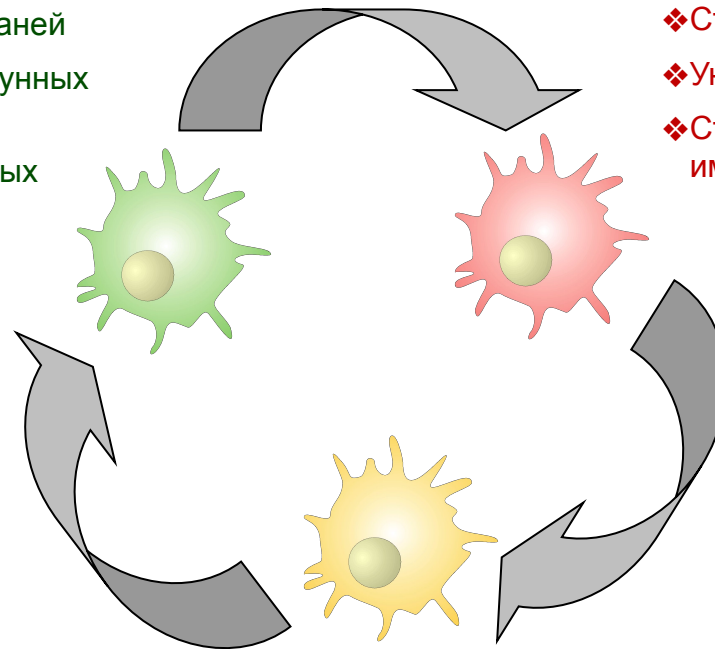

Диагностические и терапевтические подходы с использованием нового СС хемокина CLTAR

Грачёв Алексей Николаевич

CLTAP – маркер макрофагов, ассоциированных с опухолью

Функции макрофагов в организме

- ❖ Поддержание концентраций цитокинов
- ❖ Координирование обновления тканей
- ❖ Подавление нежелательных иммунных реакций
- ❖ Уничтожение трансформированных клеток



- ❖ Детекция патогена
- ❖ Стимуляция воспалительной реакции
- ❖ Уничтожение патогена
- ❖ Стимуляция системы приобретенного иммунитета

- ❖ Фагоцитоз апоптотических клеток и клеточного дебриса
- ❖ Стимуляция миграции и деления клеток
- ❖ Стимуляция ангиогенеза
- ❖ Подавление активности клеток иммунной системы

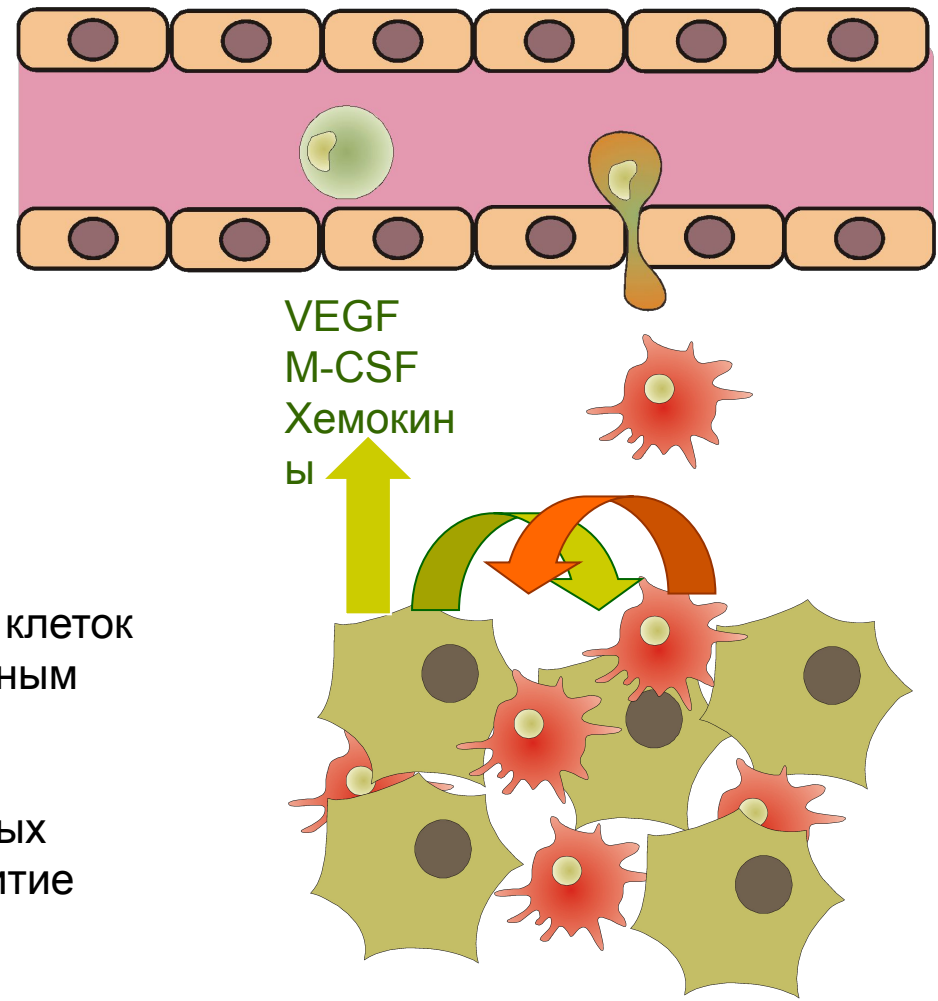
CLTAP – маркер макрофагов, ассоциированных с опухолью

Возникновение макрофагов ассоциированных с опухолью (MAO)

Опухоль привлекает моноциты периферической крови.
MAO развиваются под воздействием цитокинов, производимых опухолевыми клетками и гипоксии, характерной для опухоли.

Взаимодействие опухолевых клеток с макрофагами является важным фактором развития опухоли

ТФРбета это один из ключевых факторов влияющих на развитие MAO



CLTAP – маркер макрофагов, ассоциированных с опухолью

MAO - типичные макрофаги 2 типа

Макрофаги ассоциированные с опухолью (MAO) поддерживают рост опухоли секретируя ростовые факторы и цитокины

TGF β , EGF, CXCL8, CXCL12

MAO подавляют противоопухолевый иммунитет

TGF β , IL-10 (Иммunosupпрессия)

CCL17, CCL18, CCL22 (привлечение Т-клеток, не имеющих цитотоксической активности)

MAO поддерживают ангиогенез

VEGF

MAO перестраивают внеклеточный матрикс:

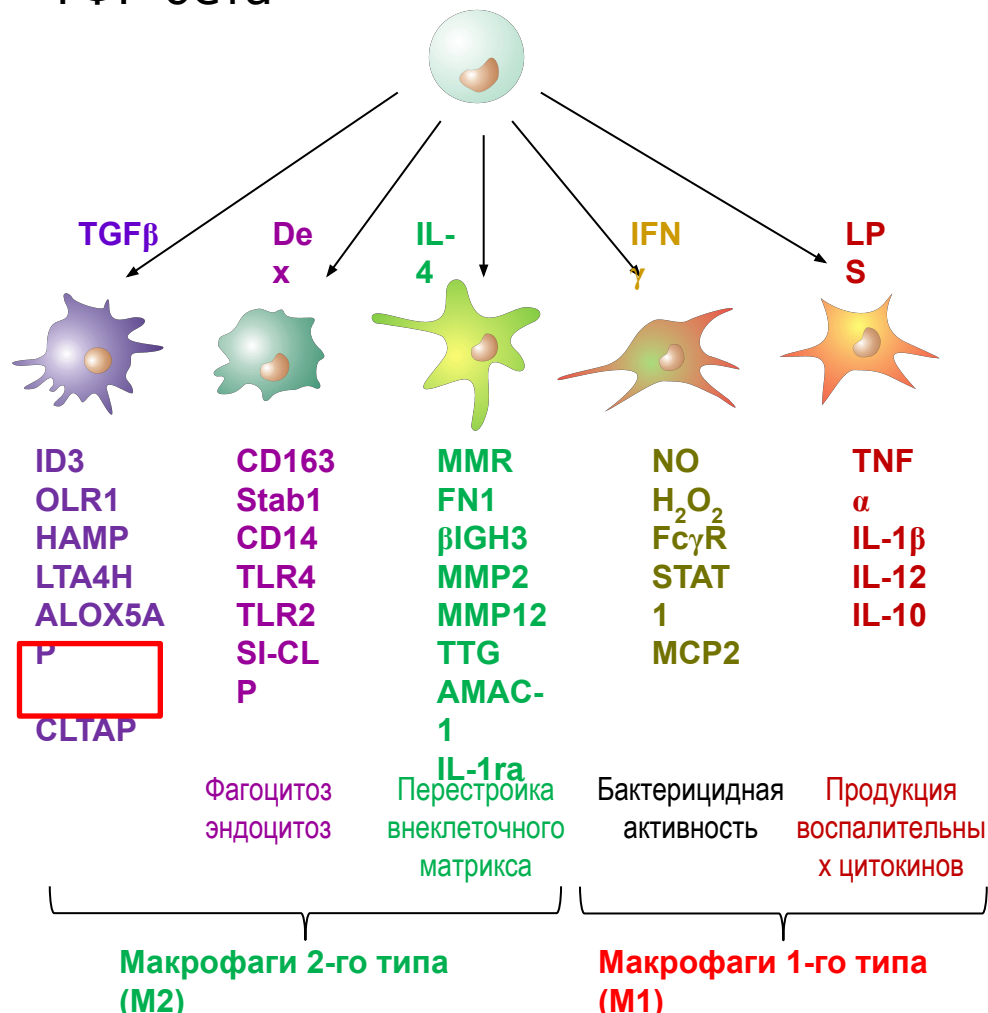
MMP, белки внеклеточного матрикса, трансглутаминазы

MAO поддерживают миграцию опухолевых клеток:

MMP, хемокины

CLTAP – маркер макрофагов, ассоциированных с опухолью

CLTAP был обнаружен в макрофагах стимулированных ТФР бета

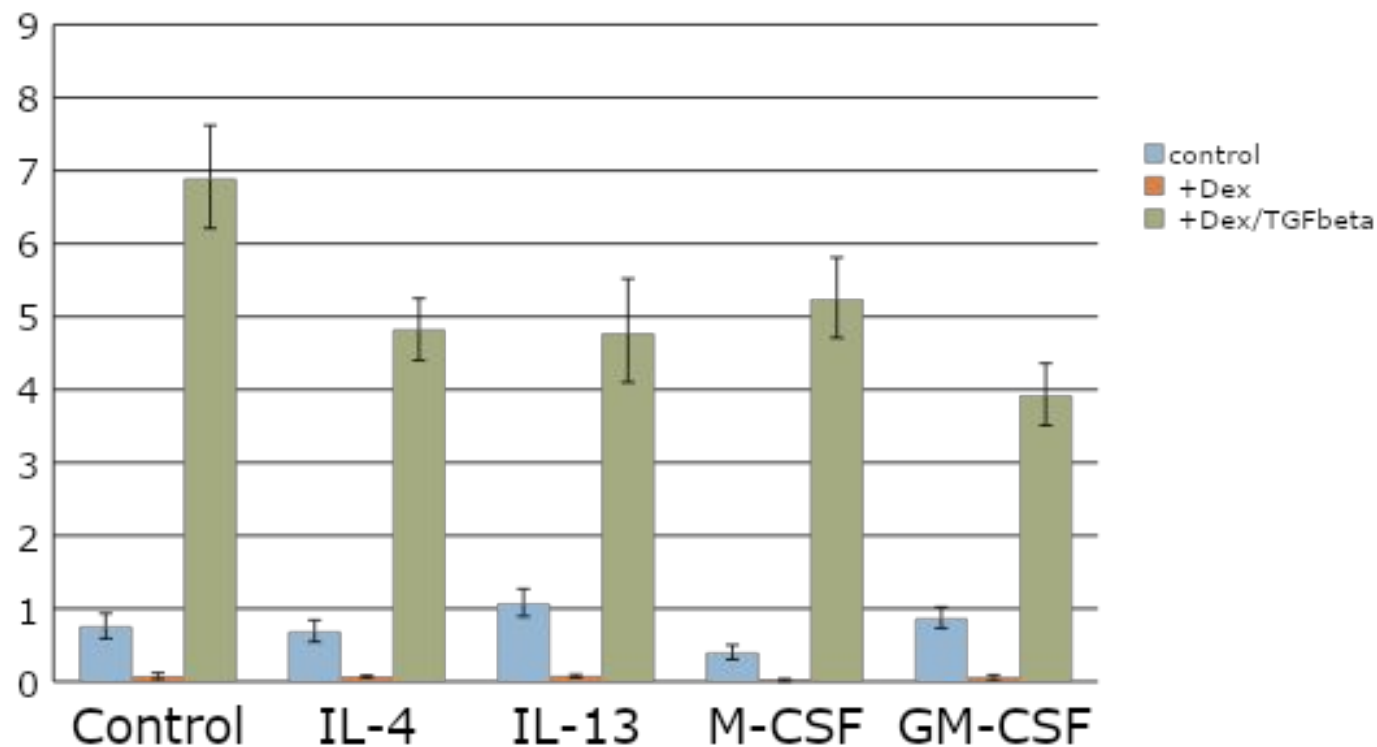


CLTAP CC-chemokine
Like TGFbeta Activated
Protein

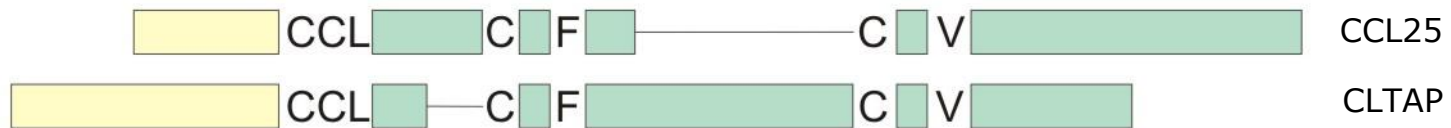
- Нет гомологов на уровне белка
- Нет гомологов на уровне мРНК
- Нет консервативных доменов

CLTAP – маркер макрофагов, ассоциированных с опухолью

Экспрессия CLTAP в макрофагах активируется только ТФР бета

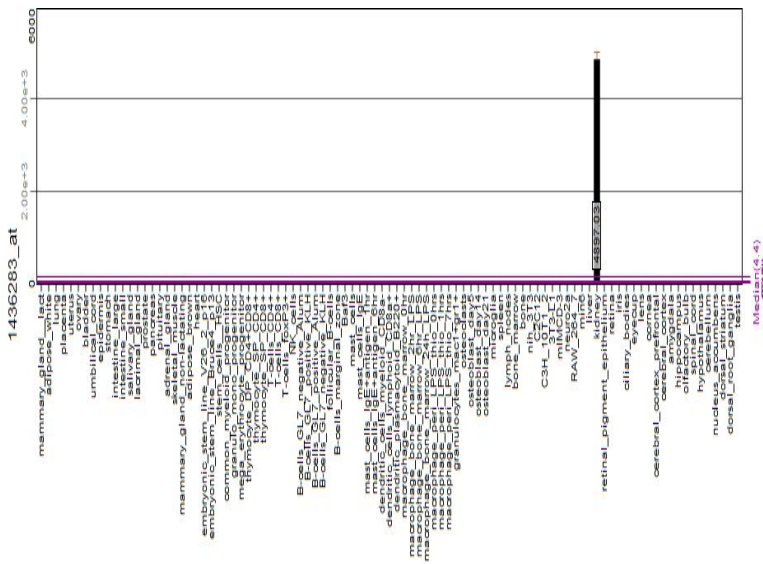


Структура CLTAP в сравнении со структурой CCL25

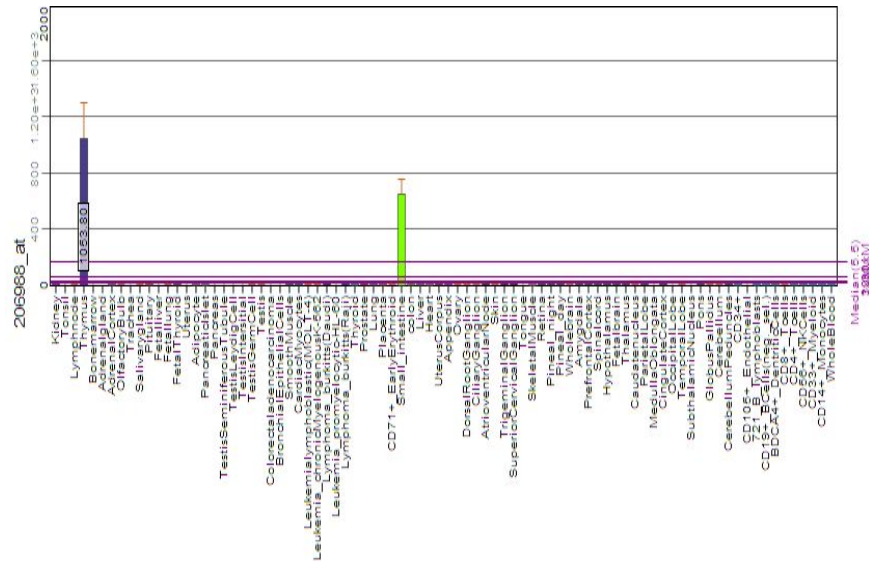


Сигнальный пептид или трансмембранный участок

Экспрессия CLTAP в различных тканях



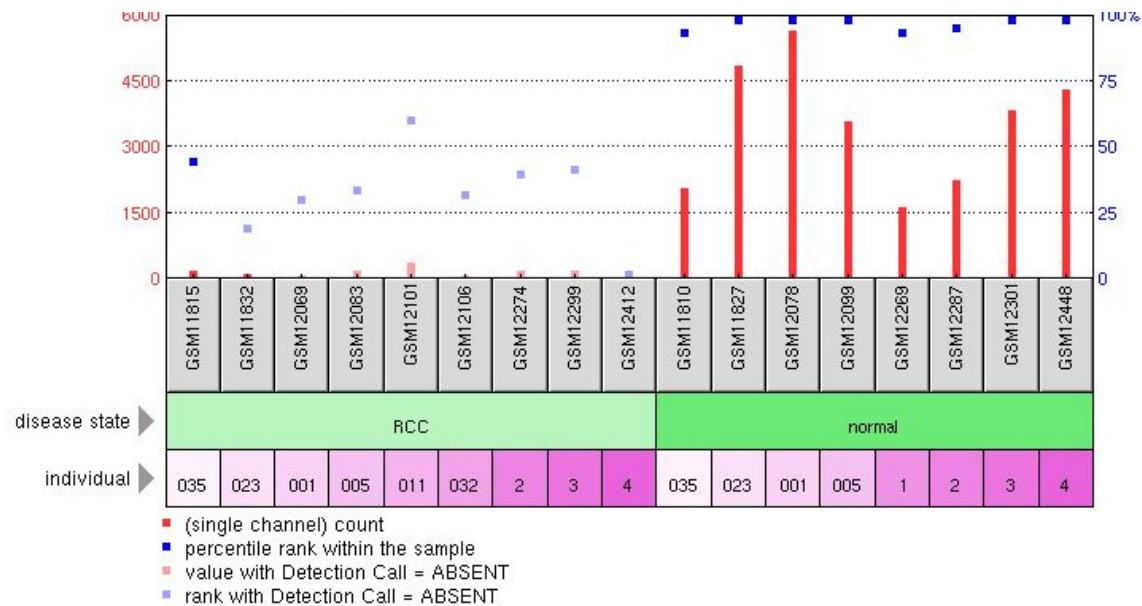
Экспрессия CCL25 в различных тканях



Структура белка и высокая тканеспецифичность указывает на возможную принадлежность CLTAP к семейству CC-хемокинов

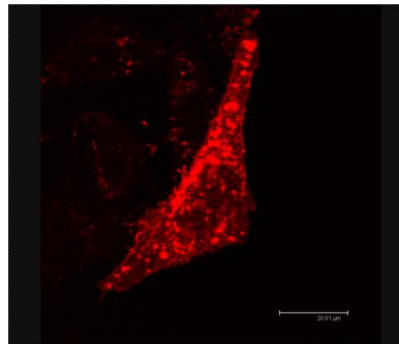
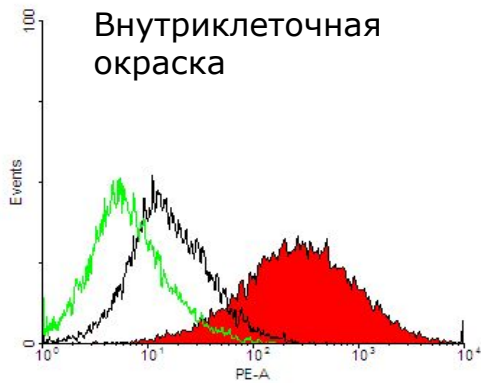
Экспрессия мРНК CLTAP образцах почечноклеточной карциномы (GEO)

Экспрессия CLTAP значительно снижена в образцах почечноклеточной карциномы

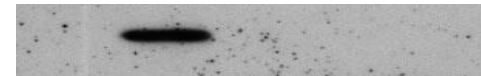


Моноклональные антитела к CLTAP

Получены моноклональные антитела к CLTAP (Клон 7A5)
Антитела пригодны для проточной цитометрии (левая панель) и
иммунофлуоресценции (средняя панель)
Вестерн блоттинга (правая панель)

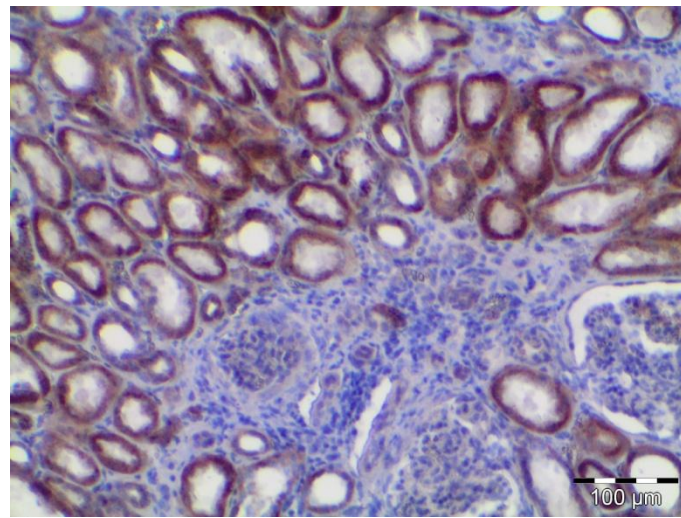
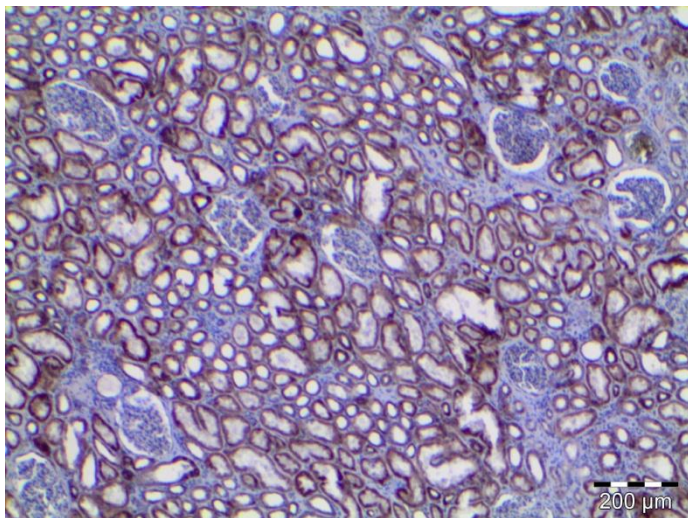


CHO - CHO+ A498 Caki-1 Caki-2



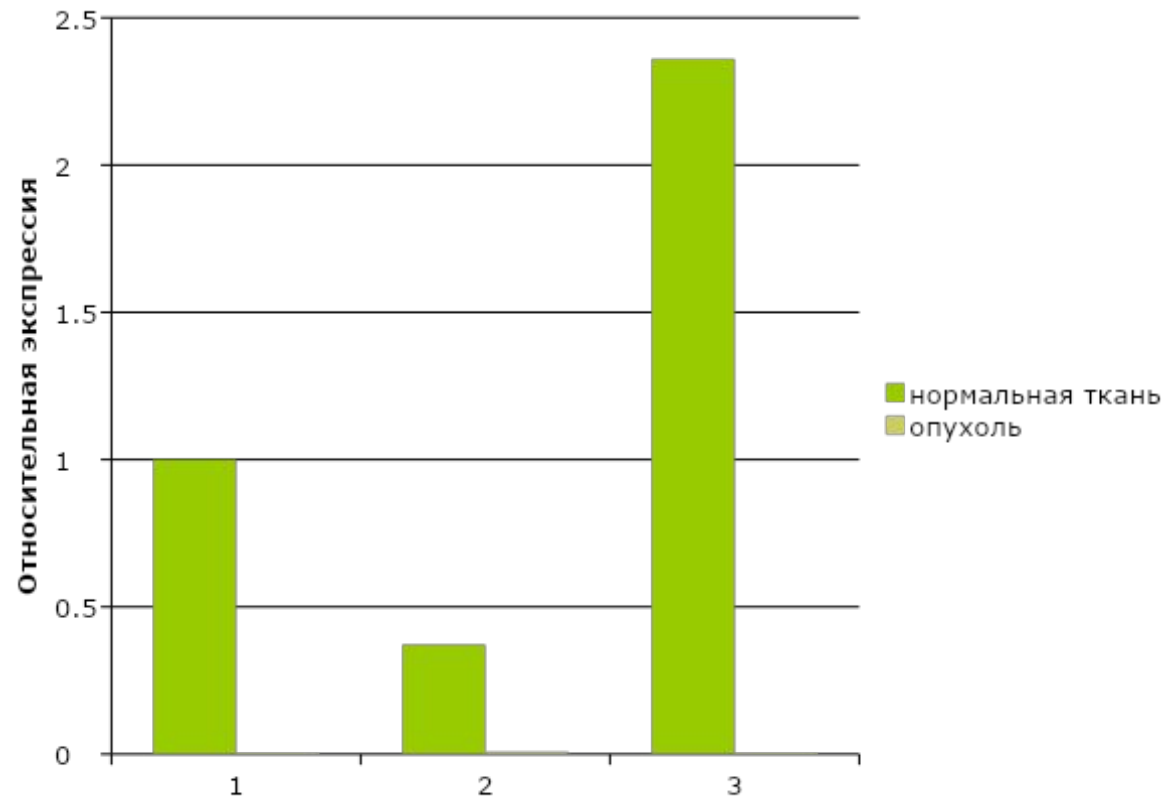
CLTAP локализован в везикулярных структурах

Экспрессия CLTAP в почках



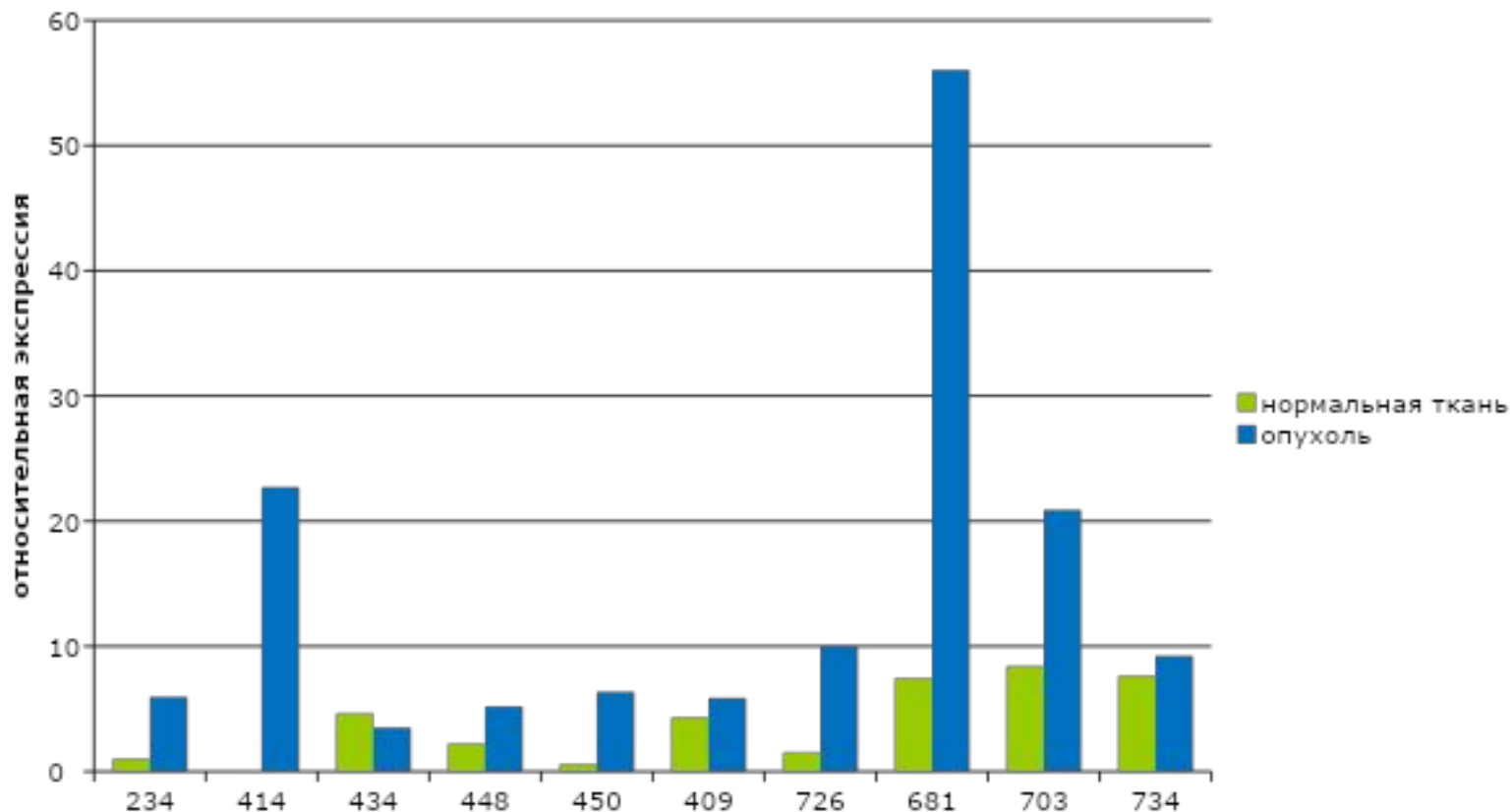
CLTAP экспрессируется в клетках эпителия проксимальных канальцев

Экспрессия мРНК CLTAР в почечноклеточной карциноме



Во всех исследованных случаях обнаружена полная потеря экспрессии

Экспрессия мРНК CLTAP в опухолях шейки матки



В отдельных случаях наблюдается повышение экспрессии CLTAP

Роль CLTAP в развитие опухолей

Почечноклеточная карцинома

- CLTAP участвует в регуляции апоптоза эпителиальных клеток
- потеря экспрессии CLTAP ведет к устойчивости клеток к апоптозу

Опухоли шейки матки

- Повышенная экспрессия CLTAP является маркером количества MAO

Перспективные диагностические стратегии

1. Стратегии

- Исследование экспрессии CLTAP в различных опухолях с целью выявления МАО с высоким иммуносуппрессорным потенциалом
- Ассоциация уровня экспрессии CLTAP с прогнозом заболевания

2. Методика

Имуногистохимический анализ экспрессии CLTAP в парафиновых срезах при помощи имеющихся антител.

3. Состояние проекта

- Оработана методика, получены первые данные на клиническом материале.
- Необходимо проведение широкомасштабных клинических исследований.

Перспективная терапевтическая стратегия

1. Стратегия

Активация апоптоза в клетках почечноклеточной карциномы за счет экспрессии рекомбинантного CLTAP.

2. Методика

Внесение экспрессионного конструкта при помощи аденовирусов или иммунных нанOLIпосом.

3. Состояние проекта

- Показано участие CLTAP в регуляции апоптоза в клетках почечноклеточной карциномы.
- Получены конструкты, содержащие кодирующую последовательность CLTAP.
- Необходима подготовка средства доставки (аденовируса или иммунных нанOLIпосом).

Спасибо за внимание!