



Применение штамма MVA вируса вакцины для создания рекомбинантных векторных вакцин против актуальных арбовирусных инфекций

Стовба Л.Ф., Кротков В.Т., Мельников С.А., Павельев Д.И.,
Черникова Н.К., Борисевич С.В.

48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации,
Сергиев Посад, Россия

Аннотация

Эпидемические трансмиссивные вирусные инфекции представляют собой серьёзную угрозу для здравоохранения многих стран. Для большинства из них отсутствуют средства специфической профилактики. В настоящее время одним из перспективных направлений борьбы с вирусными лихорадками является создание векторных вакцин, в том числе на основе штамма MVA, которые практически не вызывают побочных реакций. Безопасность штамма MVA и отсутствие реактогенности рекомбинантных вакцин, разработанных на его основе, показана в многочисленных клинических испытаниях.

В статье рассматриваются результаты испытаний подобных профилактических препаратов против вирусных лихорадок: Крымской-Конго геморрагической лихорадки, лихорадки долины Рифт, жёлтой лихорадки, лихорадки Чикунгунья и Зика.

Их иммуногенность оценивалась на иммунокомпетентных и иммунодефицитных белых мышах, а протективная эффективность — на иммунодефицитных белых мышах, дефектных по α -, β -рецепторам интерферона, на которых моделируют эту инфекцию. Почти все разработанные рекомбинантные вакцины, экспрессирующие иммунодоминантные антигены, обеспечивали 100% защитную эффективность. Показано, что, хотя вакцина, экспрессирующая структурные белки вируса Зика, индуцировала антитела против специфических вирусных гликопротеинов, её применение может вызывать опасность для профилактики лихорадки Зика у лиц, переболевших лихорадкой денге, в связи с наличием феномена антителозависимого усиления инфекции при заболеваниях, вызванных антигенно-родственными флавивирусами. По этой причине для иммунизации против лихорадки Зика разработана вакцина, экспрессирующая неструктурный белок NS-1.

Сконструированная на основе штамма MVA вакцина против жёлтой лихорадки обладала такой же иммуногенностью, что и коммерческая вакцина 17D, однако по уровню безопасности превосходила её.

Ключевые слова: вирус вакцины, штамм MVA, праймирование, бустирование, Крымская-Конго геморрагическая лихорадка, лихорадка долины Рифт, жёлтая лихорадка, лихорадка Чикунгунья, лихорадка Зика

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Стовба Л.Ф., Кротков В.Т., Мельников С.А., Павельев Д.И., Черникова Н.К., Борисевич С.В. Применение штамма MVA вируса вакцины для создания рекомбинантных векторных вакцин против актуальных арбовирусных инфекций. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(5):579–587. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-102>

Using the vaccinia virus MVA strain for developing recombinant vector vaccines against current arboviral infections

Lyudmila F. Stovba, Victor T. Krotkov, Sergey A. Melnikov, Dmitriy I. Paveliev,
Natalia K. Chernikova, Sergey V. Borisevich

48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia

Abstract

Epidemic vector-borne viral infections pose a serious threat to public health worldwide. There is currently no specific preventive treatment for most of them. One of the promising solutions for combating viral fevers is development of vector vaccines, including MVA-based vaccines, which have virtually no adverse side effects. The safety of the MVA strain and absent reactogenicity of recombinant MVA vaccines have been supported by many clinical trials.

The article focuses on test results for similar preventive products against viral fevers: Crimean-Congo hemorrhagic fever, Rift Valley fever, yellow fever, Chikungunya and Zika fevers.

Their immunogenicity was evaluated on immunocompetent and immunocompromised white mice; their protective efficacy was assessed on immunocompromised white mice deficient in IFN- α/β receptors, that are used for experimental modeling of the infection. Nearly all the new recombinant vaccines expressing immunodominant antigens demonstrated 100% protective efficacy. It has been found that although the vaccine expressing Zika virus structural proteins induced antibodies against specific viral glycoproteins, it can be associated with high risks when used for prevention of Zika fever in individuals who had dengue fever in the past, due to the phenomenon known as antibody-dependent enhancement of infection, which can occur in diseases caused by antigenically related flaviruses. For this reason, the vaccine expressing non-structural protein 1 (NS1) was developed for vaccination against Zika fever.

The yellow fever vaccine developed on the MVA platform had immunogenicity similar to that of the commercial 17D vaccine, outperforming the latter in safety.

Keywords: *vaccinia virus, MVA strain, priming, boosting, Crimean-Congo hemorrhagic fever, Rift Valley fever, yellow fever, Chikungunya fever, Zika fever*

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Stovba L.F., Krotkov V.T., Melnikov S.A., Paveliev D.I., Chernikova N.K., Borisevich S.V. Using the vaccinia virus MVA strain for developing recombinant vector vaccines against current arboviral infections. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(5):579–587. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-102>

Введение

Модифицированный вирус вакцины, штамм MVA, лицензирован как противооспенная вакцина в Европе и Канаде, в настоящее время проводятся работы по его клиническому использованию в США. Этот штамм был получен из родительского штамма Анкара, вируса вакцины, за счёт более чем 575 пассажей на фибробластах куриных эмбрионов. На протяжении этих пассажей в геноме штамма произошло множество мутаций и протяжённых делеций относительно ДНК исходного штамма, что привело к его сильной аттенуации и потере способности реплицироваться в клетках млекопитающих [1]. По проявляемой безопасности вакцины на его основе относят к противооспенным препаратам третьего поколения [2]. После отмены обязательной вакцинации против натуральной оспы популяционный иммунитет практически исчез и поэтому не препятствует применению векторных вакцин на основе вируса вакцины [3, 4]. До отмены обязательного оспопрививания штамм MVA использовался как праймирующая вакцина, которой было проиммунизировано 120 тыс. человек в Германии в 1970 г. [5]. Применение штамма MVA не вызывало системных побочных реакций и изредка сопровождалось лёгкими реакциями в месте инъекции. Его безопасность была установлена в клинических испытаниях на здоровых волонтерах 18–30 лет [6], волонтерах с сердечно-сосудистыми заболеваниями [7], в возрастной группе 56–80 лет [8], в возрасте 18–40 лет с атопическим дерматитом [9], больных туберкулёзом [10] и инфицированных

ВИЧ [11]. Это обусловило разработку векторных вакцин на основе штамма MVA против различных вирусных инфекций.

Крымская-Конго геморрагическая лихорадка

Крымская геморрагическая лихорадка, переносимая клещами *Hyalomma*, впервые описана в 1945 г., когда была установлена вирусная этиология этой инфекции [12]. Однако в 1969 г. было показано, что вирус, вызывающий это заболевание, был идентичен вирусу, выделенному в Конго в 1956 г. [13], и он получил международное название возбудителя Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ).

Ареал ККГЛ охватывает эндемичные регионы Африки, Азии и Европы. Кроме того, известны завозные случаи ККГЛ в эндемичных странах. Например, в 2012 г. в Великобритании был госпитализирован пациент с летальным исходом заболевания, возвратившийся из Афганистана [14]. Вакцина первого поколения, изготовленная в Болгарии на основе вирусосодержащей суспензии головного мозга мышей-сосунков и инактивированная хлороформом, с успехом используется в этой стране с 1974 г. Она вызывает формирование клеточного и гуморального иммунных ответов при введении только в больших дозах [15] и не нашла широкого применения в других эндемичных регионах. Недавно полученная ДНК-вакцина, экспрессирующая гликопротеин вируса ККГЛ, индуцировала специфические нейтрализующие антитела приблизительно

но у половины вакцинированных мышей [16]. Вакцина, экспрессирующая гликопротеин вируса ККГЛ в трансгенных листьях табака, индуцировала у мышей образование IgG и IgA [17].

Возможность оценки протективной активности указанных вакцин появилась только в 2010 г., когда было установлено, что взрослые мыши линии A129, дефектные по STAT-1 или α -, β -рецепторам интерферона, чувствительны к ККГЛ и могут использоваться для моделирования этой инфекции [18].

В 2014 г. появилось первое сообщение о создании и испытании рекомбинантной MVA-вакцины, экспрессирующей полноразмерный предшественник гликопротеина вируса ККГЛ — MVA-GP [14]. Вакцину вводили иммунокомпетентным 129 Sv/Ev мышам и иммунодефицитным A129 мышам, затем через 14 сут их заражали летальной дозой вирулентного вируса (таблица).

Иммунизация индуцировала гуморальный иммунный ответ, представленный в основном IgG-антителами, и клеточный ответ, специфичный к гликопротеину вируса ККГЛ. У иммунизированных мышей не отмечалось симптомов заболевания. Иммунодефицитные мыши были полностью защищены от заражения летальной дозой нативного вируса [14].

Необходимость формирования клеточного и гуморального иммунного ответа для защиты от возможного дальнейшего заражения вирулентным вирусом показана в исследованиях по пассивному переносу иммунной сыворотки и Т-лимфоцитов неиммунизированным мышам линии A129 [19].

Помимо уже испытанной вакцины, экспрессирующей вирусный гликопротеин [14], был сконструирован рекомбинантный штамм MVA со встроенным геном нуклеопротеина (NP) вируса ККГЛ. Авторы полагали, что NP как доминантный антиген, высококонсервативный у штаммов рода *Nairovirus* семейства *Bunyaviridae*, будет достойной альтернативой гликопротеину [20]. Кроме того, вакцины, экспрессирующие нуклеопротеин, обладали протективным эффектом у двух других представителей этого семейства: хантавируса (род *Hantavirus*) и возбудителя лихорадки долины Рифт (род *Phlebovirus*) [21].

Иммуногенность кандидата в вакцины MVA-NP3010 оценивали на мышах линий A129 и 129 Sv/Ev при их двукратной вакцинации. Через 14 сут их заражали летальной дозой нативного вируса. При оценке иммуногенности этого кандидата в вакцину установлено, что у всех животных вырабатывались NP-специфические антитела и NP-специфический Т-клеточный ответ. Однако, несмотря на индуцированный иммунный ответ, все мыши после последующего заражения летальной дозой нативного вируса погибли на 4–5-е сутки [20].

Следовательно, в настоящее время только конструкция MVA-GP является единственной, обла-

дающей эффективностью против ККГЛ, что делает её возможным кандидатом в вакцины.

Лихорадка долины Рифт

Вирус лихорадки долины Рифт передаётся через укусы комаров и является причиной периодических вспышек заболевания у домашнего скота и людей во многих африканских странах. После вспышек на континенте заболевание перекинулось на Аравийский полуостров. Имеется эффективная живая вакцина «Клон 13», которая применяется во многих странах Африки, но только для скота, и не разрешена к применению на людях [22].

В США в 1967 г. была создана инактивированная живая вакцина для иммунизации людей. Она представляет собой инактивированный формалином препарат пантотропного вируса (штамм Entebbe). Данная вакцина была использована для иммунизации более чем 4000 человек. У 80–85% вакцинированных наблюдался значительный уровень нейтрализующих антител через 14 дней после иммунизации. У пациентов, которые прошли полный курс иммунизации с последующей ревакцинацией, нейтрализующие антитела к вирусу долины Рифт сохранялись несколько лет [23].

Для защиты человека были разработаны кандидаты в вакцины на основе штамма MVA и ДНК-вакцины (PCMV), экспрессирующие вирусные гликопротеины (Gn/Gc) или нуклеопротеин (N) [24]. Оценка уровня и защитной эффективности индуцированного иммунного ответа, проведённая на иммунокомпетентных мышах линии BALB/c, выявила, что у мышей, иммунизированных MVA-Gn/Gc, наблюдался умеренно выраженный гуморальный и CD8⁺ Т-клеточный ответ, специфичный к вирусному гликопротеину, и только эта группа мышей была полностью защищена от заражения летальной дозой вирулентного вируса. Иммунизация ДНК-вакциной, также экспрессирующей вирусные гликопротеины, вызывала индукцию антител, сравнимую по титрам с таковой при иммунизации MVA-Gn/Gc, однако у мышей регистрировались симптомы заболевания и частичная гибель. Ни одна из вакцин, экспрессирующих нуклеопротеин, полностью не защищала животных от дальнейшего заражения летальной дозой вирулентного вируса, даже в сочетании MVA-Gn/Gc + MVA-N. Иммунизация иммунодефицитных мышей линии 129Sv/EvIFNAR^{-/-} вакциной MVA-Gn/Gc не обеспечивала их защиту от гибели при заражении летальной дозой вируса, что указывает на необходимость полноценного природного иммунитета в защите против лихорадки долины Рифт [24].

Жёлтая лихорадка

Жёлтая лихорадка — тяжёлое заболевание, переносимое комарами и эндемичное в регионах тропической Африки и Южной Америки. По данным

Результаты оценки иммунного ответа, индуцированного вакцинными препаратами на основе штамма MVA, на иммунокомпетентных и иммунодефицитных мышах
Assessment results of the immune response induced by MVA-based vaccines in immunocompetent and immunocompromised mice

Заболевание Disease	Экспрессируемые белки Expressing proteins	Индукцируемый иммунный ответ / Induced immune response				Источники литературы References	
		Гуморальный / humoral		Т-клеточный / T-cellular			
		у иммунокомпетентных мышей on immunocompetent mice	у иммунодефицитных мышей on immunocompromised mice	у иммунокомпетентных мышей on immunocompetent mice	у иммунодефицитных мышей on immunocompromised mice		
ККГП Crimean-Congo haemorrhagic fever	Гликопротеин GP Glycoprotein GP	+	+	+	+	100%	14
	Нуклеопротеин NP Nucleoprotein NP	+	+	+	+	Гибель на 4–5-е сутки Death on days 4–5	20
Лихорадка долины Рифт Rift Valley fever	Гликопротеины Gn/Gc Glycoprotein Gn/Gc	+	+	+	Нет данных No date	Частичная. У иммунокомпетентных — полная Partial. On immunocompetent — complete	24
Желтая лихорадка Yellow fever	Предшественники мембранного и оболочечного белков (prMR) Precursors of membrane and envelope proteins (prMR)	+	Нет данных No date	+	Нет данных No date	Полная Complete	27
Лихорадка Чикунгунья Chikungunya fever	С, E3, E2, 6К, E1 E3, E2	+	Нет данных No date	+	Нет данных No date	Полная Complete	30
	6К, E1	Нет данных No date	+	Нет данных No date	+	Полная Complete	29
	E3, E2	Нет данных No date	+	Нет данных No date	Нет данных No date	Частичная Partial	31
	E3, E2	Нет данных No date	+	Нет данных No date	Нет данных No date	Нет данных No date	
	E3, E2, 6К, E1	Нет данных No date	+	Нет данных No date	Нет данных No date	Нет данных No date	
Лихорадка Зика Zika fever	Премембранный (prM) и оболочечный (E) Премембрана (prM) and envelope (E)	+	+	+	Нет данных No date	Полная Complete	35
	Неструктурный белок-1 (NS-1)	+	Нет данных No date	+	Нет данных No date	У иммунокомпетентных — полная On immunocompetent — complete	34

ВОЗ, на 200 тыс. заболевших приходится 30 тыс. летальных исходов [25]. В 1937 г. была получена живая вакцина с использованием аттенуированного штамма 17D. Эта вакцина широко применяется и в настоящее время. Общее число иммунизированных составляет примерно 400 млн человек. Ранее она считалась одной из самых безопасных и иммуногенных. Однако начали отмечаться случаи поствакцинальных заболеваний с нейротропными и висцеротропными проявлениями, особенно у лиц старше 60 лет и женщин детородного возраста. Серьёзные побочные реакции, включая летальные исходы, были зарегистрированы в Исландии, Бразилии, США, Австралии и Таиланде [26]. В связи с этим возросла актуальность разработки новой, более безопасной вакцины.

Поскольку оболочечные белки играют доминирующую роль в индуцировании защитного иммунного ответа, были созданы векторные вакцины на основе двух дефектных по репликации штаммов вируса вакцины MVA и DvV, у которого делетирован ген урацил-ДНК-гликозилазы и который также относится к противооспенным вакцинам третьего поколения, экспрессирующим предшественники мембранного и оболочечного белков (pMR), т.е. белков, аутентичных экспрессируемым штаммом 17D. Обе векторные вакцины сравнивали с коммерческой живой вакциной 17D по иммуногенности и безопасности при однократной внутримышечной иммунизации мышей линии BALB/c. Уровень индуцированного иммунного ответа оценивали после внутримозгового заражения иммунизированных животных вирулентным штаммом вируса жёлтой лихорадки в дозе более 1000 ЛД₅₀ для белых мышей [27].

В результате исследований установлено, что уровень гуморального и клеточного иммунного ответа для обоих кандидатов в вакцины был таким же, как и для вакцины 17D. Клеточный иммунный ответ был представлен функционально активными CD8⁺- и CD4⁺ Т-клетками, секретирующими интерферон- γ . Оба варианта полностью защищали мышей от летального заражения вирулентным вирусом. В отличие от классической вакцины 17D, безопасность кандидатов в вакцины на основе штаммов MVA и DvV была очень высокой, что выявлено при внутримозговом введении мышам линии BALB/c очень больших доз — от 1×10^5 до 1×10^7 ЦПД₅₀. Все мыши выжили, в отличие от контрольных, которых заражали дозами от 1×10^1 до 1×10^3 ЦПД₅₀ штамма 17D, при условии, что доза 1×10^3 ЦПД₅₀ была летальной для 100% мышей. Предшествующая вакцинация мышей вирусом вакцины не влияла на результаты иммунизации против жёлтой лихорадки [27].

Таким образом, рекомбинантные вакцины на основе обоих штаммов вируса вакцины, экспрессирующие предшественники мембранного и оболочечного белков, индуцировали гуморальный и клеточный иммунный ответ, защищающий от зара-

жения летальной дозой вируса жёлтой лихорадки. Они оказались более безопасными по сравнению с коммерческой вакциной 17D [27].

Лихорадка Чикунгунья

Возбудитель лихорадки Чикунгунья, переносимый комарами рода *Aedes*, относится к семейству *Togaviridae*. Впервые инфекция описана в 1952 г. в Танзании, а вирус был выделен в 1953 г. В 2005 г. зафиксирована большая вспышка этой инфекции на острове Ла Реюньон, откуда потом заболевание распространилось в различные регионы Африки и Юго-Восточной Азии, на острова Индийского океана, в Индию, южную Европу (Италия, Франция), Карибские острова и континентальную Америку. В целом зарегистрировано около 6 млн случаев [28, 29].

В настоящее время вакцины против лихорадки Чикунгунья нет. Известно, что наиболее иммуногенными являются живые аттенуированные вакцины, однако при их использовании всегда существует риск реверсии к исходному вирулентному штамму. Поэтому векторные вакцины на основе штамма MVA рассматриваются в качестве оптимальных современных вариантов для создания вакцин против этой инфекции.

Для получения вакцинного препарата был сконструирован рекомбинантный штамм MVA, содержащий структурные гены вируса С-Е3-Е2-6К-Е1 [30]. Для оценки уровня иммунного ответа одно- и двукратно иммунизированных мышей линии C57Bl/6 заражали летальной дозой вирулентного вируса через 7 нед после последней иммунизации.

Вакцина С-Е3-Е2-6К-Е1 вызывала иммунный ответ и полностью защищала животных от заражения летальной дозой даже при однократной иммунизации, причём у животных не наблюдалось симптомов болезни. Иммунный ответ был представлен сильным полифункциональным CD8⁺ Т-клеточным ответом, направленным, в основном, против Е1 и Е2 белков и иммунной CD8⁺ Т-клеточной памятью. Иммунизация стимулировала выработку высоких титров нейтрализующих IgG антител против вируса Чикунгунья, которые увеличивались при бустерной иммунизации. Помимо специфического иммунного ответа против вируса Чикунгунья формировались полифункциональный CD8⁺ Т-клеточный ответ и Т-клеточная память против вируса вакцины. Учитывая полученные результаты, авторы разработки предложили этот препарат в качестве кандидатной вакцины для вакцинопрофилактики у людей [30].

Примерно в то же время другая группа авторов [29] оценивала иммуногенность конструкции, основанной на рекомбинантном штамме MVA, экспрессирующем Е3- и Е2-белки вируса Чикунгунья. Эффективность этой вакцины оценивалась на иммунокомпетентных мышях линии BALB/c и

иммунокомпромиссных мышцах линии A129 при одно- и двукратной иммунизации. Через 2 нед после последней вакцинации животных заражали летальной дозой вирулентного вируса. При двукратной вакцинации BALB/с мыши были полностью защищены. Исходя из полученных результатов, авторы предлагают сконструированный ими рекомбинантный штамм MVA в качестве возможного кандидата в вакцину против лихорадки Чикунгунья [29].

С целью определения доли конкретных структурных белков вируса Чикунгунья, определяющих протективную активность векторных вакцин, были созданы рекомбинантные штаммы MVA, экспрессирующие отдельные структурные белки вируса Чикунгунья: MVA-6KE1, MVA-E3E2 и MVA-E3E-26KE1 (последний образовывал вирусоподобные частицы). Эффективность этих препаратов оценивали на иммунодефицитных мышцах линии AG129, которых через 6 нед после иммунизации заражали летальной дозой вирулентного вируса Чикунгунья [31]. Рекомбинантный вариант MVA-E3E26KE1 индуцировал более высокие уровни антител по сравнению с двумя другими и защищал, как и препарат MVA-E3E2, 100% мышей от дальнейшего заражения вирулентным вирусом даже при однократной иммунизации. Рекомбинант MVA-6KE1 защищал только 75% мышей. Учитывая предшествующие данные по экспрессии E1-, E2-белков, авторы пришли к выводу, что белок E2, и особенно его В-домен, наиболее существенен для формирования полной защиты иммунизированных мышей от летального заражения вирулентным вирусом [31, 32].

В настоящее время существует несколько кандидатов в вакцины против лихорадки Чикунгунья. В 2015 г. были проведены эксперименты по оценке следующих кандидатных препаратов: аттенуированный вирус с большой делецией в репликационном гене; вакцина на основе ДНК-репликона, в котором делетирован капсидный белок, и рекомбинантная MVA-вакцина со встроенными С-E3-E2-6K-E генами, которой иммунизировали *Macaca fascicularis* при различных схемах введения. Наилучшие результаты были получены в случае применения вакцины для создания бустерного эффекта [33].

Лихорадка Зика

Вирус, вызывающий лихорадку Зика, был впервые выделен в 1947 г. в Уганде [34]. На протяжении многих лет он был известен как этиологический агент спорадических лихорадочных заболеваний в Африке. Однако в 2007 г. произошла большая вспышка лихорадки Зика на островах Микронезии, затем в 2013 г. во Французской Полинезии. После регистрации вируса в конце 2014 г. в Бразилии пандемия этой инфекции быстро распространилась на регионы Южной, Центральной Америки и

бассейна Карибского моря. Его основными переносчиками, наряду с вирусом денге и Чикунгунья, являются комары *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus*. В настоящее время случаи лихорадки Зика регистрируются в Южной и Центральной Америке, Африке и Юго-Восточной Азии и южных островах Тихого океана, что представляет потенциальную угрозу новой пандемии [34]. Кроме того, в 2015–2016 гг. зарегистрированы единичные завозные случаи заболевания в неэндемичных странах [35].

В большинстве случаев лихорадка Зика протекает бессимптомно либо в виде острого лихорадочного заболевания (без летальных исходов). В некоторых случаях у больных наблюдается неврологический синдром Гийена–Барре, встречающийся также при лихорадках денге, западного Нила и Чикунгунья. У новорождённых детей, родившихся у инфицированных женщин, отмечались случаи микроцефалии. Заражение новорождённых вирусом Зика может происходить также при вскармливании грудным молоком или переливании крови [35].

Вакцины против лихорадки Зика в настоящее время не существует. Возможность быстрого распространения этого заболевания обуславливает необходимость создания безопасного и эффективного профилактического препарата, пригодного в том числе для иммунизации беременных женщин. Поскольку безопасность штамма MVA показана в многочисленных испытаниях на волонтерах, а также на беременных макаках [36], то на его основе была сконструирована экспериментальная вакцина против лихорадки Зика (MVA-ZIKV), экспрессирующая премолекулный (prM) и структурный (E) белки вируса Зика (prM-E) [35]. Экспрессируемые белки prM-E продуцировали вирусоподобные частицы в инфицированных клетках.

Иммунизация иммунокомпетентных мышей линии BALB/с индуцировала образование нейтрализующих антител против различных штаммов вируса Зика, а также полифункциональный вирус-специфический CD8⁺ Т-клеточный ответ.

Для оценки защитной эффективности конструкции MVA-ZIKV одно- или двукратно иммунизировали иммунодефицитных IFNAR-1 (дефектные по α -, β -рецепторам интерферона) мышей, после чего через 4 нед их заражали летальной дозой вирулентного вируса [35]. Последующее бустирование значительно повышало титры вируснейтрализующих антител и значительно снижало показатели вирусемии. В течение 15 сут наблюдения все мыши оставались живыми. Исходя из полученных результатов, данная конструкция предлагается авторами для производства новой, безопасной, высокоиммунотропной и относительно недорогой вакцины против лихорадки Зика [35].

Однако при флавивирусных инфекциях значительную роль в ответе со стороны иммунной

системы человека на возбудитель играет феномен антителозависимого усиления инфекции (antibody-dependent enhancement — ADE). Феномен ADE заключается в том, что вирусспецифические антитела усиливают проникновение вируса в фагоцитирующие клетки посредством взаимодействия с рецептором FcR и/или рецепторами комплемента на поверхности фагоцитирующих клеток. Среди инфекционных процессов, вызываемых флавивирусами, феномен ADE наиболее изучен при лихорадке денге и желтой лихорадке [37, 38]. Первичная инфекция, вызванная одним из 4 вирусов денге (Д1, Д2, Д3, Д4), чаще всего протекает у человека бессимптомно и создаёт пожизненный иммунитет к вирусу серотипа, её вызвавшего. Если же он сталкивается с вирусом другого серотипа, то благодаря FcR-ADE-феномену болезнь может протекать в форме тяжёлой геморрагической лихорадки с вероятностью летальных исходов до 15%. Однако ареалы распространения лихорадки Зика и лихорадки денге в основном совпадают, что обусловлено общими переносчиками. Поскольку вирусы Зика и денге являются родственными в антигенном отношении (относятся к семейству *Flaviviridae*, роду *Flavivirus*), то антитела к вирусу денге могут усиливать инфекцию, вызванную вирусом Зика, и наоборот, антитела против гликопротеинов вируса Зика смогут утяжелять течение лихорадки денге [39].

Поэтому другой группой авторов предлагается вакцина на основе штамма MVA, экспрессирующая неструктурный белок 1 (non-structural-1 — NS-1) вируса Зика, который существует в нативной форме в инфицированных клетках [34]. Выбор NS-1 белка обусловлен также тем фактом, что против него вырабатывался протективный иммунный ответ, как и у других флавивирусов, что показано в экспериментах с использованием мышшиной модели [38]. Иммуногенность и защитную эффективность конструкции MVA-ZIKV-NS-1 оценивали на новой модели — иммунокомпетентных CD-1/ICR мышах при одно- или двукратной иммунизации. Даже после однократной иммунизации гуморальный ответ против NS-1-белка, уровень которого повышался после бустирования, полностью защищал мышей от гибели при последующем внутримозговом заражении летальной дозой вирулентного вируса при отсутствии симптомов заболевания. Через 10 дней после иммунизации у мышей выявлялся вирусспецифический CD8⁺ Т-клеточный ответ. Вирус не определялся в головном мозге иммунных мышей через 21 сут после заражения. Наличие предшествующего иммунитета к MVA-вектору не влияло на результаты иммунизации. Основываясь на этих результатах, авторы считают, что серопозитивные лица, проживающие в регионах, эндемичных по вирусу денге или другим флавивирусам, не будут подвержены развитию феномена ADE после имму-

низации вакциной ZIKV-NS-1 [34].

Результаты исследований иммуногенности вакцинных препаратов на основе штамма MVA против возбудителей арбовирусных инфекций представлены в таблице. Данные свидетельствуют о том, что рекомбинантные вакцины на основе штамма MVA обладают выраженной иммуногенностью. При встраивании генов оболочечных гликопротеинов индуцированный иммунный ответ защищал иммунодефицитных мышей от заражения заведомо летальной дозой вирулентного вируса. При встраивании других генов выявлена частичная защита животных.

Кроме того, установлено, что вакцина против жёлтой лихорадки на основе штамма MVA более безопасна по сравнению с классической аттенуированной вакциной 17D. Созданные конструкции пока испытаны только на лабораторных животных. В дальнейшем планируется оценка кандидатных препаратов в клинических испытаниях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ/REFERENCES

1. Meseda C.A., Atukorale V., Kuhn J., Schmeisser F., Weir J.P. Percutaneous vaccination as an effective method of delivery of MVA and MVA-vectored vaccines. *PLoS One*. 2016; 11(2): e149364. <https://doi.org/10.1371/journal.pone0149364>
2. Volz A., Sutter G. Modified Vaccinia virus Ankara: History, value in basic research, and current perspectives for vaccine development. *Adv. Virus Res.* 2017; 97: 187–243. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.07.001>
3. Melamed S., Israely T., Paran N. Challenges and achievements in prevention and treatment of smallpox. *Vaccines (Basel)*. 2018; 6(1): 8. <https://doi.org/10.3390/vaccines6010008>
4. Frey S.E., Winokur P.L., Salata R.A., El-Kamary S.S., Turley C.B., Walter E.B., et al. Safety and immunogenicity of IMVAMUNE® smallpox vaccine using different strategies for post event scenario. *Vaccine*. 2013; 31(29): 3025–33. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.04.050>
5. Mair A., Stickl H., Muller H.K., Danner K., Singer H. The smallpox vaccination strain MVA: marker, genetic structure, experience gained with the parenteral vaccination and behavior in organisms with a debilitated defence mechanism (author's transl). *Zentralbl. Bakteriol. B*. 1978; 167(5-6): 375–90. (in German)
6. Von Krempelhuber B., Vollmar J., Pokorny R., Rapp P., Wulff N., Petzold B., et al. A randomized, double-blind, dose-finding phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate IMVAMUNE®. *Vaccine*. 2010; 28(5): 1209–16. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.11.030>
7. Zitzman-Roth E.M., von Sonnenburg F., de la Motte S., Arndt-Wiedemann N., von Krempelhuber A., Urbler N., et al. Cardiac safety of modified vaccinia Ankara for vaccination against smallpox in a young, healthy study population. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0122653. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122653>
8. Greenberg R.N., Hay C.M., Stapleton J.T., Marbury T.C., Wagner E., Kreitmeir E., et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial investigating the safety and immunogenicity of modified vaccinia Ankara smallpox vaccine (MVA-BN®) in 56–80-year-old subjects. *PLoS One*. 2016; 11(6): e0157335. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157335>

9. Greenberg R.N., Hurley Y., Dinh V.V., Mraz S., Vera J.G., von Bredow D., et al. A multicenter, open-label, controlled phase II study to evaluate safety and immunogenicity of MVA smallpox vaccine (IMVAMUNE) in 18–40 year old subjects with diagnosed atopic dermatitis. *PLoS One*. 2015; 10(10): e0138348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138348>
10. Sander C.R., Pathan A.A., Beveridge N.E., Poulton I., Minasian A., Alder N., et al. Safety and immunogenicity of a new tuberculosis vaccine, MVA85, in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2009; 179(8): 724–33. <https://doi.org/10.1164/rccm.200809-1486oc>
11. Greenberg R.N., Overton E.T., Haas D.W., Frank I., Goldman M., von Krempelhuber A., et al. Safety, immunogenicity and surrogate markers of clinical efficacy for modified vaccinia Ankara as a smallpox vaccine in HIV-infected subjects. *J. Infect. Dis*. 2013; 207(5): 749–58. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis753>
12. Chumakov M.P. A new disease — Crimean hemorrhagic fever. In: Sokoljv A.A., Chumakov M.P., Kolachev A.A., eds. *Crimean Hemorrhagic Fever (Acute Infectious Capillary Toxicosis)*. Simferopol; 13–4.
13. Casals J. Antigenic similarity between the virus causing Crimean hemorrhagic fever and Congo virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*. 1969; 131(1): 233–6. <https://doi.org/10.3181/00379727-131-33847>
14. Buttigieg K.R., Dowall S.D., Findlay-Wilson S., Miloszevska A., Rayner E., Hewson R., et al. A novel vaccine against Crimean-Congo hemorrhagic fever protects 100% of animals against lethal challenge in a mouse model. *PLoS One*. 2014; 9(3): e91516. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091516>
15. Papa A., Papadimitriou E., Christova I. The Bulgarian vaccine Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strain. *Scand. J. Infect. Dis*. 2011; 43(3): 225–9. <https://doi.org/10.3109/00365548.2010.540036>
16. Spik K., Shurtleff A., Guttieri M.C., McElroy A.K., Hooper J.W., Schmaljohn C., et al. Immunogenicity of combination DNA vaccines for Rift Valley fever virus, tick borne encephalitis virus, Hantaan virus, and. *Vaccine*. 2006; 24(21): 4657–66. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.08.34>
17. Ghiasi S.M., Salmanian A.H., Chinicar S., Zakeri S. Mice orally immunized with a transgenic plant expressing the glycoprotein of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Clin. Vaccine Immunol*. 2011; 18(12): 2031–7. <https://doi.org/10.1128/CVI05352-11>
18. Bente D.A., Alimonti J.B., Shieh W.J., Camus G., Stroher U. Pathogenesis and immune response of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in a STAT-1 knockout mouse model. *J. Virol*. 2010; 84(21): 11089–100. <https://doi.org/10.1128/jvi.01383-10>
19. Dowall S.D., Graham V.A., Rayner E., Hunter L., Watson R., Taylor I., et al. Protective effects of modified vaccinia Ankara-based vaccine candidate against Crimean-Congo hemorrhagic require both cellular and humoral responses. *PLoS One*. 2016; 11(6): e0156637. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156637>
20. Dowall S.D., Buttigieg K.R., Findlay-Wilson S.J.D., Rayner E., Miloszevska A., Graham V.A., et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) viral vaccine expressing nucleoprotein is immunogenic but fails to confer protection against lethal disease. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2016; 12(2): 2519–27. <https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1078045>
21. Boshra H., Lorenzo G., Rodriguez F., Brun A.A. DNA vaccine encoding ubiquitinated Rift Valley fever virus nucleoprotein provides consistent immunity and protects IFNAR(–/–) mice upon lethal virus challenge. *Vaccine*. 2011; 29(27): p4469-75. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.04.043>
22. Dungu B., Louw I., Lubisi A., Hunter P., von Teichman B.F., Bouloy M. Evaluation of the efficacy and safety of the Rift Valley fever clone 13 vaccine in sheep. *Vaccine*. 2010; 28(29): 4581–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.04.085>
23. The Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety of the American Committee on Arthropod-Borne Viruses. Laboratory safety for arboviruses and certain other viruses of vertebrates. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1980; 29(6) 1359–81. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1980.29.1359>
24. López-Gil E., Lorenzo G., Hevia E., Borrego B., Eiden M., Groschup M., et al. A single immunization with MVA expressing immune-competent GnGc glycoproteins promotes epitope-specific CD8⁺-T cell activation and protects mice against a lethal RVFV infection. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2013; 7(7): e2309. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002309>
25. WHO. Yellow fever. Yellow fever. Fact sheet. No 100; 2009. Available at: <https://who.int/mediacentre/factsheets/fs100/en/>
26. Lindsey N.P., Schroeder B.A., Miller E.R., Braun M.M., Hinckley A.F., Marano N., et al. Adverse event reports following yellow fever vaccination. *Vaccine*. 2008; 26(48): 6077–82. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.09.009>
27. Schäfer B., Holzer G., Joachimsthaler A., Coulibaly S., Schwendinger M., Crove B.A., et al. Pre-clinical efficacy and safety of experimental vaccines based on non-replication vaccinia vectors against Yellow fever. *PLoS One*. 2011; 6(9): e24505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024505>
28. Burt E.J., Rolph M.S., Rulli N.E., Mahalingam S., Heise M.T. Chikungunya re-emerging virus. *Lancet*. 2012; 379(9816): 662–71. [https://doi.org/10/S0140-6736\(11\)6028-x](https://doi.org/10/S0140-6736(11)6028-x)
29. Weger-Lucarelli J., Chu H., Aliota M.T., Partidos C.D., Osorio J.E. A novel MVA vectored Chikungunya virus vaccine elicits protective immunity in mice. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2014; 8(7): e2970. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002970>
30. Garcia-Arriza J., Cepeda V., Hallengård D., Sorzano C., Kümmerer B.M., Liljestöm P., et al. A novel poxvirus-based vaccine, MVA-CHIKV, is highly immunogenic and protects mice against Chikungunya infection. *J. Virol*. 2014; 88(6): 3527–47. <https://doi.org/10.1128/jvi.03418-13>
31. Van den Doel P., Volz A., Roose J.M., Sewbalaksing V.D., Pijlman G., van Middelkoop I., et al. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing glycoprotein E2 of Chikungunya virus protects AG129 mice against lethal challenge. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2014; 8(9): 3101. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003101>
32. Weber C., Buchner S.M., Schnierle S. A small antigenic determinant of the Chikungunya virus E2 protein is sufficient to induce neutralizing antibodies which are partially protective in mice. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2015; 9(4): e0003684. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003684>
33. Roques P., Ljungberg K., Kümmerer B.M., Gosse L., Dereudre-Bosquet N., Tchitchev N., et al. Attenuated and vectored vaccines protect nonhuman primates against Chikungunya virus. *JCI Insight*. 2017; 2(6): e83527. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.83527>
34. Brault A.C., Domi A., McDonald E.M., Talmi-Frank D., McCurley N., Basun R., et al. A Zika vaccine targeting NS1 protein immunocompetent adult mice in a lethal model. *Sci. Rep*. 2017; 7(1): 14769. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15039-8>
35. Perez P., Marin M.Q., Lázaro-Frias A., de Oya N.J., Blazquez A.B., Escribano-Romero E., et al. A vaccine based on a modified vaccinia virus Ankara vector expressing Zika virus ructural proteins controls Zika virus replication in mice. *Sci. Rep*. 2018; 8(1): 17385. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35724-6>
36. Eudaileu J., Dennis M.L., Parker M.E., Phillips B.L., Huffman T.N., Bay C.P., et al. Maternal HIV-1 Env vaccination for systemic and breast milk immunity to prevent oral SHIV acquisition in infant macaques. *mSphere*. 2018; 3(1): e00505-17. <https://doi.org/10.1128/msphere.00505-17>
37. Beatty P.R., Puerta-Guardo H., Killingbeck S.S., Glasner D.R., Hopkins K., Harris E., et al. Dengue virus NS1 triggers endo-

ОБЗОРЫ

- thelial permeability and vascular leak that is prevented by NS1 vaccination. *Sci. Transl. Med.* 2015; 7(304): 304ra141. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa3787>
38. Wan S.W., Lu Y.T., Huang C.H., Lin C.F., Anderson R., Liu H.S., et al. Protection against dengue virus infection in mice by administration of antibodies against modified nonstructural

- protein 1. *PLoS One.* 2014; 9(3): e92495. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092495>
39. Kawiecki A.V., Christofferson R.C. Zika virus-induced antibody response enhances dengue virus serotype 2 replication in vitro. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(6): 1357–60. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw377>

Информация об авторах

Стовба Людмила Федоровна — к.б.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>

Кротков Виктор Тимофеевич — к.м.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7674-2321>

Мельников Сергей Алексеевич — к.б.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3497-5829>

Павельев Дмитрий Игоревич — н.с. научно-исследовательского отдела 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3204-1897>

Черникова Наталья Константиновна — к.б.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1491-6293>

Борисевич Сергей Владимирович[✉] — член-корр. РАН, д.б.н., профессор, начальник 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, 48cnii@mil.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 11.03.2020;
принята к публикации 20.05.2021;
опубликована 25.10.2021

Information about the authors

Lyudmila F. Stovba — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>

Victor T. Krotkov — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7674-2321>

Sergey A. Melnikov — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3497-5829>

Dmitriy I. Paveliev — researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3204-1897>

Natalia K. Chernikova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1491-6293>

Sergey V. Borisевич[✉] — D. Sci. (Biol.) Professor, Corresponding Member of the RAS, Head, 48 Central Scientific Research Institut of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, 48cnii@mil.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 11.03.2020;
accepted for publication 20.05.2021;
published 25.10.2021