

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 579.66+577.113.7

Поступила в редакцию 23.06.2017

Received 23.06.2017

А. И. Зинченко, А. С. Щеколова

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

CpG-ОЛИГОДЕЗОКСИНУКЛЕОТИДЫ И ИХ ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Аннотация. Бактериальные ДНК (в том числе плазмиды) и синтетические олиго-2'-дезоксинуклеотиды, содержащие неметилированные CpG-динуклеотиды (CpG-ОДН), при введении в организм человека и животных стимулируют как врожденные, так и адаптивные иммунные ответы. В связи с этим терапевтическое применение CpG-ОДН против инфекционных, онкологических и аллергических заболеваний является весьма перспективным. Однако молекулы CpG-ОДН заряжены отрицательно и поэтому с трудом проникают через клеточные мембраны, имеющие аналогичный поверхностный заряд. Кроме того, природные CpG-ОДН легко расщепляются нуклеазами. Одним из эффективных способов защиты CpG-ОДН от деградации нуклеазами является химическая модификация их сахарофосфатного скелета. В то же время известны случаи, когда введение таких модифицированных молекул приводило к серьезным побочным эффектам. Все эти обстоятельства существенно ограничивают терапевтическое применение CpG-ОДН и подогревают интерес к поиску эффективных систем доставки CpG-ОДН в ткани и клетки-мишени.

Наблюдаемый в последние годы существенный прогресс в области нанобиотехнологий предоставил беспрецедентные возможности для инкапсулирования лекарственных субстанций (в том числе CpG-ОДН) в различные наноразмерные транспортные системы, а также для синтеза из CpG-ОДН разнообразных по форме наноразмерных структур. При использовании таких систем доставки значительно повышается как стабильность CpG-ОДН, так и степень их интернализации в клетки-мишени. Кроме того, применение таких транспортных наносистем, возможно, позволит отказаться от вызывающей побочные эффекты химической модификации CpG-ОДН.

Ключевые слова: CpG-олигодезоксинуклеотиды, иммуностимуляторные эффекты CpG-олигодезоксинуклеотидов, доставка лекарств в клетки-мишени, наночастицы, слоистые двойные гидроксиды

Для цитирования: Зинченко, А. И. CpG-олигодезоксинуклеотиды и их практическое применение / А. И. Зинченко, А. С. Щеколова // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2017. – № 4. – С. 96–109.

A. I. Zinchenko, A. S. Shchokolova

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

CpG OLIGODEOXYNUCLEOTIDES AND THEIR PRACTICAL USAGE

Abstract. Bacterial DNA (including plasmids) and synthetic oligo-2'-deoxynucleotides containing non-methylated CpG-dinucleotides (CpG-ODN) upon introduction into human or animal body stimulate both innate and adaptive immune responses. In this regard bright prospects open up for therapeutic application of CpG-ODN to cope with infectious, allergic diseases and cancer. However, CpG-ODN molecules are negatively charged and hence can hardly penetrate through cell membrane bearing the equipolar surface charge. Moreover, native CpG-ODN are easily cleaved by nucleases. One of the effective methods to counter CpG-ODN nuclease attack is chemical modification of their sugar-phosphate skeleton. Yet some cases have been reported when supply of modified molecules caused grave side-effects. All these circumstances restrain considerably therapeutic prospects of CpG-ODN and spur-up the interest in search of efficient systems for CpG-ODN delivery to target tissues and cells. Lately progress of nanobiotechnologies provided unprecedented opportunities for encapsulation of active drug substances (including CpG-ODN) into various nanosize transport vehicles and synthesis of multiform nanostructures from CpG-ODN. The use of such delivery systems raises significantly both CpG-ODN stability and extent of their internalization into target cells. It is plausible that development of nanotransporters will enable to get rid of chemical CpG-ODN modification provoking adverse effects.

Keywords: CpG oligodeoxynucleotides, immunostimulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides, drug delivery, nanoparticles, layered double hydroxides

For citation: Zinchenko A. I., Shchokolova A. S. CpG oligodeoxynucleotides and their practical usage. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 4, pp. 96–109 (in Russian).

Введение. Человек окружен бесчисленным количеством микроорганизмов, в том числе патогенных, которые непрерывно его атакуют. К счастью, наш организм снабжен мощными защитными механизмами, составляющими систему иммунитета. В составе этой системы различают две линии защиты. На первом оборонительном рубеже вторгшиеся патогены останавливает так называемый врожденный иммунитет. Он защищает организм хозяина неспецифическим способом. Для большинства микроорганизмов непреодолимым физическим препятствием служат наша кожа и слизистые оболочки. При проникновении микробов через этот барьер начинают действовать лейкоциты – клетки белой крови. Лейкоциты, включая фагоциты, макрофаги и клетки НК (от англ. *natural killer*), являются самыми важными компонентами врожденного иммунитета. Эти клетки вызывают воспаление, которое, как правило, быстро устраняет угрозу со стороны патогенов.

Однако врожденный иммунитет не всегда обеспечивает полноценную защиту, и, если микроорганизмы прорываются через барьеры врожденного иммунитета, начинает функционировать адаптивный иммунитет. При участии В- и Т-лимфоцитов продуцируются высокоспецифичные антитела и клетки-киллеры, которые разрушают инфицированные клетки. После победы над инфекцией наша адаптивная иммунная система поддерживает иммунную память, которая позволяет более быстро мобилизовать силы обороны при последующих атаках таких же микроорганизмов.

Первичное обнаружение вторгшихся микроорганизмов выполняют многочисленные белки-рецепторы, которые расположены на клетках врожденного иммунитета и способны распознавать так называемые патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП) [1, 2]. ПАМП представляют собой уникальные, не имеющие аналогов у макроорганизмов, консервативные молекулярные структуры. Наиболее известные ПАМП – липополисахариды внешней мембраны грамотрицательных бактерий; липотейхоевые кислоты, которые входят в состав мембран преимущественно грамположительных бактерий; пептидогликаны грамположительных и грамотрицательных бактерий; липоарабиноманноза микобактерий; зимозан грибов; двуспиральные вирусные РНК; бактериальные ДНК [3–5].

Среди белков, которые распознают широкий спектр ПАМП, первым обнаружен и лучше всех охарактеризован рецептор TLR9 (от англ. *toll-like receptor 9*) [6, 7]. Этот рецептор реагирует на CpG-динуклеотиды, в большом количестве присутствующие в ДНК бактерий и других прокариот. Следует подчеркнуть, что ДНК эукариот иммунологически нейтральна, поскольку большинство динуклеотидов CpG в ее составе метилированы по пятому атому углерода остатка цитозина [8, 9]. Неметилированные CpG-динуклеотиды в составе бактериальной ДНК, высвобождающейся из бактериальной клетки во время инфекции, служат «сигналом опасности» для системы врожденного иммунитета человека и животных, вызывая защитный иммунный ответ [10–12].

Биологические эффекты CpG-ОДН. Короткие синтетические одноцепочечные ОДН, содержащие неметилированные CpG-динуклеотиды, имитируют бактериальную ДНК и проявляют сходные иммуностимулирующие эффекты [13] (рис. 1).

Так, связывание CpG-ОДН с TLR9 инициирует каскад молекулярных событий, которые индуцируют созревание, дифференцировку и пролиферацию многочисленных иммунных клеток, включая В- и Т-лимфоциты, клетки НК и моноциты/макрофаги [14, 15]. Затем включаются клеточные сигнальные пути, которые приводят к индукции синтеза многочисленных провоспалительных цитокинов и хемокинов и модулируют клеточный воспалительный ответ [11, 16]. Эти свойства позволяют CpG-ОДН выступать в качестве многообещающих вакцинных адъювантов, а также иммунотерапевтических средств против инфекций, рака и аллергии [7, 16–18].

Следует отметить, что в то время, как большинство TLR распознают ПАМП на поверхности клеток, рецептор TLR9, распознающий CpG-ОДН, обнаруживается внутри клеток (в частности, в эндосомах [19, 20]). Следовательно, для стимуляции иммунного ответа CpG-ОДН должны проникнуть в клетку и попасть в эндосому. Механизмы такой интернализации еще не до конца поняты. Известно только, что CpG-ОДН захватываются клеткой посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза.

Основными типами клеток человека, которые экспрессируют TLR9 и непосредственно отвечают на стимуляцию CpG-ОДН, являются В-лимфоциты и плазматоцитоподобные дендритные клетки (pDC). CpG-ОДН побуждают В-лимфоциты входить в фазу G1 клеточного цикла и секретировать

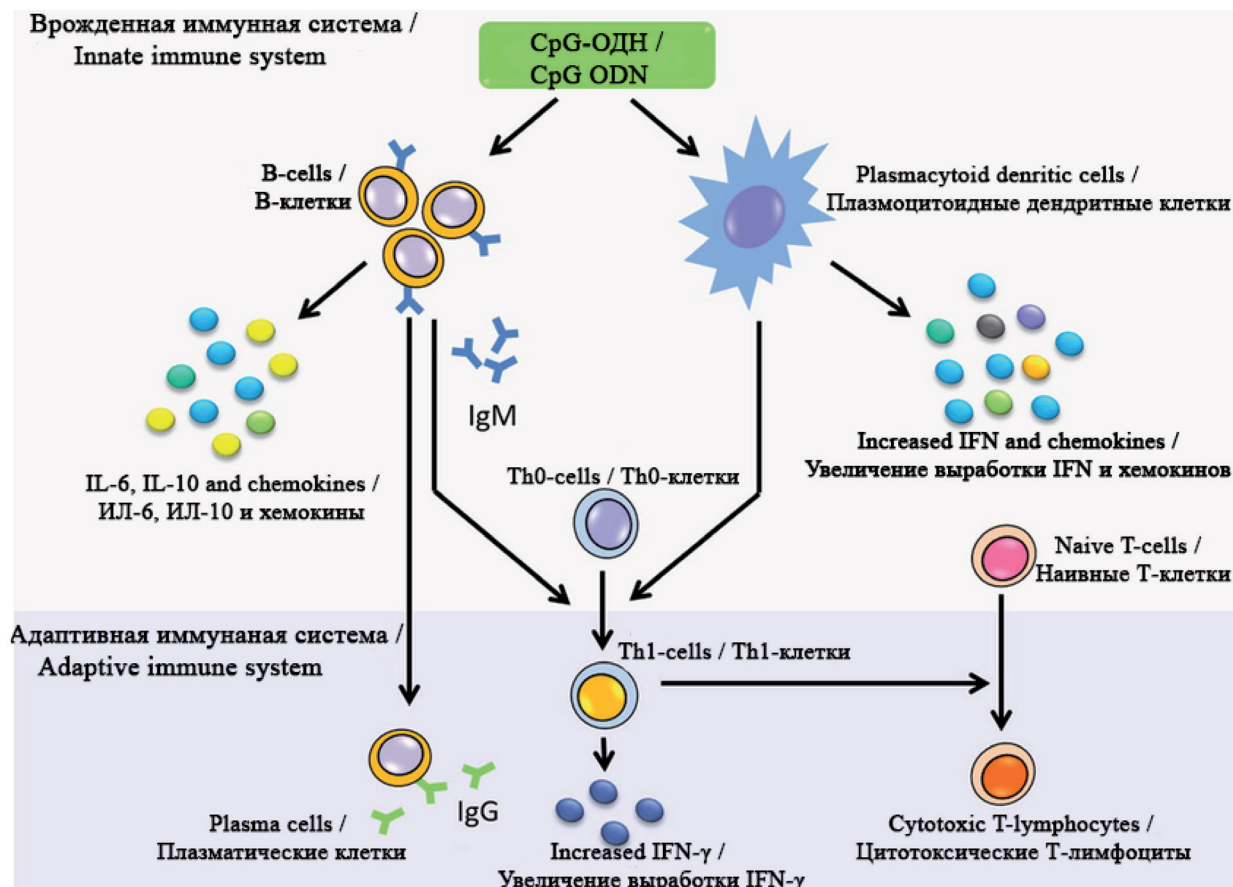


Рис. 1. Иммуностимуляторные эффекты CpG-ОДН

Fig. 1. Immunostimulatory effects of CpG ODNs

интерлейкины IL-6, IL-10 и IL-12 уже спустя считанные часы [6, 21–23]. В результате продуцирование антител значительно увеличивается [24, 25].

Активация pDC повышает секрецию ими цитокинов, вовлеченных во врожденный иммунный ответ, включая интерфероны типа I и TNF-α [26]. Эти pDC также улучшают функцию профессиональных антигенпрезентирующих клеток [12]. Кроме того, pDC, активированные CpG-ОДН, секретируют IL-12 и способствуют дифференцировке клеток-хелперов Th0 в Th1 [27, 28].

Как указывалось выше, CpG-ОДН имитируют бактериальную ДНК и активируют не только врожденную, но и адаптивную иммунную систему. Иммуностимулирующие эффекты CpG-ОДН дают возможность для применения их в качестве разнообразных иммуностимуляторов [12, 29, 30]. Так, при объединении с аллергеном CpG-ОДН селективно стимулируют антиген-специфический невоспалительный Th1-ответ, который ингибирует развитие аллергического Th2-ответа, заметно смягчая симптомы аллергии [12, 13].

CpG-ОДН «заставляет» pDC секретировать интерфероны типа I, которые подавляют размножение широкого спектра вирусов и бактерий. Поэтому CpG-ОДН могут быть использованы в качестве автономных терапевтических средств против инфекционных болезней [5, 12]. Введение в организм CpG-ОДН приводит к активации клеток NK и цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), что помогает (особенно в сочетании с другими терапевтическими методами) лечить рак [11, 12, 31]. В этом случае особое значение имеет способ введения CpG-ОДН в организм. Так, А. F. Carpentier с соавт. [32] показали, что только внутриопухолевая инъекция мышам и крысам CpG-ОДН в качестве монотерапии индуцировала отторжение опухолей и обеспечивала долговременную защиту при последующей пересадке опухоли. Здесь уместно вспомнить, что более 100 лет назад американский врач Уильям Коули весьма успешно излечивал неоперабельные формы рака, используя именно такой способ введения так называемого токсина Коули. Этот препарат представлял собой

смесь двух инактивированных нагреванием бактерий, в которой ключевым активным компонентом выступала бактериальная ДНК [33, 34].

Следует отметить, что выбор и очистка подходящего, специфического для опухоли антигена в большинстве случаев является лимитирующей стадией процесса создания противораковых вакцин. Учитывая это, А. F. Carpentier и соавт. [32] предложили вводить CpG-ОДН непосредственно в опухоль, ожидая, что иммунная система сама произведет отбор наиболее подходящих антигенов. Такая локальная иммуностимуляция с помощью CpG-ОДН эффективно активировала NK-клетки и макрофаги (которые, как известно, способны напрямую уничтожать опухолевые клетки), приводила к отторжению у крыс пересаженной опухоли глиомы и обеспечивала долговременную защиту от последующей инокуляции опухолевых клеток [32].

Проблемы применения CpG-ОДН. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что CpG-ОДН представляют собой мощные активаторы иммунной системы у многочисленных видов животных. Это позволило приступить к серии клинических испытаний, чтобы оценить практическую возможность применения CpG-ОДН в качестве вакцинных адъювантов и средств для лечения рака, аллергии и астмы. Однако исследователи столкнулись с рядом трудностей. Например, CpG-ОДН отрицательно заряжены и не могут легко проникать через клеточную мембрану. Как полагают, электростатическое отталкивание ограничивает эффективность захвата CpG-ОДН иммунными клетками. Кроме того, природные CpG-ОДН нестабильны и быстро расщепляются нуклеазами, о чем свидетельствует короткий период их полуинактивации в русле крови. Все это сильно снижает потенциал клинического применения CpG-ОДН.

Экспериментальные подходы к повышению эффективности CpG-ОДН. В литературе обсуждаются несколько подходов к усилению иммуностимулирующих эффектов CpG-ОДН.

Увеличение периода полуинактивации CpG-ОДН. Фосфодиэфирные CpG-ОДН нестабильны и после введения в русло крови быстро деградируют с периодом полуинактивации порядка 5 мин [35]. Поэтому увеличение стабильности CpG-ОДН является перспективным подходом к повышению их эффективности. Опытным путем установлено, что химическая модификация фосфатной группы посредством замены атома кислорода серой приводит к образованию фосфотиоатной межнуклеотидной связи, что значительно снижает деградацию нуклеазами и повышает время полуинактивации в плазме до 30–60 мин [35, 36]. Более сложные модификации структуры, заключающиеся во введении поперечных сшивок между различными CpG-мотивами, обеспечивают устойчивость от деградации в плазме крови в течение 24 ч [37].

Замена фосфодиэфирных связей на фосфотиоатные приводит к повышению иммуностимулирующих эффектов, индуцируемых CpG-ОДН. Однако было сообщено, что системное введение модифицированных CpG-ОДН вызывает такие серьезные побочные эффекты, как разрушение лимфатических фолликулов и увеличение органов [38]. В связи с этим имеется настоятельная необходимость в разработке новых, более эффективных систем доставки CpG-ОДН в клетки-мишени.

Повышение эффективности проникновения CpG-ОДН в клетку. CpG-ОДН способны активировать рецепторы TLR9 только после эндоцитоза. Поэтому для проявления биологической активности CpG-ОДН очень важна стадия интернализации. Поскольку молекулы CpG-ОДН отрицательно заряжены, это создает определенные трудности для их связывания с отрицательно заряженной поверхностью клетки. Одной из причин, почему CpG-ОДН, адсорбированные на наночастицы или инкапсулированные в них, проявляют активность более высокую, чем свободные CpG-ОДН, является то, что облегчается процесс проникновения этих соединений в клетки [39, 40].

Рекрутирование и активация иммунных клеток. Иммуностимулирующие эффекты CpG-ОДН могут быть повышены также, если их вводить совместно с цитокинами и хемокинами, которые рекрутируют иммунocyты (например, дендритные клетки) к сайтам, где они могут быть активированы под действием CpG-ОДН [41, 42].

Наносистемы для доставки CpG-ОДН в клетки-мишени. Развитие нанобиотехнологий в последнее время привело к созданию эффективных нанотранспортных систем, которые можно использовать для доставки CpG-ОДН в клетки. Для этой цели уже испробованы такие наноматериалы, как желатин [43], липосомы [44, 45], углеродные нанотрубки [46, 47], наночастицы золота [48–50], нитрида бора [40, 51], кварца [39, 52–54], биоразлагаемые полилактиды [55], полисахариды [56, 57].

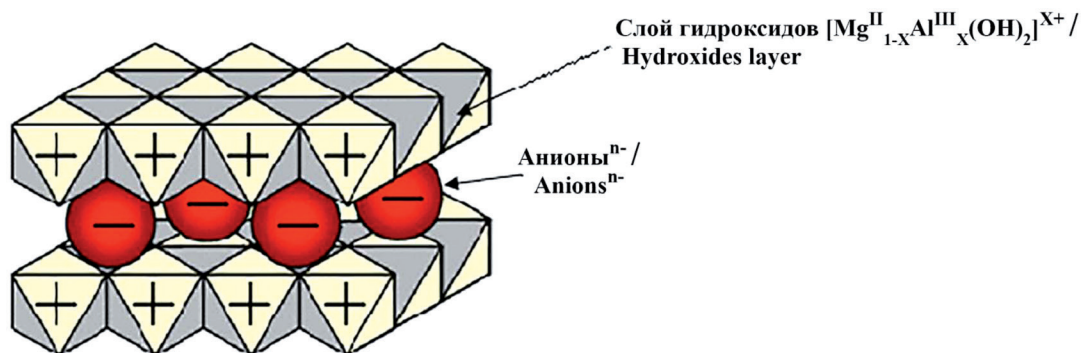


Рис. 2. Схема структуры Mg,Al-СДГ

Fig. 2. Schematic structure of Mg,Al-LDH

С целью повышения иммуностимулирующего эффекта CpG-ОДН на их основе сконструированы самособирающиеся наноразмерные структуры, такие как ДНК-нанотрубки [58], ДНК-дендримеры [59], гидрогели [60] и «наноцветы» [61], а также ДНК-оригами [58]. У этих нанотранспортных систем имеется много преимуществ. В частности, они могут защищать CpG-ОДН от деградации нуклеазами, повышать эффективность проникновения в клетки, изменять характер индукции цитокинов [51, 62–64]. По причине перечисленных уникальных особенностей у этих систем доставки имеется многообещающий иммунотерапевтический потенциал [65, 66].

Транспорт CpG-ОДН с помощью Mg,Al-слоистых двойных гидроксидов (СДГ). По химической природе СДГ представляют собой класс анионных глин. Их структуру описывают в виде металл-гидроксидных слоев, в которых часть двухвалентных катионов изоморфно замещена на трехвалентные, что приводит к возникновению на этих слоях положительных зарядов [67, 68], которые частично компенсируются за счет встраивания в галерейное пространство гидратированных анионов (рис. 2).

Наночастицы на основе СДГ сравнительно легко синтезируются, как правило, одним из двух методов: соосаждением [69, 70] и ионным обменом [71]. Особая «сэндвич-подобная» структура и анионо-обменные свойства СДГ дают возможность их использования для транспортировки анионных биомолекул и лекарств, таких как олигонуклеотиды [72], ДНК [73], противоопухолевые средства (например, метотрексат [74]). Кроме того, положительный заряд наночастиц на основе СДГ облегчает их проникновение в клетки-мишени.

Важно подчеркнуть, что СДГ имеют ряд преимуществ перед другими соединениями, являясь частицами-переносчиками. Они обладают рядом полезных свойств, среди которых особое значение имеет хорошая биодоступность и низкая токсичность. Согласно данным литературы, синтез различных по качественному и количественному составу катионов СДГ при определенных условиях обеспечивает получение частиц, размер которых варьируется в диапазоне от 50 до 500 нм [75]. При этом структура вещества, помещенного в межслоевое (галерейное) пространство, надежно защищена от воздействия разрушающих его агентов [73].

СДГ имеют небольшой положительный заряд, что обеспечивает эффективное включение в их состав отрицательно заряженных соединений, а также необходимое электростатическое притяжение к отрицательно заряженной поверхности клеток [67]. При этом частицы СДГ обладают свойством быстро распадаться в среде с низкими значениями pH на сравнительно безопасные, выводимые почками ионы металлов (например, ионы магния и алюминия). Важно, что при нейтральных значениях pH среды СДГ стабильны.

Способы получения CpG-ДНК. Наиболее распространенным способом получения CpG-ОДН является многостадийный химический синтез. По нашему мнению, более перспективным способом получения CpG-ОДН является метод, предложенный группой канадских и немецких исследователей [76]. Суть этого метода – конструирование рекомбинантных штаммов бактерий, способных к репликации и поддержанию плазмид, обогащенных CpG-ОДН (штаммов-продуцентов CpG-плазмид). Такой способ биотехнологического получения CpG-ДНК имеет ряд преимуществ

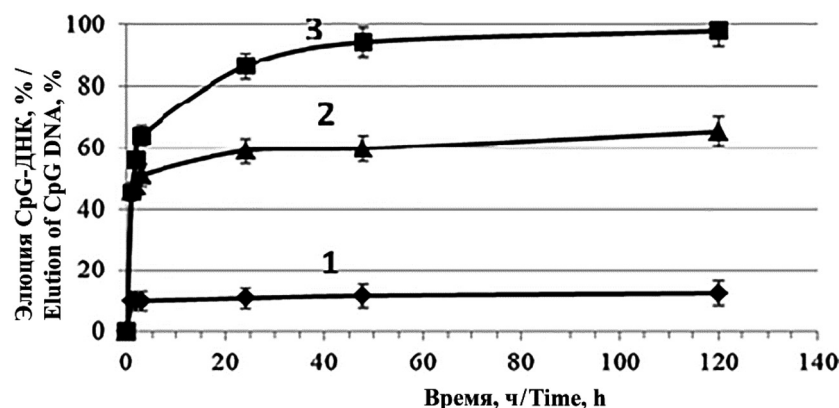


Рис. 3. Динамика элюции CpG-плазмиды из комплекса с Mg,Al-СДГ в воду (1), 0,05 М фосфатно-цитратный буфер с pH 7,5 (2) и буфер с pH 4,5 (3)

Fig. 3. Dynamics of CpG-plasmids releasing from complex with Mg,Al-LDH in H₂O (1), 0.05 M phosphate-citrate buffer at pH 7.5 (2) and pH 4.5 (3)

перед химическим синтезом: процесс получения более прост и не требует использования экологически небезопасных растворителей и реагентов [77].

В настоящее время проходит клинические испытания комплекс CpG-плазмиды с катионными липидами (коммерческое название JVRS-100). Показана высокая эффективность такого комплекса для терапии острого миелобластного лейкоза [78]. Кроме того, в опытах на животных получены положительные результаты применения препарата JVRS-100 в качестве адъюванта для вакцин против вируса простого герпеса [79], гепатита В [80] и вируса гриппа [81, 82].

В развитие этого направления нами сконструирован рекомбинантный штамм *Escherichia coli*, который способен продуцировать плазмиду (CpG-плазмиду) с наибольшим среди известных аналогов числом CpG-ОДН (104 повтора нуклеотидной последовательности GTCGTT) [83].

Нами также впервые синтезированы комплексы CpG-плазмиды с наноразмерными частицами Mg,Al-СДГ. При изучении динамики элюции CpG-плазмиды из комплексов с Mg,Al-СДГ установлено, что скорость высвобождения CpG-плазмиды из СДГ-комплекса варьируется в зависимости от pH среды (при кислых значениях pH более высокая, чем при нейтральных) (рис. 3).

Кроме того, показано, что СДГ не влияет на химическую структуру иммобилизованной плазмидной ДНК и обеспечивает частичную защиту ДНК от действия нуклеаз. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования комплексов Mg,Al-СДГ с CpG-плазмидой в качестве pH-контролируемой пассивной системы доставки данных соединений в клетки-мишени [84].

Заключение. CpG-ОДН распознаются иммунной системой человека и животных как «сигнал опасности» и индуцируют врожденные и адаптивные иммунные ответы. Показано, что применение CpG-ОДН в качестве адъювантов или иммунотерапевтических средств эффективно при лечении инфекционных заболеваний, раковых образований и аллергии. Но из-за таких недостатков, как низкая эффективность проникновения в клетки, слабая устойчивость против деградации нуклеазами и относительно высокая цитотоксичность, возникла серьезная потребность в разработке более совершенных систем доставки, которые могли бы устранить эти проблемы.

С целью обеспечения устойчивости к деградации под действием ДНКаз все CpG-ОДН, клинические испытания которых были проведены или проводятся в настоящее время, содержали фосфотиоатные межнуклеотидные связи [85]. Однако побочные эффекты, выявляющиеся при использовании CpG-ОДН с такими неприродными межнуклеотидными связями, дают повод для беспокойства. Так, недавно сообщено о повреждении печени и селезенки у мышей, которым инъецировали фосфотиоатные CpG-ОДН (ODN1826) [86]. Ранее, в ходе III фазы клинических испытаний, в которых CpG-ОДН (ODN2006) применялись совместно со стандартной химиотерапией, выявилась высокая вероятность развития неблагоприятных эффектов [87, 88]. Результаты этих доклинических и клинических исследований указывают на то, что предпочтение следует отдавать CpG-ОДН с фосфодиэфирным сахарофосфатным скелетом, а не фосфотиоатным аналогам.

Результаты многочисленных доклинических исследований показали, что CpG-ОДН в составе разнообразных наноразмерных препаративных форм (другими словами, в виде «нанолекарств») при онкологических, инфекционных и аллергических заболеваниях проявляют более выраженные профилактические и терапевтические эффекты по сравнению со «свободными» CpG-ОДН.

В данном обзоре нами выборочно рассмотрены текущие достижения по разработке новых нанотранспортных систем для доставки CpG-ОДН в ткани и клетки-мишени. Эти транспортные системы имеют много преимуществ. Они могут предохранять CpG-ОДН от деградации ДНКазами и таким образом увеличивать период их полураспада в организме, повышать эффективность проникновения CpG-ОДН в клетку и изменять их внутриклеточную локализацию, доставлять CpG-ОДН непосредственно в ткани-мишени и изменять виды индукции цитокинов. В целом, эти наносистемы доставки значительно усиливают иммунотерапевтический эффект CpG-ОДН. Однако терапевтический потенциал CpG-ОДН еще далеко не исчерпан.

Одним из многообещающих направлений может служить применение CpG-ОДН совместно с другими химиопрепаратами. Наблюдающийся при этом синергизм дает возможность снижать дозу особо токсичных лекарственных средств и, соответственно, понижать уровень вызываемых ими побочных эффектов [89, 90]. Так, Y. Mizuno с соавт. [91] сообщили, что комплекс плазмидной CpG-ДНК с доксорубицином эффективно доставлялся в опухоль печени мыши и проявлял увеличенный антипролиферативный эффект по сравнению со свободным доксорубицином, плазмидной CpG-ДНК или комплексом доксорубицина с плазмидой без CpG-ОДН.

Еще одной многообещающей терапевтической стратегией в онкологии является так называемая вакцинация *in situ*, которая заключается в комбинации низкодозной радиации (или химиотерапии) с введением CpG-ОДН непосредственно внутрь опухоли [92, 93]. При этом CpG-ОДН, выступая в роли ПАМП, обеспечивает подачу «сигнала опасности», что приводит к активации антигенпрезентирующих клеток и высвобождению (в результате гибели раковых клеток) всего спектра опухоль-ассоциированных антигенов. Таким образом, при вакцинации *in situ* отпадает необходимость подбирать потенциальный терапевтический антиген или набор антигенов для конкретного пациента.

Вакцинация *in situ* вызывает мощный Т-клеточный ответ, который необходим для эффективного антиопухолевого иммунитета. Дополнительной важной особенностью вакцинации *in situ* является присущая ей безопасность из-за пониженных доз системных воздействий (химиотерапевтических или радиационных) на пациентов.

Имеются веские основания предполагать, что в скором времени вакцинация *in situ* пополнит арсенал терапевтического инструментария клиницистов в борьбе с раком [94, 95].

Список использованных источников

1. Medzhitov, R. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition / R. Medzhitov, C. A. Janeway // Cell. – 1997. – Vol. 91. – P. 295–298.
2. Janeway, C. A. Innate immune recognition / C. A. Janeway, R. Medzhitov // Annu. Rev. Immunol. – 2002. – Vol. 20. – P. 197–216.
3. Aderem, A. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response / A. Aderem, R. J. Ulevitch // Nature. – 2000. – Vol. 406. – P. 782–787.
4. Hobohm, U. Pathogen-associated molecular pattern in cancer immunotherapy / U. Hobohm, J. L. Stanford, J. M. Grange // Crit. Rev. Immunol. – 2008. – Vol. 28, N 2. – P. 95–107.
5. Pathogen-associated molecular patterns induced crosstalk between dendritic cells, T helper cells, and natural killer helper cells can improve dendritic cell vaccination / T. Oth [et al.] // Mediat. Inflamm. – 2016. – Vol. 2016:5740373.
6. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation / A. M. Krieg [et al.] // Nature. – 1995. – Vol. 374. – P. 546–549.
7. Krieg, A. M. Therapeutic potential of toll-like receptor 9 activation / A. M. Krieg // Nat. Rev. Drug Discov. – 2006. – Vol. 5. – P. 471–484.
8. Krieg, A. M. Mechanisms and applications of immune stimulatory CpG oligodeoxynucleotides / A. M. Krieg // BBA- Gene Struct. Expr. – 1999. – Vol. 1489. – P. 107–116.
9. Jain, V. V. CpG DNA and immunotherapy of allergic airway diseases / V. V. Jain, K. Kitagaki, J. N. Kline // Clin. Exp. Allergy. – 2003. – Vol. 33, N 10. – P. 1330–1335.
10. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition / S. Bauer [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98, N 16. – P. 9237–9242.

11. Krieg, A. M. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects / A. M. Krieg // *Annu. Rev. Immunol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 709–760.
12. Klinman, D. M. Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides / D. M. Klinman // *Nat. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 4, N 4. – P. 249–258.
13. Immune mechanisms and therapeutic potential of CpG oligodeoxynucleotides / H. L. Wilson [et al.] // *Int. Rev. Immunol.* – 2006. – Vol. 25, N 3/4. – P. 183–213.
14. Stacey, K. J. Macrophages ingest and are activated by bacterial DNA / K. J. Stacey, M. J. Sweet, D. A. Hume // *J. Immunol.* – 1996. – Vol. 157, N 5. – P. 2116–2122.
15. Type I interferon-mediated stimulation of T cells by CpG DNA / S. Q. Sun [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1998. – Vol. 188. – P. 2335–2342.
16. Fonseca, D. E. Use of CpG oligodeoxynucleotides in treatment of asthma and allergic disease / D. E. Fonseca, J. N. Kline // *Adv. Drug Delivery. Rev.* – 2009. – Vol. 61. – P. 256–262.
17. CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases / D. M. Klinman [et al.] // *Adv. Drug Delivery. Rev.* – 2009. – Vol. 61, N 3. – P. 248–255.
18. Murad, Y. M. CpG oligodeoxynucleotides as TLR9 agonists: therapeutic applications in cancer / Y. M. Murad, T. M. Clay // *BioDrugs.* – 2009. – Vol. 23, N 6. – P. 361–375.
19. CpG-DNA-specific activation of antigen-presenting cells requires stress kinase activity and is preceded by non-specific endocytosis and endosomal maturation / H. Hacker [et al.] // *EMBO J.* – 1998. – Vol. 17, N 21. – P. 6230–6240.
20. Toll-like receptor 9 binds single-stranded CpG-DNA in a sequence- and pH-dependent manner / M. Rutz [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2004. – Vol. 34, N 9. – P. 2541–2550.
21. Rapid immune activation by CpG motifs in bacterial DNA: systemic induction of IL-6 transcription through an antioxidant-sensitive pathway / A. K. Yi [et al.] // *J. Immunol.* – 1996. – Vol. 157, N 12. – P. 5394–5402.
22. Cyclosporin A enhances IL-12 production by CpG motifs in bacterial DNA and synthetic oligodeoxynucleotides / T. W. Redford [et al.] // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 161, N 8. – P. 3930–3935.
23. Akira, S. Pathogen recognition and innate immunity / S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi // *Cell.* – 2006. – Vol. 124, N 4. – P. 783–801.
24. Distinct response of human B cell subpopulations in recognition of an innate immune signal, CpG DNA / J. Jung [et al.] // *J. Immunol.* – 2002. – Vol. 169, N 5. – P. 2368–2373.
25. Bernasconi, N. L. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells / N. L. Bernasconi, E. Traggiai, A. Lanzavecchia // *Science.* – 2002. – Vol. 298. – P. 2199–2202.
26. Type I interferon dependence of plasmacytoid dendritic cell activation and migration / C. Asselin-Paturel [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2005. – Vol. 201, N 7. – P. 1157–1167.
27. CpG oligodeoxynucleotides stimulate IFN- γ -inducible protein-10 production in human B cells / J. Vollmer [et al.] // *J. Endotoxin Res.* – 2004. – Vol. 10, N 6. – P. 431–438.
28. Selected TLR agonist combinations synergistically trigger a TH1 polarizing program in dendritic cells / G. Napolitani [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2005. – Vol. 6. – P. 769–776.
29. Klinman, D. M. Use of CpG oligodeoxynucleotides as immunoprotective agents / D. M. Klinman // *Expert Opin. Biol. Ther.* – 2004. – Vol. 4, N 6. – P. 937–946.
30. Use of CpG oligodeoxynucleotides as immune adjuvants / D. M. Klinman [et al.] // *Immunol. Rev.* – 2004. – Vol. 199. – P. 201–216.
31. Combination therapy targeting toll like receptors 7, 8 and 9 eliminates large established tumors / B. G. Zhao [et al.] // *J. Immunother. Cancer.* – 2014. – Vol. 2. – Mode of access: <http://www.immunotherapyofcancer.org/content/2/1/12>. – Date of access: 15.06.2017.
32. Carpentier, A. F. CpG-oligonucleotides for cancer immunotherapy: review of the literature and potential applications in malignant glioma / A. F. Carpentier, G. Auf, J. Y. Delattre // *Front. Biosci.* – 2003. – Vol. 8. – P. 115–127.
33. Tokunaga, T. How BCG led to the discovery of immunostimulatory DNA / T. Tokunaga, T. Yamamoto, S. Yamamoto // *Jpn J. Infect. Dis.* – 1999. – Vol. 52, N 1. – P. 1–11.
34. Krieg, A. M. CpG motifs: the active ingredient in bacterial extracts? / A. M. Krieg // *Nat. Med.* – 2003. – Vol. 9, N 7. – P. 831–835.
35. Biodistribution and metabolism of internally H-3 labeled oligonucleotides. 2. 3',5'-blocked oligonucleotides / H. Sands [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 1995. – Vol. 47. – P. 636–646.
36. Agrawal, S. Antisense therapeutics / S. Agrawal, Q. Y. Zhao // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 1998. – Vol. 2, N 4. – P. 519–528.
37. Nuclease-resistant immunostimulatory phosphodiester CpG oligodeoxynucleotides as human toll-like receptor 9 agonists / W. J. Meng [et al.] // *BMC Biotechnol.* – 2011. – Vol. 11. – P. 88.
38. Zhang, H. Nanodelivery systems for enhancing the immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides / H. Zhang, X. D. Gao // *Mat. Sci. Eng.: C.* – 2017. – Vol. 70, pt. 2. – P. 935–946.
39. Design of mesoporous silica/cytosine—phosphodiester—guanine oligodeoxynucleotide complexes to enhance delivery efficiency / Y. Zhu [et al.] // *J. Phys. Chem. C.* – 2011. – Vol. 115, N 2. – P. 447–452.
40. BN nanospheres as CpG ODN carriers for activation of toll-like receptor 9 / C. Y. Zhi [et al.] // *J. Materials Chem.* – 2011. – Vol. 21, N 14. – P. 5219–5222.
41. Ahlers, J. D. Cytokine, chemokine, and costimulatory molecule modulation to enhance efficacy of HIV vaccines / J. D. Ahlers, I. M. Belyakov, J. A. Berzofsky // *Curr. Mol. Med.* – 2003. – Vol. 3, N 3. – P. 285–301.

42. CpG oligodeoxynucleotide induction of antiviral effector molecules in sheep / A. K. Nichani [et al.] // Cell. Immunol. – 2004. – Vol. 227, N 1. – P. 24–37.
43. Towards an inhalative *in vivo* application of immunomodulating gelatin nanoparticles in horse-related preformulation studies / S. Fuchs [et al.] // J. Microencapsul. – 2012. – Vol. 29, N 7. – P. 615–625.
44. Kwong, B. Induction of potent anti-tumor responses while eliminating systemic side effects via liposome-anchored combinatorial immunotherapy / B. Kwong, H. Liu, D. J. Irvine // Biomaterials. – 2011. – Vol. 32. – P. 5134–5147.
45. Encapsulating immunostimulatory CpG oligonucleotides in Listeriolysin O-liposomes promotes a Th1-type response and CTL activity / C. D. Andrews [et al.] // Mol. Pharm. – 2012. – Vol. 9, N 5. – P. 1118–1125.
46. Preparation of immunostimulatory single-walled carbon nanotube/CpG DNA complexes and evaluation of their potential in cancer immunotherapy / S. Zhou [et al.] // Int. J. Pharm. – 2014. – Vol. 471, N 1/2. – P. 214–223.
47. Uniform small graphene oxide as an efficient cellular nanocarrier for immunostimulatory CpG oligonucleotides / J. Sun [et al.] // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2014. – Vol. 6, N 10. – P. 7926–7932.
48. Gold nanoparticle delivery of modified cpg stimulates macrophages and inhibits tumor growth for enhanced immunotherapy / A.Y. Lin [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 5. – e63550.
49. Tao, W. Gold nanoparticle-M2e conjugate coformulated with CpG induces protective immunity against influenza A virus / W. Tao, K. S. Ziemer, H. S. Gill // Nanomedicine. – 2014. – Vol. 9, N 2. – P. 237–252.
50. Self-assembly of poly-adenine-tailed CpG oligonucleotide-gold nanoparticle nanoconjugates with immunostimulatory activity / N. Chen [et al.] // Small. – 2014. – Vol. 10, N 2. – P. 368–375.
51. Polyethyleneimine-functionalized boron nitride nanospheres as efficient carriers for enhancing the immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides / H. Zhang [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2015. – Vol. 10. – P. 5343–5353.
52. Organosilane and polyethylene glycol functionalized magnetic mesoporous silica nanoparticles as carriers for CpG immunotherapy *in vitro* and *in vivo* / H. Zheng [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 10. – e0140265.
53. Effect of amino groups of mesoporous silica nanoparticles on CpG oligodeoxynucleotide delivery / Y. Xu [et al.] // Sci. Technol. Adv. Mater. – 2015. – Vol. 16, N 4. – 045006.
54. Binding of CpG oligodeoxynucleotides to mesoporous silica nanoparticles for enhancing delivery efficiency / C. Tao [et al.] // Micropor. Mesopor. Mater. – 2015. – Vol. 204. – P. 91–98.
55. Coencapsulation of tumor lysate and CpG-ODN in PLGA-microspheres enables successful immunotherapy of prostate carcinoma in TRAMP mice / M. Mueller [et al.] // J. Control. Rel. – 2012. – Vol. 162. – P. 159–166.
56. Immunization with antigenic peptides complexed with β -glucan induces potent cytotoxic T-lymphocyte activity in combination with CpG-ODNs / S. Mochizuki [et al.] // J. Control. Rel. – 2015. – Vol. 220, N 1. – P. 495–502.
57. Adjuvant activity enhanced by cross-linked CpG-oligonucleotides in β -glucan nanogel and its antitumor effect / N. Miyamoto [et al.] // Bioconjug. Chem. – 2017. – Vol. 28, N 2. – P. 565–573.
58. Cellular immunostimulation by CpG-sequence-coated DNA origami structures / V. J. Schuller [et al.] // ACS Nano. – 2011. – Vol. 5. – P. 9696–9702.
59. Self-assembling DNA dendrimer for effective delivery of immunostimulatory CpG DNA to immune cells / K. Mohri [et al.] // Biomacromolecules. – 2015. – Vol. 16, N 4. – P. 1095–1101.
60. Biodegradable CpG DNA hydrogels for sustained delivery of doxorubicin and immunostimulatory signals in tumor-bearing mice / M. Nishikawa [et al.] // Biomaterials. – 2011. – Vol. 32, N 2. – P. 488–494.
61. Self-assembled multifunctional DNA nanoflowers for the circumvention of multidrug resistance in targeted anticancer drug delivery / L. Mei [et al.] // Nano. Res. – 2015. – Vol. 8, N 11. – P. 3447–3460.
62. Strategies for enhancing the immunostimulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides / G. K. Mutwiri [et al.] // J. Control. Rel. – 2004. – Vol. 97, N 1. – P. 1–17.
63. Mutwiri, G. S. Approaches to enhancing immune responses stimulated by CpG oligodeoxynucleotides / G. S. Mutwiri, S. van Drunen Littel-van den Hurk, L. A. Babiuk // Adv. Drug Delivery. Rev. – 2009. – Vol. 61, N 3. – P. 226–232.
64. Demoullins, P. Alginate-coated chitosan nanogels differentially modulate class-A and class-B CpG-ODN targeting of dendritic cells and intracellular delivery / T. Demoullins, P. Milona, K. C. McCullough // Nanomedicine. – 2014. – Vol. 10, N 8. – P. 1739–1749.
65. Hanagata, N. Structure-dependent immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides and their delivery system / N. Hanagata // Int. J. Nanomed. – 2012. – Vol. 7. – P. 2181–2195.
66. DNA-inorganic hybrid nanovaccine for cancer immunotherapy / G. Zhu [et al.] // Nanoscale. – 2016. – Vol. 8, N 12. – P. 6684–6692.
67. Xu, Z. P. Layered double hydroxide nanomaterials as potential cellular drug delivery agents / Z. P. Xu, G. Q. Lu // Pure Appl. Chem. – 2006. – Vol. 78, N 9. – P. 1771–1779.
68. Rives, V. Layered double hydroxides as drug carriers and for controlled release of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs): a review / V. Rives, M. del Arco, C. Martin // J. Control. Rel. – 2013. – Vol. 169. – P. 28–39.
69. Comparison of different synthesis routes for Mg–Al layered double hydroxides (LDH): Characterization of the structural phases and anion exchange properties / H. W. Olf [et al.] // Appl. Clay Sci. – 2009. – Vol. 43, N 3/4. – P. 459–464.
70. Theiss, F. L. Synthesis of layered double hydroxides containing Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} and Al^{3+} layer cations by co-precipitation methods / F. L. Theiss, G. A. Ayoko, R. L. Frost // Appl. Surf. Sci. – 2016. – Vol. 383. – P. 200–213.
71. Intercalation of nucleotides into layered double hydroxides by ion-exchange reaction / S. Aisawa [et al.] // Appl. Clay Sci. – 2005. – Vol. 28, N 1/4. – P. 137–145.
72. Bio-LDH nanohybrid for gene therapy / S. Y. Kwak [et al.] // Solid State Ionics. – 2002. – Vol. 151. – P. 229–234.
73. Layered double hydroxide nanoparticles as cellular delivery vectors of supercoiled plasmid DNA / Z. P. Xu [et al.] // Int. J. Nanomed. – 2007. – Vol. 2, N 2. – P. 163–174.

74. Anticancer drug-inorganic nanohybrid and its cellular interaction / J. Y. Kim [et al.] // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2007. – Vol. 7, N 11. – P. 3700–3705.
75. The effects of intralayer metal composition of layered double hydroxides on glass transition, dispersion, thermal and fire properties of their PMMA nanocomposites / C. Manzi-Nshuti [et al.] // *Thermochim. Acta.* – 2009. – Vol. 495, N 1/2. – P. 63–71.
76. Augmentation of cellular immune responses to bovine herpesvirus-1 glycoprotein D by vaccination with CpG-enhanced plasmid vectors / R. A. Pontarollo [et al.] // *J. Gen. Virol.* – 2002. – Vol. 83. – P. 2973–2981.
77. Adjuvant effect of multi-CpG motifs on an HIV-1 DNA vaccine / Y. Kojima [et al.] // *Vaccine.* – 2002. – Vol. 20, N 23/24. – P. 2857–2865.
78. Juvaris BioTherapeutics announces positive data from clinical trial of JVRS-100 adjuvanted flu vaccine [Electronic resource] // Juvaris BioTherapeutics, Inc. – Mode of access: http://www.juvaris.com/news/press/09_01_08.html. – Date of access: 18.05.2017.
79. Effects of herpes simplex virus type 2 glycoprotein vaccines and CLDC adjuvant on genital herpes infection in the guinea pig / D. I. Bernstein [et al.] // *Vaccine.* – 2011. – Vol. 29, N 11. – P. 2071–2078.
80. Breaking B and T cell tolerance using cationic lipid-DNA complexes (CLDC) as a vaccine adjuvant with hepatitis B virus (HBV) surface antigen in transgenic mice expressing HBV / J. D. Morreya [et al.] // *Antiviral Res.* – 2011. – Vol. 90, N 3. – P. 227–230.
81. Cationic liposome–DNA complexes (CLDC) adjuvant enhances the immunogenicity and cross-protective efficacy of a pre-pandemic influenza A H5N1 vaccine in mice / L. Dong [et al.] // *Vaccine.* – 2012. – Vol. 30. – P. 254–264.
82. Efficacy of influenza vaccination of elderly Rhesus Macaques is dramatically improved by addition of a cationic lipid/DNA adjuvant / T. D. Carroll [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 209, N 1. – P. 24–33.
83. Zinchenko, A. I. Construction of plasmid enriched with immunostimulatory CpG motifs / A. I. Zinchenko, S. V. Kvach, A. S. Shchokolova // *East. Eur. Sci. J.* – 2014. – N 3. – P. 10–13.
84. Цеколова, А. С. Разработка биотехнологических способов получения иммуностимуляторов нуклеиновой природы – CpG-ДНК и цикло-дигМФ : автореф. ... дис. канд. биол. наук : 03.01.06 / А. С. Цеколова ; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т микробиологии. – Минск, 2014. – 24 с.
85. Hanagata, N. CpG oligodeoxynucleotide nanomedicines for the prophylaxis or treatment of cancers, infectious diseases, and allergies / N. Hanagata // *Int. J. Nanomed.* – 2017. – Vol. 12. – P. 515–531.
86. Design and structural requirements of the potent and safe TLR-9 agonistic immunomodulator MGN1703 / M. Schmidt [et al.] // *Nucleic Acid Ther.* – 2015. – Vol. 25, N 3. – P. 130–140.
87. Randomized phase III trial of paclitaxel/carboplatin with or without PF-3512676 (Toll-like receptor 9 agonist) as first-line treatment for advanced non-small-cell lung cancer / V. Hirsh [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29, N 19. – P. 2667–2674.
88. A phase III randomized study of gemcitabine and cisplatin with or without PF-3512676 (TLR9 agonist) as first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer / C. Manegold [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2012. – Vol. 23, N 1. – P. 72–77.
89. Co-delivery of drug and DNA from cationic dual-responsive micelles derived from poly(DMAEMA-co-PPGMA) / X. J. Loh [et al.] // *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* – 2013. – Vol. 33, N 8. – P. 4545–4550.
90. Biodegradable microparticles loaded with doxorubicin and CpG ODN for *in situ* immunization against cancer / A. Makkouk [et al.] // *AAPS J.* – 2015. – Vol. 17, N 1. – P. 184–193.
91. Simultaneous delivery of doxorubicin and immunostimulatory CpG motif to tumors using a plasmid DNA/doxorubicin complex in mice / Y. Mizuno [et al.] // *J. Control. Rel.* – 2010. – Vol. 141, N 2. – P. 252–259.
92. *In situ* vaccination with a TLR9 agonist induces systemic lymphoma regression: a phase I/II study / J. D. Brody [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, N 28. – P. 4324–4332.
93. Intratumoral immunization: a new paradigm for cancer therapy / A. Marabelle [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2014. – Vol. 20, N 7. – P. 1747–1756.
94. *In-situ* tumor vaccination: bringing the fight to the tumor / R. H. Pierce [et al.] // *Hum. Vaccines Immunother.* – 2015. – Vol. 11, N 8. – P. 1901–1909.
95. Nanotechnology based therapeutic modality to boost anti-tumor immunity and collapse tumor defense / X. Hu [et al.] // *J. Control. Rel.* – 2017. – Vol. 256. – P. 26–45.

References

1. Medzhitov R., Janeway C. A. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*, 1997, vol. 91, pp. 295–298.
2. Janeway C. A., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology*, 2002, vol. 20, pp. 197–216. DOI: 10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359
3. Aderem A., Ulevitch R. J. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, 2000, vol. 406, pp. 782–787.
4. Hobohm U., Stanford J. L., Grange J. M. Pathogen-associated molecular pattern in cancer immunotherapy. *Critical Review of Immunology*, 2008, vol. 28, no. 2, pp. 95–107.
5. Oth T., Vanderlocht J., Van Elssen C. H., Bos G. M., Germeraad W. T. Pathogen-associated molecular patterns induced crosstalk between dendritic cells, T helper cells, and natural killer helper cells can improve dendritic cell vaccination. *Mediators of Inflammation*, 2016, vol. 2016: 5740373. DOI: 10.1155/2016/5740373
6. Krieg A. M., Yi A. K., Matson S., Waldschmidt T. J., Bishop G. A., Teasdale R., Koretzky G. A., Klinman D. M. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature*, 1995, vol. 374, pp. 546–549. DOI: 10.1038/374546a0
7. Krieg A. M. Therapeutic potential of toll-like receptor 9 activation. *Nature Review Drug Discovery*, 2006, vol. 5, pp. 471–484. DOI: 10.1038/nrd2059

8. Krieg A. M. Mechanisms and applications of immune stimulatory CpG oligodeoxynucleotides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Structure and Expression*, 1999, vol. 1489, pp. 107–116.
9. Jain V. V., Kitagaki K., Kline J. N. CpG DNA and immunotherapy of allergic airway diseases. *Clinical and Experimental Allergy*, 2003, vol. 33, no. 10, pp. 1330–1335. DOI: 10.1046/j.1365-2222.2003.01763.x
10. Bauer S., Kirschning C. J., Hacker H., Redecke V., Hausmann S., Akira S., Wagner H., Lipford G. B. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, vol. 98, no. 16, pp. 9237–9242. DOI: 10.1073/pnas.161293498
11. Krieg A. M. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annual Review of Immunology*, 2002, vol. 20, pp. 709–760. DOI: 10.1146/annurev.immunol.20.100301.064842
12. Klinman D. M. Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. *Nature Reviews. Immunology*, 2004, vol. 4, no. 4, pp. 249–258. DOI: 10.1038/nri1329
13. Wilson H. L., Dar A., Napper S. K., Marianela Lopez A., Babiuk L. A., Mutwiri G. K. Immune mechanisms and therapeutic potential of CpG oligodeoxynucleotides. *International Review of Immunology*, 2006, vol. 25, no. 3/4, pp. 183–213. DOI: 10.1080/08830180600785868
14. Stacey K. J., Sweet M. J., Hume D. A. Macrophages ingest and are activated by bacterial DNA. *Journal of Immunology*, 1996, vol. 157, no. 5, pp. 2116–2122.
15. Sun S. Q., Zhang X., Tough D., Sprent J. Type I interferon-mediated stimulation of T cells by CpG DNA. *Journal of Experimental Medicine*, 1998, vol. 188, pp. 2335–2342.
16. Fonseca D. E., Kline J. N. Use of CpG oligodeoxynucleotides in treatment of asthma and allergic disease. *Advances of Drug Delivery. Reviews*, 2009, vol. 61, pp. 256–262.
17. Klinman D. M., Klaschik S., Sato T., Tross D. CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2009, vol. 61, no. 3, pp. 248–255. DOI: 10.1016/j.addr.2008.12.012
18. Murad Y. M., Clay T. M. CpG oligodeoxynucleotides as TLR9 agonists: therapeutic applications in cancer. *BioDrugs*, 2009, vol. 23, no. 6, pp. 361–375. DOI: 10.2165/11316930-000000000-00000
19. Hacker H., Mischak H., Miethke T., Liptay S., Schmid R., Sparwasser T., Heeg K., Lipford G. B., Wagner H. CpG-DNA-specific activation of antigen-presenting cells requires stress kinase activity and is preceded by non-specific endocytosis and endosomal maturation. *The EMBO Journal*, 1998, vol. 17, no. 21, pp. 6230–6240. DOI: 10.1093/emboj/17.21.6230
20. Rutz M., Metzger J., Gellert T., Lippa P., Lipford G. B., Wagner H., Bauer S. Toll-like receptor 9 binds single-stranded CpG-DNA in a sequence- and pH-dependent manner. *European Journal of Immunology*, 2004, vol. 34, no. 9, pp. 2541–2550. DOI: 10.1002/eji.200425218
21. Yi A. K., Klinman D. M., Martin T. L., Matson S., Krieg A. M. Rapid immune activation by CpG motifs in bacterial DNA: systemic induction of IL-6 transcription through an antioxidant-sensitive pathway. *Journal of Immunology*, 1996, vol. 157, no. 12, pp. 5394–5402.
22. Redford T. W., Yi A. K., Ward C. T., Krieg A. M. Cyclosporin A enhances IL-12 production by CpG motifs in bacterial DNA and synthetic oligodeoxynucleotides. *Journal of Immunology*, 1998, vol. 161, no. 8, pp. 3930–3935.
23. Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, vol. 124, no. 4, pp. 783–801. DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.015
24. Jung J., Yi A. K., Zhang X., Choe J., Li L., Choi Y. S. Distinct response of human B cell subpopulations in recognition of an innate immune signal, CpG DNA. *Journal of Immunology*, 2002, vol. 169, no. 5, pp. 2368–2373.
25. Bernasconi N. L., Traggiai E., Lanzavecchia A. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. *Science*, 2002, vol. 298, pp. 2199–2202. DOI: 10.1126/science.1076071
26. Asselin-Paturel C., Brizard G., Chemin K., Boonstra A., O'Garra, A., Vicari A., Trinchieri G. Type I interferon dependence of plasmacytoid dendritic cell activation and migration. *Journal of Experimental Medicine*, 2005, vol. 201, no. 7, pp. 1157–1167. DOI: 10.1084/jem.20041930
27. Vollmer J., Jurk M., Samulowitz U., Lipford G., Forsbach A., Wüllner M., Tluk S., Hartmann H., Kritzler A., Müller C., Schetter C., Krieg A. M. CpG oligodeoxynucleotides stimulate IFN-gamma-inducible protein-10 production in human B cells. *Journal of Endotoxin Research*, 2004, vol. 10, no. 6, pp. 431–438. DOI: 10.1179/096805104225006534
28. Napolitani G., Rinaldi A., Berton F., Sallusto F., Lanzavecchia A. Selected TLR agonist combinations synergistically trigger a TH1 polarizing program in dendritic cells. *Nature. Immunology*, 2005, vol. 6, no. 8, pp. 769–776.
29. Klinman D. M. Use of CpG oligodeoxynucleotides as immunoprotective agents. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2004, vol. 4, no. 6, pp. 937–946. DOI: 10.1517/14712598.4.6.937
30. Klinman D. M., Currie D., Gursel I., Verthelyi D. Use of CpG oligodeoxynucleotides as immune adjuvants. *Immunological Reviews*, 2004, vol. 199, pp. 201–216. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2004.00148.x
31. Zhao B. G., Vasilakos J. P., Tross D., Smirnov D., Klinman D. M. Combination therapy targeting toll like receptors 7, 8 and 9 eliminates large established tumors. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2014, vol. 2. Available at: <http://www.immunotherapyofcancer.org/content/2/1/12> (accessed 15.06.2017).
32. Carpentier A. F., Auf G., Delattre J. Y. CpG-oligonucleotides for cancer immunotherapy: review of the literature and potential applications in malignant glioma. *Frontiers in Bioscience*, 2003, vol. 8, pp. 115–127.
33. Tokunaga T., Yamamoto T., Yamamoto S. How BCG led to the discovery of immunostimulatory DNA. *Japan Journal of Infection Diseases*, 1999, vol. 52, no. 1, pp. 1–11.
34. Krieg A. M. CpG motifs: the active ingredient in bacterial extracts? *Nature Medicine*, 2003, vol. 9, no. 7, pp. 831–835. DOI: 10.1038/nm0703-831
35. Sands H., Gorey-Feret L. J., Ho S. P., Bao Y., Cocuzza A. J., Chidester D., Hobbs F.W. Biodistribution and metabolism of internally H-3 labeled oligonucleotides. II. 3',5'-blocked oligonucleotides. *Molecular Pharmacology*, 1995, vol. 47, pp. 636–646.

36. Agrawal S., Zhao Q. Y. Antisense therapeutics. *Current Opinion in Chemical Biology*, 1998, vol. 2, no. 4, pp. 519–528.
37. Meng W., Yamazaki T., Nishida Y., Hanagata N. Nuclease-resistant immunostimulatory phosphodiester CpG oligodeoxynucleotides as human toll-like receptor 9 agonists. *BMC Biotechnology*, 2011, vol. 11. DOI: 10.1186/1472-6750-11-88
38. Zhang H., Gao X. D. Nanodelivery systems for enhancing the immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides. *Materials Science and Engineering: C*, 2017, vol. 70, pt. 2, pp. 935–946.
39. Zhu Y., Meng W., Li X., Gao H., Hanagata N. Design of mesoporous silica/cytosine–phosphodiester–guanine oligodeoxynucleotide complexes to enhance delivery efficiency. *Journal of Physical Chemistry*, 2011, vol. 115, no. 2, pp. 447–452. DOI: 10.1021/jp109535d
40. Zhi C., Meng W., Yamazaki T., Bando Y., Golberg D., Tang C., Hanagata N. BN nanospheres as CpG ODN carriers for activation of toll-like receptor 9. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, vol. 21, no. 14, pp. 5219–5222.
41. Ahlers J. D., Belyakov I. M., Berzofsky J. A. Cytokine, chemokine, and costimulatory molecule modulation to enhance efficacy of HIV vaccines. *Current Molecular Medicine*, 2003, vol. 3, no. 3, pp. 285–301.
42. Nichani A. K., Kaushik R. S., Mena A., Popowych Y., Dent D., Townsend H. G., Mutwiri G., Hecker R., Babiuk L. A., Griebel P. J. CpG oligodeoxynucleotide induction of antiviral effector molecules in sheep. *Cellular Immunology*, 2004, vol. 227, no. 1, pp. 24–37. DOI: 10.1016/j.cellimm.2004.01.004
43. Fuchs S., Klier J., May A., Winter G., Coester C., Gehlen H. Towards an inhalative *in vivo* application of immunomodulating gelatin nanoparticles in horse-related preformulation studies. *Journal of Microencapsulation*, 2012, vol. 29, no. 7, pp. 615–625.
44. Kwong B., Liu H., Irvine D. J. Induction of potent anti-tumor responses while eliminating systemic side effects via liposome-anchored combinatorial immunotherapy. *Biomaterials*, 2011, vol. 32, pp. 5134–5147. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.03.067
45. Andrews C. D., Huh M. S., Patton K., Higgins D., Van Nest G., Ott G., Lee K. D. Encapsulating immunostimulatory CpG oligonucleotides in Listeriolysin O-liposomes promotes a Th1-type response and CTL activity. *Molecular Pharmaceutics*, 2012, vol. 9, no. 5, pp. 1118–1125. DOI: 10.1021/mp2003835
46. Zhou S., Hashida Y., Kawakami S., Mihara J., Umeyama T., Imahori H., Murakami T., Yamashita F., Hashida M. Preparation of immunostimulatory single-walled carbon nanotube/CpG DNA complexes and evaluation of their potential in cancer immunotherapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, vol. 471, no. 1/2, pp. 214–223. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.05.037
47. Sun J., Chao J., Huang J., Yin M., Zhang H., Peng C., Zhong Z., Chen N. Uniform small graphene oxide as an efficient cellular nanocarrier for immunostimulatory CpG oligonucleotides. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2014, vol. 6, no. 10, pp. 7926–7932. DOI: 10.1021/am5012595
48. Lin A. Y., Almeida J. P., Bear A., Liu N., Luo L., Foster A. E., Drezek R. A. Gold nanoparticle delivery of modified CpG stimulates macrophages and inhibits tumor growth for enhanced immunotherapy. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 5, e63550.
49. Tao W., Ziemer K. S., Gill H. S. Gold nanoparticle-M2e conjugate coformulated with CpG induces protective immunity against influenza A virus. *Nanomedicine*, 2014, vol. 9, no. 2, pp. 237–252. DOI: 10.2217/nnm.13.58
50. Chen N., Wei M., Sun Y., Li F., Pei H., Li X., Su S., He Y., Wang L., Shi J., Fan C., Huang Q. Self-assembly of polyadenine-tailed CpG oligonucleotide-gold nanoparticle nanoconjugates with immunostimulatory activity. *Small*, 2014, vol. 10, no. 2, pp. 368–375. DOI: 10.1002/sml.1201300903
51. Zhang H., Feng S., Yan T., Zhi C., Gao X. D., Hanagata N. Polyethyleneimine-functionalized boron nitride nanospheres as efficient carriers for enhancing the immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides. *International Journal of Nanomedicine*, 2015, vol. 10, pp. 5343–5353. DOI: 10.2147/IJN.S88774
52. Zheng H., Wen S., Zhang Y., Sun Z. Organosilane and polyethylene glycol functionalized magnetic mesoporous silica nanoparticles as carriers for CpG immunotherapy *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 10, e0140265. DOI: 10.1371/journal.pone.0140265
53. Xu Y., Claiden P., Zhu Y., Morita H., Hanagata N. Effect of amino groups of mesoporous silica nanoparticles on CpG oligodeoxynucleotide delivery. *Science and Technology of Advanced Materials*, 2015, vol. 16, no. 4, 045006. DOI: 10.1088/1468-6996/16/4/045006
54. Tao C., Zhu Y., Li X., Hanagata N. Binding of CpG oligodeoxynucleotides to mesoporous silica nanoparticles for enhancing delivery efficiency. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2015, vol. 204, pp. 91–98. DOI: 10.1016/j.micromeso.2014.11.007
55. Mueller M., Reichardt W., Koerner J., Groettrup M. Coencapsulation of tumor lysate and CpG-ODN in PLGA-microspheres enables successful immunotherapy of prostate carcinoma in TRAMP mice. *Journal of Controlled Release*, 2012, vol. 162, no. 1, pp. 159–166. DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.06.015
56. Mochizuki S., Morishita H., Kobiyama K., Aoshi T., Ishii K. J., Sakurai K. Immunization with antigenic peptides complexed with β -glucan induces potent cytotoxic T-lymphocyte activity in combination with CpG-ODNs. *Journal of Controlled Release*, 2015, vol. 220, pp. 495–502.
57. Miyamoto N., Mochizuki S., Fujii S., Yoshida K., Sakurai K. Adjuvant activity enhanced by cross-linked CpG-oligonucleotides in β -glucan nanogel and its antitumor effect. *Bioconjugate Chemistry*, 2017, vol. 28, no. 2, pp. 565–573. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00675
58. Schüller V. J., Heidegger S., Sandholzer N., Nickels P. C., Suhartha N. A. Endres S., Bourquin C., Liedl T. Cellular immunostimulation by CpG-sequence-coated DNA origami structures. *ACS Nano*, 2011, vol. 5, pp. 9696–9702.
59. Mohri K., Kusuki E., Ohtsuki S., Takahashi N., Endo M., Hidaka K., Sugiyama H., Takahashi Y., Takakura Y., Nishikawa M. Self-assembling DNA dendrimer for effective delivery of immunostimulatory CpG DNA to immune cells. *Biomacromolecules*, 2015, vol. 16, no. 4, pp. 1095–1101. DOI: 10.1021/bm501731f
60. Nishikawa M., Mizuno Y., Mohri K., Matsuoka N., Rattanakit S., Takahashi Y., Funabashi H., Luo D., Takakura Y. Biodegradable CpG DNA hydrogels for sustained delivery of doxorubicin and immunostimulatory signals in tumor-bearing mice. *Biomaterials*, 2011, vol. 32, no. 2, pp. 488–494. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.09.013

61. Mei L., Zhu G., Qiu L., Wu C., Chen H., Liang H., Cansiz S., Lv Y., Zhang X., Tan W. Self-assembled multifunctional DNA nanoflowers for the circumvention of multidrug resistance in targeted anticancer drug delivery. *Nano Research*, 2015, vol. 8, no. 11, pp. 3447–3460.
62. Mutwiri G. K., Nichani A. K., Babiuk S., Babiuk L. A. Strategies for enhancing the immunostimulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides. *Journal of Controlled Release*, 2004, vol. 97, no. 1, pp. 1–17. DOI: 10.1016/j.jconrel.2004.02.022
63. Mutwiri G. S., van Drunen Littel-van den Hurk S., Babiuk L. A. Approaches to enhancing immune responses stimulated by CpG oligodeoxynucleotides. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2009, vol. 61, no. 3, pp. 226–232. DOI: 10.1016/j.addr.2008.12.004
64. Demoulines T., Milona P., McCullough K. C. Alginate-coated chitosan nanogels differentially modulate class-A and class-B CpG-ODN targeting of dendritic cells and intracellular delivery. *Nanomedicine*, 2014, vol. 10, no. 8, pp. 1739–1749. DOI: 10.1016/j.nano.2014.06.003
65. Hanagata N. Structure-dependent immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides and their delivery system. *International Journal of Nanomedicine*, 2012, vol. 7, pp. 2181–2195. DOI: 10.2147/IJN.S30197
66. Zhu G., Liu Y., Yang X., Kim Y. H., Zhang H., Jia R., Liao H. S., Jin A., Lin J., Aronova M., Leapman R., Nie Z., Niu G., Chen X. DNA-inorganic hybrid nanovaccine for cancer immunotherapy. *Nanoscale*, 2016, vol. 8, no. 12, pp. 6684–6692. DOI: 10.1039/c5nr08821f
67. Xu Z. P., Lu G. Q. Layered double hydroxide nanomaterials as potential cellular drug delivery agents. *Pure and Applied Chemistry*, 2006, vol. 78, no. 9, pp. 1771–1779. DOI: 10.1351/pac200678091771
68. Rives V., del Arco M., Martin C. Layered double hydroxides as drug carriers and for controlled release of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs): a review. *Journal of Controlled Release*, 2013, vol. 169, pp. 28–39.
69. Olfs H. W., Torres-Dorante L. O., Eckelt R., Kosslick H. Comparison of different synthesis routes for Mg–Al layered double hydroxides (LDH): Characterization of the structural phases and anion exchange properties. *Applied Clay Science*, 2009, vol. 43, no. 3/4, pp. 459–464.
70. Theiss F. L., Ayoko G. A., Frost R. L. Synthesis of layered double hydroxides containing Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} and Al^{3+} layer cations by co-precipitation methods. *Applied Surface Science*, 2016, vol. 383, pp. 200–213. DOI: 10.1016/j.apsusc.2016.04.150
71. Aisawa S., Ohnuma Y., Hirose K., Takahashi S., Hirahara H., Narita E. Intercalation of nucleotides into layered double hydroxides by ion-exchange reaction. *Applied Clay Science*, 2005, vol. 28, no. 1/4, pp. 137–145.
72. Kwak S.-Y., Jeong Y.-Joo, Park J.-S., Choy J.-Ho. Bio-LDH nanohybrid for gene therapy. *Solid State Ionics*, 2002, vol. 151, pp. 229–234.
73. Xu Z. P., Walker T. L., Liu K., Cooper H. M., Lu G. M., Bartlett P. F. Layered double hydroxide nanoparticles as cellular delivery vectors of supercoiled plasmid DNA. *International Journal of Nanomedicine*, 2007, vol. 2, no. 2, pp. 163–174.
74. Kim J. Y., Choi S. J., Oh J. M., Park T., Choy J. H. Anticancer drug-inorganic nanohybrid and its cellular interaction. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2007, vol. 7, no. 11, pp. 3700–3705.
75. Manzi-Nshuti C., Chen D., Su S., Wilkie C. A. The effects of intralayer metal composition of layered double hydroxides on glass transition, dispersion, thermal and fire properties of their PMMA nanocomposites. *Thermochimica Acta*, 2009, vol. 495, no. 1/2, pp. 63–71.
76. Pontarollo R. A., Babiuk L. A., Hecker R., van Drunen Littel-van den Hurk S. Augmentation of cellular immune responses to bovine herpesvirus-1 glycoprotein D by vaccination with CpG-enhanced plasmid vectors. *Journal of General Virology*, 2002, vol. 83, pp. 2973–2981.
77. Kojima Y., Xin K. Q., Ooki T., Hamajima K., Oikawa T., Shinoda K., Ozaki T., Hoshino Y., Jounai N., Nakazawa M., Klinman D. Adjuvant effect of multi-CpG motifs on an HIV-1 DNA vaccine. *Vaccine*, 2002, vol. 20, pp. 2857–2865.
78. Juvaris BioTherapeutics announces positive data from clinical trial of JVRS-100 adjuvanted flu vaccine. *Juvaris BioTherapeutics, Inc.* Available at: http://www.juvaris.com/news/press/09_01_08.html (accessed 18 May 2017).
79. Bernstein D. I., Earwood J. D., Bravo F. J., Cohen G. H., Eisenberg R. J., Clark J. R., Fairman J., Cardin R. D. Effects of herpes simplex virus type 2 glycoprotein vaccines and CLDC adjuvant on genital herpes infection in the guinea pig. *Vaccine*, 2011, vol. 29, no. 11, pp. 2071–2078.
80. Morreya J. D., Motter N. E., Chang S., Fairman J. Breaking B and T cell tolerance using cationic lipid-DNA complexes (CLDC) as a vaccine adjuvant with hepatitis B virus (HBV) surface antigen in transgenic mice expressing HBV. *Antiviral Research*, 2011, vol. 90, no. 3, pp. 227–230.
81. Dong L., Liu F., Fairman J., Hong D. K., Lewis D. B., Monath T., Warner J. F., Belser J. A., Patel J., Hancock K., Katz J. M., Lu X. Cationic liposome–DNA complexes (CLDC) adjuvant enhances the immunogenicity and cross-protective efficacy of a pre-pandemic influenza A H5N1 vaccine in mice. *Vaccine*, 2012, vol. 30, pp. 254–264. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.10.103
82. Carroll T. D., Matzinger S. R., Barry P. A., McChesney M. B., Fairman J., Miller C. J. Efficacy of influenza vaccination of elderly Rhesus Macaques is dramatically improved by addition of a cationic lipid/DNA adjuvant. *Journal of Infection Diseases*, 2014, vol. 209, no. 1, pp. 24–33.
83. Zinchenko A. I., Kvach S. V., Shchokolova A. S. Construction of plasmid enriched with immunostimulatory CpG motifs. *Eastern European Scientific Journal*, 2014, no. 3, pp. 10–13.
84. Shchokolova A. S. *Elaboration of biotechnological methods of obtaining nucleic immunostimulants – CpG-DNA and cyclic di-GMP*, Abstract of Ph. D. diss. Minsk, 2014. 24 p. (in Russian).
85. Hanagata N. CpG oligodeoxynucleotide nanomedicines for the prophylaxis or treatment of cancers, infectious diseases, and allergies. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 515–531. DOI: 10.2147/IJN.S114477
86. Schmidt M., Hagner N., Marco A., König-Merediz S. A., Schöff M., Wittig B. Design and structural requirements of the potent and safe TLR-9 agonistic immunomodulator MGN1703. *Nucleic Acid Therapeutics*, 2015, vol. 25, no. 3, pp. 130–140. DOI: 10.1089/nat.2015.0533

87. Hirsh V., Paz-Ares L., Boyer M., Rosell R., Middleton G., Eberhardt W. E., Szczesna A., Reiterer P., Saleh M., Arrieta O., Bajetta E., Webb R. T., Raats J., Benner R. J., Fowst C., Meech S. J., Readett D., Schiller J. H. Randomized phase III trial of paclitaxel/carboplatin with or without PF-3512676 (Toll-like receptor 9 agonist) as first-line treatment for advanced non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2011, vol. 29, no. 19, pp. 2667–2674. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.8971
88. Manegold C., van Zandwijk N., Szczesna A., Zatloukal P., Au J. S., Blasinska-Morawiec M., Serwatowski P., Krzakowski M., Jassem J., Tan E. H., Benner R. J., Ingrosso A., Meech S. J., Readett D., Thatcher N. A phase III randomized study of gemcitabine and cisplatin with or without PF-3512676 (TLR9 agonist) as first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 2012, vol. 23, no. 1, pp. 72–77. DOI: 10.1093/annonc/mdr030
89. Loh X. J., Ong S. J., Tung Y. T., Choo H. T. Co-delivery of drug and DNA from cationic dual-responsive micelles derived from poly(DMAEMA-co-PPGMA). *Material Science and Engineering*, 2013, vol. 33, no. 8, pp. 4545–4550. DOI: 10.1016/j.msec.2013.07.011
90. Makkouk A., Joshi V. B., Wongrakpanich A., Lemke C. D., Gross B. P., Salem A. K., Weiner G. J. Biodegradable microparticles loaded with doxorubicin and CpG ODN for *in situ* immunization against cancer. *AAPS Journal*, 2015, vol. 17, no. 1, pp. 184–193. DOI: 10.1208/s12248-014-9676-6
91. Mizuno Y., Naoi T., Nishikawa M., Rattanakit S., Hamaguchi N., Hashida M., Takakura Y. Simultaneous delivery of doxorubicin and immunostimulatory CpG motif to tumors using a plasmid DNA/doxorubicin complex in mice. *Journal of Controlled Release*, 2010, vol. 141, no. 2, pp. 252–259. DOI: 10.1016/j.jconrel.2009.09.014
92. Brody J. D., Ai W. Z., Czerwinski D. K., Torchia J. A., Levy M., Advani R. H., Kim Y. H., Hoppe R. T., Knox S. J., Shin L. K., Wapnir I., Tibshirani R. J., Levy R. *In situ* vaccination with a TLR9 agonist induces systemic lymphoma regression: a phase I/II study. *Journal of Clinical Oncology*, 2010, vol. 28, no. 28, pp. 4324–4332. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.9793
93. Marabelle A., Kohrt H., Caux C., Levy R. Intratumoral immunization: a new paradigm for cancer therapy. *Clinical Cancer Research*, 2014, vol. 20, no. 7, pp. 1747–1756. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2116
94. Pierce R. H., Campbell J. S., Pai S. I., Brody J. D., Kohrt H. E. *In-situ* tumor vaccination: bringing the fight to the tumor. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 2015, vol. 11, no. 8, pp. 1901–1909. DOI: 10.1080/21645515.2015.1049779
95. Hu X., Wu T., Bao Y., Zhang Z. Nanotechnology based therapeutic modality to boost anti-tumor immunity and collapse tumor defense. *Journal of Controlled Release*, 2017, vol. 256, pp. 26–45. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.04.026

Інфармацыя аб аўтарах

Зинченко Анатолий Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zinch@mbio.bas-net.by.

Щеколова Анастасия Сергеевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nastindeathnote@gmail.com.

Information about the authors

Anatoliy I. Zinchenko – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zinch@mbio.bas-net.by.

Anastasiya S. Schokolova – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nastindeathnote@gmail.com.