

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623409>

Оценка эффективности противоопухолевых вакцин на основе фотоиндуцированных клеток глиомы GL261 с применением фотосенсибилизаторов из группы тетра(арил)тетрацианопорфиразнов с разными арильными заместителями

Т.С. Редькин^{1*}, Е.Е. Слепцова¹, М.О. Савюк^{1, 2}, Е.В. Кондакова¹, М.В. Ведунова¹,
В.Д. Турубанова¹, Д.В. Крысько¹⁻³

¹ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Российская Федерация;

² Лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT), факультет анатомии и реабилитации человека, Гентский университет, Гент, Бельгия;

³ Институт исследований рака, Гент, Бельгия

АННОТАЦИЯ

Глиобластомы — солидные опухоли головного мозга, тяжело поддающиеся традиционным методам лечения: хирургической резекции, лучевой терапии и химиотерапии. Они не гарантируют полного излечения от онкопатологии и имеют множество побочных эффектов. Темозоломид (ТМЗ) — единственный химиотерапевтический препарат, одобренный для лечения первой линии. Его применение увеличивает медиану общей выживаемости с 15 до 17 месяцев. Инновационные разработки не показывают эффективности в широкой клинической практике, что объясняется гетерогенностью глиом и их иммуносупрессивным микроокружением.

Концепция иммуногенной клеточной смерти (ICD) подразумевает активацию иммунного ответа, направленного на малигнизированные клетки, как результат испускания мёртвыми/умирающими клетками молекул — паттернов, ассоциированных с повреждением (DAMPs), способных активировать противоопухолевый иммунный ответ. Одним из методов, способных вызвать ICD, является фотодинамическая терапия (ФДТ).

Внедрение принципов иммуногенной клеточной смерти в иммунотерапию глиомы позволит запускать специфические иммунные реакции против гетерогенной опухоли. Одним из типов иммунотерапии в контексте ICD может стать дендритноклеточная вакцинация.

Цель работы. Оценка эффективности вакцинации мышей на основе иммуногенно-убитых фотоиндуцированных клеток глиомы GL261 и дендритноклеточной вакцины в ортотопической модели *in vivo* в профилактическом режиме. Клеточная линия глиомы (GL261) культивируется в полной питательной среде RPMI (10% сыворотки крови, L-глутамин, пенициллин 1%, стрептомицин 1%) в CO₂-инкубаторе. Для фотодинамического воздействия используются фотосенсибилизаторы из группы тетра(арил)тетрацианопорфиразнов с 9-фенантренилом в качестве бокового заместителя (pz I) и с 4-(4-фторбензиокси)фенилом в качестве бокового заместителя (pz III). Клеточная линия GL261 инкубируется в бессывороточном растворе выбранного порфираза в течение 4 часов, затем питательная среда заменяется на полную, клетки подвергаются фотодинамической активации в дозе 20 Дж/см² и далее инкубируются 24 часа в CO₂-инкубаторе.

Иммунизация мышей предполагает подкожное введение лизатов фотоиндуцированных клеток глиомы GL261 дважды, с разницей введения 7 дней. Спустя неделю после последней иммунизации жизнеспособные клетки глиомы GL261 вводятся в головной мозг на стереотаксической установке по выбранным координатам. В течение 25 дней проводится измерение неврологического статуса животных, на 23 день проводится визуализация опухолевого очага при помощи МРТ. Выживаемость экспериментальных групп составила 100% («pz III») или значительно превышала («pz I») выживаемость в контрольных группах, неврологическая симптоматика либо не проявлялась («pz III»), либо была значительно ниже («pz I»), нежели в контрольных группах животных.

Следующим этапом работы стало создание дендритноклеточной вакцины на основе фотоиндуцированных клеток глиомы GL261. Стволовые клетки красного костного мозга выделяются из бедренных и берцовых костей мышей

Рукопись получена: 24.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

C57BL/6J и дифференцируются в течение 9 дней в среде RPMI с добавлением 5% эмбриональной бычьей сыворотки, 20 нг/мл GM-CSF, 1% L-глутамин, 1 мм пирувата натрия, 50 мкм β-меркаптоэтанол, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/л стрептомицина. Культуральная среда обновляется на 3 и 6 дни. В собранных клеточных лизатах проводится измерение уровня белка. К суспензии дендритных клеток добавляется 2 мг протеина, спустя 90 минут добавляется 0,5 мкг/мл липополисахарида на 24 часа. Двухкратная иммунизация животных дендритноклеточной вакциной проводится внутрибрюшинно с разницей введения в 7 дней. Спустя неделю после последней иммунизации на стереотаксической установке интракраниально вводятся жизнеспособные клетки GL261. В течение 25 дней измеряется неврологический статус животных, на 23 день для визуализации и оценки опухолевого очага проводится МРТ. Выживаемость животных в экспериментальных группах не имела значимых отличий от выживаемости в контрольных группах, однако проявления неврологической симптоматики в опытных группах были значительно меньше, опухолевый очаг визуализировался в меньшей степени и не имел участков некроза.

Ключевые слова: иммуногенная клеточная смерть; фотодинамическая терапия; иммунотерапия; глиома; глиобластома.

Как цитировать:

Редькин Т.С., Слепцова Е.Е., Савюк М.О., Кондакова Е.В., Ведунова М.В., Турубанова В.Д., Крысько Д.В. Оценка эффективности противоопухолевых вакцинаций на основе фотоиндуцированных клеток глиомы GL261 с применением фотосенсибилизаторов из группы тетра(арил)тетрацианопорфиринов с разными арильными заместителями // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 675–678. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623409>

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-25-00716, <https://rscf.ru/project/22-25-00716/>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* Т.С. Редькин; адрес: Российская Федерация, 603950, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23; e-mail: big.t.nsdav@outlook.com

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623409>

Efficacy of antitumor vaccines based on photoinduced GL261 glioma cells using photosensitizers from the group of tetra(aryl)tetracyanoporphyrases with different aryl substituents

T.S. Redkin^{1*}, E.E. Sleptsova¹, M.O. Savyuk^{1,2}, E.V. Kondakova¹, M.V. Vedunova¹, V.D. Turubanova^{1,2}, D.V. Krysko¹⁻³

¹ Lobachevsky State University, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

² Cell Death Investigation and Therapy (CDIT) Lab, Department of Human Structure and Repair, Ghent university, Ghent, Belgium;

³ Cancer Research Institute, Ghent, Belgium

ABSTRACT

Glioblastomas are solid tumors in the brain that pose a challenge for traditional treatments like surgery, radiation therapy, and chemotherapy. Complete cures are not guaranteed, and these treatments cause numerous side effects. First-line treatment approval has only been granted to Temozolomide (TMZ), the sole chemotherapy drug available. Using TMZ increases the median overall survival from 15 to 17 months. In general clinical practice, innovative interventions have not demonstrated efficacy due to glioma heterogeneity and their immunosuppressive microenvironment.

Immunogenic cell death (ICD) activates an immune response against cancer cells by emitting damage-associated molecular patterns (DAMPs) upon cell death/dying. The DAMPs activate an anti-tumor immune response. Photodynamic therapy (PDT) can induce ICD.

Integrating the principles of immunogenic cell death into glioma immunotherapy could elicit a targeted immune response against the diverse tumor. Vaccination with dendritic cells represents a promising approach for immunotherapy.

The goals of this research are to evaluate the efficacy of a prophylactic vaccine using immunogenically-photoinduced glioma GL261 cells and a dendritic cell vaccine in an orthotopic *in vivo* model.

The glioma cell line (GL261) is cultured in RPMI medium supplemented with 10% serum, L-glutamine, 1% penicillin, and 1% streptomycin in a CO₂ incubator. Photodynamic treatment involves using photosensitizers from the tetra(aryl)tetracyanoporphyrazine group with 9-phenanthrenyl (pz I) or 4-(4-fluorobenzyloxy)phenyl (pz III) as side substituents. The GL261 cell line is incubated in a serum-free solution containing a selected porphyrazine for four hours. Subsequently, the solution is exchanged with complete medium and the cells are activated through photodynamic treatment at a dose of 20 J/cm². The cells are then further incubated for 24 hours in a CO₂ incubator.

Immunizing mice includes subcutaneously injecting photoinduced GL261 glioma cell lysates twice with a 7-day interval. One week after the final immunization, viable GL261 glioma cells are injected into the brain using a stereotaxis frame. Measuring the neurological status of the animals occurs for 25 days, and tumor localization and volume are detected on day 23 by MRI. The survival rate of the experimental groups was 100% (pz III) or significantly higher (pz I) than that of the control groups. Additionally, neurological symptoms were either not identified (pz III) or were significantly lower (pz I) compared to the control animal groups experienced.

The dendritic cell vaccine was based on photoinduced GL261 glioma cells. The femur and tibia bones of C57BL/6J mice were used and differentiated for 9 days in RPMI medium to isolate bone marrow stem cells. The medium was supplemented with 5% fetal bovine serum, 20 ng/ml GM-CSF, 1% L-glutamine, 1mM sodium pyruvate, 50 µM β-mercaptoethanol, 100 units/ml penicillin, and 100 µg/L streptomycin. The culture medium was renewed on days 3 and 6 to maintain stability. Protein levels are quantified in cell lysates collected. 2 mg of protein is added to a dendritic cell suspension, and after 90 minutes, 0.5 µg/ml lipopolysaccharide is added for 24 hours. Intraperitoneal dendritic cell vaccine immunization on animals is conducted, with injections 7 days apart. One week post-last immunization, viable GL261 cells are intracranially injected via a stereotactic frame. The neurological status of the animals was monitored for 25 days, and an MRI was conducted on day 23 to evaluate the brain tumor. The survival rate of animals in the experimental groups did not significantly differ from those in the control groups. However, the experimental groups exhibited significantly lower neurological symptoms, and the tumor was visualized without any areas of necrosis, with a smaller volume.

Keywords: immunogenic cell death; photodynamic therapy; immunotherapy; glioma; glioblastoma.

Received: 24.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

To cite this article:

Redkin TS, Sleptsova EE, Savyuk MO, Kondakova EV, Vedunova MV, Turubanova VD, Krysko DV. Efficacy of antitumor vaccines based on photoinduced GL261 glioma cells using photosensitizers from the group of tetra(aryl)tetracyanoporphyrases with different aryl substituents. *Genes & Cells*. 2023;18(4):675–678. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623409>

ADDITIONAL INFORMATION

Funding sources. The research was supported by Russian Science Foundation, grant No. 22-25-00716, <https://rscf.ru/project/22-25-00716/>

AUTHORS' CONTACT INFO

* T.S. Redkin; address: 23 Gagarin avenue, 603022 Nizhny Novgorod, Russian Federation; e-mail: big.tnsdav@outlook.com