

# Перспективы использования агонистов рецепторов врожденного иммунитета и дефектных вирусных интерферирующих частиц в качестве адьювантов нового поколения

О. А. Свитич<sup>1,2,3</sup> (sviticho@yandex.ru), В. Ф. Лавров<sup>1,4</sup>, П. И. Кукина<sup>1,2</sup>,  
А. А. Скандарян<sup>2</sup>, Л. В. Ганковская<sup>3</sup>, В. В. Зверев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

<sup>4</sup>ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России, Москва

## Резюме

Вакцины в течение многих лет выступают в качестве одних из наиболее эффективных и успешно применяемых медицинских препаратов. Добавление в состав вакцин адьювантов, как правило, существенно усиливает иммунный ответ на их введение. Установлено, что формирование поствакцинального иммунитета начинается сразу после введения вакцины путём активации факторов врожденного иммунитета при взаимодействии патоген-ассоциированных молекулярных образов в составе вакцин, с патоген-распознающими рецепторами (PRR) иммунокомпетентных клеток реципиента. Показано также, что активаторы PRR, в том числе, агонисты TOLL-подобных рецепторов (TLRs) и полинуклеотидные олигомеры инозиновой и цитидиловой кислот обладают способностью существенно увеличивать иммуногенность вакцин, в связи с чем предпринимаются попытки их использования при создании новых типов адьювантов. Дефектные интерферирующие вирусные частицы относят к группе эффективных стимуляторов врождённого иммунитета и они также могут рассматриваться в качестве перспективных вакциновых адьювантов.

**Ключевые слова:** иммунитет, вакцинация, адьюванты, VZV, RAG1, RAG2, ди-частицы, PRR, TLR, PAMP, ИФН

## Agonists of Receptors of the Innate Immunity and Defective Viral Particles as New Generation of Adjuvants

О. А. Свитич<sup>1,2,3</sup> (sviticho@yandex.ru), В. Ф. Лавров<sup>1,4</sup>, П. И. Кукина<sup>1,2</sup>, А. А. Скандарян<sup>2</sup>, Л. В. Ганковская<sup>3</sup>, В. В. Зверев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>I. I. Mechnikov Scientific Research Institute of Vaccines and Sera of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation Moscow, Russia

<sup>2</sup>Sechenov University, of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation Moscow, Russia

<sup>3</sup>Russian National Research Medical University, of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

<sup>4</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

## Abstract

Vaccines for many years act as one of the most effective and successfully used medicines. Vaccines obtained by traditional methods contain in their composition live, weakened or killed microorganisms (bacteria, viruses, etc.). Now more often, modern, split, subunit, recombinant, polyvalent and some other types of vaccines are being used. The addition of adjuvants to vaccines generally increases the immune response to their administration. It was established that the formation of postvaccinal immunity begins immediately after the introduction of the vaccine, by activating the factors of innate immunity in the interaction of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), in vaccines, with the pathogen-recognition receptors (PRRs) of the immunocompetent cells of the recipient. It is also shown that PRRs activators, including TOLL-like receptor agonists (TLRs) and poly (I:C) polynucleotide oligomers of inosine and cytidylic acids, have the ability to substantially increase the immunogenicity of vaccines, and attempts are being made to use them creation of new types of adjuvants. Defective interfering viral particles (D-particles, DIPs) are also classed as effective stimulants of innate immunity and can also be considered promising vaccine adjuvants.

**Key words:** immunity, vaccination, adjuvants, VZV, RAG1, RAG2, DIP, PRR, TLR, PAMP, IFN

**В**акцинопрофилактика инфекционных болезней относится к одному из наиболее успешных массовых мероприятий, когда либо реализованных в мировой медицинской практике.

Вакцины за многие десятилетия их использования доказали свою неоспоримую пользу в борьбе с инфекционными болезнями. Вовлечение в вакцинский процесс факторов врождённого иммунитета и активация специализированных

антиген-представляющих клеток (АПК) приводит к долговременному патоген-специальному ответу адаптивной иммунной системы. Значительная часть современных вакцин содержит в своём составе живые, искусственно ослабленные (аттенуированные) микроорганизмы или инактивированные патогены (вирусы, бактерии и др.) [1]. Живые ослабленные вакцины обладают высокой иммуногенностью и практически не опасны для вакцинируемых, однако такой тип вакцин может представлять опасность для иммунодефицитных пациентов. Убитые вакцины, как правило, не опасны для людей с иммунодефицитами, но они менее иммуногенны по сравнению с живыми препаратами и поэтому нуждаются во включении в свой состав адьювантов, способных увеличивать их иммуногенные свойства [2]. Адьюванты применяются при производстве вакцин уже свыше 80 лет. В 1932 г. впервые в качестве адьювантов были использованы соли алюминия (квасцы), только последние 20 лет стали применяться новые виды адьювантов [3, 4]. Примером препаратов с усиленной иммуногенностью за счёт введения новых типов адьювантов являются современные пандемические вакцины против гриппа А, в том числе с антигенной формулой H5N1 [5]. Так, было установлено, что препарат MF-59 (эмulsion масла-воде) обладает более выраженным адьювантым действием, чем соли алюминия, в связи с чем пандемические гриппозные вакцины, имеющие в своём составе MF-59 оказались более эффективными, чем пандемические вакцины без адьювантов или с солями алюминия в качестве адьюванта. Опыт применения вакцины против потенциально пандемического гриппа А(H5N1) показывает, что иммуногенность препарата может быть значительно усиlena с помощью соответствующего адьюванта [6, 7].

Современная практическая вакцинология решает множество задач, часть которых определяют:

- 1.** патогены, вызывающие у хозяина иммунную дисфункцию (например, ВИЧ), а также имеющие сложный жизненный цикл (малярийный плазмодий) или латентную фазу инфекции (например, туберкулёт);
- 2.** лица с повышенным риском заражения, включая новорождённых (за счёт незрелости иммунной системы), лица пожилого возраста (в связи с физиологически обусловленным снижением активности иммунитета), а также люди, страдающие хроническими заболеваниями и иммунодефицитами (A. DiPasquale с соавт. [8]).

Достижения в области иммунологии, в том числе, понимание важной роли врождённого иммунитета, а также связей между врождённым и приобретённым иммунитетом позволяют надеяться на совершенствование свойств современных вакцин. В частности, это может произойти за счёт разработки и использования новых типов

адьювантов, способных селективно активировать защитные механизмы для получения желаемого иммунного ответа к специальному патогену в конкретных популяциях. Адьюванты могут усиливать иммунный ответ на введение вакцины с помощью различных механизмов, в том числе за счёт активации гуморальных и клеточных факторов врождённого иммунитета.

Врождённый иммунитет представляет собой «первую линию защиты» от инвазии патогена, быстрое распознавание которого играет ключевую роль в последующей инициации патоген-специфического адаптивного иммунного ответа. Действие адьювантов связано со стимуляцией реакций врождённого иммунитета, путём распознавания патоген-распознающими рецепторами (PRRs – Pathogen-Recognizing Receptors) иммунокомпетентных клеток отдельных, эволюционно наиболее консервативных молекулярных структур (патогенассоциированные молекулярные паттерны – Pathogen-Associated Molecular Patterns – PAMPs) патогенных микроорганизмов. В настоящее время идентифицировано несколько PRR, в том числе детально описаны сигнальные TOLL-подобные рецепторы (TLR), RIG-I-подобные рецепторы (Retinoic Acid-Inducible Gene 1-like Receptors – RLRs), NOD-подобные рецепторы (Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Receptors – NLRs), лектиновые рецепторы типа С (C-Type Lectin Receptors – CLRs) и цитозольные сенсоры ДНК (Cytosolic DNA Sensors – CDSs). На некоторых типах антигенпрезентирующих клеток (АПК), например, дендритных клетках (ДК), экспрессируются PRRs, что позволяет им распознавать сразу несколько антигенов патогенных микробов [9, 10]. При взаимодействии PAMPs и PRRs возникают сложные сигнальные каскады, с помощью которых стимулируется продукция клетками соответствующего набора хемокинов и цитокинов, включая интерфероны, увеличивающие способность АПК представлять антиген и стимулирующие миграцию ДК в лимфоидные ткани, где происходит их встреча с Т- и В-лимфоцитами, в результате чего формируется адаптивный иммунный ответ. Зрелые ДК обладают способностью стимулировать превращение наивных CD4+Т-лимфоцитов в Т-хелперы 1 или 2 типов (Th1 или Th2), которые помогают В-лимфоцитам (плазматическим клеткам) в продукции специфических антител. Дифференцировка Т-хелперов регулируется цитокинами, например, дифференцировка наивных CD4+Т-лимфоцитов в Th1-клетки находится под контролем ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-27. Th1-ответ, как правило, развивается после заражения организма вирусами и некоторыми видами мелких бактерий с внутриклеточной локализацией, в то время как Th2-клетки преобладают в ответе на крупные внеклеточные паразиты. Так как большинство лицензированных адьювантов лучше стимулируют Th2-клеточный, чем Th1-клеточный ответ, текущая

задача заключается в разработке адьювантов, способствующих образованию Th1-лимфоцитов, что повышает эффективность вакцинации против патогенов с внутриклеточной локализацией, таких как ВИЧ и др. [11].

Агонисты PRR привлекли внимание исследователей благодаря своим выраженным иммunoстимулирующим свойствам, связанным с активацией факторов врожденного иммунитета, который, как известно, может активировать систему приобретенного (адаптивного) иммунитета. Активаторы PRRs, включая агонисты TLRs и полинозиновая : полицитидоловая кислота (поли (I:C), способны существенно повышать или даже кардинально изменять иммуногенность вакцин, в связи с чем рассматриваются в качестве перспективных молекул для создания новых типов адьювантов. Кроме того, агонисты PRRs могут быть использованы как альтернативные профилактические и терапевтические средства борьбы с инфекционными заболеваниями [12–16].

Ди-частицы (DIPs) это мутантные вирусные частицы с дефектными геномами (Defective Viral Genomes – DVGs). Некоторые из ди-частиц относятся к мощным активаторам врожденного иммунитета. Очевидная иммunoстимулирующая активность ди-частиц обусловила их использование в качестве противовирусных препаратов с узким или широким спектром действия (рассмотрено N. J. Dimmock и соавт.), а также в роли вакцинных адьювантов [17].

**Цель обзора:** показать важность роли врожденного иммунитета в формировании патоген-специфического адаптивного иммунитета; представить химические соединения, используемые при создании искусственных агонистов PRR в качестве новых, высокоэффективных типов адьювантов: указать на ряд преимуществ ди-частиц и DVGs при формировании поствакцинального иммунного ответа.

### Агонисты патоген-распознающих рецепторов: различные классы вакцинных адьювантов

Достижения последних лет в области исследования функций и структуры рецепторов врожденного иммунитета, а также их лигандов легли в основу разработки серии новых типов иммунорегуляторов, часть из которых уже используется в медицинской практике (табл. 1).

**Таблица 1.**

**Агонисты паттерн распознающих рецепторов: классы вакцинальных адьювантов [45]**

Класс PRR рецептора	RLRs	TLR4	TLR5	TLR3	TLR7	TLR9
Естественный агонист (лиганд)	Двухцепочечная РНК и др.	LPS	Флагеллин	Двухцепочечная РНК	Одноцепочечная РНК	CpG ДНК
Естественный или синтетический агонист (лиганд), используемый в качестве адьюванта в клинической практике (К) или в исследованиях (И)	Поли (I:C) и производные (И)	MPLA (К) AS01 (К) AS02 (И) AS04 (К) RC-529 (К)	Флагеллин (И)	Поли (I:C) и вариации (И)	Имиквимод (И)	CpG-богатые молекулы ДНК (И)

С учётом того, что TOLL-подобные рецепторы относятся к наиболее изученному классу PRR, для большинства новых адьювантов мишениями являются именно эти рецепторы [18–21]. У человека идентифицировано 10 TLR, которые разделены на две группы молекул:

- 1) TLRs, экспрессия которых происходит на поверхности клеток и
- 2) TLRs, имеющих внутриклеточную локализацию и экспрессирующихся на мембранах эндоцитозных везикул или других клеточных органелл.

Среди всех типов TOLL-подобных рецепторов TLR4 выделяются своими уникальными свойствами, так как способны инициировать сигнальные пути не только на клеточной поверхности, но и во внутриклеточных участках. Локализация TLRs напрямую связана с распознаваемым ими типом относительно неизменных микробных структур (Microbe-Associated Molecular Patterns – PAMPs). Так, TLRs, экспрессируемые на клеточных мембранах, могут обнаруживать компоненты бактериальных стенок, включая молекулы липидов и структуры жгутиков микробов, тогда как TLR внутриклеточных везикул – нуклеиновые кислоты вирусных геномов, в том числе, двухцепочечные (dsRNA) и одноцепочечные (ssRNA) РНК, а также CpG богатые области ДНК (см. табл. 1) [22].

Разработанные на основе агонистов TLR адьюванты, как правило, имитируют PAMPs патогенных микроорганизмов и поэтому очень эффективны против патогенов, которые при естественно протекающей инфекции активируют соответствующие PRRs. Например, TLRs играют чрезвычайно важную роль в борьбе с вирусом гепатита В (ВГВ), в частности, они участвуют в активации врожденных иммунных реакций и модуляции специфического адаптивного иммунитета к ВГВ, что имеет решающее значение для завершения инфекции. Естественные или синтетические лиганды некоторых TLRs уже сейчас находятся в составе лицензированных вакцин в качестве адьювантов. Это лиганды на основе поверхностных (TLR4/5) или эндосомальных (TLR 7/8/9) рецепторов клеток (см. табл. 1) [23, 24].

Адьювантную систему 04 (AS04) относят к одной из наиболее успешных систем. Она используется в двух лицензированных вакцинах против гепатита В

(Fendrix) и против рака шейки матки, вызываемого высоко онкогенными серотипами вируса папилломы человека (ВПЧ) 16 и 18 (Cervarix). AS04 содержит в своём составе соли алюминия и TLR4-агонист-3-O-деацилированный-4'-монофосфориллипид А (MPLA) – детоксифицированное производное липополисахарида (LPS) с сохраненной иммуностимулирующей активностью. MPLA вызывает Th1-ориентированный иммунный ответ, который по сравнению со смешанным Th1/Th2-ответом, стимулированным адьювантом, состоящим только из солей алюминия, индуцирует менее выраженную выработку провоспалительных цитокинов, чем исходная молекула липополисахарида. Как и AS04, адьювантные системы AS01 и AS02 также содержат в своём составе MPLA, но только в композиции с фракцией *Quillaja saponaria Molina 21* (сапонин QS-21) и липосомной супспензией (AS01) или масляно-водной эмульсией (AS02). AS01 входит в состав первой вакцины против малярии (*Mosquirix*), хотя изначально адьювантом для этой вакцины должен был быть AS02. Однако выяснилось, что AS01 индуцирует более выраженный антиген-специфический иммунитет к *P. falciparum* чем AS02, ввиду чего именно эта система была выбрана в качестве адьюванта [25–27].

В настоящее время проводится ряд испытаний адьювантных свойств AS01 и AS02 в составе вакцин против ВИЧ, туберкулеза, гепатита В и малярии. MPLA так же используется и в аллергологической практике, в составе вакцины *Pollinex Quattro*. Выяснилось, что MPLA способен индуцировать постvakцинальный иммунный ответ Th1-типа, для которого характерно значительное антителообразование к специфическим аллергенам у пациентов, страдающих сезонным аллергическим ринитом. В ряде стран *Pollinex Quattro* уже применяют для борьбы с аллергическим ринитом, а в клинических испытаниях изучают потенциальные возможности MPLA, как адьюванта для вакцин против лейшманиоза и герпесвирусных инфекций [28].

Аминоалкилглюказамидные 4-фосфаты (Amino-alkyl Glucosaminide 4-Phosphates – AGPs) представляют собой новый класс синтетических аналогов липида A, которые в отличие от MPLA могут быть получены с высокой степенью чистоты в виде отдельных химических единиц. RC-529 (также известный как Ribi-529) относится к семейству AGP и представляет собой полностью синтетический моносахаридный миметик MPLA. Примечательно, что за счёт добавления RC-529 иммуногенность рекомбинантной вакцины *Supervax* против гепатита В существенно увеличилась по сравнению с иммуноадьювантной версией этого препарата. В настоящее время *Supervax* обладает приемлемым уровнем безопасности и одобрен в качестве вакцины против гепатита В на территории Аргентины [29].

Несколько других лигандов TLRs продемонстрировали в клинических испытаниях довольно

высокую адьювантную активность (см. табл. 1). В частности, это относится к Imiquimod (имикви-мод; R837), принадлежащему к семейству имидазохинолина и представляющему собой небольшое синтетическое соединение, распознаваемое TLR7 в эндосомах. Имикви-мод (торговая марка *Aldara*) успешно применяется при лечении генитальных кондилом, вызываемых ВПЧ, и некоторых видов рака кожи. Возможность использования R837 в качестве вакцинного адьюванта пока изучается, однако проведенное недавно клиническое испытание показало, что предварительная обработка кожи R837 в месте инъекции значительно повышает иммуногенность трехвалентной гриппозной вакцины при её внутрикожной аппликации [30].

Синтетические олигонуклеотиды (ODN), содержащие CpG-мотивы (CpG-ODNs), потенцируют мощные иммуностимулирующие ответы, опосредованные TLR9. ODNs показали значительную адьювантную активность как в экспериментальных, так и клинических условиях. Иммуностимулирующие эффекты CpG-ODN связаны с активацией TLR9, экспрессированных на ДК и В-лимфоцитах. При этом происходит стимуляция целого ряда факторов врожденного и адаптивного иммунитета, в том числе увеличивается выработка ИФН и провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ФНО-альфа), а также увеличивается функциональная активность NK-клеток и усиливается процесс дифференцировки Th1-лимфоцитов [31]. CpG-ODNs увеличивают иммуногенность вакцины против гепатита В (*Engerix-B*) [32] и антиген-специфический иммунный ответ к возбудителю сибирской язвы [33], демонстрируют довольно высокую эффективность при лечении рака [34]. Многочисленные клинические испытания направлены на исследование потенциала CpG-ODN как адьювантов терапевтических вакцин против злокачественных опухолей, инфекционных и аллергических заболеваний [19].

И наконец, флагеллин, который является основным компонентом жгутиков бактерий, распознаваемый на клеточной поверхности TLR5, продемонстрировал многообещающую иммуностимулирующую активность в составе новых вакцин против гриппа. В частности, рекомбинантные противогриппозные вакцины, содержащие флагеллин, объединенный с гриппозными антигенами, например, с матриксным белком 2, (M2; VAX102) или гемагглютинином (HA; VAX128), стимулировали продукцию противогриппозных антител и индуцировали защиту от гриппа. Таким образом, конструирование флагеллин-адьювантных рекомбинантных противогриппозных вакцин может представлять собой перспективную технологическую модель создания вакцин нового поколения [13, 16, 35].

Несколько синтетических dsPHK были получены с целью имитации природных dsPHK-лигандов PRRs, таких как RLR и TLR3 (см. табл. 1). Среди них выделяется полининозиновая:полицитидиловая кислота (poly I:C), которая относится к мощным

активаторам продукции ИФН I типа и может представлять собой перспективный стимулятор иммунного ответа в составе вакцины. (poly I:C)-сигнал, связанный, в первую очередь, с TLR3 и MDA5, активно стимулирует клеточно-опосредованный иммунитет и продукцию ИФН I типа. Известно, что poly (I:C) весьма эффективна при стимуляции факторов системы врожденного иммунитета, однако было также показано, что сыворотка крови человека, обладающая относительно высоким уровнем ферментативной активности, может вызывать быстрый гидролиз и инактивацию данной кислоты. С целью отмены инактивирующего эффекта было использовано poly-ICLC – производное poly (I:C), стабилизированное поли-L-лизином и карбоксиметилцеллюлозой, что существенно улучшило фармакокинетические свойства poly (I:C) с сохранением иммуностимулирующей активности родительской молекулы. Препарат poly (I:C) /poly-ICLC вызывает сильный Th1-иммунный ответ у мышей и низших приматов. Поскольку продукция ИФН 1 типа тесно связана с активацией Th1-ответа, а интерфероны являются контролирующими факторами дифференцировки Th2 (J. P. Huber с соавт. [11]) считается, что способность синтетических dsРНК индуцировать Th1-иммунитет связана с их хорошо известными возможностями стимулировать продукцию ИФН. [36] Эффективность poly (I:C)/poly-ICLC в качестве адьюванта в составе вакцин против ВИЧ-инфекции в настоящее время изучается; проводятся клинические испытания, также исследуются эффективность и переносимость поли-ICLC в качестве антиретровирусного препарата [37].

### Иммуностимулирующая активность дефектных интерферирующих частиц

В настоящее время лишь небольшая часть лигандов PRRs может претендовать на роль вакцинных адьювантов. Следовательно, разработка новых типов адьювантов и понимание механизмов действия уже известных природных агонистов PRRs может быть перспективной областью исследований, целью которой является расширение молекулярного разнообразия химических структур данного класса. Помимо агонистов PRRs к категории сильных активаторов врождённого иммунитета относят дефектные интерферирующие вирусные частицы, ди-частицы с отрицательно-полярной нитью РНК. Они также могут рассматриваться в качестве высокоэффективных вакцинных адьювантов и даже имеют определённые преимущества перед агонистами TLRs. [38, 39]

Есть мнение, что ди-частицы появляются спонтанно, из-за ошибок, совершаемых вирусными полимеразами, однако с помощью геномного и функционального анализов было показано, что случайное появление ди-частиц маловероятно. Ди-частицы имеют дефектные геномы (DVGs), в которых хотя бы один из генов отсутствует полностью или частично, что приводит к потере функции

вирионов. В результате, у ди-частиц нарушается процесс репликации, ввиду отсутствия у них необходимого для успешной репликации гена/генов. Следовательно, ди-частицы способны реплицироваться в результате коинфекции, только вместе с диким вирусом (вирусом «помощником»), который обеспечивает утраченные ди-частицами функции. Ди-частицы вирусов называют «интерферирующими», из-за создания ими помех при репликации вируса дикого типа. Благодаря малому размеру, DVGs имеют конкурентное преимущество в скорости репликации и, следовательно, могут быть быстрее синтезированы вирусной полимеразой. После нескольких циклов репликации количество копий DVGs превосходит число копий вируса дикого типа (обзор A. C. Marriott с соавт. [40]). Впервые способность ди-частиц «вмешиваться» в процессы репликации диких вирусов была описана в 40-х годах XX столетия на примере вируса гриппа. Образование ди-частиц было изучено более детально на модели РНК-содержащих вирусов, так как их РНК-зависимая РНК-полимераза часто «делает ошибки» при репликации. Однако ди-частицы не являются особенностью только РНК-содержащих вирусов, так как в принципе все вирусы способны допускать спонтанные ошибки в процессе репликации. DVGs были выделены у представителей нескольких семейств, в том числе, *Rhabdoviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Paramyxoviridae*, *Papillomaviridae*, *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Tombusviridae*, бактериофагов и т.д. (N. J. Dimmock с соавт. [17]). Хотя накопление DVGs было довольно быстро продемонстрировано *in vitro*, первоначальные попытки их обнаружения при естественно протекающих инфекциях не дали желаемого результата, в связи с чем было выдвинуто предположение, что DVGs, вероятно, относятся к категории лабораторных артефактов. Достижения в области молекулярных технологий, в частности, метод глубокого секвенирования помог преодолеть технологические трудности в дифференцировке геномов вирусов дикого типа и DVGs, что позволило выявить дефектные геномы при ряде вирусных заболеваний человека. Впервые DVGs были выделены у пациентов с вирусными гепатитами [41] и позже, у пациентов с лихорадкой Денге [42], гриппом А [43] и респираторно-синцитиальной инфекцией [38]. В настоящее время больше всего известно об иммуностимулирующей активности ди-частиц вирусов с отрицательно-полярной нитью РНК, в частности вирусов гриппа и парамиксовирусов, включая вирусы Сендей (SeV), парагриппа 5 (PIV5) и респираторно-синцитиальный вирус человека (RSV). Усиление иммуногенности с помощью ди-частиц вирусов с положительно-полярной нитью РНК (+ssРНК), двуцепочечной РНК (dsРНК) и ДНК-содержащих вирусов, как явление изучено мало, поэтому здесь обращается внимание в первую очередь на ди-частицы вирусов

с отрицательно-полярной нитью РНК, у которых есть два основных типа ди-геномов:

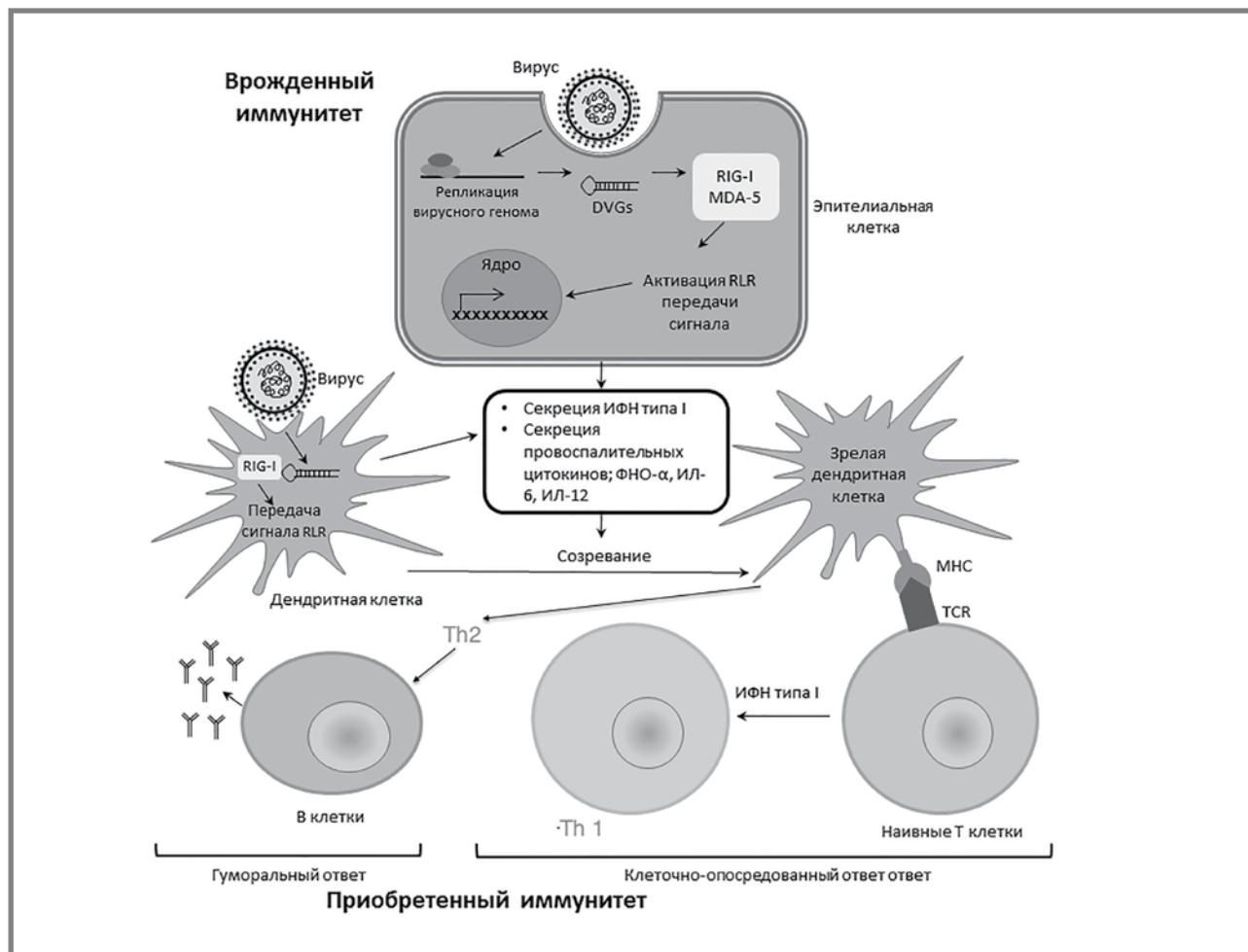
- 1) «copyback» DVGs, состоящие из сегмента вирусного генома и оригинального конца, за которым следуют инвертированный повтор этого сегмента и конец последовательности;
- 2) DVGs, содержащие внутренние делеции, но при этом сохраняющие последовательности своих 3'-начала (leader, Le) и 5'-конца (trailer, Tr) и, таким образом, производящие продукты вирусной трансляции [38, 44].

Ди-частицы вирусов с отрицательно-полярной нитью РНК индуцирует клеточные иммунные ответы, стимулируя появление мощных сигналов от внутриклеточных RLRs, а именно RIG-I и белка, ассоциированного с геном дифференцировки меланомы 5 (MDA-5), которые относятся к хеликазам и экспрессируются в большинстве типов клеток (рис. 1). В ряде исследований было установлено, что геномы «copyback» доминируют в ИФН-индуцирующих ди-популяциях парамиксовирусов, поэтому можно предположить, что в этих коротких дефектных геномах присутствуют уникальные вторичные структуры РНК, которые, вероятно,

оказывают влияние на их иммуностимулирующие свойства, хотя 5'-дифосфаты или 5'-трифосфаты (5'-PPP), связанные со специфическими одноцепочечными или двухцепочечными РНК-мотивами, известны как стимуляторы передачи сигнала от RLR (SeV DVG). Недавно были выявлены естественные вирусные РНК-мотивы, служащие энхансерами PAMPs и промоторами образования сильной стимуляции RLR. Добавление структур 5'-кэп или удаление 5'-PPP существенно снижает, но не исключает способности DVGs индуцировать продукцию ИФН, что указывает на то, что структура последовательностей DVG также очень важна для эффективной активации передачи сигнала от RLR. Несмотря на то, что у вируса гриппа не образуются DVGs «copyback», а обнаружены только внутренние делеции, ди-геномы вируса гриппа также способны стимулировать передачу сигнала от RIG-I. Механизм этого явления ещё предстоит выяснить [45].

Взаимодействие RLRs тесно связано со стимуляцией врожденного иммунного ответа, особенно с продукцией ИФН 1 типа, вызывающего мощный противовирусный эффект, индуцируя широкий спектр ИФН-стимулированных генов (ISGs).

**Рисунок 1.**  
**Основные механизмы противовирусного иммунитета**



Таким образом, клеточный интерфероновый ответ имеет два пути:

- 1)** путь индукции ИФН и
- 2)** сигнальный путь ИФН.

Воздействие на PRRs активирует несколько нисходящих киназных каскадов, которые необходимы для фосфорилирования ИФН-регуляторного фактора 3 (IRF3) и ядерного фактора транскрипции NF-κB, которые транслоцируются в ядро с целью индукции промотора ИФН, после чего инфицированные клетки начинают секретировать ИФН, который связывается с рецептором ИФН на поверхности пораженных вирусом и неинфицированных клеток и опосредует активацию сигнальных путей ИФН. Эти пути также известны как сигнальные пути активированных Янус-киназ (JAK)/сигнальные пути преобразователей сигнала и активаторов транскрипции (STAT – Signal Transducer and Activator of Transcription). Таким образом, включение ИФН α/β рецептора (IFNAR – Interferon-α/β Receptor) его лигандом приводит к фосфорилированию STAT1 и STAT2, которые димеризуются и транслоцируются в ядро клетки. В ядре STATs связываются с регуляторным фактором интерферона 9 (IRF9) для образования ИФН-стимулированного гена (ISG) фактора транскрипции 3 (ISGF3), регулирующего экспрессию сотен ISGs. Большинство ISGs кодируют продукты с дискретным противовирусным действием. [46, 47] Учитывая, что DVGs вирусов с отрицательно-полярной нитью РНК являются хорошими активаторами RLR-передачи сигнала, не удивительно, что ди-частицы, содержащие эти DVGs, также являются мощными индукторами ИФН в культурах клеток и *in vivo*. Всё это позволяет предполагать, что ди-частицы в первую очередь отвечают за инициацию врожденного иммунного ответа во время репликации, в том числе, парамиксовирусов. В частности, DVGsSeV формируются в легких мышей на пике репликации вируса гриппа, а наличие этих геномов совпадает с индукцией ИФН I типа. Также показано, что рекомбинантный PIV5, которому не хватает функционального белка V (называемого PIV5-VDC), является вирусным антагонистом ИФН, слабо активирующем клеточный интерфероновый ответ, в то время как обогащенный ди-частицами препарат PIV5-VDC сильно активирует индукцию ИФН I типа.

Недавно проведенное исследование показало, что DGVs являются основными активаторами противовирусных реакций в легких человека при респираторно-синцитиальной инфекции, что является первым доказательством важной биологической роли естественно появившихся DVGs при парамиксовирусной инфекции человека. В некоторых случаях противовирусная активность ди-частиц оказывается сильно зависимой от системы ИФН. Например, широкий спектр противовирусной активности ди-частиц вируса гриппа А (244 ди-вирус) почти исчезает при отсутствии системы ИФН I типа.

В частности, доклинические исследования продемонстрировали, что способность 244 ди-вируса защищать мышей от других, помимо гриппа А, респираторных вирусов (например, вирусов пневмонии мышей и гриппа В) требует присутствия ИФН I типа, так как мыши, лишенные рецепторов к ИФН I типа оказались хуже защищены от вирусного воздействия [38, 48–50].

Способность DVG РНК-содержащих вирусов с отрицательной полярностью инициировать индукцию каскада ИФН не зависит от репликации вируса, потому что DVG некоторых парамиксовирусов, включая PIV5 и вирус эпидемического паротита, могут индуцировать продукцию ИФН I типа при отсутствии синтеза белка и, следовательно, без инфицирующего вируса, поскольку синтез белка является абсолютным условием для репликации генома парамиксовирусов. Однако, возможно, что иммуностимулирующая активность DVGs требует синтеза РНК. В таком случае следует отметить, что вирус болезни Ньюкасла, инактивированный облучением УФ и таким образом лишённый патогенности, но сохранивший способность индуцировать ИФН, также имел возможность синтезировать РНК, в то время под воздействием больших доз УФ лишило вирус способности синтезировать РНК, либо индуцировать продукцию ИФН. Эти данные свидетельствуют о том, что активация вирусом ИФН-ответа требует синтеза РНК, возможно потому, что синтезируемая ди-частиц вирусная РНК служит матрицей для образования высоко иммуногенных типов двухцепочечных РНК. Все ранее проведенные исследования подтверждают, что DVGs обладают выдающейся способностью стимулировать противовирусный иммунный ответ в присутствии высокоспецифичных вирусных антагонистов независимо от наличия ИФН I типа или репликации вируса, показывая, что присутствие ди-частиц вирусов с отрицательно-полярными нитями РНК является решающим в исходе инфекции [48-51].

Ди-частицы не только активируют ИФН, но также стимулируют дополнительные виды иммунной защиты (см. рис. 1). Например, обогащенные ди-частицами препараты SeV могут эффективно индуцировать созревание мышиных и человеческих дендритных клеток. Это связано с усилением регуляторной активности таких цитокинов как TNF-альфа, ИЛ-6 и ИЛ-12p40, что свидетельствует о созревании ДК. Этот механизм является ИФН- и TLR- независимым, но требующим передачи сигналов через молекулы RIG-I и MDA-5, подчеркивая важность передачи RLR-сигналов для иммуногенности ди-частиц. SeV ди-частиц также способствуют активации Т-лимфоцитов, регулируя процесс экспрессии кластера дифференцировки 86 (CD86) и молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (MHC II) на ДК. Более того, агонист RIG-I, полученный из SeV (DVG-324), повышает способность ДК активировать специфические адаптивные иммунные ответы *in vivo*,

стимулируя активацию продуцирующих ИФН γCD8+ Т-лимфоцитов и увеличивая продукцию антител. В совокупности ди-частицы запускают процесс созревания ДК и успешно повышают антиген-специфический иммунитет к патоген-ассоциированным антигенам [52–54].

Иммуногенность встречающихся в природе дефектных геномов, таких как те, что были выделены при SeV-инфекции, была исследована *in vitro* и *in vivo*. Примечательно, что агонист RIG-I, полученный из SeV РНК (IVT DI; *in vitro* транскрибированный SeV DI) индуцирует ответ Th1-типа, повышая иммуногенность инактивированной пандемической вакцины против вируса гриппа A(H1N1)09 при иммунизации мышей. Интересно, что рекомбинантные SeV РНК представляют собой безбелковые антигены, но всё еще обладающие иммуностимулирующими свойствами с неизвестным сигнальным путём к RIG-I РНК. Положительные результаты этих исследований, показывают, что природные агонисты RIG-I являются перспективными кандидатами на роль адьювантов молекул [53, 54].

Несмотря на то, что ди-частицы являются мощными индукторами врожденного иммунитета, синтетические двухцепочечные РНК, включая последовательности, полученные из DVG с отрицательно-полярными цепями вирусных РНК, привлекли внимание как вакцинныe адьюванты, возможно потому, что эти молекулы можно легко выделить в виде неинфекционных фрагментов РНК. Значительное число ди-частиц нашли применение в используемых в настоящее время живых аттенуированных вакцинах против полиовируса, вирусов кори и гриппа.

Получение новой информации о роли данных естественных РНК в иммуногенности вакцин может помочь оценить их адьюванную активность и, возможно, в дальнейшем использовать в качестве химически закрепленных вакцинных адьювантов. Основная проблема, возникающая в связи с добавлением убитых вакцин с ди-частицами заключается в том, что DIPs не должны содержать примеси дикого штамма. Одним из способов достижения этого является размножение ди-частиц в клеточных линиях, которые экспрессируют недостающий вирусный генный продукт(ы) для помощи в структурировании и репликации ди-частиц в отсутствие инфекционного вируса. В нормальных клетках эти мутантные DIPs будут неспособны к репликации, потому что их дефектные геномы будут высвобождаться в инфицированной клетке без возможности копировать себя и генерировать вирусное потомство. Такие рекомбинантные ди-частицы были бы не заразны и имели бы несколько преимуществ по сравнению с идентифицированными в настоящее время естественными или синтетическими двухцепочечными РНК. Во-первых, ди-частицы содержат все необходимые вирусные компоненты для естественного проникновения в клетки, а затем способны активировать врожденный иммунитет посредством

передачи сигнала через PRR. Ди-частиц сочетают иммуностимулирующую активность и эффективность систем-носителей. Было обнаружено, что даже небольшое число «copyback» DVG PIV5 способны успешно активировать врожденный иммунитет хозяина, что указывает на то, что ди-частицы, во первых, обладают высокой иммуногенностью. Во-вторых, они сочетают безопасность убитых вирусных вакцин и иммуногенность живых вирусных вакцин; могут быть генетически модифицированы для стимулирования желаемого иммунного ответа на целевой патоген. В-третьих, ди-частицы все еще способны к инкапсуляции своих дефектных геномов для формирования высокостабильных структур. Кроме того, по сравнению с идентифицированными в настоящее время агонистами TLR рекомбинантные ди-частицы (особенно экспрессируемые вирусами ssRNA) будут иметь одно важное преимущество – они распознаются RLR, которые экспрессируются почти в каждом типе клеток. Для сравнения, TLR экспрессируются во всех иммунокомpetентных клетках человека, но менее широко представлены в клетках не гемопоэтического происхождения. Ди-частицы будут распознаваемы в качестве PAMP в каждой клетке, которую они инфицируют и, следовательно, с большей вероятностью будут потенцировать сильные иммунные ответы при различных способах иммунизации [55, 56].

Хотя ди-частицы имеют вирусное происхождение, их использование в составе вакцин не ограничивается борьбой с вирусными заболеваниями. DIPs могут применяться в качестве иммуностимуляторов в вакцинах против других инфекционных агентов (бактерий и возбудителей паразитарных инфекций) и онкозаболеваний. Более того, учитывая, что все вирусы, независимо от типа их генома (например, одно- или двухцепочечные РНК, ДНК с отрицательно- или положительно полярной нитью), способны генерировать ди-частицы, возможно, что разные DIPs могут служить триггерами для различных типов PRR в зависимости от происхождения ди-частиц. В связи с этим необходимо отметить, что PAMPs ДНК-содержащих вирусов, такие как 2'3'-циклический гуанозинмонофосфат (cGMP; Cyclic Guanosine Monophosphate – cGAMP) имеет большой потенциал в качестве адьюванта при внутрикожной аппликации вакцин. Таким образом, cGAMP связывает стимулятор генов ИФН (STING), который затем активирует врожденные иммунные ответы, включая продукцию ИФН I типа. Это означает, что DIPs могут активировать различные факторы врожденного иммунитета, увеличивая вероятность активации желаемых иммунных ответов на конкретный тип патогена.

В заключении необходимо отметить, что существующие в настоящее время данные говорят о том, что ди-частицы являются мощными активаторами врожденного иммунитета, и поэтому представляют собой чрезвычайно перспективную

группу иммуностимулирующих молекул, которые можно будет использовать в качестве кандидатов в адьюванты нового класса [57]. Усиление иммуногенности вакцин путём использования соответствующих адьювантов должно снизить в её составе количество иммуногена, необходимого для индукции защитного иммунитета, что несет практическую и экономическую выгоду. Фактически первая цель стратегической программы CDC в отношении массовой вакцинации на 2016–2020 гг. заключается в контроле заболеваемости или их ликвидации с целью снижения

смертности и инвалидности во всем мире с помощью вакцин с ди-частицами [58].

Существует также потребность в разработке вакцин с более определенным составом, что крайне необходимо для улучшения принятия вакцинации общественностью. Недоверие к вакцинам – это растущая угроза успеху глобальных программ вакцинации. В связи с этим недавно разработанные адьюванты, включая потенциально и с ди-частицами, с четко определенной иммуностимулирующей активностью ускорят разработку вакцин нового поколения с еще более выраженным соотношением пользы и риска.

## Литература

- Ribeiro C. M., Schijns V. E. Immunology of vaccine adjuvants. *Methods Mol. Biol.* 2010; 626: 1–14.
- Eibl M. M., Wolf H. M. Vaccination in patients with primary immune deficiency, secondary immune deficiency and autoimmunity with immune regulatory abnormalities. *Immunotherapy* 2015; 7: 1273–1292.
- Glenny A. T., Barr M. The precipitation of diphtheria toxoid by potash alum. *J. Pathol. Bacteriol.* 1931; 34: 131–138.
- Tong N. K. C., Beran J., Kee S. A., Miguel J. L., Sánchez C., Bayas J. M. et al. Immunogenicity and safety of an adjuvanted hepatitis B vaccine in pre-hemodialysis and hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2005; 68: 2298–2303.
- Baz M., Luke C. J., Cheng X., Jin H., Subbarao K. H5N1 vaccines in humans. *Virus Res.* 2013; 178: 78–98.
- Stephenson I., Nicholson K. G., Colegate A., Podda A., Wood J., Ypma E., Zambon M. Boosting immunity to influenza H5N1 with MF59-adjuvanted H5N3 A/Duck/Singapore/97 vaccine in a primed human population. *Vaccine* 2003; 21: 1687–1693.
- Лабжинов П. А., Святич О. А., Ганковская Л. В., Зверев В. В. Оценка экспрессии генов компонентов врожденного иммунитета в лейкоцитах мышей при действии синтетических лигандов *in vivo*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013; 6: 76–80.
- Di Pasquale A., Preiss S., Tavares Da Silva F., Garçon N. Vaccine adjuvants: from 1920 to 2015 and beyond. *Vaccines* 2015; 3: 320–343.
- Goubaud D., Deddouche S., Reis e Sousa C. Cytosolic sensing of viruses. *Immunity* 2013; 38: 855–869.
- Жигалкина П. В., Святич О. А. Потенциальная роль регуляторных РНК (lncRNA) во врожденном иммунитете. В сборнике: Глобализация научных процессов сборник статей Международной научно-практической конференции. Киров; 2016: 9–12.
- Huber J. P., Farrar D. J. Regulation of effector and memory T-cell functions by type I interferon. *Immunology*. 2011; 132: 466–474.
- Лабжинов П. А. Оценка эффективности влияния синтетических лигандов TLRs на экспрессию генов TLR9 и BD-2 в лейкоцитах мышей линии BALB/C. В сборнике: Наука и современность сборник статей Международной научно-практической конференции. Сызрань; 2016: 9–12.
- Кукина П. И., Святич О. А. Новые подходы в оценке регуляции экспрессии генов TLR. В сборнике: Наука и современность сборник статей Международной научно-практической конференции. Сызрань; 2016: 6–9.
- Mogensen T. H. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2009; 22: 240–273.
- Mifsud E. J., Tan A. C. L., Jackson D. C. TLR agonists as modulators of the innate immune response and their potential as agents against infectious disease. *Front. Immunol.* 2014; 5.
- Ковалчук Л. В., Святич О. А., Ганковская Л. В., Мироншиченкова А. М., Ганковский В. А. Роль toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2012; 2: 147–153.
- Dimmock N. J., Easton A. J. Defective interfering influenza virus RNAs: Time to reevaluate their clinical potential as broad-spectrum antivirals? *J. Virol.* 2014; 88: 5217–5227.
- Gutjahr A., Tiraby G., Perouzel E., Verrier B., Paul S. Triggering Intracellular Receptors for Vaccine Adjuvantation. *Trends Immunol.* 2016; 37: 573–587.
- Apostolico J. D. S., Lunardelli V. A. S., Coirada F. C., Boscardin S. B., Rosa D. S. Adjuvants: classification, modus operandi, and licensing. *J. Immunol. Res.* 2016; 2016: 1–16.
- Hedayat M., Netea M. G., Rezaei N. Targeting of Toll-like receptors: A decade of progress in combating infectious diseases. *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11: 702–712.
- Dowling J. K., Mansell A. Toll-like receptors: The swiss army knife of immunity and vaccine development. *Clin. Transl. Immunol.* 2016; 5: e85.
- Kawai T., Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ.* 2006; 13: 816–825.
- Ma Z., Zhang E., Yang D., Lu M. Contribution of Toll-like receptors to the control of hepatitis B virus infection by initiating antiviral innate responses and promoting specific adaptive immune responses. *Cell. Mol. Immunol.* 2015; 12: 273–282.
- Лабжинов П. А. Влияние синтетических лигандов TLRs на показатели экспрессии генов TLR9 и BD-2 *in vivo*. В сборнике: Влияние науки на инновационное развитие сборник статей международной научно-практической конференции. Екатеринбург; 2017: 9–12.
- Garçon N., Chomez P., Van Mechelen M. GlaxoSmithKline Adjuvant Systems in vaccines: Concepts, achievements and perspectives. *Expert Rev. Vaccines* 2007; 6: 723–739.
- Kester K. E., Cummings J. F., Ofori-Anyanam O., Ockenhouse C. F., Krzych U., Moris P. et al. Randomized, Double-Blind, Phase 2a trial of falciparum malaria vaccines RTS,S/AS01B and RTS,S/AS02A in malaria-naïve adults: safety, efficacy, and immunologic associates of protection. *J. Infect. Dis.* 2009; 200: 337–346.
- Leroux-Roels G., Leroux-Roels I., Clement F., Ofori-Anyanam O., Lievens M., Jongert E. et al. Evaluation of the immune response to RTS,S/AS01 and RTS,S/AS02 adjuvanted vaccines: Randomized, double-blind study in malaria-naïve adults. *Hum. Vaccines Immunother.* 2014; 10: 2211–2219.
- Rosewich M., Lee D., Zielen S., Pollinex Quattro: An innovative four injections immunotherapy In allergic rhinitis. *Hum. Vaccines Immunother.* 2013; 9: 1523–1531.
- Dupont J., Altclas J., Lepetic A., Lombardo M., Vázquez V., Salgueira C. et al. A controlled clinical trial comparing the safety and immunogenicity of a new adjuvanted hepatitis B vaccine with a standard hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2006; 24: 7167–7174.
- Lebwohl M., Dinehart S., Whiting D., Lee P. K., Tawfik N., Jorizzo J. et al. Imiquimod 5% cream for the treatment of actinic keratosis: Results from two phase III, randomized, double-blind, parallel group, vehicle-controlled trials. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004; 50: 714–721.
- Krieg A. M. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2006; 5: 471–484.
- Cooper C. L., Davis H. L., Morris M. L., Efler S. M., Adhami M. A., Krieg A. M. et al. CPG 7909, an immunostimulatory tlr9 agonist oligodeoxynucleotide, as adjuvant to Enerix-B HBV vaccine in healthy adults: a double-blind Phase I/II study. *J. Clin. Immunol.* 2004; 24: 693–701.
- Yu Y.-Z., Ma Y., Xu W.-H., Wang S., Sun Z.-W. Combinations of various CpG motifs cloned into plasmid backbone modulate and enhance protective immunity of viral replicon DNA anthrax vaccines. *Med. Microbiol. Immunol.* 2015; 204: 481–491.
- Krieg A. M. Toll-like receptor 9 (TLR9) agonists in the treatment of cancer. *Oncogene* 2008; 27: 161–167.
- Turley C. B., Rupp R. E., Johnson C., Taylor D. N., Wolfson J., Tussey L., Kavita U. et al. Safety and immunogenicity of a recombinant M2e-flagellin influenza vaccine (STF2.4xM2e) in healthy adults. *Vaccine* 2011; 29: 5145–5152.
- Longhi M. P., Trumppheller C., Idoyaga J., Caskey M., Matos I., Kluger C. et al. Dendritic cells require a systemic type I interferon response to mature and induce CD4+ Th1 immunity with poly IC as adjuvant. *J. Exp. Med.* 2009; 206: 1589–1602.
- Gajewski T. F. Failure at the effector phase: Immune barriers at the level of the melanoma tumor microenvironment. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 5256–5261.
- Sun Y., Jain D., Kozlowski C. J., Genoyer E., Gilbert M., Tapia K. et al. Immunostimulatory defective viral genomes from respiratory syncytial virus promote a strong innate antiviral response during infection in mice and humans. *PLoS Pathog.* 2015; 11: e1005122.
- Сергеев О. В. Рецепторные взаимодействия вируса клетки как начальный этап инфицирования. Вопросы вирусологии. 2011; 56 (4): 4–8.
- Marriott A. C., Dimmoch N. J. Defective interfering viruses and their potential as antiviral agents. *Rev. Med. Virol.* 2010; 20: 51–62.
- Yuan T. T., Lin M. H., Chen D. S., Shih C. A. defective interference-like phenomenon of human hepatitis B virus in chronic carriers. *J. Virol.* 1998; 72: 578–584.
- Li D., Lott W. B., Lowry K., Jones A., Thu H. M., Aaskov J. Defective interfering viral particles in acute dengue infections. *PLoS ONE* 2011; 6: e19447.
- Saira K., Lin X., DePasse J. V., Halpin R., Twaddle A., Stockwell T. et al. Sequence analysis of *in vivo* defective interfering-like RNA of influenza A (H1N1) pandemic virus. *J. Virol.* 2013; 87: 8064–8074.

44. Vasou A., Sultanoglu N., Goodbourn S., Randall R. E., Kostrikis L. G. Targeting pattern recognition receptors (PRR) for vaccine adjuvantation: from synthetic PRR agonists to the potential of defective interfering particles of viruses. *Viruses*. 2017; 9: 186.
45. Baum A., Sachidanandam R., Garcia-Sastre A. Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 107: 16303–16308.
46. Schoggins J. W., Rice C. M. Interferon-stimulated genes and their antiviral effector functions. *Curr. Opin. Virol.* 2011; 1: 519–525.
47. Свич О. А., Ковальчук Л. В., Банковская Л. В., Лавров В. Ф., Геразиева В. Б., Парфенова Т. М., Конищева А. Ю., Головин Г. Г., Лабжинов П. А. Аналитический подход в изучении противовирусного и иммуномодулирующего действия препаратов на модели герпесвирусной инфекции *in vitro*. Российский иммунологический журнал. 2013; 7(4): 377 – 384.
48. Scott P. D., Meng B., Marriott A. C., Easton A. J., Dimmock N. J. Defective interfering influenza A virus protects *in vivo* against disease caused by a heterologous influenza B virus. *J. Gen. Virol.* 2011; 92: 2122–2132.
49. Besednova N. N., Makarenko I. D., Zvyagintseva T. N., Imbs T. I., Somova L. M., Zaporozhets T. S. Antiviral activity and pathogenetic targets for seaweed sulfated polysaccharides in herpesvirus infections. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B: Biomedical Chemistry*. 2016; 10(1): 31–42.
50. Фам Ч. Ф., Сидоров А. В., Милованова А. В., Антонова Т. П., Лисаков А. Н., Нагиева Ф. Г. и др. В. Новый подход к диагностике varicella zoster-вирусной инфекции с использованием ПЦР в режиме реального времени. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; 15 (5): 52–58.
51. Killip M. J., Young D. F., Precious B. L., Goodbourn S., Randall R. E. Activation of the beta interferon promoter by paramyxoviruses in the absence of virus protein synthesis. *J. Gen. Virol.* 2012; 93: 299–307.
52. Yount J. S., Gitlin L., Moran T. M., López C. B. MDA5 participates in the detection of paramyxovirus infection and is essential for the early activation of dendritic cells in response to Sendai Virus defective interfering particles. *J. Immunol.* 2008; 180: 4910–4918.
53. Mercado-Lopez X., Cotter C. R., Kim W. K., Sun Y., Munoz L., Tapia K., Lopez C. B. Highly immunostimulatory RNA derived from a Sendai virus defective viral genome. *Vaccine* 2013; 31: 5713–5721.
54. Martínez-Gil L., Goff P. H., Hai R., García-Sastre A., Shaw M. L., Palese P. A Sendai virus-derived RNA agonist of RIG-I as a virus vaccine adjuvant. *J. Virol.* 2013; 87: 1290–1300.
55. Killip M. J., Young D. F., Ross C. S., Chen S., Goodbourn S., Randall R. E. Failure to activate the IFN-beta promoter by a paramyxovirus lacking an interferon antagonist. *Virology* 2011; 415: 39–46.
56. McClure R., Massari P. TLR-Dependent Human Mucosal Epithelial Cell Responses to Microbial Pathogens. *Front. Immunol.* 2014; 5: 386.
57. Wang J., Li P., Wu M. X. Natural STING Agonist as an «ideal» adjuvant for cutaneous vaccination. *J. Investig. Dermatol.* 2016; 136: 2183–2191.
58. CDC. CDC's Strategic Framework for Global Immunization, 2016–2020; CDC: Atlanta, GA, USA; 2016.

## References

- Ribeiro C. M., Schijns V. E. Immunology of vaccine adjuvants. *Methods Mol. Biol.* 2010; 626: 1–14.
- Eibl M. M., Wolf H. M. Vaccination in patients with primary immune deficiency, secondary immune deficiency and autoimmunity with immune regulatory abnormalities. *Immunotherapy*. 2015; 7: 1273–1292.
- Glenny A. T., Barr M. The precipitation of diphtheria toxoid by potash alum. *J. Pathol. Bacteriol.* 1931; 34: 131–138.
- Tong N. K. C., Beran J., Kee S. A., Miguel J. L., Sánchez C., Bayas J. M. et al. Immunogenicity and safety of an adjuvanted hepatitis B vaccine in pre-hemodialysis and hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2005; 68: 2298–2303.
- Baz M., Luke C. J., Cheng X., Jin H., Subbarao K. H5N1 vaccines in humans. *Virus Res.* 2013; 178: 78–98.
- Stephenson I., Nicholson K. G., Colegate A., Podda A., Wood J., Ypma E., Zambon M. Boosting immunity to influenza H5N1 with MF59-adjuvanted H5N3 A/Duck/Singapore/97 vaccine in a primed human population. *Vaccine* 2003; 21: 1687–1693.
- Labzhinov P. A., Svitich O. A., Gankovskaya L. V., Zverev V. V. Evaluation of expression of innate immunity component genes in mice leukocytes under the effect of synthetic ligands *in vivo*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii. [Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology]*. 2013; 6: 76–80 (in Russian).
- Di Pasquale A., Preiss S., Tavares Da Silva F., Garcon N. Vaccine adjuvants: from 1920 to 2015 and beyond. *Vaccines* 2015; 3: 320–343.
- Goubau D., Deddouche S., Reis e Sousa C. Cytosolic sensing of viruses. *Immunity* 2013; 38: 855–869.
- Zhigalkina P. V., Svitich O. A. The potential role of regulatory RNA (lncRNA) in innate immunity. *V sbornike: Globalizatsiya nauchnyih protsessov sbornik statey Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. [In the collection: Globalization of scientific processes, a collection of articles of the International Scientific and Practical Conference]. Kirov; 2016: 9–12 (in Russian).*
- Huber J. P., Farrar D. J. Regulation of effector and memory T-cell functions by type I interferon. *Immunology*. 2011; 132: 466–474.
- Labzhinov P. A. Evaluation of efficiency of synthetic TLRs ligands on the expression of TLR9 and BD-2 genes in leukocytes of BALB/C mice. *V sbornike: Nauka i sovremennost sbornik statey Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. [In the collection: Science and modernity, a collection of articles of the International Scientific and Practical Conference]. Sizran; 2016: 9–12 (in Russian).*
- Kukina P. I., Svitich O. A. New approaches in evaluation of the regulation of TLR gene expression. *V sbornike: Nauka i sovremennost sbornik statey Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. [In the collection: Science and modernity, a collection of articles of the International Scientific and Practical Conference]. Sizran; 2016: 6–9 (in Russian).*
- Mogensen T. H. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2009; 22: 240–273.
- Mifsud E. J., Tan A. C. L., Jackson D. C. TLR agonists as modulators of the innate immune response and their potential as agents against infectious disease. *Front. Immunol.* 2014; 5.
- Kovalchuk L. V., Svitich O. A., Gankovskaya L. V., Miroshnichenkova A. M., Gankovskii V. A. The role of toll-like receptors in pathogenesis of human infection. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i ego zdorove». [Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and His Health»]*. 2012; 2: 147–153 (in Russian).
- Dimmock N. J., Easton A. J. Defective interfering influenza virus RNAs: Time to reevaluate their clinical potential as broad-spectrum antivirals? *J. Virol.* 2014; 88: 5217 – 5227.
- Gutjahr A., Tiraby G., Perouzel E., Verrier B., Paul S. Triggering Intracellular Receptors for Vaccine Adjuvantation. *Trends Immunol.* 2016; 37: 573 – 587.
- Apostolico J.D.S., Lunardelli V.A.S., Coirada F.C., Boscardin S.B., Rosa D.S. Adjuvants: Classification, Modus Operandi, and Licensing. *J. Immunol. Res.* 2016; 2016: 1 – 16.
- Hedayat M., Netea M.G., Rezaei N. Targeting of Toll-like receptors: A decade of progress in combating infectious diseases. *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11: 702 – 712.
- Dowling J.K., Mansell A. Toll-like receptors: The swiss army knife of immunity and vaccine development. *Clin. Transl. Immunol.* 2016; 5: e85.
- Kawai T., Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ.* 2006; 13: 816 – 825.
- Ma Z., Zhang E., Yang D., Lu M. Contribution of Toll-like receptors to the control of hepatitis B virus infection by initiating antiviral innate responses and promoting specific adaptive immune responses. *Cell. Mol. Immunol.* 2015; 12: 273 – 282.
- Labzhinov P.A. Effect of synthetic TLRs ligands on the expression of TLR9 and BD-2 genes *in vivo*. *V sbornike: Vliyanie nauki na innovatsionnoe razvitiye sbornik statey mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. [In the collection: The influence of science on innovative development, a collection of articles of an international scientific and practical conference]. Ekaterinburg; 2017: 9 – 12. (in Russian)*
- Garçon N., Chomez P., Van Mechelen M. GlaxoSmithKline Adjuvant Systems in vaccines: Concepts, achievements and perspectives. *Expert Rev. Vaccines* 2007; 6: 723–739.
- Kester K. E., Cummings J. F., Ofori-Anyinam O., Ockenhouse C. F., Krzych U., Moris P. et al. Randomized, Double-Blind, Phase 2a trial of falciparum malaria vaccines RTS,S/AS01B and RTS,S/AS02A in malaria-naïve adults: safety, efficacy, and immunologic associates of protection. *J. Infect. Dis.* 2009; 200: 337–346.
- Leroux-Roels G., Leroux-Roels I., Clement F., Ofori-Anyinam O., Lievens M., Jongert E. et al. Evaluation of the immune response to RTS,S/AS01 and RTS,S/AS02 adjuvanted vaccines: Randomized, double-blind study in malaria-naïve adults. *Hum. Vaccines Immunother.* 2014; 10: 2211–2219.
- Rosewich M., Lee D., Zielen S. Pollinex Quattro: An innovative four injections immunotherapy In allergic rhinitis. *Hum. Vaccines Immunother.* 2013; 9: 1523–1531.
- Dupont J., Altcas J., Leptic A., Lombardo M., Vázquez V., Salgueira C. et al. A controlled clinical trial comparing the safety and immunogenicity of a new adjuvanted hepatitis B vaccine with a standard hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2006; 24: 7167–7174.
- Lebwohl M., Dinehart S., Whiting D., Lee P. K., Tawfik N., Jorizzo J. et al. Imiquimod 5% cream for the treatment of actinic keratosis: Results from two phase III, randomized, double-blind, parallel group, vehicle-controlled trials. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004; 50: 714–721.
- Krieg A. M. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2006; 5: 471–484.
- Cooper C. L., Davis H. L., Morris M. L., Efler S. M., Adhami M. A., Krieg A. M. et al. CPG 7909, an immunostimulatory tlr9 agonist oligodeoxynucleotide, as adjuvant to Engerix-B HBV vaccine in healthy adults: a double-blind Phase I/II study. *J. Clin. Immunol.* 2004; 24: 693–701.
- Yu Y.-Z., Ma Y., Xu W.-H., Wang S., Sun Z.-W. Combinations of various CpG motifs cloned into plasmid backbone modulate and enhance protective immunity of viral replicon DNA anthrax vaccines. *Med. Microbiol. Immunol.* 2015; 204: 481–491.
- Krieg A. M. Toll-like receptor 9 (TLR9) agonists in the treatment of cancer. *Oncogene* 2008; 27: 161–167.
- Turley C. B., Rupp R. E., Johnson C., Taylor D. N., Wolfson J., Tussey L., Kavita U. et al.. Safety and immunogenicity of a recombinant M2e-flagellin influenza vaccine (STF2.4xM2e) in healthy adults. *Vaccine* 2011; 29: 5145–5152.

36. Longhi M. P., Trumpheller C., Idoyaga J., Caskey M., Matos I., Kluger C. et al. Dendritic cells require a systemic type I interferon response to mature and induce CD4+ Th1 immunity with poly IC as adjuvant. *J. Exp. Med.* 2009; 206: 1589–1602.
37. Gajewski T. F. Failure at the effector phase: Immune barriers at the level of the melanoma tumor microenvironment. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 5256–5261.
38. Sun Y., Jain D., Kozioł-White C. J., Genoyer E., Gilbert M., Tapia K. et al. Immunostimulatory Defective Viral Genomes from Respiratory Syncytial Virus Promote a Strong Innate Antiviral Response during Infection in Mice and Humans. *PLoS Pathog.* 2015; 11: e1005122.
39. ergeyev O. V. Receptor virus-cell interactions as an initial stage of infection. *Voprosy virusologii. [Problems of Virology]*. 2011; 56(4): 4 – 8. (in Russian)
40. Marriott A. C., Dimmock N. J. Defective interfering viruses and their potential as antiviral agents. *Rev. Med. Virol.* 2010; 20: 51–62.
41. Yuan T.T., Lin M.H., Chen D.S., Shih C. A. defective interference-like phenomenon of human hepatitis B virus in chronic carriers. *J. Virol.* 1998; 72: 578–584.
42. Li D., Lott W. B., Lowry K. J., Jones A., Thu H. M., Aaskov J. Defective interfering viral particles in acute dengue infections. *PLoS ONE* 2011; 6: e19447.
43. Saira K., Lin X., DePasse J. V., Halpin R., Twaddle A., Stockwell T. et al. Sequence Analysis of In Vivo Defective Interfering-Like RNA of Influenza A H1N1 Pandemic Virus. *J. Virol.* 2013; 87: 8064–8074.
44. Vasou A., Sultanoglu N., Goodbourn S., Randall R. E., Kostrakis L. G. Targeting Pattern Recognition Receptors (PRR) for Vaccine Adjuvancement: From Synthetic PRR Agonists to the Potential of Defective Interfering Particles of Viruses. *Viruses.* 2017; 9: 186.
45. Baum A., Sachidanandam R., Garcia-Sastre A. Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 107: 16303–16308.
46. Schoggins J.W., Rice C.M. Interferon-stimulated genes and their antiviral effector functions. *Curr. Opin. Virol.* 2011; 1: 519–525.
47. Svitich O. A., Kovalchuk L. V., Gankovskaya L. V., Lavrov V. F., Gervazieva V. B., Parfenova T. M. et al. Analytical approach to study of antiviral and immunomodulating drugs on the model of herpes infection in vitro. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal. [Russian Immunological Journal]*. 2013; 7 (4): 377–384 (in Russian).
48. Scott P. D., Meng B., Marriott A. C., Easton A. J., Dimmock N. J. Defective interfering influenza A virus protects in vivo against disease caused by a heterologous influenza B virus. *J. Gen. Virol.* 2011; 92: 2122–2132.
49. Besednova N. N., Makarenko I. D., Zvyagintseva T. N., Imbs T. I., Somova L. M., Zaporozhets T. S. Antiviral activity and pathogenetic targets for seaweed sulfated polysaccharides in herpesvirus infections. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B: Biomedical Chemistry.* 2016; 10(1): 31–42.
50. Pham H. Ph., Sidorov A. V., Milovanova A. V., Antonova T. P., Lisakov A. N., Nagieva F. G. et al. New Approach for Diagnostics of VZV Infection by Using Real-Time PCR. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika. [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15 (5): 52–58 (in Russian).
51. Killip M. J., Young D. F., Precious B. L., Goodbourn S., Randall R.E. Activation of the beta interferon promoter by paramyxoviruses in the absence of virus protein synthesis. *J. Gen. Virol.* 2012; 93: 299–307.
52. Yount J. S., Gitlin L., Moran T. M., López C. B. MDA5 participates in the detection of paramyxovirus infection and is essential for the early activation of dendritic cells in response to Sendai Virus defective interfering particles. *J. Immunol.* 2008; 180: 4910–4918.
53. Mercado-Lopez X., Cotter C. R., Kim W. K., Sun Y., Munoz L., Tapia K., Lopez C. B. Highly immunostimulatory RNA derived from a Sendai virus defective viral genome. *Vaccine* 2013; 31: 5713–5721.
54. Martínez-Gil L., Goff P. H., Hai R., García-Sastre A., Shaw M. L., Palese P. A Sendai virus-derived RNA agonist of RIG-I as a virus vaccine adjuvant. *J. Virol.* 2013; 87: 1290–1300.
55. Killip M. J., Young D. F., Ross C. S., Chen S., Goodbourn S., Randall R.E. Failure to activate the IFN-beta promoter by a paramyxovirus lacking an interferon antagonist. *Virology* 2011; 415: 39–46.
56. McClure R., Massari P. TLR-Dependent Human Mucosal Epithelial Cell Responses to Microbial Pathogens. *Front. Immunol.* 2014; 5: 386.
57. Wang J., Li P., Wu M.X. Natural STING Agonist as an «ideal» adjuvant for cutaneous vaccination. *J. Investigig. Dermatol.* 2016; 136: 2183 – 2191.
58. CDC. CDC's Strategic Framework for Global Immunization, 2016–2020; CDC: Atlanta, GA, USA, 2016.

## ИНФОРМАЦИЯ ВОЗ

### В 2017 г. число случаев кори в Европе выросло в четыре раза по сравнению с предыдущим годом

Пресс-релиз от 19 февраля 2018 г. (с сокращениями).

Корь возвращается в Европейский регион ВОЗ (ЕРБ/ВОЗ). В 2017 г. было зарегистрировано 21 315 случаев кори с 35 летальными исходами, тогда как в 2016 г. отмечалось рекордно низкое число случаев этого заболевания — 5273.

«Каждый новый случай кори в Европе напоминает нам о том, что не вакцинированные дети и взрослые, где бы они ни жили, остаются в группе риска инфицирования и сами могут способствовать дальнейшему распространению болезни. Свыше 20 000 случаев кори и 35 потерянных жизней за один лишь 2017 г. – это настоящая трагедия, и мы не можем смириться с такой ситуацией, – заявила директор Европейского регионального бюро ВОЗ д-р Z. Jakab. – Элиминация кори и краснухи – наша приоритетная задача, которую обязались выполнить все страны Европейского региона, и краеугольный камень для достижения связанных со здоровьем Целей устойчивого развития. Нынешний краткосрочный регресс никак не отразится на нашей твердой решимости защитить наших детей, раз и навсегда положив конец этим болезням».

#### Крупные вспышки кори затронули каждую четвертую страну в Европейском регионе

Резкий рост числа случаев кори, в том числе крупные вспышки болезни (100 и более случаев), отмечался в 15 из 53 государств-членов ЕРБ/ВОЗ. Больше пострадали Румыния (5562 случая), Италия (5006 случаев) и Украина (4767 случаев). В последние годы эти страны столкнулись с целым рядом трудностей, включая снижение общего охвата плановой иммунизацией, стабильно низкий охват иммунизацией лиц из маргинализированных групп, перебои в поставках вакцин и неэффективную работу систем эпиднадзора.

Крупные вспышки заболеваний, многие из которых были практически устранены к концу 2017 г., также отмечались в Греции (967 случаев), Германии (927 случаев),

Сербии (702 случая), Таджикистане (649 случаев), Франции (520 случаев), Российской Федерации (408 случаев), Бельгии (369 случаев), Соединенном Королевстве (282 случая), Болгарии (167 случаев), Испании (152 случая), Чехии (146 случаев) и Швейцарии (105 случаев).

Страны предпринимают комплексные меры для того, чтобы положить конец нынешним вспышкам и не допустить возникновения новых. Такие меры включают: повышение информированности общественности; иммунизацию работников здравоохранения и других взрослых из групп особого риска; устранение препятствий для получения прививки; улучшение планирования и материального обеспечения поставок вакцин.

#### Несмотря на рост заболеваемости, в Регионе по-прежнему отмечается прогресс

Начатый в 2012 г. процесс верификации элиминации кори и краснухи в отдельных странах вносит немалый вклад в достижение Регионом элиминации этих болезней. Каждый год независимая Региональная комиссия по верификации анализирует данные об элиминации, предоставляемые странами Региона, и мероприятия в области иммунизации и на основании этого рекомендует меры для устранения проблем, с которыми сталкиваются конкретные государства-члены. По состоянию на конец 2016 г., эндемичную передачу кори прервали 42 из 53 стран Региона. В то же время, вспышки болезни будут продолжаться до тех пор, пока надлежащую защиту не получит каждый ребенок и взрослый из группы риска.

Отчет о ходе реализации Плана действий в Регионе будет представлен на шестьдесят восьмой сессии Европейского регионального комитета ВОЗ в сентябре 2018 г.

Источник: <http://www.who.int/>

