

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-197

**ИССЛЕДОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВИРУСОВ ОСПОВАКЦИНЫ,
ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ТРАНСГЕНЫ АПОПТИНА И СИМПОРТЕРА НАТРИЯ/ЙОДИДА,
ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ***

**INVESTIGATION OF RECOMBINANT VACCINE VIRUSES EXPRESSING APOPTIN
AND SODIUM/IODIDE IMPORTER TRANSGENES FOR TUMOR THERANOSTICS USING
SYNCHROTRON RADIATION**

Д. В. Дроков^{1,2}, К. А. Лапшин²⁻⁴, А. В. Семенова¹, А. А. Гражданцева¹, А. А. Легкодымов^{3,4}, Г. В. Кочнева¹

¹Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

²Новосибирский государственный университет

³Институт ядерной физики им. Г.И. Буддера СО РАН, Новосибирск

⁴ЦКП «СКИФ» Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, р. п. Кольцово

D. V. Drokov^{1,2}, K.A. Lapshin²⁻⁴, A.V. Semenova¹, A.A. Grazhdantseva¹, A.A. Legkodymov^{3,4}, G.V. Kochneva¹

¹State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo

²Novosibirsk State University

³Budker Institute of Nuclear Physics SB RAS, Novosibirsk

⁴Synchrotron Radiation Facility — Siberian Circular Photon Source “SKIF”,
Boreskov Institute of Catalysis SB RAS, Koltsovo

✉ d.drokov@g.nsu.ru

Аннотация

Вирус осповакцины (VACV) обладает природными противоопухолевыми свойствами, что делает его перспективным агентом для онкологической виротерапии. В настоящей работе была произведена оценка цитотоксической и йод-аккумулирующей активности двойных рекомбинантных штаммов вируса осповакцины VV-mNIS-Apo и VV-P11mNIS-Apo в отношении опухолевых клеток человека.

Abstract

Vaccinia virus (VACV) has natural antitumor properties, which makes it a promising agent for oncolytic virotherapy. In this work, the cytotoxic and iodine-accumulating activity of double recombinant strains of the vaccinia virus VV-mNIS-Apo and VV-P11mNIS-Apo against human tumor cells was evaluated.

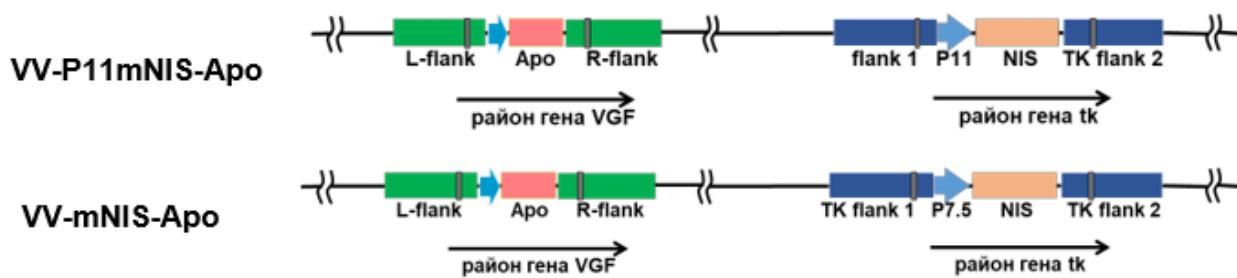
Создание препаратов, которые одновременно можно использовать и в ранней диагностике, и в терапии, — новый подход в фармацевтике, получивший название «тераностика» (англ. *theranostics*). Тераностика — это наиболее эффективный путь для лечения многих заболеваний, в том числе онкологических. Стратегия этого подхода состоит в том, чтобы сначала диагностировать мишень, а потом этим же «инструментом» ее поразить. На роль такого инструмента в случае онкологии идеально подходят онкологические вирусы, которые способны адресно распознавать и «убивать» (лизировать) раковые клетки.

Вирус осповакцины (VACV) — генетически стабильный, хорошо изученный вирус, обладает рядом особенностей, которые делают его одним из фаворитов в разработках противоопухолевых препаратов на основе онкологических вирусов [1]. На его основе получен целый ряд рекомбинантных штаммов, одновременно несущих в геноме инсерции трансгенов онкотоксических и репортерных белков.

В настоящей работе использовано два рекомбинантных варианта VACV: VV-mNIS-Apo и VV-P11mNIS-Apo, несущие трансгены репортерного гена, кодирующего транспортер натрий/йода мыши (mNIS) и ген онкотоксического белка апоптина вируса анемии цыплят (Apo) (см. рисунок). Трансгены, кодирующие белки апоптин и mNIS, встроены в районы делетированных вирусных генов VGF и tk соответственно.

Для осповакцины различают ранние, поздние и ранне-поздние промоторы, регулирующие экспрессию генов на разных этапах репликации вируса. В варианте VV-mNIS-Apo трансген mNIS контролируется ранне-поздним промотором (P7,5), а в VV-P11mNIS-Apo — поздним промотором P11. Использование разных промоторов для экспрессии mNIS связано с особенностями белка, который олигомеризуется в зависимости от концентрации.

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение от 30.05.2025 № 075-15-2025-452).



Схематичное изображение структуры генома рекомбинантных вариантов VACV

Исследования показали, что гиперэкспрессия человеческого ортолога NIS (hNIS) под контролем ранне-позднего промотора приводит к агрегации и снижению активности белка. При использовании позднего промотора hNIS представлен в димерной форме и эффективно аккумулирует ^{131}I в раковых клетках HeLa [2].

Таким образом, целью работы является сравнение йод-аккумулирующей и онкотоксической активностей двух рекомбинантных вариантов VACV с трансгенами Apo и mNIS под контролем различных промоторов: P7,5 и P11.

Для оценки чувствительности опухолевых клеток человека к тестируемым рекомбинантным штаммам VACV проведена сравнительная оценка их онколитической активности в отношении ряда опухолевых клеток различного органного и тканевого генеза, а именно: карциномы кожи A431, меланомы Mel8, карциномы молочной железы MDA-MB-231 и двух культур клеток глиобластомы U343 и U87 MG. Оценка проводилась с помощью колориметрического метода с использованием реагента XTT. Выяснилось, что наиболее чувствительной к действию обоих штаммов является культура A431. Наиболее устойчивыми оказались культуры клеток: U343, MDA-MB-293, Mel8.

При помощи метода рентгенофлуоресцентного элементного анализа с использованием синхротронного излучения (РФА-СИ) была осуществлена сравнительная оценка накопления нерадиоактивного йода *in vitro* в опухолевых клетках, инфицированных VV-mNIS-Apo и VV-P11mNIS-Apo. Анализ показал, что концентрация нерадиоактивного йода значительно выше в опухолевых клетках культуры A431, инфицированных штаммом VV-P11mNIS-Apo, чем в клетках, инфицированных штаммом VV-mNIS-Apo и клетках контрольной группы.

Исследование накопления нерадиоактивного йода *ex vivo* в ксеногraftах опухоли A431, подкожно трансплантированной иммунодефицитным мышам линии nude при виротерапии рекомбинантным штаммом VV-P11mNIS-Apo, показало, что у мышей, подвергавшихся виротерапии, концентрация йода в опухолях достоверно выше ($p\text{-value} = 0,0043 < 0,05$), чем в контрольной группе, не получавшей лечение рекомбинантным штаммом.

На основании полученных данных штамм VV-P11mNIS-Apo можно рассматривать как перспективный препарат для виротерапии и диагностики (тераностики) злокачественных опухолей.

Литература

1. Moss B. Poxvirus DNA replication // Cold Spring Harbor Perspect. Biol. 2013. Vol. 5, No. 9. P. a010199.
2. Wang J. et al. Enhancing expression of functional human sodium iodide symporter and somatostatin receptor in recombinant oncolytic vaccinia virus for *in vivo* imaging of tumors // J. Nucl. Med. 2017. Vol. 58, No. 2. P. 221–227.