

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.032.01 (Д 001.017.01),
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. БЛОХИНА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 03 марта 2022г., №4

О присуждении Мисюрину Всеволоду Андреевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «PRAME – драйверный белок канцерогенеза и мишень противоопухолевой терапии» по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия («биологические науки») принята к защите 8 июля 2021 года, протокол № 20, диссертационным советом 21.1.032.01 (Д 001.017.01), созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (115522, г. Москва, Каширское шоссе, д.24, Приказ о создании диссертационного совета №105/нк от 11.04.2012 г).

Соискатель Мисюрин Всеволод Андреевич, «12» декабря 1989 года рождения.

В 2011 году соискатель окончил биологический факультет федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «Биохимия».

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Исследование особенностей экспрессии и распространённости раково-

тестикулярных генов» защитил в 2014 году в диссертационном совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, созданном на базе Российского онкологического научного центра имени Н.Н. Блохина РАМН. Диплом КТ № 004888.

Работает старшим научным сотрудником лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей научно-исследовательского института (НИИ) экспериментальной диагностики и терапии опухолей федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России).

Диссертация выполнена в лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России.

Научный консультант -

доктор медицинских наук, профессор Киселевский Михаил Валентинович, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей, лаборатория клеточного иммунитета, заведующий.

Официальные оппоненты:

Киселёв Сергей Львович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, лаборатория эпигенетики, заведующий;

Титов Константин Сергеевич, доктор медицинских наук, доцент, государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова

Департамента здравоохранения города Москвы», онкохирургическое отделение опухолей кожи и мягких тканей, заведующий;

Рукавицын Олег Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, гематологический центр, начальник

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Сергеевой Натальей Сергеевной, доктором биологических наук, профессором, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена, отделение прогноза эффективности консервативного лечения, заведующая, указала, что диссертационная работа является законченным научно-квалификационным трудом, вносящим значимый вклад в фундаментальную и практическую онкологию, в котором доказаны драйверные свойства белка PRAME в опухолевых клетках различного гистогенеза и созданы предпосылки для разработки новых подходов к лечению онкологических больных посредством нацеленного воздействия на PRAME-экспрессирующие опухолевые клетки. Представленная работа соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168, от 11 сентября 2021 года №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Мисюрин Всеволод Андреевич, достоин присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Соискатель имеет 44 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 18, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 10 работ.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Мисюриным Всеволодом Андреевичем работах. Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 75%, общий объем научных изданий составляет 2,96 печатных листа. Статьи соискателя имеют научно-теоретический и научно-практический характер. В опубликованных работах отражены результаты исследования влияния экспрессии гена PRAME на прогноз больных онкологическими и онкогематологическими заболеваниями, драйверных свойств гена PRAME, его связи с химиорезистентностью и разработки различных подходов таргетной терапии против PRAME-экспрессирующих опухолей.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Ахлынина, Т.В. Наличие иммуногенного антигена в опухолевой клетке способствует антипролиферативному действию дендритных клеток / Т.В. Ахлынина, **А.В. Мисюрин**, Н.А. Лыжко, Ю.П. Финашутина, В.А. Мисюрин, Е.В. Аксёнова, И.Н. Солдатова, А.П. Шпакова, Б.Б. Хасигова, Т.И. Булычёва, О.С. Бурова // Российский биотерапевтический журнал. — 2014. — Т. 13. — № 4. — С. 23-30.
2. Финашутина, Ю.П. Получение рекомбинантного раково-тестикулярного белка PRAME и моноклональных антител к нему / Ю.П. Финашутина, А.В. Мисюрин, Т.В. Ахлынина, Н.А. Лыжко, А.А. Крутов, Е.В. Аксенова, **В.А. Мисюрин**, А.Ю. Барышников // Российский биотерапевтический журнал. — 2015. — Т. 14. — № 3. — С. 29-36.
3. Лыжко, Н.А. Повышение уровня экспрессия гена PRAME в опухолевых клетках сопровождается локализацией белка в клеточном ядре / Н.А. Лыжко, Т.В. Ахлынина, **А.В. Мисюрин**, Ю.П. Финашутина, Е.В. Аксенова, И.Н. Солдатова, В.А. Мисюрин, А.Ю. Барышников // Российский биотерапевтический журнал. — 2015. — Т. 14. — № 4. — С. 19-30.

4. Лыжко, Н.А. Проявление цитостатического эффекта моноклональных антител к белку PRAME / Н.А. Лыжко, **В.А. Мисюрин**, Ю.П. Финашутина, Т.В. Ахлынина, Л.А. Кесаева, В.В. Тихонова, Н.Н. Касаткина, О.Н. Солопова, М.А. Барышникова, А.В. Мисюрин // Российский биотерапевтический журнал. — 2016. — Т. 15. — № 4. — С. 53-58.
5. Vartanian, A. Inhibitor of vasculogenic mimicry restores sensitivity of resistant melanoma cells to DNA-damaging agents / A. Vartanian, M. Baryshnikova, O. Burova, D. Afanasyeva, **V. Misyurin**, A. Belyavsky, Z. Shprakh // Melanoma research. 2017. — V. 27. — № 1. — P. 8-16.
6. Солодовник, А.А. Экспрессия раково-тестикулярных генов PRAME, NY-ESO1, GAGE1, MAGE A3, MAGE A6, MAGE A12, SSX1, SLLP1, PASD1 у больных множественной миеломой, их влияние на показатели общей выживаемости и скорость возникновения рецидива / А.А. Солодовник, А.С. Мкртчян, **В.А. Мисюрин**, В.В. Тихонова, Ю.П. Финашутина, Н.Н. Касаткина, О.Н. Солопова, О.М. Вотякова, О.Ю. Якимович, О.М. Володина, М.Ю. Кичигина, Е.Г. Медведовская, А.С. Антипова, И.З. Заводнова, А.А. Семенова, Г.Р. Аракелян, Ю.Е. Рябухина, О.А. Коломейцев, А.Д. Ширин, Е.А. Османов, А.В. Мисюрин // Успехи молекулярной онкологии. — 2018. — Т. 5. — № 2. — С. 62-70.
7. Захаров, С.Г. Экспрессия основных генов внешнего пути апоптоза у больных с впервые выявленным хроническим лимфолейкозом в сравнении с клиническими данными / С.Г. Захаров, А.К. Голенков, А.В. Мисюрин, Е.В. Катаева, А.А. Рудакова, М.А. Барышникова, Т.А. Митина, Е.В. Трифонова, Л.Л. Высоцкая, Ю.Б. Черных, Е.Ф. Клинушкина, К.А. Белоусов, Ю.П. Финашутина, **В.А. Мисюрин** // Российский биотерапевтический журнал. — 2018. — Т. 17. — № 2. — С. 41-46.
8. Финашутина, Ю.П. Иммунизация рекомбинантным белком PRAME замедляет рост PRAME-экспрессирующей опухоли у мышей / Ю.П. Финашутина, Н.А. Лыжко, Н.Н. Касаткина, Л.А. Кесаева, В.В. Тихонова, **В.А. Мисюрин**, М.А. Барышникова, А.В. Мисюрин // Российский биотерапевтический журнал. — 2018. — Т. 17. — № 3. — С. 36-43.

9. **Мисюрин, В.А.** Проблема химиорезистентности PRAME-экспрессирующей клетки меланомы и способ ее преодоления с помощью бортезомиба / В.А. Мисюрин, Д.В. Калениченко, А.А. Рудакова, Ю.П. Финашутина, Н.А. Лыжко, В.В. Тихонова, Л.А. Кесаева, О.Н. Солопова, А.Е. Мисюрина, А.Н. Великанов, М.А. Барышникова, А.В. Мисюрин // Успехи молекулярной онкологии. — 2018. — Т. 5. — № 4. — С. 131-134.

10. Вартамян, А.А. Резистентные к вемурафенибу клетки меланомы приобретают свойства мезенхимальных стволовых клеток / А.А. Вартамян, О.С. Бурова, Х.С. Вишнякова, И.В. Самойленко, **В.А. Мисюрин**, Е.Е. Егоров, О.О. Рябая, М.А. Барышникова // Успехи молекулярной онкологии. — 2019. — Т. 6. № 4. С. — 47-57.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы из:

государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского». Отзыв подписан Митиной Татьяной Алексеевной, доктором медицинских наук, отделение клинической гематологии и иммунотерапии, заведующая. В отзыве указано, что диссертационная работа Мисюрина В.А. соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168, от 20 марта 2021 года №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор достоин присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова». Отзыв подписан Курбатовой Екатериной Алексеевной, доктором медицинских наук, профессором, лаборатория терапевтических вакцин, заведующая. В отзыве

указано, что диссертационная работа Мисюрина В.А. по актуальности темы, объему исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168, от 20 марта 2021 года №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор достоин присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН» (Институт Полиомиелита). Отзыв подписан Пестовым Николаем Борисовичем, кандидатом химических наук, лаборатория клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов, старший научный сотрудник. В отзыве указано, что диссертационная работа Мисюрина В.А. полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168, от 20 марта 2021 года №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, достоин присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Отзывы целиком положительные, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Киселёв Сергей Львович, доктор биологических наук, профессор; Титов Константин Сергеевич, доктор медицинских наук, доцент и

Рукавицын Олег Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор выбраны из числа компетентных в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования. Оппоненты являются экспертами по специальности диссертации, имеющими публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие.

Ведущая организация федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации выбрана как центр, широко известный своими достижениями в области фундаментальной и трансляционной онкологии, способный определить научную и практическую значимость диссертации, и имеющий ученых, являющихся безусловными специалистами по теме защищаемой диссертации, что подтверждается наличием научных трудов по рассматриваемым в диссертации проблемам.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработана научная концепция драйверных свойств белка PRAME в канцерогенезе, позволяющая повысить качество прогноза у PRAME-экспрессирующих больных онкологическими заболеваниями.

Предложены новые подходы терапии PRAME-экспрессирующих заболеваний при помощи антисмыслового олигонуклеотида для нокаута *PHF8*, бортезомиба в сочетании с другими химиопрепаратами, и специфического моноклонального антитела.

Доказана перспективность внедрения методов оценки уровня экспрессии гена PRAME для предсказания результативности терапии больных фолликулярной лимфомой и Т-клеточными лимфомами.

Введено понятие белка PRAME- драйвера канцерогенеза.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения о драйверных свойствах белка PRAME, расширяющие представления о PRAME-опосредованных процессах опухолевой прогрессии и открывающие возможности PRAME-направленной терапии.

Применительно к проблематике диссертации результативно **использован** метод трансфекции экспрессируемой последовательности гена *PRAME* в неопухолевые клетки линии эмбриональных фибробластов WI-38 с последующим сравнением особенностей трансфицированной и «родительской» линии клеток.

Изложены убедительные доказательства *PRAME*-опосредованного увеличения скорости пролиферации неопухолевых клеток и резистентности опухолевых клеток к химиопрепаратам вне зависимости от их гистологического происхождения.

Раскрыты преимущества определения уровня экспрессии гена *PRAME* в крови, костном мозге и поражённых опухолью лимфатических узлах у больных фолликулярной лимфомой и Т-клеточными лимфомами, что позволяет точнее предсказать риск гибели больного фолликулярной лимфомой и результативность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у больных Т-клеточными лимфомами.

Изучены механизмы регуляции экспрессии гена *PRAME* и обнаружен новый активатор данного гена – белок PNF8. Установлено, что нокаут экспрессии PNF8 при помощи антисмыслового олигонуклеотида позволяет снизить активность *PRAME*. При снижении активности *PRAME*, достигнутой нокаутом PNF8 или применением бортезомиба увеличивается чувствительность опухолевых клеток к химиопрепаратам. Бортезомиб не оказывает эффекта в случаях низкого или нулевого уровня экспрессии *PRAME* в клетках.

Проведена модернизация структуры двух мышинных антител, распознающих белок *PRAME*. В новых антителах были заменены константные домены тяжёлых и лёгких цепей. При этом антитела сохранили свою специфичность к белку *PRAME*. Как мышинные, так и химерные антитела успешно снизили скорость роста ксенографта меланомы человека, полученного из линии клеток mel P.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Разработаны антисмысловые олигонуклеотиды, предназначенные для снижения уровня экспрессии гена *PRAME* посредством нокаута гена *PHF8*, а также химерные антитела, снижающие скорость роста *PRAME*-экспрессирующих ксенографтов. Представленные олигонуклеотиды и антитела могут быть переданы в доклинические исследования для установления их безопасных и эффективных концентраций, фармакокинетических и фармакодинамических показателей с последующей инициацией фазы I клинических исследований.

Определены граничные уровни экспрессии гена *PRAME*, позволяющие разделить выборку больных с различными онкологическими заболеваниями на *PRAME*-гиперэкспрессирующих и *PRAME*-низкоэкспрессирующих/*PRAME*-негативных. Прогноз в разных группах больных различается, что позволит клиницисту модифицировать тактику лечения.

Создана система рекомендаций терапии *PRAME*-экспрессирующих онкологических заболеваний.

Представлены предложения по использованию бортезомиба в качестве препарата, дополняющего существующие протоколы терапии цисплатином, цитарабином, мелфаланом, доксорубицином и циклофосфамидом для *PRAME*-гиперэкспрессирующих больных онкологическими заболеваниями и предложения по использованию моноклональных лекарственных антител для иммунотерапии данных больных.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

Работа выполнена на высоком методологическом уровне, на достаточном по количеству наблюдений клиническом материале, использованные методики соответствовали поставленным задачам.

Теория драйверных свойств белка *PRAME* разработана на основании проверяемых данных мировой литературы об ухудшении клинического исхода у *PRAME*-позитивных больных раком молочной железы, раком почек, хроническим миелоидным лейкозом и некоторыми другими заболеваниями, на данных о взаимодействии белка *PRAME* и комплекса Cul2-убиквитинлигазы и на озвученных в литературе предположениях о связи экспрессии *PRAME* и

химиорезистентности. Теория подтверждена полученными автором результатами лабораторных и клинических исследований, показавших приобретение клеткой PRAME-опосредованной химиорезистентности и увеличенной скорости пролиферации.

Идея использования белка PRAME в качестве мишени **базируется** на известном в клинической практике свойстве «драйвера-мишени», характерном для химерных белков PML-RAR α и BCR-ABL. Появление этих белков в нормальной гемопоэтической клетке инициирует развитие острого промиелоцитарного и хронического миелоидного лейкоза, соответственно. Для терапии данных заболеваний используются ретиноиды и ингибиторы киназы ABL, причём эффективность ингибиторов ABL проявляется даже в монотерапии. Таким образом, идея использования драйверного белка PRAME в качестве терапевтической мишени созвучна мировому опыту и подтвердилась результатами экспериментов, представленными в настоящем исследовании.

Установлено соответствие полученных данных о драйверных свойствах белка PRAME контексту мировой литературы.

Использованы следующие методики анализа данных: критерий χ^2 , корреляционный анализ Пирсона, критерий Манна-Уитни, критерий Уилкоксона для парных измерений, медианный тест, лог-ранговый критерий, построение линейной регрессионной модели с пошаговой селекцией незначущих признаков и кластерный анализ, расчёт комбинаторного индекса химиопрепаратов и расчёт индекса торможения роста опухоли. Перечисленные статистические критерии и методы применялись с учётом размеров выборок и особенностей их распределения.

Личный вклад соискателя состоит в планировании всех этапов диссертационной работы, проведении анализа отечественной и зарубежной литературы по данной научной тематике, непосредственном сборе данных об исследованных больных, сборе лабораторных данных, молекулярном моделировании и статистическом анализе собранных данных. Автором самостоятельно интерпретированы полученные данные и подготовлены основные

публикации и прочитаны доклады по материалам, полученным во время выполнения данной работы.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы и высказаны критические замечания.

Соискатель Мисюрин Всеволод Андреевич ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы, согласился с замечаниями и привел собственную аргументацию.

На заседании 03 марта 2022 года диссертационный совет принял решение: за новое решение научной проблемы – изучено влияние экспрессии PRAME на прогноз у больных онкологическими и онкогематологическими заболеваниями и предложены подходы терапии PRAME-гиперэкспрессирующих опухолевых заболеваний, имеющей значение для онкологии, присудить Мисюрину Всеволоду Андреевичу ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия «биологические науки», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 12 против – 5, недействительных бюллетеней – нет.

Председательствующий
заместитель председателя
диссертационного совета,
д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН

Заридзе Д.Г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.м.н., профессор
3 марта 2022 г.



Кадагидзе З.Г.