DOI: https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-21-4-10-21

CC BY 4.0

Технологические аспекты создания неопептидных вакцин

М.В. Дмитриева, М.А. Барышникова, О.Л. Орлова, В.С. Косоруков

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

Контакты: Мария Вячеславовна Дмитриева *dmitrieva.m@ronc.ru*

Персонализированные неоантигенные вакцины представляют собой группу индивидуально разработанных противоопухолевых вакцин, которые усиливают собственные антигенспецифические иммунные ответы пациентов. К ним относятся вакцины на основе дендритных клеток, ДНК, мРНК и синтетических пептидов. В результате анализа 98 клинических исследований неоантигенных вакцин из базы данных ClinicalTrials.gov установлено, что пептидные вакцины являются одними из самых исследуемых противораковых вакцин – на них приходится около 50 % клинических испытаний. Они состоят, как правило, из смеси длинных или коротких пептидов, растворенных в зависимости от их свойств в соответствующем растворителе, и адъюванта, который стабилизирует и повышает их эффективность. Наиболее применяемыми иммуноадъювантами при составлении композиции неопептидной вакцины являются агонисты toll-подобных рецепторов (poly-ICLC) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор. Создание неоантигенных вакцин, в отличие от других типов вакцин, сопряжено с рядом проблем. Процесс должен охватывать и подтверждать различные этапы, связанные с разработкой, производством и введением вакцин, чтобы максимизировать их эффективность и безопасность. В технологии производства пептидных вакцин можно выделить 3 основных этапа: 1) скрининг и идентификация неоэпитопов с использованием подходов компьютерного прогнозирования, коиммунопреципитации, масс-спектрометрии и цитотоксических экспериментов; 2) синтез пептидов методами стандартной твердофазной синтетической пептидной химии; 3) собственно получение вакцинного препарата, пригодного для хранения, транспортировки и введения пациенту. С учетом специфичности препарата производственный процесс должен осуществляться строго в соответствии со стандартами Надлежащей производственной практики (Good Manufacturing Practice) с обязательным контролем качества промежуточных и готовых продуктов.

Ключевые слова: неопептиды, персонализированная вакцина, технология, адъювант

Для цитирования: Дмитриева М.В., Барышникова М.А., Орлова О.Л., Косоруков В.С. Технологические аспекты создания неопептидных вакцин. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(4):10–21. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-4-10-21

Technological aspects of creating neopeptide vaccines

Maria V. Dmitrieva, Maria A. Baryshnikova, Olga L. Orlova, Vyacheslav S. Kosorukov

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

Contacts: Maria Vyacheslavovna Dmitrieva *dmitrieva.m@ronc.ru*

Personalized neoantigen vaccines are a group of individually designed cancer vaccines that enhance patients' own antigen-specific immune responses. These include vaccines based on dendritic cells, DNA, mRNA and synthetic peptides. An analysis of 98 clinical trials of neoantigenic vaccines from the ClinicalTrials.gov database found that peptide vaccines are one of the most popular cancer vaccines, accounting for about 50 % of clinical trials. They usually consist of a mixture of long or short peptides, dissolved depending on their properties in an appropriate solvent, and an adjuvant that stabilizes and increases their effectiveness. The most used immunoadjuvants in the formulation of neopeptide vaccines are Toll-like receptor agonists (poly-ICLC) and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. The development of neoantigenic vaccines presents a number of distinctive challenges compared to other types of vaccines. The process should cover and validate the various steps in the development, production and administration processes in order to maximize the efficacy and safety of vaccines. In the technology

for the production of peptide vaccines, 3 main stages can be distinguished: 1) screening and identification of neoepitopes using the approaches of computer prediction, co-immunoprecipitation, mass spectrometry and cytotoxic experiments; 2) synthesis of peptides by methods of standard solid-phase synthetic peptide chemistry; 3) actually obtaining a vaccine preparation suitable for storage, transportation and administration to the patient. Taking into account the specificity of the drug, the manufacturing process must be carried out strictly according to the Good Manufacturing Practice standard with mandatory quality control of intermediate and finished products.

Keywords: neopeptides, personalized vaccine, technology, adjuvant

For citation: Dmitrieva M.V., Baryshnikova M.A., Orlova O.L., Kosorukov V.S. Technological aspects of creating neopeptide vaccines. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2022;21(4):10–21. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-4-10-21

Введение

Вакцины традиционно использовались для профилактики инфекционных заболеваний, однако способность таких агентов вызывать и усиливать антигенспецифические иммунные ответы уже давно признана потенциально ценным средством для лечения рака. Ранние стратегии терапевтической вакцинации, ориентированные на собственные антигены (АГ), аномально экспрессируемые или сверхэкспрессируемые в опухолях и называемые ассоциированными с опухолью АГ (tumour-associated antigens, TAA), были в значительной степени безуспешными в генерировании клинически эффективных противоопухолевых иммунных ответов, вероятно, из-за того, что TAA-специфические Т-клетки подвержены центральной и/или периферической толерантности. Также TAA могут в некоторой степени экспрессироваться в незлокачественных тканях, что повышает риск аутоиммунной токсичности, вызванной вакциной. Мутации, происходящие в опухолевых клетках, могут генерировать новые эпитопы собственных АГ, которые называются неоэпитопами или неоантигенами (НАГ). Вакцины, основанные на НАГ, а не на традиционно используемых TAA, имеют ряд преимуществ. Во-первых, НАГ экспрессируются исключительно опухолевыми клетками и, следовательно, могут вызывать действительно специфичные для опухоли Т-клеточные ответы, тем самым предотвращая «нецелевое» повреждение здоровых тканей. Во-вторых, НАГ представляют собой эпитопы *de novo*, полученные из соматических мутаций, что дает возможность обойти центральную толерантность Т-клеток к собственным эпитопам и, таким образом, индуцировать иммунные реакции на опухоли. Соответственно, персонализированные вакцины на основе НАГ дают возможность усилить специфичные противоопухолевые иммунные реакции и добавить дополнительное средство в инструментарий иммунотерапии. Кроме того, потенциал этих усиливаемых вакциной НАГ-специфических Т-клеточных ответов сохраняться и обеспечивать иммунологическую память после лечения представляет возможность долгосрочной защиты от рецидива заболевания [1, 2].

Персонализированные неоантигенные вакцины (НАВ) включают вакцины на основе дендритных клеток (ДК), ДНК, мРНК и синтетических пептидов [3].

Неопептидные вакцины являются одними из самых исследуемых противораковых вакцин – на них приходится около 50 % клинических испытаний. Они состоят из пептида или смеси связанных либо свободных пептидов в сочетании с адъювантами, которые стабилизируют и повышают их эффективность. Конкретный пептид, наиболее подходящий для разработки противораковой вакцины, зависит от конкретного типа рака и иммунологических характеристик пациента. Несмотря на это, пептидные вакцины часто используются из-за их безопасности, стабильности и простоты в производстве в больших количествах. Кроме того, поскольку большинство противоопухолевых препаратов представляют собой макромолекулы, а проникновение макромолекул в со́лидные опухоли может быть затруднено, еще одним преимуществом пептидных вакцин является их структурная характеристика [4–6].

Клинические испытания персонифицированных НАВ на основе пептидов в настоящее время проводятся при множественных типах опухолей с использованием различных адъювантов. В таблице представлены характеристики некоторых пептидных вакцин, находящихся в процессе клинических исследований.

Основные компоненты неопептидных вакцин

Неопептиды происходят из белков, экспрессируемых в опухолевой клетке. Большое значение имеет качество используемого пептида. Важен не только выбор подходящего пептида, но и длина этой молекулы, которая должна быть оптимальной для индукции иммунного ответа. При использовании пептидных вакцин важно выбрать короткую иммуногенную последовательность (от 8 до 10 аминокислот) или длинную последовательность (15–30 аминокислот), последняя из которых требует дополнительной стадии обработки для их расщепления на иммуногенные пептиды. Короткие пептиды связываются

Персонализированные пептидные вакцины в клинических исследованиях

Personalized peptide vaccines in clinical trials

Наименование (шифр) вакцины Name (code) of the vaccine	**Состав вакцины** Composition of the vaccine			**Путь введения** Route of administration
	Пептиды Peptides	**Адъювант** Adjuvant	**Вспомогательные вещества** Auxiliary substances	
NeoPepVac/ EVX-01/ EVAX-01-CAF09b/ NPV-ds001-CAF09b	5–10 линейных пептидов, содержащих природные L-аминокислоты (NPV-db001). В ампуле 0,12 мл NPV-db001 5–10 linear peptides containing natural L-amino acids (NPV-db001). In an ampoule of 0.12 ml NPV-db001	CAF09b 1 мл CAF09b 1 ml	100 % ДМСО, 1,08 мл Трис-буфера 100 % DMSO, 1.08 ml Tris buffer	Первые 3 вакцины – в/в, последующие 3 – в/м The first 3 vaccines are i. v., the next 3 are i. m.
				в/м i. m.
NeoVax	До 20 длинных пептидов, разделенных на 4 пула (по 3–5 пептидов на пул) с конечной дозой 0,3 мг каждого пептида на вакцину (NeoAntigen) Up to 20 long peptides divided into 4 pools (3–5 peptides per pool) with a final dose of 0.3 mg of each peptide per vaccine (NeoAntigen)	poly-ICLC 0,5 мг на каждый пул poly-ICLC 0.5 mg per pool	4 % раствор ДМСО в изотонической декстрозе 4 % DMSO solution in isotonic dextrose	п/к s. c.
				п/к s. c.
				п/к s. c.
				п/к s. c.
				п/к s. c.
				п/к s. c.
			4 % раствор ДМСО в изотонической декстрозе + монтанид 4 % DMSO solution in isotonic dextrose + montanid	п/к s. c.
iNeo-Vac-P01	5–20 пептидов различной длины от 15 до 35 аминокислот, пептиды сгруппированы в 2–4 пула с конечной дозой 0,1 или 0,3 мг каждого пептида на вакцину 5–20 peptides of various lengths from 15 to 35 amino acids, peptides are grouped into 2–4 pools with a final dose of 0.1 or 0.3 mg of each peptide per vaccine	GM-CSF 0,04 мг на каждый пул GM-CSF 0.04 mg per pool	–	п/к s. c.
			–	п/к s. c.
			–	п/к s. c.
PNeoVCA	20 пептидов 20 peptides	GM-CSF	–	п/к s. c.
HJ-N-001	Данные о составе отсутствуют. Вводят в дозе 0,2 мг каждого пептида на вакцину There is no data on the composition. Administered at a dose of 0.2 mg of each peptide per vaccine			п/к s. c.

Дополнительная терапия Additional therapy	**Тип и локализация опухоли** Type and localization of the tumor	**Фаза и период исследования** Research phase and period	**Идентификатор ClinicalTrials.gov** Identifier ClinicalTrials.gov
–	Распространенные со́лидные опухоли: неоперабельная или метастатическая меланома, немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря Advanced solid tumors: inoperable or metastatic melanoma, small cell lung cancer, bladder cancer	I–IIa 01.2019–12.2022	NCT03715985
Пембролизумаб Pembrolizumab	Меланома III и IV стадии Stage III and IV melanoma	II 06.2022–07.2025	NCT05309421
–	Меланома Melanoma	I 01.2014–06.2018	NCT01970358
Ипилимумаб Ipilimumab	Рак почки Kidney cancer	I 03.2019–09.2024	NCT02950766
Циклофосфамид, пембролизумаб Cyclophosphamide, pembrolizumab	Лимфоцитарный лейкоз Lymphocytic leukemia	I 08.2021–03.2025	NCT03219450
Ритуксимаб, пембролизумаб Rituximab, pembrolizumab	Фолликулярная лимфома Follicular lymphoma	I 03.2022–03.2026	NCT03361852
Ниволумаб Nivolumab	Рак яичников Ovarian cancer	I 11.2020–04.2029	NCT04024878
Лучевая терапия, пембролизумаб, темозоломид Radiation therapy, pembrolizumab, temozolomide	Глиобластома Glioblastoma	I 11.2014–01.2026	NCT02287428
Ниволумаб, ипилимумаб Nivolumab, ipilimumab	Прогрессирующая меланома Progressive melanoma	Ib 11.2020–09.2028	NCT03929029
–	Рак поджелудочной железы Pancreatic cancer	I 10.2017–04.2021 03.2021–03.2025	NCT03645148 NCT04810910
–	Рак пищевода Esophageal cancer	I 12.2021–12.2025	NCT05307835
–	Часто встречающиеся со́лидные опухоли Common solid tumors	I 02.2018–12.2022	NCT03662815
Циклофосфамид, пембролизумаб Cyclophosphamide, pembrolizumab	Со́лидные опухоли на поздних стадиях Solid tumors in the late stages	I 03.2022–02.2025	NCT05269381
–	Немелкоклеточный рак легкого Nonsmallcell lung cancer	I 05.2020–12.2022	NCT04397926

Наименование (шифр) вакцины Name (code) of the vaccine	Состав вакцины Composition of the vaccine			Путь введения Route of administration
	Пептиды Peptides	Адъювант Adjuvant	Вспомогательные вещества Auxiliary substances	
PGV001	10 длинных пептидов в форме лиофилизата с дозой 0,1 мг на пептид и 1 противостолбнячный хелперный пептид с дозой 0,1 мг 10 long peptides in the form of lyophilizate with a dose of 0.1 mg per peptide and 1 tetanus helper peptide with a dose of 0.1 mg	poly-ICLC 1,4 мг poly-ICLC 1.4 mg	Физиологический раствор (0,19 мл) Saline solution (0.19 ml)	в/к i. d.
PNV21-001	Данные отсутствуют No data available	poly-ICLC	–	в/м i. m.
PANDA-VAC (США) PANDA-VAC (USA)	6 пептидов в дозе 0,3 мг на пептид 6 peptides at a dose of 0.3 mg per peptide	poly-ICLC 0,5 мг poly-ICLC 0.5 mg	<5 % ДМСО в изотонической декстрозе общим объемом до 750 мкл <5 % DMSO in isotonic dextrose, with a total volume of up to 750 µl	п/к посредством 3 инъекций по 250 мкл s. c.by means of 3 injections of 250 µl
Мутантная KRAS-нацеленная вакцина Mutant KRAS-targeted vaccine	Мутантный пептид KRAS длиной от 13 до 17 аминокислот, 1,8 мг KRAS mutant peptide with a length of 13 to 17 amino acids, 1.8 mg	poly-ICLC 0,5 мг poly-ICLC 0.5 mg	–	п/к s. c.
Neo-Vac-Mn	4 × 3 мг всех пептидов 4 × 3 mg of all peptides	rhGM-CSF 3 мкг/кг + имиквимод 5 % крем rhGM-CSF 3 mcg/kg + imiquimod 5 % cream	–	п/к s. c.
GEN-009	От 4 до 18 синтетических длинных пептидов From 4 to 18 synthetic long peptides	poly-ICLC	–	п/к s. c.
FRAME-001 (Нидерланды) FRAME-001 (Netherlands)	24 пептида, разделенные на 4 лиофилизированные смеси, каждая из которых содержит до 6 пептидов с конечной дозой 0,1 мг пептида на вакцину 24 peptides divided into 4 lyophilized mixtures, each of which contains up to 6 peptides with a final dose of 0.1 mg of peptide per vaccine	Монтанид, в соотношении пептидная смесь: адъювант 1:1 Montanide, in the ratio of peptide mixture: adjuvant 1:1	Фосфатно-буферный физиологический раствор (PBS) Phosphate buffered saline solution (PBS)	п/к s. c.

Примечание. *в/в – внутривенно; в/к – внутрикожно; в/м – внутримышечно; п/к –подкожно; ДМСО – диметилсульфоксид; GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; rhGM-CSF – рекомбинантный гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор.*

Окончание таблицы

The end of table

Дополнительная терапия Additional therapy	**Тип и локализация опухоли** Type and localization of the tumor	**Фаза и период исследования** Research phase and period	**Идентификатор ClinicalTrials.gov** Identifier ClinicalTrials.gov
Атезолизумаб Atezolizumab	Уротелиальный рак Urothelial cancer	I 05.2019–10.2021	NCT03359239
Ниволумаб Nivolumab	Меланома, рак молочной железы Melanoma, breast cancer	I 06.2022–11.2024	NCT05098210
Пембролизумаб Pembrolizumab	Плоскоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак головы и шеи Squamous cell lung cancer, squamous cell head and neck cancer	I 10.2022–06.2033	NCT04266730
–	Рак поджелудочной железы Pancreatic cancer	I 04.2022–05.2026	NCT05013216
Торипалимаб Toripalimab	Меланома Melanoma	I 04.2020–09.2022	NCT04072900
Ниволумаб, Пембролизумаб Nivolumab, Pembrolizumab	Со́лидные опухоли Solid tumors	I–II 08.2018–02.2022	NCT03633110
Пембролизумаб Pembrolizumab	Немелкоклеточный рак легкого Nonsmallcell lung cancer	II 01.2022–07.2024	NCT04998474

Note. *i. v. – intravenously, i. d. – intradermally, i. m. – intramuscularly, s. c. – subcutaneously; DMSO – dimethyl sulfoxide; GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; rhGM-CSF – recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.*

непосредственно с поверхностными молекулами главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, MHC) без процессинга в антигенпрезентирующих клетках (АПК), и подавляющее большинство введенных коротких пептидов элиминируется. В отличие от коротких, длинные пептиды подвергаются интернализации, процессингу и MHC-ограниченной презентации профессиональными АПК. Кроме того, длинные пептиды могут преодолевать иммунную толерантность и успешно индуцировать ответы $CD4^+$- и $CD8^+$-Т-клеток. После инъекций вакцин на основе пептидов пациентам подкожным путем эти пептиды поглощаются АПК вокруг мест инъекции [3, 7, 8].

Наряду с длиной молекулы важной характеристикой пептида является растворимость, что определяет его перспективы при составлении композиции и технологические параметры получения вакцины. Например, при производстве НАВ iNeo-Vac-P01 нерастворимые в воде пептиды исключают из окончательной рецептуры, что обусловлено нежелательностью использования органического растворителя, в частности диметилсульфоксида (ДМСО), в клинической практике [9].

В 2019 г. была разработана доступная через интернет база данных NeoPeptide, которая содержит большинство важных характеристик НАГ, таких как сайт мутации, последовательность субъединиц, ограничение MHC, полученных из опубликованной литературы и других иммунологических ресурсов. NeoPeptide также содержит ссылки на ресурсы для дальнейшего описания свойств НАГ и регулярно пополняется новыми идентифицированными АГ и опубликованными по ним данными. База данных позволяет исследователям идентифицировать НАГ при различных видах рака и ускоряет поиск подходящих кандидатов на противоопухолевые вакцины [10].

На сегодняшний день пептидные вакцины показали ограниченную эффективность в клинических испытаниях, поскольку внутриклеточный процессинг пептидных молекул отрицательно влияет на антигенные свойства. Кроме того, иммуносупрессивное микроокружение опухоли снижает эффективность вакцин. Решением проблемы ограниченной эффективности может быть одновременное применение нескольких видов терапии с разными целями, например сочетание пептидных вакцин с адъювантами, цитостатиками и ингибиторами иммунных контрольных точек [3].

Адъюванты. В основе действия противораковых вакцин лежит наличие активированных ДК, способных презентировать АГ. Известно, что при злокачественном заболевании иммуносупрессия приводит к угнетению функции ДК. Поэтому противоопухолевые вакцины, особенно пептидные, часто комбинируют с иммуноадъювантами, которые в основном используются для разблокирования функции ДК. После такой стимуляции ДК экспрессируют на своей поверхности не только вакцинные АГ, но и костимулирующие молекулы, которые необходимы для активации Т-клеток, и мигрируют в лимфатические узлы. Выбор адъюванта имеет решающее значение для эффективности вакцины, и нет единого мнения об оптимальном адъюванте для терапевтической вакцины. Для усиления иммунного ответа на пептидные вакцины используют такие адъюванты, как, например, GM-CSF или агонисты toll-подобных рецепторов (TLR). TLR экспрессируются на поверхности различных клеток и могут распознавать молекулярные паттерны патогенов или чужеродных веществ. Агонисты TLR являются адъювантами, которые стимулируют ДК, как было показано в клинических испытаниях [3, 6, 11].

Poly-ICLC (Hiltonol®, Oncovir Inc.) представляет собой синтетический имитатор двухцепочечной РНК, стабилизированный поли-L-лизином и карбоксиметилцеллюлозой, состоящий из гомополимера полиинозиновой кислоты, отожженного до гомополимера полицитидиловой кислоты, что приводит к стабильной двойной спирали. Poly-ICLC связывается с эндосомальным TLR3, цитоплазматическим RIG-I (рецептором ретиноевой кислоты, индуцируемым геном I) и MDA5 (ассоциированным с дифференцировкой меланомы геном 5). Таким образом, poly-ICLC имитируют вирусную инфекцию, вызывая секрецию интерферона I типа и провоспалительных цитокинов, которые играют важную роль в индукции иммунного ответа. Он также может способствовать экспансии Т-клеток и усиливать инфильтрацию Т-клеток, что делает его мощным адъювантом для пептидных противораковых вакцин [7, 12].

GM-CSF (сарграмостим) является вторым наиболее распространенным адъювантом, используемым в клинических испытаниях НАВ. GM-CSF представляет собой 127-аминокислотный гликопротеин, первоначально выделенный из среды, кондиционированной факторами, секретируемыми пневмоцитами мышей, которым вводили липополисахарид. Обозначение GM-CSF обусловлено его способностью стимулировать пролиферацию клеток костного мозга мыши *in vitro* и генерировать колонии гранулоцитов и макрофагов *ex vivo*. GM-CSF может продуцироваться макрофагами, фибробластами, активированными Т-лимфоцитами, NK-, тучными, эндотелиальными клетками и некоторыми злокачественными клетками. Модулируя функции клеток, обеспечивающих врожденный иммунный ответ, который необходим для активации адаптивного иммунного ответа, GM-CSF глобально влияет на систему иммунного надзора человека при патологических состояниях. Способность GM-CSF стимулировать выработку, созревание

и активацию нейтрофилов, макрофагов и ДК во многом способствует его противоопухолевым эффектам. GM-CSF используется в качестве адъювантной терапии для активации клеточных и гуморальных противоопухолевых иммунных ответов в клинике [13, 14].

CAF®09b – новый вакцинный липосомальный адъювант, разработанный в Statens Serum Institut (Дания), на основе катионного поверхностно-активного вещества диметилдиоктадециламмония в сочетании с агонистом лектина С-типа мономиколоилглицерином и агонистом TLR3 poly-ICLC. CAF®09b на доклинических моделях продемонстрировал превосходную способность индуцировать ответы $CD8^+$-Т-клеток при внутрибрюшинном введении. В идеале адъювант CAF®09b способствует активации АПК и усилению поглощения ими пептидов, вызывая перекрестную презентацию АГ и провоспалительные сигналы, тем самым активируя вакциноспецифические $CD4^+$- и $CD8^+$-Т-клетки [15].

Z. Jing и соавт. [16] разработали безопасную систему доставки НАВ, основанную на частицах β-1,3-глюкана (GP-Neoantigen), полученных из *Saccharomyces cerevisiae*, которая может стимулировать организм к выработке антигенспецифического $CD8^+$-Т-клеточного иммунного ответа против различных неопептидов и, таким образом, использоваться для эффективного лечения опухолей. По сравнению с другими синтетическими системами наночастиц система доставки GP-Neoantigen относительно проста в приготовлении и стабильна, имеет однородный размер частиц и высокую специфичность нацеливания на АПК, включая ДК и макрофаги. GP-Neoantigen активировала иммунный ответ на животных моделях и эффективно ингибировала рост различных сингенных опухолей у мышей, таких как лимфома EG7·OVA, меланома B16F10, рак молочной железы 4T1 и рак толстой кишки CT26. Комбинация с poly-ICLC дополнительно усиливала противоопухолевый ответ на GP-Neoantigen, приводя к полной элиминации опухоли на нескольких моделях мышей и вызывая отторжение повторно перевитых опухолей в течение долгого времени.

Одним из используемых адъювантов для противораковых вакцин является ***монтанид*** ISA 51 VG. Монтанид представляет собой эмульгатор, состоящий из смеси минерального масла и поверхностно-активных веществ. Для получения стабильной эмульсии, пригодной для подкожной инъекции, ее следует смешать в соотношении 1:1 с водной фазой, содержащей АГ. Исследования показывают, что комбинация вакцинных АГ в сочетании с монтанидом усиливает врожденный и адаптивный иммунный ответ, что увеличивает терапевтический потенциал вакцины. Считается, что усиленный иммунный ответ является результатом воспаления в месте инъекции, образования депо АГ, привлечения профессиональных АПК и захвата лимфоцитов [17, 18].

Имиквимод (Aldara™, 3M Pharmaceuticals, США) – модификатор иммунного ответа, доступный в виде 5 % крема, применяемого в дерматологии, особенно при кожных злокачественных новообразованиях. По химической структуре представляет собой синтетический амин имидазохинолона – 1-(2-метилпропил)-1Н-имидазо [4,5-с] хинолин-4-амин. Имиквимод действует на врожденный и адаптивный иммунный ответ как прямо, так и опосредованно. Прямое действие заключается в связывании с TLR7 и TLR8 макрофагов, моноцитов и ДК и индукции апоптоза. Непрямое действие происходит за счет индукции высвобождения иммуномодулирующих цитокинов. Эффективность имиквимода также объясняется тем, что он действует на клетки Лангерганса, стимулируя их способность представлять АГ и усиливая их миграцию в дренирующие лимфатические узлы, где АГ представляются Т-клеткам, тем самым активируя адаптивный иммунный ответ организма. Благодаря иммуностимулирующим свойствам имиквимод и его производное резиквимод рассматриваются в качестве перспективных дополнительных вакцинных адъювантов, наносимых на место инъекции сразу после введения, при лечении меланомы кожи для передачи костимулирующих сигналов через TLR7 и активации местных АПК [19–22].

Разработка и производство неопептидных вакцин

Создание персонализированных противораковых вакцин сопряжено с рядом проблем, в отличие от других типов вакцин. Важен строгий контроль различных этапов разработки, производства и введения, чтобы обеспечить эффективность и безопасность персонализированных вакцин [23].

Хотя первоначальные клинические испытания НАВ демонстрируют многообещающие результаты, методы лечения, направленные против НАГ, имеют некоторые сложности, которые необходимо устранить для успешного применения НАВ в будущем.

- **Сроки производства.** Поскольку опухолевые мутации редко бывают общими даже для двух опухолей, а иммунная система пациентов уникальна, НАВ должны быть специфичными для пациента и производиться специально для каждого пациента. В целом исследования НАВ, опубликованные до настоящего момента, проводились с использованием протоколов и технологий вакцин со сроками производства от 12 до 24 нед. Это позволяет добавить вакцинацию только спустя долгое время после начала лечения ингибиторами иммунных контрольных точек, тогда как более раннее начало одновременного лечения ингибиторами иммунных контрольных точек

и вакциной, скорее всего, приведет к более высокой вероятности синергизма лечения. Следовательно, сроки производства должны быть сокращены [15].

- **Идентификация неоэпитопов.** В зависимости от конкретной опухоли и присущей ей скорости мутаций количество потенциальных неоэпитопов варьирует от нескольких сотен до тысяч. Такое количество идентифицированных неопептидов невозможно использовать в инъекциях пациентам, поэтому идентификация наиболее эффективных неоэпитопов имеет решающее значение для клинического эффекта [15].
- **Индукция неоэпитопспецифических $CD8^+$- и $CD4^+$-Т-клеток пациента.** Необходимо, чтобы вакцинация обеспечивала наиболее сильный ответ на идентифицированные неоэпитопы. Все типы НАВ демонстрируют индукцию неоэпитопных Т-клеток, однако не всегда сопровождающуюся клиническим эффектом [15].

Таким образом, практические аспекты производства персонализированных вакцин требуют постоянной оптимизации. Вопрос рутинной выполнимости и ускоренного темпа особенно актуален из-за метастазирования опухоли, когда время имеет существенное значение [24, 25].

В процессе производства пептидных НАВ можно выделить 3 основных технологических этапа: 1) скрининг и идентификация неоэпитопов; 2) синтез пептидов; 3) растворение пептидов, стерилизация, дозирование и маркировка продукта [1].

Разработка индивидуальной противоопухолевой вакцины начинается с идентификации опухолеспецифичных несинонимичных вариантов в генах, кодирующих белок, путем сравнения данных NGS-секвенирования (next generation sequencing) опухоли и здоровой ткани пациента. Многокомпонентные вычислительные конвейеры оценивают мутантные пептидные области на предмет связывания с аллелями человеческого лейкоцитарного антигена (human leukocyte antigen, HLA) пациента и оценивают дополнительные характеристики этой мутированной области (например, уровень экспрессии транскрипта, клональность и непохожесть на себя), которые могут индуцировать клинически значимые противоопухолевые Т-клеточные ответы. Полученные данные служат основой для выбора индивидуального набора кандидатов на НАГ для производства вакцины уникального состава для каждого пациента [26].

Скрининг и идентификация НАГ являются наиболее сложными процессами неоантигенной иммунотерапии. Для этого в настоящее время существует 3 классических метода.

Первый метод – предсказание НАГ с помощью компьютерного алгоритма. Для НАГ, индуцированных мутациями, точное предсказание требует большого количества данных и множества расчетов, которые в основном включают следующие аспекты: 1) точная идентификация всех видов сайтов мутаций из миллиардов оснований; 2) расчет частоты и уровня экспрессии мутационных сайтов; 3) точная идентификация аллелей пациентов из тысяч аллелей HLA; 4) оценка иммуногенности антигенных пептидов, продуцируемых каждым сайтом мутации, с помощью алгоритмов биоинформатики и искусственного интеллекта. Однако точный прогноз затруднен. Было разработано большое количество инструментов и алгоритмов для прогнозирования сродства между антигенными пептидами и молекулами HLA, но их точность по-прежнему является основным узким местом всех видов методов. M.S. Khodadoust и соавт. [27] с помощью этого подхода предсказали 108 пептидов-кандидатов у 8 пациентов с опухолями. После проверочных экспериментов с ответами Т-клеток тетрамера пептид-HLA на предсказанные НАГ было обнаружено, что ни одно из предсказаний не оправдалось. Поэтому необходимо повысить точность компьютерного предсказания НАГ.

Второй метод представляет собой комбинацию коиммунопреципитации и масс-спектрометрии для скрининга и идентификации НАГ. Существуют экспериментальные данные, подтверждающие эту комбинацию на уровне пептидов, и ее точность выше, чем у компьютерных алгоритмов. Комбинация может быть использована для создания базы данных высокоаффинных пептидов и наиболее часто встречаемых HLA в популяциях человека. Ограничением этого метода является сложность экспериментов с длительным периодом его проведения.

Два представленных выше метода в основном зависят от сродства между пептидами-кандидатами и молекулами HLA. Однако не все пептиды-кандидаты с высокой аффинностью могут вызывать сильный иммунный ответ. Следовательно, необходимо проводить функциональные эксперименты, в которых НАГ проверяют и идентифицируют на основе их восприимчивости к уничтожению специфическими Т-клетками.

Третий метод, таким образом, заключается в создании библиотеки и проведении цитотоксических экспериментов для скрининга и идентификации НАГ. Этот метод является лучшим в настоящее время [28].

При выборе вакцинных пептидов используют следующие инструменты:

- Vaxrank – общий инструмент выбора вакцины с логикой ранжирования;
- TruNeo – интегрированный конвейер для идентификации и ранжирования НАГ, полученных в результате точечных мутаций, вставок, делеций и слитых генов, который учитывает множество

факторов, включая каждый биологический этап презентации HLA, гетерогенность опухоли и HLA-LOH (потеря гетерозиготности);
- Pioneer™ – автоматизированная иммуноонкологическая платформа идентификации неоэпитопов, которая позволяет ранжировать потенциальные неоэпитопы на основе их вероятности вызывать выраженный противоопухолевый иммунный ответ;
- Isovar – определяет последовательность мутантного белка из соматических вариантов и опухолевой РНК;
- Varcode – предсказывает варианты эффектов для фильтрации скрытых мутаций;
- PyEnsembl – предоставляет справочные аннотации генома, которые используются Varcode для определения границ экзонов и последовательностей транскриптов;
- MHCtools – общий интерфейс для предикторов связывания пептид-MHC и др. [15, 29–33].

Ранжирование гарантирует, что выбранные неопептиды имеют следующие характеристики: 1) находящиеся в неопептиде эпитопы присутствуют только в опухолевых клетках; 2) состоят по крайней мере из одного эпитопа $CD4^+$ или $CD8^+$, предпочтительно из обоих; 3) происходят из белков, экспрессируемых в опухолевой клетке, а не в нормальных клетках. Последний критерий снижает риск аутоиммунных реакций у пациентов и, следовательно, является важной мерой безопасности [15].

Отобранные пептиды производят с использованием стандартной твердофазной синтетической пептидной химии по стандарту GMP (Good Manufacturing Practice, надлежащей производственной практики) и очищают (до 90–98 %) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с обратной фазой. Синтезированные пептиды (промежуточные продукты) в процессе производства вакцины оценивают по внешнему виду, чистоте (%), идентичности (молекулярная масса, время удерживания), содержанию остаточного растворителя и растворимости в водном буфере. Также для обеспечения безопасности и переносимости неопептиды тестируют на стерильность и концентрацию эндотоксина. Однако стоит отметить, что разработка и валидация методов анализа данного продукта являются сложной задачей, поскольку производимые пептиды отличаются от партии к партии в зависимости от мутаций в опухоли пациента. Дополнительной проблемой, связанной с контролем, является отсутствие внутреннего стандарта, что делает невозможным определение аналитической ценности изготовленных смесей пептидов [15, 17, 19, 34–37].

Фракции очищенных пептидов лиофилизируют при температуре –80 °C с получением порошков с конечной степенью чистоты ≥95 % [35, 38].

Для приготовления вакцины отдельные пептиды в зависимости от их свойств растворяют в 100 % ДМСО [15, 34], ≤4 % ДМСО в изотонической декстрозе [37], фосфатно-солевом буфере или физиологическом растворе [19] либо ином растворителе. Чтобы уменьшить потенциальную конкуренцию АГ в дренирующем лимфатическом узле, на основании HLA-типирования, аффинности и частоты аллелей пептиды группируют на пулы, каждый из которых может содержать до 7 пептидов. Конечная доза каждого пептида для отдельных НАВ варьирует от 0,1 до 0,3 мг на вакцину. В то же время с точки зрения стабильности желательна разработка лиофилизированной пептидной композиции для однократного введения. Кроме того, меньшее количество инъекций более предпочтительно и удобно для самого пациента [9, 17, 36, 38].

Каждый пул вакцины стерилизуют фильтрованием с использованием мембран с диаметром пор 0,2–0,22 мкм, например путем пропускания через стерильный шприцевой фильтр с гидрофильной поливинилиденфторидовой мембраной. Полученную стерильную смесь разливают в первичный контейнер – флаконы, закрывающиеся бромбутиловой пробкой и алюминиевой пробкой, и ампулы из прозрачного боросиликатного стекла типа I или специальные шприц-тюбики. Готовый продукт хранят, как правило, при температуре –80 °C. Смеси пептидов, используемых в качестве препарата, контролируют по показателям: внешний вид, идентификация (молекулярная масса, соотношение пиков), pH водной смеси, осмоляльность, чистота, примеси, стерильность, бактериальные эндотоксины [15, 17, 36, 37].

Перед применением пулы вакцины размораживают, смешивают с подобранным адъювантом и вводят пациенту подкожно, иногда внутрикожно, внутримышечно или внутривенно [29]. В случае применения в качестве адъюванта GM-CSF его вводят отдельно перед каждой вакцинацией вблизи места инъекции пептидной смеси [39].

Возможными рисками, связанными с производственным процессом и требующими оценки, являются точность используемых мерных емкостей и инструментов; потенциальная адсорбция пептидов на фильтре, используемом на стадии стерильной фильтрации; соответствие требованиям асептики и совместимость смеси пептидов с адъювантом для получения стабильной смеси, пригодной для инъекций [17].

S.K. Mørk и соавт. [15] при создании неоантигенной пептидной вакцины EVX-01 разработали полностью интегрированный производственный процесс в соответствии с GMP, основанный на предварительно определенном оптимизированном рабочем процессе для каждого действия в производственном цикле от биопсии опухоли до упаковки конечного продукта. Мероприятия по возможности выполняются

параллельно, и введены четкая коммуникация и надзор для отслеживания, чтобы каждое действие было инициировано в нужное время с правильным вкладом. Это обеспечивает максимально быстрое время выполнения работ. Однако, поскольку невозможно создать специальную производственную площадку, охватывающую все стадии, для производства каждой отдельной партии для конкретного пациента требуется несколько партнеров. В результате авторами было показано, что можно разработать и изготовить персональную вакцину от биопсии до конечного продукта менее чем за 8 нед (48–55 дней).

Сроки для всего процесса производства другой вакцины – FRAME-001 – составляют 48 рабочих дней. На 1-й день у пациентов берут биопсию и образец крови для анализа ДНК и РНК. На 12-й день пептиды НАГ отбирают и отправляют на синтез. На 31-й день синтезированные и контролируемые по качеству персонализированные лиофилизированные пептиды отправляются в стерильную установку для дальнейшего приготовления водных смесей, которые выпускаются для клинического применения на 47-й день. На 48-й день водные пептидные смеси эмульгируют с адъювантом вакцины монтанидом в местных аптеках на базе клинических испытаний и вводят подкожно пациенту [17].

Заключение

Персонализированные противоопухолевые вакцины на основе синтетических пептидов представляют собой субъединичные вакцины, изготовленные из пептидов, имитирующих эпитопы АГ, которые вызывают иммунные противоопухолевые ответы.

Разработка и производство НАВ – сложный, трудоемкий и ресурсоемкий процесс. Для конструирования НАВ широко используются длинные пептиды или смеси длинных и коротких пептидов с целью пролонгирования перекрестной презентации АГ и преодоления потенциальной иммунологической толерантности, чтобы вызывать не только $CD8^+$-, но и $CD4^+$-Т-клеточные ответы. Для повышения эффективности пептидных вакцин применяют различные адъюванты, которые значительно влияют на кинетику, степень и качество реакций, вызванных вакцинацией.

Технология производства НАВ включает стадии скрининга и идентификации неоэпитопов с использованием подходов компьютерного прогнозирования, коиммунопреципитации, масс-спектрометрии и цитотоксических экспериментов; синтеза пептидов методами стандартной твердофазной синтетической пептидной химии и непосредственно получения вакцинного препарата, пригодного для хранения, транспортировки и введения пациенту. Весь процесс может занять 3–6 мес, поэтому вопрос рутинной выполнимости и ускоренного темпа особенно актуален в условиях метастазирования, когда время имеет существенное значение. Следовательно, практические аспекты производства персонализированных вакцин требуют постоянной оптимизации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Blass E., Ott P.A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines. Nat Rev Clin Oncol 2021;18(4):215–29. DOI: 10.1038/s41571-020-00460-2
2. Sobhani N., Scaggiante B., Morris R. et al. Therapeutic cancer vaccines: from biological mechanisms and engineering to ongoing clinical trials. Cancer Treat Rev 2022;109:102429. DOI: 10.1016/j.ctrv.2022.1/02429
3. Papież M.A., Krzyściak W. Biological therapies in the treatment of cancer-update and new directions. Int J Mol Sci 2021;22(21):11694. DOI: 10.3390/ijms222111694
4. Charneau J., Suzuki T., Shimomura M. et al. Peptide-based vaccines for hepatocellular carcinoma: a review of recent advances. J Hepatocell Carcinoma 2021;8:1035–54. DOI: 10.2147/JHC.S291558
5. Ferrall L., Lin K.Y., Roden R.B.S. et al. Cervical cancer immunotherapy: facts and hopes. Clin Cancer Res 2021;27(18):4953–73. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2833
6. Tang M., Cai J.H., Diao H.Y. et al. The progress of peptide vaccine clinical trials in gynecologic oncology. Hum Vaccin Immunother 2022;18(5):2062982. DOI: 10.1080/21645515.2022.2062982
7. Zhao X., Pan X., Wang Y., Zhang Y. Targeting neoantigens for cancer immunotherapy. Biomark Res 2021;9(1):61. DOI: 10.1186/s40364-021-00315-7
8. Lee H.H., Hong S.H., Rhee J.H., Lee S.E. Optimal long peptide for flagellin-adjuvanted HPV E7 cancer vaccine to enhance tumor suppression in combination with anti-PD-1. Transl Cancer Res 2022;11(6):1595–602. DOI: 10.21037/tcr-21-2798
9. Chen Z., Zhang S., Han N. et al. A Neoantigen-based peptide vaccine for patients with advanced pancreatic cancer refractory to standard treatment. Front Immunol 2021;12:691605. DOI: 10.3389/fimmu.2021.691605
10. Zhou W.J., Qu Z., Song C.Y. et al. NeoPeptide: an immunoinformatic database of T-cell-defined neoantigens. Database (Oxford) 2019;2019:baz128. DOI: 10.1093/database/baz128
11. Chen H., Li Z., Qiu L. et al. Personalized neoantigen vaccine combined with PD-1 blockade increases $CD8^+$ tissue-resident memory T-cell infiltration in preclinical hepatocellular carcinoma models. J Immunother Cancer 2022;10(9):e004389. DOI: 10.1136/jitc-2021-004389
12. De Waele J., Verhezen T., van der Heijden S. et al. A systematic review on poly(I:C) and poly-ICLC in glioblastoma: adjuvants coordinating the unlocking of immunotherapy. J Exp Clin Cancer Res 2021;40(1):213. DOI: 10.1186/s13046-021-02017-2
13. Dillman R.O. An update on GM-CSF and its potential role in melanoma management. Melanoma Manag 2020;7(3):MMT49. DOI: 10.2217/mmt-2020-0011
14. Kumar A., Taghi Khani A., Sanchez Ortiz A., Swaminathan S. GM-CSF: a double-edged sword in cancer immunotherapy. Front Immunol 2022;13:901277. DOI: 10.3389/fimmu.2022.901277
15. Mørk S.K., Kadivar M., Bol K.F. et al. Personalized therapy with peptide-based neoantigen vaccine (EVX-01) including a novel adjuvant, CAF®09b, in patients with metastatic melanoma. Oncoimmunology 2022;11(1):2023255. DOI: 10.1080/2162402X.2021.2023255

16. Jing Z., Wang S., Xu K. et al. A potent micron neoantigen tumor vaccine GP-Neoantigen induces robust antitumor activity in multiple tumor models. Adv Sci (Weinh) 2022;9(24):e2201496. DOI: 10.1002/advs.202201496
17. Oosting L.T., Franke K., Martin M.V. et al. Development of a personalized tumor neoantigen based vaccine formulation (FRAME-001) for use in a phase II trial for the treatment of advanced non-small cell lung cancer. Pharmaceutics 2022;14(7):1515. DOI: 10.3390/pharmaceutics14071515
18. Sha H., Liu Q., Xie L. et al. Case report: pathological complete response in a lung metastasis of phyllodes tumor patient following treatment containing peptide neoantigen nano-vaccine. Front Oncol 2022;12:800484. DOI: 10.3389/fonc.2022.800484
19. Li F., Deng L., Jackson K.R. et al. Neoantigen vaccination induces clinical and immunologic responses in non-small cell lung cancer patients harboring EGFR mutations. J Immunother Cancer 2021;9(7):e002531. DOI: 10.1136/jitc-2021-002531 Erratum in: J Immunother Cancer 2021;9(9):1.
20. Buck H.W. Imiquimod (Aldara cream). Infect Dis Obstet Gynecol 1998;6(2):49–51. DOI: 10.1002/(SICI)1098-0997(1998)6:2<49::AID-IDOG3>3.0.CO;2-2
21. Bubna A.K. Imiquimod – its role in the treatment of cutaneous malignancies. Indian J Pharmacol 2015;47(4):354–9. DOI: 10.4103/0253-7613.161249
22. Tambunlertchai S., Geary S.M., Salem A.K. Topically applied resiquimod *versus* imiquimod as a potential adjuvant in melanoma treatment. Pharmaceutics 2022;14(10):2076. DOI: 10.3390/pharmaceutics14102076
23. Reynolds C.R., Tran S., Jain M., Narendran A. Neoantigen cancer vaccines: generation, optimization, and therapeutic targeting strategies. Vaccines (Basel) 2022;10(2):196. DOI: 10.3390/vaccines10020196
24. Hellmann M.D., Snyder A. Making it personal: neoantigen vaccines in metastatic melanoma. Immunity 2017;47(2):221–3. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.08.001
25. Li L., Goedegebuure S.P., Gillanders W.E. Preclinical and clinical development of neoantigen vaccines. Ann Oncol 2017;28(suppl_12):xii11-xii7. DOI: 10.1093/annonc/mdx681
26. Lang F., Schrörs B., Löwer M. et al. Identification of neoantigens for individualized therapeutic cancer vaccines. Nat Rev Drug Discov 2022;21(4):261–82. DOI: 10.1038/s41573-021-00387-y
27. Khodadoust M.S., Olsson N., Wagar L.E. et al. Antigen presentation profiling reveals recognition of lymphoma immunoglobulin neoantigens. Nature 2017;543(7647):723–7. DOI: 10.1038/nature21433
28. Chen P., Fang Q.X., Chen D.B., Chen H.S. Neoantigen vaccine: an emerging immunotherapy for hepatocellular carcinoma. World J Gastrointest Oncol 2021;13(7):673–83. DOI: 10.4251/wjgo.v13.i7.673
29. Rubinsteyn A., Kodysh J., Hodes I. et al. Computational pipeline for the PGV-001 neoantigen vaccine trial. Front Immunol 2018;8:1807. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01807
30. Long G.V., Ferrucci P.F., Khattak A. et al. KEYNOTE – D36: personalized immunotherapy with a neoepitope vaccine, EVX-01 and pembrolizumab in advanced melanoma. Future Oncol 2022. Ahead of print. DOI: 10.2217/fon-2022-0694
31. Tang Y., Wang Y., Wang J. et al. TruNeo: an integrated pipeline improves personalized true tumor neoantigen identification. BMC Bioinformatics 2020;21(1):532. DOI: 10.1186/s12859-020-03869-9
32. Hundal J., Kiwala S., McMichael J. et al. pVACtools: a computational toolkit to identify and visualize cancer neoantigens. Cancer Immunol Res 2020;8(3):409–20. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0401
33. Shao X.M., Bhattacharya R., Huang J. et al. High-throughput prediction of MHC class I and II neoantigens with MHCnuggets. Cancer Immunol Res 2020;8(3):396–408. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0464
34. Cai Z., Su X., Qiu L. et al. Personalized neoantigen vaccine prevents postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma patients with vascular invasion. Mol Cancer 2021;20(1):164. DOI: 10.1186/s12943-021-01467-8
35. Harari A., Sarivalasis A., de Jonge K. et al. A Personalized neoantigen vaccine in combination with platinum-based chemotherapy induces a T-Cell response coinciding with a complete response in endometrial carcinoma. Cancers (Basel) 2021;13(22):5801. DOI: 10.3390/cancers13225801
36. Keskin D.B., Anandappa A.J., Sun J. 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
37. 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
38. 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):347–62.e24. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.053
39. Shou J., Mo F., Zhang S. et al. Combination treatment of radiofrequency ablation and peptide neoantigen vaccination: promising modality for future cancer immunotherapy. Front Immunol 2022;13:1000681. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1000681

ORCID авторов / ORCID of authors
М.В. Дмитриева / M.V. Dmitrieva: https://orcid.org/0000-0001-6740-5692
М.А. Барышникова / M.A. Baryshnikova: https://orcid.org/0000-0002-6688-8423
О.Л. Орлова / O.L. Orlova: https://orcid.org/0000-0002-4558-0083
В.С. Косоруков / V.S. Kosorukov: https://orcid.org/0000-0002-8462-2178

Вклад авторов
М.В. Дмитриева: дизайн обзорного исследования, сбор и анализ данных литературы, написание текста статьи и подготовка к публикации;
М.В. Барышникова: сбор и анализ данных литературы, редактирование статьи;
О.Л. Орлова, В.С. Косоруков: дизайн обзорного исследования, проверка конечной версии рукописи.
Authors contributions
M.V. Dmitrieva: design of a review study, collection and analysis of literature data, writing the text of the article and preparing for publication;
M.A. Baryshnikova: collection and analysis of literature data, article editing;
O.L. Orlova, V.S. Kosorukov: review study design, revision of the final version of the manuscript.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Минздрава России в рамках исследования № АААА-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. AAAA-A20-120022090056-5.

Статья поступила: 10.10.2022. **Принята к публикации:** 11.11.2022.
Article received: 10.10.2022. **Accepted for publication:** 11.11.2022.