



## Адьюванты на основе углеводов для производства вакцин

С. С. Курашова<sup>1</sup>, Т. К. Дзагурова<sup>1</sup>, А. А. Ишмухаметов<sup>1,2</sup>, М. С. Егорова<sup>1</sup>, М. В. Баловнева<sup>1</sup>, С. Е. Соцкова<sup>1</sup>,  
Е. А. Ткаченко<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН»,

домовладение 8, стр. 1, поселок Института полиомиелита, поселение Московский, Москва, 108819, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Общепризнанным способом усиления иммуногенности вакцин является добавление в их состав адьювантов. Последние характеризуются большим разнообразием, поэтому подбор адьюванта осуществляется путем сравнения эффективности адьювантов на моделях животных, а также оценки их безопасности и переносимости. Среди множества различных групп веществ, потенциально обладающих адьювантными свойствами, сравнительно мало внимания уделяют адьювантам на основе углеводов, несмотря на то, что они совместимы с живыми векторными вакцинами, безопасны, хорошо переносятся, а их производство не отличается трудоемкостью. Благодаря этим преимуществам применение именно таких адьювантов в сочетании с любым типом вакцины, в том числе с векторной или ДНК-вакциной, может быть наиболее целесообразным и перспективным. В настоящем обзоре рассмотрены различные типы углеводных адьювантов и механизмы, определяющие их эффективность.

**Ключевые слова:** адьювант; гуморальный иммунитет; полисахариды; иммуногенность; безопасность вакцин; живые векторные вакцины; иммунитет; иммунологическая активность полисахаридов

**Для цитирования:** Курашова СС, Дзагурова ТК, Ишмухаметов АА, Егорова МС, Баловнева МВ, Соцкова СЕ, Ткаченко ЕА. Адьюванты на основе углеводов для производства вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* 2018;18(2):81–91. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-81-91>

\* **Контактное лицо:** Ткаченко Евгений Александрович; [evgeniytkach@mail.ru](mailto:evgeniytkach@mail.ru)

## Carbohydrate-Based Adjuvants for Vaccine Production

S. S. Kurashova<sup>1</sup>, T. K. Dzagurova<sup>1</sup>, A. A. Ishmukhametov<sup>1,2</sup>, M. S. Egorova<sup>1</sup>, M. V. Balovneva<sup>1</sup>, S. E. Sotskova<sup>1</sup>,  
E. A. Tkachenko<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences,

8/1 housing estate of the Institute of Poliomyelitis, «Moskovsky» settlement, Moscow 108819, Russian Federation

<sup>2</sup> Sechenov First Moscow State Medical University,

8/2 Trubetskaya St, Moscow 119991, Russian Federation

Addition of adjuvants is a generally recognized method of enhancing the immunogenicity of vaccines. There is a large variety of adjuvants, therefore the choice of an adjuvant is based on the comparison of adjuvants efficacy in animal models, as well as assessment of their safety and tolerability. There are many different groups of substances that may have adjuvant properties, but relatively little attention is paid to carbohydrate-based adjuvants, despite the fact that they are compatible with live vector vaccines, safe, well tolerated, and their production is not laborious. Thanks to these advantages the use of these particular adjuvants in combination with any type of vaccine, including vector vaccines and DNA vaccines, may be most appropriate and promising. This review examines various types of carbohydrate adjuvants and the mechanisms that determine their efficacy.

**Key words:** adjuvant; humoral immunity; polysaccharides; immunogenicity; vaccine safety; live vector vaccines; immunity; immunological activity of polysaccharides

**For citation:** Kurashova SS, Dzagurova TK, Ishmukhametov AA, Egorova MS, Balovneva MV, Sotskova SE, Tkachenko EA. Carbohydrate-Based Adjuvants for Vaccine Production. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2018;18(2):81–91. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-81-91>

\* **Contact person:** Evgeniy A. Tkachenko; [evgeniytkach@mail.ru](mailto:evgeniytkach@mail.ru)

Одним из важнейших факторов, определяющих развитие инфекционного заболевания, является состояние иммунной системы человека, ее врожденных неспецифических факторов защиты и специфического адаптивного иммунитета [1].

Распознавание и элиминация из организма генетически чужеродного материала — сложный, многоступенчатый процесс, в котором участвуют структуры врожденного и адаптивного иммунитета. Организм реагирует на проникновение болезнетворных микроорганизмов, вирусов, продуктов их жизнедеятельности, белковых молекул и других чужеродных агентов посредством активации гуморального (созревание иммунокомпетентных В-лимфоцитов, секреция антител) и клеточного (сенсбилизация Т-лимфоцитов, образование клеток-эффекторов, формирование клеток-киллеров) звеньев иммунитета [2].

Целью вакцинации является создание специфической невосприимчивости к инфекции, обусловленной наличием специфических антител и популяций иммунокомпетентных клеток, которые при повторном контакте с антигеном быстро пролиферируют. Это достигается посредством активации врожденного иммунитета и клонов В- и/или Т-клеточного звена адаптивного иммунитета [3].

Первые вакцины содержали помимо инактивированных антигенов значительное количество иммунологически активных примесей, которые в определенной степени способствовали повышению уровня иммунитета, но вместе с тем они нередко способствовали усилению реактогенности вакцин. Предпринимавшиеся попытки повысить чистоту вакцинных препаратов с целью снижения степени их реактогенности приводили к неутешительным результатам — с повышением чистоты иммуногенность вакцин снижалась. Вследствие этого возникала необходимость в разработке способов усиления иммуногенности вакцин посредством добавления различных природных или синтетических соединений, а также различных видов молекул и макромолекулярных комплексов. Такие соединения, или комплекс веществ, используемые для усиления иммунного ответа при введении одновременно с иммуногеном, получили название адьюванты (от лат. *adjuvare* — «помочь» или «усилить»).

Усиление иммуногенности вакцины, обусловленное добавлением адьюванта, может способствовать достижению и других целей иммунопрофилактики, таких как снижение количества (дозы) антигена, ускорение формирования иммунного ответа, увеличение продолжительности иммунной защиты, повышение эффективности вакцины при введении лицам с ослабленным иммунитетом [4, 5].

Выбор адьюванта осуществляется методом, основанным на сравнении эффективности адьювантов на моделях животных, а также оценке их безопасности и переносимости.

Термин «иммунологический адьювант» был впервые предложен еще в 1920-е гг. знаменитым французским иммунологом и ветеринаром Гастоном Раймоном [6]. Принцип изготовления анатоксинов в дальнейшем был использован и другими исследователями для получения соответствующих бактериальных и вирусных вакцин, а также при создании ассоциированных вакцин из анатоксинов и микробных тел [7, 8].

Стимулирующая эффективность адьювантов была показана в опытах на лошадях при совместном введении анатоксинов с квасцами, хлористым кальцием, тапиокой, лецитином, холестерин, ланолином, бензоином [7]. Адьювантная активность соединений алюминия была впервые продемонстрирована на примере дифтерийного анатоксина, адсорбированного на гидроксиде алюминия. Данное открытие позволило значительно

снизить дозы антигенов при иммунизации и увеличить тем самым безопасность вакцины [6–8].

При сравнении адьювантного эффекта было обнаружено, что только гидроокись алюминия стимулировала выработку высокоаффинных антигенспецифических иммуноглобулинов класса G на таком же высоком уровне, как и полный адьювант Фрейнда. Хорошо выраженные иммуномодулирующие свойства алюминия связаны в первую очередь со стимуляцией выработки антител [9, 10].

Гидроксид алюминия в качестве адьюванта имеет как достоинства, так и недостатки. Механизм адьювантного действия алюминия остается до конца не изученным [11]. Вполне очевидно, что адьювантная активность препаратов алюминия проявляется в способности адсорбировать антигены, формировать и медленно реализовывать депо антигенов, постепенно доставляя их в зоны локализации иммунокомпетентных клеток [12]. В свете накапливающихся современных данных механизм действия солей алюминия не может быть объяснен исключительно классической теорией «депо». Другой возможный механизм — введение солей алюминия — способствует активации системы комплемента, эозинофилов или макрофагов [11]. Известно также, что гидроксид алюминия способен вызывать продукцию цитокинов [9, 12].

Основные недостатки адьювантов на основе солей алюминия заключаются в отсутствии воздействия на клеточный иммунитет, а также в формировании воспалительной реакции в месте введения [9]. Также к недостаткам относятся наблюдаемое в ряде случаев увеличение продукции IgE, связанное с введением гидроокиси алюминия, и потенциальная нейротоксичность. В последнем случае это может быть связано с нарушением функции почек, при котором алюминий может накапливаться и быть токсичным для организма [9, 10].

Следует отметить, что, несмотря на отмеченные выше недостатки, практически во всех вакцинах, разрешенных для иммунизации людей, используются до настоящего времени адьюванты на основе солей алюминия. Это связано прежде всего с опытом их длительного и безопасного использования [13].

Вместе с тем существование определенных проблем безопасного применения адьювантов на основе солей алюминия вызывает необходимость разработки новых перспективных адьювантов, отвечающих повышенным требованиям безопасности [14, 15].

К основным требованиям относят: отсутствие местных и системных реакций (генерализованной токсичности, пирогенности), реакций гиперчувствительности, канцерогенности, снижение дозы антигена или уменьшение количества инъекций, необходимых для формирования полноценного протективного иммунитета, а также выработку стойкого иммунного ответа у детей разного возраста, пожилых и лиц с ослабленным иммунитетом [7].

### Классификация адьювантов

Адьюванты классифицируются по происхождению, механизму действия, физико-химическим свойствам. К сожалению, механизм действия для большинства адьювантов полностью не изучен. Адьюванты сгруппированы в две большие группы — корпускулярные и некорпускулярные. Эффект действия адьювантов может быть обусловлен иммуномодуляцией, оптимизацией процесса презентации антигена, индукцией ответа CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), таргетингом и формированием депо [8].

По своему химическому составу и по механизму действия адьюванты представляют собой гетерогенную группу соедине-

ний, объединяет их лишь одно свойство: способность усиливать иммунный ответ [16]. На основе адьювантных свойств они могут быть объединены в три группы:

- вызывающие формирование депо в месте введения (например, минеральные соединения, адьюванты на основе масел, липосомы, биodeградируемые полимерные микросферы более 10 мкм);

- действующие как носитель для антигенов, которые обеспечивают лучшую презентацию антигенов иммунокомпетентным клеткам (например, липосомы, масляные адьюванты, биodeградируемые полимерные микросферы менее 10 мкм, неионные блок-полимерные сурфактанты);

- действующие как иммуностимуляторы (например, полный адьювант Фрейнда, мурамилдипептид, липополисахарид, липид А, монофосфорил липид А, коклюшный токсин, цитокины) [7, 10].

Некоторые принципы действия адьювантов:

- стабилизируют конформацию эпитопа;

- создают депо в месте инокуляции с медленным высвобождением антигена;

- представляют антиген антигенпрезентирующим клеткам (АПК) в виде мультимолекулярных агрегатов или способствуют связыванию антигена с рецепторами АПК;

- направляют презентацию антигена по пути МНС класса I или МНС класса II путем прямого пептидного обмена на поверхности молекул МНС — преимущественно стимулируют Th1- или Th2-тип ответа за счет активации CD4<sup>+</sup> Т-хелперов и CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов [8].

По механизму действия адьюванты классифицируются как иммуномодуляторы, средства доставки или комбинация двух этих вариантов.

Иммуномодулирующие адьюванты в основном активируют рецепторы врожденного иммунного ответа, такие как Toll-подобные (TLRs), NOD-подобные рецепторы (NLR), лектины С-типа и RIG-I-подобные рецепторы (RLR). Природа инициации сигналов «опасности» распознается клетками врожденного иммунного ответа и может предопределять тип, характер и интенсивность адаптивного иммунного ответа.

Некоторые адьюванты, такие как минеральные соли, липосомы, микрочастицы, сапонины, эмульсии, могут усиливать процесс презентации антигена, тем самым повышая иммунный потенциал вакцин. Комбинированные адьюванты включают большее число компонентов, которые могут действовать синергически, включая различные иммунные механизмы [8].

#### Адьюванты на основе углеводов

Среди множества различных групп веществ, потенциально обладающих адьювантными свойствами, сравнительно мало внимания уделяют адьювантам на основе углеводов (табл. 1), несмотря на то, что они совместимы, в том числе с живыми векторными вакцинами, безопасны, хорошо переносятся, а их производство не отличается трудоемкостью. Благодаря этим преимуществам применение именно таких адьювантов в сочетании с любым типом вакцины, включая векторные или ДНК-вакцины, может быть наиболее целесообразным и перспективным.

В последнее время с точки зрения безопасности рассматривается возможность применения в качестве адьювантов таких углеводных соединений, как полисахариды, которые характеризуются минимальным риском образования токсических метаболитов или накопления в тканях организма. Это позволяет считать их наилучшими кандидатами среди других веществ, обладающих адьювантной активностью. Следует отметить, что многие полисахариды играют основную роль

в передаче сигнала в иммунной системе, и потому неудивительно, что при тестировании многих углеводов было показано наличие у них адьювантной активности [17].

#### Фруктановые адьюванты

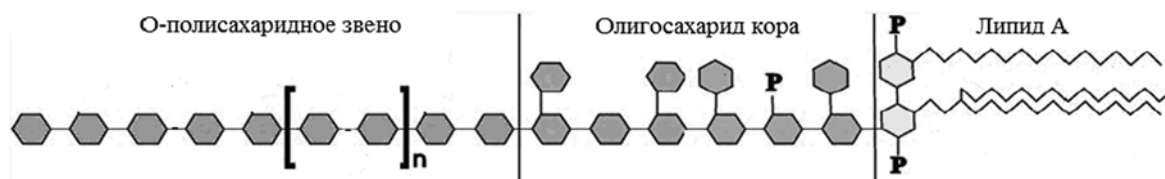
Одним из первых полисахаридов, у которого выявлена иммунологическая активность, была  $\beta$ -D-[2-1] поли(фруктофуранозил)-D-глюкоза, более известная как инулин, представляющий собой природный полисахарид, выделенный из растений семейства *Compositae*. Инулин состоит из линейных цепей фруктозильных групп, соединенных  $\beta$ (2-1)-гликозидными связями, которые заканчиваются кольцом  $\alpha$ -D-[1-2]-глюкопиранозидом. Впервые влияние инулина на иммунную систему было выявлено после его введения в организм человека с целью оценки функциональной способности почек. Инулин приводил к активации системы комплемента в отсутствие антител, т.е. за счет включения альтернативного пути активации комплемента. Установлено, что комплемент активируется благодаря мелким инулиновым кристаллам, содержащимся в инъекционном растворе [18]. Только нерастворимые кристаллы обладают способностью индуцировать иммунологическую активность, в отличие от растворимых альфа- и бета-форм инулина, которые такой способностью не обладают [19]. Наиболее мощной адьювантной активностью обладает дельта-инулин — кристаллизованная форма инулина, выпускаемая как адьювант под торговым названием Advax™ [20]. При применении у мышей, крыс, морских свинок, кроликов, цыплят, собак, овец, обезьян, лошадей и верблюдов данный адьювант усиливал иммуногенность различных белковых антигенов, выделенных из вирусных, бактериальных и протозойных патогенных микроорганизмов, токсинов, опухолевых антигенов и аллергенов. Адьювант Advax™ усиливал иммуногенность вакцин, что было показано на моделях мышей, инфицированных вирусами гриппа H1N1 [21], японского энцефалита [22], лихорадки Западного Нила [14], гепатита В [23] и вирусом иммунодефицита человека [24]. Адьювантное действие Advax™ продемонстрировано также на моделях хорьков, зараженных вирусом гриппа птиц H5N1 [25], лошадей, инфицированных японским энцефалитом [26], и верблюдов, зараженных вирусом африканской конской чумы и сапа [27]. На модели японского энцефалита и лихорадки Западного Нила усиление защитных свойств под влиянием адьюванта Advax™ связывали с индукцией выработки В-клеток памяти; при этом на модели гриппа и других заболеваний отмечена активация как В-, так и Т-клеток памяти. Применение рекомбинантной вакцины против пандемического штамма вируса гриппа у человека с использованием дельта-инулина способствовало увеличению уровня сероконверсии [28].

Адьювант Advax™ стимулирует формирование надежного Т-клеточного иммунитета при одновременном введении с антигенами [21], что позволяет считать целесообразным его использование в вакцинах против рака, ВИЧ и туберкулеза. Показано, что Advax™ способствует формированию более выраженного адаптивного иммунного ответа даже при раздельном введении с антигеном. При введении за 24 ч до инъекции вакцины на основе поверхностного антигена гепатита В этот адьювант был эффективен, что выгодно отличает его от адьювантов на основе солей алюминия [23]. Кроме того, действие адьюванта Advax™ не предполагает связывания антигена, что позволяет просто смешивать антиген с данным адьювантом. Важным аспектом применения Advax™ является отсутствие нежелательного воздействия на эффективность живых векторных вакцин, в том числе рекомбинантного модифицированного вируса осповакцины Ankara (MVA) и живой вакцины

Таблица 1. Примеры адъювантов на основе углеводов

Адъювант	Химическая структура	Модифицированные формы	Источник	Рецепторы	Активность / механизм действия
Дельта-инулин	$\beta$ -D-[2-1] поли(фруктофуранозил) $\alpha$ -D-глюкоза	Эпсилон, омега	Растения семейства <i>Compositae</i>	Неизвестны	Провоспалительная / TLR-независимая, активация системы комплемента, стимуляция секреции хемокинов
Декстран	$\alpha$ -1,6-глюкан с $\alpha$ -1,3-ветвями	Декстрана сульфат, DEAE-декстран, ацелированный декстран	Лактобактерии	Глюкановые	Провоспалительная / активатор инфламмосом, активатор системы комплемента, фактора NFkB, индукция IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
Лентинан	$\beta$ -1,3-глюкогексоза с $\beta$ -1,6-ветвями	Лентинана сульфат	Грибы шиитакэ	Глюкановые	Провоспалительная / активатор инфламмосом, активатор системы комплемента, фактора NFkB, индукция IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
Зимозан	$\beta$ -1,3-глюкан	Частицы глюкана	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	GR, TLR2, Dectin-1, ASC	Провоспалительная / активатор инфламмосом, активатор системы комплемента, фактора NFkB, индукция IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
Бета-глюкан	$\beta$ -1,3-глюкан	Частицы глюкана	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	GR, TLR2, Dectin-1, ASC	Провоспалительная / активатор инфламмосом, активатор системы комплемента, фактора NFkB, индукция IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
Маннан	1,4-полимальтоза	Окисление, восстановление, ацилирование, маннозилированные ниосомы	<i>Aloe barbadensis</i>	MBL, маннозные	Провоспалительная / активатор фактора NFkB, индукция IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
Хитин	N-ацетил-D-глюкозамин	Ацелирование (хитозан)	Ракообразные	Dectin-1, MMR, TLR-2	Провоспалительная / фосфорилирование MAPK, индукция TNF- $\alpha$ , COX-2, простагландина E2, созревание дендритных клеток
Мурамилдипептид	N-ацетил мурамил-L-аланин-D-изоглутамин	D-мурапальмитин, глюкозаминилмурамилдипептид, мурабутид	Микобактерии, <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	NOD2	Провоспалительная / активатор фактора NFkB, индукция IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
Фактор жгутикообразования	трегалоза-6-6-димиколат	Множество	<i>M. tuberculosis</i>	Mincle	Провоспалительная / активирует передачу сигналов моноцитам, активирует фактор NFkB, IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
Липополисахарид (ЛПС)	*	Монофосфорил липид А (МФЛ)	Грамотрицательные бактерии	TLR4	Провоспалительная / активатор фактора NFkB, индукция IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$
QS21 Тритерпеновые гликозиды		GPI-0100	Кора <i>Quillaja saponaria</i>	Инфламмосома	Провоспалительная / активатор инфламмосом и NFkB

\*



против респираторно-синцициального вируса (RSV). Примечательно, что во многих исследованиях с участием животных и человека были продемонстрированы безопасность и низкая реактогенность адъюванта Advax™. Это подтверждает гипотезу о том, что полисахариды в целом отлично переносятся. Дельта-инулин не токсичен и ареактогенен, возможно, в силу того,

что его введение не приводит к активации таких рецепторов системы врожденного иммунитета, как TLR, Dectin-1 или инфламмосомы. Вследствие этого отсутствует выработка провоспалительных цитокинов, например интерлейкина-1 (IL-1), которые и вызывают побочные эффекты при использовании других адъювантов.

### Глюкановые адьюванты

Глюканы — это полисахариды, выделенные из растений или микроорганизмов, состоящие из повторяющихся молекул D-глюкозы, соединенных гликозидными связями с образованием различных конформаций. Различают 2 типа глюканов — альфа и бета. Альфа-глюканы — декстран ( $\alpha$ -1,6-глюкан), гликоген ( $\alpha$ -1,4- и  $\alpha$ -1,6-глюкан), пуллулан ( $\alpha$ -1,4- и  $\alpha$ -1,6-глюкан) и крахмал ( $\alpha$ -1,4- и  $\alpha$ -1,6-глюкан). К бета-глюканам относят целлюлозу ( $\beta$ -1,4-глюкан), курдлан ( $\beta$ -1,3-глюкан), ламинарин ( $\beta$ -1,3- и  $\beta$ -1,6-глюкан), хризоламинарин ( $\beta$ -1,3-глюкан), лентинан (очищенный  $\beta$ -1,6- и  $\beta$ -1,3-глюкан, выделенный из *Lentinus edodes*), лихенин ( $\beta$ -1,3- и  $\beta$ -1,4-глюкан), плевран ( $\beta$ -1,3- и  $\beta$ -1,6-глюкан, выделенный из *Pleurotus ostreatus*) и зимозан ( $\beta$ -1,3-глюкан, выделенный из *Saccharomyces*). Каждый тип глюканов может в широких пределах различаться по качеству и чистоте и может содержать полимерные цепи разной длины с различным количеством ответвлений. Поскольку эти отличительные особенности полимеров зависят от источника глюканов, их названия происходят от названий растений или микроорганизмов, из которых их получают. Так, несмотря на то, что зимозан представляет собой преимущественно  $\beta$ -1,3-глюкан, экстрагированный из клеточных стенок дрожжей, он также содержит разное количество других полисахаридов и белков, которые тоже обладают адьювантной активностью.

Не всегда возможно определить, какой из компонентов глюканового комплекса отвечает за его адьювантную активность. Как видно из данных, представленных в таблице 1, глюканы и другие углеводные адьюванты модулируют иммунный ответ посредством активации специфических рецепторов системы врожденного иммунитета. В этом процессе участвуют  $\beta$ -глюкановые рецепторы, маннанные рецепторы, Dectin-1, TLR и другие рецепторы, экспрессируемые на моноцитах и АПК. Связывание полисахаридов с соответствующими рецепторами на клетках системы врожденного иммунитета приводит к активации моноцитов. Результатом транслокации в ядро транскрипционного фактора каппа-В (NF $\kappa$ B) является продукция провоспалительных цитокинов, что, в свою очередь, стимулирует формирование адаптивного иммунного ответа на введенный антиген.

### Альфа-глюкановые адьюванты

Декстран — это разветвленный микробный полисахарид, состоящий из  $\alpha$ -1,6-глюкана с  $\alpha$ -1,3-ответвлениями. У сульфата декстрана был обнаружен выраженный провоспалительный эффект, что проявилось в его способности вызывать воспалительный колит у мышей. На макаках-резус было показано, что диэтиламиноэтил-декстран (DEAE-декстран) — поликатионный дериват декстрана — усиливал выработку антител в ответ на введение инактивированной формалином вакцины против вируса веносулусского лошадиного энцефаломиелиита [29]. DEAE-декстран аналогичным образом способствовал формированию у мышей иммунного ответа на введение цельноклеточной вакцины против холеры [30]. Микрочастицы ацетилированного декстрана (Ac-DEX) используются для доставки к иммунным клеткам иммиксимода (агонист рецептора TLR7), что позволяет повысить активность рецептора TLR7 [31].

### Бета-глюкановые адьюванты

Зимозан состоит из комплекса белков с  $\beta$ -1,3-глюканом, выделенным из клеточной стенки дрожжей. Связываясь с рецепторами TLR-2 и Dectin-1 на моноцитах, он активирует фактор NF $\kappa$ B, а также стимулирует альтернативный путь активации комплемента, внося вклад в развитие выраженной воспалительной реакции [32]. Зимозан, а также маннан не-

посредственно активируют инфламмосомы посредством воздействия на белок ASC и криопирин, что приводит к активации каспазы-1 и продукции IL-1 $\beta$ . Возможно, данный механизм действия и определяет их высокую реактогенность [33]. С помощью этих механизмов зимозан индуцирует неспецифическую устойчивость к бактериальным и грибковым инфекциям, а также активирует процессы гибели опухолевых клеток с помощью полиморфноядерных лейкоцитов [34]. Зимозан способен усиливать ответную реакцию организма на ДНК-вакцины посредством комплемент-зависимого механизма [35].

Лентинан, состоящий из  $\beta$ -1,3-глюкана с  $\beta$ -1,6-ответвлениями, выделен из растительного сырья, а также грибов шиитакэ (*Lentinus edodes*). Показано, что лентинан при интраназальном введении способствовал повышению продукции оксида азота и IL-6 в бронхоальвеолярных макрофагах, в результате чего формировалась неспецифическая устойчивость к вирусной инфекции. Как и другие иммунологически активные полисахариды, лентинан характеризовался противоопухолевой и антибактериальной активностью [36]. Добавление лентинана увеличивало эффективность вакцины, используемой для лечения экспериментальной меланомы B16 у мышей. Кроме того, лентинан способствовал увеличению продукции цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) и развитию воспаления и некроза в ткани опухоли [37]. При введении курам сульфатированного лентинана в сочетании с вакциной против болезни Ньюкасла происходило увеличение титра антител в сыворотке крови и усиление Т-клеточного пролиферативного ответа, а также уменьшалось количество случаев с летальным исходом среди заболевших птиц [38].

К  $\beta$ -1,3-глюканам относят также алгал, экстрагированный из *Euglena gracilis*. Алгал стимулирует гуморальный и клеточный иммунный ответ на введение пептидных антигенов гликопротеина D вируса герпеса [39].

Частицы бета-глюкана представляют собой очищенные клеточные стенки *Saccharomyces cerevisiae*, обработанные таким образом, чтобы удалить маннаны и дрожжевые белки, оставив остов, состоящий в основном из  $\beta$ -1,3-D-глюканов. Полая пористая структура таких частиц позволяет заполнить их антигенами, в том числе вирусными векторами, что приводит к стимуляции фагоцитоза дендритными клетками, увеличению уровня экспрессии маркеров созревания и повышению активности антиген-специфических Т-клеток [40].

### Маннанные адьюванты

Маннан представляет собой полимер маннозы с 1,4-гликозидными связями, который у дрожжей, бактерий и растений выполняет функцию запасного полисахарида. Связывание маннана при помощи маннан-связывающего лектина и других лектинов С-типа семейства маннозных рецепторов приводит к активации комплемента, опсонизации, фагоцитозу, активации инфламмосом, каспазы 1 и выработке провоспалительных цитокинов [33, 41]. Способность маннана воздействовать на созревание дендритных клеток реализуется посредством TLR4-зависимого механизма [42]. Маннан и его производные широко применяют для доставки антигенов в дендритные клетки, в особенности в составе вакцин против опухолей человека. При окислительном связывании с рекомбинантным белковым антигеном и последующем интраназальном его введении маннан усиливал выработку антиген-специфических сывороточных и секреторных антител у мышей F1 и C57BL. В клиническом исследовании антигена MUC-1 (антиген, экспрессируемый различными опухолями, в данном случае аденокарциномой), конъюгированного с окисленным маннаном, частота рецидивирования опухоли была более чем в четыре

раза ниже [43]. При конъюгации основного миелинового белка (ОМБ) с восстановленным маннаном иммунный ответ против ОМБ реализовывался не Th1, а Th2, что предотвращало развитие экспериментального аллергического энцефаломиелиита у мышей [44]. На модели болезни Альцгеймера у гипореактивных трансгенных мышей было показано, что маннан, конъюгированный с антигеном Аβ, усиливал продукцию антител против данного антигена, что указывает на способность адьюванта маннана преодолевать аутоотолерантность [45]. Введение полиманнозы, выделенной из *Aloe barbadensis*, приводило к повышению титров антител у мышей, иммунизированных вирусом Коксаки В3. Манноза также использовалась для доставки липосом, содержащих плазмидную ДНК, в макрофаги [46]. Покрытие катионных липосом маннаном значительно усиливало способность ДНК-вакцины против ВИЧ индуцировать специфический клеточный иммунный ответ, а также повышало активность ДНК-вакцины против меланомы [47]. Маннан использовали для улучшения доставки живых вирусных векторных вакцин. Кроме того, для доставки антигена сосудистого эндотелия — кадгерина, в качестве вакцины у мышей был применен рекомбинантный аденовирусный вектор, модифицированный добавлением маннана. Было показано, что маннан способствовал усилению иммуногенности вакцины, в результате чего происходило предотвращение роста опухолей и повышение уровня выживаемости животных [48].

Данные, представленные выше, свидетельствуют о том, что маннан может быть использован как в качестве адьюванта, так и в качестве инструмента, облегчающего доставку живых векторных вакцин непосредственно в дендритные клетки.

#### **Хитозановые адьюванты**

Хитозан получают путем частичного деацетилирования хитина, представляющего собой линейный полимер D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина с β-1-4-связями, который экстрагируют из креветок. Хитозан проявляет широкий спектр иммуномодулирующих свойств, в том числе способствует активации макрофагов и выделению провоспалительных цитокинов, что приводит к повышению титров антител к вводимым совместно с ним антигенам. Описанные эффекты опосредуются связыванием хитина с такими рецепторами, как Dectin-1, макрофагальный маннозный рецептор и TLR-2 [49]. Добавление хитозана к инактивированной вакцине против гриппа, вводимой внутримышечно, способствовало повышению титров антител у мышей [50] и обеспечению более эффективной защиты при заражении летальной дозой вируса [51]. Было исследовано применение в качестве назальных адьювантов хитина и его производных ввиду наличия у них мукоадгезивных свойств. Такие производные хитина, как N-триметилхитозан хлорид, усиливают всасывание белков на поверхности слизистой оболочки [52]. Совместное применение микрочастиц хитозана и адьюванта LTK63 на основе мукозального токсина существенно усиливало иммуногенность интраназальной менингококковой (группа C) полисахаридной вакцины [53]. Также интраназальное введение наночастиц хитозана, содержащих плазмидную ДНК-вакцину, способствовало развитию выраженного иммунного ответа как гуморального и клеточного, так и слизистых оболочек [54]. Введение хитозана при интраназальной иммунизации крупного рогатого скота вакциной на основе аденовируса типа 5, экспрессирующего гликопротеин D бычьего герпесвируса, увеличивало иммуногенность препарата. При этом наилучшую защиту от инфекции обеспечивало применение в качестве адьюванта гликоль-хитозана [55].

Сходным образом при глазнично-носовом введении 1-суточным цыплятам апатогенной энтеротропной живой вакцины против вируса болезни Ньюкасла совместно с хитозаном происходило формирование более выраженного иммунного ответа [56]. Хитозан повышал защитную эффективность живой ослабленной гриппозной вакцины: его применение приводило к увеличению уровня антител, специфичных к вирусу гриппа, и количества Т-клеток, секретирующих IFN-γ [57]. В ходе испытаний I фазы на людях было изучено сочетание хитозана, интраназальной вакцины на основе норовирусоподобных частиц, полученных из норовируса с генотипом GI.1, и МФЛ в качестве адьюванта. Благодаря повышению мукоадгезивных свойств вакцины происходила индукция высоких титров IgG и IgA против норовируса [58], что указывает на возможность применения хитозана в качестве адьюванта в вакцинах, предназначенных для человека. Но при исследовании вакцин против рака были выявлены и отрицательные эффекты хитозана. У мышей аденовирусная вакцина против рака в комбинации с хитозаном в качестве адьюванта приводила к снижению активности антиген-специфичных CD8<sup>+</sup> Т-клеток, ЦТЛ и уменьшению выработки IFN-γ [59]. Причиной этому послужило ингибирование хитозаном опосредованной аденовирусом экспрессии трансгена и активности АПК.

#### **Липоарабиноманнозные адьюванты**

Золотым стандартом адьювантной активности все еще остается обладающий высокой токсичностью полный адьювант Фрейнда, основным ингредиентом которого являются микобактерии. При этом продолжают выявлять все новые и новые бактериальные компоненты, способствующие адьювантной активности. Оказалось, что многие адьювантные соединения, в том числе олигосахариды, гликопротеины и гликолипиды, обнаруженные в бактериальных экстрактах, содержат углеводы. Известно, что иммунные клетки распознают микобактерии за счет различных рецепторов, в том числе TLR и лектинов C-типа (например, маннозного рецептора, Dectin-1 и DC-SIGN), взаимодействующих с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP). Причем многие из этих вариантов взаимодействия зависят от углеводных структур в клеточной стенке микобактерии. Основным структурным компонентом на поверхности микобактерии является липоарабиноманнан (ЛАМ). Иммунная активность ЛАМов зависит от их структуры. Так, ЛАМы непатогенных микобактерий связываются с TLR2 на макрофагах, активируют NFκB и индуцируют продукцию провоспалительных цитокинов [60]. Напротив, маннозиллированный ЛАМ патогенной *M. tuberculosis*, связываясь с маннозным рецептором и DC-SIGN, приводит к стимулированию продукции противовоспалительных цитокинов [60]. Таким образом, ЛАМы могут быть индукторами как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов в зависимости от их происхождения и от того, с каким рецептором системы врожденного иммунитета они связываются (например, с маннозным рецептором, TLR1/TLR2, TLR4 или DC-SIGN), что подчеркивает наличие тонких различий в передаче сигнала посредством углеводов [60]. Данные об использовании ЛАМ в качестве адьюванта для живых вирусных векторных вакцин отсутствуют.

#### **Мурамилдипептидные адьюванты**

Мурамилдипептид (MDP; N-ацетилмурамил-L-аланин-D-изоглютамин) был впервые идентифицирован во фракции микобактериального пептидогликана, известной своей выраженной адьювантной активностью [61]. Он был исследован и как самостоятельное вещество, и как компонент более слож-

ных адьювантных составов. MDP активирует такие рецепторы врожденного иммунитета, как NOD2 и TLR, что приводит к выраженной продукции NFκB, провоспалительных цитокинов и ускорению созревания дендритных клеток. Решающее значение для обеспечения адьювантной активности MDP имеет углеводный фрагмент, что было показано при исследовании индукции гиперчувствительности замедленного типа у морских свинок под воздействием углеводных аналогов MDP [62]. При этом существуют определенные требования к структуре углеводного фрагмента MDP: адьювантной активностью при комбинации с вакциной обладали только аналоги MDP, содержащие D-маннозамин, D-галактозамин и D-глюкозу [62]. Аналоги MDP могут быть гидрофильными либо липофильными, при этом последние обладают большей иммунологической активностью. При введении в физиологическом растворе аналоги MDP в большей степени стимулируют гуморальный иммунитет, тогда как при введении с эмульсиями либо в липосомах они индуцируют формирование клеточного иммунитета.

#### Липополисахаридные адьюванты

Бактериальный липополисахарид (ЛПС) является мощным стимулятором активации макрофагов и выработки провоспалительных цитокинов. Поскольку сам по себе ЛПС токсичен для человека, чтобы применять его в качестве адьюванта, разрабатываются менее реактогенные аналоги на основе компонента липида А, состоящего из β-(1,6)-связанного D-глюкозаминдисахариды, фосфорилированного в положениях 1-O и 4'-O. В условиях низкой кислотности липид А может быть гидролизован с целью удаления 1-фосфатной группы, а последующая обработка слабой щелочью приводит к удалению жирной кислоты в положении 3 с образованием монофосфориллипиды А (МФЛ). По сравнению с ЛПС МФЛ обладает низкой токсичностью, но сохраняет иммуностимулирующую активность [63]. Снижение реактогенности по сравнению с ЛПС объясняется тем, что передача сигнала МФЛ через рецепторы TLR4 осуществляется преимущественно посредством адаптора TRIF вместо адаптора MYD88 [64]. МФЛ используется в различных патентованных адьювантных составах, в том числе адьювантах AS02 и AS04 (компании GSK), где МФЛ применяется в комбинации с QS21 и эмульсией типа «масло-в-воде», либо с гидроксидом алюминия соответственно. Адьювант AS04, который является комбинацией алюминия и деривата мурамыл дипептида — LPS [9], входит в состав лицензированных вакцин против гепатита В (Fendrix®) и вируса папилломы человека (Cervarix®) [65]. Также в исследованиях на мышах было показано, что эффективность применения МФЛ в качестве мукозального адьюванта для вакцины против гриппа на основе вирусоподобных частиц была сходна с эффективностью адьювантов на основе солей алюминия или CrG (синтетические олигонуклеотиды, содержащие неметилированные CrG, являющиеся триггерами клеток, экспрессирующих TLR9, в том числе дендритных клеток и В лимфоцитов человека) [66]. Данные об использовании МФЛ в качестве адьюванта для живых вирусных векторных вакцин отсутствуют, что может быть связано с несовместимостью МФЛ с вирусами в смеси из-за его высокой гидрофобности.

#### Сапониновые адьюванты

Имеются данные о том, что адьювантной активностью обладают все сапонины, полученные из растений семейств *Rhamnaceae*, *Araliaceae*, *Polygalaceae* и *Fabaceae* [67]. Наиболее широко изученным сапониновым адьювантом является QS21. Он представляет собой сапонин, выделенный из Quil A — сме-

си тритерпеновых гликозидов из коры южноамериканского мыльного дерева *Quillaja aponaria* [68, 69]. Главным фактором, ограничивающим применение QS21, является возможное развитие таких нежелательных реакций, как боль в месте введения и гемолиз, возникающих из-за способности данного сапонины лизировать клеточные мембраны. Для преодоления описанных недостатков был создан ряд химически модифицированных вариантов QS21. Так, GPI-0100 представляет собой вариант QS21, в который была внедрена C-12 алкильная цепь с использованием стабильной амидной связи с карбоксильной группой остатка глюкуроновой кислоты деацелированного сапонины [70]. Показано, что GPI-0100 по сравнению с QS2, стимулирует Th2-тип иммунного ответа, тогда как QS21 стимулирует Th1-тип иммунного ответа [71]. Адьювантной активностью также обладают и другие сапонины растительного происхождения. Например, глицирризин, представляющий собой тритерпеновый сапониновый гликозид глицирризиновой кислоты и придающий сладковатый вкус солодковому корню, активирует NFκB и индуцирует выработку провоспалительных медиаторов макрофагами мышей, а также обладает адьювантной активностью при совместном введении с антигеном [72]. Сапониновые адьюванты не подходят для использования в качестве адьювантов для живых вирусных векторов вследствие их способности разрушать клеточные мембраны, что также ограничивает их использование с инактивированными или рекомбинантными антигенами [73] или с ДНК-вакцинами [74].

#### Механизмы адьювантного действия углеводов

Множество описанных выше адьювантов на основе полисахаридов, в том числе зимозан, маннан, MDP и ЛПС, действуют путем активации таких рецепторов врожденного иммунитета, как TLR, NOD2 и лектины C-типа, что вызывает продукцию провоспалительных цитокинов, которая приводит к усилению иммуногенности вакцины [39, 75]. Ряд углеводных адьювантов, в том числе MDP, ЛПС, зимозан, маннан, β-глюкан и дельта-инулин, активируют комплемент, что также может способствовать их адьювантной активности [76, 77]. Кроме того, определенную роль в проявлении адьювантного действия углеводов также может играть хемотаксис, индуцированный IL-8, MCP-1, MIP-1α и MIP-1β. Например, миграцию лимфоцитов эффективно индуцируют фосфоманнозилные структуры [78, 79]. Некоторые углеводные соединения, такие как зимозан, маннан и QS21, напрямую активируют инфламмосому, что также способствует проявлению их адьювантной активности [33]. Особенностью, отличающей дельта-инулин от других углеводных адьювантов, является то, что он не активирует TLR, инфламмосомы или другие рецепторы врожденного иммунитета и поэтому не индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов. Тем не менее под его воздействием происходит усиление ответа антиген-специфических T- и В-клеток памяти, что свидетельствует о том, что дельта-инулин все же характеризуется выраженной адьювантной активностью. По-видимому, данный эффект реализуется за счет уникальной способности стимулировать функциональную активность АПК без активации генов провоспалительных цитокинов [80].

#### Заключение

Поскольку вещества на основе полисахаридов играют важную роль в обеспечении иммунитета, исследования углеводных соединений могут быть плодотворными для разработки новых адьювантов. В целом углеводы безопасны и хорошо переносятся, а значит, соответствуют одному из главных критериев, которые предъявляются к адьювантам, применяемым у человека.

Наиболее перспективными углеводами с адьювантной активностью считают полисахариды. Но некоторые из них, такие как декстран, зимозан и маннан, могут способствовать выраженной продукции провоспалительных цитокинов, что ограничивает их использование в вакцинах для профилактики заболеваний у человека. Уникальным полисахаридным адьювантом, который не активирует TLR и инфламмосомы, является дельта-инулин. Он не вызывает продукции провоспалительных цитокинов и поэтому обладает благоприятным профилем переносимости и безопасности, что позволяет рассматривать данное вещество как потенциальный компонент профилактических вакцин, применяемых у человека. Все адьюванты, относящиеся к группе полисахаридов, совместимы с живыми вирусными векторными вакцинами, причем по многим из них существуют данные об эффективности такого сочетания. Поскольку подбор адьювантов к живым векторным вакцинам вызывает определенные трудности, лучшими кандидатами для такого применения могут быть именно полисахаридные адьюванты.

#### Информация об отсутствии конфликта интересов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Conflict of interests.** Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

#### Литература / References

1. Дранник ГН. Клиническая иммунология и аллергология. Одесса: АстроПринт; 1999. [Drannik GN. *Clinical Immunology and Allergology*. Odessa: AstroPrint; 1999 (in Russ.)]
2. Дитятковская ЕМ, Василевская ИВ, Кийко ЛА. Аллергология и иммунология. Днепропетровск: ФПО ДГМА; 2003. [Dityatkovskaya EM, Vasilevskaya IV, Kijko LA. *Allergology and Immunology*. Dnepropetrovsk: FPO DGMA; 2003 (in Russ.)]
3. Хаитов РМ. Иммунология: структура и функции иммунной системы: учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. [Khaitov RM. *Immunology: Structure and Functions of the Immune System: Textbook*. Moscow: GEOTAR-Media; 2013 (in Russ.)]
4. Vogel FR. Adjuvants in Perspective. *Dev Biol Stand*. 1998;92:241–8.
5. Vogel FR. Improving Vaccine Performance with Adjuvants. *Clin Infect Dis*. 2000;30 Suppl 3:S266–70. DOI: 10.1086/313883
6. Исаенко ЕЮ, Бабич ЕМ, Елисеева ИВ, Ждамарова ЛА, Белозерский ВИ, Колпак СА. Адьюванты в современной вакцинологии. *Аннали Мечниковского института* 2013;(4):5–21. [Isaenko YeYu, Babych YeM, Yelyseyeva IV, Zhdamarova LA, Belozersky VI, Kolpak SA. *Adjuvants in Modern Vaccinology*. *Annali Mechnikovskogo instituta* 2013;(4):5–21 (in Russ.)]
7. Gupta RK, Siber GR. Adjuvants for Human Vaccines — Current Status, Problems and Future Prospects. *Vaccine* 1995;13(14):1263–76. DOI: 10.1016/0264-410X(95)00011-0
8. O'Hagan DT, ed. *Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols*. Totowa NJ: Humana Press; 2000.
9. Козлов ВГ, Ожерелков СВ, Санин АВ, Кожевникова ТН. Адьюванты в современной медицине и ветеринарии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии* 2014;(1):91–102. [Kozlov VG, Ozherelkov SV, Sanin AV, Kozhevnikova TN. *Adjuvants in Modern Medicine and Veterinary*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii* 2014;(1):91–102 (in Russ.)]
10. Суворов АН, Леонтьева ГФ, Мeringова ЛФ, Грабовская КБ, Гупалова ТВ, Воробьева ЕИ и др. Влияние различных адьювантов на иммуногенность компонентов вакцины против стрептококков группы В. *Медицинская Иммунология* 2008;10(2-3):215–22. [Suvorov AN, Leon-tyeva GF, Meringova LF, Grabovskaya KB, Gupalova TV, Vorobyeva EI, et al. *Effects of Different Adjuvants upon Immunogenicity of Anti-Group B Streptococcal Vaccine Components*. *Medicinskaya Immunologiya* 2008;10(2-3):215–22 (in Russ.)]
11. Aguilar JC, Rodriguez EG. Vaccine Adjuvants Revisited. *Vaccine* 2007;25(19):3752–62. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.01.111
12. McKee AS, Marrack P. Old and New Adjuvants. *Curr Opin Immunol*. 2017;47:44–51. DOI: 10.1016/j.coi.2017.06.005
13. Savelkoul HF, Ferro VA, Strioga MM, Schijns VE. Choice and Design of Adjuvants for Parenteral and Mucosal Vaccines. *Vaccines (Basel)* 2015;3(1):148–71. DOI: 10.3390/vaccines3010148
14. Petrovsky N, Larena M, Siddharthan V, Prow NA, Hall RA, Lobigs M, Morrey J. An Inactivated Cell Culture Japanese Encephalitis Vaccine (JE-ADVAX) Formulated with Delta Inulin Adjuvant Provides Robust Heterologous Protection Against West Nile Encephalitis via Cross-Protective Memory B Cells and Neutralizing Antibody. *J Virol*. 2013;87(18):10324–33. DOI: 10.1128/JVI.00480-13
15. Passeri E, Villa C, Couette M, Itti E, Brugieres P, Cesaro P, et al. Long-Term Follow-up of Cognitive Dysfunction in Patients with Aluminum Hydroxide-Induced Macrophagic Myofasciitis (MMF). *J Inorg Biochem*. 2011;105(11):1457–63. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.08.006
16. Ciabattini A, Pettini E, Fiorino F, Pastore G, Andersen P, Pozzi G, Medagliani D. Modulation of Primary Immune Response by Different Vaccine Adjuvants. *Front Immunol*. 2016;7:427. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00427
17. Petrovsky N. Comparative Safety of Vaccine Adjuvants: A Summary of Current Evidence and Future Needs. *Drug Saf*. 2015;38(11):1059–74. DOI: 10.1007/s40264-015-0350-4
18. Cooper PD, Carter M. Anti-Complementary Action of Polymorphic «Solubility Forms» of Particulate Inulin. *Mol Immunol*. 1986;23(8):895–901.
19. Cooper PD, Barclay TG, Ginic-Markovic M, Petrovsky N. The Polysaccharide Inulin is Characterized by an Extensive Series of Periodic Isoforms with Varying Biological Actions. *Glycobiology* 2013;23(10):1164–74. DOI: 10.1093/glycob/cwt053
20. Cooper PD, Petrovsky N. Delta Inulin: A Novel, Immunologically Active, Stable Packing Structure Comprising  $\beta$ -D-[2  $\rightarrow$  1] poly(fructo-furanosyl)  $\alpha$ -D-glucose Polymers. *Glycobiology* 2011;21(5):595–606. DOI: 10.1093/glycob/cwq201
21. Honda-Okubo Y, Saade F, Petrovsky N. Advax™, a Polysaccharide Adjuvant Derived from Delta Inulin, Provides Improved Influenza Vaccine Protection through Broad-Based Enhancement of Adaptive Immune Responses. *Vaccine* 2012;30(36):5373–81. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.06.021
22. Larena M, Prow NA, Hall RA, Petrovsky N, Lobigs M. JE-ADVAX Vaccine Protection against Japanese Encephalitis Virus Mediated by Memory B Cells in the Absence of CD8(+) T Cells and Pre-Exposure Neutralizing Antibody. *J Virol*. 2013;87(8):4395–402. DOI: 10.1128/JVI.03144-12
23. Saade F, Honda-Okubo Y, Trec S, Petrovsky N. A Novel Hepatitis B Vaccine Containing Advax™, a Polysaccharide Adjuvant Derived from Delta Inulin, Induces Robust Humoral and Cellular Immunity with Minimal Reactogenicity in Preclinical Testing. *Vaccine* 2013;31(15):1999–2007. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.12.077
24. Cristillo AD, Ferrari MG, Hudacic L, Lewis B, Galmin L, Bowen B, et al. Induction of Mucosal and Systemic Antibody and T-cell Responses Following Prime-Boost Immunization with Novel Adjuvanted Human Immunodeficiency Virus-1-vaccine Formulations. *J Gen Virol*. 2011;92(Pt 1):128–40. DOI: 10.1099/vir.0.023242-0
25. Layton RC, Petrovsky N, Gigliotti AP, Pollock Z, Knight J, Donart N, et al. Delta Inulin Polysaccharide Adjuvant Enhances the Ability of Split-Virion H5N1 Vaccine to Protect against Lethal Challenge in Ferrets. *Vaccine* 2011;29(37):6242–51. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.06.078



26. Lobigs M, Pavy M, Hall RA, Lobigs P, Cooper P, Komiya T, et al. An Inactivated Vero Cell-Grown Japanese Encephalitis Vaccine Formulated with Advax, a Novel Inulin-Based Adjuvant, Induces Protective Neutralizing Antibody against Homologous and Heterologous Flaviviruses. *J Gen Virol*. 2010;91(Pt 6):1407–17. DOI: 10.1099/vir.0.019190-0
27. Eckersley AM, Petrovsky N, Kinne J, Wernery R, Wernery U. Improving the Dromedary Antibody Response: the Hunt for the Ideal Camel Adjuvant. *J Camel Pract Res*. 2011;18(1):35–46.
28. Gordon DL, Sajkov D, Woodman RJ, Honda-Okubo Y, Cox MM, Heinzl S, Petrovsky N. Randomized Clinical Trial of Immunogenicity and Safety of a Recombinant H1N1/2009 Pandemic Influenza Vaccine Containing Advax™ Polysaccharide Adjuvant. *Vaccine* 2012;30(36):5407–16. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.06.009
29. Houston WE, Crabbs CL, Kremer RJ, Springer JW. Adjuvant Effects of Diethylaminoethyl-dextran. *Infect Immun*. 1976;13(6):1559–62.
30. Kaistha J, Sokhey J, Singh S, Kumar S, John PC, Sharma NC. Adjuvant Effect of DEAE-dextran and Tetanus Toxoid on Whole Cell Heat Inactivated Phenol Preserved Typhoid Vaccine. *Indian J Pathol Microbiol*. 1996;39(4):287–92.
31. Bachelder EM, Beaudette TT, Broaders KE, Frechet JM, Albrecht MT, Mateczun AJ, et al. In vitro Analysis of Acetylated Dextran Microparticles as a Potent Delivery Platform for Vaccine Adjuvants. *Mol Pharm*. 2010;7(3):826–35. DOI: 10.1021/mp900311x
32. Schorlemmer HU, Bitter-Suermann D, Allison AC. Complement Activation by the Alternative Pathway and Macrophage Enzyme Secretion in the Pathogenesis of Chronic Inflammation. *Immunology* 1977;32(6):929–40.
33. Lamkanfi M, Malireddi RK, Kanneganti TD. Fungal Zymosan and Mannan Activate the Cryopyrin Inflammasome. *J Biol Chem*. 2009;284(31):20574–81. DOI: 10.1074/jbc.M109.023689
34. Morikawa K, Takeda R, Yamazaki M, Mizuno D. Induction of Tumoricidal Activity of Polymorphonuclear Leukocytes by a Linear beta-1,3-D-glucan and Other Immunomodulators in Murine Cells. *Cancer Res*. 1985;45(4):1496–501.
35. Ara Y, Saito T, Takagi T, Hagiwara E, Miyagi Y, Sugiyama M, et al. Zymosan Enhances the Immune Response to DNA Vaccine for Human Immunodeficiency Virus Type-1 through the Activation of Complement System. *Immunology* 2001;103(1):98–105.
36. Jeannin JF, Lagadec P, Pelletier H, Reisser D, Olsson NO, Chihara G, Martin F. Regression Induced by Lentinan, of Peritoneal Carcinomatosis in a Model of Colon Cancer in Rat. *Int J Immunopharmacol*. 1988;10(7):855–61.
37. Wang J, Zhou ZD, Xia DJ. Study on Effect of Lentinan in Enhancing Anti-Tumor Action of Dendritic Cytoma Vaccine and Its Mechanism. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2007;27(1):60–4.
38. Guo Z, Hu Y, Wang D, Ma X, Zhao X, Zhao B, et al. Sulfated Modification Can Enhance the Adjuvant Activity of Lentinan and Improve the Immune Effect of ND Vaccine. *Vaccine* 2009;27(5):660–5. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.11.038
39. Mohagheghpour N, Dawson M, Hobbs P, Judd A, Winant R, Dousman L, et al. Glucans as Immunological Adjuvants. *Adv Exp Med Biol*. 1995;383:13–22.
40. Huang H, Ostroff GR, Lee CK, Specht CA, Levitz SM. Robust Stimulation of Humoral and Cellular Immune Responses Following Vaccination with Antigen-Loaded Beta-Glucan Particles. *MBio*. 2010;1(3):e00164–10. DOI: 10.1128/mBio.00164-10
41. Takahara K, Yashima Y, Omatsu Y, Yoshida H, Kimura Y, Kang YS, et al. Functional Comparison of the Mouse DC-SIGN, SIGNR1, SIGNR3 and Langerin, C-type Lectins. *Int Immunol*. 2004;16(6):819–29. DOI: 10.1093/intimm/dxh084
42. Sheng KC, Pouniotis DS, Wright MD, Tang CK, Lazoura E, Pietersz GA, Apostolopoulos V. Mannan Derivatives Induce Phenotypic and Functional Maturation of Mouse Dendritic Cells. *Immunology* 2006;118(3):372–83. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2006.02384.x
43. Vassilaros S, Tsibanis A, Tsikkinis A, Pietersz GA, McKenzie IF, Apostolopoulos V. Up to 15-year Clinical Follow-up of a Pilot Phase III Immunotherapy Study in Stage II Breast Cancer Patients using Oxidized Mannan-MUC1. *Immunotherapy* 2013;5(11):1177–82. DOI: 10.2217/imt.13.126
44. Katsara M, Yuriev E, Ramsland PA, Tselios T, Deraos G, Lourbopoulos A, et al. Altered Peptide Ligands of Myelin Basic Protein (MBP87-99) Conjugated to Reduced Mannan Modulate Immune Responses in Mice. *Immunology* 2009;128(4):521–33. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2009.03137.x
45. Petrushina I, Ghochikyan A, Mkrtchyan M, Mamikonyan G, Movsesyan N, Ajdari R, et al. Mannan-Abeta28 Conjugate Prevents Abeta-plaque Deposition, but Increases Microhemorrhages in the Brains of Vaccinated Tg2576 (APPsw) Mice. *J Neuroinflammation*. 2008;5:42. DOI: 10.1186/1742-2094-5-42
46. Kawakami S, Sato A, Nishikawa M, Yamashita F, Hashida M. Mannose Receptor-Mediated Gene Transfer into Macrophages using Novel Mannosylated Cationic Liposomes. *Gene Ther*. 2000;7(4):292–9. DOI: 10.1038/sj.gt.3301089
47. Lu Y, Kawakami S, Yamashita F, Hashida M. Development of an Antigen-Presenting Cell-Targeted DNA Vaccine Against Melanoma by Mannosylated Liposomes. *Biomaterials* 2007;28(21):3255–62. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.03.028
48. Zhao Z, Yao Y, Ding Z, Chen X, Xie K, Luo Y, et al. Antitumor Immunity Mediated by Mannan-Modified Adenovirus Vectors Expressing VE-cadherin. *Vaccine* 2011;29(25):4218–24. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.03.109
49. Arca HC, Gunbeyaz M, Senel S. Chitosan-based Systems for the Delivery of Vaccine Antigens. *Expert Rev Vaccines* 2009;8(7):937–53. DOI: 10.1586/erv.09.47
50. Ghendon Y, Markushin S, Vasiliev Y, Akopova I, Koptiaeva I, Krivtsov G, et al. Evaluation of Properties of Chitosan as an Adjuvant for Inactivated Influenza Vaccines Administered Parenterally. *J Med Virol*. 2009;81(3):494–506. DOI: 10.1002/jmv.21415
51. Chang H, Li X, Teng Y, Liang Y, Peng B, Fang F, Chen Z. Comparison of Adjuvant Efficacy of Chitosan and Aluminum Hydroxide for Intraperitoneally Administered Inactivated Influenza H5N1 Vaccine. *DNA Cell Biol*. 2010;29(9):563–8. DOI: 10.1089/dna.2009.0977
52. Kotze AF, Luessen HL, de Leeuw BJ, de Boer BG, Verhoef JC, Junginger HE. N-trimethyl Chitosan Chloride as a Potential Absorption Enhancer Across Mucosal Surfaces: In Vitro Evaluation in Intestinal Epithelial Cells (Caco-2). *Pharm Res*. 1997;14(9):1197–202.
53. Baudner BC, Giuliani MM, Verhoef JC, Rappuoli R, Junginger HE, Giudice GD. The Concomitant Use of the LTK63 Mucosal Adjuvant and of Chitosan-Based Delivery System Enhances the Immunogenicity and Efficacy of Intranasally Administered Vaccines. *Vaccine* 2003;21(25–26):3837–44.
54. Khatri K, Goyal AK, Gupta PN, Mishra N, Vyas SP. Plasmid DNA Loaded Chitosan Nanoparticles for Nasal Mucosal Immunization Against Hepatitis B. *Int J Pharm*. 2008;354(1–2):235–41. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.11.027
55. Gogev S, de Fays K, Versali MF, Gautier S, Thiry E. Glycol Chitosan Improves the Efficacy of Intranasally Administered Replication Defective Human Adenovirus Type 5 Expressing Glycoprotein D of Bovine Herpesvirus 1. *Vaccine* 2004;22(15–16):1946–53. DOI: 10.1016/j.vaccine.2003.11.011
56. Rauw F, Gardin Y, Palya V, Anbari S, Lemaire S, Boschmans M, et al. Improved Vaccination Against Newcastle Disease by an in Ovo Recombinant HVT-ND Com-

- bined with an Adjuvanted Live Vaccine at Day-Old. *Vaccine* 2010;28(3):823–33. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.10.049
57. Wang X, Zhang W, Liu F, Zheng M, Zheng D, Zhang T, et al. Intranasal Immunization with Live Attenuated Influenza Vaccine Plus Chitosan as an Adjuvant Protects Mice against Homologous and Heterologous Virus Challenge. *Arch Virol*. 2012;157(8):1451–61. DOI: 10.1007/s00705-012-1318-7
58. El-Kamary SS, Pasetti MF, Mendelman PM, Frey SE, Bernstein DI, Treanor JJ, et al. Adjuvanted Intranasal Norwalk Virus-Like Particle Vaccine Elicits Antibodies and Antibody-Secreting Cells that Express Homing Receptors for Mucosal and Peripheral Lymphoid Tissues. *J Infect Dis*. 2010;202(11):1649–58. DOI: 10.1086/657087
59. Lemke CD, Graham JB, Geary SM, Zamba G, Lubaroff DM, Salem AK. Chitosan is a Surprising Negative Modulator of Cytotoxic CD8+ T Cell Responses Elicited by Adenovirus Cancer Vaccines. *Mol Pharm*. 2011;8(5):1652–61. DOI: 10.1021/mp100464y
60. Doz E, Rose S, Nigou J, Gilleron M, Puzo G, Erard F, et al. Acylation Determines the Toll-Like Receptor (TLR)-Dependent Positive Versus TLR2-, Mannose Receptor-, and SIGNR1-Independent Negative Regulation of Pro-inflammatory Cytokines by Mycobacterial Lipomannan. *J Biol Chem*. 2007; 282(36):26014–25. DOI: 10.1074/jbc.M702690200
61. Yamamura Y, Azuma I, Sugimura K, Yamawaki M, Uemiyama M. Adjuvant Activity of 6-O-mycoloyl-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine. *Gan* 1976;67(6):867–77.
62. Azuma I, Okumura H, Saiki I, Kiso M, Hasegawa A, Tanio Y, Yamamura Y. Adjuvant Activity of Carbohydrate Analogs of N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine on the Induction of Delayed-Type Hypersensitivity to Azobenzene-sulfonate-N-acetyl-L-tyrosine in Guinea Pigs. *Infect Immun*. 1981;33(3):834–39.
63. Masihi KN, Lange W, Brehmer W, Ribl E. Immunobiological Activities of Nontoxic Lipid A: Enhancement of Nonspecific Resistance in Combination with Trehalose Dimycolate against Viral Infection and Adjuvant Effects. *Int J Immunopharmacol*. 1986;8(3):339–45.
64. Cekic C, Casella CR, Eaves CA, Matsuzawa A, Ichijo H, Mitchell TC. Selective Activation of the p38 MAPK Pathway by Synthetic Monophosphoryl Lipid A. *J Biol Chem*. 2009;284(46):31982–91. DOI: 10.1074/jbc.M109.046383
65. Schiller JT, Castellsague X, Villa LL, Hildesheim A. An Update of Prophylactic Human Papillomavirus L1 Virus-Like Particle Vaccine Clinical Trial Results. *Vaccine* 2008;26(Suppl 10):K53–K61. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.06.002
66. Quan FS, Ko EJ, Kwon YM, Joo KH, Compans RW, Kang SM. Mucosal Adjuvants for Influenza Virus-Like Particle Vaccine. *Viral Immunol*. 2013;26(6):385–95. DOI: 10.1089/vim.2013.0013
67. Lacaille-Dubois M-A. Bioactive Saponins with Cancer Related and Immunomodulatory Activity: Recent Developments. In: Atta-ur-Rahman, ed. *Bioactive Natural Products*. Amsterdam: Elsevier; 2005. Vol. 32, Part L, P. 209–246. DOI: 10.1016/s1572-5995(05)80057-2.
68. Kensil CR, Wu JY, Soltysik S. Structural and Immunological Characterization of the Vaccine Adjuvant QS-21. *Pharm Biotechnol*. 1995;6:525–41.
69. Pham HL, Ross BP, McGeary RP, Shaw PN, Hewavitharana AK, Davies NM. Saponins from *Quillaja Saponaria Molina*: Isolation, Characterization and Ability to Form Immuno Stimulatory Complexes (ISCOMs). *Curr Drug Deliv*. 2006;3(4):389–97.
70. Quenelle DC, Collins DJ, Rice TL, Prichard MN, Marciani DJ, Kern ER. Effect of an Immune Enhancer, GPI-0100, on Vaccination with Live Attenuated Herpes Simplex Virus (HSV) Type 2 or Glycoprotein D on Genital HSV-2 Infections of Guinea Pigs. *Antiviral Res*. 2008;80(2):223–4. DOI: 10.1016/j.antiviral.2008.05.011
71. Ragupathi G, Coltart DM, Williams LJ, Koide F, Kagan E, Allen J, et al. On the Power of Chemical Synthesis: Immunological Evaluation of Models for Multiantigenic Carbohydrate-Based Cancer Vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(21):13699–704. DOI: 10.1073/pnas.202427599
72. Raphael TJ, Kuttan G. Effect of Naturally Occurring Triterpenoids Glycyrrhizic Acid, Ursolic Acid, Oleanolic Acid and Nomilin on the Immune System. *Phytomedicine* 2003;10(6–7):483–9. DOI: 10.1078/094471103322331421
73. Newman MJ, Wu JY, Gardner BH, Anderson CA, Kensil CR, Recchia J, et al. Induction of Cross-Reactive Cytotoxic T-lymphocyte Responses Specific for HIV-1 gp120 Using Saponin Adjuvant (QS-21) Supplemented Subunit Vaccine Formulations. *Vaccine* 1997;15(9):1001–7.
74. Sasaki S, Sumino K, Hamajima K, Fukushima J, Ishii N, Kawamoto S, et al. Induction of Systemic and Mucosal Immune Responses to Human Immunodeficiency Virus Type 1 by a DNA Vaccine Formulated with QS-21 Saponin Adjuvant via Intramuscular and Intranasal Routes. *J Virol*. 1998;72(6):4931–9.
75. Lee JK, Lee MK, Yun YP, Kim Y, Kim JS, Kim YS, et al. Acemannan Purified from *Aloe Vera* Induces Phenotypic and Functional Maturation of Immature Dendritic Cells. *Int Immunopharmacol*. 2001;1(7):1275–84.
76. Bohana-Kashtan O, Ziporen L, Donin N, Kraus S, Fishelson Z. Cell Signals Transduced by Complement. *Mol Immunol*. 2004;41(6–7):583–97. DOI: 10.1016/j.molimm.2004.04.007
77. Rawal N, Rajagopalan R, Salvi VP. Stringent Regulation of Complement Lectin Pathway C3/C5 Convertase by C4b-binding Protein (C4BP). *Mol Immunol*. 2009;46(15):2902–10. DOI: 10.1016/j.molimm.2009.07.006
78. Weston SA, Parish CR. Modification of Lymphocyte Migration by Mannans and Phosphomannans. Different Carbohydrate Structures Control Entry of Lymphocytes into Spleen and Lymph Nodes. *J Immunol*. 1991;146(12):4180–6.
79. Dong SF, Chen JM, Zhang W, Sun SH, Wang J, Gu JX, et al. Specific Immune Response to HBsAg is Enhanced by Beta-glucan Oligosaccharide Containing an alpha-(1→3)linked Bond and Biased towards M2/Th2. *Int Immunopharmacol*. 2007;7(6):725–33. DOI: 10.1016/j.intimp.2007.01.004
80. Petrovsky N, Cooper PD. Advax™, a Novel Microcrystalline Polysaccharide Particle Engineered from Delta Inulin, Provides Robust Adjuvant Potency together with Tolerability and Safety. *Vaccine* 2015;33(44):5920–6. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.09.030

### Об авторах

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», 108819, Москва, поселение Московский, поселок Института полиомиелита, домовладение 8, стр. 1, Российская Федерация

*Курашова Светлана Сергеевна.* Младший научный сотрудник

*Дзагурова Тамара Казбековна.* Руководитель лаборатории геморрагических лихорадок, д-р мед. наук

*Ишмухаметов Айдар Айратович.* Генеральный директор, д-р мед. наук

*Егорова Мария Сергеевна.* Старший научный сотрудник, канд. биол. наук

*Баловнева Мария Владимировна.* Старший научный сотрудник, канд. биол. наук

*Соцкова Светлана Евгеньевна.* Директор по организационно-методической работе

*Ткаченко Евгений Александрович.* Руководитель научного направления, д-р мед. наук, профессор

Поступила 30.03.2018

Принята к публикации 26.04.2018

### Authors

Federal State Budgetary Scientific Institution «Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences», 8/1 housing estate of the Institute of Poliomyelitis, «Moskovsky» Settlement, Moscow 108819, Russian Federation

*Svetlana S. Kurashova.* Junior Researcher

*Tamara K. Dzagurova.* Head of the Laboratory of Hemorrhagic Fevers. Doctor of Medical Sciences

*Aidar A. Ishmukhametov.* General Director. Doctor of Medical Sciences

*Maria S. Egorova.* Senior Researcher. Candidate of Biological Sciences

*Maria V. Balovneva.* Senior Researcher. Candidate of Biological Sciences

*Svetlana E. Sotskova.* Director in Charge of Organisational and Methodical Issues

*Evgeniy A. Tkachenko.* Scientific Supervisor. Doctor of Medical Sciences, Professor

Received 30 March 2018

Accepted 26 April 2018