

Научная платформа «иммунология»

Бурное развитие иммунологии в последние десятилетия позволило выявить ключевую роль иммунологических нарушений в патогенезе ряда заболеваний, традиционно считавшихся объектом внимания различных врачебных специальностей. Многочисленные наблюдения свидетельствуют, что заболевания с иммунологическим компонентом в патогенезе характеризуются хронизацией и тяжелым течением, часто резистентны к традиционной терапии и имеют высокий риск развития осложнений.

В последние годы существенный прогресс достигнут в области исследования механизмов врожденного иммунитета. Было установлено, что эта система обеспечивает не только первую, быструю реакцию на нарушение иммунного гомеостаза, но и последующую поляризацию адаптивного иммунного ответа с формированием протективного иммунитета. Эти открытия позволили переосмыслить роль адьювантов в вакцинных препаратах, сформулировать концепцию «молекулярных адьювантов» и напрямую подойти к методологии создания вакцин с заданными свойствами.

Указанные достижения иммунологии привели также к необходимости дальнейшего изучения различного рода иммунопатологических состояний на молекулярном и клеточном уровне с целью создания в будущем новых методов их диагностики и терапии.

Последовательное развитие фундаментальных иммунологических направлений позволит разработать новые методы иммунодиагностики и иммунотерапии целого ряда тяжелых воспалительных заболеваний человека, обусловленных как первичными дефектами в иммунной системе, так и связанных вторично с сопутствующей иммунопатологией.

Основными практическими результатами научной платформы будут разработка иммунобиологических лекарственных средств, технологии и наборы для ПЦР диагностики, в том числе технологии и наборы для глубокого анализа репертуаров антител и Т клеточных рецепторов, наборы (в том числе тест-полоски, микрочипы) для ИФА, фармацевтические субстанции и лекарственные средства.

Будут исследованы сигнальные пути активации иммунокомпетентных клеток при развитии иммунного ответа, продолжено изучение цитокиновой сети и ее роли в регуляции иммунитета.

Будут развиваться исследования репертуаров антител и Т клеточных рецепторов человека и модельных животных с использованием технологий массивированного секвенирования нового поколения.

Продолжится изучение дифференцировки и кооперации различных субпопуляций клеток, вовлеченных в иммунный ответ или обеспечивающих развитие иммунологической толерантности, молекулярно-генетических и клеточных механизмов резистентности и формирования протективного иммунитета к инфекционным заболеваниям.

Будет продолжена разработка методов получения иммуноглобулинов с заданными свойствами (функциональными и антигенспецифическими).

Будет продолжено изучение роли врожденного иммунитета в поляризации адаптивного иммунного ответа, роль PAMP (pathogen associated molecular patterns), их рецепторов (PRR) и других структур в этом процессе и в обеспечении естественной резистентности организма к патогенам.

Будет разработан комплекс показателей (критериев), позволяющих дифференцировать безопасную и потенциально опасную для здоровья продукцию и оценить иммунный/интерфероновый статус пациента с целью назначения адекватной терапии и прогнозирования рисков развития профессиональных и производственно обусловленных заболеваний.

Лечение аутоиммунных ревматических заболеваний (P3)

Иммуновоспалительные (аутоиммунные) заболевания относятся к числу наиболее тяжелых болезней человека, их частота в популяции приближается к 10%. Наиболее яркими представителями этой группы заболеваний являются аутоиммунные ревматические болезни, поражающие взрослых и детей, в первую очередь ревматоидный

артрит, а также ювенильные артриты, спондилоартриты и системные заболевания соединительной ткани. Актуальность проблемы аутоиммунных ревматических болезней для современной медицины определяется их высокой распространенностью в популяции, трудностью ранней диагностики, быстрым развитием инвалидности и неблагоприятным жизненным прогнозом.

Теоретическим основанием для объединения этих заболеваний в один класс является не только сходство клинических проявлений, отражающее системное воспаление внутренних органов, но и наличие общих иммуногенетических факторов предрасположенности и патогенетических механизмов, связанных с нарушениями в системе иммунитета.

Такие аутоиммунные ревматические заболевания, как ревматоидный артрит и системная красная волчанка, - не только наиболее тяжелые хронические заболевания человека, но и «модели» для изучения фундаментальных механизмов патогенеза и подходов к фармакотерапии других распространенных форм неинфекционных заболеваний. Именно для лечения этих заболеваний в начале XXI века специально разработано более 10 инновационных генно-инженерных биологических препаратов (моноклональные антитела и рекомбинантные белки), ингибирующих активность важнейших «провоспалительных» цитокинов - фактора некроза опухоли (ФНО)-а (5 препаратов), интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-1, ИЛ-17, ИЛ-12/23, а также патологическую активацию Т - лимфоцитов и В - лимфоцитов, многие из которых успешно применяются в клинической практике во всем мире, в том числе в России.

Наряду с генно-инженерными биологическими препаратами, завершаются клинические испытания группы химически синтезированных пероральных противовоспалительных лекарственных средств нового поколения (так называемые малые молекулы - small molecules), модулирующие внутриклеточную сигнализацию в иммунокомпетентных клетках.

Анализ основных направлений развития ревматологии в мире свидетельствует об огромной актуальности исследований по направлениям, связанным с расширением исследований по поиску биомаркеров предрасположенности и ранней диагностики аутоиммунных заболеваний, совершенствованием подходов к фармакотерапии аутоиммунных заболеваний генно-инженерными биологическими препаратами и другими препаратами «таргетной» терапии и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови, проведением многоцентровых клинических испытаний инновационных противовоспалительных препаратов и биоэквивалентных форм (biosimilars) генно-инженерных биологических препаратов, расширением российского (on-line) регистра пациентов, страдающих аутоиммунными заболеваниями.

Изучение факторов этиологии и патогенеза РЗ

Важнейшим направлением является исследование репертуаров Т клеточных рецепторов больных ревматическими заболеваниями, в том числе изучение степени вовлеченности клональных популяций Т лимфоцитов в возникновение и развитие ревматических заболеваний, поиск характерных для ревматических заболеваний вариантов Т клеточных рецепторов как мишеней для диагностики и индивидуальной терапии, изучение влияния на репертуары Т клеточных рецепторов иммуномодулирующих и иммуносупрессивных терапий ревматических заболеваний.

В плане разработки основ предиктивной медицины в области ревматологии интерес представляет изучение генетических маркеров предрасположенности к остеопорозу (анализ полиморфизмов в генах лактазы, коллагена, кальцитонина); генетических факторов, влияющих на переносимость лекарственных препаратов при ревматических заболеваниях (полиморфизмы в генах системы детоксикации ксенобиотиков и др.).

В последние годы появились данные о роли жировой ткани в патогенезе суставных заболеваний. Показано, что жировая ткань является эндокринным органом и источником

биологически активных веществ, таких как адипокины. К ним относятся лептин, адипонектин, резистин. Адипокины могут влиять на ряд процессов, таких как метаболизм липидов и глюкозы, ангиогенез, костный обмен, обмен хондроцитов, репродуктивную функцию. Кроме того, адипокины могут влиять на выработку других активных компонентов гомеостаза суставного хряща, таких как свободные жирные кислоты, инсулиноподобные факторы роста, провоспалительные цитокины, простагландины, ингибитор активации плазминогена. Все эти компоненты могут активировать дегенеративные процессы в суставе и вызывать в нем воспалительные реакции. Адипокины регулируют иммунные, воспалительные процессы, и им по данным зарубежной литературы отводят главную роль в воспалении суставов. Предполагается получить данные об уровне адипонектина в сыворотке крови, определить связь между уровнем адипонектина сыворотки крови и клиническими проявлениями заболеваний.

Перепрограммирование иммунной системы

Лечение хронических и опухолевых заболеваний, а также профилактика инфекций, для которых еще не разработаны эффективные вакцинные препараты, возможны с помощью перепрограммирования собственной иммунной системы организма.

Будет разработана методика генетической перестройки взятых у пациента его собственных лимфоидных клеток и их активации определенными антигенами. В условиях эксперимента эта методика оказалась безопасной и эффективной. В ближайшем будущем она позволит брать у пациента Т-, Вили антигенпрезентирующие клетки, генетически перепрограммировать их в лаборатории в искусственной культуре клеток, затем, получив достаточное количество новых измененных и активированных субпопуляций, пересаживать обратно в организм пациента, обеспечивая создание протективного иммунитета. Этот подход, по-видимому, может быть использован и для лечения аутоиммунных заболеваний.

Существенный потенциал для обновления и коррекции иммунной системы также заложен в технологиях аутологичной и аллогенной трансплантации немодифицированных лимфоцитов и стволовых клеток крови.

Новый класс лекарственных средств на основе рекомбинантных терапевтических антител

Рекомбинантные моноклональные антитела (мАт) представляют собой новый класс терапевтических препаратов, обладающих значительным потенциалом в борьбе с вирусными инфекциями. Значительный прогресс достигнут в разработке терапевтических мАт к респираторно-синцитиальному вирусу, вирусам гриппа А, вируса лихорадки Западного Нила и др. В то же время относительно ВИЧ-инфекции или вирусного гепатита С таких успехов пока не достигнуто. Главной проблемой создания терапевтических мАт против этих инфекций является гетерогенность вирусов и их высокая изменчивость. Генно-инженерные методы позволяют модифицировать мАт, изменять их эффекторные свойства, создавать биспецифические мАт.

Новые перспективы в этой области открывают ДНК-технологии. Одним из направлений в получении мАт человека является создание трансгенных животных, у которых собственные гены, кодирующие иммуноглобулины, заменены на человеческие. Однако не все желаемые антитела можно получать таким образом из-за токсичности ряда антигенов для организма животного.

Вместе с тем очевидно, что полностью человеческие рекомбинантные антитела являются наиболее предпочтительными. Для их создания объединяют переменные домены антител человека, обладающих целевой активностью, с константными доменами иммуноглобулинов человека нужного изотипа. Такие антитела синтезируют в

эукариотических клетках, обеспечивающих «правильную» конформацию и гликозилирование молекул иммуноглобулинов. Ключевой стадией в создании полноразмерных антител человека является получение вариабельных доменов, отвечающих за специфичность антитела, его аффинность и биологические свойства. Одним из способов их получения является отбор вариабельных доменов из комбинаторных фаговых библиотек мини-антител. Каждый бактериофаг в такой библиотеке экспонирует на своей поверхности только одно антитело уникальной специфичности (фаговое антитело). Репертуар антител в таких библиотеках может достигать 10^{12} различных мини-антител. В ходе процедуры аффинной селекции можно существенно обогатить исходную библиотеку бактериофагами, несущими на своей поверхности мини-антитела нужной специфичности, и затем из обогащенной популяции отобрать мини-антитела с нужными свойствами. Для получения рекомбинантных антител с заданными свойствами в настоящее время широко используют комбинаторные библиотеки одноцепочечных (scFv) антител и Fab-фрагментов, сконструированных на основе нитчатых бактериофагов *E.coli*. Сами мини-антитела находят применение в терапии некоторых заболеваний. Обладая меньшими размерами, они легче проникают в ткани, преодолевают гематоэнцефалический барьер, вызывают меньший неспецифический иммунный ответ. На их основе будут сконструированы полифункциональные мини-антитела, иммунотоксины, средства адресной доставки лекарственных средств в организме больного.

В настоящее время мини-антитела и рекомбинантные полноразмерные антитела применяют в фундаментальных исследованиях, в биотехнологии, в терапии различных заболеваний, включая вирусные. Разработка противовирусных рекомбинантных антител ведется очень широко, однако лишь ограниченное количество работ, посвящено получению рекомбинантных антител, направленных к особо опасным для человека вирусным патогенам.

Планируется создание стабильных продуцентов рекомбинантных антител с заданными иммунохимическими и эффекторными свойствами; получение рекомбинантных мини-антител, специфичных к дифтерийному токсину. Будет проведена оценка пригодности рекомбинантных антител при конструировании диагностических и лечебных препаратов.

Разработанные препараты могут быть использованы при конструировании средств для неотложной пассивной иммунотерапии и профилактики инфекций.

Разработка технологий индивидуальной диагностики на основе массированного анализа репертуаров T-клеточных рецепторов человека

Высокая специфичность узнавания антигенов определяет направленность и эффективность защиты от инфекционных и онкологических заболеваний, обеспечиваемой адаптивной иммунной системой человека: Т-лимфоцитами, каждый клон которых несет уникальный Т-клеточный рецептор (ТКР) и В-лимфоцитами, каждый клон которых продуцирует уникальное антитело. За последние несколько лет была продемонстрирована неожиданно высокая степень конвергенции гипервариабельных участков ТКР у разных индивидуумов. Стало очевидно, что репертуар последовательностей ТКР содержит потенциально читаемую информацию не только об общем состоянии адаптивного иммунитета, но также и о многих текущих и перенесенных инфекционных, аутоиммунных, и онкологических заболеваниях.

Рациональный анализ этой информации является ключом к созданию мощной индивидуальной диагностики широкого спектра заболеваний по одному анализу крови, проведенному с использованием технологий секвенирования нового поколения (Next generation sequencing, NGS).

Уже сегодня становится возможным применение таких технологий для точного определения возрастного статуса адаптивного иммунитета, мониторинга эффективности и

последствий различных иммуносупрессивных и иммунокорректирующих терапий, глубокого исследования иммунных и аутоиммунных процессов, поиска так называемых «публичных» ТКР как диагностических маркеров, поиска ТКР и антител для направленной терапии аутоиммунных, инфекционных, и онкологических заболеваний. Разработка эффективных методов получения и анализа индивидуальных количественных библиотек генов антител и Т-клеточных рецепторов человека с использованием технологий NGS открывает принципиально новые перспективы для биомедицинских исследований и развития индивидуальной диагностики и терапии, и по большому счету ведет к принципиально новому уровню понимания адаптивного иммунитета и нашей способности к его направленной рациональной коррекции.

Разработка новых адъювантов

Адъюванты - это вещества, способные ускорять, пролонгировать и усиливать иммунный ответ на вакцины. Первый мощный адъювант был разработан J.Freund в 1937 г. на основе грубого минерального масла с добавлением убитых микобактерий. Он до сих пор является «золотым стандартом», однако его запрещено использовать в медицине из-за сильных побочных эффектов. Попытки снизить его токсическое действие привели к созданию новых эмульсионных адъювантных композиций. Необходимый компонент адъювантов - иммуномодулятор. Большинство добавляемых в адъювант иммуномодуляторов так или иначе связаны с активными компонентами клеточной стенки бактерий. Однако в последние годы становится все очевиднее, что иммуномодулирующий компонент адъювантов необходим для того, чтобы активировать систему врожденного иммунитета таким образом, чтобы направить формирующийся приобретенный иммунитет в нужное русло и обеспечить индукцию протективного иммунного ответа. В связи с этим сформировалось понятие «молекулярные адъюванты», к которым относятся консервативные структуры инфекционных агентов (РАМР), сигналы тревоги, высвобождаемые клетками хозяина при инфицировании и цитокины. Ко всем этим структурам на антигенпрезентирующих клетках (дендритных клетках) имеются специальные рецепторы, через которые и осуществляется поляризация иммунного ответа. Будут разработаны адъюванты, предназначенные для профилактики вирусных инфекций, способные направлять иммунный ответ в сторону Th1, Перспективен также дальнейший поиск и выделение РАМР, которые могут быть использованы в качестве молекулярных адъювантов.