

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

ведущего научного сотрудника лаборатории биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, доктора биологических наук, Коваль Ольги Александровны 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 посвящена изучению TCR-модифицированных Т-лимфоцитов, специфичных к комплексу NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅/HLA-A*02:01, с анализом их фенотипических, функциональных и транскриптомных характеристик, а также оценкой противоопухолевой активности *in vitro* и *in vivo* в модели клеток меланомы человека.

Исследование направлено на решение одной из актуальных задач современной онкоиммунологии — усовершенствование клеточной терапии солидных опухолей. При терапии солидных опухолей традиционными химиопрепаратами часто развивается лекарственная устойчивость снижающая эффективность лечения. Поэтому поиск подходов, обеспечивающих селективное распознавание опухолевых антигенов и формирование стойкого цитотоксического ответа к клеткам опухоли, имеет высокую актуальность и практическую значимость.

В последние годы большие надежды возлагают на клеточную иммунотерапию. Использование Т-лимфоцитов, модифицированных антиген-специфическими Т-клеточными рецепторами (TCR), позволяет проводить “нацеливание” на широкий спектр антигенов. В отличие от CAR-T-клеток, TCR-модифицированные лимфоциты способны распознавать внутриклеточные антигены, представленные в комплексе с молекулами МНС I, а не только рецепторы на поверхности.

В качестве модельного антигена в работе выбран белок NY-ESO-1 (New York esophageal carcinoma-1) — представитель семейства онкотестикулярных антигенов, отличающийся высокой иммуногенностью и ограниченной экспрессией в нормальной ткани семенников. Его избирательная экспрессия в опухолевых клетках делает данный белок оптимальной мишенью для разработки антиген-специфических TCR-конструкций.

Применение метода секвенирования транскриптов РНК отдельных клеток (scRNA-seq) обеспечивает детальную характеристику транскриптомных ансамблей TCR-модифицированных Т-лимфоцитов, позволяет выявить их функциональные состояния и углубить понимание механизмов, лежащих в основе реализации противоопухолевого

потенциала этих клеток.

Проведённое исследование обладает высокой научной и практической значимостью, поскольку формирует экспериментальные и концептуальные основы для дальнейшего развития TCR-терапии солидных злокачественных новообразований.

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

Работа представляет собой завершённое исследование, выполненное на современном методологическом уровне. Проведённые эксперименты полностью соответствуют поставленным целям и задачам и позволяют сделать однозначные выводы.

Достоверность результатов, а также научные положения и выводы диссертации подтверждаются логично выстроенной структурой исследования, достаточной выборкой, применением современных иммунологических и молекулярно-биологических методов, а также корректным использованием статистических инструментов анализа и сопоставления данных. Положения, выносимые на защиту, полностью подтверждены полученными результатами, а выводы логично вытекают из представленных данных.

Основные выводы диссертации доложены и обсуждены на российских и международных конференциях. По теме исследования опубликованы 3 научные статьи и одна обзорная статья в высокорейтинговых рецензируемых журналах, индексируемых в базах Scopus и/или Web of Science и рекомендованных ВАК РФ. В трех из указанных публикаций Алсаллум Алаа является первым автором, что указывает на ее основной вклад в эти работы.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы

В проведённом исследовании в соответствии с целью и задачами автором получены данные, определяющие научную новизну и практическую значимость диссертационной работы. В работе впервые представлены результаты комплексного исследования TCR-модифицированных Т-лимфоцитов, специфичных к комплексу NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅/HLA-A*02:01, полученных с использованием конструкции TCR повышенной аффинности, содержащей аминокислотные замены Gly⁵⁰→Ala и Ala⁵¹→Glu. Показано, что данные Т-лимфоциты обладают выраженной

антигенной специфичностью и продукцией цитотоксических молекул. В экспериментальной модели ксенотрансплантата меланомы человека *in vivo* введение NY-ESO-1-специфичных TCR-T-лимфоцитов приводило к полной регрессии опухоли, что может быть полезно для применения

Алсаллум А. впервые охарактеризованы транскриптомные профили NY-ESO-1-специфичных TCR-T-лимфоцитов *in vivo*, выявлены маркеры цитотоксичности и экспрессия генов, характерных для NK-клеточного фенотипа. Особый интерес вызывает выявленный двойной противоопухолевый эффект NY-ESO-1 Т-клеток - как антигеннезависимых NK-подобных клеток и через антигенспецифические CTL-подобные реакции. Это наблюдение, безусловно, имеет высокую теоретическую значимость для онкоиммунологии.

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.

Во введении автор формулирует цели и задачи своей работы, обосновывает актуальность исследования, оценивает научную новизну и потенциальную практическую значимость результатов, формулирует положения, выносимые на защиту.

Глава 1, «Обзор литературы», включает семь подглав, в которых последовательно изложены современные представления о роли Т-лимфоцитов в противоопухолевом иммунном ответе. Рассмотрены механизмы активации Т-клеток через TCR-комплекс и рецептор CD28, процессы киллинга опухолевых клеток и пути их иммунного уклонения, а также дифференцировки и формирование подтипов Т-лимфоцитов. Отдельный раздел посвящён антигену NY-ESO-1 как перспективной мишени для TCR-T-клеточной терапии и современным подходам к его использованию в иммунотерапии злокачественных новообразований. Обзор выполнен на основе современных источников и дополнен авторскими схематическими иллюстрациями, самостоятельно созданными диссертантом по материалам проанализированной литературы. Глава отличается чёткой структурой и глубиной анализа актуальных научных данных в области онкоиммунологии и клеточной терапии.

Глава «Материалы и методы исследования» написана подробно, представлены современные методы молекулярной биологии и иммунологии для анализа фенотипических, функциональных и транскриптомных характеристик TCR-модифицированных Т-лимфоцитов.

Методы описаны чётко, с указанием применённых расходных материалов, оборудования и статистических подходов, что обеспечивает воспроизводимость результатов. Выбор методов адекватен для решения поставленных цели и задач диссертационного исследования.

В главе «Результаты собственных исследований» автор последовательно описывает полученные в процессе работы данные, проводит их сравнительный анализ и сопоставления, делает обоснованные заключения.

В главе «Обсуждение результатов исследования» автор анализирует полученные результаты в контексте известных данных.

В главе «Заключение» автор подводит итог проведенных исследований.

Выводы основываются на фактически полученном автором материале и отражают суть проведенного диссертационного исследования.

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

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. Во время прочтения диссертационной работы возник ряд вопросов и замечаний:

1. В обзоре литературы на стр. 18 не совсем корректно описан механизм FASL-зависимого апоптоза клеток-мишеней.
2. С чем связано тестирование NY-ESO-1-специфичных Т-клеток в отношении меланомы, в которых экспрессия антигена определяется в 46% случаев, а не в отношении миксоидной липосаркомы, для которой экспрессия NY-ESO-1 диагностируется в 89-100% случаев?
3. Как наблюдаемая в работе в данной динамике по регрессии опухоли у животных соотносится с описываемой динамикой при использовании подобных клеточных продуктов в литературе?

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.

Представленная работа написана в едином стиле, содержит научную новизну и новые 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 сотрудник лаборатории биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, доктора биологических наук

Коваль Ольга Александровна

Подпись доктора биологических наук, Коваль Ольги Александровны заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» (ИХБФМ СО РАН), к.б.н.

Логашенко Евгения Борисовна



Дата: « 22 » декабря 2025

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Телефон: (383) 363-51-50

Факс: (383) 363-51-53

e-mail: secretary@niboch.nsc.ru

Сайт: <http://www.niboch.nsc.ru/>

Логашенко Евгения Борисовна