

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-327

**МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ГИБРИДНЫЕ БЕЛКИ  
НА ОСНОВЕ ЦИТОКИНА TRAIL С АНТИАНГИОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ \*****MULTIMODAL ANTITUMOR FUSION PROTEINS BASED ON CYTOKINE TRAIL WITH  
ANTIANGIOGENIC ACTIVITY**А. А. Исакова<sup>1</sup>, М. Э. Гаспарян<sup>1</sup>, Д. А. Долгих<sup>1,2</sup>, А. В. Яголович<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М. В. ЛомоносоваA. A. Isakova<sup>1</sup>, M. E. Gasparian<sup>1</sup>, D. A. Dolgikh<sup>1,2</sup>, A. V. Yagolovich<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University

✉ anneyagolovich@gmail.com

**Аннотация**

В работе исследованы свойства гибридных белков на основе DR5-специфичного цитокина TRAIL с антиангиогенными пептидами на ксенографтных мышинных моделях солидных опухолей человека *in vivo*. Показано, что одновременное воздействие на DR5 и другие рецепторы, гиперэкспрессированные в опухолевом микроокружении, усиливает противоопухолевый эффект за счет дополнительной антиангиогенной активности.

**Abstract**

The fusion proteins based on the DR5-specific cytokine TRAIL with antiangiogenic peptides were studied in xenograft mouse models of human glioblastoma and pancreatic cancer *in vivo*. It has been shown that simultaneous targeting of DR5 and other receptors overexpressed in the tumor microenvironment enhances the antitumor effect due to additional antiangiogenic activity.

Препараты на основе DR5-направленного цитокина TRAIL перспективны для таргетной терапии рака благодаря способности индуцировать апоптоз при связывании с рецептором смерти DR5 на поверхности опухолевых клеток. Цель работы заключалась в разработке и исследовании мультимодальных гибридных белков на основе DR5-селективного варианта цитокина TRAIL DR5-B для параллельного воздействия на опухолевые клетки и опухолевое сосудистое микроокружение.

Были разработаны биспецифичные гибридные белки на основе лиганда DR5-B с эффекторными пептидами: SRH (SRHTKQRHTALH) с антиангиогенным действием за счет аффинности к рецептору VEGFR2, и iRGD (CRGDKGPDC), усиливающим проникновение в солидные опухоли за счет специфичности к интегринам  $\alpha\beta3/5$  и NRP-1 по механизму CendR. По данным иммуноферментного анализа, гибридные белки с пептидом SRH проявили аффинность в наномолярном диапазоне к рецепторам DR5 и VEGFR2, а с пептидом iRGD — к DR5 и интегрину  $\alpha\beta3$ . Методом конфокальной микроскопии было показано, что пептид iRGD в составе гибридных белков способствовал ускоренному проникновению в мультিকлеточные сфероиды линии глиобластомы человека U87MG [1].

Все варианты гибридных белков обладали повышенной цитотоксической активностью *in vitro* на клеточных линиях солидных опухолей человека различного происхождения, гиперэкспрессирующих на поверхности рецепторы DR5, VEGFR2 и интегрин  $\alpha\beta3$ , а также обладали аффинностью к эндотелиальным клеточным линиям bEnd.3 и HBECSi.

Противоопухолевое действие гибридных белков *in vivo* тестировали на ксенографтных мышинных моделях солидных васкуляризованных опухолей человека различного происхождения. Все варианты гибридных белков тормозили рост опухолевых ксенографтов эффективнее, чем исходный DR5-специфичный TRAIL: диапазон торможения роста опухоли (ТРО) для наиболее эффективной модификации SRH-DR5-B-iRGD составил 75–85 % по сравнению с 50–55 % для DR5-B [2].

Васкуляризацию опухолевой паренхимы исследовали с помощью иммуногистохимического анализа путем окрашивания на эндотелиальные маркеры CD31 и CD34 и других методик. Наиболее перспективная модификация белка SRH-DR5-B-iRGD приводила к снижению плотности сосудистой сети в опухолевых узлах до 50 %.

\* Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 24-14-00250).

© А. А. Исакова, М. Э. Гаспарян, Д. А. Долгих, А. В. Яголович, 2024

Таким образом, модификация DR5-специфичного варианта TRAIL эффекторными пептидами придает ему дополнительную антиангиогенную активность и усиливает противоопухолевый эффект за счет одновременной активации рецептора смерти DR5 на поверхности опухолевых клеток и блокирования рецепторного комплекса VEGFR2/NRP-1/интегрин  $\alpha\beta 3/5$  в опухолевом сосудистом микроокружении. Новый мультимодальный гибридный белок SRH-DR5-B-iRGD может обладать клиническими перспективами для таргетной терапии солидных васкуляризованных опухолей.

### **Литература**

1. Yagolovich A. V., Isakova A. A. et al. DR5-Selective TRAIL Variant DR5-B Functionalized with Tumor-Penetrating iRGD Peptide for Enhanced Antitumor Activity against Glioblastoma // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23(20). P. 12687.
2. Isakova A. A., Artykov A. A. et al. Dual targeting of DR5 and VEGFR2 molecular pathways by multivalent fusion protein significantly suppresses tumor growth and angiogenesis // *Int. J. Biol. Macromol.* 2024. Vol. 255. P. 128096.