

Сравнение Ридостина Про и Poly(I:C) в качестве адъюванта для противоопухолевой неоантигенной пептидной вакцины

М.А. Барышникова¹, А.В. Пономарев¹, А.А. Рудакова¹, З.А. Соколова¹, Н.В. Голубцова¹, П.В. Царапаев¹, Г.М. Левагина², Е.Д. Даниленко², В.С. Косоруков¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

²Институт медицинской биотехнологии ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Россия, 630010 Новосибирская область, Бердск, ул. Химзаводская, 9

Контакты: Александр Васильевич Пономарев kl8546@yandex.ru

Введение. Эффективность противоопухолевых неоантигенных пептидных вакцин зависит от наличия в их составе адъюванта. Poly(I:C), агонист TLR-3, в качестве адъюванта применяется в мышиных моделях противоопухолевых вакцин, но имеет ограничения для применения у людей. Поэтому актуален поиск новых эффективных адъювантов для включения в состав противоопухолевой неоантигенной пептидной вакцины. Ридостин Про – отечественный препарат, который содержит природный комплекс натриевых солей двуспиральных и односпиральных рибонуклеиновых кислот, является агонистом TLR-3, индуктором интерферона; показана его противоопухолевая активность. В связи с этим представляет интерес исследование Ридостина Про в качестве адъюванта в составе пептидных неоантигенных вакцин.

Цель исследования – оценить способность адъювантов Ридостин Про и Poly(I:C) усиливать специфический Т-клеточный ответ на неоантигенные синтетические пептиды; определить противоопухолевую эффективность неоантигенной пептидной вакцины с адъювантами Ридостин Про или Poly(I:C).

Материалы и методы. Иммуногенность пептидов после вакцинации с адъювантами Ридостин Про или Poly(I:C) определяли с помощью метода ELISpot. Противоопухолевый эффект адъювантов Ридостин Про или Poly(I:C) оценивали на мышиной модели опухоли B16-F10 по влиянию на скорость роста опухоли и выживаемость мышей.

Результаты. Вакцинация мышей Ридостином Про или Poly(I:C) с неоантигенными пептидами способствовала появлению специфического иммунного ответа к пептидам, входившим в состав вакцины. Ридостин Про и в составе модели вакцины, и при введении без пептида тормозит рост опухоли и увеличивает продолжительность жизни мышей с меланомой B16-F10.

Заключение. Ридостин Про способствует формированию специфического иммунного ответа на пептидную вакцину, усиливает ее противоопухолевый эффект. Эти результаты подтверждают, что Ридостин Про может оказаться эффективным адъювантом для персонализированных неоантигенных пептидных вакцин.

Ключевые слова: Poly(I:C), Ридостин Про, неоантигенная пептидная вакцина, B16-F10

Для цитирования: Барышникова М.А., Пономарев А.В., Рудакова А.А. и др. Сравнение Ридостина Про и Poly(I:C) в качестве адъюванта для противоопухолевой неоантигенной пептидной вакцины. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(3):82–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-82-89

Comparison of Ridostin Pro and Poly(I:C) as adjuvant for a cancer neoantigen peptide vaccine

Maria A. Baryshnikova¹, Alexander V. Ponomarev¹, Anna A. Rudakova¹, Zinaida A. Sokolova¹, Natalya V. Golubtsova¹, Pavel V. Tsarapaev¹, Galina M. Levagina², Elena D. Danilenko², Vyacheslav S. Kosorukov¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

²Institute of Medical Biotechnology of the State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vektor”; 9 Khimzavodskaya St., Berdsk, Novosibirsk region 630010, Russia

Contacts: Alexander Vasilievich Ponomarev kl8546@yandex.ru

Background. The effectiveness of cancer neoantigen peptide vaccines depends on the presence of an adjuvant in their composition. Poly(I:C), a TLR-3 agonist, is used as an adjuvant in mouse models of cancer vaccines, but has limitations for use in humans. Therefore, the search for new effective adjuvants for inclusion in the composition of cancer neoantigen peptide vaccine is relevant. Ridostin Pro is a domestic drug that contains a natural complex of sodium salts of double-chiral and single-chiral ribonucleic acids, is an agonist of TLR-3, an inducer of interferon, its antiviral activity is shown. In this regard, the study of Ridostin Pro as an adjuvant in the composition of neoantigen peptide vaccines is of interest.

Aim. To evaluate the ability of Ridostin Pro and Poly(I:C) adjuvants enhance the specific T-cell response to neoantigen synthetic peptides; to study the antitumor efficacy of a neoantigen peptide vaccine with Ridostin Pro or Poly(I:C) adjuvants.

Materials and methods. Immunogenicity of peptides after vaccination with Ridostin Pro or Poly(I:C) adjuvants evaluated with ELISpot. Antitumor effect of Ridostin Pro or Poly(I:C) adjuvants were evaluated on a mouse model of the B16-F10 tumor by the effect on the tumor growth rate and survival of mice.

Results. Vaccination of mice with Ridostin Pro or Poly(I:C) with neoantigen peptides contributed to the appearance of a specific immune response to peptides that were part of the vaccine. Ridostin Pro, both as part of a vaccine model and when administered without a peptide, inhibits tumor growth and increases the life expectancy of mice with melanoma B16-F10.

Conclusion. Ridostin Pro promotes the formation of a specific immune response to the peptide vaccine, enhances the antitumor effect of the vaccine. These results confirm that Ridostin Pro may prove to be an effective adjuvant for personalized neoantigen peptide vaccines.

Keywords: Poly(I:C), Ridostin Pro, neoantigen peptide vaccine, B16-F10

For citation: Baryshnikova M.A., Ponomarev A.V., Rudakova A.A. et al. Comparison of Ridostin Pro and Poly(I:C) as adjuvant for a cancer neoantigen peptide vaccine. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2022;21(3):82–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-82-89

Введение

Противоопухолевая вакциноterapia пептидными неоантигенными вакцинами направлена на индукцию или активацию Т-клеток, специфически распознающих и уничтожающих опухолевые клетки, а также на установление долговременной иммунологической памяти [1]. Однако для усиления действия противоопухолевых вакцин требуются эффективные адьюванты, и большие надежды возлагаются на лиганды толл-подобных рецепторов (TLR) [2]. Во время естественного антимикробного или противовирусного иммунного ответа связывание патогенассоциированных молекулярных паттернов с TLR инициирует активацию антигенраспознающих клеток. Это необходимо для адекватной презентации антигена, миграции дендритных клеток в лимфатический узел и в конечном счете для эффективного праймирования Т-клеток. Оптимальный адьювант противоопухолевой вакцины должен обладать свойствами, характерными для патогенассоциированных молекулярных паттернов. В дополнение к способности индуцировать Т-клеточный ответ адьювант должен быть безопасен и доступен [3].

Poly(I:C) — полиинозиновая-полицитидиловая кислота, синтетический аналог двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (РНК), обладает как выраженным противовирусным, так и противоопухолевым потенциалом [4]. Poly(I:C) и ее модификации уже несколько десятилетий изучаются в качестве адью-

вантов для иммунотерапии рака [5–8]. Двухцепочечная РНК появляется в клетках при вирусном заражении, представляя собой либо геном вирусов, либо промежуточный продукт репродукции вирусов, и индуцирует выработку интерферона (ИФН) 1-го типа и ряда других цитокинов [9].

В моделях на мышах после введения Poly(I:C) наблюдается замедление роста сингенных опухолевых имплантатов, что связано с активностью натуральных киллеров, дендритных клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов [10, 11]. Однако клинические исследования Poly(I:C) в качестве самостоятельного агента для лечения рака не показали ее положительного влияния на клинический исход, вероятно из-за короткого периода полураспада [12]. Стабилизированная форма Poly-ICLC оказалась в 5–10 раз более устойчивой к гидролизу в сыворотке приматов и индуцировала значительное увеличение уровня ИФН в сыворотке крови [13]. Повышенная стабильность привела к повышению токсичности. Тем не менее оказалось, что токсические эффекты Poly-ICLC можно уменьшить путем снижения дозы и изменения пути введения [14, 15]. Недавно были опубликованы результаты клинических испытаний пептидных вакцин, содержащих в качестве адьюванта Poly-ICLC (Хилтонол), для противоопухолевой терапии [16, 17].

В Институте медицинской биотехнологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора разработан препарат Ридостин Про, представляющий собой комплекс

натриевых солей двуспиральных и односпиральных РНК из киллерного штамма пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Ридостин Про является улучшенным аналогом препарата ридостин, разрешенного в Российской Федерации для применения в качестве противовирусного и иммуномодулирующего средства. Преимуществом Ридостина Про по сравнению с синтетическими аналогами двухцепочечной РНК является то, что природная двухцепочечная РНК при сопоставимой противовирусной и иммуномодулирующей активности не обладает способностью к кумуляции и гепатотоксичностью [18].

Ранее нами была создана модель персонализированной пептидной неоантигенной вакцины против меланомы мышей В16-F10 [19]. В качестве адьюванта при исследовании модели пептидной вакцины у мышей мы использовали Poly(I:C) [20–22]. Однако для дальнейшей разработки персонализированных пептидных неоантигенных вакцин необходим адьювант, показавший безопасность и эффективность в клинических испытаниях.

Цель исследования – оценить способность адьювантов Ридостин Про и Poly(I:C) вызывать специфический Т-клеточный ответ на неоантигенные синтетические пептиды; определить противоопухолевую эффективность неоантигенной пептидной вакцины с адьювантами Ридостин Про или Poly(I:C).

Материалы и методы

Ридостин Про – рибонуклеинат натрия, индуктор интерферона пролонгированного действия, иммуномодулятор – предоставлен Институтом медицинской биотехнологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Состав препарата Ридостин Про: комплекс натриевых солей двуспиральных и одноцепочечных РНК из киллерного штамма пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с содержанием нуклеотидного материала от 70 до 90 %, двуспиральной РНК от 10 до 22 % (действующее начало); субстанция для изготовления лекарственных форм (ФСП № 002021/01 – 070420090769-08); поливинилпирролидон (стабилизатор, обеспечивающий пролонгацию биологических эффектов РНК). Лекарственная форма: лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения.

Poly(I:C) (polyinosinic-polycytidylic acid sodium salt, P1530-100MG, Sigma) – синтетический аналог двухцепочечной РНК.

Способность Ридостина Про и Poly(I:C) вызывать специфический Т-клеточный ответ оценивали с помощью метода ELISpot. Для этого мышам-самкам линии С57В1/6J весом 20–22 г без опухолей подкожно вводили модели вакцины, содержащие адьюванты с синтетическими неоантигенными пептидами. Для моделей вакцины сформировали 2 группы пептидов (табл. 1).

Таблица 1. Две группы пептидов, использовавшихся для оценки способности адьювантов вызывать специфический Т-клеточный ответ
Table 1. Two groups of peptides used to evaluate the ability of adjuvants to elicit a specific T-cell response

Название пептида Peptide name	Ген Gene	Замена Replacement	Последовательность Sequence
Пептиды 1 Peptides 1			
g.101573665	<i>Krt75</i>	p.G56A	GRISGIGS_A_FGSRSLYNLGGTRRRVSIQ
g.108075690C>A	<i>Ampd2</i>	p.Q666H	LSENISHGLLLLRKAPVL_H_YLYYLAQIQ
g.108814677G>C	<i>Nckipsd</i>	p.K492N	MQTDTDQDHQ_N_LCYALVLAMVFSMGEA
g.110327865C>T	<i>Pole</i>	p.L1847F	TLHNMMKK_F_FLQLIAEFKRLGSSVVYA
g.142664440A>G	<i>Wipi2</i>	p.T304A	PSQVTEMFNQGRAFA_A_VRLPFCGHKNI
Пептиды 2 Peptides 2			
g.56226589G>T	<i>Herc2</i>	p.C4450F	GGLAGPDGTKSVFGQM_F_AKMSSFSPDS
g.65813948T>A	<i>Pbk</i>	p.V145D	GSPFPAAVILR_D_ALHMARGLKYLHQEK
g.66708664A>C	<i>Lins1</i>	p.K154T	MRMLQNSD_T_LLSHMAAKCLASLLYFQL
g.7163330C>T	<i>Pemt1</i>	p.P222L	LAVSFAPLVQ_L_SKNDNGTPDSVGLPPC
g.77174891A>C	<i>2210408121Rik</i>	p.D13A	DALQEYSHNSF_A_LQCLNSFPGDLEFK

Таблица 2. Пептид для оценки противоопухолевого эффекта моделей вакцины с адьювантами Ридостин Про или Poly(I:C)

Table 2. Peptide for evaluating the antitumor effect of vaccine models with adjuvants Ridostin Pro or Poly(I:C)

Название пептида Peptide name	Ген Gene	Замена Replacement	Последовательность Sequence
PSKPSFQE	<i>Kif18b</i>	p.K739N	PSKPSFQEFVDWE_N_VSPELNSTDQPFL

Для проведения исследования животных разделили на группы:

- пептиды 1 + Poly(I:C) (4 мыши);
- пептиды 2 + Poly(I:C) (4 мыши);
- пептиды 1 + Ридостин Про (4 мыши);
- пептиды 2 + Ридостин Про (4 мыши).

Одна доза модели вакцины из 5 пептидов (пептиды 1 или пептиды 2) содержала по 100 мкг каждого пептида (всего 500 мкг пептидов) в 500 мкл 10 % раствора диметилсульфоксида в физиологическом растворе. Смесь пептидов вводили подкожно. Адьюванты растворяли в физиологическом растворе. Одна доза Poly(I:C) содержала 50 мкг данного адьюванта в 300 мкл физиологического раствора, а 1 доза Ридостина Про содержала 100 мкг этого адьюванта в 300 мкл физиологического раствора. Адьюванты вводили подкожно за 5–10 мин до введения смеси пептидов.

Иммунизацию мышей проводили двукратно с недельными интервалами, в 0-й и 7-й дни. На 12-й день у мышей забирали селезенки для определения количества ИФН- γ -продуцирующих клеток методом ELISpot с помощью набора для определения мышечного ИФН- γ (3321-2AW-Plus, Mabtech). Спленоциты 48 ч инкубировали со смесями пептидов 1 или пептидов 2 (100 мкг/мл), Ридостином Про (300 мкг/мл) или Poly(I:C) (250 мкг/мл), в качестве положительного контроля использовали конканавалин А.

Противоопухолевую эффективность Ридостина Про и Poly(I:C) оценивали по торможению роста меланомы мышей B16-F10 и увеличению продолжительности жизни мышей. В данном эксперименте модели вакцины содержали только 1 пептид (табл. 2).

Для исследования мышей-самок линии C57Bl/6J весом 20–22 г разделили на группы:

- контроль (8 мышей);
- Ридостин Про (6 мышей);
- Poly(I:C) (6 мышей);
- пептид PSKPSFQE + Ридостин Про (5 мышей);
- пептид PSKPSFQE + Poly(I:C) (5 мышей).

Одна доза вакцины содержала 100 мкг пептида в 300 мкл 3 % раствора диметилсульфоксида в физиологическом растворе. Пептид вводили подкожно. Одна доза Poly(I:C) содержала 50 мкг адьюванта в 300 мкл физиологического раствора, а 1 доза Ридостина Про – 100 мкг адьюванта в 300 мкл физиологического раствора. Адьюванты также вводили подкожно, в группах с пептидом – за 5–10 мин до пептида.

Мышей иммунизировали четырехкратно на 0, 7, 14 и 21-й дни эксперимента. На 10-й день от начала введения препаратов мышам перевивали подкожно опухоль B16-F10 по 75 тыс. клеток на мыш. Далее измеряли рост меланомы B16-F10 от дня перевивки опухоли (0-й день), чтобы оценить торможение роста опухоли.

Торможение роста опухоли (ТРО, %) рассчитывали по формуле:

$$\text{ТРО (\%)} = (V_k - V_o) / V_k \times 100,$$

где V_k – средний объем опухолей в контрольной группе (мм^3), V_o – средний объем опухолей в опытной группе (мм^3).

Также оценивали изменение продолжительности жизни мышей в группах, получавших препараты, по сравнению с контролем. Увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) вычисляли после гибели всех животных в опыте по формуле:

$$\text{УПЖ (\%)} = (\text{СПЖ}_o - \text{СПЖ}_k) / \text{СПЖ}_k \times 100,$$

где СПЖ $_k$ – средняя продолжительность жизни животных в контрольной группе (дни), СПЖ $_o$ – средняя продолжительность жизни животных в опытной группе (дни).

Результаты и обсуждение

Оценивали влияние на продукцию ИФН- γ Ридостина Про и Poly(I:C) в качестве адьювантов в составе 2 моделей вакцины, каждая из которых отличалась по пептидному составу (см. табл. 1). Оказалось, что Ридостин Про эффективнее, чем Poly(I:C), повышал иммуногенность пептидов и в модели вакцины с пептидами 1, и в модели с пептидами 2 (рис. 1). Также показана специфичность действия пептидов, входящих в состав обеих моделей вакцины с обоими адьювантами: в спленоцитах мышей, которых иммунизировали вакциной с пептидами 1, добавление *in vitro* пептидов 2 не вызывало усиления продукции ИФН- γ , а в спленоцитах мышей, которых иммунизировали вакциной с пептидами 2, добавление в лунки планшета с клетками пептидов 1 также не вызывало увеличения количества ИФН- γ -продуцирующих клеток. Интересно, что модель с пептидами 1 при использовании адьюванта Poly(I:C) оказалась слабоиммуногенна,

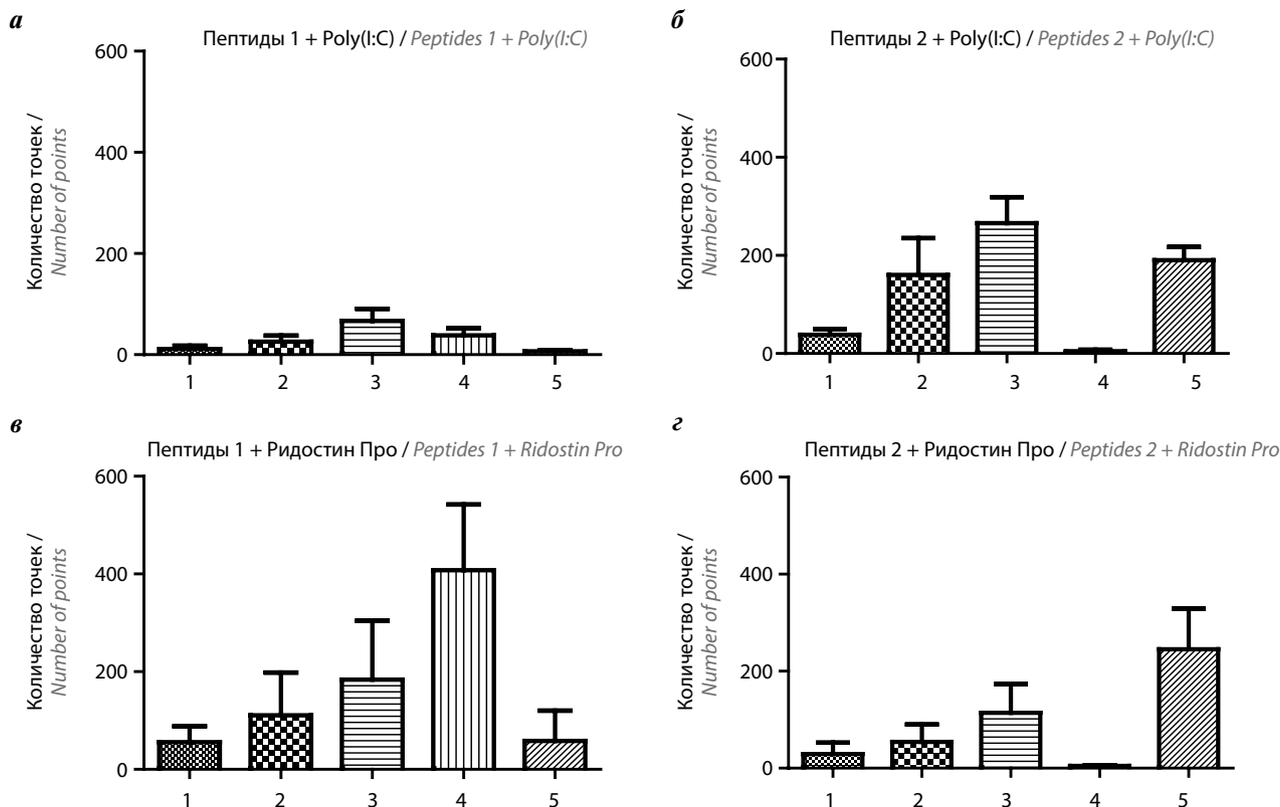


Рис. 1. Изменение количества интерферон- γ -продуцирующих клеток при стимуляции *in vitro* спленоцитов мышей, получавших разные модели вакцины: пептиды 1 с адъювантом Poly(I:C) (а); пептиды 2 с адъювантом Poly(I:C) (б); пептиды 1 с адъювантом Ридостин Про (в); пептиды 2 с адъювантом Ридостин Про (г). *In vitro* стимуляция: 1 – контроль; 2 – Ридостин Про; 3 – Poly(I:C); 4 – пептиды 1; 5 – пептиды 2

Fig. 1. Changes in the number of interferon- γ -producing cells during *in vitro* stimulation of splenocytes of mice treated with different vaccine models: peptides 1 with adjuvant Poly(I:C) (a), peptides 2 with adjuvant Poly(I:C) (б), peptides 1 with adjuvant Ridostin Pro (в), peptides 2 with adjuvant Ridostin Pro (г). Stimulation *in vitro*: 1 – control; 2 – Ridostin Pro; 3 – Poly(I:C); 4 – peptides 1; 5 – peptides 2

тогда как при использовании в качестве адъюванта Ридостина Про наблюдалось увеличение количества ИФН- γ -продуцирующих клеток.

Исследование противоопухолевой эффективности моделей вакцины, содержащих пептид PSKPSFQE, показало, что и Ридостин Про, и Poly(I:C) в составе

вакцины, а также при одиночном применении вызывали торможение роста меланомы B16-F10 у мышей (рис. 2, табл. 3).

Ридостин Про при введении без пептида увеличивал процент выживаемости мышей с меланомой B16-F10 несколько эффективнее, чем Poly(I:C) (рис. 3, а).

Таблица 3. Противоопухолевая эффективность адъювантов и моделей вакцины с адъювантами

Table 3. Antitumor efficacy of adjuvants and vaccine models with adjuvants

Воздействие Impact	Торможение роста опухоли, % Inhibition of tumor growth, %					Увеличение продолжительности жизни, % Increase in life expectancy, %
	15-е сутки 15 th day	18-е сутки 18 th day	23-и сутки 23 rd day	28-е сутки 28 th day	31-е сутки 31 st day	
Ридостин Про Ridostin Pro	88	88	95	93	90	23
Poly(I:C)	100	82	88	86	78	1
Ридостин Про + PSKPSFQE Ridostin Pro + PSKPSFQE	82	93	94	95	95	25
Poly(I:C) + PSKPSFQE	89	91	93	89	90	31

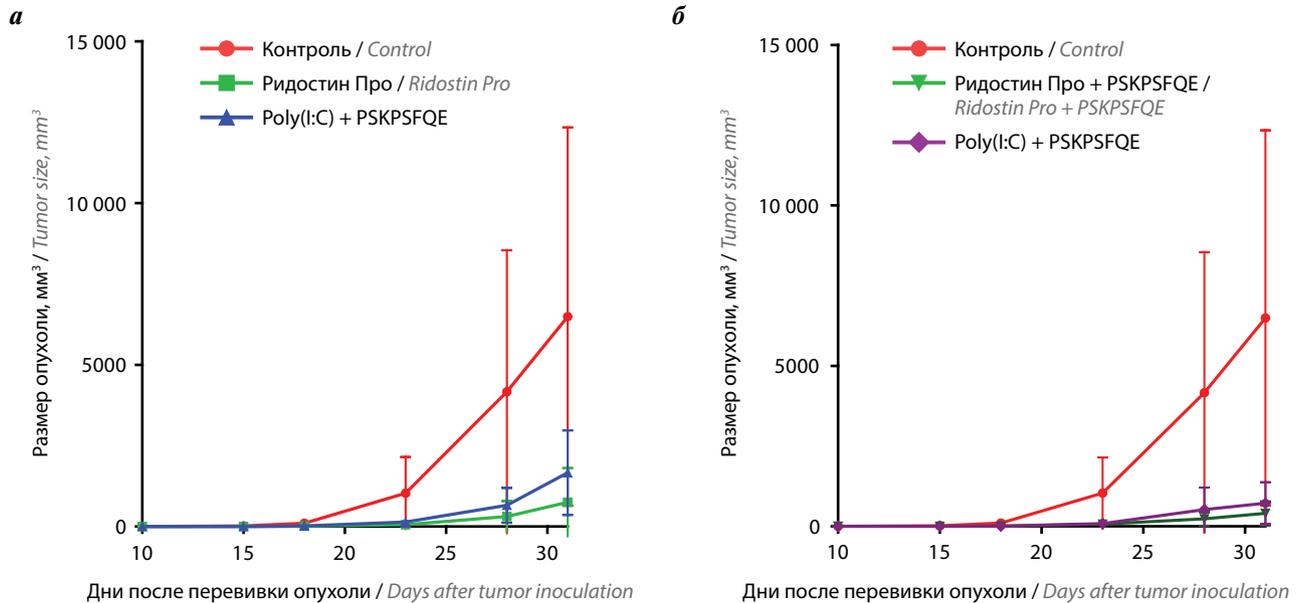


Рис. 2. Влияние адъювантов (а) и моделей вакцины с адъювантами (б) на рост меланомы B16-F10

Fig. 2. The effect of adjuvants (a) and vaccine models with adjuvants (b) on the growth of melanoma B16-F10

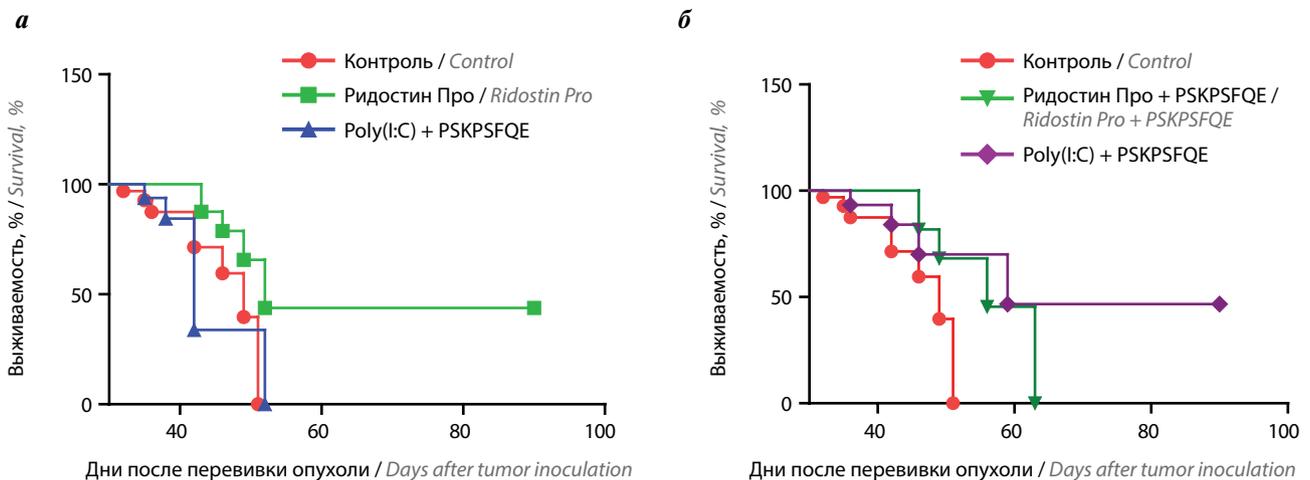


Рис. 3. Влияние адъювантов (а) и моделей вакцины с адъювантами (б) на выживаемость мышей с B16-F10

Fig. 3. The effect of adjuvants (a) and vaccine models with adjuvants (b) on the survival of mice with B16-F10

Одна из 6 мышей в группе, получавшей Ридостин Про, прожила более 90 дней. Однако в группе, получавшей вакцину с Ридостином Про, все мыши в итоге погибли, а в группе, получавшей вакцину с Poly(I:C), наблюдали излечение 1 из 5 мышей, она прожила более 90 дней (рис. 3, б).

Из литературы известно о способности Poly(I:C) усиливать специфический иммунный ответ на пептиды, входящие в состав вакцин [6]. Например, в исследовании Н. Sultan и соавт. [23] при сравнении адъювантных свойств Poly(I:C) с некоторыми ее аналогами Poly(I:C) продемонстрировала наилучшие результаты. В нашей работе мы показали, что Ридостин Про тоже способен

к антигенспецифическому праймированию Т-клеток, причем даже немного лучше, чем Poly(I:C).

В работе С. Castle и соавт. [24] описан противоопухолевый эффект пептидной вакцины, содержащей такой же, как в нашем исследовании, пептид PSKPSFQE и адъювант Poly(I:C), на модели мышинной меланомы B16-F10. Вакцина вызвала более сильное замедление роста опухоли, чем введение только Poly(I:C). Мы в нашей работе наблюдали схожий эффект, хотя у нас были небольшие отличия в постановке эксперимента по сравнению с указанной публикацией.

Насколько нам известно, способность Ридостина Про усиливать иммуногенность пептидов, а также

замедлять рост меланомы при применении в составе неоантигенной вакцины показана нами впервые. Некоторые отличия в эффективности Poly(I:C) и Ридостина Про можно объяснить небольшой выборкой животных или тем, что Ридостин Про содержит кроме двухцепочечной также и односпиральную РНК, что допускает вовлечение в иммунный ответ TLR-7 и TLR-8 (помимо TLR-3) и может объяснить его повышенную иммуностимулирующую активность [25, 26]. В связи с этим заслуживают дальнейшего более детального изучения иммунологические процессы, вызываемые введением в состав пептидной неоантигенной противоопухолевой вакцины Ридостина Про в качестве адъюванта.

Заключение

Включение Ридостина Про в качестве адъюванта в состав нескольких моделей пептидной неоантигенной вакцины с разными пептидами показало, что он более эффективно усиливает иммуногенность пептидов, чем препарат сравнения Poly(I:C). Вакцина с адъювантом Ридостин Про, так же как и с Poly(I:C), замедляла рост меланомы B16-F10 и увеличивала среднюю продолжительность жизни мышей с опухольями.

Хотя это только начало исследований Ридостина Про, полученные результаты показывают высокий потенциал данного препарата в качестве адъюванта для пептидных неоантигенных вакцин.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Барышникова М.А., Кособокова Е.Н., Косоруков В.С. Неоантигены в иммунотерапии опухолей. Российский биотерапевтический журнал 2018;17(2):6–14. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-6-14.
2. 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
3. Gouttefangeas C., Rammensee H.-G. Personalized cancer vaccines: adjuvants are important, too. Cancer Immunol Immunother 2018;67(12):1911–8. DOI: 10.1007/s00262-018-2158-4
4. Барышникова М.А., Косоруков В.С. Адъюванты в вакцино-терапии опухолей. Российский биотерапевтический журнал 2018;17(4):36–44. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-36-44.
5. Baryshnikova M.A., Kosorukov V.S. Cancer vaccine adjuvants. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2018;17(4):36–44. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-36-44
6. Matsumoto M., Seya T. TLR3: interferon induction by double-stranded RNA including poly(I:C). Adv Drug Deliv Rev 2008;60(7):805–12. DOI: 10.1016/j.addr.2007.11.005
7. Levine A.S., Levy H.B. Phase I–II trials of poly IC stabilized with poly-L-lysine. Cancer Treat Rep 1978;62(11):1907–12.
8. Ammi R., De Waele J., Willemen Y. et al. Poly(I:C) as cancer vaccine adjuvant: knocking on the door of medical breakthroughs. Pharmacol Ther 2015;146:120–31. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.09.010
9. Jasani B., Navabi H., Adams M. Ampligen: a potential toll-like 3 receptor adjuvant for immunotherapy of cancer. Vaccine 2009;27(25–26):3401–4. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.01.071
10. Sultan H., Salazar A.M., Celis E. Poly-ICLC, a multi-functional immune modulator for treating cancer. Semin Immunol 2020;49:101414. DOI: 10.1016/j.smim.2020.101414
11. Gürtler C., Bowie A.G. Innate immune detection of microbial nucleic acids. Trends Microbiol 2013;21(8):413–20. DOI: 10.1016/j.tim.2013.04.004
12. Akazawa T., Ebihara T., Okuno M. Antitumor NK activation induced by the Toll-like receptor 3-TICAM-1 (TRIF) pathway in myeloid dendritic cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2007;104(1):252–7. DOI: 10.1073/pnas.0605978104
13. Azuma M., Ebihara T., Oshiumi H. Cross-priming for antitumor CTL induced by soluble Ag + polyI:C depends on the TICAM-1 pathway in mouse CD11c(+)/CD8α(+) dendritic cells. Oncoimmunology 2012;1(5):581–92. DOI: 10.4161/onci.19893
14. Robinson R.A., DeVita V.T., Levy H.B. et al. A phase I–II trial of multiple-dose polyribonucleic-polyribocytidylic acid in patients with leukemia or solid tumors. J Natl Cancer Inst 1976;57(3):599–602. DOI: 10.1093/jnci/57.3.599
15. Levy H.B., Baer G., Baron S. et al. A modified polyribonucleic-polyribocytidylic acid complex that induces interferon in primates. J Infect Dis 1975;132(4):434–9. DOI: 10.1093/infdis/132.4.434
16. Maluish A.E., Reid J.W., Crisp E.A. et al. Immunomodulatory effects of poly(I,C)-LC in cancer patients. J Biol Response Mod 1985;4(6):656–63.
17. Salazar A.M., Levy H.B., Ondra S. et al. Long-term treatment of malignant gliomas with intramuscularly administered polyinosinic-polycytidylic acid stabilized with polylysine and carboxymethylcellulose: an open pilot study. Neurosurgery 1996;38(6):1096–103; discussion 1103–4.
18. 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
19. Ott P.A., Hu-Lieskovan S., Chmielowski B. et al. A phase Ib trial of personalized neoantigen therapy plus anti-PD-1 in patients with advanced melanoma, non-small cell lung cancer, or bladder cancer. Cell 2020;183(2):347–362.e24. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.053
20. Масычева В.И., Сазонов В.С., Морозова Е.Н. и др. Токсические свойства двуспиральной РНК вирусоподобных частиц киллерных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Антибиотики и медицинская биотехнология 1986;5:374–8.
21. Masycheva V.I., Sazonov V.S., Morozova E.N. et al. Toxic properties of double-chiral RNA of virus-like particles of killer yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Antibiotiki i meditsinskaya biotekhnologiya = Antibiotics and medical biotechnology 1986;5:374–8.
22. Косоруков В.С., Барышникова М.А., Кособокова Е.Н. и др. Выявление иммунных мутантных неоантигенов в геноме меланомы мыши. Российский биотерапевтический журнал 2019;18(3):23–30. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-3-23-30
23. 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
24. 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. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-4-76-81

- 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
21. 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
- 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
22. Пономарев А.В., Рудакова А.А., Соколова З.А. и др. Влияние Poly(I:C) и меланомы B16-F10 на иммунофенотип клеток селезенки мышей. *Российский биотерапевтический журнал* 2021;20(4):51–8. DOI: 10.17650/1726-9784-2021-20-4-51-58
- Ponomarev A.V., Rudakova A.A., Sokolova Z.A. et al. Effect of Poly(I:C) and melanoma B16-F10 on the immunophenotype of murine spleen cells. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2021;20(4):51–8. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2021-20-4-51-58
23. Sultan H., Fesenkova V.I., Addis D. et al. Designing therapeutic cancer vaccines by mimicking viral infections. *Cancer Immunol Immunother* 2017;66(2):203–13. DOI: 10.1007/s00262-016-1834-5
24. Castle J.C., Kreiter S., Diekmann J. et al. Exploiting the mutanome for tumor vaccination. *Cancer Res* 2012;75(5):1081–90. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3722
25. Heil F., Hemmi H., Hochrein H. et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science* 2004;303(5663):1526–9. DOI: 10.1126/science.1093620
26. Vasilakos J.P., Tomai M.A. The use of Toll-like receptor 7/8 agonists as vaccine adjuvants. *Expert Rev Vaccines* 2013;12(7):809–19. DOI: 10.1586/14760584.2013.811208

Вклад авторов

М.А. Барышникова, А.В. Пономарев: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование рукописи;
 А.А. Рудакова, З.А. Соколова: предоставление материалов исследования, сбор и обработка данных, редактирование рукописи;
 Н.В. Голубцова, П.В. Царапаев: сбор и обработка данных, редактирование рукописи;
 Г.М. Левагина, Е.Д. Даниленко: предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи;
 В.С. Косоруков: разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных.

Author's contributions

M.A. Baryshnikova, A.V. Ponomarev: concept and design, data collection and processing, provision of study materials, data analysis and interpretation, article written, editing of the article;
 A.A. Rudakova, Z.A. Sokolova: provision of study materials, data collection and processing, editing of the article;
 N.V. Golubtsova, P.V. Tsarapaev: data collection and processing, editing of the article;
 G.M. Levagina, E.D. Danilenko: provision of study materials, data analysis and interpretation, editing of the article;
 V.S. Kosorukov: concept and design, data analysis and interpretation.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.А. Барышникова / M.A. Baryshnikova: <https://orcid.org/0000-0002-6688-8423>
 А.В. Пономарев / A.V. Ponomarev: <https://orcid.org/0000-0001-9517-8183>
 А.А. Рудакова / A.A. Rudakova: <https://orcid.org/0000-0001-7266-7689>
 З.А. Соколова / Z.A. Sokolova: <https://orcid.org/0000-0003-4755-5313>
 Н.В. Голубцова / N.V. Golubtsova: <https://orcid.org/0000-0002-8630-1968>
 П.В. Царапаев / P.V. Tsarapaev: <https://orcid.org/0000-0002-1182-1010>
 Г.М. Левагина / G.M. Levagina: <https://orcid.org/0000-0002-0394-9698>
 Е.Д. Даниленко / E.D. Danilenko: <https://orcid.org/0000-0001-5026-1602>
 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.

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.

Финансирование. Работа была выполнена при финансовой поддержке Минздрава России в рамках исследования № ААА-А-А20-120022090056-5.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of Russia in the framework of the research No. ААА-А-А20-120022090056-5.

Статья поступила: 01.09.2022. **Принята к публикации:** 29.09.2022.

Article received: 01.09.2022. **Accepted for publication:** 29.09.2022.