

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-18

**РАЗРАБОТКА БИОИНФОРМАТИЧЕСКОГО ПАЙПЛАЙНА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ
НЕОАНТИГЕНОВ С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МРНК-ВАКЦИНЫ
ПРОТИВ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО**

**DEVELOPMENT OF A BIOINFORMATIC PIPELINE FOR NEOANTIGEN IDENTIFICATION TO ENABLE
PERSONALIZED MRNA VACCINE DESIGN AGAINST NON-SMALL CELL LUNG CANCER**

К. М. Кириленко¹, А. А. Федоров², А. А. Ибрагимова², М. Р. Патышева², Д. Т. Султанова²,
Е. О. Родионов², Е. Б. Топольницкий^{3,4}, Д. М. Лоос², Ю. М. Суворова⁵, Е. В. Денисов²

¹Центр системной биоинформатики Томского НИМЦ РАН

²НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН

³Сибирский государственный медицинский университет, Томск

⁴Томская областная клиническая больница

⁵ООО «Биотехнологический кампус», Москва

К. М. Kirilenko¹, А. А. Fedorov², А. А. Ibragimova², М. R. Patysheva², D. T. Sultanova²,
E. O. Rodionov², E. B. Topolnitsky^{3,4}, D. M. Loos², Y. M. Suvorova⁵, E. V. Denisov²

¹Center for Systems Bioinformatics, Tomsk National Research Medical Centre RAS

²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre RAS

³Siberian State Medical University, Tomsk

⁴Tomsk Regional Clinical Hospital

⁵Biotech campus LLC, Moscow

✉ kirillkirilenko.tomsk@gmail.com

Аннотация

В работе представлен биоинформатический пайплайн для идентификации иммуногенных неоантигенов у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Разработанный инструмент реализует полный цикл анализа — от поиска соматических мутаций до приоритизации эпитопов с учетом экспрессии, МНС-связывания, стабильности комплекса рМНС. Проведена валидация пайплайна на размеченных данных консорциума TESLA.

Abstract

A bioinformatic pipeline for the identification of immunogenic neoantigens was developed for non-small cell lung cancer patients. The tool implements a complete analysis workflow — from somatic mutation calling to the prioritization of epitopes, taking into account transcript expression, MHC binding affinity, and pMHC complex stability. The pipeline was validated using annotated datasets from the TESLA consortium.

Персонализированные противоопухолевые вакцины, включающие панель неоантигенов, являются новым перспективным направлением иммунотерапии злокачественных новообразований. Опухоль-специфичные неоантигены отсутствуют в нормальных тканях, что обеспечивает высокую специфичность и минимизирует риск поражения здоровых клеток. Клинические исследования продемонстрировали эффективность таких вакцин против ряда солидных опухолей [1, 2].

Ключевым этапом в разработке персонализированных противоопухолевых вакцин является надежная идентификация иммуногенных неоантигенов. Для этого используются данные ДНК-секвенирования опухоли и парной нормальной ткани для выявления соматических мутаций, а также РНК-секвенирования опухоли — для подтверждения экспрессии мутантных аллелей. Иммуногенность потенциальных неоантигенов обычно оценивается на основе предсказанной аффинности их связывания с молекулами МНСI/МНСII. Известно, что высокая аффинность не всегда коррелирует с реальной иммунной активностью пептида. Так, среди всех предсказанных неоантигенов с высокой аффинностью к МНСI не более 10 % оказываются иммуногенными [3]. Поэтому при отборе неоантигенов важно учитывать и дополнительные характеристики: уровень экспрессии соответствующего транскрипта, аллельную частоту экспрессированного мутантного варианта, стабильность комплекса «МНС — пептид» и др.

Основным объектом исследования являются массивы данных, полученные в результате полногеномного и полнотранскриптомного секвенирования пациентов ($n = 25$), проходивших лечение в клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ и Томской областной клинической больницы, с диагнозом НМРЛ стадий T1–4N0–2M0–1 в возрасте от 55 до 83 лет. Для каждого из пациентов ранжировались неоантигены, найденные созданным алгоритмом, для отбора топ-30. Для оценки точности алгоритма идентификации иммуногенных неоантигенов использовались референсные датасеты консорциума TESLA (Tumor Neoantigen Selection Alliance), содержащие данные по полноэкзомному секвенированию опухолевой и парной нормальной ткани и РНК-секвенирования опухолевой ткани у пациентов с меланомой и немелкоклеточным раком легкого, а также список экспериментально проверенных иммуногенных неоантигенов. Для оценки качества ранжирования итогового списка неоантигенов считалась метрика AUPRC.

Разработан автоматизированный биоинформатический пайплайн для поиска и приоритизации неоантигенов, адаптированный под данные полногеномного секвенирования опухолей пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Входными данными пайплайна служат результаты ДНК-секвенирования опухоли и парной нормальной ткани, а также РНК-секвенирования опухоли. Пайплайн включает все основные этапы поиска неоантигенов и формирует ранжированный список приоритетных неоантигенов. В качестве метрики ранжирования неоантигенов использовался параметр NeoScore, включающий степень аффинности к MHC I, стабильность комплекса pMHC I, уровень экспрессии транскрипта [4]. Среди 34 валидированных неоантигенов из датасетов TESLA пайплайн нашел 30, средний AUPRC равен 0,31, 46 % неоантигенов из списка валидированных входят в топ-30 предсказанных пайплайном.

На основе результатов анализа для каждого пациента был сформирован индивидуальный список из 30 приоритетных неоантигенов с высоким иммуногенным потенциалом, отобранных для включения в состав персонализированной мРНК-вакцины. Найденные эпитопы будут использоваться для создания конструкции мРНК в условиях *in silico*, последующего синтеза тестового препарата и его тестирования в *ex vivo* исследованиях иммуногенности мРНК-вакцины на иммунных клетках пациентов.

Литература

1. Sahin Ugur et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer // Nature. 2017. Vol. 547 (7662). P. 222–226.
2. Rojas Luis A. et al. Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer // Nature. 2023. Vol. 618 (7963). P. 144–150.
3. Wells Daniel K. et al. Key parameters of tumor epitope immunogenicity revealed through a consortium approach improve neoantigen prediction // Cell. 2020. Vol. 183 (3). P. 818–834.
4. Borden Elizabeth S. et al. NeoScore integrates characteristics of the neoantigen: MHC class I interaction and expression to accurately prioritize immunogenic neoantigens // The Journal of Immunology. 2022. Vol. 208 (7). P. 1813–1827.