

УДК 571.27:616-006.03

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ДИАГНОСТИКУ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ**Самохвалова В.Р.***Научный руководитель: Князева О.А.**ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет,**Уфа, e-mail: valya-s-98@mail.ru*

Моноклональные антитела (Мка) могут распознавать эпитопы, присутствующие на поверхности клеток, отражающие самые ранние биохимические изменения, предшествующие неопластическому процессу, что является перспективным для диагностики онкологических заболеваний. Мка получают с помощью гибридомной технологии путем слияния спленоцитов иммунизированной мыши с клетками мышиной миеломы. Для диагностики и терапии онкологических заболеваний используют химерные антитела, в которых собственный Fc-фрагмент заменен на Fc-фрагмент человеческого антитела, что существенно снижает их иммуногенность в организме человека. Существует метод получения Мка без гибридом, при котором связывают антитело и кодирующий его ген, используя фаг-дисплейные библиотеки, содержащие более 10 миллиардов фрагментов антител с уникальной специфичностью. Потребность в большом количестве Мка привела к значительным объемам производства и улучшению подходов их разработки.

Ключевые слова: рак, моноклональные антитела, молекулярная диагностика, иммуноглобулины, фаговый дисплей.

MODERN VIEW ON THE DIAGNOSIS OF CANCER WITH THE USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES**Samokhvalova V.R.***Research supervisor: Knyazeva O.A.**Bashkir state medical university, Ufa, e-mail: valya-s-98@mail.ru*

Monoclonal antibodies (MABs) recognize epitopes present on the cell surface, reflecting the earliest biochemical changes preceding neoplastic process, which is promising for the diagnosis of cancer. Ma are obtained via post-fusional technology by fusing splenocytes from immunized mice with murine myeloma cells. For diagnosis and therapy of cancer using chimeric antibodies, which own the Fc-fragment is replaced by the Fc-fragment of human antibody, which significantly reduces their immunogenicity in the human body. There is a method of obtaining Ma without a hybrid, which bind the antibody and its encoding gene using a phage-display library containing more than 10 billion fragments of antibodies with unique specificity. The need for a large number of Ua led to significant production volumes and improved approaches of their development.

Keywords: cancer, monoclonal antibodies, molecular diagnostics, immunoglobulins, phage display.

Рак становится второй ведущей причиной смерти в мире. Эффективная стратегия для ранней диагностики заболевания является ключевым фактором для снижения смертности и заболеваемости. Разработка эффективных моноклональных антител (Мка) – основа для обнаружения антигенов и небольших молекул, высвобождающихся из раковых клеток, которые способствуют повышению современной диагностики рака в медицине [1,2].

Несмотря на то, что технология Мка все еще находится на стадии разработки, последние достижения в области подготовки рекомбинантных методов антигена и инженерии антител резко расширили применение этой технологии в диагностике рака. По сравнению с другими методами, анализы, основанные на Мка могут обеспечивать пространственное, временное, точное и количественное измерение для диагностики

заболевания [3]. Изучение онкологической иммунологии обеспечило диагностические и терапевтические приборы с помощью сыровороточных аутоантител, биомаркеров и экзогенных моноклональных антител [2,3].

К сожалению, иммунная система не всегда способна распознать или уничтожить опухоль. Клетки новообразований к тому же имеют целый список способов маскировки. Применение Мка делает раковые клетки видимыми для иммунных клеток, которые убивают переродившиеся клетки. Иногда использование Мка может предотвратить появление онкологического заболевания, заранее научив организм бороться с определенным типом рака [4].

Мка секретируются иммунными клетками, происходящими от единственной антителообразующей клетки, поэтому они направлены только против определенного эпитопа

иммуногенного вещества, так называемой «антигенной детерминанты». Для получения Мка (рис.1) спленоциты иммунизированной мыши гибридизируют с клетками миеломы. При таком слиянии возникают гибридные клетки, так называемые гибридомы.



Рис.1

Культивируют полученные гибридомы в питательной среде, затем отбирают клоны, дающие положительный ответ к заданному антигену (рис.2).



Рис.2

Отобранные клоны нарабатывают in vitro и in vivo. Часть клеток замораживают в жидком азоте и так хранят, пока они не потребуются, а часть используют для терапевтических и диагностических целей (рис.3).



Рис.3

Мышиные антитела плохо подходят для использования в клинической практике, так как они вызывают иммунный ответ в организме, поэтому используют химерные Мка мыши, в которых собственный Fc-фрагмент заменен на Fc-фрагмент человеческого антитела, что существенно снижает их иммуногенность в организме человека [4].

Следующие данные подтверждают, что сигнал от антимышиных IgG обусловлен антителами в опухоли, а не наличием иммунных клеток в ткани (рис.4, 5)

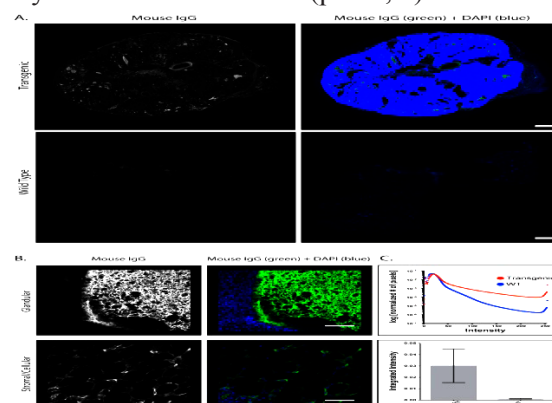


Рис.4. Рак молочной железы мыши

Показано, что флуоресцентная маркировка мышиного IgG в неопластической молочной ткани статистически выше, чем в молочной ткани здоровой мыши [5].

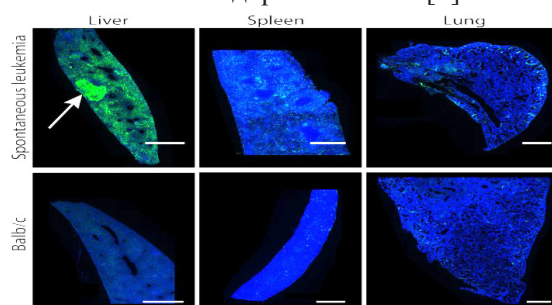


Рис.5. Рак печени, селезенки, легких

Показано, что в тканях этих органов, обработанных антимышиным IgG, больше антител в опухолевой ткани, чем в тканях здоровой мыши.

Чтобы создавать антитела без использования гибридом, нужно связать между собой антитело и кодирующий его ген, выбрав из фаг-дисплейной библиотеки антитело, специфичное к данной молекуле, затем клонировать его ген в бактерии и получать нужное количество антител. Винтер и соавторы встроили в геном бактериофага нуклеотидную последовательность Fab-фрагмента антитела, объединив его с частью гена по-

верхностного белка. Это позволило экспрессировать на поверхности каждой вирусной частицы несколько копий гибридного белка, сохраняющего специфичность к своему антигену и проводить селекцию нужного антитела из библиотеки [7]. Современные библиотеки содержат более 10 миллиардов фрагментов антител с уникальной специфичностью. Пример успешного применения фаг-дисплейных библиотек – создание Мка, специфичных к различным конформациям белка убиквитина. В клетке встречаются полимеры убиквитина, связанные через боко-

вые цепи разных остатков лизина (рис.6). С их помощью исследователям удалось проследить за быстрыми изменениями модификаций адаптерных белков в сигнальном каскаде, инициированном рецептором фактора некроза опухолей на поверхности клетки. Lys48-связанные полимеры «помечают» белки, предназначенные для деградации в протеасомах, а Lys63-связанные цепи играют важную роль во многих клеточных процессах, например, способствуют образованию сигнальных платформ рецепторов, включая рецептор фактора некроза опухолей [8].

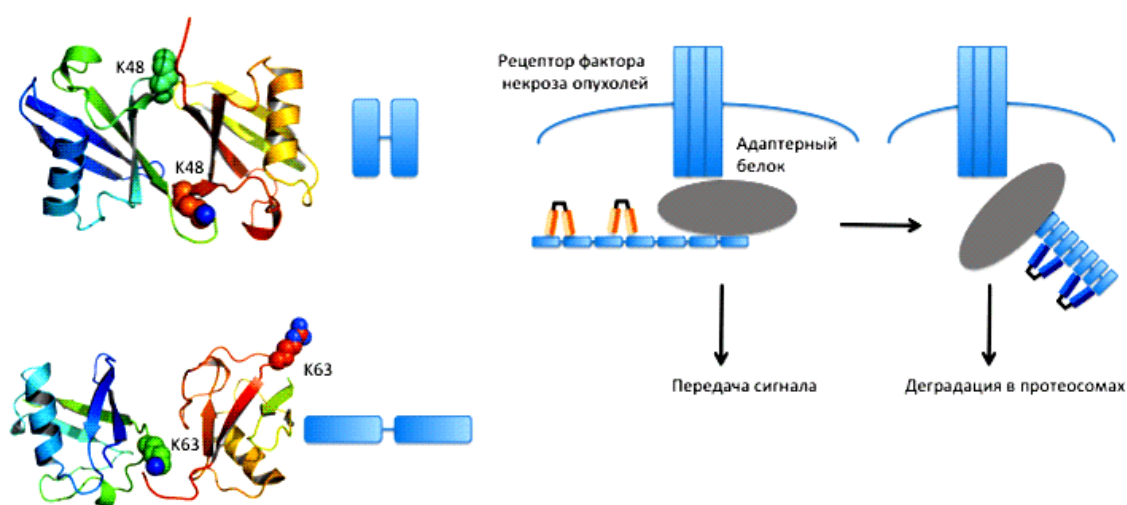


Рис.6. Роль K63 и K48-связанных полимеров убиквитина в передаче сигнала от рецептора фактора некроза опухолей

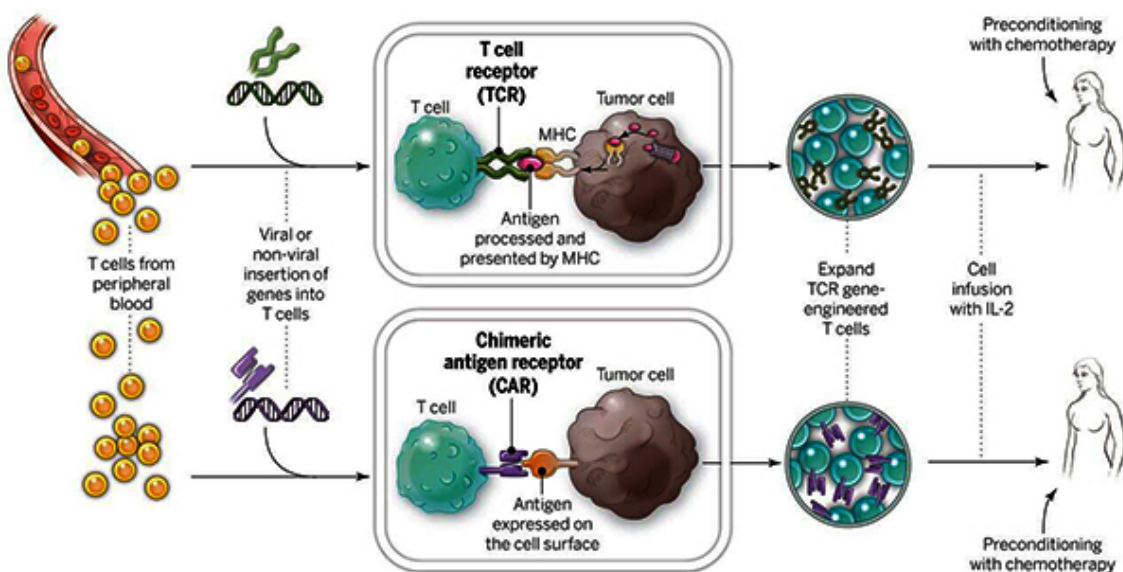


Рис.7. CAR T-клеток и TCR T-клетки предназначены для получения специальных рецепторов на их поверхности. Затем они нарабатываются в лаборатории и возвращаются пациенту

Недавно появился новый подход, так называемый адаптивный перенос клеток (АСТ), использующий иммунные клетки пациентов для лечения рака (рис. 7) [9].

Существует потребность в разработке эффективных методов лечения, совмещающих использование Мка со стандартной химиотерапией. Все лейкозные клетки экспрессируют несколько поверхностных антигенов, поддающихся терапии, включая CD20, CD22 и CD19. Мка избирательно взаимодействуют с поверхностными антигенами и минимизируют токсичность. При добавлении к первой химиотерапии ритуксимаба, антитела, направленного против CD20, эффективность лечения больных лейкозией значительно возрастает [10].

В настоящее время потребность в большом количестве Мка привела к значительным объемам их производства, а также к улучшению подходов их разработки [11].

Таким образом, моноклональные антитела могут распознавать эпитопы, присутствующие на поверхности клеток, отражающие самые ранние биохимические изменения, предшествующие неопластическому процессу, что является перспективным для диагностики онкологических заболеваний.

Список литературы

1. Князева О.А., Камилов Ф.Х. Комплемент и антитела при онкологических заболеваниях. Результаты исследований. Германия: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2011. – 284 с.
2. Zhang X, Soori G., Dobleman T. The application of monoclonal antibodies in cancer diagnosis // Expert Review of Molecular Diagnostics. – 2014. – V. 14. – P. 97-106.
3. Bhutani D, Vaishampayan UN: Monoclonal antibodies in oncology therapeutics: present and future indications. Expert Opin Biol Ther. 2013, 13: P.269-282.
4. Jarboe J, Gupta A, Saif W: Therapeutic human monoclonal antibodies against cancer. Methods Mol Biol. 2014, 1060: 61-77. 10.1007/978-1-62703-586-6_4.
5. Published online: May 2013 Nanooncology: The future of cancer diagnosis and therapy
6. Avnesh S. Thakor MD, PhD, Sanjiv S. Gambhir MD, PhD 2013
7. Even-Desrumeaux K, Fourquet P, Secq V, et al. Single-domain antibodies: a versatile and rich source of binders for breast cancer diagnostic approaches, Mol Biosyst, 2012, vol. 8 (pg. 2385-94)
8. Adler MJ, Dimitrov DS. Therapeutic antibodies against cancer, Hematol Oncol Clin North Am, 2012, vol. 26 (pg. 447-81)
9. CAR T Cells: Engineering Patients' Immune Cells to Treat Their Cancers, 2017.
10. Jabbour E, O'Brien S, Ravandi F, Kantarjian H. Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2015.P- 125(26):4010-4016.
11. BCC Research Biologic therapeutic drugs: technologies and global markets. Wellesley: BCC Research, LLC-2013 Jan. P-142.