

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-296

NY-ESO-1 TCR T-КЛЕТКИ ПРОЯВЛЯЮТ МОЩНУЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ В МЫШИНОЙ МОДЕЛИ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЛАНОМЫ SK-MEL-37***NY-ESO-1 TCR T-CELLS SHOW A POTENT ANTI-TUMOR ACTIVITY IN THE SK-MEL-37 MELANOMA MURINE XENOGRAFT MODEL**

А. Алсаллум^{1,2}, С. Алрхмун^{1,2}, О. Ю. Перик-Заводская¹, М. С. Фишер¹, М. О. Вольнец^{1,2},
Ю. А. Лопатникова¹, Р. Ю. Перик-Заводский¹, Ю. А. Шевченко¹, Ю. Г. Филиппова¹,
О. И. Соловьева³, Е. Л. Завьялов³, В. В. Курилин¹, Х. Шику⁴, А. Н. Силков¹, С. В. Сенников^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск

²Новосибирский государственный университет

³Центр коллективного пользования SPF-виварий ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

⁴Университет Миэ, Цу, Япония

A. Alsalloum^{1,2}, S. Alrhoun^{1,2}, O. Yu. Perik-Zavodskaja¹, M. S. Fisher¹, M. O. Volynets^{1,2},
J. A. Lopatnikova¹, R. Yu. Perik-Zavodskii¹, J. A. Shevchenko¹, J. G. Philippova¹,
O. I. Solovieva³, E. L. Zavjalov³, V. V. Kurilin¹, H. Shiku⁴, A. N. Silkov¹, S. V. Sennikov^{1,2}

¹Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk

²Novosibirsk State University

³Center for Collective Use SPF-vivarium ICG SB RAS, Novosibirsk

⁴Mie University, Tsu, Japan

✉ alaa.alsalloum19996@gmail.com

Аннотация

TCR-инженерные Т-клетки, нацеленные на внутриклеточные антигены, представляют собой перспективный подход к лечению рака. Однако механизмы, определяющие их эффективность против клеток-мишеней, остаются неуловимыми. В этом исследовании использовались современные методы для изучения адаптации и функционального состояния Т-клеток с TCR, специфичным к NY-ESO-1, *in vivo*. Мы выявили уникальную субпопуляцию CD8⁺ эффекторных Т-клеток, обладающую профилем экспрессии генов, характерным как CTL, так и NK-клеток.

Abstract

TCR-engineered T cells targeting intracellular antigens hold promise for cancer therapy. Yet, the mechanisms driving their effectiveness remain elusive. This study employed a cutting-edge approach to explore the adaptation and functional state of T cells with a TCR specific to NY-ESO-1 *in vivo*. We revealed a unique subset of CD8⁺ effector T cells, exhibiting a gene expression profile characteristic of both CTLs and NK cells.

NY-ESO-1 является раковым эмбриональным антигеном с ограниченной экспрессией в нормальных тканях [1]. Высокий уровень экспрессии NY-ESO-1 обнаружен в различных злокачественных опухолях, что делает его перспективной мишенью для противоопухолевой терапии [2, 3].

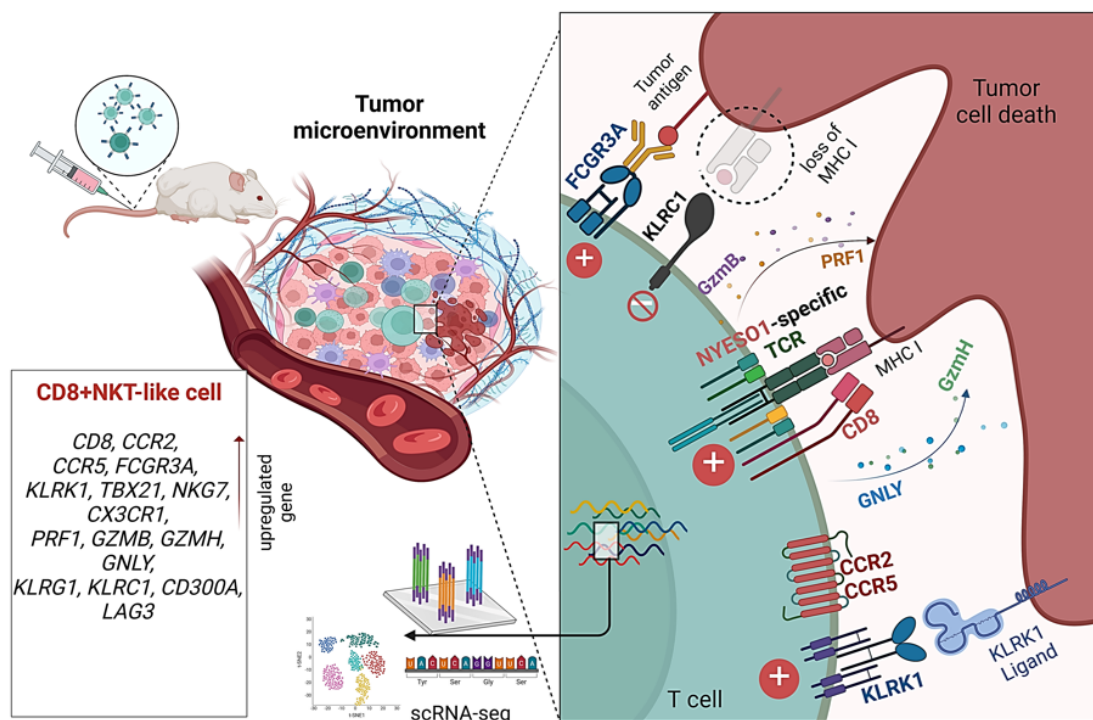
В данном исследовании Т-клетки были трансдуцированы ретровирусными конструкциями, экспрессирующими TCR, специфичный для пептида NY-ESO-1 157-165 в контексте HLA-A02:01 (ретровирусный вектор был предоставлен Высшей медицинской школой Университета Миэ, Япония, под руководством профессора Х. Шику). На первом этапе исследования оценивалась цитотоксическая активность TCR-Т-клеток *in vitro*. Для этого трансдуцированные Т-клетки сокультивировались с опухолевыми клетками-мишенями. Фенотип Т-клеток анализировался методом проточной цитометрии, а продукция цитокинов оценивалась с помощью мультиплексного анализа.

На втором этапе исследования проводилось иммунное транскриптомное профилирование Т-клеток на платформе NanoString до и после трансдукции. Впоследствии трансдуцированные Т-клетки вводились внутривенно иммунодефицитным мышам линии NRG, несущим ксенотрансплантат клеток человеческой меланомы SK-MEL-37. После достижения полного регресса опухоли на 14-й день из периферической крови экспериментальных мышей выделялись CD3⁺ человеческие Т-клетки. Эти клетки подвергались секвенированию РНК единичных клеток (scRNA-seq) для изучения адаптации и функционального состояния Т-клеток *in vivo*.

* Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 21-65-00004).

© А. Алсаллум, С. Алрхмун, О. Ю. Перик-Заводская, М. С. Фишер, М. О. Вольнец, Ю. А. Лопатникова, Р. Ю. Перик-Заводский, Ю. А. Шевченко, Ю. Г. Филиппова, О. И. Соловьева, Е. Л. Завьялов, В. В. Курилин, Х. Шику, А. Н. Силков, С. В. Сенников, 2024

В ходе работы было отмечено значительное увеличение доли клеток, экспрессирующих CD8+CD107a+ +FasL+, примерно на $67,50 \pm 3,899\%$ в культуре трансдуцированных клеток после сокультивирования с опухолевыми клетками. Это свидетельствует об увеличении цитотоксического потенциала TCR-модифицированных T-клеток. Мультиплексный анализ показал значительное повышение продукции цитокинов (IFNG, TNFa, IL-17, IL-6) и факторов апоптоза (sFasL, гранзимы и перфорин) цитотоксическими лимфоцитами после контакта с клетками-мишенями по сравнению с нетрансдуцированными T-лимфоцитами, что подтверждает их повышенную цитотоксическую активность. Анализ NanoString NY-ESO-1-специфичных TCR-T-клеток показал повышение экспрессии ряда генов, включая ключевые хемокиновые рецепторы *CCR2* и *CCR5*, что свидетельствует об усиленной миграции T-клеток к месту опухоли. Трансдуцированные T-клетки полностью уничтожили ксенотрансплантат в модели меланомы SK-MEL-37, подтвердив свою эффективность. На 14-й день после введения T-клеток секвенирование РНК единичных клеток (scRNA-seq) выявило популяцию CD8+ эффекторных T-клеток, характеризующихся экспрессией таких генов, как: *CCR2*, *CCR5*, *FCGR3A*, *KLRK1*, *TBX21*, *NKG7*, *GZMB*, *GZMH*, *GNLY*, *PRF1*, *CX3CR1*, *KLRC1*, *KLRG1*, *CD300A* и *LAG3*. Полученные данные свидетельствуют о наличии механизма двойного противоопухолевого эффекта — как антиген-независимый, подобный NK-клеткам, так и антиген-специфичный, подобный цитотоксическим T-лимфоцитам (CTL) (см. рисунок).



Экспрессия генов в субпопуляции CD8+ T-клеток, выделенных из периферической крови мышей NRG с успешным уничтожением ксенотрансплантата опухоли

Таким образом, полученные лимфоциты с TCR, специфичным к NY-ESO-1, демонстрируют способность к противоопухолевой активности *in vivo*. Данные исследования предоставляют ценную информацию о том, как клетки развиваются и адаптируются *in vivo*, подчеркивая потенциал оптимизации терапевтических стратегий с использованием уникальных характеристик CD8+ T-клеток, обладающих свойствами NK-клеток.

Литература

1. Satie A.-P., Rajpert-De Meyts E., Spagnoli G.C., et al. The cancer-testis gene, NY-ESO-1, is expressed in normal fetal and adult testes and in spermatocytic seminomas and testicular carcinoma in situ. *Lab. Invest.* 2002. 82: 775–780. <https://doi.org/10.1097/01.lab.0000017169.26718.5f>.
2. Aung P.P., Liu Y.-C., Ballester L.Y., et al. Expression of New York esophageal squamous cell carcinoma-1 in primary and metastatic melanoma. *Hum. Pathol.* 2014. 45: 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2013.05.029>.
3. Raza A., Merhi M., Inchakalody V.P., et al. Unleashing the immune response to NY-ESO-1 cancer testis antigen as a potential target for cancer immunotherapy. *J. Transl. Med.* 2020. 18, 140. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02306-7>.