

*Н.А. Чикаев, С.В. Кулемзин, А.А. Горчаков, В.В. Кузнецова,
А.М. Сократян, О.Ю. Волкова, Л.В. Мечетина, А.В. Таранин*
**СОЗДАНИЕ ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ
РЕЦЕПТОРОВ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ
ДЛЯ АДАПТИВНОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ
РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

ИМКБ СО РАН, Новосибирск

Введение. Результаты исследований последних лет указывают на значительный потенциал CAR (chimeric antigen receptor) Т-клеточной терапии для элиминации раковых клеток с множественной устойчивостью. Вместе с тем эта технология находится на начальном этапе развития и нуждается в оптимизации различных ее составляющих при каждом конкретном онкозаболевании.

Цель исследования — сравнение активационных свойств различных вариантов CAR против маркеров рака предстательной железы PSCA и PSMA.

Материалы и методы. В ходе работы были созданы конструкции, кодирующие PSCA- и PSMA-специфичные CAR с различным модульным составом. В качестве шарнирных областей были использованы участки белка CD8a либо CH2 — CH3 домены тяжелой цепи IgG1 человека. Сигнальные области представлены цитоплазматическими последовательностями CD3z либо тандемом CD3z — CD28. С использованием полученных конструкций были созданы клеточные линии Jurkat, эктопически экспрессирующие соответствующие варианты CAR. Кроме того, на основе клеток 293T были получены моноклональные линии-мишени 293T-PSCA и 293T-PSMA. Степень активации клеток-эффекторов оценивали проточной цитометрией по уровню экспрессии поверхностного маркера CD69.

Результаты. Все исследованные варианты химерных антигенных рецепторов показали специфичное распознавание маркера-мишени (PSCA или PSMA) и отсутствие перекрестных реакций. Однако степень и скорость активации клеток-эффекторов существенно зависели от использованной шарнирной области и сигнальной части. В наиболее эффективной архитектуре (шарнир CH2 — CH3, сигнальная часть CD3z — CD28) признаки активации появлялись уже через 1 ч после контакта с клетками-мишенями, а максимальный уровень активации достигался через 4 ч после контакта. При инкубации с 10-кратным избытком клеток, не являющихся мишенями, активацию CAR-Т-клеток не детектировали.

Заключение. Химерные антигенные рецепторы обеспечивают высокую селективность и силу активации Т-лимфоцитов при взаимодействии с клетками, несущими PSCA и PSMA. Полученные данные и структурные варианты CAR будут использованы для поиска оптимальной стратегии CAR-Т-клеточной терапии на моделях ксенотрансплантации PSCA- и PSMA-экспрессирующих опухолей у мыши.

Работа выполнена при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований по теме 0310-2014-0004 и гранта РФФИ № 16-04-00979.

Г.З. Чкадуа

ПОДХОДЫ К ИММУНОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

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

Введение. Несмотря на бурное развитие биотехнологий и большой мировой опыт иммунотерапии опухолей, клиническая эффективность данного метода лечения остается низкой. В основном это связано с неправильным пониманием такого явления, как «противоопухолевый иммунитет», которое возникло в экспериментальной онкологии и характеризовало способность иммунной системы животного бороться с перевиваемой опухолью. В опытах было показано вовлечение в борьбу с опухолью как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа.

Цель исследования — поиск подходов, повышающих эффективность иммунотерапевтических методов лечения опухолей.

Материалы и методы. Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) получали при совместном культивировании лимфоцитов больного с дендритными клетками, нагруженными опухолевым лизатом.

Результаты. После доказательства развития специфического ответа на опухолевые антигены был сделан логичный вывод о возможности применения адаптивного иммунного ответа у онкологических больных, однако разница в эффективности между экспериментом и клиникой была колоссальна не в пользу последней. Можно долго сравнивать и искать отличия между опухолью больного и экспериментальной опухолью, но главное — это неверный посыл, что иммунная система способна бороться с развившейся опухолью. У организма нет программы борьбы с возникшей опухолью, в противном случае мы наблюдали бы самоизлечение от онкологических заболеваний. Таким образом, иммунная система способна предотвращать возникновение опухоли, за это отвечают клетки врожденного иммунитета (НК, НКТ, δ/γ -лимфоциты), но не способна победить развившуюся опухоль. Тем не менее мы можем получить ЦТЛ против опухолевых антигенов, которые при определенных условиях способны уничтожить опухолевые клетки.

Заключение. Для эффективного использования ЦТЛ должно совпасть много условий: экспрессия опухолью антигенов, против которых были получены ЦТЛ; экспрессия главного комплекса гистосовместимости на поверхности опухолевых клеток; отсутствие супрессорных механизмов, спасающих опухоль от цитотоксического воздействия; подавление/уничтожение внутриопухолевых макрофагов, являющихся перехватчиками цитотоксической атаки и т. д. Из всего вышеперечисленного следует, что перед началом иммунотерапии необходимо подготавливать опухоль, чтобы введенные ЦТЛ могли оказать наибольшее воздействие.

В.И. Швец

**БИОНАНОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ
СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ**

МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

В докладе излагаются проблемы, посвященные методологии получения наноконтейнеров на основе липосом, полимеров на основе полибутилцианоакрилатов или полилактидов, сферических аморфных частиц из бересты, нанопористого кремния, их технологической загрузке классическими лекарственными препаратами в целях полу-

чения эффективных лекарственных средств нового поколения, изучению их физико-химических, биологических, фармакологических, технологических свойств для внедрения в практическую медицину при лечении социально значимых заболеваний.

Изложены современные представления о химическом и ферментативном синтезе, выделении из природных источников, создании промышленных технологий получения фосфолипидов различных молекулярных видов. Приведены данные об их строении, биологической, физиологической активности, фармакологических свойствах и возможности использования этих данных для конструирования лекарственных и диагностических препаратов, среди которых особое место отводится липосомальным препаратам. Рассмотрены биофармацевтические технологии на основе фосфолипидов и их применение в разработке медицинских препаратов нового поколения. Сообщаются последние сведения об использовании наноконтейнеров для загрузки классических лекарственных препаратов при создании современных эффективных лекарственных форм для улучшения результатов лечения, создания направленного транспорта к очагам патологии, снижения токсичности, пролонгации действия, повышения растворимости препаратов. Среди названных контейнеров особо выделяются липосомы, наносомальные полимерные формы на основе полибутилцитрилатов или полилактидов, сферические аморфные наночастицы из тритерпеноидов бересты, нанопористого кремния. Приведены данные по исследованию их биологических и фармакологических свойств. Представлено современное состояние исследований в этой области.

В.М. Шелепова, З.Г. Кадагидзе

ЗНАЧЕНИЕ CYFRA 21.1 В ДИАГНОСТИКЕ ПЕРЕХОДНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И ВЕРХНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

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

Введение. Диагностика рака мочевого пузыря (РМП) является непростой задачей: лишь у 40 % больных диагноз устанавливается в течение месяца после обращения к врачу. Есть основания считать, что РМП сопряжен с предраковыми изменениями слизистой оболочки всех мочевых путей. При РМП *in situ* часто также находят рак *in situ* мочевого пузыря или рак почечной лоханки (10–60 % случаев). Основным методом диагностики является цистоскопия, но у 9–20 % больных ее проведение невозможно. Цитологическое исследование осадка мочи отличается недостаточной чувствительностью, особенно при высоко- и умеренно-дифференцированных опухолях. Особенностью РМП является то, что более половины пациентов страдают от рецидивов, и им показано длительное наблюдение. Частые обследования, включающие цистоскопию и биопсию, относятся к дорогостоящим и болезненным процедурам. В связи с этим опухолевые маркеры являются перспективным неинвазивным методом в ранней диагностике и лечении РМП и рака верхних мочевыводящих путей (РВМП).

Цель исследования — изучение целесообразности определения уровня CYFRA 21.1 в моче для диагностики РВМП, РМП и его рецидивов.

Материалы и методы. Для определения диагностической значимости CYFRA 21.1 концентрацию маркера измеряли в образцах мочи, полученных от 105 пациентов, которые были разделены на 7 групп по 15 человек в каждой: 1-я — первичные больные РВМП; 2-я — первичные больные РМП; 3-я — пациенты без признаков заболевания после трансуретральной резекции по поводу РМП; 4-я — больные с рецидивами РМП; контрольные группы: 5-я — здоровые доноры; 6-я — пациенты с мочекаменной болезнью (МКБ); 7-я — больные злокачественными опухолями почки. CYFRA 21.1 определяли в образцах утренней мочи электрохемилюминесцентным методом. Результаты нормировались на креатинин мочи.

Результаты. У здоровых доноров среднее значение CYFRA 21.1 составляло 0,159 (0,034–0,328) нг/мкМ креатинина; у пациентов с МКБ — 0,619 (0,065–2,459); у больных раком почки — 0,313 (0,073–0,635); у пациентов с РВМП — 48,1 (0,241–457,63), у больных РМП — 2,226 (0,172–210,75). По сравнению с контрольной группой онкологические больные отличались достоверно более высокой концентрацией CYFRA 21.1. При дискриминационном уровне 0,65 нг/мкМ креатинина диагностическая специфичность теста составила 87 %, диагностическая чувствительность в отношении РВМП — 87 %, в отношении РМП — 76 %. В отношении рецидивов РМП диагностическая специфичность составила 82 %, чувствительность — 75 %.

Заключение. CYFRA 21.1 является полезным маркером в диагностике РВМП, а также РМП и его рецидивов. Он не может использоваться в самостоятельном варианте, но может служить дополнительным средством при обследовании людей с высоким риском или с симптомами уротелиального рака. У больных без признаков заболевания после трансуретральной резекции мониторинг на основе CYFRA 21.1 способствует снижению числа ненужных цистоскопий и раннему выявлению рецидива.

И.П. Шилов¹, Н.П. Ивановская¹, В.М. Маркушев¹, В.Д. Румянцев¹, К.С. Шамхалов¹, А.В. Иванов², С.А. Ивашов¹ СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ИТТЕРБИЕВОГО КОМПЛЕКСА ПРОТОПОРФИРИНА IX И ЛЕКСАН-ПОЛИМЕРНОЙ МАТРИЦЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ

¹ФирЭ им. В.А. Котельникова РАН, Фрязино,

Московская область;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Иттербиевые комплексы порфиринов (ИКП) в последнее время привлекают все большее внимание исследователей, разрабатывающих люминесцентные способы детектирования злокачественных новообразований. Обладая, наряду с другими порфириновыми соединениями, достаточной туморотропностью, они в то же время имеют ряд преимуществ, главное из которых — снижение фотохимической активности. Однако недостатком этого вида металлопорфиринов является их сравнительно невысокая стабильность. Для увеличения диагностического потенциала ИКП необходимо повышать стабильность комплексов и изолировать их от тушающего действия водной среды.