

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

ведущего научного сотрудника НИЛ "Биомедицинские технологии" Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», PhD (биологические науки),

Булатова Эмиля Рафаэлевича

на диссертационную работу Алсаллум Алаа «Фенотипические и функциональные характеристики Т-лимфоцитов с генетически-модифицированным Т-клеточным рецептором, специфичным к антигену NY-ESO-1», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология

### Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Алсаллум Алаа направлена на комплексное изучение TCR-модифицированных Т-лимфоцитов, специфичных к антигену NY-ESO-1<sub>157-165</sub>/HLA-A\*02:01, включая анализ их фенотипических, функциональных и транскриптомных особенностей, а также оценку противоопухолевой активности *in vitro* и *in vivo* в экспериментальной модели ксенотрансплантата клеток меланомы человека SK-MEL-37. Несмотря на прогресс в развитии иммунотерапии, терапевтическая эффективность существующих методов при солидных опухолях остаётся ограниченной, что определяет необходимость разработки новых подходов. Одним из наиболее перспективных направлений является использование Т-лимфоцитов, с модифицированным Т-клеточным рецептором (TCR), которые обеспечивают распознавание внутриклеточных антигенов, представленных в комплексе с молекулами HLA I класса, и тем самым обеспечивают более широкий спектр опухолевых мишеней. Антиген NY-ESO-1 представляет особый интерес благодаря высокой иммуногенности и ограниченной экспрессии в нормальных тканях, а его aberrантная экспрессия во множестве типов солидных опухолей делает его идеальной мишенью для разработки антиген-специфических TCR-конструкций.

В работе используются передовые технологии молекулярной иммунологии, в частности одноклеточное секвенирование РНК (scRNA-seq), которое позволяет раскрыть гетерогенность TCR-Т-клеток и выявлять генные сигнатуры, отражающие процессы активации, дифференцировки и цитотоксичности TCR-модифицированных Т-лимфоцитов.

Таким образом, проведённое исследование обладает высокой научной и практической значимостью, углубляя понимание механизмов противоопухолевого иммунного ответа, реализуемого TCR-модифицированными Т-лимфоцитами.

### Соответствие темы диссертации указанной специальности

Тема диссертационной работы полностью соответствует специальности 3.2.7. Иммунология (Направления исследования: №3 Изучение молекулярных и клеточных основ

противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты. №7 Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии. Исследование эффективности и безопасности этих воздействий).

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов**

Достоверность и обоснованность данных, полученных в диссертационном исследовании, обеспечиваются подробным описанием применённых методов, продуманным дизайном экспериментов и использованием адекватных статистических и биоинформатических методов обработки полученных данных. Все исследования проведены в соответствии с целями и задачами работы.

Результаты диссертационной работы были представлены на научных конференциях и опубликованы 4 научные статьи в рецензируемых журналах, индексируемых в базах Scopus и/или Web of Science и рекомендованных ВАК РФ.

Выводы диссертации и положения, выносимые на защиту, корректны, аргументированы и основаны на экспериментальных результатах.

### **Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы**

В диссертационной работе Алсаллум Алаа представлены новые данные о функциональных и молекулярных характеристиках TCR-модифицированных Т-лимфоцитов, специфичных к антигену NY-ESO-1<sub>157-165</sub>/HLA-A\*02:01. Для генетической модификации Т-лимфоцитов применялась конструкция TCR с усиленной аффинностью, включающая аминокислотные замены Gly<sup>50</sup>→Ala и Ala<sup>51</sup>→Glu в CDR2-домене β-цепи. Показано, что полученные TCR-Т-лимфоциты распознают и эффективно уничтожают NY-ESO-1<sup>+</sup> опухолевые клетки, экспрессируя маркеры активации (CD107a, FasL) и секретируя эффекторные молекулы (перфорин, гранзимы, IFN-γ, TNF-α и др.). Результаты одноклеточного секвенирования РНК (scRNA-seq) позволили охарактеризовать гетерогенность популяции и выявить кластеры CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов с активным цитотоксическим транскриптомным профилем, включающим гены рецепторов NK-клеток (*KLRK1*, *NKG7*, *FCGR3A*). Также установлена экспрессия ингибиторных рецепторов *KLRC1*, *KLRG1*, *CD300A* и *LAG3*, что указывает на их возможную роль в регуляции функциональной активности TCR-модифицированных Т-лимфоцитов и открывает перспективы их целенаправленной модуляции в рамках совершенствования TCR-терапии. В экспериментальной модели ксенотрансплантата меланомы человека установлено, что инфузия NY-ESO-1-специфичных TCR-Т-лимфоцитов приводит к выраженному подавлению роста опухоли, что подтверждает высокий потенциал применяемой TCR-конструкции. Научная новизна работы определяется получением первых комплексных данных о фенотипе и

транскриптомных сигнатурах NY-ESO-1-специфичных TCR-модифицированных Т-лимфоцитов. Теоретическая и практическая значимость исследования заключается в том, что полученные результаты расширяют представления о механизмах функционирования TCR-Т-лимфоцитов и создают основу для дальнейшего развития адоптивной клеточной терапии злокачественных новообразований.

### **Общая оценка диссертации**

Диссертационная работа имеет традиционную структуру, изложена на 119 страницах и включает главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов исследования», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Список литературы». Работа иллюстрирована 23 рисунками и 6 таблицами. «Список литературы» включает 314 источников.

Название полностью отражает суть работы. Цель работы сформулирована корректно, поставленные задачи соответствуют цели и изложены в 5 пунктах.

Введение содержит актуальность исследования, степень разработанности темы исследования, цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию и методы исследования, 2 основных положения, выносимых на защиту, степень достоверности и апробацию результатов исследования, публикации и личный вклад автора.

Обзор литературы состоит из семи подглав и охватывает современные представления о роли Т-лимфоцитов в противоопухолевом иммунном ответе. В главе подробно рассмотрены процессы активации Т-клеток через TCR-комплекс и ко-рецептор CD28, их дифференцировка и формирование функциональных подтипов, а также стратегии получения генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих антиген-специфичные TCR. Особое внимание уделено антигену NY-ESO-1 как одной из наиболее перспективных мишеней для TCR-Т-клеточной терапии. Обзор основан на актуальных источниках и дополнен оригинальными схемами и иллюстрациями, выполненными автором самостоятельно, что способствует наглядности и лучшему пониманию представленного материала.

Глава материалы и методы написана подробно, представлены подходы молекулярной биологии, иммунологии и биоинформатики для анализа фенотипических и функциональных свойств исследуемых клеточных популяций. Описание методик выполнено чётко, с указанием применённых реактивов и оборудования, что делает работу воспроизводимой и методически прозрачной.

Глава «Результаты собственных исследований» состоит из разделов, расположенных последовательно в соответствии с поставленными задачами и логической последовательностью.

В главе «Обсуждение результатов исследования» автор проводит анализ полученные результаты, интерпретируя их в контексте современных научных представлений. Заключение представляет собой краткое изложение основных данных, полученных в работе.

Положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют полученным результатам, выводы свидетельствуют о достижении поставленной соискателем цели.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с существующими требованиями, а его содержание соответствует данным, представленным в диссертации, и содержит основные результаты, необходимые для суждения об обоснованности выводов.

### **Вопросы и замечания**

Оценивая работу положительно и отмечая ее несомненную новизну, есть несколько вопросов, которые носят дискуссионный характер, а именно:

1. В диссертации убедительно показана высокая противоопухолевая активность NY-ESO-1-специфичных TCR-T-клеток, однако вопросы безопасности (перекрёстная реактивность, потенциальное повреждение нормальных тканей) практически не обсуждаются. Не могли бы Вы прокомментировать, какие основные риски при возможном клиническом применении данной TCR-конструкции Вы видите и какие подходы к их минимизации представляются наиболее перспективными?
2. Модель ксенотрансплантата меланомы SK-MEL-37 у иммунодефицитных мышей линии NRG позволила продемонстрировать выраженный противоопухолевый эффект TCR-T-клеток, но не в полной мере отражает сложность иммунного микроокружения у пациента. Просьба уточнить, какие факторы реальной клинической ситуации (гетерогенность экспрессии NY-ESO-1, вариабельность HLA, иммуносупрессивное микроокружение и др.) могут, по Вашему мнению, ограничивать перенос полученных результатов на клиническую практику.
3. Одноклеточный транскриптомный анализ выявил субпопуляции NY-ESO-1-специфичных TCR-T-клеток с различным функциональным статусом, в том числе с экспрессией ингибиторных рецепторов и признаками истощения. Какие из обнаруженных молекулярных мишеней (например, PD-1/TIM-3, NKG2A и др.) Вы считаете наиболее перспективными для дальнейшей оптимизации данной TCR-терапии и планируются ли подобные исследования в будущем?

## Заключение

Диссертационная работа Алсаллум Алаа «Фенотипические и функциональные характеристики Т-лимфоцитов с генетически-модифицированным Т-клеточным рецептором, специфичным к антигену NY-ESO-1», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является самостоятельной, завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком уровне и представляющей интерес для решения актуальных задач современной в области клеточной иммунотерапии злокачественных новообразований.

Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для защиты и выводы.

Диссертация Алсаллум Алаа соответствует требованиям пункта 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней» (постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в действующей редакции №1382 от 16 октября 2024 года), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

### Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник НИЛ "Биомедицинские технологии" Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», PhD (биологические науки)

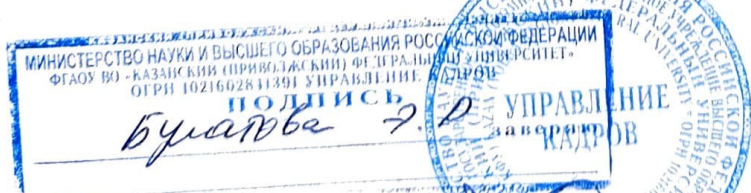


17.11.2025

Булатов Эмиль Рафаэлевич

420008, г. Казань, ул. Кремлевская 18  
Казанский (Приволжский) федеральный университет  
Институт фундаментальной медицины и биологии  
Телефон: +7(843)2934307; e-mail: bulatovemil@gmail.com

Подпись PhD (биологические науки), Булатова Эмиля Рафаэлевича заверяю.



Ведущий специалист  
по персоналу

С.В.Хайдарова