

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-304

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛА РЕКОМБИНАНТНЫХ ВИРУСОВ ОСПОВАКЦИНЫ ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ ГЛИОМ

INVESTIGATION OF THE POTENTIAL OF RECOMBINANT VACCINIA VIRUSES FOR GLIOMA THERAGNOSTIC

Е. Д. Баженов¹, Н. С. Васильева¹, А. Б. Агеенко¹, Г. В. Кочнева²

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

²Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

E. D. Bazhenov¹, N. S. Vasilyeva¹, A. B. Ageenko¹, G. V. Kochneva²

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

²State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo

✉ e.bazhenov@g.nsu.ru

Аннотация

Глиомы — одни из наиболее агрессивных и злокачественных опухолей центральной нервной системы (ЦНС). В настоящее время онкологические вирусы являются одним из наиболее перспективных направлений разработки новых терапевтических агентов против глиом. Однако необходимо исследование вклада секреции вирусами трансгенов для понимания механизма их действия и выбора оптимальных схем терапии.

Abstract

Glioma is one of the most aggressive and malignant tumor of the central nervous system. Currently, oncolytic viruses are one of the most promising areas for the development of new therapeutic agents against gliomas. However, it is necessary to study the contribution of transgenes secreted by viruses in order to understand the mechanism of their action and choose optimal treatment regimens.

Несмотря на то что опухоли головного мозга довольно редки, они относятся к наиболее тяжелым по последствиям онкологическим заболеваниям. Глиомы высокой степени злокачественности являются одними из самых распространенных и наиболее агрессивных типов опухолей ЦНС и обладают высокой резистентностью к различным терапевтическим методам.

Одним из наиболее перспективных подходов иммунотерапии злокачественных новообразований является виротерапия. Вирус осповакцины обладает естественным тропизмом к клеткам тканей различного гистогенеза за счет отсутствия зависимости от специфических рецепторов для проникновения в клетку. Более того, размер генома вируса осповакцины позволяет встраивать в него трансгены для усиления противоопухолевого эффекта вирусного вектора. В ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора были разработаны рекомбинантные штаммы вируса осповакцины, несущие трансгены онкотоксических белков апоптина (Apo) и NS1 парвовируса H-1 и мышьного симпортера натрия/йодида mNIS, экспрессируемого под контролем раннего или позднего вирусного промотора. Белки Apo и NS1 активируют апоптоз опухолевых клеток, а mNIS обеспечивает накопление радиоактивных изотопов йода в опухолевых клетках для радиоийодтерапии и визуализации опухоли и метастазов.

В данной работе проведена оценка цитотоксической активности рекомбинантов VV-mNIS-NS1/VV-P11mNIS-NS1, VV-mNIS-dGF/VV-P11mNIS-dGF, VV-mNIS-Apo/VV-P11mNIS-Apo в отношении клеток иммортализованных линий (U87 MG и U343 MG) и культур глиом человека (BR2.20, BR3.20, BR5.21, BR6.21 и LowGG), полученных из образцов опухолей, колориметрическим методом. Также проведен анализ уровней представленности mNIS на поверхностных мембранах клеток U343 MG и U87 MG, инфицированных исследуемыми рекомбинантами, и апоптотических процессов, индуцированных в популяции опухолевых клеток под действием онкологических вирусов методом проточной цитометрии.

Показано, что рекомбинанты без инсерции генов онкотоксических белков (VV-mNIS-dGF и VV-P11mNIS-dGF) обладают наименьшей лизической активностью в отношении клеток глиом человека. При этом рекомбинанты, экспрессирующие mNIS под контролем раннего вирусного промотора (VV-mNIS-NS1, VV-mNIS-Apo, VV-mNIS-dGF), более цитотоксичны для клеток глиом человека. Все исследуемые культуры клеток глиом обладают высокой чувствительностью к действию вируса VV-mNIS-NS1.

При цитометрическом анализе зарегистрирована эффективная транслокация mNIS на поверхностной мембране клеток U343 MG и U87 MG через 24 ч после инфекции всеми рекомбинантными вирусами. При этом наибольшее количество NIS-положительных клеток выявляется при обработке опухолевых клеток рекомбинантом VV-P11mNIS-Apo, а наименьшее — при инфекции вирусом VV-mNIS-NS1.

Анализ процессов клеточной гибели, запускаемых в клетках глиобластомы человека U87 MG под действием онкологических вирусов VV-mNIS-NS1, VV-P11mNIS-NS1, VV-mNIS-Apo, VV-P11mNIS-Apo, VV-mNIS-dGF, VV-P11mNIS-dGF, показал, что все исследуемые рекомбинанты способны индуцировать программу апоптоза в опухолевых клетках, при этом большее количество живых клеток регистрируется при обработке рекомбинантом VV-P11mNIS-Apo.