

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-2-61-68>

Оценка иммуногенности синтетических неоантигенных пептидов для модели противомеланомной вакцины

А.А. Рудакова, М.А. Барышникова, З.А. Соколова, О.С. Бурова, Е.Н. Кособокова, В.С. Косоруков

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Анна Андреевна Рудакова rudakovaan93@yandex.ru

Введение. Одним из многообещающих подходов к лечению злокачественных новообразований является иммунотерапия, основанная на использовании мутантных неоантигенов опухоли для активации противоопухолевого иммунного ответа.

Цель исследования – оценка индивидуальной иммуногенности синтетических неоантигенных пептидов для модели вакцины против меланомы B16-F10.

Материалы и методы. Исследовали 32 неоантигенных синтетических пептида длиной 25–27 аминокислот, которые были выбраны ранее в результате биоинформатического анализа данных секвенирования меланомы B16-F10 и здоровых тканей мышей C57BL/6J как потенциально иммуногенные. Группы мышей C57BL/6J 4-кратно с интервалом в неделю иммунизировали каждым отдельным пептидом в сочетании с адъювантом Poly(I:C), мышей в 1 группе иммунизировали только Poly(I:C), а в контрольной группе не иммунизировали. Иммуногенность пептидов оценивали по продукции интерферона γ спленocyтaми методом ELISpot и по уровню сывороточных цитокинов Th1/Th2 методом ELISA у иммунизированных мышей и у животных в контрольной группе.

Результаты. 25 из 32 исследованных пептидов вызывали увеличение количества интерферон- γ -продуцирующих клеток селезенки ранее иммунизированных мышей, однако 8 из этих пептидов вызывали неспецифическое увеличение продукции интерферона γ спленocyтaми у неиммунизированных животных. Обнаружено, что только 11 из 32 пептидов вызывали повышение уровня сывороточных цитокинов интерферона γ и интерлейкина 4, отвечающих за развитие иммунного ответа Th1 и Th2. При этом только 7 пептидов влияли на увеличение количества интерферон- γ -продуцирующих спленocyтa и уровня цитокинов интерферона γ и интерлейкина 4.

Заключение. Проведена оценка иммуногенности 32 синтетических неоантигенных пептидов. Показано, что 7 пептидов активируют клеточный иммунный ответ.

Ключевые слова: синтетические пептиды, неоантигены, меланома, иммунный ответ, противоопухолевая вакцина

Для цитирования: Рудакова А.А., Барышникова М.А., Соколова З.А. и др. Оценка иммуногенности синтетических неоантигенных пептидов для модели противомеланомной вакцины. Российский биотерапевтический журнал 2021;20(2):61–8. DOI: 10.17650/1726-9784-2021-20-2-61-68.

Evaluation of immunogenicity of synthetic neoantigen peptides for the melanoma vaccine model

Anna A. Rudakova, Maria A. Baryshnikova, Zinaida A. Sokolova, Olga S. Burova, Ekaterina N. Kosobokova, Vyacheslav S. Kosorukov

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Contacts: Anna Andreevna Rudakova rudakovaan93@yandex.ru

Introduction. Immunotherapy based on the usage of mutant tumor neoantigens to activate the antitumor immune response is one of the most promising approaches to cancer treatment.

Purpose. Evaluation of individual immunogenicity of synthetic neoantigen peptides for the B16-F10 melanoma vaccine model.

Materials and methods. We studied 32 synthetic neoantigen peptides with a length of 25–27 amino acids, which were previously selected as potentially immunogenic by bioinformatic analysis of B16-F10 melanoma sequencing

data and healthy tissues of C57Bl/6J mice. Groups of C57Bl/6J mice were immunized four times at weekly intervals with each individual peptide in combination with the adjuvant Poly(I:C), one of the groups was immunized only with Poly(I:C), and the control group was not immunized with anything. The immunogenicity of peptides was assessed by the production of interferon γ in splenocytes using the ELISpot method and by the level of serum cytokines Th1/Th2 using the ELISA method in immunized mice and in animals in the control group.

Results. Of the 32 peptides studied, 25 caused an increase in the number of interferon- γ -producing spleen cells in previously immunized mice, but 8 of these peptides caused a non-specific increase in the production of interferon γ by splenocytes in non-immunized animals. It was found that out of 32 peptides, only 11 caused an increase in the level of serum cytokines interferon γ and interleukin 4, which are responsible for the development of the immune response along the Th1 and Th2 pathways. But only 7 peptides affected an increase in the number of interferon- γ -producing splenocytes and an enhance of cytokines interferon γ and interleukin 4 levels.

Conclusion. Thus, the immunogenicity of 32 synthetic neoantigen peptides was evaluated, and 7 peptides were shown to activate the cellular immune response.

Key words: synthetic peptides, neoantigens, melanoma, immune response, antitumor vaccine

For citation: Rudakova A.A., Baryshnikova M.A., Sokolova Z.A. et al. Evaluation of immunogenicity of synthetic neoantigen peptides for the melanoma vaccine model. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2021;20(2):61–8. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2021-20-2-61-68.

Введение

Вакциноterapia, нацеленная на усиление распознавания иммунной системой мутантных неоантигенов опухоли, является одним из многообещающих подходов к персонализированной иммунотерапии рака [1]. Неоантигены образуются в результате уникальных соматических мутаций в геноме каждой отдельной опухоли, они могут обладать высокой иммуногенностью, так как отсутствуют в нормальных тканях и поэтому могут распознаваться иммунной системой как чужеродные антигены. Опухолевые мутантные неоантигены рассматриваются в качестве мишеней для иммунотерапии с потенциально высокой специфичностью, эффективностью и безопасностью. Благодаря достижениям в технологии секвенирования генома, а также совершенствованию биоинформатических алгоритмов прогнозирования появилась возможность идентифицировать иммуногенные неоантигены у отдельных пациентов [2–4].

Ранее нами был разработан биоинформатический подход для анализа данных высокопроизводительного секвенирования образцов меланомы и нормальной ткани и предсказания пептидов, способных вызывать иммунный ответ на модели мышинной меланомы B16-F10 [5]. В результате этой работы были спрогнозированы иммуногенные пептиды длиной 25–27 аминокислот, которые затем были синтезированы. На следующем этапе работы мы оценили иммуногенность и противоопухолевую активность синтезированных неоантигенных пептидов, сгруппировав их по 5–6 пептидов в модели вакцины, которыми двукратно иммунизировали мышей [6]. Вакцинация мышей группами синтетических неоантигенных пептидов в сочетании с адъювантом Poly(I:C) вызывала стимуляцию клеточного иммунного ответа, выражающуюся в увеличении количества продуцирующих интерферон γ (ИФН- γ) клеток селезенки. Противо-

опухолевый ответ вызывали, однако, не все группы пептидов [6]. Для оценки вклада каждого пептида в развитие эффектов было решено исследовать иммуногенность каждого из них.

Цель данного исследования — оценка индивидуальной иммуногенности синтетических неоантигенных пептидов для модели вакцины против меланомы B16-F10.

Материалы и методы

Исследована иммуногенность 32 пептидов длиной от 25 до 27 аминокислот, синтезированных по результатам биоинформатического анализа данных секвенирования мышинной меланомы B16-F10 и нормальной ткани мышей C57Bl/6J (табл. 1). Рейтинг иммуногенности и противоопухолевой активности пептидов, аффинных к H2 (MHC), был спрогнозирован с использованием модели, основанной на искусственных нейронных сетях [5].

Пептиды растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) («ПанЭко», Россия) до концентрации 10 мг/мл и в физиологическом растворе — 1 доза содержала 100 мкг пептида в 300 мкл 10 % раствора ДМСО.

Исследование проводили на мышах-самцах линии C57Bl/6J с массой тела 20–22 г, полученных из экспериментально-биологической лаборатории (вивария) ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Мышей разделили на 34 группы, в каждой из которых было по 5 особей. В каждой группе мышей иммунизировали 1 из 32 пептидов (см. табл. 1) с адъювантом (Poly(I:C) (Sigma) — 50 мкг на мышь в 200 мкл физраствора). В 1 группе мышей иммунизировали только адъювантом Poly(I:C). Мышей контрольной группы не иммунизировали.

Исследуемые пептиды вводили подкожно в складку кожи на левом боку мыши по направлению к передней

Таблица 1. Исследуемые пептиды

Table 1. Investigated peptides

№ No	Название пептида Name of peptide	Ген Gene	Замена Replacement	Последовательность Sequence	Рейтинг Score
1	g.101573665C>G	<i>Krt75</i>	p.G56A	GRISGIGS_A_FGSRSLYNLGGTRRVSIG	2,09
2	g.105559136C>T	<i>Apbb1</i>	p.C654Y	ASLSEAVQAA_Y_MLRYQKCLDARSQTST	2,19
3	g.107599034A>C	<i>Sema3b</i>	p.L663V	LRRLVLHV_V_SAAQAERLARAEEAAAPA	0,00
4	g.108075690C>A	<i>Ampd2</i>	p.Q666H	LSENISHGLLLRKAPVL_H_YLYLAQIG	5,19
5	g.109894747T>G	<i>Dennd5a</i>	p.D1250A	PITAHMYE_A_VALIKDHTLVNSLRVLQ	13,86
6	g.110327865C>T	<i>Pole</i>	p.L1847F	TLHNMMKK_F_FLQLIAEFKRLGSSVVYA	3,58
7	g.126439132G>T	<i>Arsj</i>	p.R509M	FNITADPYERVDLSS_M_YPGIVKKLLRR	2,17
8	g.142664440A>G	<i>Wipi2</i>	p.T304A	PSQVTEMFNQGRAFA_A_VRLPFCGHKNI	1,30
9	g.145123749C>T	<i>Arpc1b</i>	p.S117F	WAPNENKFAVGSF_F_RVISICYFEQEND	6,57
10	g.153509426A>T	<i>St6galnac3</i>	p.D30E	LLLAMRLVN_E_ATFPLLLNCFGQPKTKW	1,34
11	g.190937554G>A	<i>Angel2</i>	p.D166N	RNV DSTCEDREDKF_N_FSVMSYNILSQD	1,40
12	g.28894578A>C	<i>Actn4</i>	p.F855V	SGLVTFQAFID_V_MSRETTDTDTADQVI	6,59
13	g.29565843C>G	<i>Tnpo3</i>	p.G504A	VDRNPQFLDPVL_A_YLMKGLCEKPLASA	4,16
14	g.35197173T>G	<i>3110043021Rik</i>	p.Q297H	VQGLLKDATGSFVLPFR_H_VMYAPYPTT	2,39
15	g.4007844T>G	<i>Mthfd1l</i>	p.F294V	WIPSGTTILNCFHD_V_LSGKLSGGSPGV	0,42
16	g.45553003G>T	<i>Poll</i>	p.H509N	ALLYFTGSA_N_FNRSMRALAKTKGMSLS	2,51
17	g.5098048A>C	<i>Atp6v1h</i>	p.K147T	VHMAARIA_T_LAAWGKELMEGSDLNYY	3,44
18	g.54847269G>T	<i>Enpp2</i>	p.P755Q	PEAKYDAFLVTNMV_Q_MYPAFKRVWTYF	8,09
19	g.56226589G>T	<i>Herc2</i>	p.C4450F	GGLAGPDGTSVFGQM_F_AKMSSFSPDS	9,98
20	g.58476516A>C	<i>Orc2</i>	p.F278V	RVDQKTLHNLLRK_V_VPSFSAEIERLNQ	2,51
21	g.60246193G>T	<i>Gm4951</i>	p.D267Y	FMFSLPNIT_Y_SVIEKRNFLRWKTWLE	12,98
22	g.6393021C>G	<i>Sdcbp</i>	p.I219M	SSGHVGFIFKSGK_M_TSIVKDSSAARNG	49,72
23	g.64957410G>C	<i>Klhl28</i>	p.P110A	GTVFISQDTVESLL_A_AANLLQIKLVLK	5,23
24	g.65813948T>A	<i>Pbk</i>	p.V145D	GSPFPAAVILR_D_ALHMARGLKYLHQEK	3,09
25	g.66708664A>C	<i>Lins1</i>	p.K154T	MRMLQNSD_T_LLSHMAAKCLASLLYFQL	3,89
26	g.69027878G>A	<i>Smc4</i>	p.D767N	SGGGSKVMRGRMGSSVI_N_EISVEEVNK	4,47
27	g.69615465A>T	<i>Nsun2</i>	p.K138M	AWHTNLSRKILR_M_SPLLAKFHQFLVSE	3,32
28	g.7163330C>T	<i>Pemtd1</i>	p.P222L	LAVSFAPLVQ_L_SKNDNGTPDSVGLPPC	4,88
29	g.77174891A>C	<i>2210408121Rik</i>	p.D13A	DALQEYSHNSF_A_LQCLLSFPDGLFEK	4,44
30	g.81419559T>A	<i>Adgrv1</i>	p.Y5165F	KITTIP_F_TTEVFAPVTETVTVSAIP	1,17
31	g.93352588T>C	<i>Ppp1r7</i>	p.L170P	RNIEGIDKLTQLKK_P_FLVNNKINKIEN	0,00
32	GFSQPLRRL	<i>Sema3b</i>	L663V	GFSQPLRRLVLHVVSAAQAERLARAEE	NA

лапке. За 5–10 мин до введения пептида в то же место вводили подкожно Poly(I:C). Иммунизацию проводили 4-кратно с недельными интервалами, в 0, 7, 14 и 21-й дни. На 25-й день получали сыворотку и спленоциты мышей.

Иммуногенность пептидов оценивали у иммунизированных мышей по увеличению количества ИФН- γ -продуцирующих клеток селезенки и по изменению уровня сывороточных цитокинов. Количество ИФН- γ -продуцирующих спленоцитов определяли методом ELISpot с помощью набора для определения мышинового ИФН- γ (3321-2AW-Plus, Mabtech). Для этого спленоциты инкубировали 48 ч с пептидами (20 мкг/лунку), которыми до этого иммунизировали мышей. В качестве положительного контроля стимуляции ИФН- γ использовали 50 мкг/лунку Poly(I:C). Для подтверждения специфичности клеточного иммунного ответа спленоциты стимулировали пептидами, которые не использовали для иммунизации этой мыши.

Изменение уровней сывороточных цитокинов ИФН- γ , интерлейкинов (ИЛ) 2, 4 и 10, определяющих пути развития иммунного ответа Th1/Th2, оценивали методом ELISA с использованием набора для определения сывороточных цитокинов Mouse Th1/Th2 Uncoated ELISA (88-7711-44, Invitrogen, ThermoFisher Scientific). Чувствительность используемой тест-системы: ИФН- γ – 15 пг/мл, ИЛ-2 – 2 пг/мл, ИЛ-4 – 4 пг/мл, ИЛ-10 – 30 пг/мл.

Результаты экспериментов представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение. Статистическая обработка полученных данных была выполнена с помощью программы Statistica 2.0 с использованием критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

В работе мы оценили влияние иммунизации пептидами на активацию Т-клеточного иммунитета – по изменению продукции ИФН- γ спленоцитами мышей, а также на изменение уровня сывороточных цитокинов ИФН- γ и ИЛ-2, -4, -10.

При анализе результатов ELISpot иммуногенность пептидов оценивали по количеству клеток, продуцирующих ИФН- γ (количеству точек в лунках): менее 30 точек считали отсутствием реактивности, от 30 до 50 точек – слабой иммуногенностью, от 50 до 200 – средней, от 200 и выше – сильной иммуногенностью [7].

В табл. 2 показано, что из 32 исследованных пептидов 19 обладали сильной иммуногенностью, 6 – средней иммуногенностью, у 7 пептидов иммуногенность отсутствовала. У 7 пептидов из 19 с сильной иммуногенностью и у 1 пептида из 6 со средней иммуногенностью наблюдали неспецифическую сти-

муляцию продукции ИФН- γ в спленоцитах неиммунизированных животных.

В табл. 3 представлены результаты изменения уровня сывороточных цитокинов у иммунизированных мышей.

В контрольной группе и в группе, иммунизированной Poly(I:C), уровень всех сывороточных цитокинов был ниже уровня чувствительности тест-системы.

Выявлено, что 11 из исследуемых пептидов вызвали у иммунизированных ими групп мышей повышение уровня как ИФН- γ , так и ИЛ-4, что определяет развитие иммунного ответа в направлении клеточной и гуморальной защиты соответственно. Отдельно ИФН- γ был повышен только после иммунизации пептидом g.7163330C>T, а ИЛ-4 также только после иммунизации 1 пептидом – g.108075690C>A. Иммунизация пептидом g.45553003G>T вызывала повышение уровня всех 4 исследованных цитокинов. Изменений уровня секреции цитокинов ИЛ-2, ИЛ-10 после иммунизации всеми остальными пептидами не отмечено.

Следует отметить, что продукция ИФН- γ спленоцитами была обнаружена при иммунизации 25 пептидами, а повышение цитокина ИФН- γ в сыворотке крови – при иммунизации 11 пептидами. Причем только 7 пептидов индуцировали продукцию ИФН- γ в спленоцитах и повышение уровня этого цитокина в сыворотке крови одновременно.

Заключение

Успех противоопухолевой иммунотерапии часто зависит от критического баланса Т-хелперных иммунных ответов Th1 и Th2, управляемых антиген-презентирующими клетками. Путь развития иммунного ответа Th1 приводит к активации цитотоксических Т-лимфоцитов, уничтожающих опухолевые клетки. Также Th1-лимфоциты могут убивать опухолевые клетки, активируя цитокинами рецепторы смерти на поверхности опухолевых клеток. Th2-лимфоциты отвечают за развитие гуморального иммунного ответа [8].

Мы оценили иммуногенность 32 синтетических неоантигенных пептидов, синтезированных для модели вакцины против мышинной меланомы B16-F10. Обнаружено, что 25 пептидов стимулировали продукцию ИФН- γ в спленоцитах ранее иммунизированных животных, однако 8 из этих пептидов продемонстрировали неспецифическую стимуляцию продукции ИФН- γ у неиммунизированных мышей, возможно связанную с макрофагами селезенки. Для 11 пептидов показана стимуляция одновременно Th1 и Th2 путей развития иммунного ответа. Только 7 пептидов из 32 вызывали одновременно и увеличение продукции ИФН- γ в спленоцитах, и увеличение уровня

Таблица 2. Влияние пептидов на продукцию интерферона γ (ИФН- γ) спленocyтaми иммунизированных мышейTable 2. Effect of peptides on the production of interferon γ (IFN- γ) by splenocytes of immunized mice

№ No	Название пептида Name of peptide	Количество ИФН- γ -продуцирующих клеток из 1×10^{-5} спленocyтa Quantity of IFN- γ -producing cells from 1×10^{-5} splenocytes	
		Стимуляция клеток ранее иммунизированных мышей Cells stimulation of early immunized mice	Стимуляция клеток неиммунизированных мышей Cells stimulation of not immunized mice
1	g.101573665C>G	549 \pm 9*	89 \pm 13*
2	g.105559136C>T	352 \pm 17*	11 \pm 2
3	g.107599034A>C	220 \pm 15*	10 \pm 4
4	g.108075690C>A	4 \pm 1	2 \pm 1
5	g.109894747T>G	2 \pm 2	1 \pm 1*
6	g.110327865C>T	20 \pm 4	8 \pm 3
7	g.126439132G>T	373 \pm 17*	46 \pm 11*
8	g.142664440A>G	396 \pm 10*	90 \pm 15*
9	g.145123749C>T	29 \pm 3*	3 \pm 2
10	g.153509426A>T	204 \pm 17*	5 \pm 2
11	g.190937554G>A	158 \pm 20*	4 \pm 1
12	g.28894578A>C	51 \pm 1*	9 \pm 3
13	g.29565843C>G	434 \pm 3*	76 \pm 8*
14	g.35197173T>G	422 \pm 7*	65 \pm 12*
15	g.4007844T>G	197 \pm 12*	84 \pm 2*
16	g.45553003G>T	102 \pm 2*	8 \pm 3
17	g.5098048A>C	209 \pm 15*	6 \pm 2
18	g.54847269G>T	132 \pm 14*	6 \pm 2
19	g.56226589G>T	445 \pm 13*	1 \pm 1*
20	g.58476516A>C	19 \pm 8	8 \pm 4
21	g.60246193G>T	440 \pm 15*	14 \pm 6
22	g.6393021C>G	426 \pm 9*	4 \pm 2
23	g.64957410G>C	138 \pm 11*	5 \pm 1
24	g.65813948T>A	414 \pm 16*	13 \pm 2
25	g.66708664A>C	208 \pm 1*	53 \pm 11*
26	g.69027878G>A	5 \pm 1	3 \pm 1
27	g.69615465A>T	13 \pm 5	2 \pm 1
28	g.7163330C>T	338 \pm 7*	6 \pm 3
29	g.77174891A>C	247 \pm 15*	11 \pm 2
30	g.81419559T>A	372 \pm 16*	18 \pm 4
31	g.93352588T>C	366 \pm 12*	27 \pm 6*
32	GFSQPLRRL	442 \pm 17*	95 \pm 12*

*Достоверные отличия от контрольной группы ($p < 0,05$).*Significant difference from the control sample ($p < 0.05$).

Таблица 3. Влияние пептидов на уровень цитокинов в сыворотке крови иммунизированных мышей

Table 3. Effect of peptides on the level of cytokines in the blood serum of immunized mice

№ No	Название пептида Name of peptide	Уровень цитокинов, пг/мл Level of cytokines, pg/ml			
		Th1		Th2	
		ИФН- γ IFN- γ	ИЛ-2 IL-2	ИЛ-4 IL-4	ИЛ-10 IL-10
1	g.101573665C>G	<15	<2	<4	<30
2	g.105559136C>T	93,1 \pm 5,6	<2	61,9 \pm 3,7	<30
3	g.107599034A>C	<15	<2	<4	<30
4	g.108075690C>A	<15	<2	27,5 \pm 2,9	<30
5	g.109894747T>G	<15	<2	<4	<30
6	g.110327865C>T	131,9 \pm 3,9	<2	110,0 \pm 2,8	<30
7	g.126439132G>T	321,8 \pm 2,9	<2	212,3 \pm 4,5	<30
8	g.142664440A>G	<15	<2	<4	<30
9	g.145123749C>T	19,3 \pm 5,3	<2	10,9 \pm 1,8	<30
10	g.153509426A>T	<15	<2	<4	<30
11	g.190937554G>A	29,5 \pm 3,1	<2	23,1 \pm 3,6	<30
12	g.28894578A>C	<15	<2	<4	<30
13	g.29565843C>G	<15	<2	<4	<30
14	g.35197173T>G	<15	<2	<4	<30
15	g.4007844T>G	<15	<2	<4	<30
16	g.45553003G>T	32,4 \pm 3,8	2,9 \pm 0,1	8,5 \pm 1,9	114,8 \pm 4,2
17	g.5098048A>C	<15	<2	<4	<30
18	g.54847269G>T	<15	<2	<4	<30
19	g.56226589G>T	<15	<2	<4	<30
20	g.58476516A>C	16,4 \pm 1,8	<2	12,5 \pm 2,6	<30
21	g.60246193G>T	<15	<2	<4	<30
22	g.6393021C>G	<15	<2	<4	<30
23	g.64957410G>C	<15	<2	<4	<30
24	g.65813948T>A	<15	<2	<4	<30
25	g.66708664A>C	<15	<2	<4	<30
26	g.69027878G>A	1760,7 \pm 56,5	<2	660,4 \pm 13,7	<30
27	g.69615465A>T	664,0 \pm 28,2	<2	410,5 \pm 1,9	<30
28	g.7163330C>T	27,4 \pm 5,0	<2	<4	<30
29	g.77174891A>C	<15	<2	<4	<30
30	g.81419559T>A	662,4 \pm 17,8	<2	383,2 \pm 4,9	<30
31	g.93352588T>C	18,9 \pm 4,9	<2	17,7 \pm 1,9	<30
32	GFSQPLRRL	76,8 \pm 6,3	<2	70,5 \pm 7,1	<30

Примечание. ИФН- γ – интерферон γ ; ИЛ – интерлейкин.Note. IFN- γ – interferon γ ; IL – interleukin.

этого цитокина в сыворотке крови иммунизированных мышей. Иммуногенность пептидов не коррелировала с рейтингом, полученным в результате биоинформатического анализа (см. табл. 1).

На следующем этапе работы необходимо оценить индивидуальный противоопухолевый эффект имму-

ногенных пептидов у мышей с меланомой B16-F10, поскольку ранее нами было показано, что при иммунизации мышей моделью вакцины, содержащей комбинацию пептидов, увеличение количества ИФН-γ-продуцирующих клеток всегда являлось показателем противоопухолевой эффективности [6].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Барышникова М.А., Кособокова Е.Н., Косоруков В.С. Неоантигены в иммунотерапии опухолей. Российский биотерапевтический журнал 2018;17(2):6–14. [Baryshnikova M.A., Kosobokova E.N., Kosorukov V.S. Neoantigens in tumor immunotherapy. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2018;17(2): 6–14 (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-6-14.
2. Ott P.A., Hu Z., Keskin D.B. et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. Nature 2017;547(7662):217–21. DOI: 10.1038/nature22991.
3. Keskin D.B., Anandappa A.J., Sun J. et al. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial. Nature 2019;565(7738):234–9. DOI: 10.1038/s41586-018-0792-9.
4. Cafri G., Gartner J.J., Zaks T. et al. mRNA vaccine-induced neoantigen-specific T cell immunity in patients with gastrointestinal cancer. J Clin Invest 2020;130(11):5976–88. DOI: 10.1172/JCI134915.
5. Косоруков В.С., Барышникова М.А., Кособокова Е.Н. и др. Выявление иммуногенных мутантных неоантигенов в геноме меланомы мышей. Российский биотерапевтический журнал 2019;18(3):23–30. [Kosorukov V.S., Baryshnikova M.A., Kosobokova E.N. et al. Identification of immunogenic mutant neoantigens in the genome of murine melanoma. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2019;18(3):23–30 (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-3-23-30.
6. Барышникова М.А., Рудакова А.А., Соколова З.А. и др. Оценка противоопухолевой эффективности синтетических неоантигенных пептидов для модели противомеланомной вакцины. Российский биотерапевтический журнал 2019;18(4):76–81. [Baryshnikova M.A., Rudakova A.A., Sokolova Z.A. et al. Evaluation of the antitumor efficacy of synthetic neoantigen peptides for the melanoma vaccine model. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2019;18(4):76–81. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-4-76-81.
7. Castle J.C., Kreiter S., Diekmann J. et al. Exploiting the Mutaome for Tumor Vaccination. Cancer Res 2012;72(5):1081–90. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3722.
8. Knutson K.L., Disis M.L. Tumor antigen-specific T helper cells in cancer immunity and immunotherapy Cancer Immunol Immunother 2005;54(8):721–8. DOI: 10.1007/s00262-004-0653-2.

Вклад авторов

А.А. Рудакова: концепция и дизайн, предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи, редактирование статьи;
М.А. Барышникова: концепция и дизайн, сбор и обработка данных, предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи;
З.А. Соколова, О.С. Бурова: предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование статьи;
Е.Н. Кособокова: сбор и обработка данных, анализ и интерпретация данных, редактирование статьи;
В.С. Косоруков: концепция и дизайн, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация данных, редактирование статьи, утверждение окончательного варианта статьи.

Author's contributions

A.A. Rudakova: concept and design, provision of study materials, data analysis and interpretation, article preparation, editing of the article;
M.A. Baryshnikova: concept and design, data collection and processing, provision of study materials, data analysis and interpretation, article preparation;
Z.A. Sokolova, O.S. Burova: provision of study materials, data analysis and interpretation, editing of the article;
E.N. Kosobokova: data collection and processing, data analysis and interpretation, editing of the article;
V.S. Kosorukov: concept and design, data collection and processing, data analysis and interpretation, editing of the article, approval of the final version.

ORCID авторов /ORCID of authors

А.А. Рудакова / A.A. Rudakova: <https://orcid.org/0000-0001-7266-7689>
М.А. Барышникова / M.A. Baryshnikova: <https://orcid.org/0000-0002-6688-8423>
З.А. Соколова / Z.A. Sokolova: <https://orcid.org/0000-0003-4755-5313>
О.С. Бурова / O.S. Burova: <https://orcid.org/0000-0001-8897-0172>
Е.Н. Кособокова / E.N. Kosobokova: <https://orcid.org/0000-0002-4660-8519>
В.С. Косоруков / V.S. Kosorukov: <https://orcid.org/0000-0002-8462-2178>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа была выполнена при финансовой поддержке Минздрава России в рамках исследования № AAAA-A20-120022090056-5.
Financing. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of Russia in the framework of the research No AAA-A20-120022090056-5.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.
Statement of the welfare of animals. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes.

Статья поступила: 02.04.2021. Принята к публикации: 16.04.2021.
Article submitted: 02.04.2021. Accepted for publication: 16.04.2021.