

ФОРМИРОВАНИЕ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗНЫХ ФЛАВИВИРУСНЫХ ВАКЦИН

Крылова Н.В.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Владивосток, Россия

Резюме. В обзоре в сравнительном аспекте рассматриваются ключевые моменты формирования врожденного и адаптивного иммунного ответа на разные типы современных флавивирусных вакцин: живой аттенуированной против вируса желтой лихорадки и инактивированной цельновирионной против вируса клещевого энцефалита. Особое внимание уделено различной способности этих вакцин, содержащих в своем составе экзогенные патоген-ассоциированные молекулярные структуры, стимулировать врожденный иммунитет. Живая аттенуированная вакцина, инфицируя несколько субтипов дендритных клеток, активирует их через различные паттерн-распознающие рецепторы, такие как Toll- и RIG-I-подобные рецепторы, что приводит к значительной продукции провоспалительных цитокинов, в том числе интерферона- α – основного противовирусного медиатора врожденного иммунитета. Моделируя естественную вирусную инфекцию, эта вакцина быстро распространяется по сосудистой сети, активированные ею дендритные клетки мигрируют к дренирующим лимфоузлам и запускают несколько очагов Т- и В-клеточной активации. Инактивированная вакцина стимулирует врожденный иммунитет преимущественно в месте введения и для достаточной активации требует в своем составе наличия адьюванта (гидроокиси алюминия), под действием которого происходит формирование и активация инфламасом, обеспечивающих образование и секрецию интерлейкина-1 и интерлейкина-18, запускающих в свою очередь каскады клеточных и гуморальных врожденных иммунных реакций. Продемонстрирована возможность участия в индукции врожденного иммунитета, опосредованного инактивированной вакциной, эндогенных патоген-ассоциированных молекулярных структур (мочевой кислоты и ДНК клеток организма), образующихся в месте инъекции вакцины. Обсуждается запуск флавивирусными вакцинами В- и Т-клеточных ответов, обуславливающих различную длительность защиты против патогена. Однократное введение живой вакцины против вируса желтой лихорадки индуцирует поливалентный адаптивный иммунный ответ, включающий продукцию цитотоксических Т-лимфоцитов, Th1- и Th2-клеток и нейтрализующих антител, которые могут сохраняться до 40 лет после вакцинации. Для индукции и поддержания протективного иммунитета, опосредованного инактивированной вакциной против вируса клещевого энцефалита, требуются трехкратная иммунизация, которая приводит к продукции, главным образом, вируснейтрализующих антител, и последующие ревакцинации каждые 3 года. Рассматривается потенциальная возможность применения данных об иммунологических механизмах действия существующих вакцин для создания новых высокоэффективных вакцин.

Ключевые слова: вакцины против флавивирусов, врожденная иммунная система, адаптивный иммунитет

Адрес для переписки:

Крылова Наталья Владимировна
ФГБУ «Научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова»
Сибирского отделения Российской академии
медицинских наук
690087, Россия, г. Владивосток, ул. Сельская, 1.
Тел.: 8 (423) 244-26-04.
Факс: 8 (423) 244-11-47.
E-mail: krylovanatalya@gmail.com

Address for correspondence:

Krylova Natalia V.
G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and
Microbiology, Siberian Branch of the Russian Academy of
Medical Sciences,
690087, Russian Federation, Vladivostok, Selskaya str., 1.
Phone: 7 (423) 244-26-04.
Fax: 7 (423) 244-11-47.
E-mail: krylovanatalya@gmail.com

Образец цитирования:

Н.В. Крылова, «Формирование врожденного и адаптивного иммунного ответа под влиянием разных флавивирусных вакцин» // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 2. С. 109–118.
doi: 10.15789/1563-0625-2015-2-109-118

© Крылова Н.В., 2015

For citation:

N.V. Krylova, "Formation of innate and adaptive immune response under the influence of different flavivirus vaccines", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2015, Vol. 17, no. 2, pp. 109–118.
doi: 10.15789/1563-0625-2015-2-109-118

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-2-109-118>

FORMATION OF INNATE AND ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE UNDER THE INFLUENCE OF DIFFERENT FLAVIVIRUS VACCINES

Krylova N.V.

G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. The review examines in a comparative perspective the key moments of formation of innate and adaptive immune responses to different types of current flavivirus vaccines: live attenuated against yellow fever virus and inactivated whole virus against tick-borne encephalitis virus. Particular attention is paid to the ability of these different vaccines, containing exogenous pathogen-associated molecular structures, to stimulate innate immunity. Live attenuated vaccine by infecting several subtypes of dendritic cells activates them through various pattern-recognition receptors, such as Toll- and RIG-I-like receptors, which leads to significant production of proinflammatory cytokines, including interferon- α - primary mediator of innate antiviral immunity. By simulating natural viral infection, this vaccine quickly spreads over the vascular network, and the dendritic cells, activated by it, migrate to the draining lymph nodes and trigger multiple foci of T- and B-cell activation. Inactivated vaccine stimulates the innate immunity predominantly at the injection site, and for the sufficient activation requires the presence in its composition of an adjuvant (aluminum hydroxide), which effects the formation and activation of inflammasomes, ensuring the formation and secretion of IL-1 and IL-18 that, in turn, trigger a cascade of cellular and humoral innate immune responses. We demonstrated the possibility of involvement in the induction of innate immunity, mediated by the inactivated vaccine, endogenous pathogen-associated molecular patterns (uric acid and host cell DNA), forming at the vaccine injection site. We discuss the triggering of B- and T-cell responses by flavivirus vaccines that determine various duration of protection against various pathogens. A single injection of the live vaccine against yellow fever virus induces polyvalent adaptive immune response, including the production of cytotoxic T-lymphocytes, Th1- and Th2-cells and neutralizing antibodies, which may persist for up to 40 years after the vaccination. To induce and maintain protective immunity, mediated by the inactivated vaccine against tick-borne encephalitis virus, it is required: triple immunization, which results in the production primarily of neutralizing antibodies, and subsequent booster injections every 3 years. We considered the potential use of the data on immunological mechanisms of action of current vaccines to generate new highly efficient vaccines.

Keywords: flavivirus vaccines, innate immune system, adaptive immunity

Благодарности

Автор выражает благодарность профессору, д.м.н. Г.Н. Леоновой за обсуждение и критическое рецензирование рукописи.

Введение

На сегодняшний день флавивирусные инфекции продолжают оставаться существенной проблемой здравоохранения в различных частях мира, поскольку приводят к значительной заболеваемости и смертности. Возбудители этих инфекций – флавивирусы – принадлежат к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* (известно более 70 флавивирусов), передаются через укусы инфицированных комаров или клещей [39]. Флавивирусы – относительно небольшие вирусы (приблизительно 11 kb) с положительной одноцепочечной РНК, которая кодирует три структурных и семь

неструктурных белков. Неструктурные белки (NS1 – NS5) важны для вирусной репликации; из трех структурных белков: 1) капсидный белок (С) участвует в сборке вириона, 2) предшественник мембранного белка (prM), расщепляясь до мембранного белка, участвует в высвобождении вириона, и 3) оболочечный белок (Е), участвующий во входе вируса в клетки хозяина и индуцирующий иммунные реакции [39]. Наиболее патогенными флавивирусами для человека являются вирус желтой лихорадки (YFV), вирус денге (DENV), вирус японского энцефалита (JEV), вирус Западного Нила (WNV) и вирус клещевого энцефалита (TBEV).

Клинические симптомы флавивирусных инфекций, как правило, подразделяются на три основные группы клинических проявлений, а именно: лихорадка, геморрагические симптомы (с гепатитом или без него) и поражение центральной нервной системы. Вирус YF ежегодно становится причиной 200 000 случаев заболевания и 30 000 смертей в тропических и субтропических регионах Африки и Южной Америки [45, 60]. Инфекция, вызванная вирусом DEN, распространена в Центральной Америке, южных частях Северной Америки и в большей части Юго-Восточной Азии, как правило, имеет легкое течение, но встречается чрезвычайно часто (ежегодно регистрируется около 100–200 млн случаев инфицирования) [23, 24, 59]. Реже выявляется тяжелое течение заболевания, которое приводит к геморрагической лихорадке и/или шоку, ежегодно отмечается около 500 000 таких случаев и более 20 000 смертей [24]. Вирус JE в эндемичных районах Юго-Восточной Азии вызывает тяжелые энцефалиты и 25–30% из 50 000 случаев заболевания каждый год приводят к летальному исходу [25]. На долю вируса КЭ во многих частях Европы, а также Центральной и Восточной Азии приходится одна из самых тяжелых инфекций ЦНС (ежегодно регистрируется более 10 000 случаев) [19, 35, 57]. Вирус WN вызывал спорадические случаи или небольшие вспышки заболевания ЦНС в некоторых частях Африки, Европы, Азии и Австралии, но в 1999 году быстро распространился по Северо-Американскому континенту, в Центральной Америке и, наконец, Южной Америке [8, 46]. В 2003 году в США были зарегистрированы 9862 случая заболевания и 264 случаев смерти от WNV инфекции [40].

Несмотря на значительные исследования, до настоящего времени не существует широкого спектра анти-флавивирусных препаратов и лекарств, ориентированных на конкретные флавивирусы. Поэтому вакцинация против этих патогенов является наиболее эффективным и действенным способом борьбы с флавивирусными инфекциями. Однако в данный момент имеются лицензированные вакцины для человека только для профилактики желтой лихорадки (живая аттенуированная), японского энцефалита (живая аттенуированная и инактивированная цельновирионная) и клещевого энцефалита (инактивированная цельновирионная) [27, 30]. Для других важных флавивирусов, таких как WNV и DENV, вакцины находятся в стадии разработки. Так, одна из кандидатов-вакцин против вируса денге (химерная DENV-YFV живая

аттенуированная вакцина) достигла 3 фазы клинических испытаний [27].

Следует отметить, что большинство вакцин были разработаны эмпирическим путем, с ограниченным знанием их иммунологических механизмов действия [12, 51]. Следовательно, понимание механизмов действия существующих вакцин является важным стимулом к их улучшению, а также может дать ключ к рациональному проектированию более эффективных стратегий вакцинации и к развитию инновационных, рационально разработанных адъювантов. Настоящий обзор посвящен некоторым аспектам формирования поствакцинального иммунного ответа под влиянием эффективных флавивирусных вакцин.

Особенности поствакцинального иммунитета

Поствакцинальный иммунитет отличается от естественного иммунитета, возникающего под влиянием перенесенной инфекции. В целом поствакцинальный иммунитет уступает по напряженности постинфекционному и зависит от типа вакцин. Имуногенность вакцин уменьшается в следующем порядке: живые (аттенуированные) – инактивированные – субъединичные вакцины [2]. При естественной иммунизации, введении живых и инактивированных вакцин организм отвечает на все виды антигенов, входящих в состав микроорганизмов. При иммунизации субъединичными вакцинами иммунитет менее полноценен, так как он формируется под влиянием только отдельных антигенных детерминант. В идеале вакцина должна содержать все протективные антигены, которые входят в состав микроорганизмов, вызывающих заболевание. Такая вакцина активирует большое количество иммунокомпетентных клеток различной специфичности, что обеспечивает формирование стойкого иммунитета [2].

Долгосрочный поствакцинальный иммунитет осуществляется путем поддержания антигенспецифических иммунных эффекторов и/или индукции иммунных клеток памяти, которые могут достаточно эффективно и быстро возобновиться в иммунные эффекторы при воздействии патогенов [54]. По существу, вакцин-индуцированными иммунными эффекторами являются антитела, продуцируемые В-лимфоцитами и способные специфически связываться с патогеном [54]. Другими потенциальными эффекторами являются цитотоксические CD8⁺T-лимфоциты (CTL), которые могут ограничить распространение инфекционных агентов, распознавая и уничтожая инфицированные клетки или секретируя различные цитокины. Воспроизведение и поддержание как В-, так и CD8⁺T-клеточных ответов

осуществляется факторами роста и сигналами, предоставляемыми CD4⁺T-лимфоцитами (Th1- и Th2-субтипа). Эти эффекторы контролируются регуляторными Т-клетками (Treg), которые участвуют в поддержании иммунной толерантности [4].

Для индукции антиген-специфических В- и Т-клеточных ответов необходима активация антигенпрезентирующих клеток (APCs), в основном дендритных (DCs). Центральная роль зрелых DCs в индукции ответа на вакцину отражает их уникальную способность представлять как антиген-специфические, так и костимулирующие сигналы Т-клеткам, которые необходимы для активации наивных Т-клеток [47]. Важным требованием для получения ответа на вакцину является обеспечение достаточно сильных «сигналов опасности», вызываемых вакцинальными антигенами и/или адьювантами, чтобы индуцировать воспалительную реакцию [28]. Считается, что для запуска механизмов врожденной иммунной системы вакцины используют в основном два типа иммунных триггеров [18]. Во-первых, они могут содержать экзогенные патоген-ассоциированные молекулярные структуры (pathogen-associated molecular patterns – PAMPs) вакцинального антигена. Во-вторых, компоненты вакцины (такие как определенные адьюванты) могут индуцировать высвобождение эндогенных ассоциированных с повреждением молекулярных структур (damage associated molecular patterns – DAMPS), хотя этот механизм менее хорошо изучен. PAMPs и DAMPS стимулируют врожденную иммунную систему путем активации паттерн-распознающих рецепторов (pattern-recognition receptors PRRs), экспрессирующихся на антиген-презентирующих клетках, и это в решающей степени обуславливает адаптивный иммунный ответ на вакцину [18].

Известно, что природа вакцины оказывает прямое влияние на тип иммунных эффекторов, которые преимущественно вызывают и опосредуют протективную эффективность [2, 54]. В качестве примера рассмотрим формирование поствакцинального иммунитета под влиянием а) живой аттенуированной вакцины (против желтой лихорадки) и б) инактивированной вакцины (против КЭ).

Иммунный ответ на введение живой аттенуированной вакцины

Вакцина против желтой лихорадки (YF-17D), созданная около 70 лет назад, является одной из наиболее эффективных и безопасных противовирусных вакцин. За разработку этой вакцины Макс Тайлер в 1951 году был удостоен Нобелев-

ской премии, и это единственная Нобелевская премия, которой были награждены за создание вирусных вакцин. За это время было успешно провакцинировано более 540 миллионов человек во всем мире [50]. Вакцина вводится однократно, подкожно, ревакцинацию проводят через 10 лет. Однако до недавнего времени о взаимодействии YF-17D с иммунной системой, и тем более с компонентами врожденного иммунитета, известно немного.

Врожденный иммунный ответ

Вопрос о важности раннего врожденного иммунного ответа на YF-17D был поднят в 1945 году в исследовании, продемонстрировавшем, что обезьяны, получившие YF-17D и затем зараженные вирулентным вирусом, 1-3 дня спустя (до появления антител) уже были частично защищены [14]. В настоящее время показано, что вакцина YF-17D активирует несколько субтипов дендритных клеток (миелоидные DCs и плазмацитоидные DCs) через PRRs, такие как Toll-подобные рецепторы (TLR2, TLR7, TLR8 и TLR9), что приводит к значительной продукции провоспалительных цитокинов, в том числе интерферона- α (IFN α) плазмацитоидными DCs [52]. Конкретные вирусные компоненты, которые запускают эти TLRs, неизвестны, но вполне вероятно, что TLR7 и TLR8 инициируются вирусными нуклеиновыми кислотами [56]. Хотя установлено, что вакцинация YF-17D приводит к острой вирусной инфекции, при которой имеет место кратковременная (в течение нескольких дней) репликация вируса [45], и YF-17D инфицирует DCs, однако реплицируется в этих клетках минимально [5, 52]. Тем не менее, даже эта минимальная репликация оказывается достаточной для презентации Т-клеткам эндогенных эпитопов, что приводит к индукции CD8⁺T-клеточного ответа и смешанному Th1- и Th2-типу иммунного ответа [52].

Кроме того, было показано, что у лиц, привитых вакциной YF-17D, отмечается индукция генов, кодирующих другие PRRs, такие как RIG-I и MDA5, а также транскрипционные факторы, которые регулируют экспрессию IFN I типа (IRF7 и STAT1) [18, 22]. Эти авторы полагают, что IRF7, STAT1 являются ключевыми регуляторами раннего врожденного иммунного ответа на YF-17D вакцину. Стойкое повышение активации этих факторов отмечалось в течение двух недель после вакцинации, что, вероятно, отражало стимуляцию клеток врожденного иммунитета в ответ на вирусную репликацию, пик которой отмечался на 7 день [45].

Таким образом, успешные живые вирусные вакцины, такие как YF-17D, эф-

фактивно активируют врожденную иммунную систему, предположительно, с помощью PAMPs (например, вирусной РНК), которые распознаются различными PRRs. После инъекции YF-17D и ее быстрого распространения по сосудистой сети, дендритные клетки активируются в нескольких местах, мигрируют к соответствующему лимфатическому узлу и запускают несколько очагов Т- и В-клеточной активации, что обуславливает высокую иммуногенность живой вакцины. Эта модель является похожей на ту, что имеет место при естественной вирусной инфекции.

Адаптивный иммунный ответ

К настоящему времени установлено, что вакцинация YF-17D вызывает поливалентный адаптивный иммунный ответ, включающий продукцию CTL, Th1- и Th2-клеток и нейтрализующих антител, которые могут сохраняться до 40 лет после вакцинации [6]. Считается, что уровень нейтрализующих антител в первую очередь коррелирует со степенью защиты против заражения вирусом YF, а иммунизация предохраняет от инфекции вакцинированных лиц более чем в 90% случаев [6, 45]. Вакцина YF-17D индуцирует быструю продукцию вирусспецифических антител класса IgM в первые 7 дней после вакцинации с пиком на 2-ой неделе [6]. В течение первых 4-6 недель титры IgM-антител выше, чем IgG-антител, и они сохраняются не менее 18 месяцев. Нейтрализующие антитела класса IgG появляются позже и могут сохраняться до 40 лет. Механизмы, которые стимулируют такую устойчивость иммунного ответа, неизвестны, так же как клеточные и молекулярные механизмы, которые приводят к длительному IgM ответу.

Несмотря на то, что Т-клетки играют важную роль в адаптивном иммунном ответе, работ по изучению Т-клеточных реакций при вакцинации YF-17D немного. Было показано, что человеческие CD8⁺Т-клетки, реагирующие на вакцину YF-17D, распознают эпитопы вирусных белков Е, NS1, NS2b и NS3 [11]. Другое исследование у людей, иммунизированных YF-17D вакциной, подтвердило увеличение популяции CD8⁺Т-клеток путем мониторинга экспрессии активационных маркеров (CD38, HLA-DR) и подавления внутриклеточного Bcl-2 в Т-клетках [44]. Способность к ингибированию внутриклеточного Bcl-2, как известно, является признаком активированных эффекторных CD8⁺Т-клеток [44]. Пик CD8⁺Т-клеточного ответа наблюдался на 15-й день, возвращение к нормальному уровню — на 30-й день после иммунизации.

Поскольку живая вакцина YF-17D вызывает активную вирусную инфекцию, то вполне вероятно, что заболевания, обусловленные другими вирусами, которые индуцируют сильный иммунный ответ, протекают по тому же иммунологическому сценарию. Таким образом, вакцина YF-17D является самой успешной моделью для разработки новых вакцин, которые должны вызывать длительную защиту.

Иммунный ответ на введение инактивированной вакцины

В настоящее время зарегистрированы, разрешены к применению и широко используются, в том числе и на территории РФ, четыре вида вакцин против КЭ [57]. Две из них отечественного производства — вакцина Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН (Москва) и вакцина «ЭнцеВир» НПО «Микроген» (г. Томск). Две вакцины зарубежного производства для взрослых и детей: вакцина «FSME-Immun» компании «Baxter Vaccin AG», Австрия, а также вакцина «Encervig» фирмы «Novartis Vaccine», Германия. Все эти вакцины приготовлены по сходной технологии, но из различных, инактивированных формальдегидом штаммов вируса КЭ, принадлежащих к дальневосточному (Софьин и 205) и западноевропейскому (Найдорфл и K23) субтипам этого возбудителя. Инактивированные вакцины обладают в целом более низкой эффективностью по сравнению с живыми вакцинами, но при повторном введении создают достаточно стойкий иммунитет, предохраняя привитых лиц от заболевания или уменьшая его тяжесть [2]. Преимуществом инактивированных вакцин является то, что они утратили риск реверсии вирулентности, для которой всегда есть возможность в случае живых аттенуированных вакцин [15]. Схема вакцинации для инактивированных вакцин против КЭ однотипна: три дозы вводят внутримышечно, первые две вводят с интервалом 1-3 месяца и третья вводится через 1 год после второй. Последующие ревакцинации проводят каждые 3 года однократно [2].

Долгое время считался бесспорным тот факт, что инактивированные вакцины индуцируют только продукцию вакцин-специфических антител, но в последние годы начали появляться отдельные исследования, демонстрирующие, что эти вакцины могут активировать и другие звенья иммунной системы.

Врожденный иммунный ответ

Инактивированные вакцины все еще могут содержать PAMPs, которые способны инициировать врожденный иммунный ответ [58]. Однако

при отсутствии вирусной репликации вакцин-индуцированная активация становится более ограниченной, как в пространстве, так и во времени [54]. Показано, что инактивированные вакцины существенно активируют врожденный иммунный ответ лишь в месте их инъекции, поэтому для этих вакцин более важны место и способ их введения, чем для живых вакцин [54]. Для большинства инактивированных вакцин, в том числе и для вакцин против КЭ, требуется, чтобы их изготавливали со специфическими адьювантами, включающими «сигналы опасности» и вызывающими достаточную активацию врожденной иммунной системы. В вакцинах против КЭ в качестве адьюванта используется гидроокись алюминия – широко распространенный и один из немногих адьювантов, имеющий лицензию для применения у человека [12, 42]. Было установлено, что адьюванты, содержащие алюминий (АСА), в основном усиливают продукцию IgG1 и IgE путем стимулирования Th2-типа иммунного ответа, хотя также сообщалось об индукции CD8⁺T-клеток с помощью АСА [43].

В течение многих десятилетий мало внимания уделялось иммунологическим механизмам, которые индуцируют адьювантную активность АСА. Возобновление интереса было вызвано открытием, что под действием АСА происходит формирование NLRP3 инфламмосом, образованных с участием белка из группы NOD-подобных цитоплазматических PRRs [20, 29]. Активация NLRP3 инфламмосом этим адьювантом обеспечивает перевод прокаспазы-1 в активное состояние для процессинга предшественников IL-1 β и IL-18 и образования их биологически активных форм, далее секретируемых из клеток [9, 49] и запускающих, в свою очередь, каскады клеточных и гуморальных врожденных иммунных реакций. Тем не менее исследования вклада NLRP3 в воздействие АСА на адаптивный иммунный ответ привели к противоречивым результатам [43, 55], предполагающим, что NLRP3 инфламмосомы в целом не имеют важного значения для адьювантной активности АСА, и в это вовлечены дополнительные механизмы. Недавние исследования на моделях мышей сообщают о роли двух DAMPs, которые опосредуют адьювантную активность АСА [31, 32, 41]. Так, АСА индуцируют в местах инъекций накопление мочевой кислоты и быстрое высвобождение ДНК клеток организма и эти два DAMPs индуцируют Th2-тип иммунного ответа [31, 32, 41], в противоположность тому, что большинство PAMPs индуцируют Th1-тип иммунных ответов. Однако необходимы дополнительные исследования по идентификации

рецепторов для мочевой кислоты и ДНК клеток организма, чтобы разобраться во вкладе этих DAMPs в адьювантное действие АСА.

Можно предположить, что изучение широкого круга паттерн-распознающих рецепторов, взаимодействующих с различными PAMPs и DAMPs, приведет к более детальному пониманию механизмов действия адьювантов, в том числе и АСА, при вакцинации.

Адаптивный иммунный ответ

Одним из важнейших показателей протективного поствакцинального иммунитета, хорошо изученного многими исследователями, является уровень нейтрализующих антител, индуцированных инактивированными вакцинами против КЭ [1, 26, 34, 36]. ВОЗ в 2011 году были обобщены данные по сероконверсии вакцин: Encerpur для детей, Encerpur для взрослых и FSME-Immun нового состава [57]. Так, при исследовании 5063 детей и взрослых, привитых этими вакцинами, методами ИФА, РТГА и РН была определена сероконверсия среди 92-100% вакцинированных [16].

В лаборатории клещевого энцефалита НИИЭМ СО РАМН проводились многолетние наблюдения за иммунологической эффективностью вакцин против КЭ. Было проведено сравнительное исследование иммуногенности 4-х вакцин (КЭ-Москва, Энцевир, FSME-Immun, Encerpur), которое включало 290 взрослых лиц [37, 38]. Все вакцины индуцировали нейтрализующие антитела против разных штаммов дальневосточного и сибирского субтипов вируса КЭ. В случае применения вакцины КЭ-Москва антитела выявлялись у 100% привитых через 2-5 месяцев и у 94% – через 2 года. При применении вакцины Энцевир – 88 и 84%, FSME-Immun – 88,2 и 78,1%, Encerpur – 100 и 100% (соответственно, через 2-5 месяцев и через 2 года).

В то же время исследования роли T-клеточного иммунного ответа, индуцированного инактивированными вакцинами, малочисленны. В опытах на животных ряд авторов показали, что инактивированные вакцины индуцируют только некоторые звенья иммунной системы. Так, в исследовании T.R. Kreil et al. [33] мышей вначале иммунизировали вакциной FSME-Immune (по схеме, трижды) и затем заражали летальной дозой ВКЭ. Как и ожидалось, после иммунизации индуцировались высокие титры антител против белка E, что приводило к 100% выживаемости. Хотя инфицирование живым вирусом не выявляло виремии, но к неструктурному белку NS1 вырабатывался новый вид антител, который не продуцировался после вакцинации. Кроме

того, ВКЭ-специфические CD8⁺T-клетки были обнаружены только после заражения вирусом. Авторы пришли к выводу, что вакцина защищает от тяжелых случаев заболевания [33]. Исследование, проведенное J.H. Aberle et al. [3] и выполненное на мышах, иммунизированных инактивированной вакциной против КЭ, также показало, что вакцинация приводит к 100% сероконверсии и отсутствию протективного CD8⁺T-клеточного ответа у мышей.

Однако В. Shrestha et al. [53] показали, что применение инактивированной вакцины против WNV индуцирует у мышей не только высокие уровни нейтрализующих антител, но и антиген-специфические CD8⁺T-клетки, способствующие усилению протективного иммунитета. Через 60 дней после однократной иммунизации одной дозой этой вакцины авторы наблюдали у мышей практически полную защиту от высоковирулентного летального внутримозгового заражения WNV. Было установлено, что истощение CD8⁺T-клеток непосредственно перед заражением WNV путем введения анти-мышинных CD8-антител имело тенденцию к снижению защиты у мышей, иммунизированных одной дозой вакцины. Такие же результаты были получены в экспериментах с CD8^{-/-} мышами. Тем не менее, приобретенные или генетические дефициты CD8⁺T-клеток менее влияли на выживаемость животных, если до заражения WNV мыши были ревакцинированы. Аналогичные результаты были получены после трех ревакцинаций с помощью вакцины против JEV: гуморального иммунного ответа было достаточно, чтобы защитить мышей от JEV при отсутствии CD8⁺T-клеток [48].

Тот факт, что инактивированная, не способствующая репликацией вируса вакцина стимулировала CD8⁺T-клеточные реакции против неструктурного белка вируса (NS4b), достаточно интересен. Считалось, что инактивированные вакцины не могут индуцировать достаточный CD8⁺T-клеточный ответ в связи с отсутствием в цитоплазме клеток белков, кодируемых вирусом, т.е. белков, которые при естественной инфекции будут представлены через молекулы МНС-I, что приводит к эффективному CD8⁺T-клеточному ответу. В. Shrestha et al. предполагают, что иммунизация инактивированной WNV вакциной, вероятно, генерирует CD8⁺T-клеточный ответ против NS4b путем перекрестной презентации антигена DCs [533].

Еще недавно считали, что пептидные фрагменты внутриклеточных белков вируса могут попасть только в состав молекул МНС-I, а пептиды экзогенного происхождения — только в со-

став молекул МНС-II. Поэтому было неясно, как происходит запуск цитотоксического иммунного ответа на внеклеточные патогены с участием молекул МНС-I. Ответом на этот вопрос послужило описание перекрестной презентации, в результате которой CD8⁺T-клетки распознают комплексы молекул МНС класса I с пептидами экзогенного происхождения, поглощенными DCs при эндоцитозе [17]. Предположительно, этот механизм включается в том случае, когда вирус не инфицирует антигенпрезентирующие клетки напрямую. Тогда перекрестная презентация может индуцировать эффективный иммунный ответ, опосредованный CTL [17]. Механизм этого явления до конца не раскрыт, но большое значение в его реализации отводят DCs и TLRs, в частности TLR3 и TLR9 [7, 13]. В настоящее время также активно изучается роль перекрестной презентации антигенов в индукции цитотоксического иммунитета при вакцинации [10, 21].

Таким образом, недавние исследования подтвердили способность флавивирусных инактивированных вакцин активировать у мышей CD8⁺T-клеточный иммунный ответ, однако продукция нейтрализующих антител, как правило, считается более актуальной с точки зрения защиты, индуцированной этими вакцинами.

Выводы и перспективы

Таким образом, многие патогенные для человека флавивирусы значительно увеличивают свое распространение как в развивающихся, так и в развитых странах мира [27, 35, 60]. В этой связи возрастает потребность в дешевых, безопасных и эффективных вакцинах для борьбы с заболеваниями, вызванными этими вирусами. Несмотря на ранний и значительный успех вакцины против желтой лихорадки (YF-17D), его не удалось транслировать в широкий спектр эффективных вакцин, направленных на другие флавивирусы. И хотя большинство существующих вакцин были разработаны эмпирически, тем не менее, для создания новых вакцин потребовалось детальное понимание механизмов, лежащих в основе всех эффективных вакцин. Так, расширение знаний о взаимосвязи между врожденной и адаптивной иммунной системой и важной роли антигенпрезентирующих клеток легло в основу новых технологий, таких как создание субъединичных, химерных и ДНК-вакцин. В то же время изучение механизмов действия существующих адъювантов стало ключом к поиску и внедрению новых высокоэффективных адъювантов, которые позволят сократить число ревакцинаций, снизить

антигенную нагрузку на организм, значительно упростить и удешевить сам процесс вакцинации. Поскольку высокоочищенные антигены могут быть слабыми иммуногенами, то одна из самых перспективных на сегодняшний день технологий базируется на тщательном подборе комбинаций

антигенов и инновационных адъювантов [61]. Можно предположить, что новые технологии (когда будут полностью подтверждены и появятся на рынке) смогут быстро, дешево и эффективно адаптироваться к другим членам флавивирусного рода.

Список литературы / References

1. Воробьева М.С., Расщепкина М.Н., Ладыженская И.П. Вакцины, иммуноглобулины и тест-системы для профилактики и диагностирования клещевого энцефалита // Вопросы вирусологии, 2007. Т. 52. С. 30-36. [Vorob'yeva M.S., Rasschepkina M.N., Ladyzhenskaya I.P. Vaccines, immunoglobulins and test systems for the prevention and diagnosis of tick-borne encephalitis. *Voprosy virusologii = Problems in Virology*, 2007, Vol. 52, pp. 30-36. (In Russ.)]
2. Медуницын Н.В. Вакцинология. М.: Триада-Х, 2010. 512 с. [Medunitsyn N.V. Vaccinology]. Moscow: Triada-X, 2010. 512 p.
3. Aberle J.H., Aberle S.W., Kofler R.M., Mandl C.W. Humoral and cellular immune response to RNA immunization with flavivirus replicons derived from tick-borne encephalitis virus. *J. Virol.*, 2005, Vol. 79, no. 24, pp. 15107-15113.
4. Bacchetta R., Gregori S., Roncarolo M.G. CD4⁺ regulatory T cells: mechanisms of induction and effector function. *Autoimmun. Rev.*, 2005, Vol. 4, pp. 491-496.
5. Barba-Spaeth G., Longman R.S., Albert M.L., Rice C.M. Live attenuated yellow fever 17D infects human DCs and allows for presentation of endogenous and recombinant T cell epitopes. *J. Exp. Med.*, 2005, Vol. 202, pp. 1179-1184.
6. Barrett A.D.T., Teuwen D. Yellow fever vaccine – how does it work and why do rare cases of serious adverse events take place? *Curr. Opin. Immunol.*, 2009, Vol. 21, pp. 1-6.
7. Basta S., Alatery A. The cross-priming pathway: a portrait of an intricate immune system. *Scand. J. Immunol.*, 2007, Vol. 65, no. 4, pp. 311-319.
8. Blitvich B.J. Transmission dynamics and changing epidemiology of West Nile Virus. *Anim. Health Res. Rev.*, 2008, Vol. 9, pp. 71-86.
9. Cassel S., Sutterwala F.S. Sterile inflammatory responses mediated by the NLRP3 inflammasome. *Eur. J. Immunol.*, 2010, Vol. 40, no. 3, pp. 607-611.
10. Chun Y., Gallego M., Marches F., Zurawski S., Ramilo O., Zurawski G., Garcia-Sastre A., Banchereau J., Palucka A.K. Cross-presentation of Influenza virus vaccine antigens to CD8⁺ T cells in humanized mice. *The FASEB Journal*. 2008; 22:857.24.
11. Co M.D., Terajima M., Cruz J., Ennis F.A., Rothman A.L. Human cytotoxic T lymphocyte responses to live attenuated 17D yellow fever vaccine: identification of HLA-B35-restricted CTL epitopes on nonstructural proteins NS1, NS2b, NS3, and the structural protein E. *Virology*, 2002, Vol. 293, pp. 151-163.
12. Coffman R.L., Sher A., Seder R.A. Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity*, 2010, Vol. 33, pp. 492-503.
13. Datta S.K., Raz E. Induction of antigen cross-presentation by Toll-like receptors. *Springer Semin. Immunopathol.*, 2005, Vol. 26, pp. 247-255.
14. David-West T.S. Concurrent and consecutive infection and immunisations with yellow fever and UGMP-359 viruses. *Arch. Virol.*, 1975, Vol. 48, pp. 21-28.
15. Del Giudice G., Pizza M., Rappuoli R. Molecular basis of vaccination. *Mol. Aspects Med.*, 1998, Vol. 19, no. 1, pp. 1-70.
16. Demicheli V., Debalini M.G., Rivetti A. Vaccines for preventing tick-borne encephalitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2009, Vol. 1, CD000977.
17. Den Haan J.M., Bevan M.J. Constitutive versus activation-dependent cross-presentation of immune complexes by CD8(+) and CD8(-) dendritic cells *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 2002, Vol. 196, no.6, pp. 817-827.
18. Desmet C.J., Ishii K.J. Nucleic acid sensing at the interface between innate and adaptive immunity in vaccination. *Nat. Rev. Immunology*, 2012, Vol. 12, pp. 479-491.
19. Donoso Mantke O., Escadafal C., Niedrig M., Pfeffer M. Tick-borne encephalitis in Europe, 2007 to 2009. Working Group for Tick-Borne Encephalitis Virus. *Euro Surveill.*, 2011, Vol. 16, pii: 19976.
20. Eisenbarth S.C., Colegio O.R., O'Connor W., Sutterwala F.S., Flavell R.A. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature*, 2008, Vol. 453, pp. 1122-1126.
21. Fehres C.M., Unger W.W.J., Garcia-Vallejo J.J., van Kooyk Y. Understanding the biology of antigen cross-presentation for the design of vaccines against cancer. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, no. 149, pp. 1-10.

22. Gaucher D., Therrien R., Kettaf N., Angermann B.R., Boucher G., Filali-Mouhim A., Moser J.M., Mehta R.S. Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune responses. *J. Exp. Med.*, 2008, Vol. 205, pp. 3119-3131.
23. Gubler D.J. Emerging vector-borne flavivirus diseases: are vaccines the solution? *Expert Rev. Vaccines*, 2011, Vol. 10, no. 5, pp. 563-565.
24. Guzman M.G., Halstead S.B., Artsob H., Buchy P., Farrar J., Gubler D.J. Dengue: a continuing global threat. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2010, Vol. 8 (12 Suppl.), pp. 7-16.
25. Halstead S.B., Thomas S.J. Japanese encephalitis: new options for active immunization. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, Vol. 50, no. 8, pp. 1155-1164.
26. Heinz F.X., Holzmann H., Essl A., Kundi M. Field effectiveness of vaccination against tick-borne encephalitis. *Vaccine*, 2007, Vol. 25, pp. 7559-7567.
27. Heinz F.X., Stiasny K. Flaviviruses and flavivirus vaccines. *Vaccine*, 2012, Vol. 30, pp. 4301-4306.
28. Hoebe K., Janssen E., Beutler B. The interface between innate and adaptive immunity. *Nat. Immunol.*, 2004, Vol. 5, pp. 971-974.
29. Hornung V., Bauernfeind F., Halle A., Samstad E.O., Kono H., Rock K.L., Fitzgerald K.A., Latz E. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat. Immunol.*, 2008, Vol. 9, pp. 847-856.
30. Ishikawa T., Yamanaka A., Konishi E. A review of successful flavivirus vaccines and the problems with those flaviviruses for which vaccines are not yet available. *Vaccine*, 2014, Vol. 32, pp. 1326-1337.
31. Kool M., Soullié T., van Nimwegen M., Willart M.A.M., Muskens F., Jung S., Hoogsteden H.C., Hammad H., Lambrecht B.N. Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells. *J. Exp. Med.*, 2008, Vol. 205, pp. 869-882.
32. Kool M., Willart M.A., van Nimwegen M., Bergen I., Pouliot P. An unexpected role for uric acid as an inducer of T helper 2 cell immunity to inhaled antigens and inflammatory mediator of allergic asthma. *Immunity*, 2011, Vol. 34, pp. 527-540.
33. Kreil T.R., Maier E., Fraiss S. Vaccination against tick-borne encephalitis virus, a flavivirus, prevents disease but not infection, although viremia is undetectable. *Vaccine*, 1998, Vol. 16, no. 11-12, pp. 1083-1086.
34. Kunz C. TBE vaccination and the Austrian experience. *Vaccine*, 2003, Vol. 21 (Suppl 1), pp. 50-55.
35. Kunze U. Tick-borne encephalitis: the impact of epidemiology, changing lifestyle, and environmental factors. Conference report of the 12th Annual Meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE). *Vaccine*, 2011, Vol. 29, pp. 1355-1356.
36. Leonova G.N., Ternovoi V.A., Pavlenko E.V. Evaluation of vaccine Encepur[®] Adult for induction of human neutralizing antibodies against recent Far Eastern subtype strains of tick-borne encephalitis. *Vaccine*, 2007, Vol. 25, pp. 895-901.
37. Leonova G.N., Pavlenko E.V. Characterization of neutralizing antibodies to Far Eastern of tick-borne encephalitis virus subtype and the antibody avidity for four tick-borne encephalitis vaccines in human. *Vaccine*, 2009, Vol. 27, pp. 2899-2904.
38. Leonova G.N. Evaluation of Immunological efficiency among patients vaccinated against tick-borne encephalitis. Flavivirus encephalitis / ed. D. Ruzek. *In Tech*, 2011, pp. 195-212.
39. Lindenbach B.D., Murray C., Thiel H.J., Rice C.M. Flaviviridae. Fields virology. 6th edition / ed. Knipe D.M., Howley P.M. *Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins*, 2013, pp. 712-746.
40. Lindsey N.P., Staples J.E., Lehman J.A., Fischer M. Surveillance for human West Nile virus disease – United States, 1999-2008. *MMWR Surveill Summ*, 2010, Vol. 59, pp. 1-17.
41. Marichal T., Ohata K., Bedoret D., Mesnil C., Sabatel C., Kobiyama K., Lekeux P., Coban C., Akira S., Ishii K.J., Bureau F., Desmet C.J. DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. *Nature Med.*, 2011, Vol. 17, pp. 996-1002.
42. Mbow M. L., De Gregorio E., Valiante N. M., Rappuoli R. New adjuvants for human vaccines. *Curr. Opin. Immunol.*, 2010, Vol. 22, pp. 411-416.
43. McKee A.S., Munks M.W., MacLeod M.K.L., Fleenor C.J., van Rooijen N., Kappler J.W., Marrack P. Alum induces innate immune responses through macrophage and mast cell sensors, but these sensors are not required for alum to act as an adjuvant for specific immunity. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, pp. 4403-4414.
44. Miller J.D., van der Most R.G., Akondy R.S., Glidewell J.T., Albott S., Masopust D., Murali-Krishna K., Ahmed R. Human effector and memory CD8⁺ T cell responses to smallpox and yellow fever vaccines. *Immunity*, 2008, Vol. 28, pp. 710-722.
45. Monath T.P., Cetron M.S., Teuwen D.E. Yellow fever vaccine. *Vaccines* / ed. Plotkin S.A., Orenstein W.A., Offit P.A. *Elsevier Health Sciences*, 2008, pp. 959-1055.
46. Murray K.O., Walker S., Gould E. The virology, epidemiology, and clinical impact of West Nile virus: a decade of advancements in research since its introduction into the Western Hemisphere. *Epidemiol. Infect.*, 2011, Vol. 139, pp. 807-817.

47. Palucka A.K., Laupeze B., Aspod C. Immunotherapy via dendritic cells. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2005, Vol. 560, pp. 105-114.
48. Pan C.-H., Chen H.-W., Huang H.-W., Tao M.-H. Protective mechanisms induced by a Japanese encephalitis virus DNA vaccine: requirement for antibody but not CD8⁺ cytotoxic T-cell responses. *J. Virol.*, 2001, Vol. 75, no. 23, pp. 11457-11463.
49. Pedra J., Cassel S., Sutterwala F.S. Sensing Pathogens and Danger Signals by the Inflammasome. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009, Vol. 21, no. 1, pp. 10-16.
50. Pulendran B. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. *Nat. Rev. Immunology*, 2009, Vol. 9, pp. 741-747.
51. Pulendran B., Ahmed R. Immunological mechanisms of vaccination. *Nature Immunol.*, 2011, Vol. 131, pp. 509-517.
52. Querec T., Bennouna S., Alkan S., Laouar Y., Gorden K., Flavell R., Akira S., Ahmed R., Pulendran B. Yellow fever vaccine YF-17D activates multiple dendritic cell subsets via TLR2, 7, 8, and 9 to stimulate polyvalent immunity. *J. Exp. Med.*, 2006, Vol. 203, pp. 413-424.
53. Shrestha B., Ng T., Chu H.-J., Noll M., Diamond M.S. The relative contribution of antibody and CD8⁺T cells to vaccine immunity against West Nile encephalitis virus. *Vaccine*, 2008, Vol. 26, no. 16, pp. 2020-2033.
54. Siergist C.A. Vaccine immunology. *Vaccines / ed. Plotkin S.A., Orenstein W.A., Offit P.A. Elsevier Health Sciences*, 2008, pp. 17-36.
55. Spreafico R., Ricciardi-Castagnoli P., Mortellaro A. The controversial relationship between NLRP3, alum, danger signals and the next-generation adjuvants. *Eur. J. Immunol.*, 2010, Vol. 40, pp. 638-642.
56. Takeuchi O., Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.*, 2009, Vol. 227, pp. 75-86.
57. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *Weekly Epidemiol. Rec.*, 2011, Vol. 86, no. 24, pp. 241-256.
58. van Duin D., Medzhitov R., Shaw A.C. Triggering TLR signaling in vaccination. *Trends Immunol.*, 2006, Vol. 27, pp. 49-55.
59. Webster D.P., Farrar J., Rowland-Jones S. Progress towards a dengue vaccine. *Lancet Infect. Dis.*, 2009, Vol. 9, no. 11, pp. 678-687.
60. WHO: yellow fever / updated March 2014
61. Zepp F. Principles of vaccine design – Lessons from nature. *Vaccine*, 2010, Vol. 28, pp. 14-24.

Автор:

Крылова Н.В. – д.б.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория флавивирусных инфекций, ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Владивосток, Россия

Author:

Krylova N.V., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Flavivirus Infections, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 19.12.2014
Принята к печати 11.03.2015

Received 19.12.2014
Accepted 11.03.2015