

На правах рукописи



Доржиева Аяна Баяровна

**КСЕНОГЕННЫЕ ТЕСТИКУЛЯРНЫЕ АНТИГЕНЫ В ИНДУКЦИИ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ**

3.2.7. Иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск
2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Селедцова Галина Викторовна

Официальные оппоненты:

Савченко Андрей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно--клеточной физиологии и патологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Красноярск.

Повещенко Александр Федорович, доктор медицинских наук, руководитель лаборатории физиологии протективной системы «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск.

Защита состоится «11» сентября 2025 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.184.01 (Д 001.001.XX) в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» по адресу: 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИИФКИ и на сайте <https://niikim.ru/ru/наука/объявления-диссовета>

Автореферат разослан «__» _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат биологических наук

Облеухова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Разработка эффективных препаратов с селективным противоопухолевым действием представляется проблематичной по причине схожести биохимических процессов, протекающих в нормальных и опухолевых клетках [Christofi et al., 2019]. Вместе с тем, клетки тканей организма и опухолевые клетки различаются своими поверхностными структурами [Quail et al., 2013; Klemm F, 2015].

Все опухоли-ассоциированные антигены (ОАА) разделяются на две группы. Первая группа включает в себя вирусные и мутантные антигены, вторая группа включает в себя дифференцировочные антигены, которые экспрессируются как на клетках здоровых тканей, так и на опухолевых клетках [Gordeeva, 2018]. Так называемые тестикулярные антигены (ТАГ), продукты *MAGEA1*, *MAGE-A3*, *MAGE-A4*, *NY-ESO-1*, *PRAME*, *CT83*, *SSX2* и других генов – это специфичные для сперматозоидов белки, которые могут быть связаны с мембраной клетки и находиться в растворимой форме в пределах тканей яичка, оболочки которого непроницаемы для миграции клеток. ТАГ практически не экспрессируются нормальными клетками, исключение составляют клетки яичка и плаценты. Многими исследователями показано, что ТАГ высоко экспрессируются в клетках опухоли печени, молочной железы, поджелудочной железы, кишечника, легких и др. [Gjerstorff et al., 2015; Strioga et al., 2014; Salmaninejad et al., 2016].

Несмотря на многообещающие результаты доклинических исследований, противоопухолевая эффективность вакцин на основе ТАГ в клинических испытаниях ограничена, что может быть частично объяснено их слабой иммуногенностью, низкой эффективностью процессов доставки и презентации антигена, а также подавляющим иммунные реакции супрессорным опухолевым микроокружением. Использование ксеногенного варианта ТАГ будет способствовать усилению иммуногенности материала и направлено на формирование эффекторного звена иммунитета против ТАГ, представленных на собственных опухолевых клетках. Возможность использования ксеногенных ТАГ обосновывается характерной особенностью генов ТАГ - высокая внутри- и межвидовая гомология генов человека, приматов и грызунов.

Экспериментальные данные убедительно свидетельствуют о том, что иммунизация организма ксеногенными аналогами эндогенных молекул может приводить к индукции иммунологических реакций к собственным АГ, исходно к которым организм толерантен. В данной диссертационной работе охарактеризованы некоторые аспекты иммунологических противоопухолевых клеточных реакций, индуцируемых у мышей ксеногенными тестикулярными антигенами. Данная работа – важный шаг в осмыслении подходов противоопухолевой иммунотерапии, которые могут быть использованы как для профилактики развития первичной опухоли, так и для предотвращения рецидива опухоли после ее условно радикального удаления из организма.

Степень разработанности темы исследования

Присутствие опухоли-ассоциированных антигенов на мембране клеток яичка представляет интерес для исследований в контексте их использования для стимуляции противоопухолевых реакций организма. Наибольшее количество научных статей посвящено исследованию *MAGE*, *GAGE*, *NY-ESO-1* и *SSX* пептидов и белков в качестве основы для разработки противоопухолевых вакцин самостоятельно или в комбинации с иммуностимуляторами. Использование этих АГ наиболее перспективно, т.к. многие опухоли разной гистологической природы содержат тестикулярные АГ (ТАГ), в то время как на клетках здоровых тканей (кроме яичка и плаценты) они

отсутствуют. Для усиления иммуногенности ТАГ применяют комплекс адьювантов, цитокинов, ростовых факторов. Ряд работ посвящен использованию ксеногенного варианта различных АГ для усиления иммуногенности вакцинального материала. Показана терапевтическая эффективность использования ксеногенных продуктов в комплексном лечении опухолевых заболеваний собак, кошек, кур [Wei et al., 2000; Su et al., 2003; Kamstock et al, 2007; Seledtsov et al., 2011]. Иммунизация мышей человеческими меланома-ассоциированными гликопротеинами - *gp75* и *gp 100* [Bowne et al, 1999; Monzavi-Karbassi et al, 2006] способна предотвращать развитие в их организме меланомы, клетки которой экспрессируют соответствующие мышинные аналоги. Есть и примеры использования ксеногенных молекул в лечении людей с онкопатологией. В моей диссертационной работе исследованы свойства ТАГ барана в стимуляции противоопухолевых реакций иммунитета и показана терапевтическая эффективность их использования в эксперименте.

Цель работы: исследование параметров иммунитета у мышей - опухоленосителей при иммунизации ксеногенными тестикулярными антигенами в различных экспериментальных условиях.

Задачи:

1. Исследовать выживаемость мышей-опухоленосителей карциномы LLC и меланомы B16 в терапевтическом и профилактическом вариантах иммунизации мышей ксеногенными ТАГ.
2. Определить уровень пролиферативного ответа спленцитов, полученных от мышей-опухоленосителей, иммунизированных *in vivo* ксеногенными и сингенными ТАГ, на опухоль-ассоциированные антигены LLC и B16 в системе *in vitro*.
3. Определить уровень IFN γ и IL-10 в плазме крови мышей, подвергшихся различным экспериментальным воздействиям.
4. Оценить содержание CD4+CD25+FoxP3+ Т-регуляторных клеток, CD8+Perforin+ Т-клеток и CD4+CD44+62L+ Т-клеток памяти в селезенке мышей, иммунизированных ксеногенными тестикулярными антигенами, подвергшихся различным экспериментальным воздействиям.
5. Исследовать длительность противоопухолевых иммунных реакций при иммунизации мышей ксеногенными тестикулярными антигенами и возможность пассивной передачи противоопухолевого клеточного иммунитета от иммунизированных мышей интактным.

Научная новизна работы

Впервые проведен детальный анализ возможности использования антигенов, полученных из нормальной тестикулярной ткани барана, в качестве инструмента противоопухолевой иммунизации.

В работе показано, что полный набор тестикулярных (cancer/testis) антигенов способен индуцировать поликлональный иммунный ответ, направленный против различных по происхождению опухолей - карциномы Льюиса LLC и меланомы B16 мышей. Это означает, что тестикулярные антигены, полученные из тестикул барана, могут быть использованы в качестве инструмента противоопухолевой терапии в том случае, если опухолевые клетки больного содержат набор тестикулярных антигенов. Лиофилизат тестикул барана не содержит в своем составе тканеспецифичных дифференцировочных антигенов, экспрессирующихся в нормальных клетках взрослого организма (исключение клетки яичка и плаценты), поэтому исключается связанный с иммунизацией риск развития тяжелых аутоиммунных заболеваний и иммуноопосредованных расстройств. В работе впервые охарактеризованы иммунные реакции, развивающиеся у мышей-опухоленосителей и мышей, у которых не регистрировался рост опухоли, при введении ксеногенных тестикулярных антигенов. В работе показана эффективность индукции цитотоксичного ответа, регистрируемая по генерации повышенного количества CD3+ и CD8+Perforin+ содержащих клеток, по

снижению содержания Т-регуляторных клеток и усилению продукции IFN- γ спленоцитами мышей. Впервые показана модель пассивного переноса противоопухолевого иммунитета, путем введения спленоцитов, полученных от мышей с неразвившейся опухолью в модели ксеногенной профилактической иммунизации, интактным мышам.

Теоретическая и практическая значимость работы

Решение проблемы распознавания клетками иммунной системы опухолевых клеток на основании их рецепторного репертуара является важнейшей задачей онкоиммунологии. В настоящее время невыполнимой задачей является запуск процесса индукции специфичных к опухолевым АГ эффекторных Т-лимфоцитов, Т-клеток памяти, специфичных АТ, способных сформировать эффективную противоопухолевую защиту и вылечить онкологического больного.

В диссертационной работе найден подход к индукции в организме специфических к собственным опухолевым антигенам иммунных реакций, выявлены условия, при которых в организме животного-опухоленосителя создается активная протективная противоопухолевая защита, помогающая клеткам иммунной системы распознать опухолевые АГ на клетках, и простимулировать усиление эффекторных цитолитических реакций, результатом действия которых будет распознавание и уничтожение опухолевых клеток в собственном организме. Запуск специфичных к собственной опухоли противоопухолевых реакций в организме онкологического больного будет той ступенью, которая приблизит нас к излечению больного от онкологической болезни. Разработка стратегии использования ксеногенных тестикулярных АГ при терапевтических или профилактических иммунизациях в онкологии позволит предложить здравоохранению новый метод иммунотерапевтического лечения, в основе которого будет стимуляция специфичного эффекторного звена иммунитета, отвечающего за распознавание опухолевых клеток и их элиминацию из организма.

В перспективе метод профилактической ксеногенной иммунизации открывает новый путь в предупреждении развития онкозаболевания у групп людей, риск развития которого может быть связан с профессиональной деятельностью или семейным анамнезом.

Методология и методы исследования

Исследование выполнено на базе лаборатории клинической иммунопатологии НИИФКИ. В работе применялись методы культивирования клеточных культур, визуальная оценка роста опухолей, функциональные пролиферативные тесты, иммуноферментный анализ, проточная цитофлуориметрия, компьютерная программа статистической обработки данных. Объектом исследования были выбраны мыши линии C57Bl/6. Предмет исследования – спленоциты и плазма крови интактных мышей и мышей-опухоленосителей меланомы B16 или карциномы LLC.

Мыши линии C57Bl/6 иммунизировали тестикулярными антигенами (сингенными ТАГ и ксеногенными ТАГ) с применением различных вариантов иммунизации (терапевтическая и профилактическая). Далее мышам вводили опухолевые клетки линии карциномы легких Льюиса (LLC) и меланомы B16. Оценку эффективности иммунизации оценивали по фиксации продолжительности жизни мышей-опухоленосителей с регистрацией 50% выживаемости (сутки, при которых в группах регистрировалась 50% выживших мышей). Параметры клеточного иммунитета экспериментальных групп мышей исследовали с помощью пролиферативного МТТ-теста. Концентрация цитокинов IL-10 и IFN γ была измерена в плазме крови экспериментальных мышей C57Bl/6 иммуноферментным методом, содержание регуляторных Т-клеток, Т-клеток памяти и перфорин-содержащих CD8 $^{+}$ Т-клеток регистрировали в спленоцитах с помощью методов проточной цитофлуориметрии.

Оценка длительности противоопухолевого эффекта проводилась в модели LLC с профилактической иммунизации мышей C57Bl/6, согласно схеме, по которой мышам после иммунизации ксеногенными ТАГ вводили опухоль LLC через 1, 3, 6 месяцев и в дальнейшем регистрировали их выживаемость. Методику «переноса» противоопухолевого иммунитета проводили с помощью внутривенного введения спленоцитов или лейкоцитов лимфоузлов, полученных от иммунизированных ксеногенными ТАГ мышей без зарегистрированного роста опухоли LLC интактным мышам с регистрацией продолжительности жизни и 50% выживаемостью.

Положения, выносимые на защиту:

1. Предварительная иммунизация мышей ТАГ приводит к увеличению 50% выживаемости мышей-опухоленосителей карциномы LLC и изменяет параметры иммунитета: фиксируется уменьшение содержания CD4+CD25+FoxP3+ Т-регуляторных клеток, увеличение содержания CD8+Perforin+ Т-клеток в популяции спленоцита, повышение уровня IFN γ и снижение уровня IL-10 в плазме крови в сравнении с неиммунизированным опухолевым контролем.

2. Предварительная иммунизация мышей ксеногенными ТАГ индуцирует у них формирование стойкого противоопухолевого иммунитета, проявляющегося в отсутствии роста опухоли LLC у 40% животных после введения опухолевых клеток. У мышей с отсутствием роста опухоли задокументировано изменение параметров иммунитета, выражающееся в повышении уровня IFN γ и снижении уровня IL-10 в плазме крови, повышении процентного содержания CD8+Perforin+ Т-клеток и снижении процентного содержания CD4+CD25+FoxP3+ Т-регуляторных клеток в популяции спленоцитов, при сравнении с аналогичными показателями опухолевого контроля.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Диссертация выполнена на высоком научном и методическом уровне, и представляет собой завершённое исследование. Современные методы исследования, детальный анализ экспериментальных данных, адекватно подобранные методы статистической обработки убеждают в достоверности полученных результатов, что позволило обосновать научные положения и выводы.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на отчетных конференциях аспирантов и ординаторов НИИФКИ (Новосибирск, 2021 и 2023 годы); семинаре НИИФКИ (Новосибирск, июль 2022 год); XIV Российской (итоговой) научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых "Авиценна-2023" (Новосибирск, Россия, 2023 г.) – 1 место; XX Международной конференции «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, Россия, 2023 г.).

Публикации по теме исследования

По теме диссертационного исследования опубликовано 5 научных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования Российской Федерации для публикаций основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Личный вклад автора

Автор участвовал в разработке дизайна всех экспериментов. Результаты, представленные в работе, получены автором лично. Выделение и культивирование клеток, манипуляции с лабораторными животными, оценка пролиферативного ответа, продукции цитокинов, постановка моделей продолжительности жизни мышей, длительности противоопухолевого иммунитета и переноса противоопухолевого иммунитета у мышей проводились лично соискателем на базе лаборатории

клинической иммунопатологии НИИФКИ. Автором лично заполнялись все протоколы исследования, выполнена статистическая обработка полученных результатов и интерпретация экспериментальных данных. Подготовка всех публикаций по выполненной работе проведена лично автором.

Объем и структура диссертации.

Диссертация написана в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения и выводов. Материал изложен на 120 страницах машинописного текста, включающего 6 таблиц и 18 рисунков. Прилагаемая библиография содержит ссылки на 147 литературных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект и предмет исследования

В качестве объекта исследования были использованы мыши линии C57Bl/6, полученные из питомника Томского национального исследовательского центра Российской академии наук «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томский НИМЦ). Предметом исследования служили спленоциты и плазма крови интактных мышей и мышей-опухоленосителей меланомы B16 или карциномы LLC.

Этическое заключение

Все животные содержались в виварии в условиях, соответствующих международному стандарту. Работы с животными проводились в строгом соответствии с законодательством Российской Федерации и положениями директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных. Все протоколы и методы исследования были утверждены этическим комитетом НИИФКИ, Новосибирск, Россия (Протокол № 143 от 29.11.2023г).

Характеристика клеток опухолевых линий

Клетки опухолевых линий мышшиной меланомы B16 (H-2b) и легочной карциномы Льюиса LLC (H-2b) были получены из Онкологического научного центра РАМН (г. Москва). Опухолевые клетки сохраняли методом криоконсервации в жидком азоте (при - 80 °C).

Карцинома LLC: Культура клеток состоит из полиморфных клеток, большинство которых имеет округлую форму. Значительная часть клетки занята ядром с крупными ядрышками и крупными конденсированными зернами хроматина. Цитоплазма не гомогенная. В ДНК определено наличие генов *mage A-1*, *GP100*, *тирозины*, *her2/neu*, *раково-эмбрионального антигена*, на мембране клеток определены рецепторы тирозиназы и GP100.

Меланома B16. Культура представлена двумя типами клеток: эпителиоидные – 23,3%, фибробластоподобные – 76,7%. Эпителиоидные клетки имеют полиморфное строение, ядерно-цитоплазматическое соотношение смещено в сторону цитоплазмы. Хроматин в ядре слабо конденсирован, распределен равномерно. Цитоплазма негомогенная. Фибробластоподобные клетки имеют полиморфное строение. Значительная часть клетки занята ядром с мелко конденсированными зернами хроматина, 43,5% клеток содержат пигмент. В ДНК определено наличие генов *mage A-1*, *GP100*, *тирозины*, *her2/neu*, *раково-эмбрионального антигена*, на мембране клеток определены рецепторы Her2/neu, тирозиназы и GP100.

Виды АГ

1. Ксеногенный (по отношению к мышам) ТАГ барана, сингенный (мышинный ТАГ), спленоциты барана.

Клетки яичка и селезенки были выделены из кусочков ткани в охлажденную среду с использованием стеклянного гомогенизатора, недиссоциированные клеточные конгломераты удаляли центрифугированием. Клетки фиксировали 1% раствором параформальдегида в течение 15 мин, трижды отмывали центрифугированием от консерванта, подсчитывали клеточность и хранили в замороженном состоянии. Для экспериментов образцы размораживали и использовали в концентрации 5×10^6 клеток /мышь в 200 мкл физиологического раствора.

2. Антигены, приготовленные из опухолевых линий LLC и B16. Клетки опухолевых линий были зафиксированы 1% раствором параформальдегида и заморожены. После разморозки использовались в экспериментах в различных концентрациях.

Варианты иммунизации

Терапевтический вариант иммунизации. Мышам C57Bl/6 имплантировали 10^5 кл/мышь клетки карциномы LLC или меланомы B16 подкожно в область передней брюшной стенки. На 7 и 14 день после введения опухолевых клеток проводили иммунизацию мышей различными видами АГ (ксеногенный, сингенный) путем введения по 5 млн клеток внутримышечно в область бедра, далее фиксировали продолжительность жизни.

Профилактический вариант иммунизации. Мышей C57Bl/6 иммунизировали 3-кратно с периодичностью в 7 дней различными видами АГ (ксеногенный, сингенный) внутримышечно в область бедра (5 млн клеток/мышь). Через 28 дней после начала иммунизации мышам имплантировали 10^5 кл/мышь клетки карциномы LLC или меланомы B16 подкожно в область передней брюшной стенки и далее фиксировали продолжительность жизни.

Оценка продолжительности жизни мышей-опухоленосителей

Продолжительность жизни мышей-опухоленосителей после терапевтической или профилактической иммунизации сравнивали с продолжительностью жизни неиммунизированного опухолевого контроля. Группой контроля являлись мыши C57Bl/6, которым производилась имплантация клеток опухолевых линий меланомы B16 или карциномы Льюиса LLC (100 тысяч кл. на мышь) подкожно в область передней брюшной стенки мышей. Регистрировалась как 50% выживаемость (количество суток, в момент которых количество выживших мышей соответствовало 50% группы), так и максимальная продолжительность жизни мышей (количество суток, в момент которых наступала 100% смертность животных экспериментальных групп мышей). Анализ выживаемости мышей проводился методом Каплана - Мейера, достоверность отличий показателей выживаемости регистрировалась с помощью Mantel-Cox Log-Rank теста.

Оценка длительности противоопухолевого иммунитета у мышей-опухоленосителей LLC

Длительность противоопухолевого иммунитета оценивалась на модели опухоли LLC по сроку жизни мышей после профилактического варианта иммунизации через 1 мес, 3 мес и 6 месяцев. Регистрировалась как 50% выживаемость (количество суток, в момент которых количество выживших мышей соответствовало 50% группы), так и максимальная продолжительность жизни мышей от дня привития опухоли LLC (количество суток, в момент которых наступала 100% смертность животных экспериментальных групп мышей).

Оценка продолжительности жизни мышей-опухоленосителей LLC при «переносе» противоопухолевого иммунитета интактным мышам

У мышей, иммунизированных ксеногенными ТАГ, у которых не зафиксирован рост опухоли вообще, был произведен забор селезенок, подмышечных и паховых лимфоузлов. Полученные клетки были подсчитаны и от каждой пробы спленоцитов 1-7 взяли по 2 млн клеток и объединили в общую суспензию клеток. Все лимфоциты лимфоузлов объединили в одну пробу и подсчитали количество клеток. Далее интактным мышам в/в вводили спленоциты или лимфоциты по 1 млн клеток на мышь. В каждой группе было 10 мышей. Через 3 дня после введения клеток мышам прививали карциному LLC и фиксировали продолжительность жизни.

Иммунологические исследования

- 1. Пролиферативный тест.** Клетки селезенки (концентрация клеток - 10^6 /мл) культивировали в присутствии 5 мкг/мл КонА и АГ, полученного из клеток опухолевых линий LLC и B16 в концентрации 1×10^5 кл/лунку и 2×10^5 кл/лунку в течение 72 час (набор MTT-assay kit (cell proliferation), Abcam, США). Интенсивность окрашивания лунок регистрировали на планшетном ридере TriStar LB 941 (Berthold Technologies, Германия) при длине волны 590 нм и выражали в оптических единицах – о.е. Интенсивность окрашивания была пропорциональна количеству живых клеток в лунках.
- 2. Определение концентрации цитокинов IL-10 и IFN γ .** Концентрация цитокинов IL-10 и IFN γ была измерена в плазме крови экспериментальных мышей C57Bl/6 иммуноферментным методом с помощью наборов компании Cloud-Clone Corp., США, согласно инструкции производителя. Оптическую плотность окрашенных образцов в лунках измеряли при длине волны 450 нм с помощью аппарата TriStar LB 941 (Berthold Technologies, Германия).
- 3. Проточная цитофлуориметрия.** Фенотипирование CD4+CD25+Foxp3+ и CD4+CD44+CD62L+ клеток проводили методом многоцветной проточной цитометрии. Спленоциты окрашивали конъюгированными с флуорохромами FITC, PE, APC (Biolegend, США) мышинными моноклональными антителами. После чего клетки отмывали 1 мл раствора PBS с 0,02% ЭДТА и 0,5% FCS (Staining Buffer). Окрашивание проводили комбинацией антител согласно протоколу, рекомендованному производителем. Содержание клеточных популяций определяли цитофлуориметрически на аппарате FACS-Calibur (BD Biosciences, США).
- 4. Определение количества лимфоцитов, содержащих внутриклеточный перфорин.** Свежевыделенные клетки селезенки мышей C57Bl/6 отмывали и ресуспендировали в концентрации 10×10^6 /мл, 100 мкл клеточной взвеси помещали в цитометрические пробирки и добавляли к ним FITC – меченные МАТ к CD8. Клетки инкубировали 20 минут в темноте при комнатной температуре, затем отмывали раствором 3ФР и фиксировали 1% раствором параформальдегида в 3ФР с 0,02% ЭДТА. Далее клетки осаждали, отмывали и добавляли пермеабилизирующий раствор 0,2% Tween 20 в 3ФР с 0,02% ЭДТА. После 30-минутной инкубации в темноте при температуре 37°C, к осажденным и отмытым клеткам добавляли меченные PE МАТ к перфोरину. В контрольный образец каждой пробы (изотип-контроль) добавляли крысиный IgG 2 α карпа, меченный PE. В работе использовались МАТ фирмы Biolegend, США. Клетки инкубировали с антителами 20 минут в темноте при комнатной температуре, а после окончания инкубации отмывали, ресуспендировали в 3ФР и анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences, США).

Статистическая обработка

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Graph prism 8 (GraphPad Software, США), используя непараметрические критерии Манна-Уитни. Анализ выживаемости мышей проводился методом Каплана – Мейера, достоверность отличий показателей выживаемости регистрировалась с помощью Mantel-Cox Log-Rank теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно гипотезе, иммунизация мышей ксеногенными ТАГ будет приводить к индукции иммунных реакций, направленных не только на вводимый АГ, но и, перекрестным образом, на имеющиеся в организме опухолевые клетки, если они несут на своей поверхности какие-либо ТАГ. Для этого параметры иммунитета были исследованы *in vitro* у мышей, которых иммунизировали ксеногенными (по отношению к линии мышей) ТАГ барана 3 –кратно, с интервалом в 7 дней.

Через 14 дней после последней иммунизации у мышей забирали селезенки и не фракционированную популяцию клеток культивировали 72 час в присутствии АГ, полученных из клеток опухолевых линий B16 и LLC в двух концентрациях 1×10^5 кл/лунку и 2×10^5 кл/лунку (или без них в контроле) (рис. 1). В качестве неспецифического активатора был использован конканавалин А (5 мкг/мл КонА). Зарегистрировано достоверное увеличение пролиферации лимфоцитов селезенки в ответ на все используемые варианты опухолевых АГ. Уровень ответа был сравним с неспецифической стимуляцией митогеном КонА.

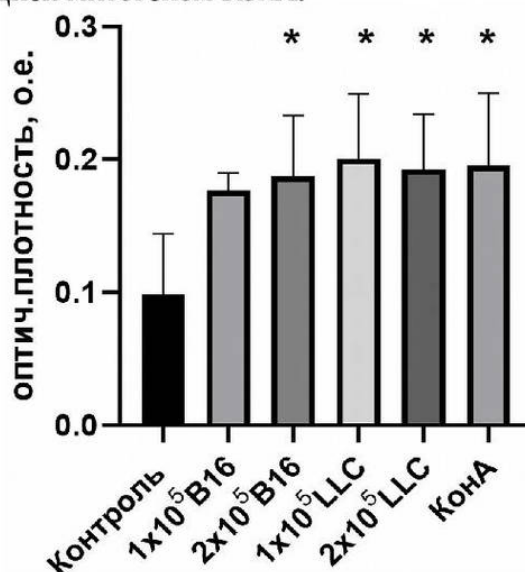


Рис 1. Пролиферативный ответ спленоцитов мышей, полученных от предварительно иммунизированных ТАГ барана животных. В качестве АГ - B16 и LLC в 1×10^5 кл/лунку и 2×10^5 кл/лунку и неспецифический стимулятор - КонА (5 мкг/мл). $n=5$, * $p < 0,05$.

Таким образом, иммунизация мышей ТАГ барана приводит к формированию в организме животного популяции лимфоцитов, перекрестным образом реагирующих на опухолевые АГ, полученные из B16 и LLC, что регистрировалось по показателям пролиферативного ответа спленоцитов на опухолевые АГ, сравнимым с ответом на неспецифический стимулятор КонА. Ранее было показано присутствие в B16 и LLC некоторых генов, относящихся к группе ТАГ [Селедцова и др., 2023]. В ДНК опухолевых клеток линии LLC определено наличие генов *mage A-1*, *GP100*, *тирозины*, *her2/neu*, *раково-эмбрионального антигена*, на мембране клеток определены рецепторы тирозиназы и GP100. В ДНК клеток линии B16 определено

наличие генов *mage A-1*, *GP100*, тирозиназы, *her2/neu*, раково-эмбрионального антигена, на мембране клеток определены рецепторы Her2/neu, тирозиназы и GP100. Таким образом, пролиферативный ответ *in vitro* иммунизированных ТАГ мышей может быть стимулирован по вторичному типу именно этими АГ, часть из которых принадлежит к семейству тестикулярных АГ.

Оценка продолжительности жизни мышей-опухоленосителей LLC и B16 при различных типах иммунизации.

Следующим этапом работы было исследование продолжительности жизни мышей-опухоленосителей карциномы LLC или меланомы B16 в различных вариантах постановки эксперимента, в основе которого была иммунизация мышей ксеногенными ТАГ. Типы иммунизации включали в себя терапевтический и профилактический вариант. При терапевтическом варианте иммунизации мышам вначале прививается опухоль и через неделю начинается 2 – кратная иммунизация ТАГ барана 1 раз в неделю, в профилактическом варианте вначале проводится 3 – кратная иммунизация ТАГ барана 1 раз в неделю, а затем прививается опухоль. Результаты экспериментов представлены в виде кривых выживаемости Каплан-Мейер, достоверность отличий сроков выживаемости выявлена с использованием Mantel-Cox Log-Rank теста. Для иммунизации были использованы поликлональные АГ, приготовленные из тестикул барана (ксеногенный вариант по отношению к мышам) и тестикул мыши (сингенный вариант по отношению к мышам).

Продолжительность жизни мышей-опухоленосителей при терапевтической иммунизации в группах контроля и сингенной группе составила 31 и 34 дня у опухоленосителей B16 соответственно и 30 и 41 день у опухоленосителей LLC соответственно. Продолжительность жизни мышей, подвергшихся ксеногенному варианту иммунизации составила 37 суток у опухоленосителей B16 и 34 дня у опухоленосителей LLC. Таким образом, иммунизация мышей в терапевтическом варианте исполнения не оказывала какого-либо влияния на продолжительность жизни мышей-опухоленосителей.

При профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ продолжительность жизни мышей - опухоленосителей LLC достоверно увеличилась на 60% (медиана жизни мышей-опухоленосителей - 20 дней, при введении ксеногенных ТАГ - 32,2 дня) по сравнению с группой мышей- опухоленосителей и мышей, иммунизированных сингенным ТАГ и ксеногенными спленоцитами. В некоторых экспериментах профилактической иммунизации ТАГ барана в модели карциномы LLC у 40 % мышей опухоль не развивалась вообще и эти мыши были далее задействованы в экспериментах по пассивному переносу иммунитета и у них были изучены параметры Т-клеточного иммунитета. При профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ продолжительность жизни у мышей-опухоленосителей меланомы B16 увеличивалась на 20% по сравнению с мышами-опухоленосителями меланомы B16 без иммунизации, иммунизацией сингенными ТАГ и ксеногенными спленоцитами. Увеличения продолжительности жизни мышей-опухоленосителей LLC и B16 при профилактической иммунизации сингенными ТАГ и ксеногенными спленоцитами в сравнении с неиммунизированными опухоленосителями не зарегистрировано (рис. 2 А, В).

Таким образом, было показано, что только использование профилактической иммунизации животных ксеногенными ТАГ приводит к достоверному увеличению продолжительности жизни мышей-опухоленосителей меланомы B16 и карциномы LLC. Только при комплексном использовании ксеногенности и ТАГ получается синергичный эффект, по-отдельности ни сингенные ТАГ, ни ксеногенные спленоциты не были способны увеличивать продолжительность жизни мышей -опухоленосителей меланомы B16 и карциномы LLC.

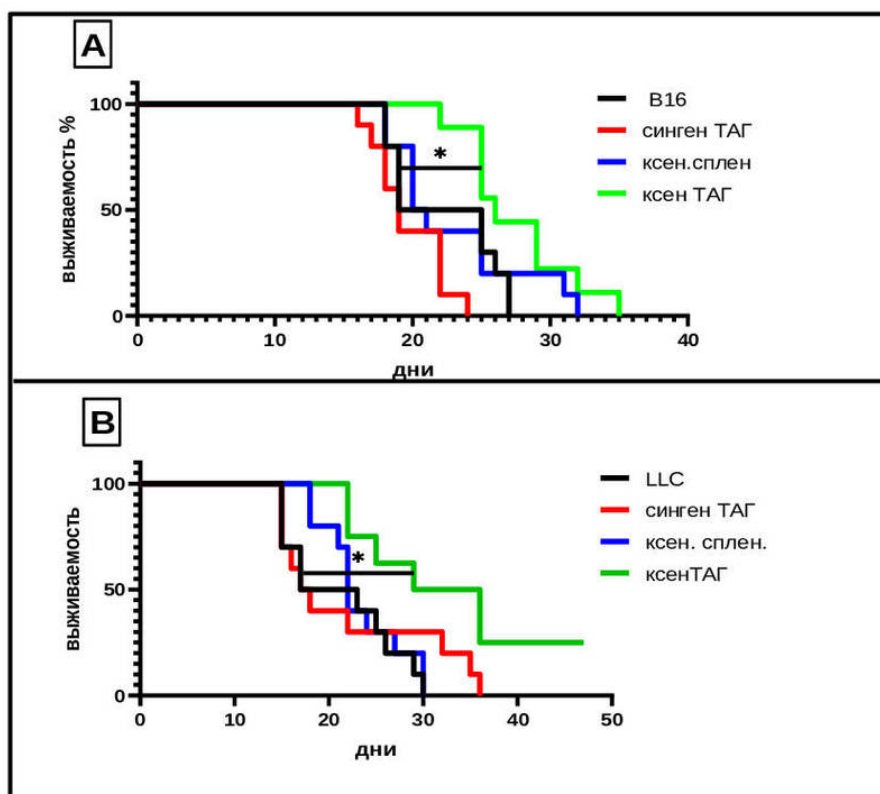


Рис. 2. Продолжительность жизни мышей-опухоленосителей меланомы B16 (А) и карциномы LLC (В) в режиме профилактической иммунизации. $n=10$, $*p < 0,05$.

Следующая серия экспериментов посвящена анализу состояния Т-клеточного звена иммунитета при проведении профилактической иммунизации.

Мышей иммунизировали 3 раза с интервалом в 7 дней ксеногенными (обозначение группы - В на рис. 3 и 4) и сингенными ТАГ (обозначение группы - С на рис. 3 и 4). Контролем иммунизации служила группа мышей, которым вводили физиологический раствор (обозначение группы - А на рис. 3 и 4). Через 14 дней после последней иммунизации мышам прививали клетки опухолевых линий LLC (рис. 3) и B16 (рис. 4).

Для оценки влияния опухолевого процесса на величину и перекрестную реактивность иммунного ответа, мышей выводили из эксперимента на 14 день после введения опухолевых клеток и оценивали пролиферацию спленоцитов на опухолевые АГ, полученные из B16 и LLC, для чего спленоциты культивировали 72 часа в присутствии опухолевых АГ в концентрациях 1×10^5 кл/лунку и 2×10^5 кл/лунку или без них в контроле.

С помощью такого экспериментального подхода мы исследовали параметры клеточного звена иммунитета в условиях начала развития опухолевого процесса.

Обнаружено достоверное увеличение пролиферативной активности спленоцитов в ответ на опухолевые АГ у иммунизированных ранее различными ТАГ мышей с карциномой LLC (контроль LLC- 0,1 о.е., при добавлении АГ: + 1×10^5 B16-0,14 о.е. ($p=0,004$), + 2×10^5 B16-0,15 о.е. ($p=0,002$), + 1×10^5 LLC-0,15 о.е. ($p=0,004$), + 2×10^5 LLC-0,19 о.е. ($p=0,002$)).

Спленоциты, полученные от предварительно иммунизированных ксеногенными ТАГ мышей с меланомой B16, также отвечали пролиферацией на разные концентрации опухолевых АГ, ответ достоверно отличался от не иммунизированного опухолевого контроля (контроль LLC-0,1 о.е., при добавлении АГ: + 1×10^5 B16-0,2 о.е. ($p=0,002$),

+ 2×10^5 B16-0,2 о.е. ($p=0,002$), + 1×10^5 LLC-0,23 о.е. ($p=0,004$), + 2×10^5 LLC- 0,26 о.е. ($p=0,002$).

Интенсивность пролиферативного ответа спленоцитов при ксеногенной иммунизации была выше ответа, зафиксированного в условиях сингенной иммунизации, и в сравнении с ответом спленоцитов неиммунизированного опухолевого контроля в модели мышей-носителей LLC (рис. 3) и B16 (рис. 4).

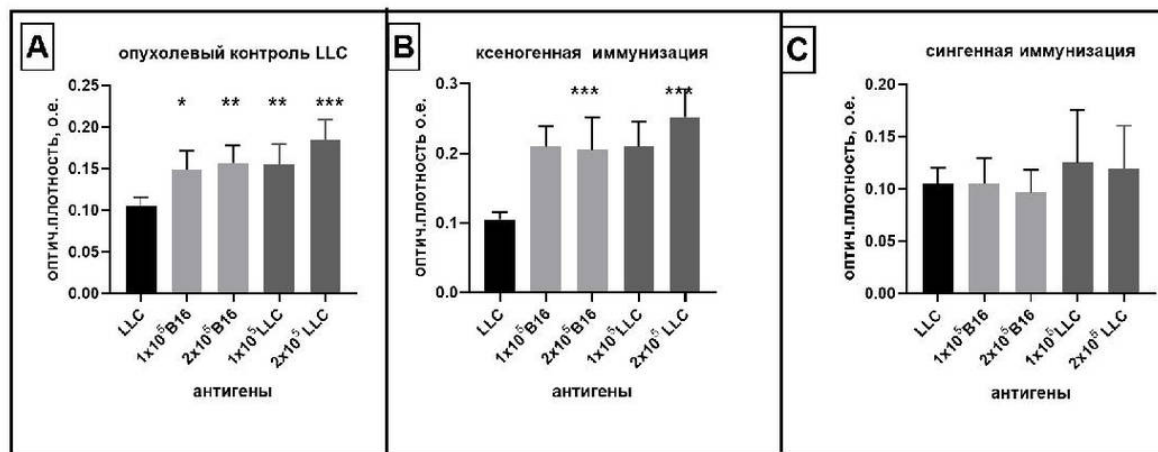


Рис. 3. Проплиферация лимфоцитов селезенки на различные концентрации опухолевых АГ. Спленициты выделены у мышей-носителей карциномы LLC при профилактическом варианте иммунизации ксеногенными и сингенными ТАГ через 14 дней после введения опухолевых клеток. $n=6$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$.

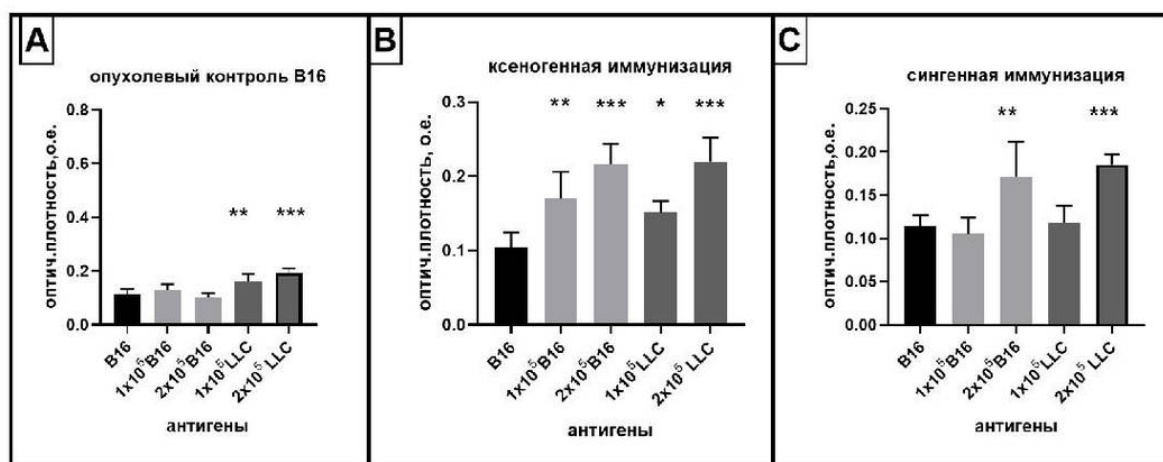


Рис. 4. Проплиферация лимфоцитов селезенки на различные концентрации опухолевых АГ. Спленициты выделены у мышей-носителей меланомы B16 при профилактическом варианте иммунизации ксеногенными и сингенными ТАГ через 14 дней после введения опухолевых клеток. $n=6$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$.

Нужно отметить, у контрольных мышей-опухоленосителей LLC и B16 зафиксировано наличие в спленоцитах популяции лимфоцитов, реагирующей на опухолевые АГ, что говорит об иммуногенности прививаемых опухолевых клеток. Таким образом, было доказано, что при иммунизации мышей ксеногенным (но не сингенным!) ТАГ формируется популяция лимфоцитов, которая реагирует перекрестным образом на опухолевые АГ по вторичному типу, и в организме иммунизированных мышей могут индуцироваться протективные противоопухолевые

реакции, которые позволят защитить животных от развития сингенных опухолей или способствовать замедлению опухолевого процесса.

В условиях ксеногенной иммунизации у опухоленосителей B16 и LLC (рис. 5) в сыворотке крови мышей, полученной на 14 сутки эксперимента, определена концентрация IFN γ и IL-10. Зафиксирован достоверно повышенный уровень IFN γ как у мышей-опухоленосителей B16 (рис. 5A), так и у мышей-опухоленосителей LLC (рис. 5C). Значения IFN γ у мышей-опухоленосителей в сингенном варианте иммунизации не были повышены по сравнению с мышами-опухоленосителями без иммунизации ТАГ. Отмечено также достоверное снижение продукции IL-10 в ксеногенном варианте предварительной иммунизации по сравнению с контролем (рис. 5B, D).

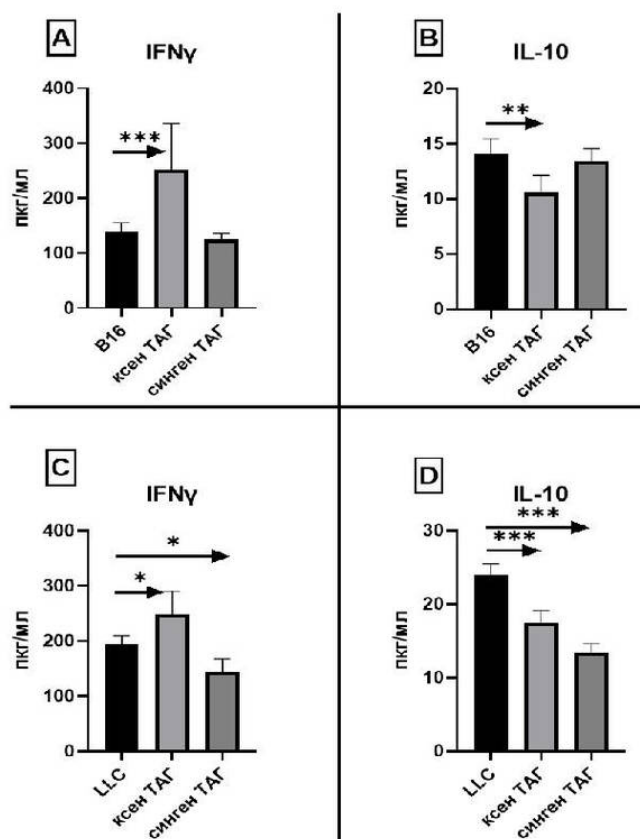


Рис. 5. Концентрация IFN γ и IL-10 в плазме крови мышей, подвергшихся в профилактическому варианту иммунизации ТАГ мышей с последующим введением клеток меланомы B16 (A, B) и карциномы LLC (C, D). n=6, *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,0001.

Далее были исследованы некоторые характерные показатели иммунитета, определяющие эффективность формирования Т – клеточных противоопухолевых реакций у мышей – опухоленосителей, подвергшихся профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ.

Для определения количества клеток, несущих перфорины, были взяты группы мышей-опухоленосителей LLC, которые были предварительно иммунизированы ксеногенными ТАГ, контролем выступали мышши-опухоленосители LLC без иммунизации. Учитывая данные литературы, перфорин-содержащие клетки обладают противоопухолевой активностью, поэтому было произведено сравнение вышеперечисленных групп. Обнаружено достоверное увеличение содержания клеток, несущих перфорины (CD8 $^{+}$) при иммунизации ксеногенными ТАГ по сравнению с

группой мышей-опухоленосителей LLC (табл. 1).

Табл. 1. Содержание CD8+perforin+ Т-клеток в спленоцитах мышей-опухоленосителей LLC при профилактической иммунизации ТАГ и мышей-опухоленосителей LLC (контроль LLC).

Содержание (%)	Контроль (LLC)	Иммунизация ксеногенным ТАГ (опухоленосители LLC)
CD8+perforin+	4,37±0,53	8,39±1,90**

n=6, **p <0,005.

Количество Т-регуляторных клеток и Т-клеток памяти было определено в спленоцитах мышей-опухоленосителей LLC, которые были иммунизированы ксеногенными ТАГ, контролем выступали интактные мыши. Обнаружено достоверное снижение содержания CD4+CD25+FoxP3+ Т-регуляторных клеток по сравнению с интактным контролем (табл. 2).

Табл. 2. Содержание Т-регуляторных клеток и Т-клеток памяти в спленоцитах мышей-носителей опухоли LLC при профилактической иммунизации ТАГ и интактных мышей.

Содержание (%)	Интактный контроль	Иммунизация ксеногенным ТАГ (опухоленосители LLC)
CD4+CD25+FoxP3+	1,72±0,35	1,2±0,17 **
CD4+CD44+CD62L+	4,6±2,4	4,8±2,4

n=6, **p <0,005.

Таким образом, убедительно доказано, что при ксеногенной иммунизации мышей запускаются Т-клеточно-опосредованные механизмы противоопухолевой защиты, проявляющиеся в увеличении не только продолжительности жизни мышей, но и в 40% случаев способствующие защите мышей от развития опухолевого процесса при введении живых сингенных опухолевых клеток карциномы LLC.

Далее были исследованы параметры иммунитета у мышей, у которых не развилась опухоль LLC и которые ранее были подвергнуты профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ. На 63 день эксперимента производили забор плазмы крови и спленоцитов мышей, у которых не развилась опухоль, после 3-кратного введения ксеногенного ТАГ мышам с дальнейшим введением опухоли LLC. Для оценки противоопухолевого иммунитета мышей, у которых не развилась опухоль при профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ исследовали концентрацию цитокинов IFN γ и IL-10 в плазме крови и долю CD8+perforin+, CD4+CD25+FoxP3+, CD4+CD44+CD62L+ клеток в популяции спленоцитов.

Продукция IFN γ в группе мышей, у которых не развилась опухоль была достоверно выше, чем в группе контроля мышей - опухоленосителей LLC, в то время как уровень IL-10 был достоверно ниже (рис. 6).

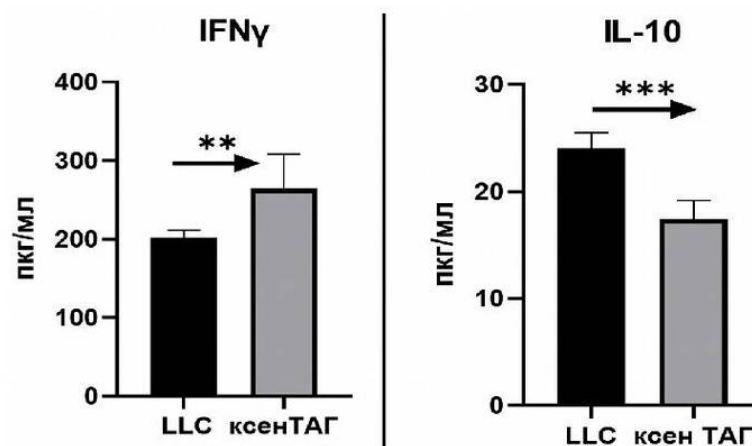


Рис. 6. Содержание IFN γ и IL-10 в плазме мышей, предварительно иммунизированных ксеногенными ТАГ, у которых не развилась LLC после ее введения в сравнении с опухолевым контролем. n=6, **p < 0,005, ***p < 0,0001.

При анализе количества перфорин - позитивных клеток было выявлено достоверное повышение количества CD8+perforin+ клеток в спленocyтaх мышей ксеногенной группы иммунизации, у которых не развилась опухоль LLC, по сравнению с группой контроля (мышь-опухоленоситель LLC без иммунизации ТАГ). При этом отмечается, что уровень содержания перфорин-содержащих клеток выше именно в группе мышей, у которых опухоль не выросла (табл. 3).

Табл. 3. Содержание популяционного состава Т-клеток мышей, у которых не развилась LLC после ее введения.

Содержание (%)	Контроль (LLC)	Иммунизация ксеногенным ТАГ (без развития LLC)
CD8+perforin+	4,37±0,53	16,29±6,95***

n=6, *** p<0,0001.

Содержание Treg (CD4+CD25+FoxP3+) достоверно снижалось в группе мышей, у которых не развилась LLC при ксеногенной иммунизации по сравнению с интактным контролем (табл. 4). При этом отмечается, что в группе мышей, у которых не развилась опухоль, количество Т- регуляторных клеток меньше, чем у мышей-опухоленосителей LLC с профилактической иммунизацией ТАГ.

При анализе Т-клеток памяти (CD4+CD44+CD62L+) были получены данные свидетельствующие о повышении содержания клеток в группе мышей-опухоленосителей LLC по сравнению с группой интактного контроля. В группе мышей, у которых не развилась опухоль LLC, отмечается снижение содержания этих клеток. Возможно, это можно объяснить тем, что Т-клетки памяти активировались и преобразовались в эффекторные Т-клетки для участия в противоопухолевом иммунном ответе, что и привело к снижению их количества.

Табл. 4. Содержание Т-регуляторных клеток и Т-клеток памяти мышей, у которых не развилась LLC после ее введения.

Содержание (%)	Интактный контроль	Иммунизация ксеногенным ТАГ (без развития LLC)
CD4+CD25+FoxP3+	1,70± 0,12	1.20±0.06 **
CD4+CD44+CD62L+	4.35±0.59	4,003± 0,08

n=6, **p < 0,005.

Изучение длительности противоопухолевой защиты при профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ и возможности пассивного переноса иммунитета интактным реципиентам.

Для исследования длительности защитных противоопухолевых реакций при профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ, иммунизированным животным прививали карциному LLC через 1, 3 и 6 мес после иммунизации и сравнивали продолжительность жизни мышей с опухолевым контролем.

При анализе выживаемости мышей-опухоленосителей LLC было выявлено достоверно значимое увеличение продолжительности жизни мышей-опухоленосителей, подвергшихся ксеногенной иммунизации ТАГ в группах «1 мес» и «6 мес» по сравнению с группой контроля (рис. 7). В течение 3 месяцев защита была более выраженной - у 40% мышей опухоль не выросла вообще. Увеличение периода введения опухолевых клеток LLC до 6 месяцев после иммунизации приводит к снижению эффективности иммунизации, поскольку в этой группе животных не было мышей, у которых не развилась опухоль, но тем не менее продолжительность жизни мышей - опухоленосителей LLC увеличивалась в 1,8 раз по сравнению с контролем (гибель мышей-опухоленосителей LLC с профилактической иммунизацией ТАГ происходила на 53 сутки, в то время как у неиммунизированного контроля на 30 сутки).

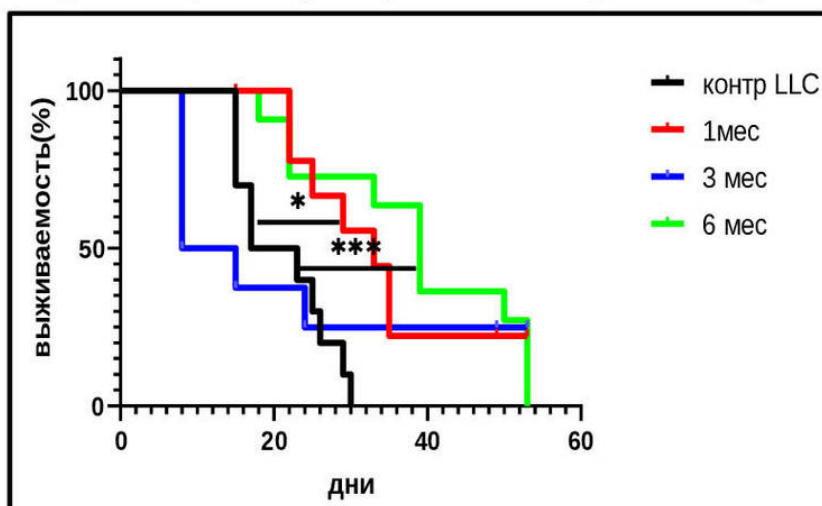


Рис. 7. Анализ длительности протективных противоопухолевых реакций, представленный в виде кривых выживаемости мышей-опухоленосителей карциномы LLC в режиме профилактической иммунизации. $n = 10$, $*p < 0,05$, $***p < 0,0001$.

Исследование возможности пассивного переноса противоопухолевого протективного иммунитета от вакцинированных ксеногенным ТАГ животных, у которых не развилась опухоль, интактным мышам было выполнено в модели карциномы LLC.

В качестве материала для пассивного переноса иммунитета были использованы спленоциты и лимфоциты лимфоузлов иммунизированных ксеногенным ТАГ мышей, у которых не развилась опухоль при ее введении после исследования длительности профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ.

Показано достоверное увеличение продолжительности жизни мышей-опухоленосителей LLC, получивших инъекцию сингенных спленоцитов и лимфоцитов лимфоузлов (рис. 8). по сравнению с контролем (мышь-опухоленоситель LLC без иммунизации). На 69 сутки после введения клеток LLC привитая опухоль не развилась вообще у 20% животных в группе мышей, которым ввели в/в лимфоциты лимфоузлов и у 50% животных в группе мышей, которым ввели в/в ввели спленоциты.

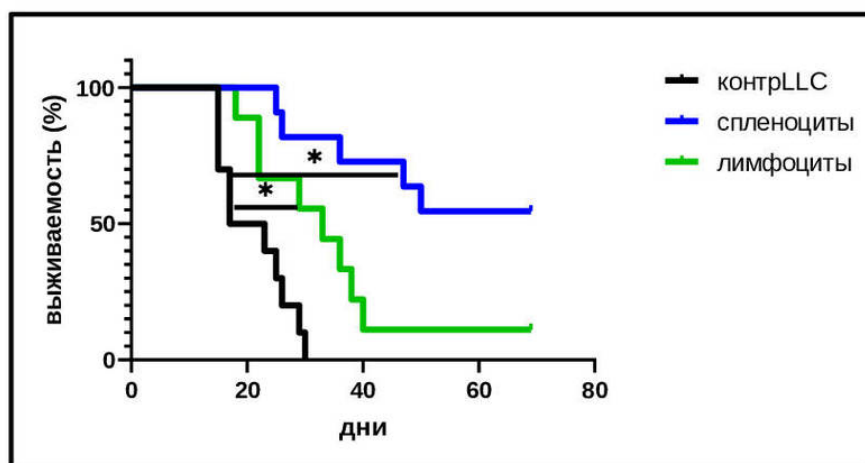


Рис. 8. Продолжительность жизни мышей-опухоленосителей LLC при переносе спленоцитов или лимфоцитов лимфатических узлов от мышей, у которых не выросла карцинома LLC интактным реципиентам с последующей инокуляцией им опухолевых клеток линии LLC. $n = 10$, $***p < 0,0001$.

Мы считаем, что полученные данные являются результатом наличия клеток, обладающих противоопухолевым эффектом после иммунизации ксеногенными ТАГ. В селезенке и лимфоузлах находятся цитотоксические Т-клетки, NK клетки, Т-клетки памяти, но стоит учитывать процент содержания этих клеток. В селезенке содержится до 25% от общего числа лимфоцитов организма, а во всех лимфоузлах до 20%. Количество введенных интактным мышам клеток, обладающих противоопухолевым эффектом после иммунизации ксеногенными ТАГ, в суспензии спленоцитов больше, чем в лимфоцитах лимфоузлов.

Таким образом, мы наблюдаем большую выживаемость при введении спленоцитов интактным мышам после привития опухоли LLC, чем при введении лимфоцитов лимфоузлов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Решение проблемы распознавания опухолевых клеток клетками иммунной системы на основании их рецепторного репертуара является важнейшей задачей онкоиммунологии. В настоящее время невыполнимой задачей является запуск процесса индукции специфичных к собственным опухолевым АГ эффекторных Т-лимфоцитов, Т-клеток памяти и специфичных АГ, которые способны сформировать эффективную противоопухолевую защиту и вылечить онкологического больного. Выполненная диссертационная работа поможет найти эффективный путь для разработки и модификации АГ структур, запуска специфичных противоопухолевых реакций в организме онкологического больного и будет той ступенью, которая приблизит нас к излечению больного от онкологической болезни.

Использование ксеногенного варианта ТАГ в качестве стимулятора противоопухолевого иммунитета обоснованно результатами диссертационной работы, будет предложено в качестве высокоиммуногенного материала, способного индуцировать формирование эффекторного звена иммунитета, направленного на ТАГ, представленных на собственных опухолях. Основываясь на вышеизложенном и используя вышеуказанные в работе подходы иммунизации, мы полагаем, что сможемкратно усилить эффективность протективных иммунных реакций в организме

опухоленосителя и, таким образом, увеличить продолжительность его жизни или излечить - в перспективе.

ВЫВОДЫ

1. Предварительная иммунизация мышей ксеногенными ТАГ приводит к увеличению 50% выживаемости мышей-опухоленосителей B16 и LLC, что свидетельствует о том, что ксеногенный компонент АГ является значимым иммуногенным инструментом в формировании эффективного противоопухолевого иммунитета.

2. Проллиферативный ответ спленоцитов, полученных от мышей-опухоленосителей иммунизированных *in vivo* ксеногенными и сингенными ТАГ мышей на антигены LLC и B16, достоверно выше в группе мышей, иммунизированных ксеногенным ТАГ по сравнению с группой мышей, иммунизированных сингенным ТАГ, что указывает на наличие ортологичных антигенных структур между ТАГ барана, ТАГ меланомы B16 и ТАГ карциномы LLC.

3. Обнаружено повышение уровня IFN γ и снижение IL-10 в плазме крови как в группе мышей-опухоленосителей B16 и LLC, иммунизированных ксеногенными ТАГ, так и в группе мышей, у которых не развилась опухоль LLC после предварительной иммунизации ксеногенными ТАГ, в сравнении с неиммунизированным опухолевым контролем, что свидетельствует о вовлечении этих цитокинов в формирование противоопухолевых иммунологических реакций.

4. Спленоциты, выделенные от иммунизированных ксеногенным ТАГ мышей-опухоленосителей LLC, и мышей, у которых не развилась опухоль LLC после предварительной иммунизации ксеногенными ТАГ, содержат в своем составе повышенную, по сравнению с опухолевым контролем, долю CD8+Perforin+ клеток, что свидетельствует о вовлечении клеток с цитолитическим потенциалом в механизмы формирования противоопухолевых иммунных реакций.

5. Спленоциты, выделенные от иммунизированных ксеногенным ТАГ мышей-опухоленосителей LLC, и животных, у которых не развилась опухоль LLC, содержат в своем составе пониженную, по сравнению с опухолевым контролем, долю CD4+CD25+FoxP3+ регуляторных клеток, что свидетельствует о влиянии ксеногенной иммунизации на изменение супрессорного звена иммунитета.

6. Таким образом, предварительная иммунизация мышей ксеногенным вариантом ТАГ индуцирует в организме животного формирование длительных противоопухолевых реакций, проявляющихся удлинением жизни мышей – опухоленосителей, и пассивно передающихся интактным мышам с помощью спленоцитов и лимфоцитов лимфоузлов, полученных от предварительно иммунизированных ТАГ животных.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Оригинальные статьи

1. Dorzhieva A.B., Khabalova T.S., Androsova Yu.E., Kaschenko E.A., Ivanova I.P., Seledtsova G.V. Efficiency of the formation of antitumor immune responses in the system of preventive vaccination of mice with testicular antigens. // Medical Immunology (Russia). - 2021. - №4(23). - P. 665-670. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-EOT-2299>
2. Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П., Селедцов В.И. Использование ксеногенных тестикулярных антигенов в индукции противоопухолевых реакций. // Сибирский онкологический журнал. -2023. - № 6(22). - С. 111-120.

3. Доржиева А.Б., Селедцова Г.В., Селедцов В.И. Ксеногенные тестикулярные антигены в индукции противоопухолевого ответа. // Медицинская иммунология. – 2025. - № 3(27). - С. 301-306. doi: 10.15789/1563-0625-ХТА-3148
4. Доржиева А.Б., Селедцова Г.В., Селедцов В.И. Использование ксеногенных тестикулярных антигенов в стимуляции противоопухолевого иммунного ответа. // Иммунология. – 2025. - №46 (3). – С. 71–77. DOI: <https://doi.org/10.33029/1816-2134-2025-46-3-0-0>
5. Seledtsov V.I., Dorzhieva A.B., Darinskas A., von Delwig A.A., Blinova E.A., Seledtsova G.V. Xenogeneic Testicular Cell Vaccination Induces Long-Term Anti-Cancer Immunity in Mice. // Curr. Issues Mol. Biol. – 2025. - №47(6). - P. 443. <https://doi.org/10.3390/cimb47060443>

Тезисы материалов конференций

1. Доржиева А.Б. Возможность применения ксеногенных тестикулярных антигенов в формировании противоопухолевого иммунитета. // Материалы XIV Российской (итоговой) научно-практической конкурс-конференции с международным участием студентов и молодых ученых «АВИЦЕННА–2023». - Новосибирск: 2023 - Т. 1, С. 566-567.
2. Доржиева А.Б. Влияние ксеногенных тестикулярных антигенов в формировании противоопухолевого иммунитета in vivo. // «Перспективы развития фундаментальных наук». Сборник научных трудов XX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Томск: 2023 - Т. 4, С. 42-44.

Список сокращений

ОАА – опухоль-ассоциированный антиген
 ТАГ – тестикулярный антиген
 АГ – антиген
 CD – кластер дифференцировки
 LLC (Lewis lung carcinoma) – карцинома легкого Льюиса
 IFN γ (interferon gamma) – интерферон гамма
 IL (interleukin) – интерлейкин