

HSP70 КАК МИШЕНЬ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКА**Костенко В.В.(МГУ), Макарова А.О. (МГУ)****Научный руководитель – кандидат биологических наук Свирщевская Е.В.
(ИТМО)**

Белки теплового шока (БТШ) являются внутриклеточными шаперонами, участвующими в процессах фолдинга и рефолдинга различных белков внутри клетки. В норме транслокации БТШ на поверхность клетки нет. При раке на поверхности опухолевых клеток появляются БТШ, что может являться маркером опухолевых клеток и мишенью для терапевтических препаратов. Известно, что экспрессия БТШ появляется на мембране опухолевых клеток при стрессе (повышение температуры, гипоксия, цитотоксичность), что стимулирует метастазирование. На основе разработки конъюгатов антител против БТШ с противоопухолевыми препаратами (antibody-drug conjugate, ADC) можно создать препарат для профилактики послеоперационного метастазирования и, возможно, профилактики рака при генетической предрасположенности. В настоящее время ADC, распознающие рецептор эпидермального фактора роста HER2, тробластов *trp2*, молекула адгезии *nectin4* и другие, используются в клинических исследованиях с определенным успехом [1]. БТШ могут стать еще одной целевой молекулой для создания ADC. Общей задачей является создание ADC с антителом против БТШ70 и проверка его эффективности в модели рака на мышах. Целью данной работы являлся поиск потенциальных типов рака (рак молочной и поджелудочной железы, лимфомы, колоректальный рак), экспрессирующих БТШ70 на мембране в условиях 2D и 3D культивирования. Культуры многоклеточных сфероидов (3D) имитируют рост опухоли *in vivo*, при которой часть клеток испытывают стресс, что может приводить к экспрессии БТШ на мембране клеток. В настоящий момент у нас есть панель антител к БТШ70, распознающих различные участки БТШ70.

Анализ экспрессии БТШ70 проводили с использованием коммерческих антител BRM22. Клетки рака молочных желез (PMЖ) BT20, BT474, MDA-MD-231, MCF7 и HCC1395; рака поджелудочной железы AsPC-1, COLO357 и PANC-1, колоректального рака SW837, HT-29 и HCT116, лимфом K562, Raji и Daudi культивировали 24 ч на пластике (2D культуры) и на антиадгезивной подложке PolyHEMA (3D культуры) в стандартной культуральной среде. Анализ экспрессии БТШ70 анализировали методом проточной цитометрии и конфокальной микроскопии. Показали, что все клетки эпителиального рака экспрессируют БТШ70 как в 2D, так и в 3D культурах; экспрессия в 3D культурах усиливается. Лимфомы не экспрессируют на своей мембране БТШ70. Экспрессия БТШ70 на клетках в 2D культурах низкая и гомогенная на всех клетках; в 3D культурах появляется популяция клеток с высокой экспрессией. Предположительно именно эта популяция формирует пул клеток со способностью к метастазированию [2-5]. Повышенная экспрессия БТШ, в том числе БТШ70, ассоциирована с повышенной летальностью [6].

Для выбора модели рака на мышах провели аналогичный анализ экспрессии БТШ70 на поверхности первичных опухолевых линий клеток мышей CMT-167 (PMЖ), Pan02 (поджелудочная), CT26 (колоректальный), B16 (меланома), EPNT-5 (нейробластома), LLC (карцинома легкого) и EL-4 (лимфома). Показали, что клетки PMЖ CMT167 и поджелудочной железы Pan02 экспрессируют БТШ70 и могут быть использованы для моделирования эффективности ADC на основе антител против БТШ70.

Проведенное исследование показало, что таргетирование рака на БТШ и, в частности, БТШ70, может быть новым подходом к терапии PMЖ и рака поджелудочной железы. У нас имеется опыт получения ADC [7-8,10], имеются противоопухолевые препараты со

свободными группами, доступными для конъюгации [9]. В дальнейшем следует получить ADC на основе антитела к БТШ70 с противоопухолевым препаратом и проверить эффективность терапии рака в модели СМТ-167, что создаст предпосылку для разработки лекарств, направленных на уничтожение метастатических раковых клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-15-00472).

Список использованных источников:

1. Fu Z, Li S, Han S, Shi C, Zhang Y. Antibody drug conjugate: the "biological missile" for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2022 Mar 22;7(1):93. doi: 10.1038/s41392-022-00947-7.
2. Khoei S, Goliaei B, Neshasteh-Riz A, Deizadji A. The role of heat shock protein 70 in the thermoresistance of prostate cancer cell line spheroids. *FEBS Lett*. 2004 Mar 12;561(1-3):144-8. doi: 10.1016/S0014-5793(04)00158-9.
3. Gosnell JE, Wong CB, Kumwenda ZL, Welch WJ, Harris HW. Extracellular matrix regulates the hepatocellular heat shock response. *J Surg Res*. 2000 Jun 1;91(1):43-9. doi: 10.1006/jsre.2000.5901.
4. Stoletov K, Beatty PH, Lewis JD. Novel therapeutic targets for cancer metastasis. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2020 Feb;20(2):97-109. doi: 10.1080/14737140.2020.1718496.
5. Albritton JL, Miller JS. 3D bioprinting: improving in vitro models of metastasis with heterogeneous tumor microenvironments. *Dis Model Mech*. 2017 Jan 1;10(1):3-14. doi: 10.1242/dmm.025049.
6. Pascual-Pasto G, McIntyre B, Shraim R, Buongervino SN, Erbe AK, Zhelev DV, Sadirova S, Giudice AM, Martinez D, Garcia-Gerique L, Dimitrov DS, Sondel PM, Bosse KR. GPC2 antibody-drug conjugate reprograms the neuroblastoma immune milieu to enhance macrophage-driven therapies. *J Immunother Cancer*. 2022 Dec;10(12):e004704. doi: 10.1136/jitc-2022-004704.
7. Kalinovsky DV, Kholodenko IV, Svirshchevskaya EV, Kibardin AV, Ryazantsev DY, Rozov FN, Larin SS, Deyev SM, Kholodenko RV. Targeting GD2-Positive Tumor Cells by Pegylated scFv Fragment-Drug Conjugates Carrying Maytansinoids DM1 and DM4. *Curr Issues Mol Biol*. 2023 Oct 5;45(10):8112-8125. doi: 10.3390/cimb45100512.
8. Kalinovsky DV, Kholodenko IV, Kibardin AV, Doronin II, Svirshchevskaya EV, Ryazantsev DY, Konovalova MV, Rozov FN, Larin SS, Deyev SM, Kholodenko RV. Minibody-Based and scFv-Based Antibody Fragment-Drug Conjugates Selectively Eliminate GD2-Positive Tumor Cells. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 8;24(2):1239. doi: 10.3390/ijms24021239.
9. Shchegravina ES, Svirshchevskaya EV, Combes S, Allegro D, Barbier P, Gigant B, Varela PF, Gavryushin AE, Kobanova DA, Shchekotikhin AE, Fedorov AY. Discovery of dihydrofuranoalcolchicinoids - Highly potent antimitotic agents with low acute toxicity. *Eur J Med Chem*. 2020 Dec 1;207:112724. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112724.
10. Alekseeva, L.G.; Ovsyanikova, O.V.; Schulga, A.A.; Grechikhina, M.V.; Shustova, O.A.; Kovalenko, E.I.; Svirshchevskaya, E.V.; Deyev, S.M.; Sapozhnikov, A.M. Targeted Delivery of HSP70 to Tumor Cells via Supramolecular Complex Based on HER2-Specific DARPIn9_29 and the Barnase:Barstar Pair. *Cells* 2024, 13, 317. <https://doi.org/10.3390/cells13040317>

Костенко В.В. (автор)

Подпись

Макарова А.О. (автор)

Подпись

Свищевская Е.В. (научный руководитель)

Подпись