

**Анализ популяций иммунных клеток при противоопухолевом  
иммунотерапевтическом воздействии в мышинной опухолевой модели СТ26-  
Balb/c**

**Научный руководитель – Плешкан Виктор Викторович**

**Белоусова Арина Александровна**

*Студент (бакалавр)*

Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»,  
Инженерно-физический институт биомедицины, Москва, Россия

*E-mail: arina1belousova@gmail.com*

Эффективная противоопухолевая иммунотерапия может способствовать регрессии опухоли и основана на инициации и самоподдержании противоопухолевого иммунного цикла [1]. В случае полной регрессии опухоли анализ популяций иммунных клеток инфильтрующих опухоль становится невозможным, в связи с чем возникает необходимость анализа циркулирующих иммунных клеток. Это необходимо для определения популяций, имеющих дифференциальную представленность в группах с разным ответом — у животных с полной регрессией опухоли и с её пролиферацией. Для этих целей возможно использование метода проточной цитометрии. Сложность заключается в том, что НК-клетки мышей, в отличие от человеческих, не содержат надежного селективного маркера CD56 [2].

Разработана панель для окраски иммунных клеток крови, позволяющая разделить функционально активные и не активные Т и НК-клетки. Были использованы следующие антитела в сочетании со специально подобранными флуоресцентными метками, которые окрашивали следующие популяции: CD3 (Т-клетки), CD8a (цитотоксические Т-клетки), CD4 (Т-хелперы), NKG2D (НК-клетки и активированные Т-клетки), CD107a (цитотоксические НК и Т-клетки). Панель антител проверена на аликвотах крови и на мышинных спленоцитах, активированных липополисахаридом *in vitro*. Далее проводили анализ пулов клеток крови мышей линии Balb/c после проведения иммунотерапевтического воздействия на модели опухоли СТ26. Протокол подготовки образцов крови, отобранных из ретроорбитального синуса глаза мыши, включила в себя лизис эритроцитов и последующее окрашивание панелью антител. Затем проводили цитометрический анализ на приборе BD FACS AriaIII с заранее подобранными значениями напряжения и компенсации используемых лазеров и каналов детекции флуоресцентного сигнала. Последующие расчеты и гейтирование были выполнены в программе FCS Express 7, что позволило выявить относительные количественные характеристики пулов иммунных клеток.

Проведенный анализ иммунных популяций клеток крови у неответивших на терапию особей показал преобладание цитотоксических НК-клеток и Т-хелперов, а также существование корреляции между этими популяциями. У животных с полным ответом относительные значения цитотоксических Т-клеток оказались повышенными относительно контролей. Спустя 3 месяца после регрессии опухоли уровень всех рассмотренных ранее популяций клеток выравнивался относительно контролей.

Таким образом, нами проведено определение функционально активных и неактивных клеточных популяций иммунной системы в сингенной опухолевой модели мыши СТ26-Balb/c после иммунотерапевтического воздействия.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 24-24-00476.

**Источники и литература**

- 1) Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle // Immunity. 2013. V. 39(1). P.1-10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012
- 2) Liu. S., Galat. V., Galat. Y. [et al.]. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development // J Hematol Oncol. 2021. V. 14, 7. DOI: 10.1186/s13045-020-01014-w