

не отличался от нормы, в то время как уровень полноразмерной формы был повышен в 1,9 раза ($p < 0,05$).

Заключение. Уровень обеих форм мРНК гена *CD38* в периферической крови больных РТК с метастазами выше, чем в периферической крови больных без метастазов. Таким образом, уровень мРНК гена *CD38* может быть использован в качестве дополнительного прогностического маркера при РТК. Кроме того, мРНК гена *CD38* может стать индикатором наличия метастатических клеток в организме больного.

*А.А. Петкевич, С.А. Кузнецов, И.Ж. Шубина,
М.В. Киселевский*

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ АДЬЮВАНТНОЙ АДАПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Современные методы адаптивной иммунотерапии рака основаны на использовании лимфоцитов, активированных интерлейкином-2 или другими цитокинами, а также вакцин, разработанных, с применением дендритных клеток. Особое внимание в последнее время привлекают иммунные чекпоинты — молекулы, участвующие в качестве триггерных механизмов активации лимфоцитов. В настоящее время проходят клинические испытания препараты ипилимумаб (блокатор гена *CTLA4*) и ниволумаб (блокатор рецептора *PD1*). В процессе применения новых средств иммунотерапии необходимо проводить постоянный контроль за показателями гуморального и клеточного иммунитета. На 1-м этапе мы ограничились изучением характеристики субпопуляций лимфоцитов периферической крови и лимфатических узлов (ЛУ) больных раком яичника, меланомой и немелкоклеточным раком легкого.

Цель исследования — определение иммунофенотипа мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови и ЛУ больных раком яичника, меланомой и немелкоклеточным раком легкого.

Материалы и методы. Определение иммунофенотипа МНК проводили с помощью моноклональных антител против соответствующих антигенов, конъюгированных с флуоресцентными красителями FITC, PE или PAC: *CD3*, *CD8*, *CD4*, *CD56*, *CD25*, *CD16*. Цитометрические измерения осуществляли на проточном цитофлуориметре.

Результаты. В группе МНК распределение субпопуляций клеток было следующим: *CD3*⁺ — 18,8–74,9 % от общего пула исследуемых клеток; *CD4*⁺ — 9,4–64,0 %, *CD3*⁺/*CD8*⁺ — 4–30 %, *CD4*⁺/*CD25*⁺ — 0–2 %, *CD16*⁺/*CD56*⁺ — 0–20 %. В ЛУ субпопуляции распределились следующим образом: *CD16*⁺/*CD56*⁺ — 0–0,8 %, *CD4*⁺ — 13,4–55,3 %, *CD3*⁺/*CD8*⁺ — 3,8–14,1 %, *CD4*⁺/*CD25*⁺ — 0–12,9 %. Из представленных данных видно, что в ЛУ практически отсутствует субпопуляция клеток натуральных киллеров, среди МНК-пула эта субпопуляция также значительно снижена.

Заключение. Данные результаты позволяют предположить, что ЛУ могут служить источником эффекторных клеток, генерируемых для последующего использования в противоопухолевой иммунотерапии. Возможно, именно эти популяции лимфоцитов следует рассматривать как наиболее

функционально активные источники для клеточной иммунотерапии.

*Р.А. Петров, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина,
С.А. Петров, Е.Э. Ондар, Н.В. Зык*

ДИЗАЙН И СИНТЕЗ ЛИГАНДОВ ASGP-РЕЦЕПТОРА НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ N-АЦЕТИЛ-ГАЛАКТОЗЫ

Химический факультет ФГБОУ ВО

«МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Гепатоцеллюлярная карцинома — наиболее распространенная опухоль печени, результат злокачественного перерождения гепатоцитов. Ежегодно в мире диагностируют более 600 тыс. случаев заболевания этим недугом. Перспективным направлением увеличения эффективности химиотерапии является адресная доставка лекарств в клетки печени при помощи ASGP-рецептора гепатоцитов, распознающего производные галактозы. Данный рецептор расположен только на поверхности клеток печени и селективно связывается с гидроксильными группами в 3-м и 4-м положениях галактозы. Внеклеточная часть белка состоит из 3 субъединиц, каждая из которых связывается с галактозой.

Цель исследования — получение конъюгатов противоопухолевого лекарственного препарата доксорубина с тканеспецифическими лигандами для направленной доставки препарата непосредственно в опухоль печени и их биологическое тестирование.

Материалы и методы. Все исходные реактивы являются коммерчески доступными. Полученные соединения охарактеризованы с помощью методов ¹H и ¹³C ядерной магнитно-резонансной спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии масс-спектрометрии.

Результаты. На данный момент нами были получены 8 новых высокоселективных лигандов, которые были исследованы на предмет связывания с рецептором. Выявлены наиболее активно связывающиеся соединения. Лиганды, показавшие наибольшую активность, планируется конъюгировать с противоопухолевым препаратом доксорубицином, а также ввести флуоресцентные метки для дальнейших исследований *in vitro*.

Заключение. Таким образом, нами был предложен перспективный метод оптимизации противоопухолевого соединения за счет его конъюгирования с высокоселективным лигандом. В результате работы были оптимизированы синтетические подходы к созданию лигандов ASGP-рецептора на основе производных N-ацетил-галактозы. На основе полученных данных об активности исследуемых соединений была установлена зависимость структура — активность; разработана процедура, позволяющая в экспериментах *in vitro* исследовать новые лиганды асиалогликопротеинового рецептора и конъюгаты на их основе.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 14-34-00017).

А.А. Пискунов, М.С. Аксенова, М.В. Лыков, Д.А. Потеряев
МОНОКЛОНАЛЬНОЕ АНТИТЕЛО, АНТАГОНИСТ ХЕМОКИНОВОГО РЕЦЕПТОРА CXCR4, СНИЖАЕТ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХОЛИ И ПОВЫШАЕТ ИНФИЛЬТРАЦИЮ В ОПУХОЛЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ *IN VIVO*

ООО «МБЦ «Генериум», Москва

Введение. Хемокиновый рецептор CXCR4 и его лиганд SDF-1 экспрессируются во многих типах рака. CXCR4 на опухолевых клетках направляет метастазирование к местам высокой экспрессии SDF-1. CXCR4/SDF-1 также действуют локально, паракринно и аутокринно, усиливая рост опухоли и воспалительную нагрузку. SDF-1, секретлируемый опухолью и ее микроокружением, увеличивает выживаемость опухоли и модулирует трафик иммунных клеток в ее окружение. Поэтому CXCR4 является привлекательной мишенью для иммунотерапии рака с помощью антител. Основываясь на результатах партнерской компании Affitech AS, МБЦ «Генериум» ведет дальнейшую разработку и доклинические исследования антитела 9N10, антагониста CXCR4.

Цель исследования — доклиническая разработка полностью человеческого рекомбинантного антитела, ингибирующего CXCR4, и оценка его терапевтического потенциала по онкологическим показаниям.

Материалы и методы. Для создания изотипов IgG1 и IgG4 антитела 9N10 использовали стандартные методы молекулярного клонирования. Рекомбинантные антитела экспрессировались в клетках линии CHO. Антитела были выделены и очищены с помощью 2-стадийной хроматографии и диализа. Связывание антител с нативным CXCR4 определяли проточной цитометрией. Ингибирование внутриклеточного сигнального каскада CXCR4 оценивали измерением выброса внутриклеточного кальция в ответ на лиганд. Хемотаксис CXCR4⁺ раковых клеток *in vitro* определялся в камерах Бойдена. Для определения терапевтического потенциала 9N10 *in vivo* использовались 2 модели: 1) экспериментальная сингенная модель метастазирования мышинной меланомы B16 при инъекции раковых клеток в хвостовую вену; 2) мышинная сингенная ортотопическая опухоль молочной железы 4T1. Количество и тип клеток иммунной системы, инфильтрировавших в опухоль, оценивали методом многоканальной проточной цитометрии гомогенизированной опухоли при некропсии.

Результаты. Показано, что антитело 9N10 является высокоселективным ингибитором CXCR4, вытесняет его лиганд и блокирует его внутриклеточный сигнальный каскад. *In vitro* 9N10 блокирует миграцию (хемотаксис) нескольких видов раковых клеток (например, лимфомы CCRF-CEM и карциномы 4T1), не вызывая при этом апоптоз CXCR4⁺ клеток. В мышинных сингенных раковых моделях монотерапия 9N10 уменьшает количество легочных метастазов CXCR4⁺-меланомы B16 и увеличивает количество цитотоксических лимфоцитов, инфильтрирующих в опухоль молочной железы 4T1.

Заключение. Антитело 9N10 является перспективным кандидатом для дальнейших доклинических и возможных клинических испытаний в области иммунотерапии солидных опухолей. Ингибирование сигнального каскада CXCR4 с помощью 9N10 может иметь наибольший терапевтический эффект в комбинации с ингибиторами иммунного чекпойнта, поскольку блокирование CXCR4 усиливает проникновение цитотоксических Т-лимфоцитов в опухоль.

Л.В. Плотникова¹, А.М. Поляничко², М.В. Успенская¹,
А.Д. Гарифуллин³, С.В. Волошин³

ОСОБЕННОСТИ ИНФРАКРАСНЫХ СПЕКТРОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

¹ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский НИУ ИТМО»;

Международный научно-исследовательский институт
«Биоинженерия», Санкт-Петербург;

²ФГБОУ ВО СПбГУ, Санкт-Петербург;

³ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии
ФМБА», Санкт-Петербург

Введение. Множественная миелома (ММ) составляет около 1 % всех злокачественных новообразований и чуть более 10 % гемобластозов. Наиболее частым симптомом ММ являются боли в костях, которые отмечаются более чем у 60 % пациентов на момент диагностики. Одним из критериев диагностики и оценки эффективности лечения больных ММ является определение уровня патологического белка в сыворотке крови и/или моче. Примерно у 80 % больных ММ методом электрофоретического анализа белков сыворотки крови можно выявить одиночный узкий пик или локализованную полосу (М-компонент) патологического белка, который вырабатывается клональными плазматическими клетками. При этом в сыворотке крови развивается выраженная диспротеинемия. Гипогаμμαглобулинемия присутствует только в 10 % случаев ММ, в то время как у оставшихся 90 % пациентов имеются более сложные нарушения соотношения белков сыворотки крови.

Материалы и методы. В нашем исследовании мы применили комбинацию электрофоретического разделения, спектральных подходов и термального анализа для выявления ключевых различий в белковом составе сыворотки крови, ее термального поведения и вторичной структуры белков для образцов, полученных из сыворотки крови больных ММ и здоровых доноров.

Результаты. На сегодняшний день, молекулярные механизмы возникновения болезни остаются слабо изученными. Среди новых и потенциально перспективных подходов к лечению ММ особый интерес представляют направления, основанные на изменениях структуры белков и нарушении процессов фолдинга белков в клональных плазматических клетках. В данной работе методами электрофореза высокого разрешения, рефрактометрии и инфракрасной спектроскопии мы провели сравнительный анализ вторичной структуры белков в составе плазмы крови у пациентов с ММ и здоровых доноров. Анализ полученных данных показывает, что по сравнению с образцами сыворотки крови здоровых доноров в пробах ММ-IgG в структуре белков сыворотки крови наблюдается уменьшение доли α -спиральных участков в среднем на 15–20 %. Уменьшение степени α -спиральности сопровождается также повышением количества межмолекулярных β -слоев в среднем на 10–15 %. Иная картина наблюдается для образца ММ-IgA. В этом случае среднее содержание основных элементов вторичной структуры в белках сыворотки крови близко к таковому в образцах, полученных от здоровых доноров. Увеличение доли межмолекулярных β -слоев в структуре белков сыворотки крови больных ММ-IgG свидетельст-