

**МОДЕЛИ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ PAN02,
НЕСУЩЕЙ МАРКЕР GFP, НА МЫШАХ**

Акопов С. Б. ¹,

Снежков Е. В. ¹,

Коновалова М. В. ¹,

Костромина М. А. ¹,

Есипов Р. С. ¹,

Свирщевская Е. В. ¹.

¹ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, Москва, Россия.

PAN02 PANCREATIC TUMOR MODELS CARRYING THE GFP MARKER IN MICE

Akopov S. B. ^a,

Snezhkov E. V. ^a,

Konovalova M. V. ^a,

Kostromina M. A. ^a,

Esipov R. S. ^a,

Svirshchevskaya E. V. ^a

^a Shemyakin-Obchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, 117997, Moscow, Russia.

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 мм³ 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.

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 2nd and 4th 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 mm³ 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.

1 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% 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 Woj et al. 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 иммуно-дефицитных 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 флуоресцентным белком GFP, при введении опухолевых клеток подкожно, внутрибрюшинно и ортотопически в ПЖ мыши.

2 Методы

Клеточные линии

В работе использовали линию клеток рака ПЖ Pan02 (коллекция ИБХ РАН). Клетки инкубировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS), антибиотиков и L-глутамина (все от ПанЭко, Москва) в инкубаторе с 5% CO₂ при температуре 37 °C. Клетки пассировали

40 путем трипсинизации с использованием раствора трипсин/ЭДТА (ПанЭко,
41 Москва) два раза в неделю.

42 Трансдукция клеток Pan02 геном GFP

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

52 Мыши

53 Самки мышей линии C57BL/6 в возрасте 8-12 недель были получены из
54 питомника "Столбовая" (Московская область, Россия). Протокол одобрен
55 Институтской комиссией по уходу и использованию животных (IACUC)
56 Центра исследований животных ИБХ РАН (протокол №325 от 14.06.2021).
57 Животных содержали по 5 мышей в клетки с неограниченным доступом к воде
58 и корму.

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

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

74 Культуры опухолевых клеток

75 Выделенные опухоли (300-500 мг) гомогенизировали в стерильных
76 условиях на металлических ситечках, промывали фосфатным буфером (ФБ) 2
77 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, USA). Результаты обработаны в программе FlowJo v.10 (BD, Колумбус, Огайо, США).

Для анализа субпопуляций опухоли-ассоциированных лимфоцитов опухолевую ткань гомогенизировали в буфере, содержащем коллагеназу, диспазу и ДНКазу (Sigma-Aldrich), отмывали в ФР с 5% 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% 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 (корпорация Nikon, Япония).

Иммуноферментный анализ

Для анализа продукции антител к белку GFP использовали готовый набор (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 (Abscam, Кембридж, Великобритания). Реакцию регистрировали с использованием 3,3',5,5'-тетраметилбензидина. Оптическую плотность при 450 нм определяли с помощью спектрофотометра MultiScan FC (ThermoScientific, 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 $\pm$ 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.

3 Результаты

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. 1, а). Методом конфокальной микроскопии подтвердили флуоресценцию клеток Pan02-GFP (Рис.1, b).

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-ей 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 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. 1, e, f) и ~60% потерю в группе ortho (Рис.1. d). К 4-м неделям во всех группах опухолевые клетки высевались *ex vivo*, пролиферировали, имели вид обычных клеток Pan02, но не экспрессировали GFP (Рис. 1, g-i). 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.1, c).

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. 2, а). 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. 2, а). 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. 1, а). Гибель мышей наступала также началась на 3-ей неделе роста опухоли. На 5-ю неделю всех выживших к этому времени мышей забили, опухоли выделили и проанализировали субпопуляционный состав опухоли-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. 2, b).

Анализ инфильтрирующих опухоль лимфоцитов показал значительную гетерогенность популяций в разных группах. Максимальный Т-клеточный ответ зарегистрировали в группе i.p. (Рис. 2, c), 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. 2, c), 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. 2, d). 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 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 Ho et al. использовали клетки Pan02, введенные в селезенку для моделирования метастазирующего рака ПЖ [5].

4 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.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Экспрессия GFP клетками Pan02-GFP *in vitro* (a-b) и *ex vivo* через 2 и 4 недели после начала роста опухоли в моделях перевивки ортотопически под капсулу поджелудочной железы (d, g), подкожно (e, h) и внутрибрюшинно (c, f, e). 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 μ m.

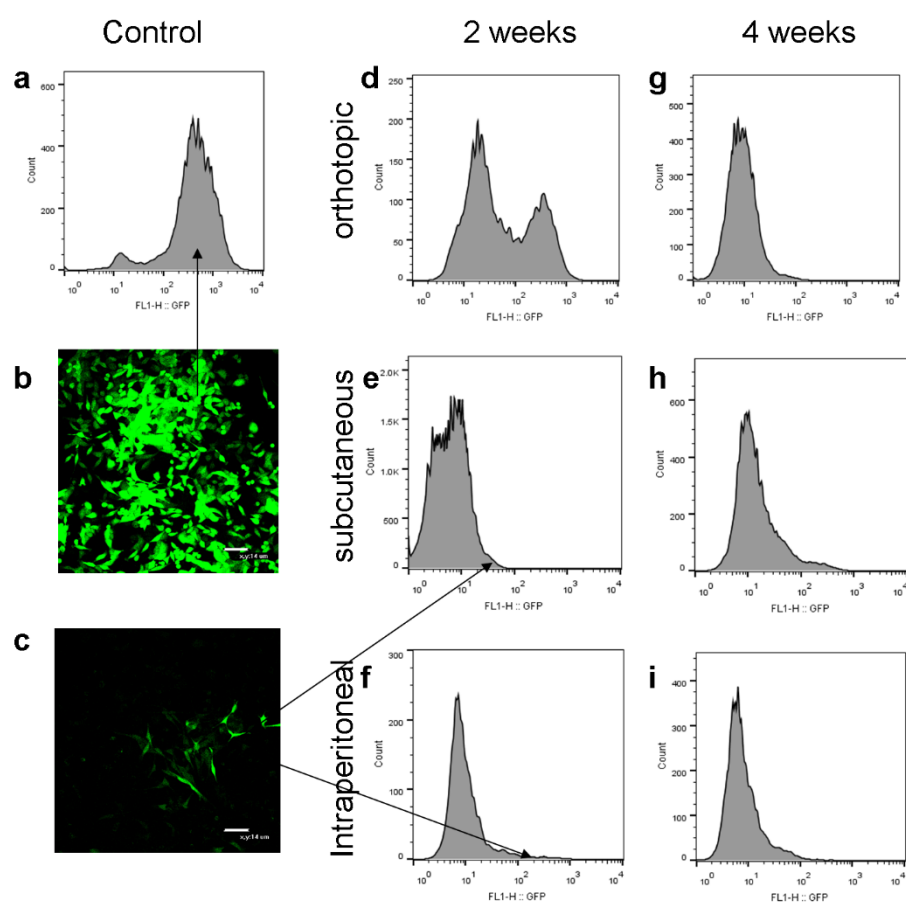
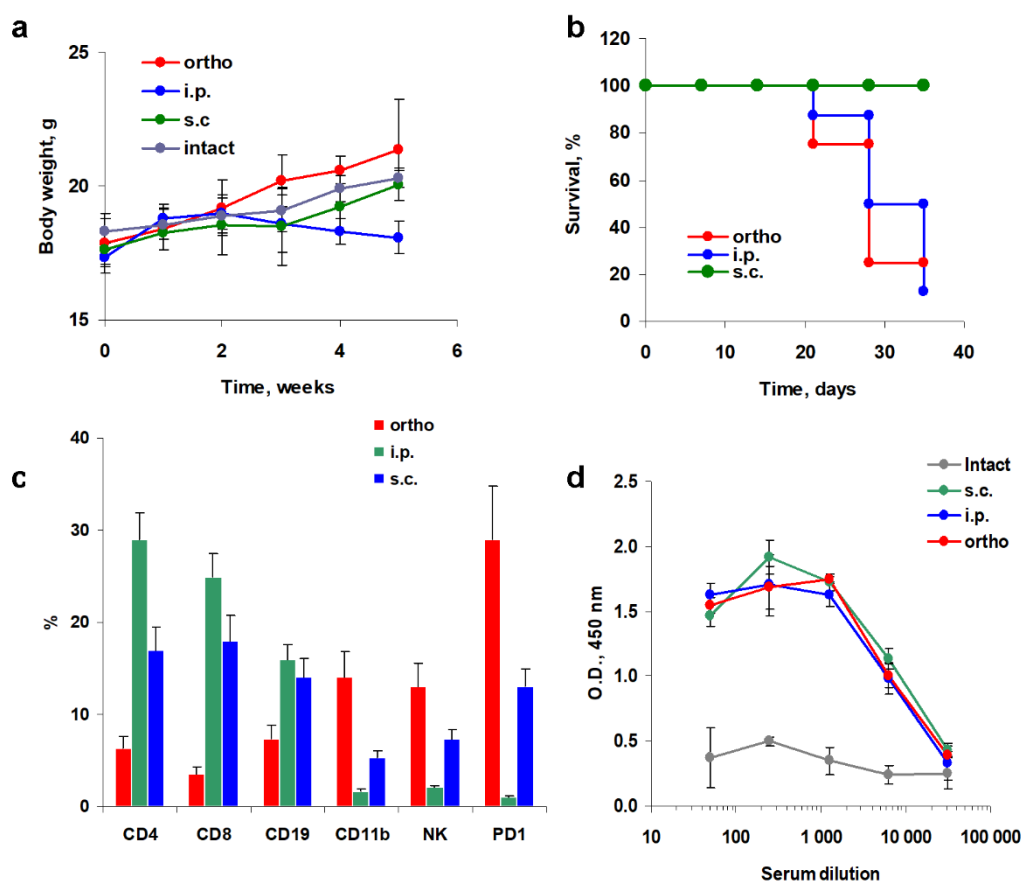


Рисунок 2. Характеристика роста клеток Pan02-GFP, перевитых ортотопически под капсулу поджелудочной железы (Ortho), подкожно (s.c.) и внутрибрюшинно (i.p.). а: Изменение массы тела мышей с момента начала роста опухоли. б: Выживание мышей в разных группах. с: Субпопуляционный состав опухоли-ассоциированных лимфоцитов разных групп через 4 недели роста опухоли. d: 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.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Свирщевская Елена Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии, Институт биоорганической химии; адрес: РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; телефон: 8(910)464-87-60; e-mail: esvir@mail.ibch.ru

Svirshchevskaya Elena Viktorovna – candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Department of Immunology, Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; address: 16/10 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997; telephone: 8(910)464-87-60; e-mail: esvir@mail.ibch.ru

Блок 2. Информация об авторах

Акопов Сергей Борисович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник [Лаборатории структуры и функций генов человека](#). Институт биоорганической химии РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

Akopov Sergey Borisovich – Doctor of Biological Sciences, leading researcher at the Laboratory of the Structure and Functions of Human Genes. Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 16/10 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997;

Снежков Евгений Валерьевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник [Лаборатории структуры и функций генов человека](#). . Институт биоорганической химии РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

Evgeny V. Snezhkov – Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of the Structure and Functions of Human Genes. . Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 16/10 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997;

Коновалова Мария Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела иммунологии, Институт биоорганической химии РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

Konovalova Maria Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Researcher at the Department of Immunology, Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 16/10 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997;

Костромина Мария Андреевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биофармацевтических технологий. Институт биоорганической химии РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

Kostromina Maria Andreevna – Candidate of Biological Sciences, researcher at the Laboratory of Biopharmaceutical Technologies. Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 16/10 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997;

Есипов Роман Станиславович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией биофармацевтических технологий. Институт биоорганической химии РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

Roman Stanislavovich Esipov – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Biopharmaceutical Technologies. Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 16/10 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997.

Блок 3. Метаданные статьи

МОДЕЛИ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ PAN02, НЕСУЩЕЙ
МАРКЕР GFP, НА МЫШАХ

PAN02 PANCREATIC TUMOR MODELS CARRYING THE GFP MARKER IN
MICE

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

МОДЕЛИ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ PAN02-GFP

PANCREATIC TUMOR MODELS PAN02-GFP

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

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

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 6,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 2.

01.04.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

# п/п	Ссылки		doi
1	Boj SF, Hwang CI, Baker LA, Chio II, Engle DD, Corbo V, Jager M, Ponz-Sarvise M, Tiriack H, Spector MS, Gracanin A, Oni T, Yu KH, van Boxtel R, Huch M, Rivera KD, Wilson JP, Feigin ME, Öhlund D, Handly-Santana A, Ardito-Abraham CM, Ludwig M, Elyada E, Alagesan B, Biffi G, Yordanov GN, Delcuze B, Creighton B, Wright K, Park Y, Morsink FH, Molenaar IQ, Borel Rinkes IH, Cuppen E, Hao Y, Jin Y, Nijman IJ, Iacobuzio-Donahue C, Leach SD, Pappin DJ, Hammell M, Klimstra DS, Basturk O, Hruban RH, Offerhaus GJ, Vries RG, Clevers H, Tuveson DA. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer. <i>Cell</i> . 2015, Vol.160, no. 1-2, pp. 324-38.		10.1016/j.cell.2014.12.021
2	Canto MI, Harinck F, Hruban RH, Offerhaus GJ, Poley JW, Kamel I, Nio Y, Schulick RS, Bassi C, Kluijdt I, Levy MJ, 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. <i>Gut</i> . 2013. Vol. 62, no. 3, pp.339-47.		10.1136/gutjnl-2012-303108
3	Crowley F, Gandhi S, Rudshteyn M, Sehmbhi M, Cohen DJ. Adherence to NCCN Genetic Testing Guidelines in Pancreatic Cancer and Impact on Treatment. <i>Oncologist</i> . 2023. Vol. 28, no. 6, pp. 486-493.		10.1093/oncolo/oyad044
4	Gugenheim J, Crovetto A, Petrucciani N. Neoadjuvant therapy for pancreatic cancer. <i>Updates Surg</i> . 2022. Vol. 74, no. 1, pp. 35-42.		10.1007/s13304-021-01186-1.

5	Ho TTB, 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. <i>J Immunother Cancer</i> . 2020. Vol. 8, no. 2, pp. e001367.		10.1136/jitc-2020-001367.
6	Li K, Tandurella JA, Gai J, Zhu Q, Lim SJ, Thomas DL 2nd, Xia T, Mo G, Mitchell JT, Montagne J, Lyman M, Danilova LV, Zimmerman JW, Kinney-Köster B, Zhang T, Chen L, Blair AB, Heumann T, Parkinson R, Durham JN, Narang AK, Anders RA, Wolfgang CL, Laheru DA, He J, Osipov A, Thompson ED, Wang H, Fertig EJ, Jaffee EM, Zheng L. Multi-omic analyses of changes in the tumor microenvironment of pancreatic adenocarcinoma following neoadjuvant treatment with anti-PD-1 therapy. <i>Cancer Cell</i> . 2022, Vol. 40, no. 11, pp. 1374-1391.e7.		10.1016/j.ccell.2022.10.001
7	Mallya K, Gautam SK, Aithal A, Batra SK, Jain M. Modeling pancreatic cancer in mice for experimental therapeutics. <i>Biochim Biophys Acta Rev Cancer</i> . 2021, Vol. 1876, no. 1, pp. 188554.		10.1016/j.bbcan.2021.188554
8	McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. <i>World J Gastroenterol</i> . 2018, Vol. 24, no. 43, pp. 4846-4861.		10.3748/wjg.v24.i43.4846
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		10.1016/j.pan.2018.09.012

	Health and Care Excellence. <i>Pancreatology</i> . 2018, Vol. 18, no. 8, pp. 962-970.		
10	Piper M, Hoen M, Darragh LB, Knitz MW, Nguyen D, Gadwa J, Durini G, Karakoc I, Grier A, Neupert B, Van Court B, Abdelazeem KNM, Yu J, Olimpo NA, Corbo S, Ross RB, Pham TT, Joshi M, Kedl RM, Saviola AJ, Amann M, Umaña P, Codarri Deak L, Klein C, D'Alessandro A, Karam SD. Simultaneous targeting of PD-1 and IL-2R β with radiation therapy inhibits pancreatic cancer growth and metastasis. <i>Cancer Cell</i> . 2023, Vol. 41, no. 5, pp. 950-969.e6.		10.1016/j.ccell.2023.04.001
11	Pushalkar S, Hundeyin M, Daley D, Zambirinis CP, Kurz E, Mishra A, Mohan N, Aykut B, Usyk M, Torres LE, Werba G, Zhang K, Guo Y, Li Q, Akkad N, Lall S, Wadowski B, Gutierrez J, Kochen Rossi JA, Herzog JW, Diskin B, Torres-Hernandez A, Leinwand J, Wang W, Taunk PS, Savadkar S, Janal M, Saxena A, Li X, Cohen D, Sartor RB, Saxena D, Miller G. The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and Adaptive Immune Suppression. <i>Cancer Discov</i> . 2018, Vol. 8, no. 4, pp. 403-416.		10.1158/2159-8290.CD-17-1134
12	Svirshchevskaya EV, Konovalova MV, Snezhkov EV, Poltavtseva RA, Akopov SB. Chemokine Homeostasis in Healthy Volunteers and during Pancreatic and Colorectal Tumor Growth in Murine Models. <i>Curr Issues Mol Biol</i> . 2022, Vol. 44, no. 10, pp. 4987-4999.		10.3390/cimb44100339
13	Yamamoto K, Venida A, Yano J, Biancur DE, Kakiuchi M, Gupta S, Sohn ASW, Mukhopadhyay S, Lin EY, Parker SJ, Banh RS, Paulo JA, Wen KW, Debnath J, Kim GE, Mancias JD, Fearon DT, Perera RM, Kimmelman AC.		10.1038/s41586-020-2229-5

	Autophagy promotes immune evasion of pancreatic cancer by degrading MHC-I. <i>Nature</i> . 2020, Vol. 581, no. 7806, pp. 100-105.		
--	---	--	--