

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Федерального  
государственного бюджетного учреждения

«Национальный медицинский  
исследовательский центр радиологии»

Министерства здравоохранения

Российской Федерации

доктор медицинских наук, профессор,  
академик РАН, заслуженный врач России

Каприн А.Д.

« 2022 г.



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский исследовательский центр радиологии»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертацию  
Мисюрина Всеволода Андреевича «PRAME – драйверный белок  
канцерогенеза и мишень противоопухолевой терапии», представленную  
к защите на соискание учёной степени доктора биологических наук по  
специальности 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия**

#### **Актуальность темы исследования**

Изучение тонких механизмов канцерогенеза с использованием методов молекулярной биологии и молекулярной генетики является актуальной задачей современных фундаментальных исследований, имеющей несомненную практическую значимость. Подобные исследования открывают новые патогенетические подходы к лечению злокачественных новообразований, включая выявление новых мишеней для таргетной терапии.

Представленная к защите диссертационная работа выполнена в рамках указанной области исследований и посвящена изучению роли в канцерогенезе белка PRAME и разработке способов его инактивации.

PRAME относится к классу раково-тестикулярных белков, активный только в опухолевых клетках и неактивный в соматических клетках здорового человека, стимулирует экспрессию генов, ответственных за пролиферацию и блокирование клеточной дифференцировки, а также инактивирует экспрессию проапоптотического гена *TRAIL*. Активность PRAME в опухолевых клетках наблюдается примерно у каждого второго больного онкологическим заболеванием. Экспрессия гена *PRAME* ассоциирована с неблагоприятным клиническим прогнозом при раке молочной железы, раке почек, раке мочевого пузыря, острых лимфобластных лейкозах и некоторых других онкологических заболеваниях. Наибольшие уровни экспрессии *PRAME* характерны для поздних стадий онкологического заболевания.

Ряд биологических особенностей белка свидетельствуют о его «драйверной» функции в процессе канцерогенеза. Предполагают, что PRAME-опосредованное увеличение жизнеспособности способствует клональной экспансии опухолевых клеток. Однако данных, которые показали бы достаточность фактора экспрессии *PRAME* для увеличенной скорости пролиферации или приобретения опухолевой клеткой химиорезистентности, не было получено, и долгое время aberrантная экспрессия *PRAME* считалась следствием глубоких изменений в регуляции экспрессии генов. Известны попытки создания методов иммунотерапии с использованием антител или CAR-T-клеток, нацеленных на PRAME, а также PRAME-содержащих противоопухолевых вакцин, но полученные результаты оставляли неясным, может ли PRAME служить мишенью для эффективного терапевтического воздействия на опухолевые клетки. Возможности воздействовать на клетки

PRAME-экспрессирующих опухолей при помощи ингибирующих малых молекул не исследовалась, поскольку у белка PRAME нет ферментативного центра.

В настоящее время существует достаточно многочисленная группа онкологических больных, опухоли которых экспрессируют PRAME. Эти больные часто не получают специфической помощи, оставаясь при этом наиболее сложными для лечения, и имеющими наихудшие клинические исходы. С этих позиций, установление значимости белка PRAME для жизнеспособности опухолевых клеток и разработка PRAME-опосредованных способов воздействия на эти клетки представляет безусловный интерес. Таким образом, диссертационное исследование Мисюрина В.А., посвящённое изучению драйверных свойств и способов терапии при PRAME-экспрессирующих злокачественных опухолях, решает актуальные научные и клинические задачи.

### **Связь темы диссертационной работы с планом научных исследований**

Диссертационная работа Мисюрина В.А. «PRAME – драйверный белок канцерогенеза и мишень противоопухолевой терапии» выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация написана на 228 страницах печатного текста, состоит из глав введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов, обсуждения результатов, заключения и выводов. Диссертация иллюстрирована 21 таблицей и 69 рисунками. Список литературы включает



300 публикаций отечественных и зарубежных авторов, из которых 17% составляют источники, опубликованные за последние 5 лет.

Цель и задачи сформулированы логично, дизайн экспериментов и полученные результаты направлены на достижение цели. Проведён тщательный анализ результатов и их сопоставление с данными мировой литературы по теме исследования.

Выводы диссертации обоснованы полученными данными, аргументированы и полностью соответствуют цели и задачам.

Автореферат полностью отражает содержание и выводы диссертации.

### **Научная новизна исследования**

Впервые собраны убедительные данные, характеризующие белок PRAME как «драйвер» онкологического процесса. Показаны эффекты, связанные с экспрессией *PRAME* в неопухолевой клетке – это увеличение скорости пролиферации, способности к выживанию и формированию колоний в полутвёрдом матриксе, а также росту в условиях сниженного количества или отсутствия сыворотки в культуральной среде. Показана прямая корреляция между резистентностью опухолевых клеток к химиопрепаратам и уровнем экспрессии *PRAME*. Выявлена связь между экспрессией *PRAME* и неблагоприятным прогнозом при фолликулярной лимфоме и Т-клеточных лимфомах. Установлена RNF8-опосредованная регуляция экспрессии белка PRAME в клетках меланомы. Показан синергизм действия бортезомиба с цисплатином, цитарабином, доксорубицином, мелфаланом и циклофосфамидом. Разработаны химерные антитела для терапии PRAME-положительных новообразований.



## Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Для подтверждения драйверных свойств белка PRAME использовалась неопухолевая клеточная линия WI38 с трансфицированным в неё вектором, несущим последовательность гена *PRAME*. Гиперэкспрессия *PRAME* в клетках WI38 привела к глубоким изменениям в паттерне экспрессии множества других генов, в том числе к активации экспрессии генов группы *MAGE*, известных как драйверы канцерогенеза. Эксперименты с полученной клеточной линией проводились с использованием как классических культуральных методик, так и системы xCELLigence и высокопроизводительного секвенирования.

Ассоциация экспрессии *PRAME* с химиорезистентностью подтверждена на различных линиях опухолевых клеток, отличающихся как по происхождению, так и по уровню экспрессии *PRAME*. Показано, что резистентность к химиопрепаратам *in vitro* не зависит от гистологического типа клеток, но прямо связана с уровнем экспрессии в них данного гена.

Драйверные свойства PRAME подтверждены биоинформационными и статистическими исследованиями на репрезентативных выборках онкологических больных.

С применением методов биоинформатики изучен промотор гена *PRAME* и установлены белки, которые могут отвечать за активацию экспрессии *PRAME*. Из ряда белков-кандидатов, активирующих PRAME, были исключены все, кроме RNF8. Связь между RNF8 и PRAME подтверждена методом ПЦР в реальном времени, а также нокаутом RNF8 при помощи антисмыслового олигонуклеотида.

Анализ данных литературы позволил автору предположить, что возможным подходом терапии PRAME-экспрессирующих онкологических заболеваний может быть добавление бортезомиба к применяющимся в

настоящее время химиопрепаратам. Доказан синергизм бортезомиба с цисплатином, цитарабином, доксорубицином, мелфаланом и циклофосфамидом, который проявляется на PRAME-гиперэкспрессирующих линиях, но отсутствует в случае PRAME-негативных линий.

В работе были испытаны химерные антитела, распознающие PRAME. Эти антитела позволили затормозить рост PRAME-экспрессирующих ксенографтов, что открывает перспективы их дальнейших доклинических и клинических исследований.

В экспериментальных исследованиях использованы адекватные контроли, данные обработаны с применением корректных параметрических и непараметрических статистических критериев. Всё сказанное выше позволяет считать полученные результаты достоверными, а выводы – обоснованными.

### **Значимость для развития соответствующей отрасли науки**

Наиболее значимым результатом работы является надёжно установленный факт драйверных свойств белка PRAME. Это позволяет предполагать, что PRAME-направленные способы противоопухолевой терапии будут эффективны против PRAME-экспрессирующих клеток не только потому, что не разрушают здоровые клетки, но также потому, что лишают опухолевую клетку преимуществ, связанных с экспрессией в ней белка PRAME, драйвера канцерогенеза.

Автором предложено три возможных направления таргетной терапии для случаев PRAME-экспрессирующих новообразований. Испытаны методы блокирования экспрессии PNF8, что снижает активность PRAME и увеличивает чувствительность опухолевых клеток к химиопрепаратам. Показана возможность применения бортезомиба в сочетании с другими химиопрепаратами, что позволит модифицировать существующие протоколы

лекарственного лечения. Созданы химерные антитела, распознающие PRAME-экспрессирующие клетки. Эти антитела могут быть либо модифицированы до гуманизованных, либо, после соответствующих испытаний, внедрены в клиническую практику для лечения больных с PRAME-экспрессирующими опухолями.

### **Характеристика публикаций автора по теме диссертации**

Основные положения и результаты диссертации Мисюрина В.А. отражены в 18 печатных работах, из них – 10 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных перечнем ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

### **Заключение**

Диссертационная работа Всеволода Андреевича Мисюрина «PRAME – драйверный белок канцерогенеза и мишень противоопухолевой терапии» 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 требованиям «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого 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 г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени



доктора наук, а соискатель Мисюрин Всеволод Андреевич достоин присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Диссертация Мисюрина В.А. «PRAME – драйверный белок канцерогенеза и мишень противоопухолевой терапии» обсуждена на заседании отделения прогноза эффективности консервативного лечения МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 02 февраля 2022 г., протокол №4.

Заведующая отделением прогноза  
эффективности консервативного лечения  
МНИОИ им. П.А. Герцена  
– филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России,  
доктор биологических наук, профессор  
(14.00.14 – Онкология)

Сергеева Наталья Сергеевна

Подпись доктора биологических наук, профессора Сергеевой Натальи Сергеевны удостоверяю  
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России



Жарова Елена Петровна

«10» февраля 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 125284, г. Москва, 2-ой Боткинский проезд, д. 3

Тел.: +7(495)945-19-35

E-mail: [mnioi@nmicr.ru](mailto:mnioi@nmicr.ru)

Официальный сайт: <https://www.nmicr.ru/>