve, ki bi jih lahko s pridom uporabili pri usmerjeni pripravi tolerogenih DC. Naše ugotovitve smo strnili v dveh člankih (Svajger et al., *Cell Signal*, 2010 in Svajger et al., *J Leukoc Biol*, 2011). Razvili smo tudi novo metodo za testiranje in identifikacijo novih sinteznih inhibitorjev DC-SIGN (Obermajer et al., *Anal Biochem*, 2010) ter sodelovali pri načrtovanju in sintezi novih inhibitorjev DC-SIGN (Obermajer et al., *Mol Divers*, 2010).

Ker je bil eden od ciljev projekta tudi optimizacija postopkov za pripravo imunomodulatornih imunskih celic, namenjenih za celične terapije, smo pripravili obsežen pregledni članek, v katerem smo strnili dognanja povezana z indukcijo, selekcijo, namnožitvijo in pripravo človeških, antigensko-specifičnih CD8^+ citotoksičnih limfocitov T v pogojih dobre proizvodne prakse (GMP) (Jeras et al., *J Biomed Biotechnol*, 2010). Poleg tega smo, na osnovi naših ugotovitev in rezultatov drugih raziskav, vezanih na uporabo različnih farmakoloških učinkovin, namenjenih izdelavi stabilnih in učinkovitih tolerogenih DC, objavili pregleden članek, ki podrobno opisuje najnovejša dognanja na tem področju (Svajger et al., *Int Rev Immunol*, 2010).

V nadaljevanju raziskav smo med drugim optimizirali način gojenja dendritičnih celic (DC) iz človeških monocitov *in vitro*, in sicer ob uporabi standardnega medija za gojenje mieloidne celične vrste. Pri tem smo ugotavljali vplive določenih, v strokovni literaturi standardno navajanih sestavin medija, med drugim tudi organskega pufra HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid). Ugotovili smo, da slednji, najverjetneje zato, ker je blažji zaviralec kloridnih kanalčkov, otežuje optimalno diferenciacijo DC, s čimer vpliva na kvaliteto njihovih kultur in posledično na končni izplen gojenja (Svajger et al., *Immunol Invest*, 2011). Z omenjeno optimizacijo smo precej izboljšali kvaliteto preiskovanih kultur DC ter prispevali k večji ponovljivosti in relevantnosti eksperimentov, še posebej tistih na področju raziskovanja imunosupresivnih mehanizmov, kjer sta kakovost in neokrnjena narava naivnih oziroma neaktiviranih imunskih celic izjemno pomembni.

Z uporabo našega eksperimentalnega modela pa smo uspeli odkriti tudi učinke nove, v naravi prisotne biomolekule z imunostimulatornim delovanjem na DC. Ricinu B podobni lektin, ki smo ga kot prvi izolirali iz gobe *Clitocybe nebularis* in ga poimenovali CNL, je deloval imunostimulatorno na DC (Svajger et al., *Immunology*, 2011). Ugotovili smo, da CNL v koncentracijah od 1 do 10 $\mu\text{g/ml}$ povzroči izjemno močno aktivacijo DC, kar se kaže v njihovem povečanem površinskem izražanju kostimulatornih molekul CD80 in CD86, molekul HLA-DR ter označevalca dozorelosti, CD83. Dendritične celice, ki smo jih stimulirali s CNL so naivne CD4^+ limfocite T vodile v smer efektorskih celic vrste Th1 ter sočasno proizvajale povečane količine vnetnih citokinov, kot so IL-6 in IL-8 ter tumorje nekrotizirajoči dejavnik - α ($\text{TNF-}\alpha$).

Pri raziskovanju ugotovljenih imunostimulativnih mehanizmov smo odkrili, da CNL stimulira DC preko Toll-u podobnega receptorja 4 (TLR-4), s čimer povzroči povečano aktivnost jedrnega dejavnika NF- κ B. Naši rezultati kažejo, da je uporaba lektinov, pridobljenih iz medicinsko uporabnih gob, lahko nedvomno primerna za terapevtske namene.

Intenzivno smo preučevali tudi mehanizme imunomodulatornega delovanja interferona γ (IFN- γ) na DC. Odkrili smo, da ima pleiotropično delovanje, in sicer v odvisnosti od uporabljene količine. Naši rezultati namreč kažejo, da uporaba visokih odmerkov IFN- γ spodbudi aktivacijo določenih imunosupresivnih elementov, kar se kaže v obliki povečanega izražanja površinskih inhibitornih molekul ILT4 in HLA-G na DC. S pomočjo funkcijskih testov smo odkrili, da uporaba visokih odmerkov IFN- γ pri aktivaciji DC, tem nato omogoča regulacijo specifičnega imunskega odziva citotoksičnih limfocitov T CD8⁺. Naši izsledki so v postopku za objavo v mednarodni reviji z recenzijo.

V okviru študij mehanizmov, ki krojijo biološko naravo dendritičnih celic, smo sodelovali pri preučevanju katepsinov S in L ter njune vloge pri zorenju DC (Magister et al., *Eur J Cell Biol*, 2012). Izvedli smo tudi osnovne raziskave vplivov bisfenola A (BPA) in njegovih analogov BPF, BPAF, na diferenciacijo in dozorevanje DC. Kot kontrolno učinkovino smo uporabili estradiol (E₂). Bisfenoli so spojine, ki jih pogosto vsebuje plastična embalaža in katerih potencialni toksični vplivi na človeka so trenutno predmet številnih različnih raziskav. Ugotovili smo, da je le bisfenol AF vplival na živost DC in še to le pri najvišji od preizkušanih koncentracij (50 μ M). Vpliv izbranih koncentracij preučevanih spojin (50 μ M za BPA in BPF, 30 μ M za BPAF) na sposobnost nezrelih DC, da privzemajo antigene iz okolja (endocitoza), je bil statistično signifikanten v primerjavi s kontrolo (E₂, 50 nM). Preučevane spojine so vplivale tudi na diferenciacijo monocitov v nezrele DC. Majhen inhibitorni vpliv smo opazili v primeru uporabe E₂ in bisfenola F (BPF), bisfenol A (BPA) in bisfenol AF (BPAF) pa sta zmanjšala izražanje CD1a ter povečala ekspresijo DC-SIGN, ki sta značilna za nezrele DC. Še posebej izrazit je bil vpliv BPAF. Estradiol je vplival tudi na zorenje DC, saj je zmanjšal obseg izražanja za zrele celice značilnih molekul CD80, CD83 in CD86 in povečal ekspresijo HLA-DR. Bisfenol AF pa je zmanjšal ekspresijo CD80 in CD86, povečal pa izražanje CD83 in HLA-DR. Le z BPAF predhodno inkubirane nezrele in zrele DC so izzvale manjši obseg proliferacije alogenskih limfocitov T. Opisani izsledki so v postopku priprave za objavo.

Raziskovalna skupina je sodelovala tudi pri preučevanju mehanizmov inhibitornega delovanja antimalarika klorokina na aktivacijo endosomskega Toll-u podobnega receptorja TLR-8. Ugotovili smo, da se antimalariki neposredno vežejo na nukleinske kisline, ki so ligandi omenjenega receptorja. Podobne mehanizme smo ugotovili tudi pri preučevanju delovanja imidazokinolinov, ki so agonisti receptorjev TLR7/8 (Kužnik et al., *J Immunol*, 2011). Člani raziskovalne skupine so soavtorji članka izvirnega raziskovalnega članka, ki predstavlja kompleksne izsledke ugotavljanja različnih bioloških markerjev v izbrani skupini 16 zdravih posameznikov. Pri tem sta bili natančno raziskani dve vrsti imunskih celic, in sicer naravne celice ubijalke (NK) in limfociti T CD4⁺. Skupaj smo obravnavali 39.743 analiziranih markerjev in ugotovili, da je bilo število posameznih limfocitnih podvrst, 20% metabolitov in manj kot 10% genov močno variabilnih. Pri tem je bila intraindividualna variabilnost na nivoju vseh parametrov najmanj 2x nižja od iterindividualne. Rezultati predstavljajo osnovne kontrolne podatke za kasnejše analize krvnih vzorcev bolnikov, zdravljenih z imunskimi celičnimi terapijami (Gruden et al. *PLoS ONE*, 2012).

5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev⁴

Program dela in zastavljene raziskovalne cilje smo v celoti dosegli, saj smo:

- Preizkusili in optimizirali postopke za pripravo različnih vrst DC iz človeških monocitov *in vitro*, ki omogočajo izdelavo velikih količin tovrstnih celic tako za raziskovalne kot za klinične namene.
- Izvedli obširno presejalno testiranje vpliva različnih učinkovin na diferenciacijo in dozorevanje DC, pri čemer smo odkrili take, ki izzovejo tolerogene vplive (resveratrol, antagonisti receptorja DC-SIGN, visoke koncentracije IFN- γ) in tiste, ki delujejo aktivacijsko (novo odkriti lektin CNL).
- Natančneje smo preučili mehanizme tolerogenih učinkov omenjenih dejavnikov na DC, pri čemer smo odkrili povsem nove in prijavili dva patenta v Sloveniji (*Tolerogene DC pridobljene z visokimi odmerki IFN- γ in Metoda določanja intrinzične aktivnosti sinteznih zaviralcev receptorja DC-SIGN*). Pri tem smo, na osnovi naših ugotovitev glede vloge receptorja DC-SIGN navezali tudi stike z mednarodno skupino, ki izvaja evropski projekt Carmusys. Vodja projekta je izvedel tudi vabljen predavanje za podiplomske študente, ki se izobražujejo in raziskovalno delujejo znotraj te mreže.
- Ugotovili smo, da lahko s tolerogenimi celicami, ki smo jih pripravili s pomočjo resveratrola in antagonistov receptorja DC-SIG učinkovito izzovemo nastanek induciranih tolerogenih limfocitov T *in vitro*, ki bi bili lahko potencialno klinično uporabni.
- Navezali smo stike z večimi raziskovalnimi skupinami tako doma (Kemijski inštitut, Fakulteta za farmacijo, Nacionalni inštitut za biologijo), kot v tujini (skupina, ki izvaja evropski projekt Carmusys; izvajalci projekta Synthesis of Multivalent Sugar Mimics as DC-SIGN; izvajalci bilateralnega raziskovalnega projekta Systher, med Republiko Slovenijo in Zvezno republiko Nemčijo) in v

sodelovanju z njimi objavili nekaj pomembnih izsledkov, povezanih z modulacijo delovanja DC, pripravljenih iz človeških monocitov in s poglobljenim imunskim monitoringom bolnikov, ki bi jih zdravili z imunsko celično terapijo.

Dosegli stopnjo, ki zagotavlja znanje in opremo za pripravo celic, namnejenih imunomodulatornim terapijam različnih bolezni in stanj (rak, kronične vnetne bolezni, avtoimunske bolezni in stanja po presaditvah organov in tkiv). Gre za preizkušanje in uvajanje novih naprednih terapij.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Programa raziskovalnega projekta nismo spreminjali.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

	Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	25624281	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Zliti pozni endocitozni prostori in imunostimulatorna sposobnost imunohibridomov
		ANG	Fused late endocytic compartments and immunostimulatory capacity of dendritic-tumor cell hybridomas
	Opis	SLO	S pomočjo analize, ki temelji na konfokalni mikroskopiji ter funkcijskih celičnih testih in vitro, smo dokazali, da je število zlitih poznih endocitoznih prostorov povezano z jakostjo protitumorskih odzivov zoper tumorske antigene in vitro, ki jih povzročijo z elektrofuzijo pripravljeni hibridomi med tumorskimi in dendritičnimi celicami (DC). To predstavlja pomembno orodje za napovedovanje antigensko specifičnih stimulatornih sposobnosti imunohibridomov, ki so klinično uporabni kot celična protitumorska cepiva.
		ANG	We have shown, by using confocal microscopy-based analysis and in vitro functional cellular tests that the amount of fused late endocytic compartments correlates with the potency of in vitro anti-tumor CTL responses, generated with electrofused tumor cell-DC hybridomas. This represents an important tool for predicting the antigen-specific stimulatory capacities of immunohybridomas that can be clinically used as anti-cancer vaccines.
	Objavljeno v	Springer; The journal of membrane biology; 2009; Letn. 229, št. 1; str. 11-18; Impact Factor: 2.189; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.148; Avtorji / Authors: Gabrijel Mateja, Bergant Marušič Martina, Kreft Marko, Jeras Matjaž, Zorec Robert	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	2729841	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Dendritične celice, obdelane z resveratrolom pridobijo občutne tolerogene lastnosti po njihovi aktivaciji.
		ANG	Dendritic cells treated with resveratrol during differentiation from monocytes gain substantial tolerogenic properties upon activation
	Opis	SLO	Resveratrol, polifenol z izrazitim antioksidativnim delovanjem povzroči pridobitev tolerogenih lastnosti DC, še posebej če ga dodamo med njihovim zorenjem iz človeških monocitov in vitro. Tako zmanjša izražanje kostimulatornih molekul in molekul HLA razreda II ter poveča ekspresijo inhibitornih molekul IL3 in ILT4 na površini DC. Poleg tega zavre proizvodnjo IL-12p70 in poveča izločanje IL-10. Tako obdelane DC so šibki stimulatorji alogenskih limfocitov T in povzročajo nastanek celic T, ki proizvajajo IL-10.
			Resveratrol, a polyphenol with pronounced antioxidative activity induces tolerogenic properties in DCs, especially when added during their in vitro differentiation from human monocytes. It decreases the expression of

		ANG	costimulatory and HLA class II molecules and increases the amount of ILT3 and ILT4 inhibitory molecules on the surface of the treated DCs. Additionally resveratrol decreases production of IL-12p70 and increases the secretion of IL-10. Treated DCs are poor activators of allogeneic T lymphocytes and they induce the onset of IL10-producing T cells.
	Objavljeno v		Blackwell Scientific Publications; Immunology; 2010; Issue 4, Vol. 129; str.525-535; Impact Factor: 3.302;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.143; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Obermajer Nataša, Jeras Matjaž
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	2985329	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Aktivacija DC-SIGN izrazito vpliva na diferenciacijo dendritičnih celic iz monocitov tako, da prizadane njihovo normalno funkcijo
		ANG	DC-SIGN ligation greatly affects dendritic cell differentiation from monocytes compromising their normal function
	Opis	SLO	Aktivacija DC-SIGN s specifičnimi ligandi med diferenciacijo DC iz monocitov, povzroči nastanek spremenjenih DC s tolerogenimi lastnostmi. Takšne DC, aktivirane z LPS, ne proizvajajo znatnih količin IL-12p70, temveč povečajo proizvodnjo IL-10. Izražajo tudi večje količine inhibitornih molekul in le šibko inducirajo nastanek efektorskih odzivov vrste Th1. Med diferenciacijo monocitov v DC se je zaradi sočasne aktivacije DC-SIGN zmanjšala aktivacija STAT6. Ko smo jih aktivirali z LPS so takšne celice spremenile zmožnost aktivacije signalizacijskih dejavnikov STAT1, STAT3, STAT6 ter p38 MAPK.
		ANG	Activation of DC-SIGN receptor with its specific ligands during differentiation of DCs from human monocytes, results in a formation of DCs with tolerogenic properties. After their activation with LPS, such DCs can't produce notable amounts of IL-12p70, but increase the production of IL-10. They also increase the expression of inhibitory molecules and are weak inducers of Th1 effector immune responses. During differentiation, the ligation of DC-SIGN down-regulates the STAT6 activation. After activation with LPS such DCs changed their ability to activate STAT1, STAT3, STAT6 and p38 MAPK.
	Objavljeno v		Liss; Journal of leukocyte biology; 2011; Vol. 89, no. 6; str. 893-905; Impact Factor: 4.992;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.167; A': 1; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Obermajer Nataša, Anderluh Marko, Kos Janko, Jeras Matjaž
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	3099761	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	CNL, ricinu B podoben lektin iz gobe Clitocybe nebularis vzpodbudi dozoretnje in aktivacijo dendritičnih celic z delovanjem na signalno pot Tollu-podobnega receptorja 4
		ANG	CNL, a ricin B-like lectin from mushroom Clitocybe nebularis, induces maturation and activation of dendritic cells via toll-like receptor 4 pathway
			Novo odkriti lektin iz bazidiomicete Clitocybe nebularis, imenovan lektin C. nebularis (CNL) deluje imunostimulatorno na DC, najučinkovitejše antigene predstavljajoče celice. Obdelava DC, pripravljenih iz človeških monocitov z odmerki od 1-10 [mikro]g/ml je povzročila njihovo, od uporabljenega odmerka odvisno dozoretnje. Potem, ko so bile DC izpostavljene delovanju CNL 48 ur, so močno povečale ekspresijo površinskih kostimulatornih molekul CD80 in CD86, označevalca njihove zrelosti, CD83 in molekul HLA-DR. Takšne DC (CNL-DC) so v 5 dni trajajoči kokulturi in vitro povzročile nastanek imunskega odziva vrste Th1 naivnih limfocitov T CD4+CD45RA+. V primerjavi z neoibdelanimi kontrolnimi DC se je alostimulatorni potencial

	Opis	SLO	CNL-DC močno povečal, prav tako pa tudi njihova sposobnost proizvodnje proinflammatory citokinov, npr. IL-6, IL-8 in TNF-alfa. S pomočjo inhibitorja signalizacije preko receptorja TLR4, CLI-095, kot tudi s peptidom, ki je inhibiral Myd88, smo dokazali, da je aktivacija DC s CNL popolnoma odvisna od TLR4 signalne poti. To smo potrdili tudi z uporabo reporterske celične linije za TLR4. Z meritvami nivojev fosforilacije p65 NF- κ B in p38 MAPK po stimulaciji DC s CNL smo dokazali primarno povečanje aktivnosti NF- κ B, ob nekaj manjšem vplivu na indukcijo signalizacije p38 MAPK, kot je to v primeru uporabe LPS. Človeške DC, ki smo jih aktivirali s CNL so bile sposobne usmeriti limfocite T v odziv vrste Th1. Naši rezultati naj bi vzpodbudili uporabo lektinov iz gob v terapevtske namene, še posebej v smislu ojačanja protitumorskih imunskih odzivov.	
		ANG	A novel lectin, isolated from basidiomycete mushroom <i>Clitocybe nebularis</i> and termed C. <i>nebularis</i> lectin (CNL), exhibits an immunostimulatory effect on the most potent antigen presenting cells, the dendritic cells (DCs). Treatment of human monocyte-derived DCs with CNL in doses from 1-10 [micro]g/ml resulted in a dose-dependent induction of overall DC maturation characteristics. Exposure of DCs to CNL for 48h resulted in extensive up-regulation of co-stimulatory molecules CD80, CD86, as well as the maturation marker CD83 and HLA-DR molecules. Such CNL-matured DCs (CNL-DCs) were capable of inducing a Th1-polarized response in naive CD4+CD45RA+ T cells in 5-day allogeneic co-cultures. The allostimulatory potential of CNL-DCs was significantly increased relative to untreated controls, as was their capacity to produce several pro-inflammatory cytokines such as IL-6, IL-8 and TNF-[alpha]. By using a specific TLR4 signaling inhibitor, CLI-095, as well as Myd88 inhibitory peptide, we have shown that DC activation by CNL is completely dependent on the TLR4 activation pathway. Furthermore, activation of TLR4 by CNL was confirmed via TLR4 reporter assay. Measurement of p65 NF- κ B and p38 MAPK phosphorylation levels following CNL stimulation of DCs revealed primarily an increase in NF- κ B activity, with less effect on the induction of p38 MAPK signaling than that of LPS-matured DCs. CNL had the ability to activate human DCs in such a way as to subsequently direct Th1-type T cell responses. Our results encourage the use of mushroom-derived lectins for use in therapeutic strategies, with aims such as to strengthen anti-tumor immune responses.	
		Objavljeno v	Blackwell Science.; Immunology; 2011; Vol. 134, no. 4; str. 409-418; Impact Factor: 3.321; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.167; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Pohleven Jure, Kos Janko, Štrukelj Borut, Jeras Matjaž	
		Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
5.	COBISS ID	2971761	Vir: COBISS.SI	
	Naslov	SLO	Mehanizem inhibicije endosomskih TLR z antimalariki in imidazokinolini	
		ANG	Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines	
	Opis	SLO	Endosomski receptorji TLR igrajo pomembno vlogo v prirojenem imunskem odzivu kakor tudi v avtoimunskih procesih. Antimalarike klorokin, hidroksiklorokin in kinakrin že dolgo časa uporabljajo za zdravljenje sistemskega lupusa eritematozusa. Z njimi povzročeno supresijo aktivacije endosomskih TLR so pripisovali inhibiciji endosomske acidifikacije, ki je nujna za aktivacijo omenjenih receptorjev. Odkrili smo, da klorokin zavira le aktivacijo endosomskih receptorjev TLR z nukleinskimi kislinami, po drugi strani pa poveča aktivacijo TLR8, povzročeno z majhnim sintetičnim peptidom R848. S pomočjo spektroskopije smo dokazali, da se antimalariki vežejo neposredno na nukleinske kisline in določili njihovo celično kolokalizacijo. Z nadaljnjimi analizami smo ugotovili, da so tudi druge spojine, ki se vežejo na nukleinske kisline, kot npr. propidijev jodid,	

		preprečile aktivacijo endosomskih TLR in se kolokalizirale z nukleinskimi kislinami proti endosomom. Odkrili smo tudi, da imidazokinolini, ki so agonisti TLR7/8, inhibirajo receptorje TLR9 in TLR3 celo v odsotnosti TLR7 ali TLR8 in da je mehanizem njihove inhibicije podoben tistemu, ki smo ga ugotovili pri antimalarikih. Za razliko od bafilomicina nobeden od preučevanih antimalarikov in imidazokinolinov ni inhibiral endosomske proteolize ali zvišal endosomskega pH, s čimer smo potrdili, da preprečitev acidifikacije ni vzrok za njihovo inhibitorno delovanje. Zaključimo lahko, da neposredna vezava inhibitorjev na nukleinske kisline zamaskira njihov epitop, ki je potreben za vezavo na TLR, kar bi lahko pojasnilo učinkovitost preučevanih učinkovin pri zdravljenju avtoimunskih bolezni.
	ANG	Endosomal TLRs play an important role in innate immune response as well as in autoimmune processes. In the therapy of systemic lupus erythematosus, antimalarial drugs chloroquine, hydroxychloroquine, and quinacrine have been used for a long time. Their suppression of endosomal TLR activation has been attributed to the inhibition of endosomal acidification, which is a prerequisite for the activation of these receptors. We discovered that chloroquine inhibits only activation of endosomal TLRs by nucleic acids, whereas it augments activation of TLR8 by a small synthetic compound, R848. We detected direct binding of antimalarials to nucleic acids by spectroscopic experiments and determined their cellular colocalization. Further analysis revealed that other nucleic acid-binding compounds, such as propidium iodide, also inhibited activation of endosomal TLRs and colocalized with nucleic acids to endosomes. We found that imidazoquinolines, which are TLR7/8 agonists, inhibit TLR9 and TLR3 even in the absence of TLR7 or TLR8, and their mechanism of inhibition is similar to the antimalarials. In contrast to bafilomycin, none of the tested antimalarials and imidazoquinolines inhibited endosomal proteolysis or increased the endosomal pH, confirming that inhibition of pH acidification is not the underlying cause of inhibition. We conclude that the direct binding of inhibitors to nucleic acids mask their TLR-binding epitope and may explain the efficiency of those compounds in the treatment of autoimmune diseases.
	Objavljeno v	Williams & Wilkins; The journal of immunology; 2011; Vol. 186, no. 8; str. 4794-8408; Impact Factor: 5.788; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.167; A': 1; Avtorji / Authors: Kužnik Alenka, Benčina Mojca, Švajger Urban, Jeras Matjaž, Rozman Blaž, Jerala Roman
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	2781809	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Indukcija tolerogenih dendritičnih celic in regulatornih limfocitov T in vitro ANG In vitro induction of tolerogenic dendritic cells and regulatory T lymphocytes	
	Opis	SLO Mladi raziskovalec Urban Švajger je, pod mentorstvom vodje projekta (M. Jeras), 22.04.2010 uspešno zagovarjal doktorsko nalogo, ki je nastala v okviru raziskovalnega dela na projektih L1-6295 in L2-2402. V njej je celovito obdelal različne nove protokole za pripravo omenjenih vrst celic in predstavil novo odkrite mehanizme, ki so odgovorni za nastanek tolerogenih lastnosti DC, pripravljenih iz človeških monocitov in vitro. Young researcher Urban Švajger has successfully defended his PhD thesis under the mentorship of the project leader (M Jeras), which was a result of studies conducted within national projects L1-6295 and L2-2402. He	

		ANG	developed different protocols for the preparation of both types of immune cells and presented new mechanisms leading to tolerogenicity of DCs, arising from human monocytes.
	Šifra	D.09	Mentorstvo doktorandom
	Objavljeno v	[U. Švajger]; 2010; 159 str.; Avtorji / Authors: Švajger Urban	
	Tipologija	2.08	Doktorska disertacija
2.	COBISS ID	2999921	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Tolerogene dendritične celice pridobljene z visokimi odmerki interferona-gama
		ANG	Tolerogenic dendritic cells prepared with high concentrations of interferona-gamma
	Opis	SLO	Izum predstavlja nov način pridobitve tolerogenih dendritičnih celic s specifičnimi lastnostmi, ki jih omogočajo izrazito visoki odmerki IFN-γ. Takšne celice predstavljajo potencialno orodje za pripravo terapevtskih celičnih pripravkov (regulatornih limfocitov T) za zdravljenje različnih imunsko pogojenih bolezni.
		ANG	Our invention represents a new protocol for preparation of tolerogenic DCs with specific properties, induced only by extremely high concentrations of IFN-γ. These cells represent potential tool for preparing therapeutic cellular drugs (regulatory T lymphocytes) used for treatment of different immunity-conditioned diseases.
	Šifra	F.33	Patent v Sloveniji
	Objavljeno v	Urad RS za intelektualno lastnino; 2010; 9 str.; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Obermajer Nataša, Jeras Matjaž	
	Tipologija	2.23	Patentna prijava
3.	COBISS ID	3212145	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Metoda določanja intrinzične aktivnosti sinteznih zaviralcev receptorja DC-SIGN
		ANG	A method for determining intrinsic activities of synthetic inhibitors of DC-SIGN receptor
	Opis	SLO	Predloženi izum predstavlja nov način vrednotenja agonizma oziroma antagonizma obstoječih in novih sinteznih inhibitorjev lektinskega receptorja DC-SIGN, izraženega na površini dendritičnih celic (DC). Vrednotenje delovanja intrinzične aktivnosti omenjenih zaviralcev DC-SIGN poteka na osnovi ugotavljanja modulacije citokinskega profila DC, ob sočasni prisotnosti ali odsotnosti agonistov TLR (Toll-Like Receptors).
		ANG	The proposed invention represents a new protocol for the assessment of agonism or antagonism of the existing and new synthetic inhibitors of the DC-SIGN lectin receptor expressed on dendritic cells (DCs). The assessment of the intrinsic activity of DC-SIGN inhibitors is based on the determination of cytokine profiles of DCs, being concomitantly exposed or unexposed to TLR agonists.
	Šifra	F.33	Patent v Sloveniji
	Objavljeno v	Urad RS za intelektualno lastnino; 2011; 6 str.; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Anderluh Marko, Jeras Matjaž	
	Tipologija	2.23	Patentna prijava
4.	COBISS ID	259485184	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Farmacevtski terminološki slovar
		ANG	Pharmaceutical vocabulary
	Opis	SLO	Prvi tovrstni strokovni slovar na slovenskem.

		ANG	The first slovenian professional vocabulary of this kind.	
Šifra	C.06 Članstvo v uredniškem odboru			
Objavljeno v	Založba ZRC; 2011; 371 str.; Avtorji / Authors: Obreza Aleš, Šmid-Korbar Jelka, Humar Marjeta, Janeš Damjan, Razinger-Mihovec Barbara, Frankič Darja, Kosirnik Breda, Lunder Mojca, Jeras Matjaž, Marc Janja, Gašperlin Mirjana, Baumgartner Saša, Kos Mitja, Mrhar Aleš, Černe Darko, Švajger Branka, Hribar Maruša, Tomazin Evgen, Božič Borut, Marinko Petra, Kreft Samo, Vučko Mole Simona			
Tipologija	2.06 Enciklopedija, slovar, leksikon, priročnik, atlas, zemljevid			
5.	COBISS ID	3276913	Vir: COBISS.SI	
Naslov	SLO	Napredne celične terapije		
	ANG	Advanced cell-based therapies		
Opis	SLO	Vabljeni predavatelj je na mednarodnem srečanju predstavil dosežke projektne raziskovalne skupine na področju priprave dendritičnih celic kot potencialnih zdravil za imunsko zdravljenje raka in drugih imunsko pogojenih bolezni.		
	ANG	The invited speaker has presented the achievements of the project research group in the field of dendritic cell-based cellular preparations as potential therapeutics for cancer and other immune-based diseases.		
Šifra	B.04 Vabljeno predavanje			
Objavljeno v	Elsevier; 4th BBBB-Bosphorus International Conference on Pharmaceutical Sciences: New trends in drug discovery, delivery systems and laboratory diagnostics, Bled, Slovenia, 29 September-01 October 2011; 2011; Str. 15; Avtorji / Authors: Jeras Matjaž, Bergant Marušič Martina, Kreft Marko, Zorec Robert, Švajger Urban			
Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljeno predavanje)			

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

M. Jeras. Vabljeno predavanje na temo imunologije, s poudarkom na delovanju imunskih receptorjev, v okviru Network Training Programme, CARMUSYS (7. Evropski okvirni program). Izvedeno: 08.01.2010.

Na osnovi predhodnih izsledkov projekta je v letu 2011 član raziskovalne skupine dr. Urban Švajger s podoktorskim projektom (Z1-4302: Razvoj in optimizacija kliničnega potenciala tolerogenih dendritičnih celic in imunomodulatorna vloga lektinskega receptorja DC-SIGN; 1.7.2011 – 30.6.2013) uspešno kandidiral na javnem razpisu ARRS.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Raziskovanje in razumevanje tolerogenih in supresijskih mehanizmov, ki delujejo znotraj imunskega sistema je izjemno pomembno, saj so le-ti odgovorni tako za vzdrževanje normalne homeostaze kakor tudi za številna resna patološka stanja, naprimer rak in avtoimunske bolezni. Izsledki naših raziskav pomembno prispevajo k že obstoječemu znanju na tem področju. Z izbiro in uporabo do sedaj še nepreučeni farmakoloških učinkovin (niflumska kislina, resveratrol) za pripravo stabilnih in funkcijsko učinkovitih tolerogenih dendritičnih celic (DC) in vitro smo odkrili povsem nove lastnosti omenjenih substanc ter raziskali tudi mehanizme njihovega tolerogenega delovanja. Podobno smo opredelili do sedaj še neznano vlogo

lektinskega receptorja DC-SIGN pri dozorevanju DC in raziskali s tem povezane mehanizme. Povsem nov mehanizem nastanka DC s tolerogenimi lastnostmi smo odkrili tudi v primeru uporabe visokih odmerkov IFN- γ . Glede na dobljene rezultate menimo, da bomo s tem vzpodbudili razvoj novih imunomodulatornih terapij, tako s tolerogenimi DC kot z antigensko specifičnimi inducibilnimi regulatornimi limfociti T (Tr1), pripravljenimi in namnoženimi ex vivo. Njihova uporaba bi bila še posebej dobrodošla za zdravljenje in blaženje določenih avtoimunskih bolezni ter za izboljšanje uspešnosti presaditev organov in tkiv. Slednje je še zlasti pomembno zaradi dejstva, da so ti posegi dragi, predvsem pa je v svetu veliko pomanjkanje alogenskih presadkov, zato je prav vsak od razpoložljivih izjemno dragocen.

Vzpostavili smo tudi plodne stike z drugimi domačimi in tujimi raziskovalnimi skupinami in z njimi v okviru projekta dodatno raziskali in objavili mehanizme delovanja antimalarikov in imidazokinolinov ter standarde za imunološki monitoring bolnikov, ki bodo sodelovali v prihodnjih kliničnih študijah z uporabo celičnih pripravkov za imunomodulacijo njihovih imunskih odzivov pri različnih boleznih.

ANG

Exploring and understanding tolerogenic and suppressive mechanisms operating within the immune system is extremely important, as they are responsible for the maintenance of normal homeostasis, as well as implicated in number of severe pathologies, such as cancer and autoimmune diseases. The results of our research importantly contribute to the accumulated knowledge. With the selection and application of up to now still unexplored pharmacological substances (niflumic acid and resveratrol) for the in vitro generation of tolerogenic dendritic cells (DCs), we discovered their novel properties and explained the mechanisms of their tolerogenic action. Similarly we succeeded to reveal, up to now unknown influences of the DC-SIGN lectin receptor in the maturation process of DCs and explored the related mechanisms. A completely new mechanism of tolerogenic DC generation was also discovered when large amounts of IFN- γ were used. Taking into consideration the expected results of our work, we are sure that they will promote the development of new immunomodulatory therapies with the use of tolerogenic DCs as well as specific regulatory T lymphocytes (Tr1), generated and expanded ex vivo. Their clinical applications would be extremely welcome in the treatment or at least amelioration of certain autoimmune diseases as well as in improving the success rate of organ and tissue transplantations, these life-saving but also costly therapies. The latter is especially important when considering the fact that there is a huge shortage of allogeneic transplants all over the world.

Additionally we established fruitful contacts with other research groups from Slovenia and from abroad and published common results regarding the newly explained mechanisms of action of antimalarial drugs and imidazoquinolines, as well as standards for immunological monitoring of patients that will in future participate in clinical studies where the effects of cellular drugs on modulation of their immune responses in various diseases will be evaluated.

10.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Razvoj postopkov in tehnologij za pripravo tolerogenih oziroma supresorskih, pa tudi aktivacijskih imunskih celic ex vivo, je zelo perspektiven in ponuja možnost razvoja biotehnoloških podjetij in specializiranih oddelkov znotraj javnih zavodov, takoimenovanih "celičnih tovarn", ki morajo svoje izdelke, to so celična zdravila proizvajati v pogojih dobre proizvodne prakse (GMP), kot to zahteva zakonodaja s področja varnosti in uporabe človeških tkiv in celic. Tovrstni avtologni in morda celo alogenski zdravilni pripravki bi bili namenjeni terapiji določenih bolezni pri posameznih bolnikih. Takšen pristop sledi najnovejšim trendom povezanim s personalizirano medicino. Raziskovalno delo, ki smo ga opravili sodi med tematske prioritete nacionalnega raziskovalnega in razvojnega programa, še posebej v delu, ki je namenjen izboljšanju kvalitete človeškega življenja (zdravja).

Naše raziskave pa so zanimive tudi za raziskovalce, ki lahko na ta način pridobijo nova znanja in operativne sposobnosti ter s pomočjo publikacij in udeležbe na mednarodnih konferencah promovirali našo državo. To še posebej velja za mlade raziskovalce, ki bodo imeli priložnost za poglobljen študij tega interdisciplinarnega dela farmacevtske in celične biologije ter imunologije kakor tudi za izdelavo svojih doktorskih del. Poleg tega pa je raziskovalna skupina z delovanjem na tem izjemno aktualnem področju postala prepoznavnejša in je povečala možnosti za ter tudi

že udeležila partnersko povezovanje s podobnimi skupinami znotraj Evropske skupnosti in širše.

Prav na osnovi raziskovalnega dela, opravljenega v okviru predhodnega (L1-6295) in aktualnega projekta (L2-2402), je bila na osnovi osvojenih znanj, tehnologij in optimizacij postopkov izdelana in pred kratkim prijavljena klinična študija za imunsko zdravljenje raka prostate s celičnim cepivom na osnovi dendritičnih celic, ki bo stekla še v tem letu. Gre za prvo tovrstno študijo pri nas. S tem bo naša država postala ena izmed tistih najnaprednejših, ki si prizadevajo za svoje državljane prenesti v klinično prakso različne oblike naprednih zdravljenj.

ANG

Development of procedures and technologies for ex vivo preparation of tolerogenic or immunosuppressive, as well as immunostimulatory cells is highly important and could lead to establishment of biotechnological companies and public entities, the so-called "cell factories", operating under GMP conditions, according to the legislation on the safe use of human tissues and cells. Such high quality autologous or even allogeneic cell products would be used for the treatment of certain diseases in selected patients. This kind of therapeutic approaches are in line with the current trend of personalized medicine. Our research work is also in-line with thematic priorities of the National Research and Development Programme, especially with the part being dedicated to improvement of the well-being of humankind (health).

Our research work is also attractive for researchers, who will gain new knowledge and operating skills and through publications and attendance of international conferences promote our country. This is especially true for young researchers who will have the opportunity to thoroughly study this special interdisciplinary part of pharmacy, cell biology and immunology, as well as to elaborate their PhD theses on this topics. Additionally the activity of our research group within this extremely actual topic has increased its international visibility and recognition and of possibilities to access as a partner, the existing networks of collaboration in European Union and wider.

On the basis of our research that has been carried out in a previous and the current project a clinical study on the use of dendritic cell-based vaccine, designed for the immunotherapy of prostate cancer, has recently been elaborated and registered and is expected to start already this year. This will be the first study of this kind in Slovenia. Thereby Slovenia will become one of those progressive countries, which are striving to transfer various kinds of advanced therapies into clinical practice for their citizens.

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	

	Uporaba rezultatov	
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	

	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	

	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

Komentar

12.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☒	☐	☐	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☒	☐	☐	☐	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					

G.02.01.	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu					
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov					
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje					
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije					
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti					
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost					
G.02.07.	Večji delež izvoza					
G.02.08.	Povečanje dobička					
G.02.09.	Nova delovna mesta					
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih					
G.02.11.	Nov investicijski zagon					
G.02.12.	Drugo:					
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti					
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti					
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij					
G.03.04.	Drugo:					
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01.	Dvig kvalitete življenja					
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja					
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave					
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti					
G.04.05.	Razvoj civilne družbe					
G.04.06.	Drugo:					
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura					
G.07.02.	Prometna infrastruktura					
G.07.03.	Energetska infrastruktura					
G.07.04.	Drugo:					
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo: 					

Komentar

--

13. Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

Sofinancer			
1.	Naziv	Celica, biomedicinski center, d.o.o.	
	Naslov	Tehnološki park 24, 1000 Ljubljana	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	20.851,54	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	25	%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.	GABRIJEL M, BERGANT M, KREFT M, JERAS M, ZOREC R. Fused late endocytic compartments and immunostimulatory capacity of dendritic-tumor cell hybridomas. J Membr Biol, 2009, 229(1): 11-18.	A.01
	2.	ŠVAJGER U, OBERMAJER N, JERAS M. Dendritic cells treated with resveratrol during differentiation from monocytes gain substantial tolerogenic properties upon activation. Immunology (Oxf.), 2010, 129:525-535	A.01
	3.	KUŽNIK A, BENČINA M, ŠVAJGER U, JERAS M, ROZMAN B, JERALA R. Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines. J Immunol, 2010, 186(8):4794-8408	A.01
	4.	ŠVAJGER U, OBERMAJER N, JERAS M. Tolerogene dendritične celice pridobljene z visokimi odmerki interferona-gama. P-201000129, Urad RS za intelektualno lastnino, 2010	F.33
	5.	ŠVAJGER U, ANDERLUH M, JERAS M. Metoda določanja intrinzične aktivnosti sinteznih zaviralcev receptorja DC-SIGN. P-201100395, Urad RS za intelektualno lastnino, 2011	F.33
Komentar		Dosežki v okviru sofinanciranega raziskovalnega projekta predstavljajo: - osvojitve tehnologije za pripravo velikih količin dendritičnih celic iz človeških monocitov, tako za raziskovalne namene, kot za klinične aplikacije; - pomemben prispevek k poznavanju mehanizmov proženja in zaviranja aktivacijskega; potenciala dendritičnih celic, ki so najučinkovitejše antigene predstavljajoče celice; - možnost načrtovane in ciljane pozitivne ali negativne modulacije imunskih odzivov; - možnost uporabe dendritičnih celic za preučevanje delovanja različnih biogenih dejavnikov in učinkovin.	
Ocena		Ocenjujemo, da je projekt v celoti izpolnil naša pričakovanja. Rezultati projekta namreč predstavljajo pomembne strateške cilje sofinancerja, ki želi igrati vodilno vlogo na področju celičnih imunskih terapij v Republiki Sloveniji. Prav na osnovi, v okviru projekta osvojenih znanj, tehnologij in optimizacij postopkov, je bila izdelana in pred kratkim prijavljena klinična študija za imunsko zdravljenje raka prostate s celičnim cepivom na osnovi dendritičnih celic, ki bo stekla še v tem letu. Gre za prvo tovrstno študijo pri nas. S tem bo naša država postala ena izmed tistih najnaprednejših,	

		ki si prizadevajo za svoje državljane prenesti v klinično prakso različne oblike naprednih zdravljenj.
--	--	--

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

Člani raziskovalne skupine so soavtorji (vodja projekta M Jeras je vodilni in dopisni avtor) izvirnega raziskovalnega članka, ki predstavlja kompleksne izsledke ugotavljanja različnih bioloških markerjev v izbrani skupini 16 zdravih posameznikov, ob uporabi različnih "omik" in orodij sistemske biologije. Pri tem sta bili natančno raziskani dve vrsti imunskih celic, in sicer naravne celivce ubijalke (NK), kot predstavnice prirojene imunosti in limfociti T CD4+. Skupaj smo obravnavali 39.743 analiziranih markerjev in ugotovili, da je bilo število posameznih limfocitnih podvrst, 20% metabolitov in manj kot 10% genov močno variabilnih. Intraindividualna variabilnost na nivoju vseh parametrov je bila najmanj 2x nižja v primerjavi z iterindividualno. Rezultati predstavljajo osnovne kontrolne podatke za kasnejše analize krvnih vzorcev bolnikov, zdravljenih z imunskimi celičnimi terapijami in kažejo na pomembnost personaliziranih terapevtskih pristopov (PLoS ONE 2012;7:e28761) COBISS 3192689

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Zavod Republike Slovenije za
transfuzijsko medicino

Matjaž Jeras

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	28.3.2013
-----------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/290

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁶ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

⁷ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Rubrike izpolnite / prepišite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

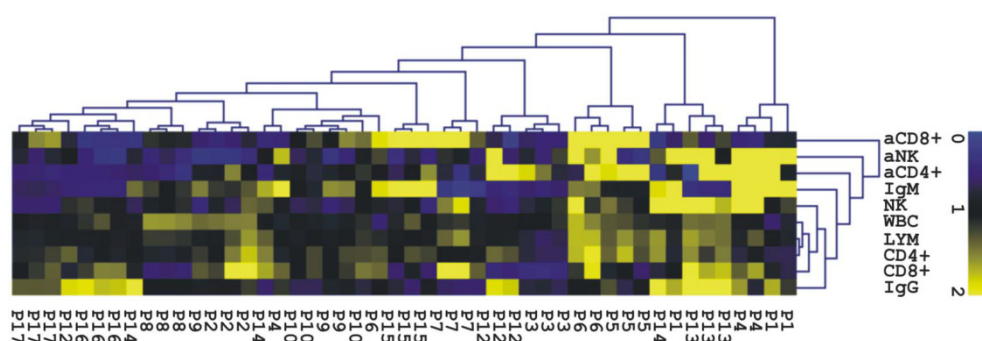
¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00
DF-20-62-89-D3-16-3E-D7-BD-4E-B8-31-0C-6E-7F-F3-DC-F2-76-A5

1 NARAVOSLOVNE VEDE

Področje: 1.09 Farmacija

Dosežek 1 – Analiza variabilnosti različnih sestavin priferne krvi v vzorcu zdrave populacije



Vir: GRUDEN, Kristina, HREN, Matjaž, HERMAN, Ana, BLEJEC, Andrej, ALBRECHT, Tanja, SELBIG, Joachim, BAUER, Chris, SCHUCHARDT, Jochannes, OR-GUIL, Michal, ZUPANČIČ, Klemen, ŠVAJGER, Urban, ŠTABUC, Borut, IHAN, Alojz, KOPITAR, Andreja Nataša, RAVNIKAR, Maja, KNEŽEVIĆ, Miomir, ROŽMAN, Primož, JERAS, Matjaž. A "crossomics" study analysing variability of different components in peripheral blood of health caucasoid individuals. *PloS one*, 2012, vol. 7, no. 1, str. e28761, [COBISS.SI-ID [3192689](#)] ; IF=4,092

Delo predstavlja kompleksne izsledke ugotavljanja različnih bioloških markerjev v izbrani skupini 16 zdravih posameznikov, ob uporabi različnih "omik" in orodij sistemske biologije. Pri tem sta bili natančno raziskani dve vrsti imunskih celic, in sicer naravne celivce ubijalke (NK), kot predstavnice prirojene imunosti in limfociti T CD4+. Pri tem smo ugotavljali tudi vplive starosti, spola in indeksa telesne mase. Skupaj smo obravnavali 39.743 analiziranih markerjev in ugotovili, da je bilo število posameznih limfocitnih podvrst, 20% metabolitov in manj kot 10% genov močno variabilnih. Ugotovili smo tudi, da intraindividualna variabilnost na nivoju vseh parametrov najmanj 2x nižja v primerjavi z iterindividualno. Rezultati predstavljajo osnovne kontrolne podatke za kasnejše analize krvnih vzorcev bolnikov, zdravljenih z imunskimi celičnimi terapijami in izkazujejo pomembnost personaliziranih terapevtskih pristopov.