

**Изучение функциональных механизмов онколитической активности
отечественного штамма вируса кори Ленинград-16 на клетки меланомы
человека**

Научный руководитель – Аммура Юлия Игоревна

Щетинина Ю.Р.¹, Прокофьева Е.В.¹

1 - Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Отдел вирусологии им. О.Г. Анджаридзе, Лаборатория экспериментальной иммунологии, Москва, Россия

Онколитические вирусы, включая живые аттенуированные вакцинные штаммы вируса кори (ВК), в последнее время все чаще рассматриваются в качестве перспективных терапевтических агентов в отношении злокачественных новообразований человека. Однако механизмы, лежащие в основе их селективного онколитического действия, до конца не изучены. Данное исследование направлено на установление параметров, определяющих чувствительность клеток меланомы человека к ВК. Мы сосредоточили наше внимание на отечественном вакцинном штамме ВК – Ленинград-16, рассмотренном нами ранее в качестве онколитического агента на лейкозных клетках, в отношении клеточных линий диссеминированной меланомы человека Mel IL, Mel MTP и Mel Ibr, полученных от пациентов РОНЦ и отличающихся степенью дифференцировки. Клеточные линии заражали ВК с различной множественностью заражения (МОИ). Динамику вирусной репродукции, оценку гибели клеток и уровень экспрессии генов RIG-I (DDX58), MDA-5 (IFIH1), MAVS, IRF-3/7, IFNB1, IFNAR1/2, IFIT1, PKR, OAS1, MxA, Cyclin D1, а также p21/27 отслеживали через 3, 24, 48, 72, 96 и 120 часов после заражения. Ранее было показано значительное разнообразие лейкозных клеток в отношении их способности запускать механизмы внутриклеточного иммунного ответа на вирусную инфекцию, что приводило к значительной неоднородности их чувствительности к ВК и указывало на то, что устойчивые к вирусопосредованному онколизису первичные опухолевые и здоровые клетки сохраняли функциональные пути противовирусной защиты, в то время как чувствительные клетки были дефектны по ним. Однако анализируя уровень экспрессии генов ИФН I-опосредованного пути клеток меланомы в ответ на вирусное заражение, мы обнаружили, что, несмотря на индукцию экспрессии ИФН I типа и интерферон-стимулированных генов (ISGs), клеточные линии меланомы были перmissive для ВК, демонстрируя различную степень чувствительности. Характерное цитопатическое действие ВК на клетки наблюдали уже на 2-3 сутки после заражения, меньшее количество жизнеспособных клеток соответствовало большему МОИ. Тем не менее, большим МОИ сопутствовала значительная продукция дефектных интерферирующих геномов, являющихся лигандами для RIG-I-подобных рецепторов. Действительно, через 24-48 часов после заражения наблюдали повышение уровня экспрессии этих рецепторов, коррелирующее с пиком экспрессии ИФН- через 48 часов после заражения и носящее дозозависимый характер. При этом для зараженной культуры клеток Mel Ibr была характерна индукция экспрессии гена MxA в 100 раз и снижение экспрессии гена Cyclin D1, при слабой экспрессии других ISGs, а для зараженной культуры клеток Mel MTP, гибнущей длительнее других, – повышенная индукция гена OAS1 (в 1000000) при слабой или отсутствующей экспрессии гена MxA. По-видимому, это свидетельствует о том, что для полноценного ингибирования вирусной репликации требуется совместная экспрессия ISGs, тогда как при их отдельной экспрессии они выступают в качестве проапоптотических сигналов, опосредуя гибель опухолевых клеток.