

Новые подходы к адресной терапии злокачественных новообразований с использованием инновационного направляющего модуля неиммуноглобулиновой природы (проект РФФИ_КОМФИ 17-00-00121-Н)

Деев С. М. (рук.), Киселева Д. В., Лебеденко Е. Н., Прошкина Г.М.,
Шилова (Черных) О. Н., Шипунова В.О., Шрамова Е.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), Москва

В лаб. молекулярной иммунологии ИБХ РАН завершен Научный проект РФФИ_КОМФИ 17-00-00121-Н, который является интегральной составляющей Комплексного проекта КОМФИ 17-00-00122-К, выполняемого совместно с коллективами №2 (ФНИЦ «Кристаллография и фотоника») и №3 (ННГУ им. Н.И. Лобачевского) и направленного на создание комплекса новых технологий для высокоселективной оптической диагностики и эффективной терапии онкологических заболеваний.

Цель научного проекта: разработка новых подходов к адресной терапии злокачественных новообразований определенного молекулярного профиля с использованием мультифункциональных тераностических соединений на основе инновационного неиммуноглобулинового каркасного белка DARPIn в качестве адресного модуля и диагностических (визуализирующих) и терапевтических модулей различной природы (люминесцентные наночастицы, радиоизотопы, белковые токсины).

Коллектив исследователей из ИБХ РАН полностью выполнил поставленные задачи трех этапов проекта и тем самым внес свой вклад в успешное выполнение Комплексного проекта в целом. В результате заложена фундаментальная основа модульной технологии создания мультифункциональных тераностических агентов с использованием инновационного неиммуноглобулинового каркасного белка DARPIn в качестве адресного модуля и диагностических (визуализирующих) и терапевтических модулей различной природы (люминесцентные наночастицы, радиоизотопы, белковые токсины); получен ряд новых фундаментальных данных по фармакокинетике наночастиц, важных при создании терапевтических агентов на основе наночастиц для адекватной оценки рисков эффективности и токсичности создаваемого наноразмерного агента; на основе разработанных принципов получены и всесторонне изучены новые соединения для диагностики и терапии рака.

За весь срок реализации проекта получены следующие основные результаты:

1. Получены и оптимизированы для направленной доставки диагностических и цитотоксических модулей к опухолевым клеткам высоко-аффинные направляющие модули неиммуноглобулиновой природы DARPins (полипептиды с анкириновыми повторами), специфичные к двум эпитопам поверхностного опухолевого маркера HER2. Совместно с коллективом №3 (ННГУ им. Н.И. Лобачевского) получены и охарактеризованы визуализирующие (диагностические) комплексы на основе люминесцентных неорганических наночастиц состава $\text{NaY:Yb:Er:Tm:F}_4/\text{NaYF}_4$ (НАФ), синтезированных коллективом №2 (ФНИЦ «Кристаллография и фотоника»), и направляющего модуля DARPIn [1]. В качестве адресного агента для направленной доставки диагностических радионуклидов сконструирован вариант HER2-специфичного DARPIn G3, позволивший значительно увеличить чувствительность радионуклидной визуализации HER2 в местах метастазирования [2] (Совместно с Университетом Уппсала, Швеция и Томским Политехническим университетом).

2. В качестве цитотоксических компонентов создаваемых мультифункциональных тераностических соединений исследованы два адресных белковых токсина на основе HER2-специфичного полипептида DARP_{in} и вариантов псевдомонадного экзотоксина А: фрагмента псевдомонадного экзотоксина А с deletированным рецепторным доменом (PE40) и его низкоиммуногенного аналога (LoPE) [3]. Совместно с коллективом №3 (ННГУ им. Н.И. Лобачевского) проведены сравнительные исследования *in vivo*, которые показали, что адресный токсин DARP_{in}-LoPE, так же, как и его прототип DARP_{in}-PE40, обладает высокой избирательной цитотоксичностью по отношению к (HER2+) опухолевым клеткам, эффективно подавляет рост (HER2+) опухолей в ксенографтных моделях *in vivo* при курсовом введении, но в отличие от прототипа обладает сниженной общей токсичностью и иммуногенностью и менее долгосрочным эффектом иммунного ответа, что определяет его перспективность в качестве терапевтического соединения [3]. Совместно с коллективом №3 (ННГУ им. Н.И. Лобачевского) показана возможность использования поверхностного флуоресцентного имиджинга для количественной оценки роста внутрибрюшинных опухолей при терапии адресным токсином DARP_{in}-LoPE.

3. Проведено фундаментальное исследование факторов, влияющих на параметры циркуляции наноагентов в кровяном русле и их биораспределение, показана зависимость фармакокинетики наночастиц от иммунологических особенностей экспериментальных линий мышей и наличия у них опухолей [4]. Расширен спектр наночастиц, используемых для создания новых соединений для онкотераностики: в качестве носителя терапевтического радионуклида ¹⁸⁸Re разработаны синтезированные путем лазерной абляции биоразлагаемые кремниевые наночастицы с улучшенными фармако-кинетическими характеристиками [5] (Совместно с МИФИ, НМИЦ радиологии, Томским НИМЦ, НЦНИ Франции). Совместно с коллективами №2 (ФНИЦ «Кристаллография и фотоника») и №3 (ННГУ им. Лобачевского) на основе разработанного метода биофункционализации люминесцентных наночастиц (НАФ) полисиаловой кислотой получены диагностические НАФ с увеличенным временем циркуляции в кровотоке до 3 ч, перспективные для эффективной доставки и накопления в опухоли.

Основные публикации по проекту:

1. Guryev E.L. et al. Toxicol Sci. 2019. V. 170(1). P. 123-132. IF 3.7. Q1.
2. Vorobyeva A. et al. Int. J. Oncol. 2019. V. 54. P. 1209-1220. IF 3.333. Q1.
3. Sokolova E.A. et al. Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. P. 2399. IF 3.687. Q1.
4. Zelepukin I.V. et al. Nanoscale. 2019. V. 11 (4). P. 1636–1646. IF 7.233. Q1.
5. Petriev V.M. et al. Sci. Rep. 2019. V. 9 (1). P. 2017. IF 4.525. Q1.
6. Zelepukin I.V. et al. J Control Release. 2020. V. 326. P. 181-191. IF 7.633. Q1.