ВЛИЯНИЕ ОЛИГОДЕЗОКСИНУКЛЕОТИДА CpG ODN 2006 НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ КРОВИ ЛЮДЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ

Клюева С.Н., Шмелькова Т.П., Щуковская Т.Н.

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт “Микроб”», г. Саратов, Россия

Резюме. В работе проведена оценка влияния коммерческого препарата CpG ODN 2006 при раздельном применении, а также в комплексе с различными индукторами на спонтанную и индуцированную *in vitro* продукцию цитокинов клетками крови людей до и после противочумной вакцинации. Установлено, что вакцинация не влияет на спонтанную продукцию цитокинов врожденного (IL-8, TNF α) и адаптивного (IFN γ , IL-4) иммунитета. CpG ODN 2006 оказывает влияние на функциональную активность Th1 и Th2 в крови людей, впервые вакцинированных живой чумной вакциной, на фоне незначительных изменений в содержании IgM, IgG, IgA и IgE, что отражалось в повышенной продукции Th1/провоспалительных цитокинов (IL-17 и IFN γ) и Th2/противовоспалительного цитокина IL-4. В крови многократно вакцинированных лиц CpG ODN 2006 индуцировал повышение выработки IL-4, IL-17 и снижение уровня IFN γ . Таким образом, способность CpG ODN 2006 активировать клетки врожденного и адаптивного иммунитета открывает перспективы использования данного олигодезоксинуклеотида при разработке эффективной вакцины против чумы.

Ключевые слова: чумная вакцина, олигодезоксинуклеотид CpG ODN 2006, цитокины

INFLUENCE OF CpG ODN 2006 OLIGODEOXYNUCLEOTIDE ON CYTOKINE PRODUCTION BY BLOOD CELLS OF HUMANS VACCINATED AGAINST PLAGUE

Klyueva S.N., Shmelkova T.P., Schukovskaya T.N.

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. This study presents data upon the effects of CpG oligonucleotide substance (CpG ODN 2006). The commercial preparation was applied *in vitro* as a single agent, or in combination with various cytokine production inducers. Spontaneous and induced cytokine levels were tested in cultures of human blood cells taken from the persons before and after anti-plague vaccination. It has been shown that the vaccination had no effect upon spontaneous production of cytokines participating in innate (IL-8, TNF α) and adaptive (IFN γ , IL-4) immunity. CpG ODN 2006 proved to exert effects upon functional activity of human blood Th1 and Th2 pro-inflammatory cytokines after the first vaccination with live anti-plague vaccine, being reflected as

Адрес для переписки:

Клюева Светлана Николаевна
ФКУЗ «Российский научно-исследовательский
противочумный институт “Микроб”»
410005, Россия, Саратов, ул. Университетская, 46.
Тел.: 8 (8452) 26-21-31. Факс: 8 (8452) 51-52-12.
E-mail: rusrap@microbe.ru

Address for correspondence:

Klyueva Svetlana N.
PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Vaccinology and
Immunoprophylaxis Department Immunology, Russian Research
Anti-Plague Institute “Microbe”
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46.
Phone: 8 (8452) 26-21-31. Fax: 8 (8452) 51-52-12.

Образец цитирования:

С.Н. Клюева, Т.П. Шмелькова, Т.Н. Щуковская, «Влияние олигодезоксинуклеотида CpG ODN 2006 на продукцию цитокинов клетками крови людей, вакцинированных против чумы» // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 6. С. 531-538. doi: 10.15789/1563-0625-2014-6-531-538
© Клюева С.Н. и соавт., 2014

For citation:

S.N. Klyueva, T.P. Shmelkova, T.N. Schukovskaya, “Influence of CpG ODN 2006 oligodeoxynucleotide on cytokine production by blood cells of humans vaccinated against plague”, *Medical Immunology*, 2014, Vol. 16, no. 6, pp. 531-538.
doi: 10.15789/1563-0625-2014-6-531-538

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2014-6-531-538>

higher Th1/ proinflammatory (IL-17 and IFN γ) and Th2/ antiinflammatory (IL-4) cytokine production. Post-vaccination changes of IgM, IgG, IgA, and IgE contents were non-significant. Following repeated vaccination, the CpG ODN 2006 induced an increase of IL-4 and IL-17 production in blood cells, as well as decrease in IFN γ levels. Thus, the ability of CpG ODN 2006 to activate the cells participating in innate and adaptive immunity opens some prospects for usage of this oligodeoxynucleotide in the development of more efficient anti-plague vaccines. (*Med. Immunol.* 2014, vol. 16, N 6, pp 531-538)

Keywords: vaccine, oligodeoxynucleotide CpG ODN 2006, cytokine production

Введение

В России для вакцинации населения используется живая сухая чумная вакцина (ЖЧВ) на основе вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ [3], которой, наряду с достоинствами (высокая иммуногенность, возможность применения препарата различными способами), присутствующий существенный недостаток — высокая реактогенность. В том числе ЖЧВ вызывает развитие непродолжительного иммунитета длительно — до года [3]. В связи с этим первостепенной задачей иммунопрофилактики чумы является создание эффективной и безопасной вакцины нового поколения [2, 20]. Одним из способов повышения эффективности и продолжительности противочумного иммунитета является использование в составе вакцин неспецифических стимуляторов (адьювантов).

CpG-содержащие олигодезоксинуклеотиды CpG ODN являются наиболее мощными иммуноадьювантами, способными значительно повышать уровень иммунного ответа при вакцинации и обеспечивать защиту против таких особо опасных инфекций, как бруцеллез [9], сибирская язва [11], чума [13], холера [14], мелиоидоз [15]. К таким новым иммуномодуляторным молекулам относятся CpG ODN 2006 [10].

CpG ODN распознаются Toll-подобными рецепторами 9 (TLR9) и инициируют сигнальный каскад реакций, приводящий к синтезу провоспалительных цитокинов иммунокомпетентными клетками и активации механизмов иммунологической защиты организма [17, 19]. В настоящее время все большее внимание уделяют первостепенной роли системы цитокинов в реализации функций врожденного и приобретенного иммунитета при защите организма от инфекций. Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов межклеточного взаимодействия, участвующих главным образом в формировании и регуляции защитных реакций организма при внедрении патогенов и нарушении целостности тканей, а также в регуляции ряда нормальных физиологических функций [5]. Продукция цито-

кинов является составной частью клеточного ответа и при вакцинации ЖЧВ.

Влияние CpG ODN на функциональную активность Т-хелперов 1-го и 2-го типов (Th1 и Th2) в крови у невакцинированных и вакцинированных ЖЧВ, опосредованную выработкой провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, представляет интерес в плане определения роли адьюванта в развитии специфического противочумного иммунного ответа, а также возможности его включения в рецептуру разрабатываемых противочумных вакцин.

Целью данного исследования явилась оценка *in vitro* спонтанной и индуцированной продукции цитокинов в крови людей до и после противочумной вакцинации в ответ на раздельное введение CpG ODN 2006 и в комплексе с различными индукторами.

Материалы и методы

Обследуемые лица составили две группы: первично вакцинированные ЖЧВ (I группа) и многократно ежегодно вакцинированные ЖЧВ в соответствии с «Инструкцией по применению вакцины противочумной живой сухой» (II группа).

Вакцинацию отечественной коммерческой ЖЧВ производства ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора проводили в плановом порядке согласно приказу Минздравсоцразвития Российской Федерации от 31.01.2011 № 51н «О национальном календаре профилактических прививок и календаре профилактических прививок по эпидемическим показаниям» и в строгом соответствии с утвержденными инструкциями по применению вакцины.

Для определения продукции цитокинов венозную кровь собирали до вакцинации и через 1 месяц после вакцинации в одноразовые пластиковые вакуумные пробирки, содержащие гепарин. Гепаринизированную венозную кровь разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640, содержащей 100 мкг/мл гентамицина [8].

В качестве индукторов продукции цитокинов использовали: коммерческий препарат CpG ODN 2006 производства InvivoGen, USA (20 мкг/мл), стандартный коммерческий Т-клеточный митоген конканавалин А (Con A) производства Пан-Эко, Россия (15 мкг/мл), убитые нагреванием клетки вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ (обозначены ниже как УК EV) (10^6 м.к./мл), а также комбинации: УК EV + CpG ODN 2006 (10^6 м.к./мл и 20 мкг/мл соответственно); Con A + CpG ODN 2006 (15 мкг/мл и 20 мкг/мл соответственно). Контролем служили клетки крови, культивируемые только в среде RPMI-1640.

УК EV получали из двухсуточной агаровой культуры вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ приготовлением взвеси клеток в стерильном физиологическом растворе по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-59-85П 10 единиц, эквивалентному 1×10^9 м.к./мл и прогреванием при 60 °C в течение 1 ч 20 мин [6].

Опытные и контрольные образцы инкубировали в течение 24 часов при температуре 37 °C. По окончании культивирования клеточную суспензию осаждали центрифугированием при 400 g в течение 15 мин, получали супернатанты суммарной фракции клеток крови, которые хранили в течение 2-3 месяцев при температуре -70 °C.

Концентрацию цитокинов (IL-4, IL-8, IL-17, IFN γ , TNF α) определяли в супернатантах с использованием иммуноферментного анализа (ИФА), применяя коммерческие наборы реагентов (ЗАО «Вектор-Бест»). Расчеты количества цитокинов (в пг/мл) проводили с использованием программы расчета концентраций по многоточечной калибровке (PGM) после измерения на микропланшетном фотометре Stat Fax-3200 (Awareness Technology, США) при длине волны 450 нм.

Образцы сыворотки получали из венозной крови, инкубированной в пробирках с Clot Activator «VACUTEST» и центрифугированной при 400 G (15 мин) [4]. Количественное определение иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA, IgE) в сыворотке крови проводили методом ИФА с использованием коммерческих наборов реагентов (ЗАО «Вектор-Бест»). Результаты учитывали при длине волны 450 нм на фотометре Stat Fax-3200 с использованием PGM. Контролем служили сыворотки крови ранее не вакцинированных против чумы людей (I группа до вакцинации).

Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом преципитации 3,5%-ным раствором полиэ-

тиленгликоля по изменению величины светового рассеяния [7].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2010. Для определения достоверности различий между анализируемыми выборками устанавливали среднюю арифметическую ряда, среднее квадратичное отклонение, среднюю ошибку средней арифметической. Различие средних показателей считалось достоверным при уровне значимости менее 0,05.

Результаты

Как известно, уровни цитокинов в крови отражают состояние иммунной системы в конкретный момент времени [5]. При этом спонтанная продукция цитокинов свидетельствует о том, насколько клетки крови уже активированы в организме обследуемого человека *in vivo*, а CpG-, антиген-, митогениндуцированная продукция позволяет оценить их потенциальную способность к секреции цитокинов *in vitro*, что очень важно для оценки иммунологической реактивности.

В результате проведенного исследования установлено, что вакцинация против чумы не влияет на спонтанную продукцию цитокинов врожденного иммунитета (IL-8, TNF α), секретируемые в основном нейтрофилами, макрофагами, естественными киллерами, и цитокинов адаптивного иммунного ответа (IFN γ , IL-4), главными продуцентами которых являются Th1- и Th2-лимфоциты.

В I группе после вакцинации выявляли достоверное увеличение уровня IL-17 (табл. 1) при индукции УК EV, по сравнению с аналогичным показателем до вакцинации ($p < 0,05$), а индукция Т-клеточным митогеном Con A и сочетанием CpG ODN 2006 с Con A способствовала повышению содержания IL-17 по сравнению с контролем (спонтанная продукция цитокина до вакцинации). Повышение уровня IFN γ зарегистрировано при индукции Con A и сочетанием CpG ODN 2006 с УК EV относительно содержания IFN γ до вакцинации, что согласуется с полученными нами ранее данными об однотипности митоген- и антигениндуцированной продукции IFN γ как в смешанной популяции лимфоцитов, так и в культуре клеток крови у вакцинированных против чумы людей [8], что подчеркивает протективную роль Т-лимфоцитов как главных продуцентов IFN γ и других цитокинов адаптивного клеточного ответа.

Известно, что количественное определение уровня IL-4 имеет важное значение при оценке иммунного статуса организма как показателя развития иммунного ответа по Th2-пути (гуморальный иммунитет). При изучении содержания противовоспалительного цитокина IL-4 в крови лиц I группы установлено, что при активации CpG ODN 2006 уровень его после вакцинации был в 3,5 раза выше по сравнению с аналогичным показателем до вакцинации ($p < 0,05$).

В наших экспериментах зафиксирована тенденция к увеличению индуцированной продукции TNF α клетками крови лиц I группы после вакцинации при стимуляции CpG ODN 2006 с УК EV. Однако, сравнительный анализ способности индукторов и их комбинаций стимулировать продукцию TNF α показал, что выявленные различия недостоверны ($p > 0,05$).

После вакцинации лиц II группы под влиянием Con A и сочетания CpG ODN 2006 с Con A достоверно увеличивалась продукция IL-17 по сравнению с аналогичным показателем до вакцинации (табл. 2). Особенностью в данной группе людей являлось то, что при индукции CpG ODN 2006 в клетках крови происходило значительное уменьшение уровня IFN γ – в 4,8 раза по сравнению с аналогичным показателем до вакцинации, что свидетельствует о снижении провоспалительного ответа. Уровень IL-4 во II группе достоверно повышался после вакцинации как при стимуляции CpG ODN 2006, так и Con A по сравнению с аналогичными показателями до вакцинации.

Также в работе оценивали продукцию хемокина IL-8, который является самым ранним провоспалительным цитокином. Это мощный хемотаксический и активирующий фактор для нейтрофилов, продуцируемый многими клетками, включая моноциты/макрофаги. Установлено, что все исследуемые индукторы не стимулировали продукцию хемокина IL-8.

В результате сравнительной оценки иммунограмм обеих групп обследуемых установлено, что через месяц после вакцинации в I группе наблюдали тенденцию к повышению концентрации общих иммуноглобулинов основных классов IgM, IgG и IgA по сравнению с аналогичными показателями до иммунизации, что обусловлено иммунобиологической перестройкой организма в поствакцинальном периоде (табл. 3). Содержание ЦИК в сыворотках крови людей соответствовало физиологической норме до и после вакцинации.

У многократно вакцинируемых лиц, имеющих высокий уровень иммунологической нагруз-

ТАБЛИЦА 1. СПОНТАННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ КРОВИ ЛЮДЕЙ, ПЕРВИЧНО ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ

Цитокины	Индукцированная продукция (пг/мл)											
	Спонтанная продукция (пг/мл)		CpG ODN 2006		УК EV***		УК EV + CpG ODN 2006		Con A		Con A + CpG ODN 2006	
	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после
IL-8	5065,5 $\pm$ 364,5	4741,5 $\pm$ 229,5	6365 $\pm$ 90,1	3873,5 $\pm$ 456,4	5504,5 $\pm$ 257,7	4525 $\pm$ 11,4	5221 $\pm$ 387,5	4615,5 $\pm$ 232,4	5564 $\pm$ 308,2	4875,5 $\pm$ 12,5	6196 $\pm$ 346,9	5106 $\pm$ 35,8
IL-17	12,25 $\pm$ 0,43	21,75 $\pm$ 1,3	17 $\pm$ 0,03	18,5 $\pm$ 2,3	16,25 $\pm$ 0,14	83,5 $\pm$ 0,5**	23,5 $\pm$ 10,16	21,25 $\pm$ 1,3	29 $\pm$ 9	100,5 $\pm$ 11,3*	16 $\pm$ 4,06	60 $\pm$ 8,1*
TNF α	2317,75 $\pm$ 393,27	1909,55 $\pm$ 636,23	2641,5 $\pm$ 363,87	1595,45 $\pm$ 417,33	3064 $\pm$ 77,24	3293 $\pm$ 23,4	2752,5 $\pm$ 249,45	3954,5 $\pm$ 21,78	2624,5 $\pm$ 135,0	2936 $\pm$ 162,0	3049,5 $\pm$ 416,7	2682,5 $\pm$ 348,7
IFN γ	648,5 $\pm$ 259,9	572,25 $\pm$ 320,4	564,5 $\pm$ 211,1	645,5 $\pm$ 313,6	4271 $\pm$ 2189,0	3797 $\pm$ 103,2	501,25 $\pm$ 101,5	4542,25 $\pm$ 214,7**	352,75 $\pm$ 86,3	1282 $\pm$ 67,3**	579,75 $\pm$ 4,2	1316,75 $\pm$ 657,3
IL-4	2,5 $\pm$ 1,4	0,75 $\pm$ 0,14	0,5 $\pm$ 0,13	1,75 $\pm$ 0,07**	5,5 $\pm$ 0,001	8 $\pm$ 0,001	5,25 $\pm$ 0,14	6,75 $\pm$ 0,14	2,75 $\pm$ 0,07	4,0 $\pm$ 0,29	2,0 $\pm$ 0,58	4,5 $\pm$ 0,02

Примечание. * – достоверность различий по отношению к контролю (спонтанная продукция цитокинов до вакцинации) ($p < 0,05$); ** – достоверность различий опытных проб «после вакцинации» от проб «до вакцинации» ($p < 0,05$); *** – УК EV – убитые нагреванием клетки вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ.

ТАБЛИЦА 2. СПОНТАННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ КРОВИ ЛЮДЕЙ, МНОГОКРАТНО ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ

Цитокины	Индукцированная продукция (пг/мл)											
	Спонтанная продукция (пг/мл)		CpG ODN 2006		УК EV***		CpG ODN 2006		CpG ODN 2006		CpG A	
	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после
IL-8	4400±1307	2617,25±571,8	4087,75±1106,5	2073,6±755,6	5172,5±515,7	3121±391,4	4174,6±392,8	2433,8±845,9	5146±562,2	2592,3±493,7	5308,6±590,5	2004,2±382,7
IL-17	18,5±1,1	30,3±6,1	26,6±13,5	48±13,2	18,1±1,9	49,3±8,2	25±1,6	46,3±2,7	72,6±7,5	116,5±18,9**	70,5±14,8	126±18,9**
TNFα	1644,9±496,1	195,9±74,8	1864,1±639,8	234,7±201,7	3174,7±252,3	1580,25±550,8	3465,3±19,7	1547,3±469,4	1879,6±281,9	513,4±305,5	2030,6±105,6	678,2±424,3
IFNγ	698,4±651,2	147,25±101,7	872,5±67,8	181,25±96,3**	1943,5±701,5	798,25±403,9	3239,8±987,4	1263±369,0	570,3±232,7	963±511,5	1570,6±526,8	1032,7±267,1
IL-4	5,25±0,63	6±1,1	4,25±0,1	10,1±0,3**	6±1,4	10±3,9	4,5±0,7	8,8±1,2	4,5±0,4	19,5±6,8**	5,5±0,9	8,25±0,3

Примечание. * – достоверность различий по отношению к контролю (спонтанная продукция цитокинов до вакцинации) ($p < 0,05$); ** – достоверность различий опытных проб «после вакцинации» от проб «до вакцинации» ($p < 0,05$); *** – УК EV – убитые нагреванием клетки вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ.

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ (ЦИК) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЛЮДЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ЖИВОЙ ЧУМНОЙ ВАКЦИНОЙ

Группы обследованных	до вакцинации					после вакцинации (через 1 мес.)						
	IgE, МЕ/мл	IgG, мг/мл	IgM, мг/мл	IgA, мг/мл	ЦИК (%Т)	IgE, МЕ/мл	IgG, мг/мл	IgM, мг/мл	IgA, мг/мл	ЦИК (%Т)		
Первично вакцинированные	14±1,9	11,3±0,46	1,0±0,1	1,7±0,2	88,8±1,7	10,8±2,7	16,1±1,2	1,3±0,4	2,25±0,14	91,75±0,2		
Многократно вакцинированные	140,8±10,3*	16,1±4,1	1,5±0,12	2,1±0,48	95,6±1,6	160,44±15,7*	18,96±5,3	0,4±0,05**	2,3±0,3	97,3±0,7		

Примечание. * – достоверность различий по отношению к контролю (I группа до вакцинации) ($p < 0,05$); ** – достоверность различий опытных проб «после вакцинации» от проб «до вакцинации» ($p < 0,05$).

ки [1], зарегистрировано увеличение концентрации общего IgE на фоне снижения уровней IgM и ЦИК сыворотки крови как до, так и после вакцинации, по сравнению с контролем (ранее не вакцинированные против чумы люди).

Обсуждение

Проведенный анализ показывает, что коммерческий препарат CpG ODN 2006 в условиях *in vitro* оказывает влияние на функциональную активность Th1 и Th2 в крови первично вакцинированных людей. Это отражается в повышенной продукции Th1/провоспалительных цитокинов (IL-17 и IFN γ) и Th2/противовоспалительного цитокина IL-4. Следовательно, при добавлении *in vitro* в кровь вакцинированных CpG ODN 2006 активирует развитие как IFN γ , IL-17-Т-клеточного, так и IL-4-гуморального иммунного ответа, что согласуется с предположением зарубежных исследователей о возможном смешанном типе Т-клеточного иммунитета при чуме со значительным превалированием Th1-зависимого ответа [10].

Воздействие CpG ODN 2006 с Con A сопровождалось увеличением продукции IL-17, играющего важную роль в индукции воспаления и развитии аутоиммунных патологических реакций. В экспериментальных исследованиях зарубежных авторов установлена роль IL-17 в защите мышей от легочной чумы, что свидетельствует в пользу развития смешанного Th1- и Th17-клеточного ответа при чуме [18].

Известно, что CpG олигонуклеотиды поддерживают созревание и пролиферацию естественных клеток-киллеров, Т-клеток, моноцитов/макрофагов [11], а также стимулируют продукцию IFN γ в В-клетках человека [22]. Повышение индуцированной CpG ODN 2006 секреции IFN γ , направленной на развитие клеточной формы адаптивного иммунного ответа, имеет важное значение для защиты от чумы [20]. Следует отметить, что в состав УК EV входит антиген чумного микроба F1 [6]. Установленная нами способность CpG ODN 2006 совместно с УК EV активировать выработку IFN γ , соответствует ли-

тературным данным, согласно которым комбинация CpG ODN 2006 с рекомбинантной субъединичной rF1-V чумной вакциной повышает продукцию антител IgG2a и защищает мышей от последующего подкожного заражения *Y. pestis* CO92 [10]. Ранее нами предлагалось использовать параметры индуцированной Т-клеточным митогеном Con A продукции маркерного цитокина IFN γ в качестве критерия оценки уровня противочумного иммунитета у людей [8]. Результаты исследований, полученные в настоящей работе, подтверждают это наблюдение.

Отмеченное в нашем исследовании снижение индуцированной CpG ODN 2006 секреции IFN γ клетками крови у многократно вакцинированных людей, коррелирующее с высоким уровнем сывороточного IgE, является косвенным признаком подавления провоспалительного иммунного ответа у данной категории лиц. Подобное предположение подтверждается сведениями о том, что лица, вакцинируемые 20 и более раз ЖЧВ, имеют высокий уровень иммунологической нагрузки и нуждаются в периодическом контроле иммунного статуса [1].

Выявленная способность CpG ODN 2006 стимулировать продукцию противовоспалительного IL-4 и провоспалительного IFN γ цитокинов в опытах *in vitro* позволяет предположить возможную активацию адаптивного иммунного ответа, играющего ключевую роль в защите от легочной чумы. В настоящее время установлено, что терапевтическое комбинированное применение IL-4 и CpG олигонуклеотидов подавляет разрастание опухоли путем активации опухолеспецифического Th1-типа иммунного ответа [16].

Поскольку в настоящее время существует лицензированная рекомбинантная векторная вакцина против гепатита В (Эувакс В), в состав которой входит CpG ODN, зарекомендовавший себя при клинических испытаниях как высокоэффективный адъювант, значительно повышающий иммунный потенциал вакцины [12], то вышеизложенные данные свидетельствуют о возможности использования CpG ODN 2006 при конструировании противочумной вакцины нового поколения.

Список литературы / References

1. Богачева Н.В., Дармов И.В., Кучеренко А.С., Крючков А.В., Вахнов Е.Ю. Оценка иммунореактивности лиц, вакцинированных чумной, сибиреязвенной, бруцеллезной, туляремийной живыми сухими вакцинами и противоботулиническим трианатоксином, в зависимости от уровня иммунологической нагрузки // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2013. Т. 73, № 6. С. 79-84. [Bogacheva N.V., Darmov I.V., Kucherenko A.S., Kryuchkov A.V., Vahnov E.Yu. Evaluation of immunoreactivity of persons vaccinated plague, anthrax, brucellosis, tularemia vaccine dry alive and protivobotulinicheskim trianatoksinom, depending on the level

of immunological load. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2013, Vol. 73, no. 6, pp. 79-84. (In Russ.)]

2. Бугоркова С.А., Девдариани З.Л., Шуковская Т.Н., Кутырев В.В. Исторические и современные представления о проблеме специфической профилактики чумы // Проблемы особо опасных инфекций, 2013. № 3. С. 63-69. [Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Schukovskaya T.N., Kutayev V.V. Historical and modern views on the problem of specific plague prophylaxis. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2013, Vol. 3, pp. 63-69. (In Russ.)].

3. Вакцины и вакцинация: национальное руководство / под ред. В. В. Зверева, Б. Ф. Семенова, Р.М. Хаитова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 872 с. [Vaccines and vaccination: national leadership / ed. V.V. Zverev, B.F. Semenov, R.M. Haitov]. Moscow, GEOTAR Media, 2011, 872 p.

4. Долгов В.В., Ракова Н.Г., Колупаев В.Е., Рытикова Н.С. Иммуноферментный анализ в клинико-диагностических лабораториях. М.-Тверь: Триада, 2007. 320 с. [Dolgov V.V., Rakov N.G., Kolupaev V.E., Rytikova N.S. Enzyme-linked immunosorbent assay in clinical diagnostic laboratories]. Moscow-Tver: Triad, 2007, 320 p.

5. Кетлинский С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A. Cytokines / S.A. Ketlinsky, A.S. Simbirtsev]. St. Petersburg: Folio, 2008, 552 p.

6. Коробкова Е.И. Кожная аллергическая реакция как показатель иммунитета при чуме // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1955. № 4. С. 40-47. [Korobkova E.I. Allergic skin reactions as a measure of immunity in plague. *Journal of Epidemiology. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1955, Vol. 4, pp. 40-47. (In Russ.)].

7. Медицинские лабораторные технологии. Т. 2. Справочник / под ред. А.И. Карпищева. СПб: Интермедика, 2002. 600 с. [Medical laboratory technologies. V.2. / Ed. AI Karpischeva]. St. Petersburg: Intermedika, 2002, 600 p.

8. Шуковская Т.Н., Смолькова Е.А., Шмелькова Т.П., Ключева С.Н., Бугоркова С.А. Индуцированная продукция IFN-γ и IL-4 как показатель функциональной активности Th1- и Th2-клеток у вакцинированных против чумы людей // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2011. Т. 61, № 6. С. 78-83. [Schukovskaya T.N., Smolkova E.A., Shmelkova T.P., Klyuyeva S.N., Bugorkova S.A. Induced production of IFN-γ and IL-4 as a measure of functional activity of Th1-and Th2-cells from individuals vaccinated against plague. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, Vol. 61, no. 6, pp. 78-83. (In Russ.)]

9. Al-Mariri A., Tibor A., Mertens P., De Bolle X., Michel P., Godefroid J., Walravens K., Letesson J.J. Protection of BALB/c mice against *Brucella abortus* 544 challenge by vaccination with bacterioferritin or P39 recombinant proteins with CpG oligodeoxynucleotides as adjuvant. *Infect. Immun.*, 2001, Vol. 69, no. 8, pp. 4816-4822.

10. Amemiya K., Meyers J.L., Rogers T.E., Fast R.L., Bassett A.D., Worshama P.L., Powell B.S., Norris S.L., Krieg A.M., Adamovics J.J. CpG oligodeoxynucleotides augment the murine immune response to the *Yersinia pestis* F1-V vaccine in bubonic and pneumonic models of plague. *Vaccine*, 2009, Vol. 27, pp. 2220-2229.

11. Bode C., Zhao G., Steinhagen F., Kinjo T., Klinman D.M. CpG DNA as a vaccine adjuvant. *Expert Rev Vaccines*, 2011, Vol. 10, no. 4, pp. 499-511.

12. Cooper C.L., Davis H.L., Morris M.L., Efler S.M., Adhami M.A., Krieg A.M., Cameron D.W., Heathcote J. 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, Vol. 24, no. 6, pp. 693-701.

13. Hickey A.J., Lin J.-S., Kummer L.W., Szaba F.M., Duso D. K., Tighe M., Parent M.A., Smiley S.T. Intranasal Prophylaxis with CpG Oligodeoxynucleotide Can Protect against *Yersinia pestis* Infection. *Infect. Immun.*, 2013, Vol. 81, no. 6, pp. 2123-2132.

14. Huang C.F., Wang C.C., Wu T.C., Wu K.G., Lee C.C., Peng H.J. Neonatal sublingual vaccination with *Salmonella* proteins and adjuvant cholera toxin or CpG oligodeoxynucleotides induces mucosal and systemic immunity in mice. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2008, Vol. 46, no. 3, pp. 262-271.

15. Judy B.M., Taylor K., Deeksa A., Johnston R.K., Endsley J.J., Vijayakumar S., Aronson J.F., Estes D.M., Torres A.G. Prophylactic Application of CpG Oligonucleotides Augments the Early Host Response and Confers Protection in Acute Melioidosis. *PLoS ONE*, 2012, Vol. 7, no. 3, e34176.

16. Kajiwar A., Doi H., Eguchi J., Ishii S., Hiraide-Sasagawa A., Sakaki M., Omori R., Hiroishi K., Imawari M. Interleukin-4 and CpG oligonucleotide therapy suppresses the outgrowth of tumors by activating tumor-specific Th1-type immune responses. *Oncol. Rep.*, 2012, Vol. 27, no. 6, pp. 1765-1771.

17. Klinman D.M., Klaschik S., Sato T., Tross D. CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2009, Vol. 61, no. 3, pp. 248-255.

18. Lin J.S., Kummer L.W., Szaba F.M., Smiley S.T. IL-17 contributes to cell-mediated defense against pulmonary *Yersinia pestis* infection. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, pp. 1675-1684.

19. Parent M.A., Wilhelm L.B., Kummer L.W., Szaba F.M., Mullarky I.K., Smiley S.T. Gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide synthase 2, key elements of cellular immunity, perform critical protective

functions during humoral defense against lethal pulmonary *Yersinia pestis* infection. *Infect. Immun.*, 2006, Vol. 74, pp. 3381-3386.

20. Rosenzweig J.A., Jejelowo O., Sha J., Erova T.E. Progress on plague vaccine development. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2011, Vol. 91, pp. 265-286.

21. Vollmer J., Jurk M., Samulowitz U., Lipford G., Forsbach A., Wullner M., Tluk S., Hartmann H., Kritzler A., Muller C., Schetter C., Krieg A.M. CpG oligodeoxynucleotides stimulate IFN-gamma-inducible protein-10 production in human B cells. *J. Endotoxin. Res.*, 2004, Vol. 10, pp. 431-438.

Авторы:

Клюева С.Н. — к.б.н., научный сотрудник, лаборатория вакцинологии и иммунопрофилактики отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Шмелькова Т.П. — к.б.н., и.о. старшего научного сотрудника, отдел образовательных программ и подготовки специалистов, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Щуковская Т.Н. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией вакцинологии и иммунопрофилактики отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Authors:

Klyueva S.N., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Vaccinology and Immunoprophylaxis Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Shmelkova T.P., PhD (Biology), Acting Senior Researcher, Department of Educational Programs and Training, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Schukovskaya T.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Vaccinology and Immunoprophylaxis Department of Immunology, Saratov, Russian Federation

Поступила 16.06.2014

Отправлена на доработку 22.06.2014

Принята к печати 24.06.2014

Received 16.06.2014

Revision received 22.06.2014

Accepted 24.06.2014