Андреев Ю.Ю., Топтыгина А.П.

Адьюванты и иммуномодуляторы в составе вакцин

Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 125212, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Инфекционные заболевания остаются одной из ведущих причин смертности в мире. Достижения в области создания вакцин внесли неоценимый вклад в борьбу с глобальными инфекциями. Живые и инактивированные вакцины содержат ослабленный возбудитель инфекции, что обеспечивает им наиболее выраженную иммуногенность, однако это негативно влияет на безопасность самой вакцины. В основе субъединичных вакцин лежат наиболее иммуногенные фрагменты вирусов или бактерий. Отсутствие непосредственно инфекционного агента в вакцине обеспечивает высокий уровень безопасности, однако естественным образом снижает ее способность вызывать продолжительный и эффективный поствакцинальный иммунитет. Таким образом, для создания эффективной вакцины необходимо добавление в нее специфических веществ – адьювантов, которые могли бы повысить ее иммуногенность, снизив при этом количество вводимого антигена. Первоначально в качестве адьювантов использовали химические соединения, способствующие развитию реакции местного воспаления и депонированию антигена в месте введения вакцины. Эффективность такого подхода была продемонстрирована в многочисленных экспериментах. В дальнейшем с открытием паттерн-распознающих рецепторов (PRRs) стало понятно, что роль многих даже давно известных адьювантов заключается в индукции врожденного иммунного ответа, необходимого для последующей активации адаптивного иммунитета. В результате взаимодействия адьюванта с PRRs происходят активация инфламмосомы, усиление экспрессии МНС, активация цитокиновой сети. Однако до сих пор нет полного понимания эффектов, оказываемых адьювантами, поэтому эта область требует дальнейшего исследования. В обзоре проанализированы данные об основных адьювантах, используемых в современных вакцинах. Поиск литературы проведен по базам данных Web of Science, Pubmed, РИНЦ.

Ключевые слова: иммунитет; вакцины; традиционные адьюванты; адьюванты на основе паттерн-распознающих рецепторов; мукозальные адьюванты; новые адьюванты с иммуномодулирующими свойствами; обзор

Статья получена 19.09.2020. Принята в печать 27.10.2021.

Для цитирования: Андреев Ю.Ю., Топтыгина А.П. Адьюванты и иммуномодуляторы в составе вакцин. Иммунология. 2021; 42 (6): 720–729. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-6-720-729>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Топтыгина Анна Павловна –
доктор медицинских наук,
руководитель лаборатории цитокинов
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского
Роспотребнадзора,
Москва, Российская Федерация
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9981-4762>

Andreev Yu.Yu., Toptygina A.P.

Adjuvants and immunomodulators in vaccines

G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), 125212, Moscow, Russian Federation

Abstract

Infection diseases remain one of the leading causes of the death toll in the world. Recent achievements in vaccine development made a significant contribution to frequency reduction in incidence of infection diseases. Live and inactivated vaccines contain a weakened pathogen, which provides the highest level of immunological potency of vaccine. However, this negatively affects the safety of the vaccine itself. Subunit vaccine based on fragments of viruses or bacteria. High level of safety is provided by the absence of an infection agent in the vaccine. This fact naturally reduces its ability to induce long-term and post vaccination immunity. Thus, adjuvants

For correspondence
Anna P. Toptygina – MD, PhD,
Deputy Head of Cytokine Laboratory,
G.N. Gabrichevsky Research Institute
for Epidemiology and Microbiology,
Rosпотребнадзор, Moscow,
Russian Federation
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9981-4762>

are necessary for development of effective vaccines. Originally chemical compounds were used as adjuvants to promote local inflammation and antigen deposition. The effectiveness of this approach has been demonstrated in numerous experiments. Discovery of pattern-recognition receptors (PRRs) shed the light on the role of many well-known adjuvants to activate the innate immune system, what is critically important for triggering the adaptive immunity. Interaction of adjuvant with PRRs results in activation of inflammasome, amplification of the expression of MHC and the cytokine network activation. However there is still no full understanding of adjuvant effects and this fact requires future investigation. The data on the common adjuvants used in contemporary vaccines are analyzed in review. Literature search was conducted through the following science data bases: Web of Science, Pubmed, RSCI.

Keywords: immunity; vaccine; original adjuvants; pathogen recognition receptors based adjuvants; mucosal adjuvants; new adjuvants with immunomodulatory effects; review

Received 19.09.2020. Accepted 27.10.2021.

For citation: Andreev Yu.Yu., Topotygina A.P. Adjuvants and immunomodulators in vaccines. *Immunologiya*. 2021; 42 (6): 720–9. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-6-720-729> (in Russian)

Funding. The study had not sponsor support.

Conflict of interests. Authors declare no conflicts of interests.

Введение

Вакцинация – это один из наиболее эффективных способов контроля инфекционных заболеваний. Существует несколько типов вакцин, используемых для иммунизации человека: живые, ослабленные, инактивированные и субъединичные, а также анатоксины, конъюгированные вакцины, поливалентные бактериальные и вирусные лизаты для мукозального применения, а также генно-инженерные векторные, ДНК- и РНК-вакцины.

Живые вакцины более иммуногены, но они могут быть опасны (аллергические реакции или случайные мутации, восстанавливающие вирулентность патогена). Субъединичные вакцины менее иммуногены, но более безопасны. Для повышения их иммуногенности необходимы адьюванты (АД). Ряд генетических факторов, индивидуальных для каждого человека, вносит свой вклад в способность людей отвечать на антигены (АГ) и потенциально может способствовать первичным или вторичным вакцинальным неудачам. Новые подходы к созданию АД могут решить эту проблему. АД – это вещества, обладающие свойствами, необходимыми для усиления иммунного ответа на АГ, их традиционно добавляют в вакцину. АД позволяют использовать меньшие дозы АГ в процессе иммунизации, активируют реакции врожденного иммунитета, запуская и усиливая адаптивный иммунный ответ, оказывают влияние на начало, длительность и продолжительность иммунного ответа.

Свойства адьювантов

Некоторые АД способны захватывать, адсорбировать АГ, формируя депо АГ, и выступают в качестве доноров АГ для формирования эффективного иммунного ответа. Введение АД в составе вакцины обеспечивает рекрутирование иммунных клеток и приводит к усиле-

нию локального провоспалительного иммунного ответа. Активация местного иммунитета обеспечивает дополнительное привлечение иммунокомпетентных клеток. С открытием паттерн-распознающих рецепторов (Pattern recognition receptors, PRRs) и их роли в индукции адаптивного иммунного ответа стало понятно, что роль АД заключается в индукции врожденного иммунитета для активации адаптивного. В результате лиганд-рецепторного взаимодействия, где в роли лиганда выступает АД, происходит сигналинг через PRRs, NLRP3 (NOD like receptor family, pyrin domain containing 3).

Инфламасома – это внутрицитоплазматический комплекс, содержащий сенсор, например рецептор NLRP3, прокаспазу-1 и регуляторный белок, ассоциированный с апоптозом, содержащий CARD-домен (Caspase activation and recruitment domains). Стимуляция инфламасомы приводит к активации прокаспазы-1, образованию активных форм интерлейкина (ИЛ)-1, ИЛ-18, ИЛ-33. В проведенных ранее исследованиях было показано, что такие АД, как гидроксид алюминия (ГА) и некоторые виды эмульсий, способствуют презентации АГ в комплексе с молекулами МНС (Major histocompatibility complex) на АГ-презентирующих клетках (АПК), тем самым участвуя в активации адаптивного иммунитета. Однако точного понимания механизмов усиления МНС-опосредованной презентации под влиянием АД нет и это требует дальнейшего исследования. Иммуномодулирующий эффект АД обусловлен способностью воздействовать на цитокиновую сеть, моделируя преимущественно пути дифференцировки Т-клеток, зависящие от интерферона (ИФН)- γ , ИЛ-2 и ИЛ-12 (Th1-ответ) или зависящие от ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-13 (Th2-ответ). В зависимости от химического состава и механизмов действия АД можно классифицировать на несколько типов: минеральные АД, масляные эмульсии, липосомы, виросомы, ниосомы, агонисты PRRs, мукозальные АД.

Минеральные адъюванты

К минеральным АД следует отнести соединения алюминия (СА): фосфат алюминия и ГА, а также фосфат кальция. АД такого типа входят в состав вакцин против гепатита А, В, дифтерии/столбняка/коклюша, вируса папилломы человека, гемофильной палочки и пневмококка, а также новой вакцины «ЭпиВакКорона». Долгое время считалось, что СА оказывают адъювантный эффект за счет образования депо АГ. Однако впоследствии было доказано, что ГА способен усиливать врожденный иммунитет через активацию NOD-рецепторов (Nucleotide-binding oligomerization domain receptor). СА участвуют в активации инфламмасомы. ГА активирует каспазу-1, которая индуцирует активацию ИЛ-1 β и ИЛ-18 [1]. ГА усиливает ИФН-опосредованный сигналинг, процессинг и презентацию АГ HLA I, оказывая усиливающее действие на дифференцировку и созревание моноцитов в АПК.

Активация АПК играет ключевую роль для запуска врожденного иммунитета: было показано, что СА способствуют усиленной экспрессии CD80 и CD86 на дендритных клетках (ДК) [2] и генов, связанных с активацией врожденного и адаптивного иммунитета (Acute phase-related genes, APCS). Кроме того, СА усиливают продукцию ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-17А. Под воздействием ГА активируется CSF2, повышается экспрессия CCR6 и CCR8. ГА поляризует иммунный ответ в сторону Th2-ответа, стимулируя синтез ИЛ-4 и ИЛ-5 [3].

Исследования в области безопасности СА не обнаружили никаких значимых побочных эффектов [4]. Было показано, что модифицированный фосфосерином ГА продлевает биодоступность иммуногена и значительно усиливает ответ клеток зародышевого центра, В-клеток памяти и долгоживущих плазматических клеток.

Попадая в лимфатический узел (ЛУ), ГА запускает активацию В-клеток посредством поливалентно-ориентированной презентации АГ. Поглощение СА В-клетками приводит к активации процессинга и презентации АГ, дополнительно усиливая активацию самих В-клеток [5]. СА в комбинации с TLR7 усиливают пролиферацию и аккумуляцию В-клеток памяти в ЛУ. А также ГА/TLR7 индуцирует рекрутинг наивных АГ-специфических В-клеток в дренирующие ЛУ, поддерживая активацию зародышевого центра, к тому же ГА участвует в гомеостатической поддержке Т- и В-клеток памяти [6].

Масляные эмульсии

Эмульсия представляет собой дисперсию 2 несмешивающихся фаз, воды и масла, с добавлением поверхностно-активных веществ (ПАВ) для стабилизации соединения. Существует несколько классов эмульсий: «масло в воде» (м/в), «вода в масле» (в/м) и «вода в масле и в воде» (в/м/в).

Адъювантные свойства эмульсий обусловлены их способностью к рекрутированию и активации АПК, стимуляции реакций локального воспалительного ответа. Также эмульсии обладают способностью депонировать

АГ. Отрицательным эффектом АД такого типа является образование гранулем и язв в месте инъекции. Классический пример АД такого типа – полный АД Фрейнда (CFA) – эмульсия воды в масле, содержащая убитые теплом микобактерии. CFA индуцирует выраженное локальное воспаление. Также существует неполный АД Фрейнда (IFA), представляющий собой эмульсию воды в масле, не содержащую микобактерий. IFA индуцирует преимущественно Th2-ответ, участвуя в депонировании АГ в месте инъекции и стимуляции антигенопредставляющих плазматических клеток [7].

Еще одним представителем группы АД на основе масляной эмульсии является MF-59. В основе MF-59 используется сквален, который выступает в роли мощного АД, усиливающего и клеточный, и гуморальный иммунитет. Сквален оказывает стимулирующее действие на АПК. MF-59 входит в состав вакцин против гриппа и гепатита В. Инъекция MF59 первоначально активирует макрофаги, моноциты и дифференцировку ДК, которые в ответ продуцируют спектр провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как CCL4 (Chemokine C motif ligands), CCL2, CCL5, CXCL8, определяющих миграцию АПК в ЛУ [8]. Таким образом увеличивается вероятность взаимодействия между АПК и АГ, повышается эффективность транспорта АГ в ЛУ, что приводит к более эффективному примированию Т-лимфоцитов. В клинических испытаниях вакцина против гриппа с MF59 вызывала более высокий и длительный АГ-специфический иммунный ответ по сравнению с вакцинами без MF59, поскольку при введении вакцины с MF59 стимулированные В-клетки памяти обладают большим потенциалом к бустер-активации и продуцируют более специфические АТ. Более того, добавление MF59 приводило к более длительному сохранению высокого титра защитных АТ [9]. Такие АТ обнаруживали больший потенциал стимуляции фагоцитоза и активации комплемента по сравнению с индуцированными введением вакцины без АД [10].

Другим АД на основе сквалена является агонист TLR4 GLA-SE (глюкопиранозил-липидный синтетический АД). Он способствует миграции клеток врожденного иммунитета в ЛУ, активирует формирование инфламмасомы (NLRP3), что приводит к высвобождению ИЛ-1 β и ИЛ-18. Это способствует ответу В- и Th1-клеток [11]. GLA-SE индуцирует дифференцировку фолликулярных Т-хелперов (Tfh), способствуя формированию длительного гуморального ответа [12]. В настоящее время адъювант GLA-SE включен в вакцины против лейшманиоза, туберкулеза [13] и гриппа [14], проходящие клинические испытания.

К АД на основе масляной эмульсии относят AS03, в состав которого входит α -токоферол – биодоступная форма витамина Е, обладающая иммуностимулирующим и антиоксидантным эффектом. AS03 впервые был использован в противомаларийной вакцине. Он стимулирует иммунную систему через активацию NF- κ B (Nuclear factor κ – light chain enhancer of activated B cells), продукцию провоспалительных цитокинов, при-

влечение моноцитов и активацию в большей степени гуморального звена иммунитета. Показан синергический эффект эмульсии в комбинации с другими АД. AS03 значительно усиливает ответ уже существующих В-клеток памяти и наивных В-клеток [15]. Адьювантное действие AS03 направлено на раннюю стимуляцию моноцитов, активацию процессов процессинга и презентации АГ, усиление экспрессии МНС класса I, стимулирование рекрутинга нейтрофилов [16]. Также AS03 стимулирует продукцию ИЛ-6 и ИЛ-10, участвует в активации генов, связанных с ИФН-опосредованным сигналингом. AS03 усиливает экспрессию генов, связанных с презентацией АГ молекулами МНС класса II в нейтрофилах, а также генов, участвующих в клеточном цикле и делении НК-клеток [17].

Липосомы, виросомы, ниосомы

Липосомы представляют собой пузырьки сферической формы, которые могут образовываться из холестерина и нетоксичных природных фосфолипидов, содержат один или несколько фосфолипидных бислоев и воду. Липидный состав, поверхностный заряд и способ синтеза определяют основные свойства липосом. Адьювантные свойства липосом выражаются в активации как гуморального, так и клеточного иммунитета, прежде всего за счет создания депо АГ. Иммуоадьювантное действие липосом может быть усилено рецепторно-последовательным таргетированием на АПК с помощью вспомогательных АД и цитокинов. Липосомы могут эффективно применяться как транспортная система, содержащая АД и экзогенные Т-хелперные пептиды, обеспечивая антительный ответ против слабоиммуногенных В-клеточных эпитопов. Доставка липид-заякоренных хелперных пептидов с В-клеточным АГ, полученным из патогена, индуцирует долгоживущие плазматические клетки и В-клетки памяти, способствует получению высокоаффинных защитных АТ [18].

AS01 является адьювантом на основе липосом и содержит 2 иммуностимулятора: монофосфорил-липид А (MPL) и сапониновую фракцию, экстрагированную из *Quillaja saponaria Molina* (QS-21) [19]. Комбинация MPL и QS-21 усиливает иммунный ответ по сравнению с отдельными компонентами. Так, QS-21 активно накапливается в макрофагах, вызывает высвобождение HMGB1 и активацию каспазы-1, что индуцирует образование инфламасомы NLRP3 в ДК и макрофагах, приводит к высвобождению ИЛ-1 β и ИЛ-18. Зрелые ДК активируют АГ-специфические Т-клетки через MyD88-путь.

QS-21 накапливается в лизосомах ДК, образует поры в мембране, в результате чего содержимое лизосом высвобождается в цитоплазму. Это приводит к активации Syk-киназы и факторов транскрипции в ДК и в свою очередь к продукции ими цитокинов [20].

AS01 опосредует раннюю продукцию ИФН- γ НК-клетками и цитотоксическими Т-лимфоцитами. Продукция ИФН- γ активирует ДК, вызывает Th1-ответ и увеличивает количество специфических иммуногло-

булинов [21]. AS01 в качестве адьюванта используется в составе вакцины против опоясывающего герпеса Шингрикс (Shingrix). III фаза клинических испытаний среди людей старшего возраста (50–70 лет) показала высокую эффективность вакцины. Клеточный и гуморальный ответ на вакцинацию сохранялся в течение 6 лет [22]. AS01 в составе вакцины против малярии успешно прошел III фазу клинических испытаний. Было показано, что такая вакцина вызывает CD4⁺-Т-клеточный ответ [23].

Виросомы представляют собой восстановленные вирусные оболочки, работающие как система-носитель. Они состоят из мембранных липидов и вирусных гликопротеинов, лишены вирусной ДНК (РНК), неспособны реплицироваться. Виросомы увеличивают продукцию поверхностных костимулирующих молекул CD80 и CD86 на поверхности АПК. Было показано, что виросома гриппа, нагруженная пептидом-агонистом активированного протеазой рецептора 2 (PAR-2AP), усиливает вирус-специфическую реактивность АТ, индуцированную вирусом при первичном ответе, и вызывает увеличение количества цитотоксических Т-клеток (ЦТЛ) и Т-клеток памяти [24]. Кроме того, была показана эффективность использования виросомной системы с добавлением к вирусоподобной частице из норовируса рекомбинантных белков бакуловируса (BV), что значительно улучшало иммуногенность самой виросомы [25].

Разработка систем с АГ-носителями вызывает большой интерес, поскольку открывает широкие перспективы для применения иммуномодулирующих соединений. Использование подобных виросом замедляет деградацию АГ по сравнению с его растворимым аналогом. АГ, связанный с виросомой, индуцирует активацию Treg и продукцию ИФН. Было показано, что комплекс виросомы с овальбумином усиливает экспрессию молекул МНС класса II, CD80, CD86 и снижает экспрессию PD-L2 на ДК [26].

Ниосомы структурно напоминают липосомы и имеют схожие свойства. АД этого типа образованы из неионогенных ПАВ, химически более стабильных, чем липосомы. Ниосомы представляют собой самособирающиеся везикулярные наноносители, образованные гидратацией неионогенного ПАВ, холестерина или других амфифильных молекул, которые служат универсальной системой доставки. Ниосомы способны включать как гидрофильные, так и липофильные вещества. Кроме того, ниосомы требуют меньших затрат на производство, они более стабильны в течение длительного времени, чем липосомы [27].

Выделяют несколько типов ниосом. Прониосомы получают путем нанесения тонкого слоя неионного ПАВ на водорастворимый переносчик [28]. Эластичные ниосомы – это гибкие ниосомы, которые могут проходить через поры меньшего собственного размера без разрушения своей структуры [29]. Дискосомы получают с использованием гексадецилдиглицеринового эфира, холестерина и дицетилфосфата [30]. Бола-ниосомы состоят из ПАВ, полученных на основе сурфактанта [31].

Трансферосомы способны к деформации; они в основном состоят из фосфолипидов, которые в водной среде самоорганизуются в липидный бислой и образуют микропузырек [32]. В последнее время наносомы широко изучаются как универсальные системы-носители для широкого круга биологически активных соединений. Подобные системы имеют большой потенциал применения в области иммунологии.

Адьюванты на основе агонистов паттерн-распознающих рецепторов

Иммуномодулирующие АД участвуют в активации сигнальных путей врожденного иммунитета через PRRs. АПК экспрессируют поверхностные PRRs (Толл-подобные рецепторы – TLRs, CLRs) и внутриклеточные PRRs (NOD, RLRs), участвующие в распознавании присутствующих на бактериях, вирусах, грибах и других патогенных микроорганизмах патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (pathogen associated molecular patterns, PAMPs). Иммуномодулирующие АД выступают в роли лигандов для PRRs. Активация PRRs приводит к экспрессии генов, кодирующих различные провоспалительные цитокины, хемокины, костимулирующие молекулы, которые в дальнейшем потенцируют врожденный и адаптивный иммунитет [33]. Хорошо изучены селективные агонисты PRRs.

Агонист TLR3 синтетическая двухцепочечная РНК, имитирующая вирусную РНК, активирует TLR3 в эндосомах. Она обычно используется в комбинациях с другими агонистами TLRs. Показано, что комбинация агонистов TLR1, 2, 3 (L-рапро) оказывает выраженное адьювантное действие на гуморальное звено иммунитета. L-рапро способствует преимущественной активации Th2-пути и повышению титра специфических АТ [34]. Кроме стимуляции В-клеточного звена иммунитета, L-рапро стимулирует пролиферацию Tfh и оказывает гомеостатическую поддержку специфическим CD4⁺-Т-клеткам памяти. Так же L-рапро усиливает сигналинг AP-1 и NF-κB [35].

Агонист TLR4 монофосфорил-липид (MPL) – производное липополисахарида из грам-отрицательных бактерий. Активация TLR4 запускает TRIF- и MyD88-зависимый сигнальные пути, приводит к запуску провоспалительного ответа, в частности к синтезу фактора некроза опухоли (ФНО).

TLR4 отвечает за обнаружение липополисахаридов (ЛПС). Также было показано, что синтетический агонист TLR4, связанный с дифференцировочным белком миелоида 2 (hTLR4/MD2), стимулирует продукцию ИЛ-6 мононуклеарами периферической крови [36]. Кроме этого, агонисты TLR4 увеличивают экспрессию CD80, CD86 и CD40 на ДК. Была показана их способность к активации пролиферации Th и ЦТЛ [37].

Агонист TLR5 флагеллин (ФЛ) является основным компонентом бактериальных жгутиков. При введении ФЛ вместе с АГ вакцины усиливается продукция АТ. ФЛ участвует в фосфорилировании NLRC4 и активирует каспазу-1, что запускает процесс образование ин-

фламмасомы. ФЛ реализует адьювантную активность, взаимодействуя с эпителиальными клетками, нейтрофилами, НК-клетками, ДК и Т-клетками. Комплекс ФЛ–TLR5 активирует ряд провоспалительных генов через активацию MyD88-сигнального пути. Кроме того, ФЛ усиливает экспрессию костимулирующих молекул, ФНО, ИЛ-10 и повышает экспрессию SLAM на моноцитах [38].

Лиганды TLR7/8 представлены имидазохолинами. АД R848 активирует как TLR7, так и TLR8. R848 индуцирует продукцию ИЛ-1β, ФНО и ИЛ-6 через MyD88-и/или TRIF-сигнальный путь [39]. Вакцина против вируса гриппа, конъюгированная с агонистом TLR7/8 R848, индуцирует гуморальный и клеточный ответ у новорожденных приматов. Высокий уровень специфических IgG и ответ Т-клеток, продуцирующих ИФН-γ, способствуют увеличению клиренса вируса и уменьшению патологии легких после первичной и вторичной вакцинации. Оказалось, однако, что R848 увеличивает количество АТ, но не их аффинность. Интересно, что вакцина, состоящая из адьюванта R848, конъюгированного с вирусом гриппа, вызывает более быстрое увеличение репертуара АГ-специфических IgG, которые обладают более высокой avidностью и нейтрализующей активностью, чем при механическом смешивании АД и гриппозной вакцины [40].

АД 3М-052 обладает только локальной адьювантной активностью и не вызывает системного воспаления. Показано, что добавление 3М-052 в вакцину против вируса гриппа H5N1 активирует Th1-ответ, а в сочетании с агонистом TLR4 3М-052 индуцирует Th17-ответ [41]. Агонист TLR7/8 имиквимод (ИМ) имитирует одноцепочечную РНК, которую распознают TLR7/8 в эндосомах, активируя иммунный ответ через MyD88-опосредованный путь.

ИМ усиливает синтез ИФН-α и ИЛ-12, экспрессию костимулирующих молекул, прямую и перекрестную презентацию АГ CD8⁺-лимфоцитами, а также активирует НК-клетки. ИМ напрямую стимулирует пролиферацию В-клеток, имитируя сигнал CD40. ИМ индуцирует дозозависимое повышение уровня МНС I, МНС II, CD80 и CD86 на ДК [42]. Также было показано, что наночастицы, содержащие ИМ, не только увеличивают выработку АГ-специфических АТ, но и способствуют Th1-ответу [43].

TLR9 локализуется преимущественно в эндосомах ДК и В-клеток и отвечает за распознавание неметилированных CpG-мотивов ДНК. Агонист TLR9 CpGODN является синтетическим олигонуклеотидом, включающим тандемы «неметилированный цитозин–гуанин», распознаваемых эндосомальным TLR9. CpGODN активирует сигнальные молекулы MyD88, IRAK и TRAF-6, индуцирует экспрессию костимулирующих молекул CD40, CD80, CD86 и синтез провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18 и ФНО [44], а также ИФН-α [45].

Выделяют 3 типа CpGODN. А-тип стимулирует выработку ИФН-α плазматитоидными ДК (пДК). В-тип

стимулирует пролиферацию и синтез ИЛ-6 и IgM В-клетками, а также ИЛ-6 и ФНО ДК. С-тип объединяет особенности первых 2 типов. Для агонистов TLR9 характерна активация ДК, НК- и Т-клеток. Он способствует дифференцировке, созреванию и продукции АТ В-клетками, приводит к увеличению количества В-клеток в герминативном центре ЛУ, а также индуцирует пролиферацию плазмобластов и Tfh [46].

NOD-рецепторы (NOD1 и NOD2) распознают мурамилпептиды – фрагменты пептидогликана бактерий. Показано, что NOD-агонисты мурамилдипептид (МДП), а также глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) вызывают активацию NOD2-рецептора, NF-κB и продукцию провоспалительных цитокинов ФНО, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 [47]. Показано, что МДП и ГМДП (действующее вещество препарата Липопид®) увеличивают продукцию специфических АТ, стимулирует пролиферацию Th, усиливают экспрессию костимулирующих молекул на ДК [48,49]. Соединений класса мурамилпептидов достаточно много, они являются перспективными молекулами для разработки новых АД.

Мукозальные адъюванты

Мукозальные адъюванты (МА) активируют врожденную иммунную систему и выступают как транспортная система для доставки АГ. Наиболее изученными и безопасными представителями являются агонисты TLR и мутантные энтеротоксины бактерий. Эффективность МА прямо пропорционально связана с риском развития нежелательных эффектов. Способность формировать эффективный иммунный ответ непосредственно в месте внедрения большинства известных патогенов, безусловно, является преимуществом использования МА.

Одним из представителей этой группы является хитозан (ХН) – биоразлагаемый природный полисахарид, который получают из хитина пчел путем деацетилирования. ХН способствует созреванию ДК, усиливает продукцию ИФН-α и промотирует АГ-специфический Th1-ответ. ХН, в отличие от СА, не ингибирует продукцию ИЛ-12. ХН обладает способностью адсорбировать большое количество АГ, а также активно поглощаться АПК вместе с АГ [50]. Наночастицы ХН в вакцине против гепатита А индуцируют продукцию ИФН-γ и ИЛ-10, а также повышают уровень АГ-специфических АТ [51].

К наиболее мощным МА, стимулирующим Т- и В-лимфоциты, относят термолабильный энтеротоксин (LT) и холерный токсин (СТ). Каждый из них состоит из 6 субъединиц: 5 В-субъединиц, ответственных за адгезию, и 1 А-субъединицы, ответственной за цитотоксичность. В качестве АД могут применяться генетически модифицированные А-субъединицы, лишенные негативного влияния на клетки, или препараты, состоящие только из В-субъединиц. Они лишены побочных эффектов, но менее иммуногены по сравнению с целым токсином [52].

Перспективным представителем группы МА является витамин А (ретинол). Он поступает в организм

в неактивной форме. Связываясь со специфическим рецептором, ретинол транспортируется внутрь клетки и под действием ретинолдегидрогеназы метаболизируется в активную форму – ретиноевую кислоту (РА). Рецепторы к витамину А экспрессируются практически на всех клетках организма. РА действует через связывание с гетеродимером RARα, β, γ и RXRα, β, γ. RAR и RXR являются лиганд-зависимыми факторами транскрипции, которые связываются с цис-белками, ассоциированными с промоторами генов-мишеней РА. Такие последовательности особенно часто обнаруживаются в локусах усиленного мутагенеза, определяющих процессы переключения тяжелых цепей иммуноглобулинов и TCR (T-cell receptor). Была продемонстрирована способность высоких доз витамина А модулировать иммунный ответ в сторону Th2, и, наоборот, его дефицит способствовал преимущественно Th1-ответу [53]. Более того, ДК желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и эпителиальные клетки респираторного тракта способны продуцировать специфический фермент ALDH1A (Aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1), необходимый для образования активной формы РА. Метаболиты РА стимулируют экспрессию a4b7-рецептора, миграцию ДК в слизистую ЖКТ и дифференцировку ДК, Treg, играют важную роль в хоминге Т-лимфоцитов в ассоциированные с ЖКТ лимфоидные ткани. Метаболиты РА участвуют в поддержании гомеостаза слизистой ЖКТ и процессов иммунной толерантности в ней. Использование витамина А в качестве АД при иммунизации, особенно против инфекций, проникающих в организм через слизистые оболочки, представляется перспективным и иммунологически обоснованным.

Использование иммуномодуляторов в качестве адъювантов

Активно внедряются в практику синтетические молекулы с иммуномодулирующими свойствами, способные выступать в качестве АД.

Полиоксидоний (азоксимера бромид, ПО) является гетероцепным алифатическим полиамином. Проникая в клетку, ПО участвует в процессах ингибирования свободных радикалов, в результате увеличивается цитоплазматическая концентрация перекиси водорода и других активных форм O₂, участвующих в активации провоспалительных сигнальных путей, транскрипционных факторов и продукции провоспалительных цитокинов. ПО стимулирует экспрессию костимулирующих молекул CD80/CD86 и индуцирует пролиферацию Th и ЦТЛ, повышает цитотоксичность НК-клеток [54]. ПО значительно увеличивает продукцию ИЛ-4 и ИЛ-5, необходимых для дифференцировки В-клеток в плазматические клетки и переключения изотипов. ПО также оказывает стимулирующее действие на продукцию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ФНО, ИЛ-6, ИФН-γ, ИЛ-2, ИЛ-12) [55] и усиливает экспрессию ICOSL. Известно, что взаимодействие ICOS-ICOSL необходимо для созревания Tfh. Также ПО стимулирует начальные этапы дифференцировки CD8⁺-лимфоцитов [56].

В настоящее время создано несколько отечественных вакцин с использованием ПО в качестве АД – «Гриппол», «Гриппол-Нео», «Гриппол плюс», «Гриппол-квад-ривалент». В клинических исследованиях продемонстрирована иммуностимулирующее действие ПО на вакцинальный иммунитет. Применение ПО позволяет сохранить иммуногенность вакцины на уровне других современных вакцин против гриппа, одновременно снизив АГ-нагрузку, уменьшая тем самым частоту побочных эффектов [57]. Иммуностимулирующую активность ПО изучали в возрастной группе детей до 2 лет. Было показано, что при одновременном введении с вакциной Prigrix происходит сдвиг Th1/Th2-баланса в сторону последнего [58] и значительно увеличивается уровень продукции АГ в ответ на введение вакцины [59].

В клинических исследованиях было показано, что ПО хорошо переносится и может быть использован для лечения хронических рецидивирующих бактериальных и вирусных заболеваний. Исследования в области безопасности ПО не обнаружили никаких серьезных побочных эффектов со стороны основных систем жизнедеятельности [60].

Имунофан представляет собой гексапептид (Arg- α -Asp-Lys-Val-Tyr-Arg), полученный из аминокислотных остатков активного центра тимопоэтина. При этом Имунофан сохраняет специфическую активность естественного гормона. В клинических исследованиях Имунофан продемонстрировал широкий спектр иммуномодулирующих эффектов, в частности способность стимулировать пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов, положительно влиять на активность ЦТЛ и нейтрофилов. Также Имунофан способствует образованию АГ и синтезу ИЛ-2 и ФНО [61].

Заключение

Инфекционные заболевания занимают одно из главных мест среди ведущих причин смертности, уступая лишь заболеваниям сердечно-сосудистой системы. Вакцинация – один из наиболее эффективных способов

борьбы с инфекционными болезнями. Для повышения протективных свойств вакцин необходимо использовать АД, позволяющие усиливать и направлять иммунный ответ в сторону преимущественно гуморального или клеточного типа. Изучение адъювантных соединений и их иммуномодулирующих эффектов представляется одним из актуальных направлений, развитие которого необходимо для создания более эффективных и безопасных вакцин. Весьма перспективным выглядит направление разработки ДНК- и РНК-вакцин. Редактирование генома позволяет встраивать специфические фрагменты чужеродной ДНК/РНК в носитель, в качестве которого используют вирусные частицы, например аденовирус. В результате такой «гибрид» начинает экспрессировать АГ патогена или опухоли. Оказалось, что ДНК/РНК-вакцины способны активировать как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ, что раньше было характерно только для живых вакцин.

Однако такие вакцины тоже нуждаются в соответствующих АД. Обнаруженные возможности направленного редактирования генома с помощью CRISPR-Cas и других методик позволяют по-новому взглянуть на иммунотерапию инфекционных и других заболеваний, создание клеточных вакцин, способных поддерживать иммунный ответ у иммунокомпрометированных больных. Несмотря на очевидную эффективность вакцинации как метода, в настоящее время удалось получить очень ограниченное количество вакцин по сравнению с общим количеством известных возбудителей. По-прежнему нет исчерпывающего представления о принципах индукции иммунного ответа, способах активации врожденного иммунитета и поддержания сформировавшегося адаптивного иммунитета, поэтому создание новых АД и изучение их свойств необходимо для успешного решения поставленных задач по борьбе с инфекционными заболеваниями.

Вклад авторов. Авторы внесли равный вклад в создание статьи.

Литература

1. Eisenbarth S.C., Colegio O.R., O'Connor W., Sutterwala F.S., Flavell R.A. Crucial role for the nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature*. 2008; 453 (7198): 1122–6.
2. Vrieling H., Koopman S., de Ridder J. W., Thies-Weesie D., Soema P. C., Jiskoot W. et al. Activation of human monocytes by colloidal aluminum salts. *J. Pharm. Sci.* 2020; 109 (1): 750–60.
3. Sokolovska A., Hem S.L., Hogenesch H. Activation of dendritic cells and induction of cd4(+) t cell differentiation by aluminum-containing adjuvants. *Vaccine*. 2007; 25 (23): 4575–85.
4. Masson J.D., Crépeaux G., Authier F.J., Exley C., Gherardi R.K. Critical analysis of reference studies on the toxicokinetics of aluminum-based adjuvants. *J. Inorg. Biochem.* 2018; 181: 87–95.
5. Moyer T.J., Kato Y., Abraham W., Chang J., Kulp D.W., Watson N. et al. Engineered immunogen binding to alum adjuvant enhances humoral immunity. *Nat. Med.* 2020; 26 (3): 430–40.
6. Vo H., Baudner B.C., Sammiceli S., Iannaccone M., D'Oro U., Piccioli D. Alum/toll-like receptor 7 adjuvant enhances the expansion of memory B cell compartment within the draining lymph node. *Front. Immunol.* 2018; 9: 641.
7. Billiau A., Matthys P. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 70 (6): 849–60.
8. O'Hagan D.T., Ott G.S., De Gregorio E., Seubert A. The mechanism of action of MF59 – an innately attractive adjuvant formulation. *Vaccine*. 2012; 30 (29): 4341–8.
9. Vesikari T., Knuf M., Wutzler P., Karvonen A., Kieninger-Baum D., Schmitt H.J. et al. Oil-in-water emulsion adjuvant with influenza vaccine in young children. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365 (15): 1406–16.
10. Boudreau C.M., Yu W.H., Suscovich T.J., Talbot H.K., Edwards K.M., Alter G. Selective induction of antibody effector functional responses using MF59-adjuvanted vaccination. *J. Clin. Invest.* 2020; 130 (2): 662–72.
11. Seydoux E., Liang H., Dubois Cauwelaert N., Archer M., Rintala N.D., Kramer R. et al. Effective combination adjuvants engage both TLR and inflammasome pathways to promote potent adaptive immune responses. *J. Immunol.* 2018; 201 (1): 98–112.
12. Hill D.L., Pierson W., Bolland D.J., Mkindi C., Carr E.J., Wang J. et al. The adjuvant GLA-SE promotes human Tfh cell expansion and emergence of public TCR β clonotypes. *J. Exp. Med.* 2019; 216 (8): 1857–73.

13. Day T.A., Penn-Nicholson A., Luabeya A., Fiore-Gartland A., Du Plessis N., Loxton A.G. et al. Safety and immunogenicity of the adjunct therapeutic vaccine ID93 + GLA-SE in adults who have completed treatment for tuberculosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2a trial. *Lancet Respir. Med.* 2021; 9 (4): 373–86.
14. Pillet S., Aubin É., Trépanier S., Poulin J.F., Yassine-Diab B., Ter Meulen J. et al. Humoral and cell-mediated immune responses to H5N1 plant-made virus-like particle vaccine are differentially impacted by alum and GLA-SE adjuvants in a Phase 2 clinical trial. *NPJ Vaccines.* 2018; 3: 3.
15. Ellebedy A.H., Nachbagauer R., Jackson K., Dai Y.N., Han J., Alsoussi W.B. et al. Adjuvanted H5N1 influenza vaccine enhances both cross-reactive memory B cell and strain-specific naïve B cell responses in humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2020; 117 (30): 17 957–64.
16. Galassie A.C., Goll J.B., Samir P., Jensen T.L., Hoek K.L., Howard L.M. et al. Proteomics show antigen presentation processes in human immune cells after AS03-H5N1 vaccination. *Proteomics.* 2017; 17 (12): 453.
17. Howard L.M., Hoek K.L., Goll J. B., Samir P., Galassie A., Allos T.M. et al. Cell-based systems biology analysis of human AS03-adjuvanted H5N1 avian influenza vaccine responses: a Phase I randomized controlled trial. *PLoS One.* 2017; 12 (1): e0167488.
18. Elbahnasawy M.A., Donius L.R., Reinherz E.L., Kim M. Co-delivery of a CD4 T cell helper epitope via covalent liposome attachment with a surface-arrayed B cell target antigen fosters higher affinity antibody responses. *Vaccine.* 2018; 36 (41): 6191–201.
19. Didierlaurent A.M., Laupèze B., Di Pasquale A., Hergli N., Collignon C., Garçon N. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Expert Rev. Vaccines.* 2016; 16 (1): 55–63.
20. Welsby I., Detienne S., N’Kuli F., Thomas S., Wouters S., Bechtold V. et al. Lysosome-dependent activation of human dendritic cells by the vaccine adjuvant QS-21. *Front. Immunol.* 2017; 7: 663.
21. Coccia M., Collignon C., Hervé C., Chalon A., Welsby I., Detienne S. et al. Cellular and molecular synergy in AS01-adjuvanted vaccines results in an early IFN γ response promoting vaccine immunogenicity. *NPJ Vaccines.* 2017; 2: 25.
22. Lal H., Poder A., Campora L., Geeraerts B., Oostvogels L., Vanden Abeele C. et al. Immunogenicity, reactogenicity and safety of 2 doses of an adjuvanted herpes zoster subunit vaccine administered 2, 6 or 12 months apart in older adults: results of a phase III, randomized, open-label, multicenter study. *Vaccine.* 2018; 36 (1): 148–54.
23. Moncunill G., De Rosa S.C., Ayestaran A., Nhabomba A.J., Mpina M., Cohen K.W. et al. RTS,S/AS01E malaria vaccine induces memory and polyfunctional T cell responses in a pediatric African Phase III trial. *Front. Immunol.* 2017; 8: 1008.
24. Zhou G., Hollenberg M.D., Vliagoftis H., Kane K.P. Protease-activated receptor 2 agonist as adjuvant: augmenting development of protective memory CD8 T cell responses induced by influenza viro-somes. *J. Immunol.* 2019; 203 (2): 441–52.
25. Heinimäki S., Tamminen K., Malm M., Vesikari T., Blazevic V. Live baculovirus acts as a strong B and T cell adjuvant for monomeric and oligomeric protein antigens. *Virology.* 2017; 511: 114–22.
26. Blom R., Amacker M., Moser C., van Dijk R. M., Bonetti R., Seydoux E. et al. Viro-some-bound antigen enhances DC-dependent specific CD4 $^{+}$ T cell stimulation, inducing a Th1 and Treg profile in vitro. *Nanomedicine.* 2017; 13 (5): 1725–37.
27. Chen S., Hanning S., Falconer J., Locke M., Wen J. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2019; 144: 18–39.
28. Mokhtar M., Sammour O.A., Hammad M.A., Megrab N.A. Effect of some formulation parameters on flurbiprofen encapsulation and release rates of niosomes prepared from proniosomes. *Int. J. Pharm.* 2008; 361 (1–2): 104–11.
29. Manosroi A., Chankhampan C., Manosroi W., Manosroi J. Transdermal absorption enhancement of papain loaded in elastic niosomes incorporated in gel for scar treatment. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013; 48 (3): 474–83.
30. Abdelkader H., Wu Z., Al-Kassas R., Alany R.G. Niosomes and disomes for ocular delivery of naltrexone hydrochloride: morphological, rheological, spreading properties and photo-protective effects. *Int. J. Pharm.* 2012; 433 (1–2): 142–8.
31. Muzzalupo R., Pérez L., Pinazo A., Tavano L. Pharmaceutical versatility of cationic niosomes derived from amino acid-based surfactants: skin penetration behavior and controlled drug release. *Int. J. Pharm.* 2017; 529 (1–2): 245–52.
32. Saini N., Sodhi R.K., Bajaj L., Pandey R.S., Jain U.K., Katare O.P. et al. Intravaginal administration of metformin hydrochloride loaded cationic niosomes amalgamated with thermosensitive gel for the treatment of polycystic ovary syndrome: in vitro and in vivo studies. *Colloids Surf.* 2016; 144: 161–9.
33. Duthie M.S., Windish H.P., Fox C.B., Reed S.G. Use of defined TLR ligands as adjuvants within human vaccines. *Immunol. Rev.* 2011; 239 (1): 178–96.
34. De Silva N.S., Klein U. Dynamics of B cells in germinal centres. *Nat. Rev. Immunol.* 2015; 15 (3): 137–48.
35. Lee B.R., Jeong S.K., Ahn B.C., Lee B.J., Shin S.J., Yum J.S. et al. Combination of TLR1/2 and TLR3 ligands enhances CD4(+) T cell longevity and antibody responses by modulating type I IFN production. *Sci. Rep.* 2016; 6: 32526.
36. Honegr J., Malinak D., Dolezal R., Soukup O., Benkova M., Hroch L. et al. Rational design of novel TLR4 ligands by in silico screening and their functional and structural characterization in vitro. *Eur. J. Med. Chem.* 2018; 146: 38–46.
37. Lebedeva E., Bagaev A., Pichugin A., Chulkina M., Lysenko A., Tutykhina I. et al. The differences in immunoadjuvant mechanisms of TLR3 and TLR4 agonists on the level of antigen-presenting cells during immunization with recombinant adenovirus vector. *BMC Immunol.* 2018; 19 (1): 26.
38. Cui B., Liu X., Fang Y., Zhou P., Zhang Y., Wang Y. Flagellin as a vaccine adjuvant. *Expert Rev. Vaccines.* 2018; 17 (4): 335–49.
39. Speer E.M., Dowling D.J., Ozog L.S., Xu J., Yang J., Kennedy G. et al. Pentoxifylline inhibits TLR- and inflammasome-mediated in vitro inflammatory cytokine production in human blood with greater efficacy and potency in newborns. *Pediatr. Res.* 2017; 81 (5): 806–16.
40. Clemens E.A., Holbrook B.C., Kanekiyo M., Yewdell J.W., Graham B.S., Alexander-Miller M.A. An R848 conjugated influenza virus vaccine elicits robust IgG to hemagglutinin stem in a newborn nonhuman primate model. *J. Infect. Dis.* 2021; 224 (2): 351–9.
41. Miller S.M., Cybulski V., Whitacre M., Bess L.S., Livesay M.T. et al. Novel Lipidated imidazoquinoline TLR7/8 adjuvants elicit influenza-specific Th1 immune responses and protect against heterologous H3N2 influenza challenge in mice. *Front. Immunol.* 2020; 11: 406.
42. Dowling D.J. Recent advances in the discovery and delivery of TLR7/8 agonists as vaccine adjuvants. *Immunohorizons.* 2018; 2 (6): 185–97.
43. Zhang L., Wu S., Qin Y., Fan F., Zhang Z., Huang C. et al. Targeted co-delivery of antigen and dual-agonists by hybrid nanoparticles for enhanced cancer immunotherapy. *Nano Letters.* 2019; 19 (7): 4237–49.
44. Schleimann M.H., Kobbero M.L., Vibholm L.K., Kjaer K., Giron L.B., Busman-Sahay K. et al. TLR9 agonist MGN1703 enhances B cell differentiation and function in lymph nodes. *EBioMedicine.* 2019; 45: 328–40.
45. Krarup A.R., Abdel-Mohsen M., Schleimann M.H., Vibholm L., Engen P.A., Dige A. et al. The TLR9 agonist MGN1703 triggers a potent type I interferon response in the sigmoid colon. *Mucosal Immunol.* 2018; 11 (2): 449–61.
46. Newman A.M., Liu C.L., Green M.R., Gentles A.J., Feng W., Xu Y. et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles. *Nat. Methods.* 2015; 12 (5): 453–57.
47. Pavot V., Rochereau N., Resseguier J., Gutjahr A., Genin C., Tiraby G. et al. Cutting edge: New chimeric NOD2/TLR2 adjuvant drastically increases vaccine immunogenicity. *J. Immunol.* 2014; 193 (12): 5781–5.
48. Zhou C.J., Chen J., Hou J.B., Zheng Y., Yu Y.N., He H. et al. The immunological functions of muramyl dipeptide compound adjuvant on humoral, cellular-mediated and mucosal immune responses to PEDV inactivated vaccine in mice. *Protein Peptide Lett.* 2018; 25 (10): 908–13.
49. Гурьянова С.В., Хаитов П.М. Глюкозаминилмурамлдипептид – ГМДП: воздействие на мукозальный иммунитет (к вопросу иммунотерапии и иммунопрофилактики). *Иммунология.* 2020; 41 (2): 74–83.
50. AbdelAllah N.H., Gaber Y., Rashed M.E., Azmy A.F., Abou-Taleb H.A., AbdelGhani S. Alginate-coated chitosan nanoparticles act as effective adjuvant for hepatitis A vaccine in mice. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020; 152: 904–12.
51. Bi Y., Xu Q., Su L., Xu J., Liu Z., Yang Y. et al. The combinations chitosan-Pam3CSK4 and chitosan-monophosphoryl lipid A: promising immune-enhancing adjuvants for anticaries vaccine PAc. *Infect. Immun.* 2019; 87 (12): e00651-19.

52. Sánchez J., Holmgren J. Cholera toxin structure, gene regulation and pathophysiological and immunological aspects. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65 (9): 1347–60.
53. Erkelens M.N., Mebius R.E. Retinoic acid and immune homeostasis: a balancing act. *Trends Immunol.* 2017; 38 (3): 168–80.
54. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Некрасов А.В., Атаулханов Р.И., Пучкова Н.Г., Иванова А.С. и др. Полиоксидоний: механизм действия и клиническое применение. *Медицинская иммунология.* 2000; 2 (3): 271–8.
55. Kostinov M.P., Akhmatova N.K., Khromova E.A., Kostinova A.M. Cytokine Profile in human peripheral blood mononuclear leukocytes exposed to immunoadjuvant and adjuvant-free vaccines against influenza. *Front. Immunol.* 2020; 11: 1351.
56. Talayev V., Zaichenko I., Svetlova M., Matveichev A., Babaykina O., Voronina E. et al. Low-dose influenza vaccine Grippol Quadrivalent with adjuvant Polyoxidonium induces a T helper-2 mediated humoral immune response and increases NK cell activity. *Vaccine.* 2020; 38 (42): 6645–55.
57. Манько В.М., Руднева Т.Б., Разваляева Н.А., Пучкова Н.Г., Хаитов Р.М. Фенотипическая коррекция генного контроля иммунного ответа на гриппозную вакцину. *Иммунология.* 1997; 18 (4): 36–9.
58. Топтыгина А.П., Солдатенкова Н.А., Алешкин В.А. Использование иммунокорректора полиоксидония при иммунизации детей вакциной «Приорикс». *Иммунология.* 2005; 26 (5): 308–11.
59. Topytygina A., Semikina E., Alioshkin V. Influence of an immunopotentiator Polyoxidonium on cytokine profile and antibody production in children vaccinated with Priorix. *Arch. Physiol. Biochem.* 2012; 118 (4): 197–203.
60. Pružinec P., Chirun N., Sveikata A. The safety profile of Polyoxidonium in daily practice: results from postauthorization safety study in Slovakia. *Immunotherapy.* 2018; 10 (2): 131–7.
61. Nasadyuk C., Sklyarov A. Thymohexin exhibits cytoprotective effect in experimental gastric lesions in rats both through the inhibition of inducible nitric oxide synthase and reduction of oxidative mucosal damage. *Regul. Pept.* 2013; 180: 50–7.

■ References

1. Eisenbarth S.C., Colegio O.R., O'Connor W., Sutterwala F.S., Flavell R.A. Crucial role for the nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature.* 2008; 453 (7198): 1122–6.
2. Vrieling H., Kooijman S., de Ridder J. W., Thies-Weesie D., Soema P. C., Jiskoot W., et al. Activation of human monocytes by colloidal aluminum salts. *J. Pharm. Sci.* 2020; 109 (1): 750–60.
3. Sokolovska A., Hem S.L., Hogenesch H. Activation of dendritic cells and induction of cd4(+) t cell differentiation by aluminum-containing adjuvants. *Vaccine.* 2007; 25 (23): 4575–85.
4. Masson J.D., Crépeaux G., Authier F.J., Exley C., Gherardi R.K. Critical analysis of reference studies on the toxicokinetics of aluminum-based adjuvants. *J. Inorg. Biochem.* 2018; 181: 87–95.
5. Moyer T.J., Kato Y., Abraham W., Chang J., Kulp D.W., Watson N., et al. Engineered immunogen binding to alum adjuvant enhances humoral immunity. *Nat. Med.* 2020; 26 (3): 430–40.
6. Vo H., Baudner B.C., Sammiceli S., Iannaccone M., D'Oro U., Piccioli D. Alum/toll-like receptor 7 adjuvant enhances the expansion of memory B cell compartment within the draining lymph node. *Front. Immunol.* 2018; 9: 641.
7. Billiau A., Matthys P. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 70 (6): 849–60.
8. O'Hagan D.T., Ott G.S., De Gregorio E., Seubert A. The mechanism of action of MF59 — an innately attractive adjuvant formulation. *Vaccine.* 2012; 30 (29): 4341–8.
9. Vesikari T., Knuf M., Wutzler P., Karvonen A., Kieninger-Baum D., Schmitt H.J., et al. Oil-in-water emulsion adjuvant with influenza vaccine in young children. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365 (15): 1406–16.
10. Boudreau C.M., Yu W.H., Suscovich T.J., Talbot H.K., Edwards K.M., Alter G. Selective induction of antibody effector functional responses using MF59-adjuvanted vaccination. *J. Clin. Invest.* 2020; 130 (2): 662–72.
11. Seydoux E., Liang H., Dubois Cauwelaert N., Archer M., Rintala N.D., Kramer R., et al. Effective combination adjuvants engage both TLR and inflammasome pathways to promote potent adaptive immune responses. *J. Immunol.* 2018; 201 (1): 98–112.
12. Hill D.L., Pierson W., Bolland D.J., Mkindi C., Carr E.J., Wang J., et al. The adjuvant GLA-SE promotes human Tfh cell expansion and emergence of public TCRβ clonotypes. *J. Exp. Med.* 2019; 216 (8): 1857–73.
13. Day T.A., Penn-Nicholson A., Luabeya A., Fiore-Gartland A., Du Plessis N., Loxton A.G., et al. Safety and immunogenicity of the adjunct therapeutic vaccine ID93 + GLA-SE in adults who have completed treatment for tuberculosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2a trial. *Lancet Respir. Med.* 2021; 9 (4): 373–86.
14. Pillet S., Aubin É., Trépanier S., Poulin J.F., Yassine-Diab B., Ter Meulen J., et al. Humoral and cell-mediated immune responses to H5N1 plant-made virus-like particle vaccine are differentially impacted by alum and GLA-SE adjuvants in a Phase 2 clinical trial. *NPJ Vaccines.* 2018; 3: 3.
15. Ellebedy A.H., Nachbagauer R., Jackson K., Dai Y.N., Han J., Alsoussi W.B., et al. Adjuvanted H5N1 influenza vaccine enhances both cross-reactive memory B cell and strain-specific naive B cell responses in humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2020; 117 (30): 17 957–64.
16. Galassie A.C., Goll J.B., Samir P., Jensen T.L., Hoek K.L., Howard L.M., et al. Proteomics show antigen presentation processes in human immune cells after AS03-H5N1 vaccination. *Proteomics.* 2017; 17 (12): 453.
17. Howard L.M., Hoek K.L., Goll J. B., Samir P., Galassie A., Allos T.M., et al. Cell-based systems biology analysis of human AS03-adjuvanted H5N1 avian influenza vaccine responses: a Phase I randomized controlled trial. *PLoS One.* 2017; 12 (1): e0167488.
18. Elbahnasawy M.A., Donius L.R., Reinherz E.L., Kim M. Co-delivery of a CD4 T cell helper epitope via covalent liposome attachment with a surface-arrayed B cell target antigen fosters higher affinity antibody responses. *Vaccine.* 2018; 36 (41): 6191–201.
19. Didierlaurent A.M., Laupèze B., Di Pasquale A., Hergli N., Collignon C., Garçon N. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Expert Rev. Vaccines.* 2016; 16 (1): 55–63.
20. Welsby I., Detienne S., N'Kuli F., Thomas S., Wouters S., Bechtold V., et al. Lysosome-dependent activation of human dendritic cells by the vaccine adjuvant QS-21. *Front. Immunol.* 2017; 7: 663.
21. Coccia M., Collignon C., Hervé C., Chalon A., Welsby I., Detienne S., et al. Cellular and molecular synergy in AS01-adjuvanted vaccines results in an early IFNγ response promoting vaccine immunogenicity. *NPJ Vaccines.* 2017; 2: 25.
22. Lal H., Poder A., Campora L., Geeraerts B., Oostvogels L., Vanden Abeele C., et al. Immunogenicity, reactogenicity and safety of 2 doses of an adjuvanted herpes zoster subunit vaccine administered 2, 6 or 12 months apart in older adults: results of a phase III, randomized, open-label, multicenter study. *Vaccine.* 2018; 36 (1): 148–54.
23. Moncunill G., De Rosa S.C., Ayestaran A., Nhabomba A.J., Mpina M., Cohen K.W., et al. RTS,S/AS01E malaria vaccine induces memory and polyfunctional T cell responses in a pediatric African Phase III trial. *Front. Immunol.* 2017; 8: 1008.
24. Zhou G., Hollenberg M.D., Vliagoftis H., Kane K.P. Protease-activated receptor 2 agonist as adjuvant: augmenting development of protective memory CD8 T cell responses induced by influenza viro-somes. *J. Immunol.* 2019; 203 (2): 441–52.
25. Heinimäki S., Tamminen K., Malm M., Vesikari T., Blazevic V. Live baculovirus acts as a strong B and T cell adjuvant for monomeric and oligomeric protein antigens. *Virology.* 2017; 511: 114–22.
26. Blom R., Amacker M., Moser C., van Dijk R. M., Bonetti R., Seydoux E., et al. Viro-some-bound antigen enhances DC-dependent specific CD4⁺ T cell stimulation, inducing a Th1 and Treg profile in vitro. *Nanomedicine.* 2017; 13 (5): 1725–37.
27. Chen S., Hanning S., Falconer J., Locke M., Wen J. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2019; 144: 18–39.
28. Mokhtar M., Sammour O.A., Hammad M.A., Megrab N.A. Effect of some formulation parameters on flurbiprofen encapsulation and release rates of niosomes prepared from proniosomes. *Int. J. Pharm.* 2008; 361 (1–2): 104–11.
29. Manosroi A., Chankhampan C., Manosroi W., Manosroi J. Transdermal absorption enhancement of papain loaded in elastic nio-

somes incorporated in gel for scar treatment. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013; 48 (3): 474–83.

30. Abdelkader H., Wu Z., Al-Kassas R., Alany R.G. Niosomes and disomes for ocular delivery of naltrexone hydrochloride: morphological, rheological, spreading properties and photo-protective effects. *Int. J. Pharm.* 2012; 433 (1–2): 142–8.

31. Muzzalupo R., Pérez L., Pinazo A., Tavano L. Pharmaceutical versatility of cationic niosomes derived from amino acid-based surfactants: skin penetration behavior and controlled drug release. *Int. J. Pharm.* 2017; 529 (1–2): 245–52.

32. Saini N., Sodhi R.K., Bajaj L., Pandey R.S., Jain U.K., Katar O.P., et al. Intravaginal administration of metformin hydrochloride loaded cationic niosomes amalgamated with thermosensitive gel for the treatment of polycystic ovary syndrome: in vitro and in vivo studies. *Colloids Surf.* 2016; 144: 161–9.

33. Duthie M.S., Windish H.P., Fox C.B., Reed S.G. Use of defined TLR ligands as adjuvants within human vaccines. *Immunol. Rev.* 2011; 239 (1): 178–96.

34. De Silva N.S., Klein U. Dynamics of B cells in germinal centres. *Nat. Rev. Immunol.* 2015; 15 (3): 137–48.

35. Lee B.R., Jeong S.K., Ahn B.C., Lee B.J., Shin S.J., Yum J.S., et al. Combination of TLR1/2 and TLR3 ligands enhances CD4(+) T cell longevity and antibody responses by modulating type I IFN production. *Sci. Rep.* 2016; 6: 32526.

36. Honegr J., Malinak D., Dolezal R., Soukup O., Benkova M., Hroch L., et al. Rational design of novel TLR4 ligands by in silico screening and their functional and structural characterization in vitro. *Eur. J. Med. Chem.* 2018; 146: 38–46.

37. Lebedeva E., Bagaev A., Pichugin A., Chulkina M., Lysenko A., Tutykhina I., et al. The differences in immunoadjuvant mechanisms of TLR3 and TLR4 agonists on the level of antigen-presenting cells during immunization with recombinant adenovirus vector. *BMC Immunol.* 2018; 19 (1): 26.

38. Cui B., Liu X., Fang Y., Zhou P., Zhang Y., Wang Y. Flagellin as a vaccine adjuvant. *Expert Rev. Vaccines.* 2018; 17 (4): 335–49.

39. Speer E.M., Dowling D.J., Ozog L.S., Xu J., Yang J., Kennedy G., et al. Pentoxifylline inhibits TLR- and inflammasome-mediated in vitro inflammatory cytokine production in human blood with greater efficacy and potency in newborns. *Pediatr. Res.* 2017; 81 (5): 806–16.

40. Clemens E.A., Holbrook B.C., Kanekiyo M., Yewdell J.W., Graham B.S., Alexander-Miller M.A. An R848 conjugated influenza virus vaccine elicits robust IgG to hemagglutinin stem in a newborn nonhuman primate model. *J. Infect. Dis.* 2021; 224 (2): 351–9.

41. Miller S.M., Cybulski V., Whitacre M., Bess L.S., Livesay M.T., et al. Novel Lipidated imidazoquinoline TLR7/8 adjuvants elicit influenza-specific Th1 immune responses and protect against heterologous H3N2 influenza challenge in mice. *Front. Immunol.* 2020; 11: 406.

42. Dowling D.J. Recent advances in the discovery and delivery of TLR7/8 agonists as vaccine adjuvants. *Immunohorizons.* 2018; 2 (6): 185–97.

43. Zhang L., Wu S., Qin Y., Fan F., Zhang Z., Huang C., et al. Targeted co-delivery of antigen and dual-agonists by hybrid nanoparticles for enhanced cancer immunotherapy. *Nano Letters.* 2019; 19 (7): 4237–49.

44. Schleimann M.H., Kobbero M.L., Vibholm L.K., Kjaer K., Giron L.B., Busman-Sahay K., et al. TLR9 agonist MGN1703 enhances B cell differentiation and function in lymph nodes. *EBioMedicine.* 2019; 45: 328–40.

45. Krarup A.R., Abdel-Mohsen M., Schleimann M.H., Vibholm L., Engen P.A., Dige A., et al. The TLR9 agonist MGN1703 triggers a potent type I interferon response in the sigmoid colon. *Mucosal Immunol.* 2018; 11 (2): 449–61.

46. Newman A.M., Liu C.L., Green M.R., Gentles A.J., Feng W., Xu Y., et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles. *Nat. Methods.* 2015; 12 (5): 453–57.

47. Pavot V., Rochereau N., Resseguier J., Gutjahr A., Genin C., Tiraby G., et al. Cutting edge: New chimeric NOD2/TLR2 adjuvant drastically increases vaccine immunogenicity. *J. Immunol.* 2014; 193 (12): 5781–5.

48. Zhou C.J., Chen J., Hou J.B., Zheng Y., Yu Y.N., He H., et al. The immunological functions of muramyl dipeptide compound adjuvant on humoral, cellular-mediated and mucosal immune responses to PEDV inactivated vaccine in mice. *Protein Peptide Lett.* 2018; 25 (10): 908–13.

49. Gur'yanova S.V., Khaitov R.M. Glucosaminylmuramyl dipeptide – GMDP: effect on mucosal immunity (on the issue of immunotherapy and immunoprophylaxis. *Immunologiya.* 2020; 41 (2): 74–83. (in Russian).

50. AbdelAllah N.H., Gaber Y., Rashed M.E., Azmy A.F., Abou-Taleb H.A., AbdelGhani S. Alginate-coated chitosan nanoparticles act as effective adjuvant for hepatitis A vaccine in mice. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020; 152: 904–12.

51. Bi Y., Xu Q., Su L., Xu J., Liu Z., Yang Y., et al. The combinations chitosan-Pam3CSK4 and chitosan-monophosphoryl lipid A: promising immune-enhancing adjuvants for anticaries vaccine PAc. *Infect. Immun.* 2019; 87 (12): e00651-19.

52. Sánchez J., Holmgren J. Cholera toxin structure, gene regulation and pathophysiological and immunological aspects. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65 (9): 1347–60.

53. Erkelens M.N., Mebius R.E. Retinoic acid and immune homeostasis: a balancing act. *Trends Immunol.* 2017; 38 (3): 168–80.

54. Petrov R.V., Khaitov R.M., Nekrasov A.V., Attaulkhanov B.I., Puchkova N.G., Ivanova A.S., Pinegin B.V. Polyoxodionium: mechanism of action and clinical application. *Meditinskaya immunologiya.* 2000; 2 (3): 271–8. (in Russian)

55. Kostinov M.P., Akhmatova N.K., Khromova E.A., Kostinova A.M. Cytokine Profile in human peripheral blood mononuclear leukocytes exposed to immunoadjuvant and adjuvant-free vaccines against influenza. *Front. Immunol.* 2020; 11: 1351.

56. Talayev V., Zaichenko I., Svetlova M., Matveichev A., Babaykina O., Voronina E., et al. Low-dose influenza vaccine Grippol Quadrivalent with adjuvant Polyoxodionium induces a T helper-2 mediated humoral immune response and increases NK cell activity. *Vaccine.* 2020; 38 (42): 6645–55.

57. Man'ko V.M., Rudneva T.B., Razvalyeva N.A., Puchkova N.G., Khaitov R.M. Phenotypic correction of gene control of the immune response to influenza vaccine. *Immunologiya.* 1997; 18 (4): 36–9. (in Russian)

58. Toptygina A.P., Soldatenkova N.A., Aleshkin V.A. The use of immunocorrector polyoxodionium for immunization of children with the vaccine «Priorix». *Immunologiya.* 2005; 26 (5): 308–11. (in Russian)

59. Toptygina A., Semikina E., Alioshkin V. Influence of an immunopotentiator Polyoxodionium on cytokine profile and antibody production in children vaccinated with Priorix. *Arch. Physiol. Biochem.* 2012; 118 (4): 197–203.

60. Pružinec P., Chirun N., Sveikata A. The safety profile of Polyoxodionium in daily practice: results from postauthorization safety study in Slovakia. *Immunotherapy.* 2018; 10 (2): 131–7.

61. Nasadyuk C., Sklyarov A. Thymohexin exhibits cytoprotective effect in experimental gastric lesions in rats both through the inhibition of inducible nitric oxide synthase and reduction of oxidative mucosal damage. *Regul. Pept.* 2013; 180: 50–7.

Сведения об авторах

Андреев Юрий Юрьевич – аспирант ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация
E-mail: thatsforlife@mail.ru

Топтыгина Анна Павловна – д-р мед. наук., руководитель лаб. цитокинов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9981-4762>

Authors' information

Yuri Yu. Andreev – PhD Student, Laboratory of Cytokines of the G.N. Gabrichevsky RIEM of Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation
E-mail: thatsforlife@mail.ru

Anna P. Toptygina – MD, PhD, Head of Laboratory of Cytokines of the G.N. Gabrichevsky RIEM of Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9981-4762>