МОДЕЛИ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Pan02, НЕСУЩЕЙ МАРКЕР GFP, НА МЫШАХ

Акопов С.Б., Снежков Е.В., Коновалова М.В., Костромина М.А., Есипов Р.С., Свирщевская Е.В.

ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия

Резюме. Поиски новых методов терапии рака являются одной из актуальных задач медицины. Модели рака на животных являются необходимым методом доклинических исследований препаратов и тактик терапии рака. Целью данной работы являлся анализ роста линии клеток рака поджелудочной железы (ПЖ) мышей Pan02, несущей маркер GFP, при введении подкожно (s. c.), внутрибрюшинно (i. p.) или ортотопически в ПЖ (ortho) мышей линии C57BL/6. Реперный ген GFP встраивали в клетки Pan02 с помощью лентивирусной конструкции. Мышам вводили по 200 тыс. клеток: s. c. в правый бок; i. p. шприцем в брюшную полость или ortho хирургически под капсулу ПЖ. В динамике роста опухолей определяли вес и летальность мышей, забирали сыворотку крови для анализа антительного ответа на реперный белок GFP. На 2-ю и 4-ю недели роста опухоли часть мышей забивали и анализировали методами проточной цитометрии и конфокальной микроскопии экспрессию опухолевыми клетками GFP, а также состав иммунных клеток в опухоли. Показали, что при различной локализации опухоль ПЖ растет с разной скоростью и летальностью. При введении опухоли i. p. мыши теряли вес при быстром росте опухоли. В ortho модели мыши увеличивали вес за счет быстрого роста опухоли. Летальность в группах s. c. и i. p. была сравнимой. Подкожная опухоль росла медленно до объема 200-400 мм^3 и останавливалась в росте. Летальности в этой группе за 2 мес. не было. При всех схемах введения формировался антительный ответ на GFP. Субпопуляционный состав иммунных клеток сильно варьировал в различных группах. Независимо от типа иммунного ответа клетки Pan02-GFP *in vivo* быстро подавляли экспрессию гена GFP или элиминировались. Полученные данные показали, что опухоль ПЖ мыши Pan02 является иммуногенной и вызывает формирование адаптивного иммунного ответа. Независимо от наличия или отсутствия иммунного ответа и элиминации GFP$^+$ клеток, опухоль продолжала расти в моделях i. p. и ortho, но не при введении опухолевых клеток s. c., и вызывала гибель мышей. При проведении доклинических исследований требуется использовать несколько путей введения опухолевых клеток для получения более объективного результата.

Ключевые слова: терапия рака, модели рака на животных, опухоль поджелудочной железы, Pan02, GFP, ортотопическая модель

Адрес для переписки:

Свирщевская Елена Викторовна
ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук»
117997, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
Тел.: 8 (910) 464-87-60.
E-mail: esvir@mail.ibch.ru

Address for correspondence:

Elena V. Svirshchevskaya
Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences
16/10 Miklukho-Maklaya St
Moscow
117997 Russian Federation
Phone: +7 (910) 464-87-60.
E-mail: esvir@mail.ibch.ru

Образец цитирования:

С.Б. Акопов, Е.В. Снежков, М.В. Коновалова, М.А. Костромина, Р.С. Есипов, Е.В. Свирщевская «Модели опухоли поджелудочной железы Pan02, несущей маркер GFP, на мышах» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 5. С. 1099-1106.
doi: 10.15789/1563-0625-PPT-16858

© Акопов С.Б. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.B. Akopov, E.V. Snezhkov, M.V. Konovalova, M.A. Kostromina, R.S. Esipov, E.V. Svirshchevskaya "Pan02 pancreatic tumor models carrying the GFP marker in mice", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 5, pp. 1099-1106.
doi: 10.15789/1563-0625-PPT-16858

© Akopov S.B. et al., 2024
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-PPT-16858

Pan02 PANCREATIC TUMOR MODELS CARRYING THE GFP MARKER IN MICE

Akopov S.B., Snezhkov E.V., Konovalova M.V., Kostromina M.A., Esipov R.S., Svirshchevskaya E.V.

Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Abstract. Animal tumor models are used for preclinical studies of drugs and cancer therapy. The aim of this work was to analyze the growth of murine pancreatic tumor cells Pan02, carrying GFP marker, injected subcutaneously (s. c.), intraperitoneally (i. p.) or orthotopically into the pancreas (ortho) of C57BL/6 mice. Mice were injected with 2×10^5 cells: s. c. in the right flank; i. p. with a syringe into the abdominal cavity, or ortho surgically under the pancreas capsule. The weight of mice was determined in the dynamics of tumor growth, and blood serum was taken to analyze the antibody response to the GFP reference protein. At the 2^{nd} and 4^{th} weeks of tumor growth, some mice were slaughtered and the expression of GFP by the tumor cells, as well as the composition of the immune cells in the tumor, were analyzed by flow cytometry and confocal microscopy. It was shown that with the different localization, the pancreatic tumors grew at different rates and lethality. When the tumor was injected i. p., mice lost weight with rapid tumor growth. In the ortho model, the mice increased their weight. Mortality in the s. c. and i. p. groups was comparable. In the s. c. model, the tumor grew slowly to a volume of 200-400 mm^3 and stopped growing. There was no mortality in this group during the follow-up period (2 months). The same antibody response to GFP was formed with all injection schemes. The subpopulation composition of immune cells varied greatly in the different models of tumor cell administration. Regardless of the type of immune response, Pan02-GFP cells rapidly suppressed GFP gene expression *in vivo*. The data obtained showed that murine pancreatic tumor Pan02 is immunogenic and causes the formation of an adaptive immune response. Regardless of the presence or absence of an immune response and elimination of GFP^+ cells, the tumor continued to grow in the i. p. and ortho models, but not in the s. c. one, and caused the death of mice. When conducting preclinical studies, it is necessary to use several ways of tumor cell injection to obtain a more objective result.

Keywords: cancer therapy, animal cancer models, pancreatic tumor, Pan02, GFP, orthotopic model

Введение

Аденокарцинома поджелудочной железы (ПЖ) является смертельным заболеванием и второй по значимости причиной смерти от рака в ряде стран. Рак часто диагностируется на поздней стадии, что приводит к 2-10%-ной выживаемости в течение 5 лет. Карцинома ПЖ занимает последнее место среди всех локализаций рака с точки зрения прогноза выживаемости пациентов [8]. Его трудно диагностировать на ранней стадии, что связано с отсутствием специфических симптомов заболевания и непосредственной близостью крупных кровеносных сосудов, способствующих метастазированию опухоли [2]. В настоящее время хирургическая резекция является единственным методом лечения рака ПЖ. При этом частота рецидивов высока, а до 80-85% опухолей не поддаются резекции на момент их диагностики [3, 4, 9]. Разрабатываются методы комбинированного лечения, включающие хирургию и химиотерапию, а также различные протоколы адъювантной терапии резектабельного, погранично-резектабельного и местнораспространенного рака ПЖ. Для снижения риска неудачи новых методов терапии используются модели на животных. В работе Boj и соавт. предложено использовать органоиды из нормальных и неопластических тканей ПЖ мыши и человека, полученные из удаленных опухолей и биоптатов [1]. Авторы показали, что ортотопически пересаженные органоиды воспроизводят полный спектр развития опухоли.

Экспериментальные модели на мышах сыграли центральную роль в понимании патобиологии рака ПЖ. Мышиные модели включают гетеротопические и ортотопические ксенотрансплантаты с использованием иммунодефицитных мышей; генно-инженерные сингенные модели с мутациями такими, как KRAS и включающие флуоресцентные метки, что позволяет моделировать молекулярные и патологические признаки рака ПЖ [7]. Сингенные мышиные модели используются для оценки эффективности иммунотерапии и изучения эффектов такой терапии на иммунную систему.

Целью данной работы было провести сравнительный анализ роста опухоли ПЖ мыши Pan02, ген-модифицированной зеленым флуоресцент-

ным белком GFP, при введении опухолевых клеток подкожно, внутриблюшинно и ортотопически в ПЖ мыши.

Материалы и методы

Клеточные линии

В работе использовали линию клеток рака ПЖ Pan02 (коллекция ИБХ РАН). Клетки инкубировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10%-ной фетальной телячьей сыворотки (FCS), антибиотиков и L-глютамина (все от НПП «ПанЭко», Москва) в инкубаторе с 5% CO_2 при температуре 37 °C. Клетки пассировали путем трипсинизации с использованием раствора трипсин/ЭДТА (НПП «ПанЭко», Москва) два раза в неделю.

Трансдукция клеток Pan02 геном GFP

Для получения клеток со встроенным геном GFP использовали лентивирусную трансдукцию. Надосадок клеток (50 мкл), продуцирующих лентивирусы (ЗАО «Евроген», Москва), добавляли к клеткам Pan02, обработанных гексадиметрина бромидом (Sigma, США), и инкубировали 2 суток. После этого меняли среду и добавляли селективный антибиотик пуромицин (5 мкг/мл) (Sigma, США) и инкубировали 3 суток. Появление GFP^+ клеток определяли с помощью конфокальной микроскопии. Полученную культуру сортировали на приборе BD FACSAria™ III Cell Sorter (США). Выделенную фракцию выращивали и использовали для перевивания мышам.

Мыши

Самки мышей линии C57BL/6 в возрасте 8-12 недель были получены из питомника «Столбовая» (Московская обл., Россия). Протокол одобрен Институтской ком иссией по уходу и использованию животных (IACUC) Центра исследований животных ИБХ РАН (протокол № 325 от 14.06.2021). Животных содержали по 5 мышей в клетки с неограниченным доступом к воде и корму.

Мышей делили на 4 группы по 10 мышей в группе. Группе 1 вводили опухолевые клетки Pan02-GFP (2×10^5/мышь в 50 мкл культуральной среды) s. c. в правый бок. Шерсть в области инъекции предварительно удаляли депилятором. Группе 2 клетки в том же количестве вводили инсулиновым шприцом в брюшную полость. Группе 3 клетки вводили под капсулу ПЖ. Для этого мышам давали наркоз золетил/ксилозин, вскрывали в асептических условиях по средней линии кожу и брюшину (разрез 1 см), стерильной ватной палочкой вытягивали ПЖ и вводили клетки в 50 мкл под капсулу. Результат регистрировали по вздутию пузырька в месте введения. ПЖ возвращали на место, брюшину и кожу зашивали, обрабатывали оперативное место хлоргексидином и йодом. Все прооперированные мыши вышли из наркоза.

До и каждую неделю после введения опухолевых клеток мышей взвешивали. На 2-ю и 4-ю неделю роста опухоли по 2 мыши из каждой группы забивали для выделения опухоли. Кровь забирали пункцией из сердца мышей, отделяли сыворотку и замораживали ее до анализа.

Культуры опухолевых клеток

Выделенные опухоли (300-500 мг) гомогенизировали в стерильных условиях на металлических ситечках, промывали фосфатным буфером (ФБ) 2 раза, переводили в полную культуральную среду и разносили по 6-луночным планшетам. Клетки культивировали до полной очистки от мертвых опухолевых, стромальных, иммунных клеток (1-2 недели), после чего трипсинили и анализировали экспрессию GFP.

Проточная цитометрия

Для анализа методом проточной цитометрии клетки из культур снимали трипсином, отмывали ФБ, переводили в ФБ с 1% бычьего альбумина и 0,05% азида натрия (ФБА) и анализировали на проточном цитометре FACsCalibur (BD, США). Результаты обработаны в программе FlowJo v. 10 (BD, Колумбус, Огайо, США).

Для анализа субпопуляций опухоле-ассоциированных лимфоцитов опухолевую ткань гомогенизировали в буфере, содержащим коллагеназу, диспазу и ДНКазу (Sigma-Aldrich, США), отмывали в ФР с 5%-ной бычьей сывороткой, переводили в ФБА и метили антителами к маркерам лимфоцитов CD4, CD8, CD19, CD11b, CD49b, PD1, прямомеченных флуорофорами (Miltenyi, Германия). Анализировали на проточном цитометре FACsCalibur.

Конфокальная микроскопия

Для проведения конфокальной микроскопии клеток, выделенных из опухолей, клетки высевали на стерильные покровные стекла, помещенные в 6-луночные планшеты (Costar, США) и инкубировали в течение ночи. Затем клетки промывали в ФБ, фиксировали 2%-ным параформальдегидом и полимеризовали средой Mowiol 4.88 (Calbiochem, Германия). Слайды анализировали с помощью конфокального микроскопа Eclipse TE2000 (Nikon, Япония). Для обработки результатов использовалось программное обеспечение EZ-C1 FreeViewer (Nikon, Япония).

Иммуноферментный анализ

Для анализа продукции антител к белку GFP использовали готовый набор (ООО «БелкиАнтитела», Москва). Для блокирования неспецифического связывания использовали ФБ с 2% бычьего альбумина. Между всеми инкубациями планшет трижды промывали ФБ, содержащим 0,05% Твин-20. Сыворотки добавляли в разных

разведениях. Планшеты инкубировали в течение 3 ч при комнатной температуре. Для выявления IgG использовали вторичные антитела, меченные пероксидазой хрена (Abcam, Кембридж, Великобритания). Реакцию регистрировали с использованием 3,3,5,5-тетраметилбензидина. Оптическую плотность при 450 нм определяли с помощью спектрофотометра MultiScan FC (Thermo Scientific, США). Титры в сыворотке крови оценивали путем приближения к фону, превышающему 3 стандартных отклонения от фона. Результаты анализа показаны в виде оптической плотности (O.D. 450 нм).

Статистический анализ

Графики созданы с использованием программного обеспечения MS Excel и представлены как среднее значение ± SEM для трех независимых экспериментов или как один репрезентативный эксперимент из трех. Статистический анализ проводился с использованием t-критерия Стьюдента. Уровни значимости $p < 0,05$ считались статистически достоверными.

Результаты и обсуждение

Потеря *in vivo* опухолевыми клетками гена GFP

Для получения флуоресцентно-меченых клеток ПЖ мыши Pan02-GFP использовали лентивирусную трансдукцию. После сортировки была получена стабильная линия клеток с высоким уровнем свечения (рис. 1А). Методом конфокальной микроскопии подтвердили флуоресценцию клеток Pan02-GFP (рис. 1Б).

Мышам перевивали клетки Pan02-GFP как описано в методах. По две мышки из каждой группы вскрывали на 2-ю и 4-ю недели роста опухоли. Начиная с 3-й недели в группах ortho и i. p., но не в группе s. c., начался падеж мышей. Поэтому на 5-ю неделю забили всех оставшихся мышей. В длительных культурах опухолей постепенно наблюдалась очистка культуры от мертвых

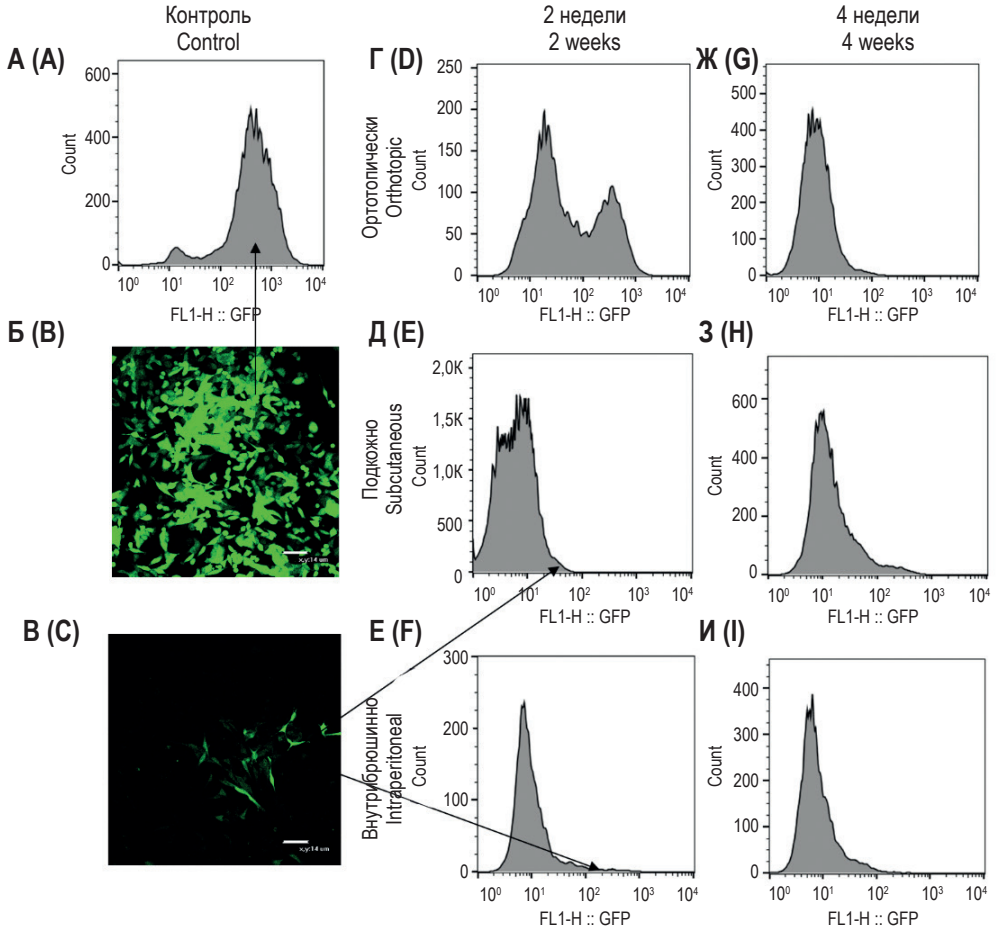

Рисунок 1. Экспрессия GFP клетками Pan02-GFP *in vitro* (А, Б) и *ex vivo* через 2 и 4 недели после начала роста опухоли в моделях перевивки ортотопически под капсулу поджелудочной железы (Г, Ж), подкожно (Д, З) и внутрибрюшинно (В, Е, Д). Шкала 30 мкм.

Figure 1. Expression of GFP by Pan02-GFP cells *in vitro* (A, B) and *ex vivo* 2 and 4 weeks after the onset of tumor growth in models of transplantation orthotopically under the capsule of the pancreas (D,G), subcutaneously (E, H) and intraperitoneally (C, F, E). Scale 30 μm.

и не пролиферирующих клеток. Анализ экспрессии GFP культурами клеток *ex vivo* показал практически полную потерю GFP^+ клеток или подавление экспрессии гена GFP уже на 2-ю неделю в группах s. c. и i. p. (рис. 1Д, Е) и ~ 60% потерю в группе ortho (рис. 1Г). К 4 неделям во всех группах опухолевые клетки высевались *ex vivo*, пролиферировали, имели вид обычных клеток Pan02, но не экспрессировали GFP (рис. 1Ж, З, И). Малая остаточная популяция GFP^+ клеток в культурах опухолей s. c. и i. p. групп регистрировалась как методом проточной цитометрии (рис. 1, стрелки), так и методом конфокальной микроскопии (рис. 1В).

Иммуногенность Pan02-GFP

Мыши по-разному переносили рост опухоли. Поскольку объем ортотопических и внутрибрюшинных опухолей померить нельзя, то ориентировались на вес мышей. Для сравнения приводим вес интактных мышей (рис. 2А). Показали, что мыши из группы s. c. по весу не отличались от интактных мышей. Опухоль была маленькой и замедляла рост. Ранее мы анализировали рост клеток Pan02 без GFP в мышах и показали, что опухоль также растет медленно [12]. Сравнение скорости роста при s. c. имплантации клеток Pan02 и Pan02-GFP не выявило различий.

В отличие от группы s. c., рост опухоли в брюшной полости и в ПЖ был бурным. При этом при большом объеме опухоли в брюшной полости мыши худели и, в конечном итоге, погибали (рис. 2А). Мыши с ортотопической опухолью выглядели значительно лучше, не отличались от интактных мышей по внешнему виду и поведению, но увеличивались в весе за счет быстрого роста опухоли (рис. 1А). Гибель мышей наступала так-

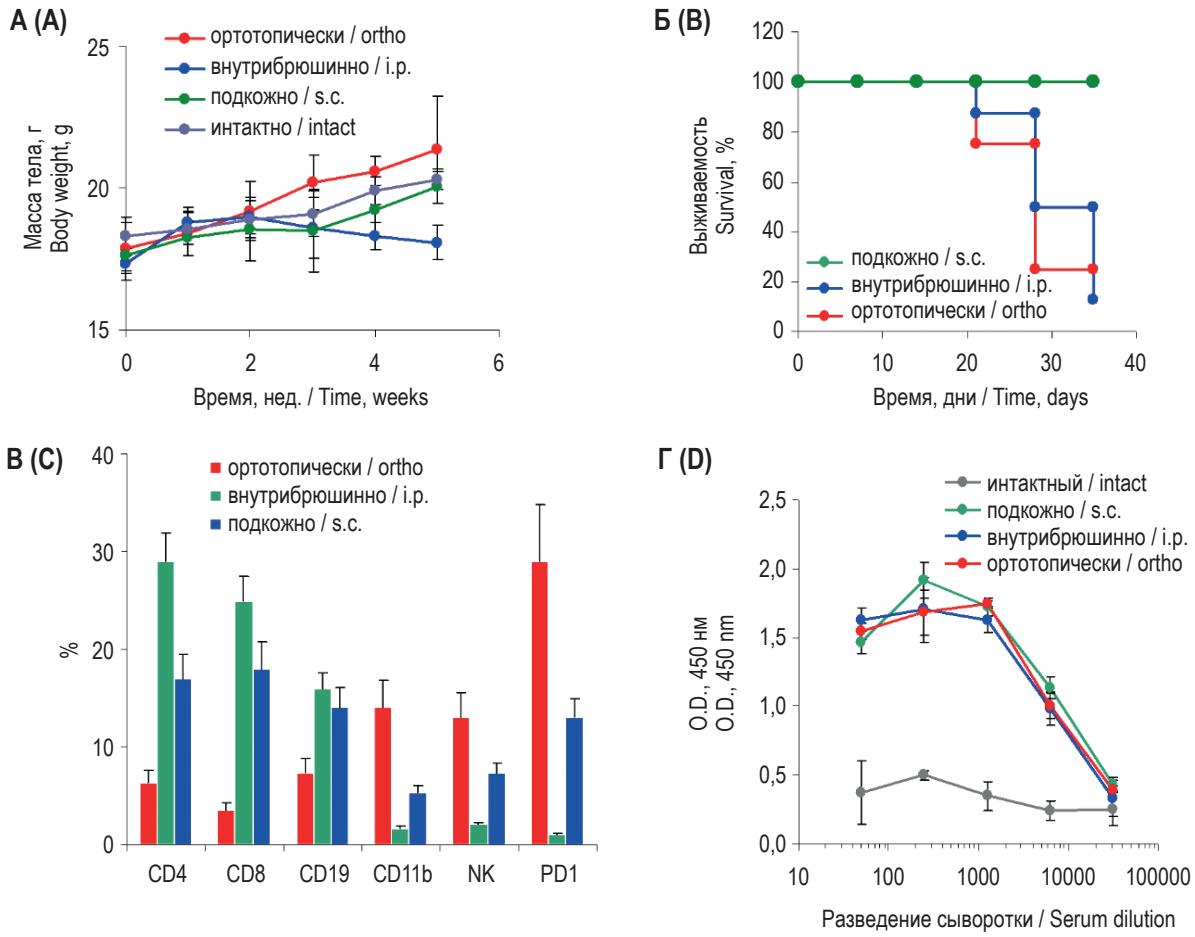

Рисунок 2. Характеристика роста клеток Pan02-GFP, перевитых ортотопически под капсулу поджелудочной железы (ortho), подкожно (s. c.) и внутрибрюшинно (i. p.). А – изменение массы тела мышей с момента начала роста опухоли. Б – выживание мышей в разных группах. В – субпопуляционный состав опухоле-ассоциированных лимфоцитов разных групп через 4 недели роста опухоли. Г – продукция антител к белку GFP в крови мышей разных групп.

Figure 2. Characteristics of the growth of Pan02-GFP cells transplanted orthotopically under the capsule of the pancreas (ortho), subcutaneously (s. c.) and intraperitoneally (i. p.). A, change in the body weight of mice after the onset of the tumor growth. B, survival of the mice in different groups. C, the subpopulation composition of tumor-associated lymphocytes in different groups after 4 weeks of tumor growth. D, production of antibodies to the GFP protein in the blood of mice from different groups.

же на 3-й неделе роста опухоли. На 5-ю неделю всех выживших к этому времени мышей забили, опухоли выделили и проанализировали субпопуляционный состав опухоле-ассоциированных лимфоцитов и экспрессию опухолевыми клетками GFP.

Показали, что максимальная летальность была в группе ortho; практически такая же летальность была в группе i. p.; все мыши выжили в группе s. c. (рис. 2Б).

Анализ инфильтрирующих опухоль лимфоцитов показал значительную гетерогенность популяций в разных группах. Максимальный Т-клеточный ответ зарегистрировали в группе i. p. (рис. 2В), где пул лимфоидных клеток до 50% состоял из $CD4^+$ и $CD8^+$ лимфоцитов. В группе s. c. до 30% также составляли $CD4^+$ и $CD8^+$ лимфоциты. В группе ortho большую часть составляли макрофаги $CD11b^+$ и натуральные киллеры $CD49b^+$ (NK) (рис. 2В), что значительно отличается от двух других групп. Интересно, что на 30% лимфоидных клеток в ortho группе был экспрессирован белок клеточной смерти PD1, что, по-видимому, и объясняет отсутствие Т-клеток в ПЖ.

Анализ антител к GFP показал эффективный сравнимый иммунный адаптивный ответ во всех трех группах мышей (рис. 2Г). Продукция антител к реперному белку GFP показывает формирование адаптивного иммунного ответа на опухоль. Несмотря на это, опухоль продолжала расти в моделях ortho и i. p. и приводила к гибели мышей.

В последние годы терапия, направленная на белки клеточной смерти PD1 и его лиганд PD-L1, зарекомендовала себя как успешная для разных форм рака. Попытки использования антител к PD1 и PD-L1 при метастатическом раке ПЖ активно ведутся большими коллективами авторов [6, 10, 11, 13], но пока с ограниченным успехом. Полученные нами данные показывают, что моделирование рака при введении опухоли ортотопически и внутрибрюшинно позволит проанализировать эффекты анти PD1/PD-L1 терапии как на исходную опухоль, так и на метастазы. В работе Но и соавт. использовали клетки Pan02, введенные в селезенку для моделирования метастазирующего рака ПЖ [5].

Заключение

Аденокарцинома ПЖ остается одной из самых агрессивных форм рака, с поздней диагностикой, высокой летальностью и отсутствием эффективного лечения распространенного метастазирующего рака. Поиск новых химиопрепаратов, адъювантной терапии, иммунных методов предупреждения рака ПЖ является актуальной задачей медицины и биологии. В данной работе показано различие роста опухоли ПЖ при введении опухолевых клеток подкожно, внутрибрюшинно и ортотопически в ПЖ. Подкожное введение, наиболее часто используемое в биологических экспериментах, не отражает реальной клинической ситуации. Альтернативой может являться внутрибрюшинное введение, не требующее оперативного вмешательства для моделирования рака ПЖ. При ортотопическом и внутрибрюшинном введении нет возможности измерить объем опухоли, что осложняет работу исследователей, но во всех случаях можно ориентироваться на летальность мышей разных групп.

Нами показано, что опухоль Pan02-GFP является иммуногенной и вызывает адаптивный иммунный ответ, распознающий белки опухоли, в частности GFP. Элиминация или ингибирование экспрессии гена GFP показывает, что при раке ПЖ идет быстрый селективный процесс, что ассоциировано с метастазированием рака.

Благодарности

Выражаем благодарность Ольге Дмитриевне Коцаревой (ИБХ РАН, Москва) за помощь в работе с мышами.

Список литературы / References

1. Boj S.F., Hwang C.I., Baker L.A., Chio I.I., Engle D.D., Corbo V., Jager M., Ponz-Sarvise M., Tiriac H., Spector M.S., Gracanin A., Oni T., Yu K.H., van Boxtel R., Huch M., Rivera K.D., Wilson J.P., Feigin M.E., Öhlund D., Handly-Santana A., Ardito-Abraham C.M., Ludwig M., Elyada E., Alagesan B., Biffi G., Yordanov G.N., Delcuze B., Creighton B., Wright K., Park Y., Morsink F.H., Molenaar I.Q., Borel Rinkes I.H., Cuppen E., Hao Y., Jin Y., Nijman I.J., Iacobuzio-Donahue C., Leach S.D., Pappin D.J., Hammell M., Klimstra D.S., Basturk O., Hruban R.H., Offerhaus G.J., Vries R.G., Clevers H., Tuveson D.A. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer. *Cell, 2015, Vol. 160, no. 1-2, pp. 324-338.*

2. Canto M.I., Harinck F., Hruban R.H., Offerhaus G.J., Poley J.W., Kamel I., Nio Y., Schulick R.S., Bassi C., Kluijt I., Levy M.J., Chak A., Fockens P., Goggins M., Bruno M.; International Cancer of Pancreas Screening (CAPS) Consortium. International Cancer of the Pancreas Screening (CAPS) Consortium summit on the management of patients with increased risk for familial pancreatic cancer. *Gut, 2013. Vol. 62, no. 3, pp. 339-347.*

3. Crowley F., Gandhi S., Rudshteyn M., Sehmbhi M., Cohen D.J. Adherence to NCCN genetic testing guidelines in pancreatic cancer and impact on treatment. *Oncologist, 2023. Vol. 28, no. 6, pp. 486-493.*

4. Gugenheim J., Crovetto A., Petrucciani N. Neoadjuvant therapy for pancreatic cancer. *Updates Surg., 2022. Vol. 74, no. 1, pp. 35-42.*

5. Ho T.T.B., Nasti A., Seki A., Komura T., Inui H., Kozaka T., Kitamura Y., Shiba K., Yamashita T., Yamashita T., Mizukoshi E., Kawaguchi K., Wada T., Honda M., Kaneko S., Sakai Y. Combination of gemcitabine and anti-PD-1 antibody enhances the anticancer effect of M1 macrophages and the Th1 response in a murine model of pancreatic cancer liver metastasis. *J. Immunother. Cancer, 2020. Vol. 8, no. 2, e001367.* doi: 10.1136/jitc-2020-001367.

6. Li K., Tandurella J.A., Gai J., Zhu Q., Lim S.J., Thomas D.L. 2nd, Xia T., Mo G., Mitchell J.T., Montagne J., Lyman M., Danilova L.V., Zimmerman J.W., Kinny-Köster B., Zhang T., Chen L., Blair A.B., Heumann T., Parkinson R., Durham J.N., Narang A.K., Anders R.A., Wolfgang C.L., Laheru D.A., He J., Osipov A., Thompson E.D., Wang H., Fertig E.J., Jaffee E.M., Zheng L. Multi-omic analyses of changes in the tumor microenvironment of pancreatic adenocarcinoma following neoadjuvant treatment with anti-PD-1 therapy. *Cancer Cell, 2022, Vol. 40, no. 11, pp. 1374-1391.e7.*

7. Mallya K., Gautam S.K., Aithal A., Batra S.K., Jain M. Modeling pancreatic cancer in mice for experimental therapeutics. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer, 2021, Vol. 1876, no. 1, 188554.* doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188554.

8. McGuigan A., Kelly P., Turkington R.C., Jones C., Coleman H.G., McCain R.S. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J. Gastroenterol., 2018, Vol. 24, no. 43, pp. 4846-4861.*

9. O'Reilly D., Fou L., Hasler E., Hawkins J., O'Connell S., Pelone F., Callaway M., Campbell F., Capel M., Charnley R., Corrie P., Elliot D., Goodburn L., Jewell A., Joharchi S., McGeeney L., Mukherjee S., Oppong K., Whelan P., Primrose J., Neoptolemos J. Diagnosis and management of pancreatic cancer in adults: A summary of guidelines from the UK National Institute for Health and Care Excellence. *Pancreatology, 2018, Vol. 18, no. 8, pp. 962-970.*

10. Piper M., Hoen M., Darragh L.B., Knitz M.W., Nguyen D., Gadwa J., Durini G., Karakoc I., Grier A., Neupert B., van Court B., Abdelazeem K.N.M., Yu J., Olimpo N.A., Corbo S., Ross R.B., Pham T.T., Joshi M., Kedl R.M., Saviola A.J., Amann M., Umaña P., Codarri Deak L., Klein C., D'Alessandro A., Karam S.D. Simultaneous targeting of PD-1 and IL-2Rβγ with radiation therapy inhibits pancreatic cancer growth and metastasis. *Cancer Cell, 2023, Vol. 41, no. 5, pp. 950-969.e6.*

11. Pushalkar S., Hundeyin M., Daley D., Zambirinis C.P., Kurz E., Mishra A., Mohan N., Aykut B., Usyk M., Torres L.E., Werba G., Zhang K., Guo Y., Li Q., Akkad N., Lall S., Wadowski B., Gutierrez J., Kochen Rossi J.A., Herzog J.W., Diskin B., Torres-Hernandez A., Leinwand J., Wang W., Taunk P.S., Savadkar S., Janal M., Saxena A., Li X., Cohen D., Sartor R.B., Saxena D., Miller G. The pancreatic cancer microbiome promotes oncogenesis by induction of innate and adaptive immune suppression. *Cancer Discov., 2018, Vol. 8, no. 4, pp. 403-416.*

12. Svirshchevskaya E.V., Konovalova M.V., Snezhkov E.V., Poltavtseva R.A., Akopov S.B. Chemokine homeostasis in healthy volunteers and during pancreatic and colorectal tumor growth in murine models. *Curr. Issues Mol. Biol., 2022, Vol. 44, no. 10, pp. 4987-4999.*

13. Yamamoto K., Venida A., Yano J., Biancur D.E., Kakiuchi M., Gupta S., Sohn A.S.W., Mukhopadhyay S., Lin E.Y., Parker S.J., Banh R.S., Paulo J.A., Wen K.W., Debnath J., Kim G.E., Mancias J.D., Fearon D.T., Perera R.M., Kimmelman A.C. Autophagy promotes immune evasion of pancreatic cancer by degrading MHC-I. *Nature. 2020, Vol. 581, no. 7806, pp. 100-105.*

Авторы:

Акопов С.Б. *— д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории структуры и функций генов человека ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия*

Снежков Е.В. *— к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории структуры и функций генов человека ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия*

Коновалова М.В. *— к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия*

Authors:

Akopov S.B., *PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of the Structure and Functions of Human Genes, Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Snezhkov E.V., *PhD (Chemistry), Senior Research Associate, Laboratory of the Structure and Functions of Human Genes, Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Konovalova M.V., *PhD (Biology), Research Associate, Department of Immunology, Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Костромина М.А. *– к.б.н., научный сотрудник лаборатории биофармацевтических технологий ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия*

Kostromina M.A., *PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Biopharmaceutical Technologies, Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Есипов Р.С. *– д.б.н., заведующий лабораторией биофармацевтических технологий ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия*

Esipov R.S., *PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Biopharmaceutical Technologies, Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Свирщевская Е.В. *– к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия*

Svirshchevskaya E.V., *PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Shemyakin–Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Поступила 01.04.2024
Отправлена на доработку 03.04.2024
Принята к печати 04.04.2024

Received 01.04.2024
Revision received 03.04.2024
Accepted 04.04.2024