

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ПАРАТГОРМОН-КОДИРУЕМОЙ AAV-ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНЫ В МЫШИНОЙ МОДЕЛИ



© М.Ю. Логинова*, А.О. Гончаренко, К.Ю. Трутнева, А.А. Девяткин, П.В. Белоусов, Е.Д. Ивлев, П.Ю. Волчков

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Паратиреоидная карцинома (ПК) — редкое злокачественное заболевание одной или нескольких околощитовидных желез (ОЩЖ). Пациенты с опухолями ОЩЖ характеризуются повышенным образованием и выделением паратгормона (ПТГ), вследствие чего у них развивается высокий уровень гиперкальциемии и множественные осложнения. ПК характеризуется тяжелым течением и высокой частотой рецидивов (23–51%) после лечения, золотым стандартом которого остается хирургическое вмешательство «единым блоком». Лечение рецидивов также хирургическое, т.к. чаще всего ПК радио- и химиорезистентна. Большой интерес представляют подходы генной и иммунной терапии ПК. Однако к настоящему времени известны только единичные попытки иммунотерапии ПК, основанные на иммунизации синтетическими пептидами ПТГ человека и использовании дендритных клеток пациента. Эти подходы не всегда были эффективны, оставляя актуальным вопрос разработки генотерапевтической вакцины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Мы создали вакцину на основе аденоассоциированного вирусного (AAV) вектора в двух вариантах — с участком, кодирующим мышинный паратгормон (AAV-мПТГ), и с участком, кодирующим еще мембранный якорь GPI, оставляя экспрессирующийся мПТГ заякоренным в мембране клеток (AAV-мПТГ-GPI). Вакцина была введена мышам линии C57BL/6 внутримышечно. Животные были разбиты на 3 группы по 5 в каждой. Первая группа была контрольная, вторая группа была вакцинирована конструкцией мПТГ, а третья группа — конструкцией мПТГ-GPI. Титр вируса составлял 1×10^{11} , серотип — AAV2. Через 2 недели была проведена бустерная вакцинация в тех же дозах. Серотип — AAV9. Животные были выведены из эксперимента через 6 недель после введения бустера. Субпопуляционный состав спленоцитов мышей анализировали с помощью проточной цитометрии на клеточном сортере BD FACS Aria III. Способность вакцины вызывать специфический ответ оценивали с помощью IFN- γ ELISpot и теста на пролиферативную активность спленоцитов (после специфического воздействия (пулом пептидов к мышинному ПТГ) и неспецифического воздействия (частицы анти-CD3/CD28)) по CFSE-сигналу, измеряемому с помощью проточной цитометрии. Пул пептидов ПТГ был выбран на основе предсказания их связывания с молекулой MHC I *in silico*.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Спленоциты мышей, вакцинированных конструкцией мПТГ-GPI, делились медленнее в ответ на неспецифический стимул Т-кл.рецептора. К 3-му дню отмечалось 49,7% $\pm$ 14,1 поделившихся клеток, тогда как в группе невакцинированных мышей — 79,1 $\pm$ 8,2, а в группе спленоцитов мышей, вакцинированных конструкцией мПТГ, — 74,8 $\pm$ 17,43. Также в группе мышей после вакцинации мПТГ-GPI среди спленоцитов отмечался повышенный уровень активированных CD4+CD25+ Т-клеток и тренд к увеличению количества регуляторных Т-клеток. Специфический стимул (пул пептидов к мПТГ в двух разных концентрациях) не привел к изменению продукции IFN γ ни в одной из двух экспериментальных группах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Мы не обнаружили специфический иммунный ответ на трансген мПТГ. Существует множество факторов, влияющих на иммуногенность трансгена, доставляемого с помощью AAV-векторов. Магнитуа иммунного ответа критичным образом зависит от протокола. Однако мы увидели замедление деления спленоцитов мышей после вакцинации мПТГ-GPI в ответ на неспецифический стимул Т-клеточного рецептора. Мы предполагаем, что это замедление может быть связано с повышением порога активации Т-клеток, что кажется естественным на фоне повторяющейся стимуляции дендритных клеток антигеном мПТГ, который остался на мембране вакцинированных клеток. Этот антиген может оказаться слабым для инициации созревания ДК и индукции полноценного иммунного ответа к мПТГ, но способным вызывать индукцию толерантности к этому антигену.

ЦИТИРОВАТЬ:

Логинова М.Ю., Гончаренко А.О., Трутнева К.Ю., Девяткин А.А., Белоусов П.В., Ивлев Е.Д., Волчков П.Ю. Исследование иммуногенности паратгормон-кодированной AAV-векторной вакцины в мышинной модели // *Эндокринная хирургия*. — 2023. — Т. 17. — №4. — С. 49. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12872>

TO CITE THIS ABSTRACT:

Loginova MYu, Goncharenko AO, Trutneva KYu, Devyatkin AA, Belousov PV, Ivlev ED, Volchikov PYu. Study of immunogenicity of parathyroid hormone-encoded AAV vector vaccine in a mouse model. *Endocrine surgery*. 2023;17(4):49. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12872>

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

