

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-24-31

УДК 616.928.8:615.371

Л.Ф. Стомба, О.В. Чухраля, Д.И. Павельев, Н.К. Черникова, С.В. Борисевич

Сравнение эффективности различных схем применения рекомбинантных векторных вакцин против лихорадки Эбола на основе вируса вакцины, штамм MVA*ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад, Российская Федерация*

Цель обзора – оценка применения вакцин на основе вируса вакцины, штамм MVA, и аденовирусных векторов для профилактики болезни, вызываемой вирусом Эбола. Рассмотрены рекомбинантные штаммы MVA, экспрессирующие антигенные детерминанты представителей семейства филовирусов как возможные кандидаты в вакцинные препараты. Применение этого вируса в качестве вакцинного вектора обусловлено отсутствием противооспенного популяционного иммунитета и его безопасностью для здоровых взрослых волонтеров, для детей, подростков и лиц, больных туберкулезом, людей в возрасте 56–80 лет, лиц, больных atopическим дерматитом, СПИДом. Кроме того, иммунизация вакциной на основе вируса вакцины, штамм MVA, не вызывает осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Доклиническая оценка иммуногенности и защитной эффективности проводилась на иммунокомпетентных и иммунокомпромиссных мышах, морских свинках, адаптированных к вирусу Эбола, обезьянах макаках-резусах и макаках *cynomolgus*. Представлены результаты экспериментов по созданию вакцин, экспрессирующих либо только вирусный гликопротеин, либо вирусный гликопротеин и структурный белок Vp40. Поскольку вспышки лихорадки Эбола и других филовирусных инфекций трудно спрогнозировать, были созданы мультивалентные вакцины, которые будут защищать против всех филовирусных видов. Клинические испытания по применению в одном и том же эксперименте вакцин на основе рекомбинантных аденовирусных векторов и штамма MVA подтвердили более выраженную безопасность вакцин на основе рекомбинантного штамма MVA. Результаты индуцированного гуморального и Т-клеточного иммунных ответов показали, что этот вектор целесообразнее применять в качестве бустерного при гетерологичной прайм/бустерной схеме иммунизации. Оценены схемы вакцинации для формирования сильного длительного иммунитета. Эпидемиологическое моделирование установило, что профилактическая иммунизация, вызывающая длительный иммунитет у здорового населения в местах с высоким эпидемическим риском, будет предпочтительнее для ограничения будущих вспышек по сравнению с кольцевой иммунизацией, что было показано в кампании по ликвидации натуральной оспы в мире. Повышенный уровень иммунитета, индуцируемый при прайм/бустерной схеме иммунизации, сохраняющийся в течение длительного времени, будет иметь преимущество над ускоренной кольцевой иммунизацией, когда длительность защиты является более важным фактором, чем скорость, с которой эта защита формируется.

Ключевые слова: вирус вакцины, штамм MVA, лихорадка Эбола, иммунизация, праймирование, бустирование, иммунодоминантные антигены, мультивалентные вакцины.

Корреспондирующий автор: Борисевич Сергей Владимирович, e-mail: 48cnii@mail.ru.

Для цитирования: Стомба Л.Ф., Чухраля О.В., Павельев Д.И., Черникова Н.К., Борисевич С.В. Сравнение эффективности различных схем применения рекомбинантных векторных вакцин против лихорадки Эбола на основе вируса вакцины, штамм MVA. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 4:24–31. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-24-31

Поступила 12.06.2023. Отправлена на доработку 15.06.2023. Принята к публ. 07.09.2023.

L.F. Stomba, O.V. Chukhraya, D.I. Pavel'ev, N.K. Chernikova, S.V. Borisevich

Comparison of the Efficacy of Different Schemes for Using Recombinant Vector Vaccines against Ebola Fever, Based on Vaccinia Virus, MVA Strain*48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation*

Abstract. The aim of this review was to investigate the use of the vaccines based on vaccinia virus, MVA strain, and adenovirus vectors for the prevention of Ebola virus disease. The recombinant MVA strains expressing antigen determinants of Filoviridae family representatives were assessed as possible candidates for vaccine preparations. Application of this virus as a vaccine vector is conditioned by the absence of herd immunity to smallpox and its safety for healthy adult volunteers, children, adolescents, individuals suffering from tuberculosis, persons aged 56–80 years, people with diagnosed atopic dermatitis, AIDS. Furthermore, immunization with the vaccine on the basis of vaccinia virus, MVA strain, does not cause complications associated with cardiovascular diseases. Preclinical trials on immunogenicity and protective efficiency were carried out on immune-competent and immune-compromised mice; guinea pigs adapted to Ebola virus; rhesus macaques and cynomolgus monkeys. Presented are the results of experiments on the creation of vaccines expressing either only viral glycoprotein or viral glycoprotein and structural protein Vp40. Given that Ebola fever and other filovirus infection outbreaks are hard to predict, multivalent vaccines that would be able to provide protection against all filovirus species were designed. Clinical trials on simultaneous use of the vaccines based on recombinant adenovirus vectors and MVA strain showed more pronounced safety of vaccines on the basis of recombinant MVA strain. Studies of humoral and T-cell immune responses have revealed that this vector is more suitable for booster vaccination in case of heterologous prime/booster immunization scheme. Vaccination regimens for forming strong durable immune responses have been analyzed. Epidemiological modeling provided evidence that preventive immunization leading to long-term immunity in healthy population in areas of high epidemic risk will be of greater benefit in terms of controlling

future outbreaks compared to ring immunization that was effective during smallpox eradication campaign. Increased immunity level, induced by prime/booster vaccination, persisting for a long period of time, will have an advantage over accelerated ring immunization; when the duration of protection is more significant than the speed it is formed at.

Key words: vaccinia virus, MVA strain, Ebola fever, immunization, priming, booster dose, immunodominant antigens, multivalent vaccines.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Sergey V. Borisevich, e-mail: 48cnii@mail.ru.

Citation: Stovba L.F., Chukhraya O.V., Pavel'ev D.I., Chernikova N.K., Borisevich S.V. Comparison of the Efficacy of Different Schemes for Using Recombinant Vector Vaccines against Ebola Fever, Based on Vaccinia Virus, MVA Strain. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 4:24–31. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-24-31

Received 12.06.2023. **Revised** 15.06.2023. **Accepted** 07.09.2023.

Stovba L.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>

Chukhraya O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2603-0860>

Pavel'ev D.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3204-1897>

Chernikova N.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1491-6293>

Borisevich S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Лихорадка Эбола – тяжелое зооантропонозное заболевание, вызываемое вирусами рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae*. Первая вспышка этого заболевания, в результате которой заболели 318 человек, из которых 280 погибли [1], была зарегистрирована в 1976 г. в Демократической Республике Конго. Периодически вспышки лихорадки Эбола происходили в Габоне, Республике Конго, Демократической Республике Конго, вызвав заболевание у 1393 человек при 78 % летальных случаев. Ранее считали, что это эмерджентное заболевание, характерное только для региона Центральной Африки [2]. Однако в 2014 г. эпидемия лихорадки Эбола охватила Гвинею, Либерию, Сьерра-Леоне, Мали, Нигерию, Сенегал. Были и завозные случаи в Испанию, Великобританию и США [3]. Периодически в средствах массовой информации появляются сообщения о небольших вспышках этого заболевания в регионах Центральной Африки. Высокая летальность этого заболевания, большая скорость трансмиссии возбудителя обусловили необходимость создания вакцины против лихорадки Эбола.

Доклинические исследования вакцин против лихорадки Эбола. В последнее десятилетие созданы и оценены в доклинических исследованиях и клинических испытаниях вакцины против лихорадки Эбола на основе ДНК-вакцин, векторов на основе аденовирусов 3, 5, 26 и 35-го типов, везикулярного стоматита, парагриппа, везикулярного энцефаломиеелита лошадей, дефектного по репликации варианта с делетированным геном Vp30, цитомегаловируса и вируса вакцины, штамм MVA [4, 5].

Учитывая, что среди населения, проживающего в ареалах циркуляции вируса лихорадки Эбола, много лиц с иммунодефицитными заболеваниями и такими тяжелыми социально значимыми хроническими инфекциями, как туберкулез, гепатиты В и С, для их иммунизации потребуются максимально безопасные вакцинные препараты [5]. Применение вакцин на основе вируса вакцины, штамм MVA, обусловлено отсутствием противооспенного популяционного иммунитета и безопасностью этого штамма для здоровых взрослых волонтеров [6, 7], для детей, подростков и лиц, больных туберкулезом [8], людей в возрасте 56–80 лет [9], лиц, больных атопическим

дерматитом [10], СПИДом [11, 12]. Кроме того, иммунизация вакциной на основе вируса вакцины, штамм MVA, не вызывает осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы [13].

Поскольку большинство уже сконструированных вакцин против лихорадки Эбола на основе разных вирусных векторов экспрессировали полно-размерный гликопротеин вируса [5], то для оценки иммуногенности и защитной эффективности кандидатов в векторные вакцины на основе штамма MVA были созданы рекомбинантные штаммы со встроенными в тимидинкиназный ген генома вектора генов, экспрессирующих либо только вирусный гликопротеин (Gr), либо вирусный гликопротеин и структурный белок Vp40 штаммов Заир и Судан вируса Эбола, и один рекомбинант, экспрессирующий гены Gr и Vp40, но встроенные в ген гемагглютинаина векторного генома (MVA-Gr-Vp40). Одновременная экспрессия двух белков способствовала созданию вирусоподобных частиц (впч) [14].

Оценка иммуногенности полученных рекомбинантов при гомологичной прайм/бустерной схеме иммунизации BALB/c мышей выявила наличие IgG-антител против белка Gr у всех рекомбинантов и дополнительно против белка Vp40 во всех двойных рекомбинантах, а также наличие более высоких титров общих IgG-антител против белка Gr у двойных рекомбинантов. Это, видимо, обусловлено либо более высоким уровнем экспрессии гена Gr в двойных рекомбинантах, либо образованием впч. Все рекомбинантные векторы индуцировали природный иммунный ответ с продуцированием, наряду с IgG-антителами, интерферона- β , провоспалительных цитокинов и хемокинов. Кроме того, выявлено, что рекомбинанты со встроенными генами белков Gr и Vp40 вируса Эбола-Заир способны индуцировать кросс-реактивные антитела против вируса Эбола-Судан.

Защитная эффективность этих кандидатов в вакцины исследовалась на химерных мышях линии WT \rightarrow IFNAR $^{-/-}$ C57BL/6 при их заражении летальной дозой вирулентного вируса Эбола через 4 недели после однократной иммунизации. В результате установлено, что иммунизация мышей рекомбинантами вируса вакцины, штамм MVA, экспрессирующими

гликопротеин и структурный белок Vp40, индуцирует у них гуморальный иммунный ответ и частично защищает химерных мышей от заражения летальной дозой нативного вируса [14].

Доклиническая оценка векторной вакцины MVA-EBOV, также экспрессирующей гликопротеин и матриксный белок Vp40 вируса Эбола изолята Makona, была выполнена при гомологичной прайм/бустерной иммунизации морских свинок, адаптированных к вирусу Эбола, и обезьянах макаках-резусах при однократной и гомологичной прайм/бустерной иммунизации с последующим заражением животных летальной дозой возбудителя [15].

У всех вакцинированных морских свинок индуцировались антитела к экспрессируемым антигенам, титры которых повышались при бустировании. Животные были защищены от последующего летального заражения вирусом Эбола, при этом у них не наблюдалось никаких симптомов заболевания, даже снижения массы тела.

У всех иммунизированных макаков-резусов при обеих схемах иммунизации индуцировались IgG-антитела, специфичные к белкам Gr и Vp40, титры которых ко дню заражения возбудителем были выше у животных в прайм/бустерной группе. После заражения летальной дозой возбудителя все обезьяны выжили, несмотря на развитие незначительной вирусемии, титры Gr-антител были приблизительно подобны в обеих группах, а титры Vp40-антител слегка выше в прайм/бустерной группе. После заражения титры нейтрализующих антител повышались в обеих группах животных до 1:160 у праймированных и 1:640 в прайм/бустерной группе.

Учитывая результаты полной защиты от гибели макаков-резусов после заражения летальной дозой вируса Эбола при однократном введении, этот вакцинный препарат можно считать предпочтительным среди других векторных вакцин [15].

Поскольку вспышки лихорадки Эбола и других филовиральных инфекций трудно спрогнозировать, постольку существует необходимость создания мультивалентных вакцин против заболеваний, вызванных филовirusами. Учитывая свойство генома штамма MVA как вектора встраивать большие количества чужеродной информации, сконструирован рекомбинант MVA-BN-EBOV-VLP, в который встроили гены гликопротеина и матриксного белка Vp40 вируса Эбола, а также ген нуклеопротеина (Np) вируса Taï Forest, принадлежащего к тому же роду [16].

Экспрессируемые белки Gr и Vp40 образовывали ввч, в которые включался и нуклеопротеин вируса Taï Forest. Кроме того, выявлено, что белки, экспрессируемые штаммом MVA, не встраивались в ввч.

Иммуногенность этой вакцины была оценена при прайм/бустерной иммунизации мышей линии CBA/J 6–8-недельного возраста.

Полученные результаты свидетельствовали об индуцировании ИФА антител, а также клеточного иммунного ответа. Клеточный иммунный ответ был представлен Gr-специфическими CD8⁺ Т-клетками

(необходимо отметить, что иммунный ответ оценивался только на Gr-антиген, хотя авторы эксперимента уверены, что подобный ответ индуцируется к белкам и Vp40, и Np, поскольку доказано их присутствие в ввч).

Это позволит создавать мультивалентные вакцины, которые будут эффективно экспрессировать иммунодоминантные антигены из разных филовirusов [16].

Как уже было сказано, время появления новых вспышек филовиральных инфекций непредсказуемо, в связи с чем существует необходимость получения мультивалентной профилактической вакцины, которая будет защищать против всех потенциально циркулирующих филовиральных видов. Так, были получены трехвалентная и четырехвалентная вакцины против лихорадки Эбола [17]. Эти мультивалентные вакцины содержали смесь трех или четырех рекомбинантных аденовирусных (Ad) векторов, каждый из которых экспрессировал по одному трансгену. Трехвалентная вакцина представлена Ad-векторами, экспрессирующими полноразмерные гликопротеины вирусов Ebola Zaire, Sudan Gulu и Marburg. В четырехвалентную вакцину добавлен Ad-рекомбинант, экспрессирующий Gr вируса Taï Forest. Для праймирования использовались векторы на основе Ad 26-го типа, а для бустирования – Ad 35-го типа или рекомбинантный штамм MVA-BN-Filo, экспрессирующий гликопротеины вирусов Ebola Mayinga, Sudan Gulu, Marburg Musoke и нуклеопротеин вируса Taï Forest. При бустировании рекомбинантной вакциной MVA-BN-Filo вырабатывались Gr-специфические антитела и Gr-специфический IFN- γ Т-клеточный ответ. Также установлена 100 % защита макаков cynomolgus при заражении летальной дозой вируса Ebola Zaire.

Поскольку ген гликопротеина филовirusов достаточно консервативен, то мультивалентная вакцина, экспрессирующая этот ген из разных филовirusов, должна вызывать протективный иммунный ответ при вспышке заболевания, вызванного любым из филовirusов [17, 18]. Результаты оценки рекомбинантных вирусов вакцины, штамм MVA, экспрессирующих различные иммунодоминантные антигены вируса Эбола, в качестве векторных вакцин против лихорадки Эбола представлены в табл. 1.

Результаты клинических испытаний вакцин против лихорадки Эбола. После доказательств индуцирования иммунного ответа векторными вакцинами на основе вируса вакцины, штамм MVA, у лабораторных животных были проведены клинические испытания этих вакцин на волонтерах.

В ходе слепого, рандомизированного, плацебо-контролируемого испытания, проведенного в США и Мали в октябре 2014 – феврале 2015 г., оценивалась безопасность и иммуногенность разных доз ($1 \cdot 10^{10}$, $2,5 \cdot 10^{10}$, $5 \cdot 10^{10}$, $1 \cdot 10^{11}$ вирусных частиц) моновалентной вакцины ChAd3-EBO-Z, сконструированной на основе аденовируса шимпанзе (Ad 3-го типа) [19]. В испытании участвовали 20 волонтеров из США в возрасте 18–65 лет и 91 волонтер из Мали

Таблица 1 / Table 1

 Результаты доклинической оценки рекомбинантных штаммов MVA, экспрессирующих различные иммунодоминантные антигены вируса Эбола
 Results of preclinical assessment of recombinant vaccinia virus MVA strains expressing different immunodominant antigens of Ebola virus

Лабораторная модель Laboratory model	Схема иммунизации Regimen of immunization	Характеристика векторов, используемых для праймирования Characteristics of vectors used for priming			Характеристика векторов, используемых для booster vaccination Characteristics of vectors used for booster vaccination			Индуцированный иммунный ответ Induced immune response		Защитная эффективность при заражении летальной дозой вируса Эбола Protective efficacy in case of challenging with lethal dose of Ebola virus	Источник литературы References
		Вакцина Vaccine	Вирусный вектор Virus vector	Встроенные гены Inserted genes	Вакцина Vaccine	Вирусный вектор Virus vector	Встроенные гены Inserted genes	гуморальный humoral	клеточный cellular		
BALB/c мыши BALB/c mice	Прайм/буст Prime/boost	MVA-EBOV(Zair)	MVA	Gp EbolaZair	MVA-EBOV(Zair)	Gp Ebola Zair	+	+	Частичная для мышей WT→IFNAR-/- C57BL/6 Partial for mice WT→IFNAR-/- C57BL/6	14	
		MVA-SUDV(Sudan)		Gp EbolaSudan	MVA-SUDV(Sudan)	Gp Ebola Sudan					
		MVA-Gp-2AVp40(Zair)		Gp-Vp40 EbolaZair	MVA-Gp-2A-Vp40(Zair)	Gp-Vp40 Ebola Zair					
		MVA-Gp-2AVp40(Sudan)		Gp-Vp40 Ebola Sudan	MVA-Gp-2A-Vp40(Sudan)	Gp-Vp40 Ebola Sudan					
		MVA-Gp-Vp40		Gp-Vp40 Ebola Zair	MVA-Gp-Vp40	Gp-Vp40 Ebola Zair					
Морские свинки Guinea pigs	Однократно Single dose	MVA-EBOV		Gp-Vp40 Ebola Makona	MVA-EBOV	Не исследовали Not studied	Gp-Vp40 Ebola Makona	Не исследовали Not studied	Полная для морских свинок и макак-резусов Complete for guinea pigs and rhesus macaques	15	
Макаки-резус Macaques rhesus		MVA-BN-EBOV-VLP		Gp, VP40 Ebola Mayinga, NP Tai Forest	MVA-BN-EBOV-VLP						Gp, VP40 Ebola Mayinga, NP Tai Forest
CBA/J мыши CBA/J mice	Прайм/буст Prime/boost	MVA-BN-EBOV-VLP		Gp, VP40 Ebola Mayinga, NP Tai Forest	MVA-BN-EBOV-VLP	Gp, VP40 Ebola Mayinga, NP Tai Forest	+	+	Не исследовали Not studied	16	
Макаки Cynomolgus macaques		Смесь Ad векторов 26-го типа Mixture of Ad vectors type 26		Gp Ebola Zair, Sudan Gulu, Tai Forest Marburg;	MVA-BN-Filo	Gp Ebola Mayinga, Sudan Gulu, Marburg; NP Tai Forest					

в возрасте 18–50 лет. Все волонтеры были здоровы. Преимущество использования Ad шимпанзе по сравнению с другими аденовирусами объясняется тем фактом, что не зафиксировано ни одного случая заболевания человека, спровоцированного этим вирусом, и поэтому к нему нет предсуществующего иммунитета. Рекомбинантная вакцина экспрессировала Gp вируса Ebola Zair. Волонтеры в обеих странах однократно иммунизировались разными дозами вакцины. Доза $1 \cdot 10^{11}$ вирусных частиц оценивалась для применения в кольцевой иммунизации. Из 91 волонтера только в Мали через 13 недель после праймирования вакциной ChAd3-EBO-Z 56 человек отбирались для одноразового бустирования вакциной MVA-BN-Filo [17].

Оценка безопасности примененных вакцин выявила, что побочные реакции после вакцинации ChAd3-EBO-Z в основном характеризовались лихорадкой, которая длилась в течение одних суток, утомлением, головной болью, миалгией, артралгией, ознобом, тошнотой, лимфопенией, тромбоцитопенией, которые проходили к исходу седьмых суток. Побочные реакции после применения вакцины MVA-BN-Filo менее выражены, представлены лихорадкой, болезненностью в месте введения, головной болью и утомлением, которые проходили через двое суток.

Оценка иммуногенности вакцины ChAd3-EBO-Z выявила, что гуморальный иммунный ответ, представленный IgG к вирусу Ebola Zair, отмечался у всех волонтеров, иммунизированных разными дозами вакцины, но был значительно выше у волонтеров, иммунизированных дозой $1 \cdot 10^{11}$ вирусных частиц. Бустирование вакциной MVA-BN-Filo увеличивало геометрическое значение титров антител к Gp вируса Ebola Zair в 36 раз. Антитела к Gp вируса Ebola Zair персистировали значительно дольше у волонтеров, иммунизированных более высокими дозами вакцины ChAd3-EBO-Z. Т-клеточный иммунный ответ после введения вакцины ChAd3-EBO-Z был незначительным и выявлялся только у 31 % волонтеров, при этом представлен либо CD4⁺-Т клетками, либо только CD8⁺. После бустирования вакциной MVA-BN-Filo количество волонтеров, у которых подтверждено наличие Т-клеточного иммунного ответа, представленного IFN- γ , TNF- α , IL-2 цитокинами, увеличивалось до 85 %.

Результаты индуцированного иммунного ответа показали, что только иммунизация дозой $1 \cdot 10^{11}$ вирусных частиц вызывала реципрокные титры 1000 и выше, что при экстраполяции на данные, полученные для приматов, сможет обеспечить защиту людей от летального заражения [20, 21]. Таким образом, кольцевую вакцинацию целесообразно применять для иммунизации людей, ухаживающих за больными, что будет прерывать трансмиссию возбудителя здоровым людям. В целом примененная здесь схема иммунизации будет преимущественной для индуцирования длительного иммунитета [19].

Безопасность и иммуногенность самой вакцины MVA-EBO-Z и ее применение в качестве бустерной

оценивалось в открытом испытании фазы I, проведенном в Великобритании и Сенегале в мае – сентябре 2015 г. [22]. В испытании участвовали здоровые волонтеры в возрасте 18–50 лет, 38 человек из Великобритании и 40 – из Сенегала. Сама вакцина MVA-EBO-Z исследовалась в дозах $1 \cdot 10^8$ и $1,5 \cdot 10^8$ БОЕ. При гетерологичной прайм/бустерной схеме вакцинации для праймирования использовалась вакцина ChAd3-EBO-Z на основе Ad шимпанзе в дозе $3,6 \cdot 10^{10}$ вирусных частиц, о которой упоминалось ранее [19], а для бустирования – вакцина MVA-EBO-Z в дозе $1 \cdot 10^8$ БОЕ с интервалом между праймированием и бустированием в 7 или 28 суток. Обе вакцины экспрессировали Gp вируса Ebola. Побочные реакции оценивались в течение 7 суток после каждой из вакцинаций.

После применения вакцины MVA-EBO-Z отмечались мягкие побочные реакции, выражающиеся, в основном по одному случаю, покраснением, болезненностью, легким раздражением в месте введения, артралгией, утомлением и тошнотой. После вакцинации ChAd3-EBO-Z к перечисленным побочным реакциям добавлялись припухлость, лихорадка, миалгия, головная боль, недомогание, которые были отмечены у нескольких человек. Большинство побочных реакций проходили спонтанно через 1–2 суток. Гуморальный иммунный ответ, представленный Gp-специфическим IgG к вирусу Ebola, индуцировался у волонтеров из всех групп, однако титры его у волонтеров в группе вакцинированных только вакциной MVA-EBO-Z были значительно ниже, чем в других группах. Титры IgG-антител, индуцированные у волонтеров в прайм/бустерных группах после бустирования через 7 суток, не отличались от таковых при бустировании через 28 суток.

Клеточный иммунный ответ, характеризующийся в основном Gp-специфическим IFN- γ , был значительно выше у волонтеров при прайм/бустерной схеме иммунизации, чем при вакцинации только вакциной MVA-EBO-Z. Значительных различий в уровнях индуцированного клеточного иммунного ответа после бустирования через 7 и 28 суток не наблюдалось.

Результаты исследования показали, что иммунизация только вакциной MVA-EBO-Z индуцирует менее выраженный иммунный ответ, чем при ее применении в качестве бустерной при гетерологичном бустировании. Сравнение уровней иммунного ответа при различных временных параметрах между праймированием и бустированием (7 и 28 суток) не выявило значительных различий между показателями гуморального и клеточного иммунитета, что свидетельствует о возможности применения кольцевой иммунизации при интервале между праймированием и бустированием в 7 суток. Авторы статьи также предполагают, что примененная здесь прайм/бустерная схема иммунизации векторными вакцинами ChAd3-EBO-Z и MVA-EBO-Z может стать преимущественной при вакцинации обслуживающего персонала больниц и населения, проживающего

на территории со спорадически вспышками лихорадки Эбола [23].

С целью исследования безопасности и иммуногенности в прайм/бустерной схеме иммунизации двумя вакцинами Ad26.ZEBOV и MVA-BN-Filo в Великобритании в декабре 2014 – октябре 2015 г. проведено слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое испытание, в котором участвовали 87 здоровых волонтеров в возрасте 18–50 лет [24]. Вакцина Ad26.ZEBOV, экспрессировавшая Gp вируса Ebola Zair, сконструирована на основе дефектного по репликации Ad 26-го типа, при этом данное испытание являлось первой клинической проверкой вакцины на основе этого возбудителя.

Волонтеры были разделены на 4 группы по 18 человек. Первые две группы праймированы вакциной MVA-BN-Filo и бустированы на 28-е или 56-е сутки вакциной Ad26.ZEBOV. Две других праймированы вакциной Ad26.ZEBOV и бустированы вакциной MVA-BN-Filo также на 28-е или 56-е сутки.

Для оценки необходимости более короткой схемы кольцевой иммунизации была создана дополнительная группа из 15 человек, которых праймировали вакциной Ad26.ZEBOV и бустировали вакциной MVA-BN-Filo на 15-е сутки. Все волонтеры не были ранее иммунизированы ни против лихорадки Эбола, ни против натуральной оспы, ни против аденовируса.

Оценка безопасности вакцины Ad26.ZEBOV, проводившаяся в течение 21 суток после каждой иммунизации, выявила наличие побочных реакций: эритем, припухлостей и болезненности в месте введения вакцины, а у 5 волонтеров наблюдались головная боль, миалгия, тошнота, утомление озноб и лихорадка. Вакцинация MVA-BN-Filo проходила практически бессимптомно.

Определение уровня гуморального иммунного ответа показало наличие антител к Gp вируса Эбола к 28-м суткам у 90 и 100 % волонтеров в группах, праймированных вакциной Ad26.ZEBOV, и у 79 % через 14 суток в дополнительной группе. После праймирования вакциной MVA-BN-Filo антитела выявлялись у 40 и 6,7 % волонтеров соответственно. Через 21 сутки после бустирования максимальный уровень гуморального иммунного ответа индуцировался у пациентов, праймированных вакциной Ad26.ZEBOV и бустированных через 56 суток вакциной MVA-BN-Filo.

Т-клеточный иммунный ответ, оцененный по наличию IFN- γ к Gp вируса Эбола, был также выше при схеме праймирования вакциной Ad26.ZEBOV и бустирования вакциной MVA-BN-Filo. Он усиливался после соответствующего бустирования, проведенного через 56 суток, и выявлялся у 100 % волонтеров.

Условия проведения клинических испытаний с применением рекомбинантов вируса вакцины, штамм MVA, приведены в табл. 2 и 3.

Ввиду проявленного низкого иммунного ответа при праймировании вакциной MVA-BN-Filo этот вектор предлагается использовать только для гете-

рологического бустирования. Эпидемиологическое моделирование установило, что профилактическая иммунизация, вызывающая длительный иммунитет у здорового населения в местах с высоким эпидемическим риском, будет предпочтительнее для ограничения будущих вспышек по сравнению с кольцевой иммунизацией, что было показано в кампании по ликвидации натуральной оспы в мире [25]. Повышенный уровень иммунитета, индуцируемый при прайм/бустерной схеме иммунизации, сохраняющийся в течение длительного времени, будет иметь преимущество над ускоренной кольцевой иммунизацией, когда длительность защиты является более важным фактором, чем скорость, с которой эта защита формируется.

Таким образом, оценка иммуногенности и защитной эффективности вакцин на основе рекомбинантных вирусов вакцины, штамм MVA, установила, что экспрессия генов белка Gp и структурного белка Vp40 вируса Эбола способствует образованию вирусоподобных частиц, на которые индуцируется иммунный ответ, способный защитить иммунокомпромиссных мышей WT \rightarrow IFNAR $^{-/-}$ C57BL/6, морских свинок, адаптированных к вирусу Эбола, обезьян макак-резусов и суномолгус от заражения летальной дозой нативного вируса.

Зарубежными специалистами создана мультивалентная рекомбинантная вакцина MVA-BN-EBOV-VLP, экспрессирующая гены Gp и Vp40 вируса Эбола и Np вируса Taï Forest, которая индуцировала гуморальный и клеточный иммунный ответы. Использование для бустирования вакцины MVA-BN-Filo при праймировании смесью трех или четырех аденовирусных векторов индуцировало гуморальный и клеточный иммунный ответы, которые обуславливали 100 % защиту макак суномолгус.

В клинических испытаниях установлено, что вакцины MVA-BN-Filo и MVA-EBO-Z вызывают местные побочные реакции, значительно более легкие, чем вызываемые рекомбинантами на основе Ad-векторов. Использование этих вакцин при праймировании индуцирует более слабый иммунный ответ, чем наблюдаемый при применении векторов на основе Ad шимпанзе и Ad 26-го типа. Сделан вывод, что вакцины на основе вируса вакцины, штамм MVA, предпочтительнее использовать для бустирования в прайм/бустерной схеме. Выбраны схемы кольцевой иммунизации: однократная иммунизация большой дозой вакцины ChAd3-EBO-Z, праймирование вакциной ChAd3-EBO-Z и бустирование через 7 суток вакциной MVA-EBO-Z, праймирование вакциной Ad26.ZEBOV и бустирование через 15 суток MVA-BN-Filo.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Таблица 2 / Table 2

Условия проведения клинических испытаний вакцин на основе рекомбинантных штаммов MVA в прайм/бустерной схеме иммунизации
Conditions of clinical trials of vaccines based on recombinant vaccinia virus MVA strains, in case of prime/booster immunization regime

Характеристика вакцины, используемой при праймировании Characteristics of vaccine used for priming					Характеристика вакцины, используемой при бустировании Characteristics of vaccine used for boosting					Источник литературы References
Вакцина Vaccine	Вирусный вектор Virus vector	Экспрессируемые гены Expressed genes	Доза вакцины Vaccine dose	Метод введения Method of administration	Вакцина Vaccine	Вирусный вектор Virus vector	Экспрессируемые гены Expressed genes	Доза вакцины Vaccine dose	Метод введения Method of administration	
ChAd3-EBO-Z	Ad шимпанзе Ad chimpanzee	Gp Ebola Zair	1·10 ¹⁰ , 2,5·10 ¹⁰ , 5·10 ¹⁰ , 1·10 ¹¹ вирусных частиц 1·10 ¹⁰ , 2,5·10 ¹⁰ , 5·10 ¹⁰ , 1·10 ¹¹ virus particles	в/м i/m	MVA-BN-Filo	MVA	Gp Ebola Zair, Sudan Gulu, Marburg; NP Tai Forest	2·10 ⁸ БОЕ 2·10 ⁸ PFU	в/м i/m	19
MVA-EBO-Z	MVA		1·10 ⁸ , 1,5·10 ⁸ БОЕ 1·10 ⁸ , 1,5·10 ⁸ PFU		Не исследовали Not studied			22		
ChAd3-EBO-Z	Ad шимпанзе Ad chimpanzee		3,6·10 ¹⁰ вирусных частиц 3,6·10 ¹⁰ virus particles		MVA-EBO-Z	MVA	1·10 ⁸ БОЕ 1·10 ⁸ PFU			
MVA-BN-Filo	MVA	Gp Ebola Zair, Sudan Gulu, Marburg; NP Tai Forest	1·10 ⁸ ЦПД ₅₀ 1·10 ⁸ TCID ₅₀	в/м i/m	Ad26.ZEBOV	Ad 26-го типа Ad vector type26	Gp Ebola Zair	5·10 ¹⁰ вирусных частиц 5·10 ¹⁰ virus particles	в/м i/m	24
Ad26.ZEBOV	Ad 26-го типа Ad type 26	Gp Ebola Zair	5·10 ¹⁰ вирусных частиц 5·10 ¹⁰ virus particles		MVA-BN-Filo	MVA	Gp Ebola Zair, Sudan Gulu, Marburg; NP Tai Forest	1·10 ⁸ ЦПД ₅₀ 1·10 ⁸ TCID ₅₀		

Таблица 3 / Table 3

Результаты иммуногенности вакцин на основе рекомбинантных штаммов MVA в прайм/бустерной схеме иммунизации, проявленные в клинических испытаниях
Immunogenicity of vaccines based on recombinant vaccinia virus MVA strains in case of prime/booster immunization under clinical trials

Вакцина Vaccine		Временной интервал между праймированием и бустированием Time interval between priming and boosting		Индуцированный иммунный ответ Induced immune response		Источник литературы References		
для праймирования / for priming	для бустирования / for boosting			Гуморальный / Humoral	Клеточный / Cellular			
ChAd3-EBO-Z	MVA-BN-Filo	13 недель / 13 weeks				19		
MVA-EBO-Z	Не проводили / Not carried out							
ChAd3-EBO-Z	MVA-EBO-Z	7 суток / 7 days				+	+	22
		28 суток / 28 days						
		29 суток / 29 days						
57 суток / 57 days								
MVA-BN-Filo	Ad26.ZEBOV	29 суток / 29 days						24
		57 суток / 57 days						
Ad26.ZEBOV	MVA-BN-Filo	29 суток / 29 days						
		57 суток / 57 days						
Ad26.ZEBOV	MVA-BN-Filo	15 суток / 15 days						

References / Список литературы

- [Corporate Author]. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Report of an International Commission. *Bull. World Health Organ.* 1978; 56(2):271-93.
- Le Roy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Délicat A., Paweska J.T., Gonzalez J.P., Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 2005; 438(7068):575-6. DOI: 10.1038/438575a.
- World Health Organization. Ebola Virus Disease. Situation Report. 26 May 2016. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/206924/1/ebolasitrep26May2016eng.pdf?ua=1>.
- Wong G., Mendoza E.J., Plummer F.A., Gao G.F., Kobinger G.P., Qiu X. From bench to almost bedside: the long road to a licensed Ebola virus vaccine. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2018; 18(2):159-73. DOI: 10.1080/14712598.2018.1404572.
- Dolzhikova I.V., Tokarskaya E.A., Dzharullaeva A.S., Tukhvatulin A.I., Shcheblyakov D.V., Voronina O.L., Syromyatnikova S.I., Borisevich S.V., Pantyukhov V.B., Babira V.F., Kolobukhina L.V., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. Virus-vectored Ebola vaccines. *Acta Naturae.* 2017; 9(3):4-11.
- Sridhar S. Clinical development of Ebola vaccines. *Ther. Adv. Vaccines.* 2015; 3(5-6):125-38. DOI: 10.1177/2051013615611017.
- Frey S.E., Winokur P.L., Salata R.A., EL-Kamary S.S., Turley C.B., Walter E.B. Jr, Hay C.M., Newman F.K., Hill H.R., Zhang Y., Chaplin P., Tary-Lehmann M., Belshe R.B. Safety and immunogenicity of IMVAMUNE® smallpox vaccine using different strategies for a post event scenario. *Vaccine.* 2013; 31(29):3025-33. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.04.050.
- Ndiaye B.P., Thieneman F., Ota M., Landry B.S., Camara M., Dieye S. Safety, immunogenicity, and efficacy of the candidate tuberculosis vaccine MVA85A in healthy adults infected with HIV-1: a randomized, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet. Respir. Med.* 2015; 3(3):190-200. DOI: 10.1016/S2213-2600(15)00037-5.
- Greenberg R.N., Hay C.M., Stapleton J.T., Marbury T.C., Wagner E., Kreitmeyer E., Rösch, von Krempelhuber A., Young P., Nichols R., Meier T.P., Schmidt D., Weigl J., Virgin G., Arndt-Wiedemann N., Chaplin P. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial investigating the safety and immunogenicity of modified vaccinia Ankara smallpox vaccine (MVA-BN®) in 56-80-year-old subjects. *PLoS One.* 2016; 11(6):e0157335. DOI: 10.1371/journal.pone.0157335.
- Greenberg R.N., Hurley M.Y., Dinh V.D., Mraz S., Vera J.G., von Bredow D., von Krempelhuber A., Roesch S., Virgin G., Arndt-Wiedemann N., Meyer T.P., Schmidt D., Nichols R., Young P., Chaplin P. A multicenter, open-label, controlled phase II study to evaluate safety and immunogenicity of MVA smallpox vaccine (IMVAMUNE) in 18-40 year old subjects with diagnosed atopic dermatitis. *PLoS One.* 2015; 10(10):e0138348. DOI: 10.1371/journal.pone.0138348.
- Greenberg R.N., Overton E.T., Haas D.W., Frank I., Goldman M., von Krempelhuber A., Virgin G., Bädeker N., Vollmar J., Chaplin P. Safety, immunogenicity, and surrogate markers of clinical efficacy for modified vaccinia Ankara as a smallpox vaccine in HIV-infected subjects. *J. Infect. Dis.* 2013; 207(5):749-58. DOI: 10.1093/infdis/jis753.
- Overton E.T., Stapleton J., Frank I., Haasler S., Goepfert P.A., Barker D., Wagner E., von Krempelhuber A., Virgin G., Meyer T.P., Müller J., Bädeker N., Grünert R., Young P., Rösch S., MacLennan J., Arndt-Wiedemann N., Chaplin P. Safety and immunogenicity of modified vaccinia Ankara-Bavarian Nordic smallpox vaccine in vaccinia-naïve and experienced human immunodeficiency virus-infected individuals: An open-label, controlled clinical phase II trial. *Open Forum Infect. Dis.* 2015; 2(2):ofv040. DOI: 10.1093/ofid/ofv040.
- Zitzman-Roth E.-M., von Sonnenburg F., de la Motte S., Arndt-Wiedemann N., von Krempelhuber A., Ueber L., Vollmar J., Virgin G., Chaplin P. Cardiac safety of modified vaccinia Ankara for vaccination against smallpox in a young, healthy study population. *PLoS One.* 2015; 10(4):e0122653. DOI: 10.1371/journal.pone.0122653.
- Lázaro-Frías A., Gómez-Medina S., Sánchez-Sampedro L., Ljungberg K., Ustav M., Liljeström P., Muñoz-Fontela C., Esteban M., García-Arriaza J. Distinct immunogenicity and efficacy of poxvirus-based vaccine candidates against Ebola virus expressing GP and VP40 proteins. *J. Virol.* 2018; 92(11):e00363-18. DOI: 10.1128/JVI.00363-18.
- Domi A., Feldman F., Basu R., McCurley N., Shifflett K., Emanuel J., Hellerstein M.S., Guirakhoo F., Orlandi C., Flinko R., Lewis G.K., Hanley P.W., Feldmann H., Robinson H.L., Marzi A. A single dose of modified vaccinia Ankara expressing Ebola virus like particles protects nonhuman primates from lethal Ebola virus challenge. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):864. DOI: 10.1038/s41598-017-19041-y.
- Schweneker M., Laimbacher A.S., Zimmer G., Wagner S., Schraner E.M., Wolfstätter M., Klingenberg M., Dirmeier U., Steigerwald R., Lauterbach H., Hochrein H., Chaplin P., Suter M., Hausmann J. Recombinant modified vaccinia virus Ankara geering Ebola virus-like particles. *J. Virol.* 2017; 91(11):e00343-17. DOI: 10.1128/JVI.00343-17.
- Callendret B., Vellinga J., Wunderlich K., Rodrigues A., Steigerwald R., Dirmeier U., Cheminay C., Volkman A., Brasel T., Carrion R., Giavedoni L.D., Patterson P.B., Mire C.E., Geisbert T.W., Hooper J.W., Weijens M., Hartkoorn-Pasma J., Custers J., Grazia Pau M., Schuitemaker H., Zahn R. A prophylactic multivalent vaccine against different filovirus species is immunogenetic and provides protection from lethal infections with Ebolavirus and Marburgvirus species in non-human primates. *PLoS One.* 2018; 13(2):e0192312. DOI: 10.1371/journal.pone.0192312.
- Hensley L.E., Mulangu S., Asiedu C., Johnson J., Honko A.N., Stanley D., Fabbio G., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Rollin P.E., Wahl-Jensen V., Bailey M., Jahrling P.B., Roederer M., Koup R.A., Sullivan N.J. Demonstration of cross-protective vaccine immunity against an emerging pathogenic Ebolavirus species. *PLoS Pathog.* 2010; 6(5):e1000904. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000904.
- Tapia M.D., Sow S.O., Lyke K.E., Haidara F.C., Diallo F., Doumbia M., Traore A., Coulibaly F., Kodio M., Onwuchekwa U., Szein M.B., Wahid R., Campbell J.D., Kieny M.P., Moorthy V., Imoukhuede E.B., Rampling T., Roman F., De Ryck I., Bellamy A.R., Dally L., Mbaya O.T., Ploquin A., Zhou Y., Stanley D.A., Bailer R., Koup R.A., Roederer M., Ledgerwood J., Hill A.V.S., Ballou W.R., Sullivan N., Graham B., Levine M.M. Use of ChAd3-EBO-Z Ebola virus vaccine in Malian and US adults, and boosting of Malian adults with MVA-BN-Filo: a phase 1, single-blind, randomised trial, a phase 1b, open-label and double-blind, dose-escalation trial, and a nested, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet. Infect. Dis.* 2016; 16(1):31-42. DOI: 10.1016/S1473-3099(15)00362-X.
- Stanley D.A., Honko A.N., Asiedu C., Trefry J.C., Lau-Kilby A.W., Johnson J.C., Hensley L., Ammendola V., Abbate A., Grazioli F., Foulds K.E., Cheng C., Wang L., Donaldson M.M., Colloca S., Folgori A., Roederer M., Nabel G.J., Mascola J., Nicosia A., Cortese R., Koup R.A., Sullivan N.J. Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against Ebolavirus challenge. *Nat. Med.* 2014; 20(10):1126-29. DOI: 10.1038/nm.3702.
- Plotkin S.A., Gilbert P.B. Nomenclature for immune correlates of protection after vaccination. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54(11):1615-7. DOI: 10.1093/cid/cis238.
- Venkataraman N., Ndiaye B.P., Bowyer G., Wade D., Sridhar S., Wright D., Powlson J., Ndiaye I., Diéye S., Thompson C., Bakhoum M., Morter R., Capone S., Del Sorbo M., Jamieson S., Rampling T., Datto M., Roberts R., Poulton I., Griffiths O., Ballou W.R., Roman F., Lewis D.J.M., Lawrie A., Imoukhuede E., Gilbert S.C., Dieye T.N., Ewer K.J., Mboup S., Hill A.V.S. Safety and immunogenicity of a heterologous prime-boost Ebola virus vaccine regimen in healthy adults in the United Kingdom and Senegal. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(8):1187-97. DOI: 10.1093/infdis/jiy639.
- Dahlke C., Lunemann S., Kasonta R., Kreuels B., Schmiedel S., Ly M.L., Fehling S.K., Strecker T., Becker S., Altfeld M., Sow A., Lohse A.W., Muñoz-Fontela C., Addo M.M. Comprehensive characterization of cellular immune responses following Ebola virus infection. *J. Infect. Dis.* 2017; 215(2):287-92. DOI: 10.1093/infdis/jiw508.
- Milligan I.D., Gibani M.M., Sewell R., Clutterbuck E.A., Campbell D., Pledsted E., Nuthall E., Voysey M., Silva-Reyes L., McElrath M.J., De Rosa S.C., Frahm N., Cohen K.W., Shukarev G., Orzabal N., van Duynhoven W., Truysers C., Bachmayer N., Splinter D., Samy N., Pau M.G., Schuitemaker H., Luhn K., Callendret B., Van Hoof J., Douoguih M., Ewer K., Angus B., Pollard A.J., Snape M.D. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26 - and modified vaccinia Ankara - vectored Ebola vaccine: A randomized clinical trial. *JAMA.* 2016; 315(15):1610-23. DOI: 10.1001/jama.2016.4218.
- Coltart C.E.M., Johnson A.M., Whitty C.J.M. Role of healthcare workers in early epidemic spread of Ebola: policy implication of prophylactic compared to reactive vaccination policy in outbreak prevention and control. *BMC Med.* 2015; 13:271. DOI: 10.1186/s12916-015-0477-2.

Authors:

Stovba L.F., Chukhraya O.V., Pavel'ev D.I., Chernikova N.K., Borisevich S.V. 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation. 11, Oktyabrskaya St., Sergiev Posad-6, Moscow Region, 141306, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Об авторах:

Стовба Л.Ф., Чухраля О.В., Павельев Д.И., Черникова Н.К., Борисевич С.В. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 141306, Московская обл., Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, 11. E-mail: 48cnii@mail.ru.