·综 述·

聚肌胞苷酸在免疫制剂中的研究进展

柯丁心，王 毅，孙 敏，蒋亚君，刘开云*
（四川大学华西医院生物制药研究院，四川成都 610044）

摘要：聚肌胞苷酸是一种人工合成的双链核糖核酸，可被 Toll 样受体 3 识别，诱导先天和适应性免疫反应，其通常被认为是一种Ⅰ型干扰素诱导剂、抗病毒和抗肿瘤等免疫调节剂，也是有效的疫苗佐剂，并在疾病治疗中展现出巨大的潜力。因此该文从聚肌胞苷酸的作用机制、安全性及在临床中作为免疫制剂的研究进展等方面进行综述，希望能为其的后续研究提供有益参考。

关键词：聚肌胞苷酸；Toll 样受体 3；免疫治疗；疫苗佐剂
中图分类号：R392 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2023)11-1219-07
DOI：10.13683/j.wph.2023.11.016

Research progress of polyinosinic polycytidylic acid in immunopreparations

KE Dingxin, WANG Yi, SUN Min, JIANG Yajun, LIU Kaiyun*
(*Institute of Biopharmacy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610044, Sichuan Province, China*)

Abstract: Polyinosinic polycytidylic acid is an artificially synthesized double stranded ribonucleic acid that is recognized by Toll-like receptor 3, induces innate and adaptive immune responses. It is generally considered as a type I interferon inducer, antiviral and anti-tumor immunomodulator agent, and also an effective vaccine adjuvant, and has shown great potential in the treatment of diseases. Therefore, this article reviewed the regulatory mechanism, safety, and the research progress of polyinosinic polycytidylic acid as an immunologic agent in clinical practice, hoping to provide useful reference for the follow-up research of polyinosinic polycytidylic acid.

Key words: polyinosinic polycytidylic acid; Toll-like receptor 3; immunotherapy; vaccine adjuvant

聚肌胞苷酸是 20 世纪 60 年代中期由默克公司 Hilleman 等合成的一种双链 RNA（double-stranded RNA，dsRNA），是由肌苷酸均聚物与多胞苷酸均聚物退火而形成的稳定的双螺旋结构[1]，可有效模拟病毒 dsRNA，作为免疫制剂发挥重要作用。近几年国内外关于聚肌胞苷酸在免疫调节剂及疫苗佐剂中作用的研究大多已进入Ⅰ/Ⅱ期临床研究阶段，并证实其作为新型免疫制剂具有增强免疫原性、改善疫苗效价等优势。本文对聚肌胞苷酸在免疫制剂中的调节机制、稳定性、毒性以及抗肿瘤、抗病毒和细菌感染及疫苗佐剂应用等研究进展作综述，以期为后续研究提供参考。

1 聚肌胞苷酸作用机制

1.1 聚肌胞苷酸作用的信号通路

聚肌胞苷酸作为病毒 dsRNA 模拟物，可被 Toll 样受体（Toll-like receptor，TLR）3 所识别，与黑色素瘤分化相关基因（melanoma differentiation-related gene，MDA）-5 和细胞质受体视黄酸诱导基因Ⅰ（cytoplasmic receptor retinoic acid-inducing gene Ⅰ，RIG-Ⅰ）结合，诱导Ⅰ型干扰素（interferon，IFN）和促炎细胞因子等的分泌，从而在诱导免疫应答中发挥重要作用[2—3]。其中 TLR3 隶属于 TLR 家族，

收稿日期：2023-01-29
作者简介：柯丁心，助理实验师，研究方向：幽门螺杆菌疫苗的研究。
通信作者：刘开云，副教授，研究方向：细菌感染免疫机制与创新疫苗研究。
基金项目：四川大学华西医院学科卓越发展135工程项目(ZYXY21003)

是在细胞表面及内体表达的跨膜蛋白，可特异性识别外源性配体 dsRNA[4]。同时，一些 TLR3 配体也是 RIG- Ⅰ和 MDA-5 的配体，区别在于 RIG- Ⅰ和 MDA-5 对 dsRNA 的识别具有长度依赖性，RIG- Ⅰ识别短 dsRNA 分子（通常＜1 kbp），MDA-5 识别长 dsRNA 分子[5]。

聚肌胞苷酸被识别后主要通过 2 条途径激发其信号功能。第 1 条是 TLR3 募集 TLR 衔接分子（TIR domain containing adaptor molecule，TICAM）1，第 2 条是 MDA-5/RIG- Ⅰ募集线粒体抗病毒信号蛋白。上述 2 条途径均汇聚到肿瘤坏死因子受体相关因子（tumor necrosis factor receptor correlated factor，TRAF）3 和 TRAF6 中。其中 TRAF3 促进 TANK 结合激酶（TANK binds to kinase，TBK）1 与核因子（nuclear factor，NF）-κB 激酶抑制剂形成复合物，该复合物磷酸化 IFN 调节因子 3（interferon regulatory factor 3，IRF3）二聚体，并在核易位后结合到内部核糖体进入位点 3 上，调控Ⅰ型 IFN，特别是 IFN-β 的转录。而 TRAF6 与受体相互作用蛋白 1 协同作用，导致转化生长因子（transforming growth factor，TGF）-β 活化激酶 1 复合物磷酸化 2 条下游途径。一方面，磷酸化 NF-κB 抑制物激酶 α/β/γ 复合物允许释放 NF-κB；另一方面，丝裂原激活蛋白激酶的磷酸化激活活化蛋白（activate protein，AP）-1，NF-κB 和 AP-1 均能产生促炎细胞因子和趋化因子，进而发挥免疫效应[6—7]。其中胞质中的 dsRNA 可通过促进 IRF3 和 IFN 调节因子 7 的激活及二聚体化，易位到细胞核，诱导Ⅰ型 IFN 的表达[8—11]，这种Ⅰ型 IFN 的产生也是聚肌胞苷酸作为辅助性 T 细胞（helper T cell，Th）1 诱导佐剂的关键[12]，具体信号通路如图 1 所示。

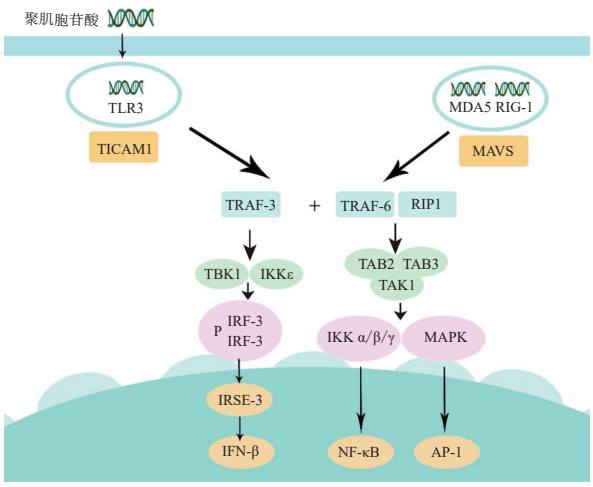


图 1 聚肌胞苷酸信号机制

Figure 1 Polyinosinic polycytidylic acid signaling mechanism

1.2 聚肌胞苷酸对免疫细胞的作用

聚肌胞苷酸可以直接或间接激活多种免疫细胞[13]。聚肌胞苷酸主要激活抗原呈递细胞，特别是树突状细胞（dendritic cell，DC），激活途径为上调抗原特异性 T 细胞启动所需的信号，如主要组织相容性复合体Ⅰ类分子、共刺激分子、促炎细胞因子及趋化因子 CXCL10 等[14—15]；并且通过Ⅰ型 IFN 和白介素（interleukin，IL）-15 信号传导，聚肌胞苷酸具有较其他 TLR 激动剂更强的促 DC 成熟能力，因此常被用于体外 DC 成熟方案，以获得有效的 DC 产物[14,16]。此外，聚肌胞苷酸能增强自然杀伤（natural killer，NK）细胞的细胞毒作用[17]，并增强巨噬细胞的吞噬能力，使 M2 巨噬细胞重新极化，促进 T 细胞的活化[18—19]。

对于 T 细胞而言，活化的 DC 细胞通过抗原提呈活化 $CD8^+$ T 细胞，且Ⅰ型 IFN 在 $CD8^+$ T 细胞受到刺激克隆增殖期间可以延长 $CD8^+$ T 细胞存活，上调淋巴结归巢受体（趋化性细胞因子受体 7）的表达，增强 T 淋巴细胞的迁移能力；同时，NK 细胞通过分泌细胞因子来响应聚肌胞苷酸，进一步增强 T 细胞反应[20—21]。因此，聚肌胞苷酸能够直接或间接活化各种天然及适应性免疫细胞，增强免疫刺激活性，更好地发挥免疫效力。

2 聚肌胞苷酸的稳定性和毒性

为实现聚肌胞苷酸双链的重新连接，制备聚肌胞苷酸时需在 50 ～ 60 ℃下加热并缓慢冷却数小时，可能导致其溶解度受限，难以确定其确切大小、分

子量及结构，因此不同批次聚肌胞苷酸的稳定性较差[22]。同时，聚肌胞苷酸可被核糖核酸酶降解，且降解速度快，半衰期短，该特性与较差的稳定性被认为与聚肌胞苷酸的毒性作用有关[23]。早期临床研究显示，聚肌胞苷酸可引起非特异性免疫反应及全身过敏反应，如原发性胆汁性肝硬化（primary biliary cirrhosis）和狼疮性肾炎（lupus nephritis）等自身免疫性疾病[24—25]。因此提高稳定性、减低毒性是扩大聚肌胞苷酸应用范围的有效途径。研究显示，在聚肌胞苷酸的基础上添加聚 *L*- 赖氨酸和羧甲基纤维素合成 poly-ICLC，可提高其稳定性；加入未配对的尿嘧啶和鸟嘌呤碱基合成 polyI:C12U，可降低其 Th1 反应的毒性[26]。上述衍生物扩展了聚肌胞苷酸的临床应用范围，目前已被大量用于临床研究，部分研究如表 1 所示，数据来源于美国临床研究资料库（ClinicalTrials.gov）。

3 聚肌胞苷酸的临床药理作用

3.1 聚肌胞苷酸在抗肿瘤治疗中的作用

肿瘤因具有复杂性特点，使得临床需不断更新治疗方案以应对可能产生的耐药性，而聚肌胞苷酸因具有较强的细胞免疫介导能力，近年来在肿瘤治疗领域被广泛研究[27]。研究显示，聚肌胞苷酸可以直接抑制肿瘤生长，并能通过激活先天性免疫、调节适应性免疫介导肿瘤微环境的改变，从而诱导肿瘤细胞凋亡，间接促进抗肿瘤反应[28—29]。直接作用方面，已有研究表明聚肌胞苷酸可抑制免疫缺陷小鼠的肿瘤转移，即聚肌胞苷酸可以介导不涉及免疫系统激活的抗肿瘤反应[30]。Guinn 等[31] 的研究结果显示，IFN-γ 与聚肌胞苷酸协同可诱导 B16 黑色素瘤（melanoma）细胞中裂解半胱天冬酶 3、IFN 诱导基因 54 和细胞周期抑制蛋白 p27Kip 表达，也可抑制 UM-SCC1 和 UM-SCC38 人鳞状癌细胞的生长，所需时间不超过 24 小时。提示 IFN-γ 与聚肌胞苷酸协同可直接抑制恶性肿瘤细胞的生长。间接作用方面，大多数肿瘤细胞均表达功能性 TLR3、MDA-5 和 RIG-Ⅰ，聚肌胞苷酸作为 TLR3 受体，可与 RIG-Ⅰ、MDA-5 结合，模拟病毒感染，诱导Ⅰ型 IFN、促炎细胞因子的分泌以及众多参与抗原提呈的分子基因表达，促进肿瘤免疫应答[32—34]。Aznar 等[35] 开发一种聚肌胞苷酸与聚乙烯亚胺复合的纳米复合制剂 BO-112，可诱导肿瘤细胞凋亡，增强免疫反应；BO-112 瘤内注射可提高 $CD8^+$ 细胞毒性 T 淋巴细胞（cytotoxic tlymphocyte，CTL）的肿瘤浸润。目前，肿瘤内递送 BO-112 正在恶性肿瘤患者中进行评估（NCT02828098）。已完成的Ⅰ期临床研究表明，肿瘤内局部施用 BO-112 联合全身抗程序性死亡受体（programmed death receptor1，PD-1）治疗可用于抗 PD-1 难治性肿瘤患者[36]。提示聚肌胞苷酸在抗肿瘤治疗方面具有一定潜力。

除抗肿瘤作用外，聚肌胞苷酸在肿瘤免疫调节方面亦具有重要作用。研究显示，聚肌胞苷酸可诱导 DC 成熟，增强其启动和上调抗原特异性 T 细胞反应的能力，与肿瘤相关抗原肽一起，有效诱导抗原特异性 CTL，从而增强宿主的抗肿瘤免疫反应[37]。

表 1 国内外应用聚肌胞苷酸且正在进行中的临床研究

Table 1 Ongoing clinical research on polyinosinic polycytidylic acid at home and abroad

登记号	适应证	干预措施	临床研究进度
NCT03599453	转移性三阴性乳腺癌（breast cancer）	趋化因子调节疗法＋帕博利珠单抗（pembrolizumab）＋polyI:C12U	早期阶段Ⅰ期
NCT03956056	胰腺癌（pancreatic cancer）	新抗原肽疫苗＋poly-ICLC	Ⅰ期
NCT02549833	Ⅱ级胶质瘤（glioma）	GBM6-AD＋poly-ICLC	Ⅰ期
NCT03121677	滤泡性淋巴瘤（lymphoma）	个性化肿瘤疫苗＋poly-ICLC＋纳武利尤单抗（nivolumab）＋利妥昔单抗（rituximab）	Ⅰ期
NCT03206047	复发性卵巢癌（ovarian cancer）、输卵管癌（fallopian tube carcinoma）、原发性腹膜癌（peritoneal carcinoma）	阿替利珠单抗（atezolizumab）＋DEC-205/NY-ESO-1融合蛋白 CDX-1401＋瓜地西他滨（guadecitabine）＋poly-ICLC	Ⅰ/Ⅱ期

此外，在宫颈癌（cervical cancer）细胞系中，聚肌胞苷酸可增强巨噬细胞募集，上调 IL-1β 和 IL-6 表达，且 NF-κB 信号通路亦发生磷酸化，提示聚肌胞苷酸能调节宫颈癌细胞中肿瘤浸润的巨噬细胞，并促进炎性肿瘤微环境的改变[38]。在黑色素瘤中，聚肌胞苷酸和 MF59 与存活肽 95-104 联合可有效诱导 Th2 介导的体液免疫，控制黑色素瘤模型小鼠的肿瘤大小、质量和体积，为肿瘤治疗提供支持[39]。

聚肌胞苷酸作为免疫制剂，也可通过与药物联用增强抗肿瘤作用。如聚肌胞苷酸联合雷西莫特（resiquimod）瘤内治疗可抑制肺癌（lung cancer）细胞增殖、转移，巨噬细胞浸润增加，M1 ：M2 比值更高，$CD4^+$、$CD8^+$ T 细胞募集，从而实现全身抗肿瘤免疫[40]。据报道，聚肌胞苷酸还可与蛋白酶体抑制剂协同增强半胱氨酸蛋白酶 8、9 活化，诱导宫颈癌细胞凋亡[41]。在转移性肝癌（hepatoma）中，聚肌胞苷酸与 α 程序性死亡配体 -1 协同可有效下调髓源性抑制细胞，抑制肝癌进展，上调浸润 M1/M2 巨噬细胞、$CD8^+/CD4^+$ 及 $CD8^+$/ 调节性 T 细胞比值[42]。上述研究结果均提示聚肌胞苷酸作为一种免疫制剂，在恶性肿瘤免疫治疗中具有巨大潜力。

综上可见，聚肌胞苷酸可以抑制肿瘤增殖，调节肿瘤微环境，其应用范围的不断扩大，为恶性肿瘤的治疗提供新的启示。

3.2 聚肌胞苷酸在细菌感染性疾病中的作用

聚肌胞苷酸主要作为 TLR 通过识别微生物病原体表达的高度保守的结构基序、感应受损组织释放的宿主衍生分子来介导固有免疫应答，进而刺激适应性免疫应答[43]。Ribes 等[44] 发现，聚肌胞苷酸可刺激小胶质细胞释放细胞趋化因子和一氧化氮，增强其吞噬和杀死细菌的能力。Pyles 等[45] 的研究亦证实聚肌胞苷酸对大肠埃希菌 K1 株具有抑制作用，保护宿主免受吸入土拉弗朗西斯菌的侵害。近期有研究显示，将聚肌胞苷酸用于感染解藻酸弧菌的斑马鱼，随着聚肌胞苷酸剂量的增加，外源性苹果酸盐升高，激活三羧酸循环，增强斑马鱼对细菌感染的先天免疫力，显著提高存活率[46]。

除此之外，聚肌胞苷酸作为免疫佐剂，被越来越多地应用于细菌疫苗的研发。早在 2016 年，聚肌胞苷酸就被证明可与卡介苗协同激发促炎性巨噬细胞活化，诱导一氧化氮生成及促炎细胞因子分泌，增强和调节宿主对卡介苗的反应，增强细胞免疫[47]。其后多项动物试验表明，聚肌胞苷酸可与多种疫苗发挥协同作用，增强疫苗效力[48—50]。因此，聚肌胞苷酸在细菌感染性疾病的治疗及预防中具有开发潜力。

3.3 聚肌胞苷酸在病毒感染性疾病中的作用

聚肌胞苷酸作为一种合成 dsRNA，能够以与病毒感染相似的模式激活宿主防御，当与抗原适当结合时，其能以病原体相关分子模式作为免疫调节剂，调节、优化抗原特异性免疫反应，刺激细胞介导的免疫应答，是强效 Th1 激动剂[51]。故聚肌胞苷酸在病毒感染性疾病中主要被用于抗病毒感染，以及作为佐剂增强疫苗特异性反应。在抗病毒感染方面，已有研究表明聚肌胞苷酸可在体外激活 IFN 信号通路，并抑制乙型肝炎病毒（hepatitis bvirus，HBV）复制[52]，而将携带聚肌胞苷酸的磷酸钙纳米颗粒静脉注射入乙型肝炎模型小鼠的肝脏，可有效抑制 HBV 复制，增加肝内细胞因子和趋化因子的产生，增强 T 细胞反应，以降低小鼠的乙型肝炎表面抗原、乙型肝炎 E 抗原和 HBV DNA 水平，具有治疗慢性 HBV 感染的巨大潜力[53]。

聚肌胞苷酸作为免疫佐剂可增强病毒疫苗特异性免疫应答。以聚肌胞苷酸为佐剂的亚单位疫苗被证明在模型小鼠中能有效抵御单纯疱疹病毒 -2，且仅有轻微皮肤反应[54]。在人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus，HIV）疫苗中，聚肌胞苷酸通过增强 DC 靶向 HIV 多表位疫苗的 T 细胞免疫，从而增强免疫应答[55]。此外，聚肌胞苷酸可作为流感疫苗有效黏膜佐剂[56]。新近研究表明，聚肌胞苷酸联合明矾可辅助新型冠状病毒肺炎疫苗产生强免疫应答[57]。纳米颗粒 - 聚肌胞苷酸组合佐剂可拓宽

猪灭活流感病毒疫苗免疫应答的广度，改善交叉保护性抗体效价和细胞因子反应，减少病毒负荷[58]。经鼻注射含有聚肌胞苷酸的 cDC1 靶向流感疫苗可增强模型小鼠 T 细胞反应，有效预防流感[59]。综合以上研究，聚肌胞苷酸是抗病毒感染和病毒疫苗佐剂的良好候选，值得进一步开发、应用。

4 结语

综上所述，聚肌胞苷酸既可直接抑制肿瘤生长，又可通过调节肿瘤微环境间接发挥抗肿瘤作用，且临床研究亦证实其对多种恶性肿瘤具有抑制作用。在细菌及病毒感染性疾病中，聚肌胞苷酸可作为免疫调节剂及免疫佐剂激活多种免疫细胞，诱导 Th1 免疫应答，具有强大的免疫刺激作用。随着不断深入研究，相信聚肌胞苷酸及其衍生物会有广阔的市场前景。

参考文献：

[1] Field AK, Tytell AA, Lampson GP, *et al*. Inducers of interferon and host resistance. Ⅱ. Multistranded synthetic polynucleotide complexes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1967, 58(3): 1004-1010.

[2] Hong Y, Lee J, Vu TH, *et al*. Immunomodulatory effects of poly(I:C)-stimulated exosomes derived from chicken macrophages[J]. Poult Sci, 2021, 100(8): 101247.

[3] Haddad FL, Patel SV, Schmid S. Maternal immune activation by polyI:C as a preclinical model for neurodevelopmental disorders: a focus on autism and schizophrenia[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2020, 113: 546-567.

[4] Chen Y, Lin J, Zhao Y, *et al*. Toll-like receptor 3(TLR3) regulation mechanisms and roles in antiviral innate immune responses[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2021, 22(8): 609-632.

[5] Hafner AM, Corthesy B, Merkle HP. Particulate formulations for the delivery of poly(I:C) as vaccine adjuvant[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2013, 65(10): 1386-1399.

[6] Yu M, Levine SJ. Toll-like receptor, RIG-Ⅰ-like receptors and the NLRP3 inflammasome: key modulators of innate immune responses to double-stranded RNA viruses[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2011, 22(2): 63-72.

[7] Desmet CJ, Ishii KJ. Nucleic acid sensing at the interface between innate and adaptive immunity in vaccination[J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12(7): 479-491.

[8] Sultan H, Salazar AM, Celis E. Poly-ICLC, a multi-functional immune modulator for treating cancer[J]. Semin Immunol, 2020, 49: 101414.

[9] Mori H, Murakami M, Tsuda T, *et al*. Reduced-HMGB1 suppresses poly(I:C)-induced inflammation in keratinocytes[J]. J Dermatol Sci, 2018, 90(2): 154-165.

[10] De Waele J, Verhezen T, van der Heijden S, *et al*. A systematic review on poly(I:C) and poly-ICLC in glioblastoma: adjuvants coordinating the unlocking of immunotherapy[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 213.

[11] Komal A, Noreen M, El-Kott AF. TLR3 agonists: RGC100, ARNAX, and poly-IC: a comparative review[J]. Immunol Res, 2021, 69(4): 312-322.

[12] Gitlin L, Barchet W, Gilfillan S, *et al*. Essential role of MDA-5 in type Ⅰ IFN responses to polyriboinosinic: polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(22): 8459-8464.

[13] Sultan H, Wu J, Fesenkova VI, *et al*. Poly-IC enhances the effectiveness of cancer immunotherapy by promoting T cell tumor infiltration[J]. J Immunother Cancer, 2020, 8(2): e001224.

[14] Fučíková J, Rožková D, Ulčová H, *et al*. PolyI:C-activated dendritic cells that were generated in Cellgro for use in cancer immunotherapy trials[J]. J Transl Med, 2011, 9: 223.

[15] Gutcher I, Becher B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation[J]. J Clin Investigation, 2007, 117(5): 1119-1127.

[16] Sultan H, Wu J, Kumai T, *et al*. Role of MDA5 and interferon-Ⅰ in dendritic cells for T cell expansion by anti-tumor peptide vaccines in mice[J]. Cancer Immunol Immunother, 2018, 67(7): 1091-1103.

[17] Plote D, Choi W, Mokkapati S, *et al*. Inhibition of urothelial carcinoma through targeted type Ⅰ interferon-mediated immune activation[J]. Oncoimmunology, 2019, 8(5): e1577125.

[18] Anfray C, Mainini F, Digifico E, *et al*. Intratumoral combination therapy with poly(I:C) and resiquimod synergistically triggers tumor-associated macrophages for effective systemic antitumoral immunity[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(9): e002408.

[19] Le Naour J, Galluzzi L, Zitvogel L, *et al*. Trial watch: TLR3 agonists in cancer therapy[J]. Oncoimmunology, 2020, 9(1):

1771143.

[20] Matsumoto M, Takeda Y, Seya T. Targeting Toll-like receptor 3 in dendritic cells for cancer immunotherapy[J]. Expert Opin Biol Ther, 2020, 20(8): 937-946.

[21] Martins KAO, Bavari S, Salazar AM. Vaccine adjuvant uses of poly-IC and derivatives[J]. Expert Rev Vaccines, 2015, 14(3): 447-459.

[22] Kato H, Takeuchi O, Mikamo-Satoh E, *et al*. Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-Ⅰ and melanoma differentiation-associated gene 5[J]. J Exp Med, 2008, 205(7): 1601-1610.

[23] Bumcrot D, Manoharan M, Koteliansky V, *et al*. RNAi therapeutics: a potential new class of pharmaceutical drugs[J]. Nat Chem Biol, 2006, 2(12): 711-719.

[24] Aranda F, Vacchelli E, Obrist F, *et al*. Trial watch: Toll-like receptor agonists in oncological indications[J]. Oncoimmunology, 2014, 3: e29179.

[25] Krown SE, Kerr D, Stewart WE, *et al*. Phase Ⅰ trials of poly(I,C) complexes in advanced cancer[J]. J Biol Response Mod, 1985, 4(6): 640-649.

[26] Ko KH, Cha SB, Lee SH, *et al*. A novel defined TLR3 agonist as an effective vaccine adjuvant[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1075291.

[27] Ammi R, de Waele J, Willemen Y, *et al*. Poly(I:C) as cancer vaccine adjuvant: knocking on the door of medical breakthroughs[J]. Pharmacol Ther, 2015, 146: 120-131.

[28] Chin AI, Miyahira AK, Covarrubias A, *et al*. Toll-like receptor 3-mediated suppression of TRAMP prostate cancer shows the critical role of type I interferons in tumor immune surveillance[J]. Cancer Res, 2010, 70(7): 2595-2603.

[29] Kawai T, Akira S. Toll-like receptor and RIG-Ⅰ-like receptor signaling[J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1143: 1-20.

[30] Besch R, Poeck H, Hohenauer T, *et al*. Proapoptotic signaling induced by RIG-Ⅰ and MDA-5 results in type Ⅰ interferon-independent apoptosis in human melanoma cells[J]. J Clinical Investigation, 2009, 119(8): 2399-2411.

[31] Guinn ZP, Petro TM. IFN-γ synergism with poly I:C reduces growth of murine and human cancer cells with simultaneous changes in cell cycle and immune checkpoint proteins[J]. Cancer Lett, 2018, 438: 1-9.

[32] Zheng X, Li S, Yang H. Roles of Toll-like receptor 3 in human tumors[J]. Front Immunol, 2021, 12: 667454.

[33] TIssari J, Sirén J, Meri S, *et al*. IFN-α enhances TLR3-mediated antiviral cytokine expression in human endothelial and epithelial cells by up-regulating TLR3 expression[J]. J Immunol, 2005, 174(7): 4289-4294.

[34] Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, *et al*. The RNA helicase RIG-Ⅰ has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses[J]. Nat Immunol, 2004, 5(7): 730-737.

[35] Aznar MA, Planelles L, Perez-Olivares M, *et al*. Immunotherapeutic effects of intratumoral nanoplexed poly I:C[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 116.

[36] Márquez-Rodas I, Longo F, Rodriguez-Ruiz ME, *et al*. Intratumoral nanoplexed poly I:C BO-112 in combination with systemic anti-PD-1 for patients with anti-PD-1-refractory tumors[J]. Sci Transl Med, 2020, 12(565): eabb0391.

[37] Penza V, Russell S, Schulze AJ. The long-lasting enigma of polycytidine(polyC) tract[J]. PLoS Pathog, 2021, 17(8): e1009739.

[38] Liu X, Meng L, Chen L, *et al*. IL-6 expression promoted by poly(I:C) in cervical cancer cells regulates cytokine expression and recruitment of macrophages[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(3): 2284-2293.

[39] Jiang X, Guan S, Qiao Y, *et al*. Effects of poly(I:C) and MF59 co-adjuvants on immunogenicity and efficacy of survivin polypeptide immunogen against melanoma[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(6): 4926-4934.

[40] Anfray C, Mainini F, Digifico E, *et al*. Intratumoral combination therapy with poly(I:C) and resiquimod synergistically triggers tumor-associated macrophages for effective systemic antitumoral immunity[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(9): e002408.

[41] Meng X, Cui X, Shao X, *et al*. Poly(I:C) synergizes with proteasome inhibitors to induce apoptosis in cervical cancer cells[J]. Transl Oncol, 2022, 18: 101362.

[42] Xin B, Yang M, Wu P, *et al*. Enhancing the therapeutic efficacy of programmed death ligand 1 antibody for metastasized liver cancer by overcoming hepatic immunotolerance in mice[J]. Hepatology, 2022, 76(3): 630-645.

[43] Tsan MF, Gao B. Endogenous ligands of Toll-like receptors[J]. J Leukoc Biol, 2004, 76(3): 514-519.

[44] Ribes S, Adam N, Ebert S, *et al*. The viral TLR3 agonist poly(I:C) stimulates phagocytosis and intracellular killing of Escherichia coli by microglial cells[J]. Neurosci Lett, 2010, 482(1): 17-20.

[45] Pyles RB, Jezek GE, Eaves-Pyles TD. Toll-like receptor 3 agonist protection against experimental Francisella tularensis respiratory tract infection[J]. Infect Immun, 2010, 78(4): 1700-1710.

[46] Guo C, Ye J, Song M, *et al*. PolyI:C promotes malate to enhance innate immune response against bacterial infection[J]. Fish Shellfish Immunol, 2022, 131: 172-180.

[47] Speth M, Repnik U, Griffiths G. Layer-by-layer nanocoating of live Bacille-Calmette-Guérin mycobacteria with poly(I:C) and chitosan enhances pro-inflammatory activation and bactericidal capacity in murine macrophages[J]. Biomaterials, 2016, 111: 1-12.

[48] Sadeghi Z, Fasihi-Ramandi M, Bouzari S. Evaluation of immunogenicity of novel multi-epitope subunit vaccines in combination with polyI:C against *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* infection[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 75: 105829.

[49] Golshani M, Amani M, Amirzadeh F, *et al*. Evaluation of poly(I:C) and combination of CpG ODN plus Montanide ISA adjuvants to enhance the efficacy of outer membrane vesicles as an acellular vaccine against Brucella melitensis infection in mice[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 84: 106573.

[50] Zhu W, Zhang Y, Zhang J, *et al*. Astragalus polysaccharides, chitosan and poly(I:C) obviously enhance inactivated Edwardsiella ictaluri vaccine potency in yellow catfish Pelteobagrus fulvidraco[J]. Fish Shellfish Immunol, 2019, 87: 379-385.

[51] De Waele J, Verhezen T, van der Heijden S, *et al*. A systematic review on poly(I:C) and poly-ICLC in glioblastoma: adjuvants coordinating the unlocking of immunotherapy[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 213.

[52] Wu J, Huang S, Zhao X, *et al*. Poly(I:C) treatment leads to interferon-dependent clearance of hepatitis B virus in a hydrodynamic injection mouse model[J]. J Virol, 2014, 88(18): 10421-10431.

[53] Du Y, Yang X, Li J, *et al*. Delivery of toll-like receptor 3 ligand poly(I:C) to the liver by calcium phosphate nanoparticles conjugated with an F4/80 antibody exerts an anti-hepatitis B virus effect in a mouse model[J]. Acta Biomater, 2021, 133: 297-307.

[54] Bardel E, Doucet-Ladeveze R, Mathieu C, *et al*. Intradermal immunisation using the TLR3-ligand poly(I:C) as adjuvant induces mucosal antibody responses and protects against genital HSV-2 infection[J]. NPJ vaccines, 2016, 1: 16010.

[55] de Souza Apostólico J, Lunardelli VAS, Yamamoto MM, *et al*. Poly(I:C) potentiates T cell immunity to a dendritic cell targeted HIV-multiepitope vaccine[J]. Front Immunol, 2019, 10: 843.

[56] Sabbaghi A, Malek M, Abdolahi S, *et al*. A formulated poly(I:C)/CCL21 as an effective mucosal adjuvant for γ-irradiated influenza vaccine[J]. Virol J, 2021, 18(1): 201.

[57] Dos-Santos JS, Firmino-Cruz L, da Fonseca-Martins AM, *et al*. Immunogenicity of SARS-CoV-2 trimeric spike protein associated to poly(I:C) plus alum[J]. Front Immunol, 2022, 13: 884760.

[58] Renu S, Feliciano-Ruiz N, Lu F, *et al*. A nanoparticle-poly(I:C) combination adjuvant enhances the breadth of the immune response to inactivated influenza virus vaccine in pigs[J]. Vaccines, 2020, 8(2): 229.

[59] Lysén A, Gudjonsson A, Tesfaye D, *et al*. [J]. Scand J Immunol, 2022, 95(3): e13128.

（编辑：王　佳）