

## Генно-инженерные саморегулируемые дрожжевые пробиотики для лечения воспалительных заболеваний кишечника

### Self-tunable engineered yeast probiotics for the treatment of inflammatory bowel disease

Benjamin M. Scott <sup>1,2,3,9,11</sup>, Cristina Gutiérrez-Vázquez <sup>4,11</sup>, Liliana M. Sanmarco<sup>4</sup>, Jessica A. da Silva Pereira <sup>4</sup>, Zhaorong Li <sup>4</sup>, Agustín Plasencia <sup>4</sup>, Patrick Hewson<sup>4</sup>, Laura M. Cox<sup>4</sup>, Madelynn O'Brien<sup>4</sup>, Steven K. Chen <sup>1</sup>, Pedro M. Moraes-Vieira<sup>5</sup>, Belinda S. W. Chang<sup>1,6,7</sup>, Sergio G. Peisajovich<sup>1,7,10</sup> и Francisco J. Quintana <sup>4,8</sup>✉

**Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) — группа комплексных хронических воспалительных нарушений со стороны желудочно-кишечного тракта. Внеклеточный аденозинтрифосфат (вАТФ), вырабатываемый условно-патогенной микробиотой и клетками макроорганизма, активирует пуриnergическую передачу сигнала, способствуя развитию воспалительных и патологических процессов в кишечнике. Учитывая роль вАТФ в развитии воспалительных процессов в кишечнике, мы создали дрожжевые пробиотики, экспрессирующие пуриnergический рецептор человека P2Y<sub>2</sub>, чувствительность которого к вАТФ приблизительно в 1000 раз выше. Мы связали активацию этого созданного рецептора P2Y<sub>2</sub> с секрецией АТФ-расщепляющего фермента апиразы, создав таким образом дрожжевые пробиотики, способные воспринимать провоспалительные молекулы и формировать пропорциональный саморегулируемый ответ, направленный на их нейтрализацию. Такие саморегулируемые дрожжевые пробиотики подавляли воспаление в кишечнике в мышинных моделях ВЗК, уменьшая фиброз и дисбиоз так же и даже более эффективно, чем стандартные препараты, как правило обладающие значимыми нежелательными явлениями. Благодаря сочетанию подхода направленной эволюции и циркуляции синтетических генов нами разработана уникальная саморегулируемая платформа для лечения ВЗК и, возможно, других воспалительных патологий.**

ВЗК представляют собой комплексные хронические воспалительные нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта, включающие болезнь Крона и язвенный колит.<sup>1</sup> Большинство средств лечения ВЗК подавляют иммунную систему системно, в результате чего повышается риск развития инфекций и некоторых опухолей, в то время как пользу от их применения получают не все пациенты.<sup>2</sup> Таким образом, существует неудовлетворенная клиническая потребность в препаратах для лечения ВЗК с регулируемым местным действием.

Микробиом контролирует важные иммунные функции как в норме, так и при целом ряде заболеваний, включая ВЗК.<sup>3-5</sup> Его роль патогенезе заболеваний, а также противовоспалительные эффекты некоторых условно-патогенных микроорганизмов подтверждают целесообразность применения препаратов на основе пробиотиков для лечения ВЗК.<sup>6</sup> Однако в природных пробиотиках используются естественные, противовоспалительные механизмы, отобранные в ходе эволюции для оптимизации взаимодействий между макроорганизмом и условно-патогенной флорой в здоровом кишечнике, но не в случае развития патологических воспалительных реакций.<sup>7</sup>

Последние достижения в области синтетической биологии позволяют создавать пробиотики, способные поставлять терапевтические белки в ответ на сигналы, характерные для заболеваний.<sup>8-10</sup> Одним из таких сигналов, характерных для ВЗК, является вАТФ, высвобождаемый активированными иммунными клетками и условно-патогенными бактериями. Сигналы вАТФ, передаваемые через пуриnergические рецепторы, помимо прочих биологических ответов, играющих свою роль в развитии ВЗК, стимулируют выработку провоспалительных цитокинов и активацию эффекторных Т-

клеток, подавляют ответы регуляторных Т-клеток (T<sub>reg</sub>) и усиливают апоптоз нервных клеток кишечника.<sup>11-14</sup> Передача сигналов вАТФ ограничивается связанным с мембраной ферментом эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазой 1 (ENTPD1, или CD39), с помощью которого осуществляется гидролиз вАТФ до АМФ; Фермент CD73 участвует в превращении АМФ в обладающий иммуносупрессивными свойствами аденозин. CD39 уменьшает вАТФ-опосредованные провоспалительные ответы, усиливая в то же время дифференциацию, стабильность и функцию T<sub>reg</sub>-клеток.<sup>14-16</sup> Таким образом, пуриnergический сигнальный путь является возможной мишенью терапии ВЗК, однако с оговоркой, что, несмотря на сильное противовоспалительное действие, длительная активация аденозинового сигнального пути может вызвать фиброз, прогрессирующий под действием цитокинов.<sup>17, 18</sup> Следовательно, терапевтическое воздействие на пуриnergический сигнальный путь требует использования подхода с возможностью регулирования - когда и где это необходимо, предусматривающего ответ на провоспалительные концентрации вАТФ и самоограничивающееся действие для минимизации побочных эффектов, обусловленных продолжительным действием аденозина.

Дрожжи вида *Saccharomyces* давно применяют при производстве продуктов питания, а некоторые из них считаются безопасными пробиотиками.<sup>19</sup> Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* обладают хорошо изученным путем передачи сигнала, сигнала спаривания, который может быть функционально связан с рецептором, сопряженным с G-белком человека (GPCR), позволяющим контролировать экспрессию белков в ответ на стимулы, характерные для физиологии человека.<sup>20, 21</sup> Для создания пробиотиков на основе *S. cerevisiae* мы скомбинировали подходы направленной эволюции и синтетической биологии, когда секреция CD39-подобного фермента апиразы, разрушающего вАТФ, происходит в ответ на выявление вАТФ за счет сконструированного человеческого рецептора GPCR P2Y2. Эти созданные нами саморегулируемые дрожжевые пробиотики подавляют воспаление кишечника в экспериментах на мышах и могут представлять собой новую терапевтическую платформу для лечения ВЗК и других воспалительных нарушений.

Источник: <https://www.nature.com/articles/s41591-021-01390-x>