

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ КОРЕВЫЕ ВАКЦИНЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКЦИНАЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Ляшенко В.А.

ГУ НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова РАМН, Москва

**Резюме.** В обзоре рассмотрены различные варианты коревой вакцины, которые могут быть подразделены на две группы: 1) вакцины, не содержащие живой вирус кори; 2) живая коревая вакцина, применяемая необычным способом.

Первая группа включает ДНК-вакцины, рекомбинантные вакцины, кодирующие синтез коревого гемагглютинина и белка слияния (fusion), а также пептидные вакцины, содержащие фрагменты упомянутых вирусных белков. Перечисленные варианты вакцины были эффективны в опытах на животных, но не были испытаны на человеке. Ко второй группе относятся, прежде всего, коревые мукозные живые вакцины (аэрозольная и интраназальная), эффективность которых была подтверждена при иммунизации детей и взрослых добровольцев. Мукозная коревая вакцина вызывает местное образование IgA коревых антител – наряду с индукцией синтеза циркулирующих IgM и IgG антител.

Второй вариант представляет собой живую коревую вакцину, применяемую в сочетании с иммуномодулятором. Создание данного варианта было обосновано известными сведениями о транзитном иммунодепрессивном эффекте живой коревой вакцины. Экспериментальный вариант представляет собой смесь живой коревой вакцины с иммуномодулирующим пептидом МП-2, предохраняющем Т-лимфоциты от подавляющего их функции вируса.

Обзор содержит сведения о механизмах иммунизирующего и побочного действия коревых вакцин.

*Ключевые слова:* виды вакцины, корь, антитела, лимфоциты.

*Liashenko V.A.*

## EXPERIMENTAL MEASLES VACCINES: A RESEARCH TOOL IN VACCINATION EVENTS

**Abstract.** The review article considers different variants of measles vaccine that may be classified into two groups, i.e., vaccines that do not contain viable measles virus, and attenuated measles vaccines which could be employed in unusual manner.

The first group includes DNA-vaccines, recombinant vaccine strains encoding synthesis of measles hemagglutinin and fusion protein, as well as peptide vaccines containing molecular fragments of these proteins. The mentioned variants of vaccines were effective in animal experiments, but they have not been tested in humans. The second group includes live attenuated mucosal measles vaccines applied in combination with immunomodulator(s), as aerosol and intranasally. Efficiency of these vaccines was tested and confirmed by immunization of children and adults. Mucosal measles vaccine induces local production of IgA measles antibodies, along with induced synthesis of circulating IgM and IgG antibodies against measles. The latter experimental variant could be a live attenuated measles vaccine containing some immunity-modulating

### **Адрес для переписки:**

Ляшенко Всеволод Андреевич  
ГУ НИИ вакцин и сывороток  
им. И.И. Мечникова РАМН  
Лаборатория детских вирусных инфекций  
отдела вирусологии  
115088, Москва, ул. 1-я Дубровская, д. 15  
Тел.: (495) 674-01-99  
E-mail: docavtor1@yandex.ru

agent. Elaboration of these variant was based on the known data about transient immunosuppressive activity of measles vaccine. An appropriate experimental variant represents a mixture of attenuated measles vaccine and synthetic immunomodulating agent (MP-2 peptide) which protects T-lymphocytes from inhibitory effect of the measles virus. In present revue, some data are presented concerning the mechanisms of immunogenic activity and adverse effects of measles vaccines. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 1, pp 7-14)

В настоящее время, согласно рекомендации ВОЗ, плановая иммунизация детей живой коревой вакциной (ЖКВ) привела к значительному снижению заболеваемости корью и должна в течение ближайших лет привести к практическому исчезновению данной инфекции. Преамбулой к этому явилось интенсивное исследование вариантов коревой вакцины, отличающихся от ЖКВ по составу, методам изготовления и введения в организм.

Альтернативные коревые вакцины удобно подразделить на две большие группы:

1) вакцины, не содержащие живого аттенуированного вируса кори (ДНК-вакцины, живые рекомбинантные и субъединичные пептидные вакцины);

2) вакцины на основе живой аттенуированной коревой (ЖКВ) – мукозные или усиленные иммуномодулятором.

Вопрос о возможности создания вакцины на основе одного или немногих антигенов вируса кори был исследован посредством созданных ДНК-вакцин (т.е. плазмид, способных проникать в клетки иммунизируемого организма и кодировать в них синтез того или иного антигена, например, коревого гемагглютинина – НА). Совокупность исследований показала, что полноценная иммунная реакция может быть вызвана ДНК-вакциной, кодирующей даже не всю молекулу, а N-концевой участок НА [10]. В ряде исследований было показано, что ДНК-вакцины, кодирующие НА или белок слияния клеток (fusion – F-белок), а также оба упомянутых фактора, могут индуцировать создание продолжительного иммунитета, защищающего человекообразных обезьян или хлопковых крыс от заражения вирусом кори, т.е. от развития коревого бронхита или пневмонии [15, 18, 28, 34, 52, 55, 61]. Кроме прямой защиты, для оценки иммуногенности препаратов применяли определение титров коревых антител (в том числе – вирус-нейтрализующих), а также – накопление в организме специфических цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), поражающих клетки, зараженные вирусом кори (MV). Следует отметить, что различные плазмиды НА-ДНК индуцировали синтез как циркулирующего, так и экспрессированного на поверхности клеток НА. Во втором варианте ДНК-вакцина была эффективнее; по-видимому, экспрессирующие НА клетки могли выполнять функцию антигенпрезентирующих [57].

Иммунный ответ, индуцируемый ДНК-вакцинами, отличается некоторыми особенностями. Так, молодые мыши отвечали на НА-ДНК заметным образованием CTL и IFN $\gamma$ , что соответствовало реакции Т-хелперов 1-го типа (Th1). ЖКВ вызывала подобную реакцию преимущественно у взрослых мышей [35].

Интересно различие в примирующей активности НА-ДНК и F-ДНК для обезьян макака ре-зус. При разрешающей инъекции ЖКВ обезьяны, примированные НА-ДНК, отвечали снижением уровня IL-12 и повышением IL-4. F-ДНК готовила обезьян к ответу по типу Th1, связанному с индукцией синтеза IFN $\gamma$  [46]. Данное наблюдение позволяет предположить, что сочетание НА-ДНК и F-ДНК все же выгоднее в качестве вакцины, чем индивидуальный препарат. Отмечено также, что не все белки MV могут действовать в качестве вакцины – так, не всегда эффективна ДНК-вакцина, кодирующая нуклеокапсид MV [52].

В случае использования рекомбинантных коревых вакцин ДНК- или РНК-последовательности, кодирующие НА или F коревого вируса вводили экспериментальным животным в составе генома различных микроорганизмов. Удачным носителем оказался вирус осповакцины [23, 28, 59, 63], но были также использованы вирус парагриппа [24], аденовирус [54], *Str. gondii* [34], различные энтеробактерии – для орального применения [27, 30, 45], вакцина БЦЖ [62].

Общий результат испытания рекомбинантных вакцин показал их достаточно высокую эффективность: кодирование синтеза НА и F вируса кори в прививаемых микроорганизмах вызывало у животных продолжительный синтез антител к MV и появление специфических CTL. Была также продемонстрирована длительная защита привитых мышей от экспериментального коревого панэнцефалита [23], а человекообразных обезьян – от коревой пневмонии [56]. Защита мышей была в большей степени связана с включением в геном микроорганизма гена НА MV, в меньшей степени – генов F или нуклеопротеина MV [60]. Отмечено, что количество включаемого в геном носителя гена НА MV может колебаться в широких пределах – без изменения иммуногенных свойств вакцины. Очевидно, речь идет о размножении в организме мышей вируса-носителя (осповакцины), что и определяет эффективность рекомбинантных коревых вакцин.

Оригинальный вариант рекомбинантной коревой вакцины – включение соответствующих ДНК-последовательностей в геном моркови [16]. Речь идет о кодировании полиэпитопа, включающего Т-клеточный эпитоп тетанотоксоида и В-клеточный эпитоп НА MV. Измельченный рекомбинантный корнеплод при внутривибриальном введении вызывал у мышей образование антител против MV.

Учитывая опыт успешной иммунизации животных рекомбинантными вакцинами, кодирующими различные белки MV [17], исследователи обратились к варианту создания чисто пептидных

вакцин, содержащих эпитопы известных проективных коревых антигенов – HA и F [31, 37]. Данные исследования были связаны с более подробным изучением структуры и функции отдельных иммуногенных пептидов MV.

Подробно был исследован пептид HA MV. Полноценность антител, синтез которых был индуцирован пептидом, зависела от фрагмента HA, имеющего форму «лупы» и содержащего три остатка цистеина (381, 386 и 394). Была создана конструкция, включающая два пептида MV, распознаваемых Т-лимфоцитами, и один пептид-«лупу», распознаваемый В-лимфоцитами. Иммунизация мышей данной пептидной конструкцией индуцировала иммунный ответ против MV, развитие которого не могло быть заторможено присутствием в организме антител против MV. В принципе, подобная вакцина могла бы быть использована для иммунизации детей раннего возраста, в организме которых могут циркулировать материнские противокоревые антитела [33].

В дальнейшем была исследована иммунизирующая способность (для мышей и крыс) молекул, включающих упомянутую конструкцию из пептидов MV, конъюгированную со столбнячным или дифтерийным анатоксином. Животные, примированные таким препаратом, в дальнейшем отвечали синтезом антител, специфичных к HA вируса на последующую инъекцию ЖКВ [49].

Таким образом, было установлено, что фрагменты HA и F белков MV могут действовать как самостоятельные вакцины, причем теоретически известная роль Т-лимфоцитов в индукции размножения и дифференцировки В-лимфоцитов – предшественников антител-образующих клеток – была в данном случае убедительно подтверждена.

В перечисленных случаях речь шла о пептидах, распознаваемых рецепторами активированных Т- и В-лимфоцитов. Между тем, первичный иммунный ответ на Т-зависимые антигены начинается с экспрессии комплекса антигенного пептида и HLA-рецептора на поверхности антиген-презентирующей клетки (дендритной, макрофага или В-лимфоцита). Именно этот комплекс и распознается первично Т-лимфоцитом [12]. Новые технические возможности (появление метода масс-спектрометрии) позволило исследовать вопрос о пептидах, включающихся в комплекс со специальной структурой HLA-рецептора. Изучение именно этих пептидов обозначило принципиально новое направление в конструировании пептидных вакцин [47].

Прежде всего, авторы данного направления провели подробный анализ соотношения между гаплотипом детей по HLA-рецепторам первого

и второго класса и уровнем образования антител против MV после коревой вакцинации. Были выявлены аллели, сцепленные с повышенной вероятностью нулевого или, напротив, сверхсильного ответа на вакцинацию MV [48]. Далее, авторы уточнили аминокислотные последовательности в структуре рецепторов HLA второго класса в случаях, которые были связаны с низким уровнем образования коревых антител (аллели DQA и DQB), показав протеономическую основу генетического разнообразия иммунного ответа на MV [51].

Используя клетки крови донора, обладающего способностью к усиленному образованию коревых антител (HLA-DRB1), авторы получили моноклональную культуру антиген-презентирующих В-лимфоцитов, которая была в дальнейшем использована для выделения из HLA-рецепторов презентруемых ими пептидов MV [40].

В частности, после инкубации упомянутой культуры лимфоцитов с MV из клеток были выделены белки HLA, а из последних – 19-членный пептид, соответствующий пептиду фосфопротеина MV. Таким же образом был выделен пептид, являющийся фрагментом нуклеопротеина MV [43]. Синтезированные пептиды того же состава обладали специфической биологической активностью в тестах *in vitro*, проводимых в культуре мононуклеаров крови от доноров, иммунизированных MV. В частности, была отмечена способность пептидов вызывать размножение лимфоцитов или синтез цитокинов – IFN $\gamma$  и IL-4 [41, 42].

Пока что остается неясным, в какой мере HLA-связанные вирусные пептиды, идентифицированные и накопленные путем химического синтеза, могли бы составить основу для новой коревой вакцины, но попытка авторов использовать совершенно новый путь для ее разработки, несомненно, представляет большой интерес. Перечисленные экспериментальные вакцины не были использованы для иммунизации человека.

Экспериментальные коревые вакцины второй группы (включающие ЖКВ) были предназначены прежде всего для индукции иммунной реакции на уровне слизистых оболочек (мукозный иммунитет). Использование ЖКВ в мукозном варианте, т.е. при введении на слизистую носа или аэрозольным методом – через верхние дыхательные пути – было исследовано как в эксперименте, так и при вакцинации ЖКВ детей и взрослых добровольцев. Общий вывод авторов сводится к тому, что данный метод вакцинации не уступает подкожному по эффективности [13, 20, 22, 50]. Преимуществами метода являются безопасность и ареактогенность процедуры иммунизации [20, 25], а также – возможность создать иммунитет «входных ворот».

Исследования мукозной ЖКВ позволили подробнее охарактеризовать некоторые особенности мукозного иммунитета в целом. Испытание мукозной коревой вакцины в клинике проводилось одновременно с экспериментальной работой. Общие положения относительно действия мукозных вакцин выглядят следующим образом:

- введение на слизистую вакцины вызывает генерализованный иммунный ответ, в том числе – синтез циркулирующих IgG антител, но в первую очередь – местный иммунный ответ, связанный с синтезом IgA антител клетками, расположенными в поверхностном слое слизистой [38];

- миграция активированных лимфоцитов из области воздействия вакцины обеспечивает вовлечение в процесс и других участков мукозной иммунной системы, благодаря чему IgA антитела обнаруживаются в сыворотке крови.

В эксперименте иммунный ответ может быть воспроизведен при внесении на слизистую отдельных белков MV или кодирующих эти белки ДНК-вакцин. Так, было показано, что внесение нуклеопротеина MV на слизистую рта мышей вызывает быстрое накопление дендритных клеток в ткани слизистой, которое сопровождается появлением CD8(+)CTL. Последние обладают способностью образовать IFN $\gamma$  в ответ на воздействие нуклеопротеина MV *in vitro* [26].

В связи с опытами оральной или назальной иммунизации возник вопрос об использовании адъювантов, воздействующих на состояние слизистой оболочки. В качестве таковых упоминаются: ADP-рибозилированные энтеротоксины – холерный и термочувствительный токсин *E. coli* [44], синтетические дезоксирибонуклеотиды, липид А монофосфорил [29]. Была также предложена коревая вакцина, содержащая вирусные антигены и адъювант протоллин – липополисахарид *Shigella flexneri 2a*, предназначенная для интраназального введения [19], но попытки ее применения были прерваны ввиду опасности побочного действия.

Опыт применения ЖКВ как мукозной вакцины показал, что слизистые различных органов не равноценны как источник иммунокомпетентных клеток. Наиболее эффективными оказались аэрозольный или интраназальный путь введения ЖКВ [5].

Особенностью иммунного ответа на интраназальное введение ЖКВ является раннее (через 7 дней) появление антител в назальных смывах, где они обнаруживаются до 30 дня наблюдения [3, 7].

Аэрозольный метод ревакцинации школьников ЖКВ был широко и весьма успешно испытан в Мексике; авторы утверждают, что по уровню образования коревых антител метод иногда превосходил подкожный [14]. Вопрос о необходимой дозе вакцины при мукозальной иммунизации ЖКВ не всегда решается однозначно – некоторые авторы считают необходимым ее увеличение

[21, 58], что компенсируется безопасностью метода и созданием «иммунитета входных ворот», роль которого еще не вполне оценена.

Испытание интраназальной вакцинации ЖКВ, проведенное на взрослых добровольцах, позволило выявить еще одно преимущество данного метода. Ранее было установлено, что подкожное введение взрослым добровольцам ЖКВ в дозе  $1 \times 10^5$  цитотоксических доз (ТЦИД 50) оказывает неспецифическое иммунодепрессивное действие, выявляемое до 30 дня наблюдения, а именно – способность лимфоцитов реципиентов отвечать бласттрансформацией на ФГА *in vitro* достоверно снижается. ЖКВ, вводимая интраназально, почти не оказывала подобного действия, даже при удвоении дозы [3, 6].

Данный результат послужил основанием для исследования возможности смягчения иммунодепрессивного действия, наблюдаемого при обычном, подкожном введении ЖКВ, с помощью того или иного иммуномодулятора.

Имунодепрессивному действию коревого вируса посвящено значительное количество экспериментальных и клинических работ [4]. Прежде всего, было показано, что у больных корью исчезает способность к воспроизведению реакции ГЗТ, в том числе в туберкулиновой пробе. Позже было обнаружено, что дети в возрасте до 6 месяцев, получившие высокодозную коревую вакцину, надолго (до года) приобретали повреждение функций Т-лимфоцитов – снижение способности к бласттрансформации в присутствии митогенов. *In vitro* было показано, что присутствие вируса коревой вакцины нарушает способность Т- или В-лимфоцитов, активированных митогеном, переходить из фазы G1 клеточного цикла в фазу S. Этому соответствует временное снижение ответа лимфоцитов крови вакцинированных детей и даже взрослых на ФГА, отмеченное нами в соответствии с другими авторами [5, 6, 7, 8]. При этом лишь небольшой процент лимфоцитов человека непосредственно поражается вирусом, и их убыль не может быть причиной иммунодепрессивного действия. В экспериментах, проведенных *in vitro* с использованием лимфоцитов человека, было показано, что снижение способности их к размножению, индуцированному митогеном, наблюдается не только после прямого контакта с MV, но также после контакта с трансгенно модифицированными клетками, экспрессирующими основные иммуногены MV, а именно НА и F. Было сформулировано положение, согласно которому контакт мононуклеаров крови с НА и F является необходимым и достаточным условием для появления признаков иммунодепрессии *in vitro* и *in vivo* [53]. Таким образом, иммуногенные белки MV одновременно являются источником вирусной иммунодепрессии.

*In vitro* и *in vivo*, в том числе в опытах на хлопковых крысах, было показано, что конечной мишенью иммунодепрессивного действия MV являются Т-лимфоциты, способность которых отвечать на стимуляцию митогенами или интерлейкином 2 значительно снижается. [36]. Высказано предположение о том, что данный результат зависит от нарушения образования или функционирования рецепторов к IL-2 на поверхности Т-лимфоцитов. Возможно, в развитии коревой иммунодепрессии участвуют дендритные клетки, образование цитокинов в которых нарушается после их контакта с вирусом [32].

Специальное исследование было посвящено сравнению показателей развития иммунодепрессивного состояния у больных корью и у иммунизированных MV [39]. Как и следовало ожидать, у больных данные показатели были выражены значительно сильнее, чем у вакцинированных людей, что позволяет считать вакцину иммунологически сравнительно безопасной. Тем не менее, поиск путей предупреждения развития этого побочного действия вполне закономерен, и сочетание вакцины с применением препарата, способного улучшить состояние Т-лимфоцитов, могло бы представить вариант щадящей вакцинации для некоторых групп ослабленных детей.

В качестве иммуномодулятора данного типа был испытан синтетический секстапептид МП-2 (Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Thr), соответствующий одному из природных продуктов жизнедеятельности клеток костного мозга [11]. Исследование анти-иммунодепрессивных свойств МП-2 было предпринято на основании сведений о том, что МП-2 способен снимать подавление функций Т-лимфоцитов человека, которое было вызвано факторами, образующимися в культуре злокачественных клеток [2].

*In vitro* была показана способность МП-2 частично отменять подавление ответа лимфоцитов человека на ФГА в культуре, в которую была добавлена ЖКВ [6, 8], т. е. противодействовать иммунодепрессивному действию MV.

Следующим этапом исследования было определение воздействия МП-2 на результат иммунизации ЖКВ лабораторных животных (морских свинок и крыс). Морские свинки отвечали на инъекцию ЖКВ длительным (до 28 дней) повышением титров коревых антител, определяемых в различных тестах [1]. МП-2, вводимый морским свинкам одновременно с ЖКВ, усиливал иммунный ответ на 14-28 дни, в различных вариантах опыта [9]. Полученный результат косвенно доказывает, что иммунодепрессивное действие ЖКВ может снижать уровень иммунного ответа на различные антигены, в том числе и на MV. В другом варианте эксперимента МП-2 приме-

няли при иммунизации морских свинок смесью ЖКВ и живой паротитной вакцины (ЖПВ). МП-2 значительно усиливал иммунный ответ на ЖПВ, по-видимому, освобождая его от иммунодепрессивного действия антигенов ЖКВ (неопубликованные данные). Таким образом, работа с МП-2 доказала принципиальную возможность использования ЖКВ, усиленной иммуномодулятором, который восстанавливает подавленные функции Т-лимфоцитов вакцинируемого человека.

Приведенные в данном обзоре результаты показывают, что попытки получения нового профилактического средства против кори включали использование целого ряда современных способов создания новых вакцин. Пока что ни один из предложенных вариантов не заменил подкожно применяемую ЖКВ. Можно считать, что в некоторых эпидемиологических ситуациях могут быть использованы мукозные вакцины, приготовленные на основе ЖКВ, а также подкожно применяемая ЖКВ в сочетании со специально подобранным иммуномодулятором. В будущем нельзя исключить использования какого-либо специального варианта коревой вакцины для ревакцинации взрослых и пожилых людей с целью планируемой ВОЗ полной ликвидации коревой инфекции.

## Список литературы

1. Александр С.К., Ляшенко В.А., Юминова Н.В., Михайлова А.А. Исследование иммунизирующих свойств живых вакцин против кори и эпидемического паротита на некоторых лабораторных животных // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2005. — № 5 (24). — С. 19-23.
2. Белецкая Р.Г., Калужная М.В., Ляшенко В.А., Ефремов М.А., Михайлова А.А. Миелопептид-2 — эндогенный иммуномодулятор, корректирующий функции поврежденных Т-лимфоцитов // Аллергия, астма и клиническая иммунология. — 2003. — Т. 7, № 9. — С. 63-67.
3. Ляшенко В.А., Юминова Н.В., Краснова В.П. Особенности иммунного ответа взрослых добровольцев на интраназальную коревую вакцинацию // Иммунология. — 1993. — № 5. — С. 46-50.
4. Ляшенко В.А. Коревая иммунодепрессия в условиях инфекции и вакцинации // Иммунология. — 1996. — № 1. — С. 10-12.
5. Ляшенко В.А., Юминова Н.В., Краснова В.П. Неинъекционные методы использования живой коревой вакцины // Вопр. вирусологии. — 1996. — № 2. — С. 84-86.
6. Ляшенко В.А., Лавров В.Ф., Юминова Н.В., Ковалева Л.Г. Иммунодепрессивное действие вируса кори *in vitro* // Вопр. вирусологии. — 1999. — № 1. — С. 39-41.

7. Ляшенко В.А., Юминова Н.В., Краснова В.П., Свирина В.С. Интраназальная ревакцинация детей живой коревой вакциной. Развитие местного иммунитета // *Вопр. вирусологии.* – 1999. – № 3. – С. 124-126.
8. Ляшенко В.А., Александр С.К., Ковалева Л.Г., Лавров В.Ф., Юминова Н.В. Ранние проявления иммуномодулирующего действия коревой вакцины в эксперименте *in vitro* // *Медицинская иммунология.* – 2002. – Т. 4. – № 1. – С. 21-27.
9. Ляшенко В.А., Михайлова А.А., Александр С.К., Юминова Н.В., Фонина Л.А., Колышкин В.М. Влияние миелопептида-2 на результаты иммунизации иммунизации морских свинок ЖКВ // *Вопр. вирусологии.* – 2004. – № 2. – С. 18-20.
10. Максимов Н.Л., Букин Е.К., Агафонов А.П., Неверов А.А., Карпенко Л.И., Ильичов А.А., Игнатъев Г.М. ДНК-вакцинация кори в эксперименте: иммуногенность и безопасность // *Вопр. вирусологии.* – 2005. – № 1. – С. 4-9.
11. Петров Р.В., Михайлова А.А., Фонина Л.А., Степаненко Р.Н. Миелопептиды. – М.: «Наука», 2000. – 180 с.
12. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – М.: «Медицина», 1999. – 600 с.
13. Bennett J.V., De Castro L.J., Valdespino-Gomez J.L., Valdespino-Gomez J.L., Garcia-Garcia M.L., Islas-Romero R., Echaniz-Aviles G., Jimenez-Corona A., Sepulveda-Amor J. Aerosolized measles and measles-rubella vaccines induce better measles antibody booster responses than injected vaccines: randomized trials in Mexican schoolchildren // *Bull. World Health Organ.* – 2002. – Vol. 80, N 10. – P. 806-812.
14. Bellanti J.L., Zeligs B.J., Mendez-Inocentio J., Garcia-Garcia M.L., Islas-Romero R., Omidvar B., Omidvar J., Kim G., de Castro J.F., Sepulveda A.J., Bellini V.J., Valdespino-Gomez J.L. Immunologic studies of specific mucosal and systemic immune responses in Mexican school children after booster aerosol or subcutaneous immunization with measles vaccine // *Vaccine.* – 2004. – Vol. 22, Iss. 9-10. – P. 1214-1220.
15. Binnendiik R.S. van, Poelen M.C., van Amerongen G., de Vries P., Osterhaus A.D. Protective immunity in macaques vaccinated with live attenuated, recombinant and subunit measles vaccines in the presence of passively acquired antibodies // *J. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 175, N 3. – P. 524-532.
16. Bouche F.B., Steinmetz A., Yanagi Y., Muller C.P. Induction of broadly neutralizing antibodies against measles virus mutants using a polyepitope vaccine strategy // *Vaccine.* – 2005. – Vol. 23, Iss. 17-18. – P. 2074-2077.
17. Brinckman U.G., Bancamp B., Reich A., Ter Meulen V., Liebert U.G. Efficacy of individual measles virus structural proteins in the protection of rats from measles encephalitis // *J. Gen. Virol.* – 1991. – Vol. 72, N 10. – P. 2491-2500.
18. Cardoso A.I., Sixt N., Vallier A., Faiolle J., Buckland R., Wild T.F. Measles virus DNA vaccination: antibody isotype is determined by the method of immunization and by the nature of both the antigen and the coimmunized antigen // *J. Virol.* – 1998. – Vol. 72, N 3. – P. 2516-2518.
19. Chabot S., Brewer A., Lowell G., Plante M., Cyr S., Burt D.S., Ward B.J. A novel intranasal protollin-based measles vaccine induces mucosal and systemic neutralizing antibody responses and cell-mediated immunity in mice // *Vaccine.* – 2005. – Vol. 23, Iss. 11. – P. 1374-1383.
20. Cutts F.I., Clements C.J., Bennett J.V. Alternative routes of measles immunization: a review // *Biologicals.* – 1997. – Vol. 25, N 3. – P. 323-338.
21. Coates A.L., Tipples G., Leung K., Gray M., Louca F. How many infective viral particles are necessary for successful mass measles immunization by aerosol // *Vaccine.* – 2006. – Vol. 24, Iss. 10. – P. 1578-1585.
22. Dilraj A., Cutts F.T., de Castro J.F., Wheeler J.G., Brown D., Roth C., Coovadia H.M., Bennett J.V. Response to different measles vaccine strains given by aerosol and subcutaneous routes to schoolchildren: a randomized trial // *Lancet.* – 2000. – Vol. 355, N 9206. – P. 798-803.
23. Drillen R., Spehner D., Kim A., Giraudon P., Buckland R., Wild F., Lecocq J.P. Protection of mice from fatal measles encephalitis by vaccination with vaccinia virus recombinants encoding either the hemagglutinin or the fusion protein // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1988. – Vol. 85, N 4. – P. 1252-1256.
24. Durbin A.P., Skiadopoulos M.H., McAuliffe J.M., Riggs J.M., Surman S.R., Collins P. L., Murphy B.R. Human parainfluenza virus type 3 (PIV3) expressing the hemagglutinin protein of measles virus provides a potential method for immunization against measles virus and PIV3 in early infancy // *J. Virol.* – 2000. – Vol. 74, N 15. – P. 6821-6831.
25. Ecutunwe E.O. Immunization by inhalation of aerosolized measles vaccine // *Ann. Trop. Ped.* – 1990. – Vol. 10, N 2. – P. 145-149.
26. Etchart N., Desmoulins P. O., Chemin K., Maliszewski C., Dubois B., Wild F., Kaiserlian D. Dendritic cells recruitment and *in vivo* priming of CD8<sup>+</sup> CTL induced by a single topical or transepithelial immunization via the buccal mucosa with measles virus nucleoprotein // *J. Immunol.* – 2001. – Vol. 167, N 1. – P. 384-391.
27. Fennelly G.J., Khan S.A., Abadi M.A., Wild T.F., Bloom B.R. Mucosal DNA vaccine immunization against measles with a highly attenuated *Shigella flexneri* vector // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 162, N 3. – P. 1603-1610.

28. Fooks A.R., Jeevarajah D., Wames A., Wilkinson G.W., Clegg J.C. Immunization of mice with plasmid DNA expressing the measles virus nucleoprotein gene // *Viral. Immunol.* – 1996. – Vol. 9, N 2. – P. 65-71.
29. Freitag L.C., Clements J.D. Mucosal adjuvants // *Vaccine.* – 2005. – Vol. 23, Iss. 15. – P. 1804-1813.
30. Gundel I., Weidinger G., Ter Meulen V., Heesemann J., Russmann H., Niewiesk S. Oral immunization with recombinant *Yersinia enterocolitica* expressing a measles virus CD4 T cell epitope protects against measles virus-induced encephalitis // *J. Gen. Virol.* – 2003. – Vol. 84 (Pt 4). – P. 775-779.
31. Hathaway L.J., Partidos C.D., Vohra P., Steward M.W. Induction of systemic immune responses to measles virus synthetic peptides administered intranasally // *Vaccine.* – 1995. – Vol. 13, Iss. 16. – P. 1495-1500.
32. Karp C.L., Wysocka M., Wahl L.M., Ahearn J.M., Cuomo P. J., Sherry B., Trinhier G., Griffin D.E. Mechanism of suppression of cell-mediated immunity by measles virus // *Science.* – 1996. – Vol. 273. – P. 228-231.
33. El Kasmi K.C., Fillon S., Theisen D.M., Hartter H., Brons N.H., Muller C.P. Neutralization of measles virus wild-type isolates after immunization with a synthetic peptide vaccine which is not recognized by neutralizing passive antibodies // *J. Gen. Virol.* – 2000. – Vol. 81 (Pt 3). – P. 729-735.
34. Maggi T., Oggioni M.R., Medaglini D., Bianchi Bandinelli M.L., Soldateschi D., Wiesmuller K.H., Muller C.P., Valensin P.E., Pozzi G. Expression of measles virus antigens in *Streptococcus gordonii* // *New Microbiol.* – 2000. – Vol. 23, N 2. – P. 119-128.
35. Martinez X., Brandt C., Saddallah F., Tougne C., Barrios C., Wild F., Dougan G., Lambert P. H., Siegrist C.A. DNA immunization circumvents deficient induction of T-helper type 1 and cytotoxic T-lymphocyte responses in neonates and during early life // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94, N 16. – P. 8726-8731.
36. Niewiesk S., Ohnimus H., Schnorr Jens-Jorg, Gotzelmann M., Schneider-Schaulies S., Jassoy C., Ter Meulen V. Measles virus-induced immunosuppression in cotton rats is associated with cell cycle retardation in uninfected lymphocytes // *J. Gen. Virol.* – 1999. – Vol. 80. – P. 2023-2029.
37. Obeid O.E., Stanley C.M., Steward M.W. Immunological analysis of the protective responses to the chimeric synthetic peptide representing T- and B-cell epitopes from the fusion protein of measles virus // *Virus Res.* – 1996. – Vol. 42, N 1-2. – P. 173-180.
38. Ogra P. L., Fishot M., Gallagher M.R. Viral vaccination via the mucosal routes // *Rev. Infect. Dis.* – 1980. – Vol. 2, N 3. – P. 352-369.
39. Okada H., Sato T.A., Katayama A., Higuchi K., Shichijo K., Tsuchiva T., Takayama N., Takeuchi Y., Abe T., Okabe N., Tashiro M. Comparative analysis of host responses related to immunosuppression between measles patients and vaccine recipients with live attenuated measles vaccines // *Arch. Virol.* – 2001. – Vol. 146. – P. 859-874.
40. Ovsyannikova I.G., Johnson K.L., Naylor S., Poland G.A. Isolation and rapid identification of an abundant self-peptide from class II HLA-DRB1 0401 alleles induced by measles vaccine virus infection // *J. Immunol. Methods.* – 2000. – Vol. 246. – P. 1-12.
41. Ovsyannikova I.G., Johnson K.L., Naylor S., Muddiman D.C., Poland G.A. Naturally processed measles virus peptide eluted from class II HLA-DRB1\*03 recognised by T-lymphocytes from human blood // *Virology.* – 2003. – Vol. 312. – P. 495-506.
42. Ovsyannikova I.G., Reid K.C., Jacobson R.M., Oberge A.L., Klee G.G., Poland J.A. Cytokine production patterns and antibody response to measles vaccine // *Vaccine.* – 2003 – Vol. 21, Iss. 25-26. – P. 3946-3953.
43. Ovsyannikova I.G., Johnson K.L., Muddiman D.C., Viercant R.A., Poland J.A. Identification and characterization of Novel Naturally Processed Measles Virus Class II HLA-DRB1 Peptides // *J. Virol.* – 2004. – Vol. 78, N 1. – P. 42-51.
44. Partidos C.D., Pizza M., Rappuoli R., Steward M.W. The adjuvant effect of a non-toxic mutant of heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli* for the induction of measles virus-specific CTL responses after intranasal co-immunization with a synthetic peptide // *Immunology.* – 1996. – Vol. 89, N 4. – P. 483-487.
45. Pasetti M.F., Barry E.M., Losonsky G., Singh M., Medina-Moreno S.M., Polo J.M., Ulmer J., Robinson H., Szein M.B. Attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhi and *Shigella flexneri* 2a strains mucosally deliver DNA vaccines encoding measles virus hemagglutinin, inducing specific immune responses and protection in cotton rats // *J. Virol.* – 2003. – Vol. 77, N 9. – P. 5209-5217.
46. Polack F.P., Lee S.H., Permar S., Manyara E., Nousari H.G., Jeng Y., Mustafa F., Valsamakis A., Adams R.J., Robinson H.L., Griffin D.E. Successful DNA immunization against measles: neutralizing antibody against either the hemagglutinin or fusion glycoprotein protects rhesus macaques without evidence of atypical measles // *Nat. Med.* – 2000. – Vol. 6, N 7. – P. 776-781.
47. Poland J.A., Ovsyannikova I.G., Johnson K.L., Naylor S. The role of mass spectrometry in vaccine development // *Vaccine.* – 2001 – Vol. 19. – P. 2692-2700.
48. Poland J.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Viercant R.A., Jacobsen S.J., Pancratz V.S., Schade D.J. Identification of an association between HLA class II alleles and low antibody levels after measles immunization // *Vaccine.* – 2002. – Vol. 20. – P. 430-438.

49. Putz M.M., Ammerlaan W., Schneider F., Jung G., Muller C.P. Humoral immune responses to a protective peptide-conjugate against measles after different prime-boost regimens // *Vaccine*. – 2004 – Vol. 22, Iss. 31-32. – P. 4173-4182.
50. Sabin A.B., Flores A.A., de Castro J.F., Sever J.L., Madden D.L., Shekarchi I., Albrecht P. Successful immunization of children with and without maternal antibody by aerosolized measles vaccine. 1. Different results with undiluted human diploid cell and chick embryo fibroblast vaccines // *JAMA* – 1983. – Vol. 249, N 19. – P. 2651-2662.
51. Sauver J.L., Schade D.J., Viercant R.A., Jacobson R.M., Jacobsen S.J., Ovsianicova I.G., Poland G.A. Association between measles antibody level and the protein structure of class II human leucocyte antigens // *Hum. Immunol.* – 2003. – Vol. 64. – P. 696-707.
52. Schlereth B., Germann P. G., ter Meulen V., Niewiesk S. DNA vaccination with both the haemagglutinin and fusion proteins but not the nucleocapsid protein protects against experimental measles virus infection // *J. Gen. Virol.* – 2000. – Vol. 81 (Pt 5). – P. 1321-1325.
53. Schlender J., Schnorr J.J., Spielhoffer P., Cathomen T., Cattaneo R., Billeter M.A., Ter Meulen V., Schneider-Schaulies S. Interaction of measles virus glycoproteins with the surface of uninfected peripheral blood lymphocytes induces immunosuppression in vitro // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 1966. – Vol. 93. – P. 13194-13199.
54. Sharpe S., Fooks A., Lee J., Hayes K., Clegg C., Cranage M. Single oral immunization with replication deficient recombinant adenovirus elicits long-lived transgene-specific cellular and humoral immune responses // *Virology*. – 2002. – Vol. 293, N 2. – P. 210-216.
55. Song M.K., Vindurampulle C.J., Capozzo A.V., Ulmner J., Polo J.M., Pasetti M.F., Barry E.M., Levine V.V. Characterization of immune responses induced by intramuscular vaccination with DNA vaccines encoding measles virus hemagglutinin and/or fusion proteins // *J. Virol.* – 2005. – Vol. 79, N 15. – P. 9854-9861
56. Stittelaar K.J., Vos H.W., van Amerongen G., Kersten G.F., Osterhaus A.D., de Swart R.L. Longevity of neutralizing antibody levels in macaques vaccinated with Quil A-adjuvanted measles vaccine candidates // *Vaccine*. – 2002. – Vol. 21, Iss. 3-4. – P. 155-157.
57. Torres C.A., Yang K., Mustafa F., Robinson H.L. DNA immunization: effect of secretion of DNA-expressed hemagglutinins on antibody responses // *Vaccine*. – 1999. – Vol. 18, Iss. 9-10. – P. 805-814.
58. Wong-Chew R.M., Islas-Romero R., Garcia-Garcia Mde L, Beeler J.A., Audet S., Santos-Presiado I.L., Gans H., Lew-Yasukawa L, Maldonado Y.A., Arvin A.M., Valdespino-Gomez J.L. Immunogenicity of aerosol measles vaccine given as the primary measles immunization to nine-month-old Mexican children // *Vaccine*. – 2006. – Vol. 24, Iss. 5. – P. 683-690.
59. Weidinger G., Ohlmann M., Schlereth B., Sutter G., Niewiesk S. Vaccination with recombinant modified vaccinia virus Ankara protects against measles virus infection in the mouse and cotton rat model // *Vaccine*. – 2001 – Vol. 19, Iss. 20-22. – P. 2764-2768.
60. Wild T.F., Bernard A., Spehner D., Drillien R. Construction of vaccinia virus recombinants expressing several measles virus proteins and analysis of their efficacy in vaccination of mice // *J. Gen. Virol.* – 1992. – Vol. 73 (Pt 2). – P. 359-367.
61. Yang K., Mustafa F., Valsamakis A., Santoro J.C., Griffin D.E., Robinson H.L. Early studies on DNA-based immunizations for measles virus // *Vaccine*. – 1997. – Vol. 15, Iss. 8. – P. 888-891.
62. Zhu Y.D., Fennelly G., Miller C., Tarara R., Saxe I., Bloom B., McChesney M. Recombinant bacille Calmette-Guerin expressing the measles virus nucleoprotein protects infant rhesus macaques from measles virus pneumonia // *J. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 176, N 6. – P. 1445-1453.
63. Zhu Y., Rota P., Wyatt L., Tamin A., Rosenblatt S., Lerche N., Moss B., Bellini W., McChesney M. Evaluation of recombinant vaccinia virus – measles vaccines in infant rhesus macaques with preexisting measles antibody // *Virology*. – 2000. – Vol. 276, N 1. – P. 202-213.

поступила в редакцию 01.09.2006  
принята к печати 10.10.2006