

## ОБЗОРЫ



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

### Обзор кандидатных вакцин для профилактики лихорадки Ласса

Попова О., Зубкова О.В., Ожаровская Т.А., Зрелкин Д.И., Воронина Д.В., Должикова И.В., Щепляков Д.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л.

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия

Вирус Ласса (ВЛ) является одним из основных этиологических факторов этиологическим фактором геморрагических лихорадок в мире: по оценкам ВОЗ им ежегодно поражаются от 100 до 300 тыс. человек, а связанная с ВЛ смертность составляет до 10 тыс. в год [1]. Несмотря на то что распространение вызываемого им заболевания – лихорадки Ласса (ЛЛ) – в основном ограничено западноафриканскими странами (Сьерра-Леоне, Либерия, Гвинея и Нигерия), исторически документированы завозные случаи в Европе, Соединённых Штатах Америки (США), Канаде, Японии и Израиле [2]. В 2017 г. ВОЗ включила ВЛ в список приоритетных патогенов, в отношении которых необходимы проведение ускоренных исследований, создание вакцинных препаратов, а также средств для терапии и диагностики инфекций, возбудителями которых они являются [3]. В данном обзоре рассмотрены основные технологические платформы, используемые при разработке вакцин против ЛЛ.

**Ключевые слова:** вирус Ласса, вакцины против лихорадки Ласса, рекомбинантные вирусные векторы

**Для цитирования:** Попова О.Д., Зубкова О.В., Ожаровская Т.А., Зрелкин Д.И., Воронина Д.В., Должикова И.В., Щепляков Д.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Обзор кандидатных вакцин для профилактики лихорадки Ласса. *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(2): 91-102. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-33>

**Для корреспонденции:** Попова Ольга Дмитриевна, младший научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия.  
E-mail: [olga.popova31@yandex.ru](mailto:olga.popova31@yandex.ru)

**Участие авторов:** все авторы внесли равный вклад в подготовку публикации.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.12.2020  
Принята в печать 27.03.2021

### Review of candidate vaccines for the prevention of Lassa fever

Ol'ga Popova, Ol'ga V. Zubkova, Tatiana A. Ozharovskaia, Denis I. Zrelkin, Daria V. Voronina, Inna V. Dolzhikova, Dmitry V. Shcheblyakov, Boris S. Naroditsky, Denis Yu. Logunov, Aleksander L. Gintsburg

FSBI «National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia

The Lassa virus one of the main etiological agent of hemorrhagic fevers in the world: according to WHO estimates, it affects 100,000 to 300,000 people annually, which results in up to 10,000 deaths [1]. Although expansion of Lassa fever caused by this pathogen is mostly limited to the West African countries: Sierra Leone, Liberia, Guinea and Nigeria, imported cases have been historically documented in Europe, the United States of America (USA), Canada, Japan, and Israel [2]. In 2017, WHO included the Lassa virus in the list of priority pathogens in need of accelerated research, development of vaccines, therapeutic agents and diagnostic tools regarding infections they cause [3]. This review describes main technological platforms used for the development of vaccines for the prevention of Lassa fever.

**Keywords:** Lassa virus, candidate vaccines, recombinant vaccines, recombinant viral vectors

**For citation:** Popova O.D, Zubkova O.V., Ozharovskaia T.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Naroditsky B.S., Logunov D.Yu., Gintsburg A.L. Review of candidate vaccines for the prevention of Lassa fever. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2021; 66(2): 91-102 (In Russ.).  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-33>

**For correspondence:** Popova Ol'ga, Junior Researcher of the Laboratory of Immunobiotechnology, FSBI «National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia. E-mail: [olga.popova31@yandex.ru](mailto:olga.popova31@yandex.ru)

**Information about the authors:**Popova O., <https://orcid.org/0000-0003-3248-1227>Zubkova O.V., <https://orcid.org/0000-0001-7893-8419>Ozharovskaia T.A., <https://orcid.org/0000-0001-7147-1553>Zrelkin D.I., <https://orcid.org/0000-0003-0899-8357>Voronina D.V., <https://orcid.org/0000-0001-6629-744X>Dolzhikova I.V., <https://orcid.org/0000-0003-2548-6142>Shcheblyakov D.V., <https://orcid.org/0000-0002-1289-3411>Naroditsky B.S., <https://orcid.org/0000-0001-5522-8238>Logunov D.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4035-6581>Gintsburg A.L., <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>**Contribution:** all the authors have equally contributed to the writing of the article.**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 2 December 2020

Accepted 27 March 2021

## 1. Лихорадка Ласса

Заболевание, названное впоследствии лихорадкой Ласса (ЛЛ), было открыто в 1969 г., когда 2 американские медсестры-миссионерки умерли от загадочной болезни в г. Ласса на севере Нигерии. Когда заболела третья медсестра, её срочно эвакуировали в Нью-Йорк, где исследователям из Йельского университета удалось выделить новый вирус [4]. В настоящее время известно, что причиной лихорадки является переносимый грызунами аренавирус. Его естественный резервуар – многососковая мышь (*Mastomys natalensis*), грызун рода *Mastomys*, который повсеместно распространён в Западной Африке. Ранее считалось, что *M. natalensis* – единственный переносчик возбудителя, однако были обнаружены другие грызуны-резервуары: виды *M. erythroleucus* и *Hylomyscus pamfi* [5]. Инфицированные животные не проявляют явных признаков заболевания и, как считается, являются пожизненными носителями вируса [6].

Клинические проявления ЛЛ у людей могут быть разными – от бессимптомных до тяжёлых со скоротечной формой болезни. Считается, что у 80% инфицированных заболевание протекает легко, поэтому число диагностируемых случаев очень низкое и не отражает реальную эпидемиологическую опасность. ЛЛ начинается с неспецифических проявлений, характерных для большинства вирусных инфекций: гипертермии, слабости, недомогания и головной боли. Через несколько дней выраженность симптомов может усиливаться; появляются боли в горле, мышцах, груди, животе, рвота, диарея, кашель, артралгия. В 20% случаев заболевание протекает в тяжёлой форме. При этом возможны отёк лица, точечные кровоизлияния, дыхательная и почечная недостаточность, гепатит, эпилептиформные эпизоды, дезориентация, потеря сознания [7]. У ¼ пациентов наблюдаются кровотечения из слизистых оболочек полости рта, носа, влагалища и/или желудочно-кишечного тракта [8]. Как клинические, так и субклинические формы связаны с неврологическими последствиями, среди которых значительное место занимает нейросенсорная тугоухость. В 13,5% случаев развивается одно- или двусторонняя глухота, при этом 80% лиц с тугоухо-

стью из эндемичного региона имеют специфические антитела (АТ) к возбудителю [9]. ЛЛ во время беременности вызывает материнскую смертность более чем в 35% и потерю плода – в 64,5% случаев [10].

Летальность от болезни среди госпитализированных пациентов в ходе её вспышки в Нигерии на протяжении 2015–2016 гг. была равной 59,6% [11]. Согласно статистическому анализу данных за период с января 2011 по ноябрь 2015 г. (специализированная учебная больница Iguwa Specialist Teaching Hospital, Нигерия) этот показатель составляет 24% с повышением риска в 1,5 раза каждое десятилетие, достигая 40% для лиц старше 50 лет [7]. По оценкам Нигерийского центра по контролю над заболеваниями в ходе активной на данный момент вспышки летальность в 2020 г. составила 19,4 и 22,3% – в аналогичном периоде 2019 г. [12].

Обычно люди заражаются при прямом контакте с выделениями или кровью грызунов. Вторичный способ передачи вируса от человека к человеку реализуется при тесном контакте с инфицированным (лица, проживающие в тесных жилищах, ухаживающие за больным родственники). Нередкие случаи внутрибольничной передачи происходят через контакт с физиологическими жидкостями больных или инфицированными медицинскими инструментами. Вирус вызывает спонтанные выкидыши у беременных, что повышает риск возникновения вспышек в роддомах, поскольку источником инфекции могут быть как заражённые роженицы, так и абортивный материал [8].

## 2. Характеристика возбудителя лихорадки Ласса

### 2.1. Структура вириона и организация генома вируса Ласса

Возбудителем ЛЛ является вирус Ласса (ВЛ) – относящийся к группе вирусов Старого Света аренавирус рода *Mammarenavirus* семейства *Arenaviridae* [13]. Сферический вирион диаметром 70–150 нм состоит из нуклеокапсида, который окружён липидной оболочкой, покрытой шипиками из тримеров гликопротеина (**рисунок**). Вирус имеет линейный РНК-геном с амбисенс-стратегией кодирования, состоящий из 2 одноцепочечных сегментов – короткого *S* (~3,4

т.п.н.) и длинного *L* (~7,2 т.п.н.). Каждый из них имеет 2 разнонаправленные открытые рамки считывания: S-сегмент кодирует гены вирусного нуклеопротеина (белок NP с молекулярной массой (MW) 63 кДа) и его прекурсора (белок GPC, MW = 75 кДа), L-сегмент – гены РНК-зависимой РНК-полимеразы (L-белок, MW = 200 кДа) и цинк-связывающего матриксного протеина (Z-белок, MW = 11 кДа) [14]. Нуклеопротеин является основным структурным белком; он инкапсулирует цепи РНК, формируя рибонуклеопротеиновые комплексы. NP участвует в репликации и транскрипции вирусной нуклеиновой кислоты, сборке дочерних вирионов, а также используется для обхода механизмов врождённого иммунного ответа [15]. Z-белок формирует матриксную оболочку вириона, а РНК-полимераза (репликаза) обеспечивает транскрипцию и репликацию генома. Из 4 белков, кодируемых вирусной РНК, гликопротеин (GP) является единственной поверхностной белковой структурой. Он образуется в результате расщепления прегликопротеин-полипептидного комплекса (pre-glycoprotein polyprotein complex, GPC) клеточной субтилазой SKI-1/S1P и экспонируется на клеточную поверхность в виде гликопротеиновых тримеров. Последние образуют закоренные на поверхности вируса шипики, обеспечивающие распознавание рецептора и слияние с клеткой [16]. Зрелый GP состоит из рецептор-связывающего GP1-домена, трансмембранного GP2-домена и стабильного сигнального пептида SSP [17]. GP является ключевым фактором, определяющим инфекционность возбудителя, тропизм, диапазон хозяев и патогенность, что делает его основной мишенью в процессе разработки вакцин и терапевтических препаратов. Помимо гликопротеина иммуногенной активностью обладают белки NP и Z [18].

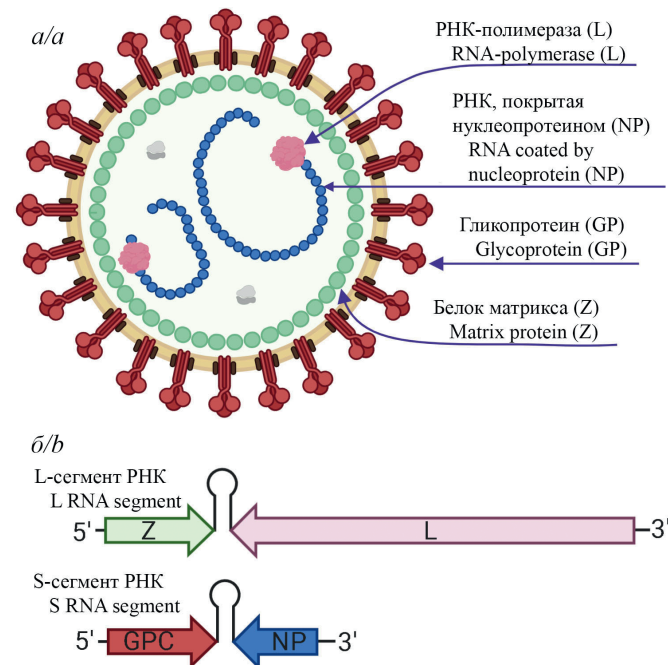
Геном ВЛ характеризуется высокой внутривидовой гетерогенностью. Штаммы возбудителя принято группировать по географическим локациям на 7 генетических линий/клайдов. Линии I–III и VI – это штаммы, изолированные в разных областях Нигерии. Линия IV, к которой относится прототипный штамм вируса Josiah/SL/76/H (JOS), включает штаммы из Гвинеи, Либерии и Сьерра-Леоне, линия V – из Мали и Кот-д’Ивуара. В линию VII входит 1 штамм, обнаруженный в государстве Того, для которого вирус ранее не считался эндемичным [19]. Генетическая вариабельность внутри вида составляет в среднем 20% для L-сегмента и 15% для S-сегмента, а внутри одной линии – до 10% для всего генома [14]. Подобное разнообразие ставит перед разработчиками серьёзную задачу по созданию универсальной пан-Ласса вакцины, обладающей кросс-протекцией против разных штаммов вируса.

## 2.2. Иммунология вируса Ласса

Для ЛЛ, протекающей в тяжёлой форме, характерно генерализованное подавление системы иммунитета. Одним из путей, используемых аренавирусами для вмешательства в развитие эффективного иммунного ответа, является ингибирование продукции ин-

терферонов (ИФН) I типа. Антагонизм врождённого иммунного ответа связан с действием вирусных белков NP и Z [20].

Первичной мишенью для ВЛ являются антигенпрезентирующие клетки (АПК) – дендритные клетки и макрофаги, в которых патоген способен эффективно реплицироваться и высвободиться, не вызывая при этом явной цитотоксичности. Вместо передачи сигналов другим иммунным медиаторам инфицированные АПК не активируются и не созревают, о чём свидетельствует отсутствие увеличения продукции воспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , -6 и -12) и костимулирующих молекул (CD80, CD86, CD40, CD54, HLA) [21]. Большинство РНК-содержащих вирусов активируют АПК образованием нехарактерной для нормальной клетки двухцепочечной РНК (дцРНК) – промежуточного продукта вирусной репликации. В норме такая молекула определяется рецепторами распознавания паттернов RIG-I или MDA5, которые запускают каскад передачи противовирусных сигналов. Однако у аренавирусов имеется уникальный механизм обхода врождённого иммунного ответа. С-концевой домен нуклеопротеина вируса обладает экзонуклеазной активностью против дцРНК; таким образом, в инфицированной клетке нет сигнала для сенсоров вирусного присутствия, что по-



Структура вириона и организация генома вируса Ласса.

*a* – схематическое изображение вириона вируса Ласса; *б* – структурная организация вирусного генома. *Z* – ген матриксного белка, *L* – ген РНК-полимеразы, *GPC* – ген прегликопротеин-полипептидного комплекса, *NP* – ген нуклеопротеина (создано с помощью BioRender.com).

Lassa virus virion structure and genome organization.

*a* – schematic picture of Lassa virion; *b* – structural organization of the viral genome. *Z* – matrix protein gene, *L* – RNA polymerase gene, *GPC* – pre-glycoprotein polyprotein complex gene, *NP* – nucleoprotein gene (created with BioRender.com).

зволяет ВЛ бесконтрольно реплицироваться без вмешательства иммунной системы [22]. Кроме того, белок NP специфически взаимодействует с компонентами RIG-I/MDA5/MAVS сигнального пути, что также вызывает супрессию ИФН-индуцированного ответа [23]. N-концевой домен Z-белка возбудителя связывается с рецепторами RIG-I и MDA5, меняет их конформацию и блокирует индукцию ИФН. Любопытно, что иммуносупрессорные свойства нуклеопротеина характерны для всех аренавирусов, тогда как ингибирование индукции ИФН Z-белком наблюдается только у патогенных представителей данного семейства (вирусы Ласса, Луйо, Хунин, Мачупо, Сабаи, Гуанарито, Чапаре, Данденонг и вирус лимфоцитарного хориоменингита) [24].

Благодаря АПК ВЛ распространяется по организму и вызывает инфекцию во вторичных лимфоидных органах и печени, осуществляя репликацию в гепатоцитах, фибробластах, эндотелии и некоторых эпителиальных клетках. Инфекционный процесс обуславливает истощение и снижение пролиферации Т-клеток в указанных органах и временную лимфоцитопению.

Ласса-специфические АТ классов IgM и IgG начинают выявляться во время пика вирусной нагрузки, при этом их титр не коррелирует с исходом заболевания. Вируснейтрализующие АТ обнаруживаются только спустя месяцы после острой инфекции и, как правило, в низких титрах [25]. Единственный поверхностный белок ВЛ – гликопротеин имеет 11 потенциальных сайтов гликозилирования, что составляет почти 30% от его массы. Показано, что гликаны на поверхности GP способствуют уклонению вируса от нейтрализующих АТ [26]. В настоящее время считается, что Т-клеточный ответ служит необходимым протективным компонентом в отношении ЛЛ, а АТ могут обеспечивать дополнительную иммунную поддержку, особенно важную для защиты от повторного заражения [27, 28].

### 3. Кандидатные вакцины для профилактики лихорадки Ласса

Согласно целевому профилю качества, составленному ВОЗ в 2017 г., вакцинный препарат для профилактики ЛЛ должен соответствовать следующим требованиям:

- подходить для иммунизации здоровых взрослых людей, детей, желательны – беременных и младенцев;
- вызывать только лёгкие и временные нежелательные явления, не приводить к неврологическим осложнениям, в частности к нейросенсорной тугоухости;
- демонстрировать не менее 70%, а в идеале – 90% протективности в клинических испытаниях;
- проявлять защитные свойства в течение минимум 3 (но предпочтительно свыше 5) лет после однократной иммунизации (допустимо применение до 3 доз);
- иметь минимальный срок годности 12 мес при температуре –20 °С или 6 мес при температуре 4–8 °С, однако оптимальный кандидат должен обладать сроком годности не менее 5 лет при более высоких температурах [3].

По состоянию на 2020 г. в разработке или на стадии доклинических испытаний находятся по меньшей

мере 133 потенциальных кандидата на роль вакцины против ЛЛ [29]. Для создания препаратов используются различные технологические платформы: векторы на основе рекомбинантных вирусов, несущих генетический материал потенциальных антигенов; ДНК-структуры; вирусоподобные частицы (ВпЧ); реассортанты ВЛ с непатогенными аренавирусами; препараты вирусных белков; инактивированные вирионы. До этапа клинических испытаний на данный момент дошли 2 препарата: рекомбинантная живая аттенуированная векторная вакцина на основе вируса кори штамма Schwarz и синтетическая ДНК-вакцина INO-4500 [30]. Далее в обзоре будут рассмотрены основные направления, используемые в разработке вакцин против ЛЛ (таблица). Во всех описанных случаях в процессе конструирования использован ВЛ штамма Josiah, если не указано иное.

#### 3.1. Рекомбинантные вакцины на основе вируса везикулярного стоматита

Вирус везикулярного стоматита (vesicular stomatitis virus, VSV) – оболочечный вирус с несегментированной РНК негативной полярности (минус-цепью) семейства *Rhabdoviridae*. В процессе создания векторов на основе VSV, как правило, реализуется стратегия замены гена нативного поверхностного гликопротеина (G) на генетический материал гликопротеина целевого инфекционного агента. Полученные таким образом рекомбинантные вирусы экспонируют на свою поверхность чужеродные антигены, являются ослабленными относительно возбудителя дикого типа, безопасными и высокоиммуногенными. Для VSV-вакцин показано, что защита опосредована АТ и действует по меньшей мере 14 мес на модели инфекции низших приматов (*Strepsirrhini*). Преимуществами платформы являются высокий уровень иммуногенности, отсутствие в человеческой популяции предрасполагающего иммунитета к вектору и хорошие культуральные свойства. Главный недостаток таких векторных структур – неэффективная система для оживления рекомбинантного вируса.

При замене в VSV гена белка G (гликопротеин) на ген GPC ВЛ получают репликативно-компетентный вирус (VSVΔG/LASVGPC), способный формировать иммунный ответ к трансгену. В экспериментах на морских свинках (*Cavia porcellus*) вакцина VSVΔG-LASVGPC обеспечивала 100%-ную защиту от летальной инфекции ( $1 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub> – 50%-ной тканевой цитопатической дозы), однако вирус был обнаружен в сыворотке, печени, лёгких и селезёнке некоторых животных, что указывало на неравномерное распределение стерильного иммунитета. Изучение длительности протективного иммунитета показало 87,5 и 71% защиты от летальной инфекции через 6 и 12 мес после вакцинации соответственно [31].

В 2 экспериментах на модели низших приматов продемонстрирована 100%-ная выживаемость иммунизированных животных после инфицирования. Во время испытаний у всех подвергшихся иммунизации особей наблюдали высокий уровень АТ IgG

**Сравнение основных технологических платформ, применяемых при разработке вакцины для профилактики лихорадки Ласса**  
**Comparison of the main technology platforms used in developing a vaccine for the Lassa fever prevention**

Технологическая платформа Technologic platform	Целевой антиген Target antigen	Модель <i>in vivo</i> <i>In vivo model</i>	Защита от летальной инфекции (%) Protection from the lethal infection (%)	Формирование стерильного иммунитета Induction of sterilizing immunity
Вектор на основе вируса везикулярного стоматита Vesicular stomatitis virus vector	GP	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	100	Частичное Partial
		Низшие приматы Non-human primates <i>Strepsirrhini</i>	100	Отсутствует Absent
Вектор на основе вируса осповакцины Vaccinia virus vector	NP	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	66	Отсутствует Absent
		Мыши Mice <i>Muridae</i>	100	Нет данных No data
Вектор на основе вируса жёлтой лихорадки YF17D Yellow fever virus vector YF17D	GP	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	80	Нет данных No data
		GP1 + GP2	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	83
Вектор на основе вируса кори MeV Measles virus vector MeV	GP + NP	Низшие приматы Non-human primates <i>Strepsirrhini</i>	100	Вероятное Expected
		GP + Z	Низшие приматы Non-human primates <i>Strepsirrhini</i>	100
Вектор на основе аденовируса человека Ад5 Human adenovirus vector Ad5	GP + NP	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	100	Вероятное Expected
Реассортант вируса Ласса с вирусом Мопея ML29 Mopeia Lassa virus reassortant ML29	GP + NP	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	100	Полное для гомологичного штамма Complete for the homologous strain
ДНК-вакцина DNA vaccine	GP	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	100	Отсутствует Absent
		Низшие приматы Non-human primates <i>Strepsirrhini</i>	100	Нет данных No data
Инактивированная вакцина Inactivated vaccine	GP, NP, Z	Низшие приматы Non-human primates <i>Strepsirrhini</i>	0	Отсутствует Absent
Аттенуированная вакцина Attenuated vaccine	GP, NP, Z	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	100	Отсутствует Absent
Вирусоподобные частицы на основе вируса Ласса Lassa virus-like particles	NP, Z	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	100	Полное для гомологичного штамма Complete for the homologous strain
Вирусоподобные частицы на основе вируса венесуэльского энцефалита лошадей Venezuelan equine encephalitis virus-like particles	GP, NP	Морские свинки Guinea pigs <i>Cavia porcellus</i>	100	Отсутствует Absent

(до 1 : 10 000) и вируснейтрализующие АТ в низких титрах (до 1 : 40). В первом опыте 3 животных внутримышечно иммунизировали 1 дозой VSVΔG/LASVGPС (1 × 10<sup>7</sup> БОЕ/доза; БОЕ – бляшкообразующая единица); контрольной особи вводили такую же дозу рекомбинантного VSV, однако несущего нерелевантный антиген. Через 28 сут после иммунизации всех особей инфицировали летальной дозой

(1 × 10<sup>4</sup> ТЦД<sub>50</sub>) ВЛ. Контрольное животное усыпили через 13 сут после инфицирования из-за развития тяжёлой геморрагической лихорадки и вiremии. У иммунизированных особей не наблюдали клинических признаков заболевания и каких-либо гематологических или биохимических показателей инфекции. В образцах крови вирус не детектировался. У 1 животного спустя 45 сут от инфицирования были об-

наружены АТ к NP-белку ВЛ, из чего исследователи сделали вывод о формировании у остальных моделей стерильного иммунитета [32].

Другое исследование протективных свойств проводили на 4 опытных животных, которых иммунизировали VSVΔG/LASVGPC ( $2 \times 10^7$  БОЕ/доза), и 2 контрольных, получавших рекомбинантный VSV, несущий гликопротеин вируса Эбола ( $2 \times 10^7$  БОЕ/доза). Все 6 особей были заражены ВЛ ( $1 \times 10^4$  БОЕ) спустя 28 сут после вакцинации. На 3 сут после инфицирования у 2 контрольных моделей начали проявляться клинические признаки заболевания. К 10 сут у 1 животного наблюдали выраженный фациальный отёк, у обоих приматов – макулёзную сыпь и анорексию. На 11 и 13 сут животные из контрольной группы были умерщвлены; патологоанатомическое исследование показало характерные для ЛЛ повреждения и патологические изменения. При этом все модели из опытной группы были защищены от высокой дозы вируса. На 7 сут после инфицирования возбудитель детектировали у всех животных (до  $1 \times 10^4$  БОЕ/мл), что свидетельствовало о полном отсутствии поствакцинального стерильного иммунитета. К 10 сут у вакцинированных VSVΔG/LASVGPC животных вирус не обнаруживался, в то время как у контрольных приматов наблюдали рост титра инфекционного агента ( $>1 \times 10^6$  БОЕ/мл) [33].

Кроме этого, проверена способность проявления данной вакциной защитных свойств по отношению к штаммам ВЛ из других регионов Западной Африки. В экспериментах на морских свинках и низших приматах установлена 100%-ная протективность VSVΔG/LASVGPC против гетерологичных вакцинному штаммов вируса, изолированных в Либерии (штамм Z-132, линия IV), Мали (Soromba-R, линия V) и Нигерии (Pinneo, линия I) [34].

Выявлено также, что другой потенциальный антиген ВЛ – белок нуклеокапсида не проявляет протективного действия в вакцинной платформе на основе VSV. Сконструирован рекомбинантный вирус VSVG/LASVNP, представляющий собой VSV дикого типа с геном белка NP ВЛ, клонированным между генами M и G. Морские свинки, получившие  $1 \times 10^6$  БОЕ VSVG/LASVNP, были заражены летальной дозой ( $1 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>) ВЛ. В результате все иммунизированные животные проявляли клинические признаки ЛЛ (вялость, потеря 10–20% массы тела). Выживаемость в опытной группе составила 66,6%. Титр вируса в тканях оказался аналогичным для иммунизированных особей и контрольной группы [34].

Ещё один метод конструирования VSV-вакцины предполагает модификацию генома, при которой ген GPC встраивают на место первого экспрессируемого гена, а генетический материал нативного нуклеопротеина (N) переносится в сайт делеции гена GP. Такие перестановки наделяют вектор двумя преимуществами по сравнению с «традиционным» VSV, псевдотипированным чужеродным гликопротеином. Во-первых, существенно снижается экспрессия гена мажорного белка N, что ослабляет репликативные свойства

вируса. Во-вторых, в трансдуцированных клетках повышается продукция трансгена. Таким образом, полученный предложенным способом рекомбинантный вирус rVSV-N4ΔG-LASV является ещё более ослабленным и потенциально более иммуногенным. Его оценку проводили в составе 4-валентного вакцинного препарата против филовирюсов (эболавирусы Заир и Судан, вирус Марбург) и ВЛ на модели низших приматов. Животных иммунизировали дважды с интервалом в 56 сут в дозе  $4 \times 10^7$  БОЕ (по  $1 \times 10^7$  БОЕ на каждый компонент 4-валентной вакцины) и заражали летальной дозой ( $1 \times 10^3$  БОЕ) ВЛ спустя 2 нед после бустирования. Ласса-специфичные АТ IgG и вируснейтрализующие АТ детектировались у всех ( $n = 18$ ) животных и достигали максимума на 66 сут (10 сут после получения второй дозы). В данной временной точке Ласса GP-специфичный ИФН-γ-индуцированный ответ обнаруживали у 16 из 18 иммунизированных моделей. Все вакцинированные особи пережили летальное заражение без клинических проявлений инфекции. В образцах крови 3 из 5 подвергшихся вакцинации приматов детектировали вирусную РНК, у 1 выявлялся живой возбудитель [35]. Подобная разработка выглядит особенно перспективной, поскольку созданная по такой же технологии вакцина для профилактики лихорадки Эбола успешно прошла I стадию клинических испытаний по оценке безопасности и иммуногенности [36].

### 3.2. Векторы на основе вируса осповакцины

Первая рекомбинантная вакцина для профилактики ЛЛ получена в 1987 г. на основе вируса осповакцины (штамм Lister), экспрессирующего ген NP. В опыте на морских свинках показано, что 1 доза ( $1 \times 10^7$  БОЕ) защищает животных от смертельного заболевания и виремии. Поскольку NP не является поверхностным белком, исследователи заключили, что иммунитет опосредуется не гуморальным, а клеточным ответом [37].

В следующей работе в качестве вектора использовали другой штамм вируса осповакцины (NY6H), в который клонировали гены белков NP и GPC. Для проверки протективных свойств использовали различные схемы иммунизации и большое количество моделей. В ходе эксперимента у 52 из 60 иммунизированных морских свинок отмечали повышение температуры тела после заражения. Количество смертей было высоким как в контрольной, так и в опытных группах: погибло 86% контрольных особей и 61% – подвергшихся вакцинации. Более низкие уровни летальности (21 и 6% соответственно) наблюдали в группах, вакцинированных 1 вектором, несущим либо GPC, либо NP. При этом ни одна конструкция не защищала всех животных. Вопреки ожиданиям оказалось, что вакцинация 2 рекомбинантными вирусами только увеличила летальность: в этой группе выжило лишь 58% животных. Эти данные дважды подтверждены в независимых экспериментах. Несмотря на отсутствие тотальной защиты, установлено, что иммунизированные особи быстрее освобождались от виремии. Вероятно, результаты значительно отличаются

от полученных ранее вследствие того, что вектор для создания вакцины был сконструирован на основе более слабого штамма вируса осповакцины NYVH [38, 39].

На сегодняшний день в качестве матрицы для создания рекомбинантных вирусных векторов используют не способный к репликации в клетках человека модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA). В ряде доклинических и клинических испытаний с общим числом участников более 120 тыс. человек продемонстрировано, что подобные векторы являются генетически стабильными, безопасными, иммуногенными и масштабируемыми для производства [40].

С использованием MVA сконструирована кандидатная вакцина GEO-LM01, кодирующая гены NP- и Z-белков ВЛ. При иммунизации препаратом мышей наблюдали сильный Т-клеточный ответ, особенно в популяции CD4+, и низкий уровень продукции специфических АТ IgG. Оценку протективности GEO-LM01 проводили на модели мышей, для которых интрацеребральное заражение штаммом ML29 (рекомбинантный реассортант между ВЛ и непатогенным аренавирусом Мопея) было летальным. Однократная иммунизация обеспечила полную защиту животных от модельного вируса [41].

### 3.3. Векторная вакцина на основе вируса жёлтой лихорадки

В настоящее время самой эффективной и безопасной вакциной против вируса жёлтой лихорадки считается YF17D. Благодаря хорошему профилю безопасности и успехам в области изучения молекулярной биологии флавивирусов её генетическая матрица успешно применяется для создания химерных вирусных структур, в которых генетический материал нативных белков оболочки ргМ и Е заменён на гены белков других флавивирусов (вирусы японского энцефалита, Денге, Западного Нила) [42]. Геном YF17D допускает также встраивание чужеродных трансгенов между генами белков Е и NS1 [43]. Эта стратегия использована для получения 2 потенциальных вакцин для профилактики ЛЛ: первая кодирует полный ген GPC ВЛ (YFV17D/LAS-GPC), вторая несёт гены субъединиц гликопротеина GP1 и GP2 по отдельности (YF17D/LASV-GP1 и -GP2) [44, 45].

При проверке на модели морских свинок вакцина YFV17D/LAS-GPC продемонстрировала абсолютную безопасность, однако однократная иммунизация с последующим инфицированием на 21 сут показала лишь 80% протективности в сравнении со 100%-ным показателем для вакцинного препарата на основе ML29. Гуморальный ответ на трансген был низким и начинал регистрироваться только после бустирования животных [44]. Рекомбинантные вирусы, экспрессирующие субъединицы гликопротеина (YF17D/LASV-GP1 и -GP2), вводили в равных пропорциях. 5 из 6 вакцинированных особей после заражения летальной дозой вируса выжили, однако у всех наблюдались клинические манифестации; таким образом, вакцинация не защитила их от инфекции [45].

Вероятнее всего, вектор на основе YF17D в значительной степени подходит для конструирования вакцин против флавивирусных инфекций (в том числе Денге, Зика), но для других патогенов, в частности для ВЛ, он является недостаточно иммуногенным. Это может объясняться низкими репликативными свойствами и потерей генетической стабильности при пассировании вирусного вектора в клеточной культуре [44, 45].

### 3.4. Рекомбинантные вакцины на основе вируса кори

Живая аттенуированная противокоревая вакцина показала безопасность и эффективность за годы использования у миллионов людей по всему миру. Методы обратной генетики позволяют встраивать чужеродные трансгены в геном вируса кори для создания рекомбинантных вакцинных препаратов. Этот подход использован при разработке вакцин против множества патогенов, включая вирусы гепатита В, Денге, ВИЧ, коронавирусы SARS и MERS, малярийный плазмодий. В ряде работ показана способность вектора индуцировать устойчивый В- и Т-клеточный ответ [46].

Генетическую матрицу вируса кори штамма Schwarz использовали для конструирования потенциального вакцинного препарата против ЛЛ. В вакцинный вектор клонировали 1 ген GPC или GPC в комбинации с NP или Z. Все рекомбинантные вирусные векторы индуцировали синтез ИФН I типа и экспрессию молекул активации в культуре первичных человеческих АПК. Эффективность оценивали на низших приматах с использованием однократной иммунизации вакциной, несущей гены GPC + NP (MeV-GPC-NP) либо GPC + Z (MeV-GPC-Z). Гуморальный ответ на трансгены обнаруживался не у всех животных и был низким. NP-специфические цитокинпродуцирующие Т-клетки появлялись на 14 сут после иммунизации, при этом выраженность клеточного ответа на Z-белок была незначительной. На 23 сут после иммунизации детектировали нарастание количества GPC-специфических цитокинпродуцирующих CD8+ и CD4+ Т-клеток для вакцины, несущей GPC + NP, но не GPC + Z. Через 37 сут после вакцинации животных инфицировали летальной дозой вируса ЛЛ. Все привитые особи успешно пережили инфекцию, однако клинические проявления различались в зависимости от использованного вектора. Вакцинированные MeV-GPC-Z гораздо тяжелее переносили болезнь и выздоровели позже по сравнению с группой, получавшей вакцину MeV-GPC-NP. Следует отметить, что в образцах тканей животных, иммунизированных последней, детектировали не живой ВЛ, а лишь малые количества вирусной РНК, что может указывать на возможное формирование стерильного иммунитета [18].

В конце 2019 г. компания Themis Bioscience начала I стадию клинических испытаний вакцинного препарата против ЛЛ на основе вектора вируса

кори штамма Schwarz (MV-LASV), в ходе которых планировалось оценить его безопасность, переносимость и иммуногенность. Результаты работы пока не опубликованы [47].

### 3.5. Аденовирусные векторные вакцины

На сегодняшний день аденовирусные векторы являются наиболее популярной вирусной системой для доставки генов. Рекомбинантные аденовекторы являются репликативно-дефектными, в связи с чем обладают хорошим профилем безопасности, подтвержденным более чем в 500 клинических испытаниях. Аденовирусные векторы обеспечивают высокие и длительные уровни экспрессии трансгенов в клетках-мишенях и идеально подходят для конструирования вакцин благодаря способности индуцировать как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ. Большинство векторов сконструированы на основе аденовируса человека 5 серотипа (Ад5); используются также 4, 6, 26, 35 серотипы данного возбудителя и аденовирусы обезьян [48].

Векторная платформа на основе Ад5 применена для конструирования вакцинного препарата против ЛЛ. Полученные 2 рекомбинантных вектора (несущие гены GPC и NP) предполагается использовать совместно в двукратной схеме иммунизации. В эксперименте на морских свинках показана 100%-ная выживаемость после введения летальной дозы ВЛ, при этом у инфицированных животных не было клинических признаков заболевания. В образцах тканей вакцинированных особей возбудитель не обнаруживался, возможно, вследствие того, что сформированный иммунитет оказался стерильным. Титры вируснейтрализующих АТ у подвергшихся вакцинации особей варьировали от 1 : 20 до 1 : 160. Т-клеточный иммунный ответ не изучался, однако авторы считают, что он был сформирован: ранее показано, что гуморального иммунитета в изолированном виде недостаточно для полной защиты [49].

### 3.6. Живая реассортантная Мопея/Ласса вакцина

Бисегментированная организация генома аренавирусов позволяет создавать реассортанты между вирусами разных видов. ML29 – реассортант между ВЛ и непатогенным для человека аренавирусом Мопея. Он несёт L-сегмент (Z-белок и РНК-зависимая РНК-полимераза) вирусного генома последнего и S-сегмент (нуклеопротеин и гликопротеин) ВЛ. Полученные таким образом вирусные частицы, будучи инфекционными, являются тем не менее ослабленными [50].

Однократная иммунизация ML29 обеспечила 100%-ную защиту морских свинок от гомологичного вакцинному штамма и гетерологичного штамма 803213/NIG, но не оказала протективного действия в отношении животных, инфицированных штаммом WE. Показано, что для гомологичного штамма сформировался стерильный иммунитет. С целью оценки безопасности реассортанта в присутствии вируса дикого типа инфицирование осуществлено в день иммунизации либо на 2 сут после неё. Примечатель-

но, что хотя в этом случае вакцинация не защищала от болезни, она предотвратила развитие летального исхода. У всех вакцинированных особей имели место уменьшение массы тела и гипертермия, однако выраженность клинических признаков была меньшей по сравнению с контрольной группой [51].

Безопасность вакцины на основе ML29 продемонстрирована в эксперименте на макак-резусах. На 14 сут после вакцинации в сыворотке крови детектировали высокие уровни Ласса-специфических АТ IgG при полном отсутствии вируснейтрализующих АТ. У вакцинированных животных не было повышения температуры тела или иных клинических проявлений в ответ на введение препарата. Гистологическое исследование не установило тканевых повреждений, свойственных ЛЛ [50].

Поскольку в эндемичном для ЛЛ регионе регистрируется высокий уровень распространённости ВИЧ, важно, чтобы потенциальная вакцина была безопасной для лиц с положительным ВИЧ-статусом. С учётом этого ML29 протестирована на макак-резусах, инфицированных вирусом иммунодефицита обезьян. После вакцинации у животных не наблюдалось признаков аренавирусной инфекции и сокращения продолжительности жизни, однако отмечено увеличение вирусемии ML29 по сравнению с группой контроля. При этом уровни клеточного и гуморального иммунного ответа на вакцинацию были одинаковыми для особей с нормальным или угнетённым иммунитетом [52].

Кроме этого, в отношении подобных вакцинных препаратов не до конца решена проблема генетической стабильности вирусов-реассортантов. Естественные случаи реассортировки между аренавирусами не описаны, но *in vitro* существуют различные варианты [53–55]. Этот факт вызывает опасения, поскольку вакцинация ослабленным реассортантом в присутствии более вирулентного вируса дикого типа потенциально может ускорить течение заболевания.

### 3.7. ДНК-вакцины

Технология ДНК-вакцин основана на бактериальных плаزمиде, кодирующих полипептидную последовательность потенциальных антигенов. К положительным сторонам этих препаратов относят быстроту разработки, простоту и низкую стоимость производства, сниженные требования к температуре хранения и долгосрочную стабильность. ДНК-вакцины могут вводиться разными путями: внутримышечно, подкожно, внутрикожно или интраназально. Основная проблема заключается в необходимости доставки неповреждённого генетического материала непосредственно в ядро клетки-мишени. Для этого используют 2 основных подхода: упаковку ДНК в липосомные комплексы либо наночастицы или применение метода электропорации. К настоящему времени данная технологическая платформа применена при разработке вакцин против таких патогенов, как ВИЧ, вирусы гриппа, Зика, Эбола, ВЛ, коронавирусы MERS-CoV и SARS-CoV-2, вирус венысуэльского энцефалита лошадей (ВЭЛ) [56, 57].



Протективные свойства кодон-оптимизированной ДНК-вакцины, кодирующей последовательность прекурсора гликопротеина ВЛ, продемонстрированы на модели летальной инфекции морских свинок и низших приматов. Морским свинкам трижды (с интервалом в 3 нед) вводили по 100 мкг вакцины, используя приборы для внутримышечной либо трансдермальной электропорации. Через 4 нед после второго бустирования животных инфицировали ВЛ ( $1 \times 10^3$  БОЕ). В результате эксперимента все особи из опытных групп выжили, но у 4 из 8 получавших вакцину внутримышечно наблюдали лёгкие клинические проявления и вiremию. Предполагается, что использование трансдермальной электропорации для этой вакцины предпочтительнее, поскольку позволяет доставить антиген в иммунологически релевантные эпидермальные дендритные клетки [58]. Низшим приматам вводили по 2,5 мг вакцины с помощью аналогичного прибора в каждую конечность по 2 схемам: трёхкратная вакцинация с интервалом в 3 нед и инфицированием через 4 нед после второго бустирования, либо двукратная вакцинация с интервалом в 4 нед и инфицированием спустя 5 нед после бустирования. Все животные, вакцинированные по первой или второй схеме, пережили заражение летальной дозой ( $1 \times 10^3$  БОЕ) без вiremии и каких-либо клинических признаков. Титр вируснейтрализующих АТ был достоверно выше в группе животных, иммунизированных по трёхкратной схеме: на 70 сут от первой вакцинации он достигал  $1 : 64$  с пиком  $>1 : 256$  на 21 сут после инфицирования [59].

В 2019 г. в Соединённых Штатах Америки (США) начались первые клинические испытания кандидатной вакцины для профилактики ЛЛ. Это кодирующая ген GPC ВЛ ДНК-вакцина INO-4500, разработанная фармацевтической компанией Inovio Pharmaceuticals [60]. В 2021 г. планируется старт испытаний по исследованию безопасности, переносимости и иммуногенности данного препарата в Республике Гана [61].

### **3.8. Другие технологические платформы (инактивированные вакцины, аттенуированные вакцины, вирусоподобные частицы)**

Попытка создать инактивированный вакцинный препарат против ЛЛ не привела к ожидаемому результату. Несмотря на то что вакцинация индуцировала у приматов гуморальный ответ на белки GP1, GP2 и NP, она не обеспечивала защиту от летальной инфекции. Вакцина не уменьшила тяжесть течения заболевания, значительно продлив его: контрольные животные умерли на 12 и 13 сут, а иммунизированные – на 15–21 сут после инфицирования [62].

К настоящему времени имеется несколько многообещающих разработок в области конструирования аттенуированной вакцины для профилактики ЛЛ. В частности, предложен способ ослабления нативного патогена, который заключается в замене некодирующего межгенного региона (intergenic region, IGR) L-сегмента на аналогичную структуру S-сегмента. Рекомбинантный вирус rLASV(IGR/S-S) характеризу-

ется более низкой скоростью репликации в культуре клеток Vero относительно возбудителя дикого типа, что, однако, не мешает ему давать эквивалентный выход вирусного потомства. Иммунизация морских свинок rLASV(IGR/S-S) показала, что он является ослабленным: у животных не было потери массы тела и клинических признаков болезни за исключением временного повышения температуры тела с 8 по 13 сут. После инфицирования вакцинированных особей вирулентным ВЛ наблюдали 100%-ную выживаемость [63].

Другая стратегия подразумевает ослабление вируса путём модификации нуклеотидной последовательности гена GP с целью деоптимизации кодонного состава. Полученный таким образом рекомбинантный вирус rLASV-GPC/CD проверяли на морских свинках. Эксперименты выявили, что аттенуированный вирус абсолютно безопасен в дозе, на 2 порядка превышающей летальную для возбудителя дикого типа. Изучение протективных свойств вакцины продемонстрировало полную защиту иммунизированных животных [64]. Относительно подобной вакцины следует отметить, что снижение продукции гликопротеина негативно влияет на культуральные свойства вируса. В связи с этим не до конца ясно, возможно ли перенести эту технологию в масштабное производство и насколько это рентабельно. Кроме того, остро стоит вопрос безопасности применения аттенуированных вакцин в человеческой популяции ввиду риска развития неврологических осложнений.

Наконец, ещё одно потенциальное направление в области разработки кандидатной вакцины против ЛЛ касается ВпЧ. Они структурно напоминают инфекционный вирус, но не могут распространяться за пределы первоначально инфицированных клеток. Ожидается, что вакцины на основе ВпЧ будут безопасны и слабореактогенны.

С использованием указанной технологии сконструированы вакцины для профилактики ЛЛ на основе ВЛ и ВЭЛ. В первом случае ВпЧ содержат полный набор белков ВЛ, однако из генома удалена область, кодирующая ген GPC. Его делеция выбрана потому, что белки NP и L необходимы для репликации вирусного генома, а стабильная экспрессия Z-белка делает клетки устойчивыми к инфекции ВЛ. Предложено также проверить влияние иммуносупрессорной активности NP на протективные свойства кандидатной вакцины. Получены 2 вида вирусоподобных частиц: WT-WT, несущие геном вируса дикого типа с делецией гена GPC, и WT-Exo(N) – такие же частицы, но с мутацией в области, кодирующей экзонуклеазный домен белка NP. Однократная вакцинация морских свинок WT-WT и WT-Exo(N) обеспечила полную защиту от последующего заражения летальной дозой ВЛ, при этом отключение антагонизма врождённого иммунного ответа оказалось несущественным в плане протективности. В группах, иммунизированных частицами каждого вида, животные не давали клинических реакций в ответ на вакцинацию и были одинаково защищены от заболевания. У большинства особей АТ

не выявлялись как после иммунизации, так и после заражения, что предполагает участие клеточного иммунитета. Важно, что в конце эксперимента ни в одном случае у иммунизированных животных не была обнаружена вирусная РНК; следовательно, сформированный вакцинацией иммунитет полностью подавлял развитие инфекции [65].

ВЭЛ – альфавирус, содержащий одноцепочечную РНК позитивной полярности (плюс-цепь). С его использованием получают ВпЧ, несущие генетический материал потенциальных антигенов, для создания безопасных вакцин с 1 циклом репликации. Такие структуры представляют собой минимальную необходимую для саморепликации и транскрипции генетическую единицу, упакованную в вирусные структурные белки. Попав в клетку, ВпЧ реализуют свой генетический потенциал, который ограничен геном вирусной РНК-полимеразы и трансгеном, и не собираются в новые инфекционные частицы. На основе ВЭЛ получены ВпЧ, несущие гены белков GP и NP, – LGP-VRP и LNP-VRP соответственно. Экспериментальную вакцину проверяли на морских свинках, которых трижды с 4-недельным интервалом иммунизировали препаратами ВпЧ LGP-VRP и LNP-VRP по отдельности ( $1 \times 10^7$  инфекционных частиц) и в комбинации ( $2 \times 10^7$  инфекционных частиц). Через 28 сут после третьей иммунизации животных заражали ВЛ в дозе 160 ТЦД<sub>50</sub>. Все контрольные особи были инфицированы и умерли в период с 10 по 30 сут. У иммунизированных животных, напротив, не наблюдали каких-либо симптомов заболевания; ни одно из них не погибло. У большинства не было детектируемой вирусемии; исключение составляли 3 особи, которым вводили LGP-VRP, и 2, получавшие LNP-VRP и комбинированный препарат соответственно. Примечательно, что пассивная иммунизация морских свинок сывороткой, полученной от вакцинированных комбинированным препаратом LGP-VRP и LNP-VRP животных, не вызвала какого-либо защитного эффекта при заражении летальной дозой ВЛ. На основании полученных результатов исследователи сделали вывод о том, что защитный иммунитет контролировался Т-клетками [66].

#### 4. Заключение

Высокий эпидемический потенциал, факт передачи вируса от человека к человеку и отсутствие клинически одобренных средств для лечения и/или профилактики делают ЛЛ серьезной угрозой для здравоохранения многих стран. Несмотря на большое количество исследований, направленных на разработку вакцинных препаратов против этого заболевания, поиск идеального кандидата продолжается. При использовании живых ослабленных или репликативно-компетентных векторных вакцин можно ожидать возможные проблемы с неконтролируемой реактогенностью, что ограничивает круг лиц, для которых такие препараты безопасны. Вероятно, оптимальная потенциальная вакцина должна быть представлена рекомбинантным репликативно-дефектным вирусным вектором, инду-

цирующим стойкий клеточно-опосредованный иммунный ответ, который может быть усилен применением двухэтапной (прайм-буст) схемы иммунизации. Такие технологические платформы, как ДНК-вакцины, а также векторы на основе VSV и вируса кори, на сегодняшний день являются лидирующими, поскольку демонстрируют лучшие иммуногенные и протективные свойства и имеют благоприятные профили безопасности, установленные в ходе ряда клинических испытаний.

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. WHO. Introduction to Lassa fever. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/introduction-to-lassa-fever> (accessed December 15, 2020).
2. Wolf T., Ellwanger R., Goetsch U., Wetzstein N., Gottschalk R. Fifty years of imported Lassa fever: a systematic review of primary and secondary cases. *J. Travel Med.* 2020; 27(4): 1–17. <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa035>.
3. WHO. WHO Target Product Profile for Lassa virus Vaccine; June 2017. Available at: <https://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/LassaVirusVaccineTPP.PDF> (accessed December 15, 2020).
4. Roberts L. Nigeria hit by unprecedented Lassa fever outbreak. *Science.* 2018; 359(6381): 1201–2. <https://doi.org/10.1126/science.359.6381.1201>.
5. Coulibaly-N'Golo D., Allali B., Kouassi S.K., Fichet-Calvet E., Becker-Ziaja B., Rieger T., et al. Novel arenavirus sequences in *Hylomyscus* sp. and *Mus (Nannomys) setulosus* from Côte d'Ivoire: Implications for evolution of arenaviruses in Africa. *PLoS One.* 2011; 6(6): e20893. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020893>.
6. McCormick J.B., Webb P.A., Krebs J.W., Johnson K.M., Smith E.S. A prospective study of the epidemiology and ecology of Lassa fever carried out primarily in the eastern province of Sierra. *J. Infect. Dis.* 1987; 155(3): 437–44. <https://doi.org/10.1093/infdis/155.3.437>.
7. Okokhere P., Colubri A., Azubike C., Iruolagbe C., Osazuwa O., Tabrizi S., et al. Clinical and laboratory predictors of Lassa fever outcome in a dedicated treatment facility in Nigeria: an observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 18(6): 684–95. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30121-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30121-x).
8. Asogun D.A., Günther S., Akpede G.O., Ihekweazu C., Zumla A. Lassa fever: epidemiology, clinical features, diagnosis, management and prevention. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2019; 33(4): 933–51. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.08.002>.
9. Mateer E.J., Huang C., Shehu N.Y., Paessler S. Lassa fever-induced sensorineural hearing loss: A neglected public health and social burden. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(2): e0006187. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006187>.
10. Okogbenin S., Okoeguale J., Akpede G., Colubri A., Barnes K.G., Mehta S., et al. Retrospective cohort study of Lassa fever in pregnancy, Southern Nigeria. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(8): 1495–500. <https://doi.org/10.3201/eid2508.181299>.
11. Buba M.I., Dalhat M.M., Nguku P.M., Waziri N., Mohammad J.O., Bomo I.M., et al. Mortality among confirmed Lassa fever cases during the 2015–2016 outbreak in Nigeria. *Am. J. Public Health.* 2018; 108(2): 262–4. <https://doi.org/10.2105/ajph.2017.304186>.
12. NCDC. Lassa fever Situation Report. 2020. Available at: <https://ncdc.gov.ng/themes/common/files/sitreps/15a12399a0aa98330e56dabd49ccef8.pdf> (accessed December 15, 2020).
13. Radoshitzky S.R., Buchmeier M.J., Charrel R.N., Clegg J.C.S., Gonzalez J.J., Günther S., et al. ICTV virus taxonomy profile: Arenaviridae. *J. Gen. Virol.* 2019; 100(8): 1200–1. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001280>.
14. Klitting R., Mehta S.B., Oguzie J.U., Oluniyi P.E., Pauthner M.G., Siddle K.J., et al. Lassa Virus Genetics. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2020, online ahead of print. [https://doi.org/10.1007/82\\_2020\\_212](https://doi.org/10.1007/82_2020_212).
15. Zinzula L., Tramontano E. Strategies of highly pathogenic RNA viruses to block dsRNA detection by RIG-I-like receptors: Hide, mask, hit. *Antiviral Res.* 2013; 100(3): 615–35. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.002>.
16. Lenz O., ter Meulen J., Klenk H.D., Seidah N.G., Garten W. The Lassa virus glycoprotein precursor GP-C is proteolytically

- processed by subtilase SKI-1/S1P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98(22): 12701–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.221447598>.
17. Knipe D.M., Howley P. *Fields Virology*. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
  18. Mateo M., Reynard S., Carnec X., Journeaux A., Baillet N., Schaeffer J., et al. Vaccines inducing immunity to Lassa virus glycoprotein and nucleoprotein protect macaques after a single shot. *Sci. Transl. Med.* 2019; 11(512): eaaw3163. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaw3163>.
  19. Whitmer S.L.M., Strecker T., Cadar D., Dienes H.P., Faber K., Patel K., et al. New lineage of Lassa virus, Togo, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(3): 2861–9. <https://doi.org/10.3201/eid2403.171905>.
  20. McLay L., Liang Y., Ly H. Comparative analysis of disease pathogenesis and molecular mechanisms of New World and Old World arenavirus infections. *J. Gen. Virol.* 2014; 95(Pt. 1): 1–15. <https://doi.org/10.1099/vir.0.057000-0>.
  21. Baize S., Kaplon J., Faure C., Pannetier D., Georges-Courbot M.C., Deubel V. Lassa virus infection of human dendritic cells and macrophages is productive but fails to activate cells. *J. Immunol.* 2004; 172(5): 2861–9. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.5.2861>.
  22. Hastie K.M., Kimberlin C.R., Zandonatti M.A., MacRae I.J., Saphire E.O. Structure of the Lassa virus nucleoprotein reveals a dsRNA-specific 3' to 5' exonuclease activity essential for immune suppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011; 108(6): 2396–401. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016404108>.
  23. Pythoud C., Rodrigo W.W., Pasqual G., Rothenberger S., Martínez-Sobrido L., de la Torre J.C., et al. Arenavirus nucleoprotein targets interferon regulatory factor-activating kinase IKKε. *J. Virol.* 2012; 86(15): 7728–38. <https://doi.org/10.1128/jvi.00187-12>.
  24. Xing J., Ly H., Liang Y. The Z proteins of pathogenic but not nonpathogenic arenaviruses inhibit RIG-I-like receptor-dependent interferon production. *J. Virol.* 2015; 89(5): 2944–55. <https://doi.org/10.1128/jvi.03349-14>.
  25. Zapata J.C., Medina-Moreno S., Guzmán-Cardozo C., Salvato M.S. Improving the breadth of the host's immune response to Lassa virus. *Pathogens*. 2018; 7(4): 84. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040084>.
  26. Sommerstein R., Flatz L., Remy M.M., Malinge P., Magistrelli G., Fischer N., et al. Arenavirus glycan shield promotes neutralizing antibody evasion and protracted infection. *PLoS Pathog.* 2015; 11(11): e1005276. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005276>.
  27. Russier M., Pannetier D., Baize S. Immune responses and Lassa virus infection. *Viruses*. 2012; 4(11): 2766–85. <https://doi.org/10.3390/v4112766>.
  28. Prescott J.B., Marzi A., Safronetz D., Robertson S.J., Feldmann H., Best S.M. Immunobiology of Ebola and Lassa virus infections. *Nat. Rev. Immunol.* 2017; 17(3): 195–207. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.138>.
  29. Salami K., Gouglas D., Schmaljohn C., Saville M., Tornieporth N. A review of Lassa fever vaccine candidates. *Curr. Opin. Virol.* 2019; 37: 105–11. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2019.07.006>.
  30. Search of Lassa – List Results – ClinicalTrials.gov. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Lassa&Search> (accessed December 15, 2020).
  31. Stein D.R., Warner B.M., Soule G., Tierney K., Frost K.L., Booth S. A recombinant vesicular stomatitis-based Lassa fever vaccine elicits rapid and long-term protection from lethal Lassa virus infection in guinea pigs. *NPJ Vaccines*. 2019; 4: 8. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0104-x>.
  32. Marzi A., Feldmann F., Geisbert T.W., Feldmann H., Safronetz D. Vesicular stomatitis virus-based vaccines against Lassa and Ebola viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(2): 305–7. <https://doi.org/10.3201/eid2102.141649>.
  33. Geisbert T.W., Jones S., Fritz E.A., Shurtleff A.C., Geisbert J.B., Liebscher R., et al. Development of a new vaccine for the prevention of Lassa fever. *PLoS Med.* 2005; 2(6): 0537–45. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020183>.
  34. Safronetz D., Mire C., Rosenke K., Feldmann F., Haddock E., Geisbert T., et al. A recombinant vesicular stomatitis virus-based Lassa fever vaccine protects guinea pigs and macaques against challenge with geographically and genetically distinct Lassa viruses. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(4): e0003736. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003736>.
  35. Cross R.W., Xu R., Matassov D., Hamm S., Latham T.E., Gerardi C.S., et al. Quadrivalent VesiculoVax vaccine protects nonhuman primates from viral-induced hemorrhagic fever and death. *J. Clin. Invest.* 2020; 130(1): 539–51. <https://doi.org/10.1172/jci131958>.
  36. Clarke D.K., Xu R., Matassov D., Latham T.E., Ota-Setlik A., Gerardi C.S., et al. Safety and immunogenicity of a highly attenuated rVSVN4CT1-EBOVGP1 Ebola virus vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 clinical trial. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4): 455–66. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(19\)30614-0](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(19)30614-0).
  37. Clegg J.C.S., Lloyd G. Vaccinia recombinant expressing Lassa-virus internal nucleocapsid protein protects guineapigs against Lassa fever. *Lancet.* 1987; 330(8552): 186–8. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)90767-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)90767-7).
  38. Morrison H.G., Bauer S.P., Lange J.V., Esposito J.J., McCormick J.B., Auperin D.D., et al. Protection of guinea pigs from Lassa fever by vaccinia virus recombinants expressing the nucleoprotein or the envelope glycoproteins of Lassa virus. *Virology*. 1989; 171(1): 179–88. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(89\)90525-4](https://doi.org/10.1016/0042-6822(89)90525-4).
  39. Morrison H.G., Goldsmith C.S., Regnery H.L., Auperin D.D. Simultaneous expression of the Lassa virus N and GPC genes from a single recombinant vaccinia virus. *Virus Res.* 1991; 18(2-3): 231–41. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(91\)90021-m](https://doi.org/10.1016/0168-1702(91)90021-m).
  40. Cottingham M.G., Carroll M.W. Recombinant MVA vaccines: Dispelling the myths. *Vaccine*. 2013; 31(39): 4247–51. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.03.021>.
  41. Salvato M.S., Domi A., Guzmán-Cardozo C., Medina-Moreno S., Zapata J.C., Hsu H., et al. A single dose of modified vaccinia Ankara expressing Lassa virus-like particles protects mice from lethal intracerebral virus challenge. *Pathogens*. 2019; 8(3): 133. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030133>.
  42. Giel-Moloney M., Goncalvez A.P., Catalan J., Lecouturier V., Girerd-Chambaz Y., Diaz F., et al. Chimeric yellow fever 17D-Zika virus (ChimeriVax-Zika) as a live-attenuated Zika virus vaccine. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 13206. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31375-9>.
  43. Bonaldo M.C., Sequeira P.C., Galler R. The yellow fever 17D virus as a platform for new live attenuated vaccines. *Hum. Vaccines Immunother.* 2014; 10(5): 1256–65. <https://doi.org/10.4161/hv.28117>.
  44. Bredenbeek P.J., Molenkamp R., Spaan W.J., Deubel V., Marianneau P., Salvato M.S., et al. A recombinant Yellow Fever 17D vaccine expressing Lassa virus glycoproteins. *Virology*. 2006; 345(2): 299–304. <https://doi.org/10.1016/j.viro.2005.12.001>.
  45. Jiang X., Dalebout T.J., Bredenbeek P.J., Carrion R. Jr., Brasky K., Patterson J., et al. Yellow fever 17D-vectored vaccines expressing Lassa virus GP1 and GP2 glycoproteins provide protection against fatal disease in guinea pigs. *Vaccine*. 2011; 29(6): 1248–57. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.11.079>.
  46. Busch E., Kubon K.D., Mayer J.K.M., Pidelaserra-Martí G., Albert J., Hoyler B., et al. Measles vaccines designed for enhanced CD8+ T cell activation. *Viruses*. 2020; 12(2): 242. <https://doi.org/10.3390/v12020242>.
  47. A Trial to Evaluate the Optimal Dose of MV-LASV. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04055454> (accessed December 15, 2020).
  48. Crystal R.G. Adenovirus: The first effective in vivo gene delivery vector. *Hum. Gene Ther.* 2014; 25(1): 3–11. <https://doi.org/10.1089/hum.2013.2527>.
  49. Maruyama J., Mateer E.J., Manning J.T., Sattler R., Seregin A.V., Bukreyeva N., et al. Adenoviral vector-based vaccine is fully protective against lethal Lassa fever challenge in Hartley guinea pigs. *Vaccine*. 2019; 37(45): 6824–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.09.030>.
  50. Lukashevich I.S., Patterson J., Carrion R., Moshkoff D., Ticer A., Zapata J., et al. A live attenuated vaccine for Lassa fever made by reassortment of Lassa and Mopeia viruses. *J. Virol.* 2005; 79(22): 13934–42. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.22.13934-13942.2005>.
  51. Carrion R. Jr., Patterson J.L., Johnson C., Gonzales M., Moreira C.R., Ticer A., et al. A ML29 reassortant virus protects guinea pigs against a distantly related Nigerian strain of Lassa virus and can provide sterilizing immunity. *Vaccine*. 2007; 25(20): 4093–102. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.02.038>.
  52. Zapata J.C., Poonia B., Bryant J., Davis H., Ateh E., George L., et al. An attenuated Lassa vaccine in SIV-infected rhesus macaques does not persist or cause arenavirus disease but does elicit Lassa virus-specific immunity. *Virol. J.* 2013; 10: 52. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-10-52>.
  53. Zhang L., Marriott K.A., Harnish D.G., Aronson J.F. Reassortant analysis of guinea pig virulence of Pichinde virus variants. *Virol. J.* 2001; 290(1): 30–8. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1127>.

54. Lukashovich I.S. Generation of reassortants between African arenaviruses. *Virology*. 1992; 188(2): 600–5. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(92\)90514-p](https://doi.org/10.1016/0042-6822(92)90514-p).
55. Riviere Y., Ahmed R., Southern P.J., Buchmeier M.J., Oldstone M.B. Genetic mapping of lymphocytic choriomeningitis virus pathogenicity: virulence in guinea pigs is associated with the L RNA segment. *J. Virol.* 1985; 55(3): 704–9. <https://doi.org/10.1128/jvi.55.3.704-709.1985>.
56. Gary E.N., Weiner D.B. DNA vaccines: prime time is now. *Curr. Opin. Immunol.* 2020; 65: 21–7. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2020.01.006>.
57. Smith T.R.F., Patel A., Ramos S., Elwood D., Zhu X., Yan J., et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 2601. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16505-0>.
58. Cashman K., Broderick K.E., Wilkinson E.R., Shaia C.I., Bell T.M., Shurtleff A.C., et al. Enhanced efficacy of a codon-optimized DNA vaccine encoding the glycoprotein precursor gene of Lassa virus in a Guinea pig disease model when delivered by dermal electroporation. *Vaccines (Basel)*. 2013; 1(3): 262–77. <https://doi.org/10.3390/vaccines1030262>.
59. Cashman K.A., Wilkinson E.R., Shaia C.I., Facemire P.R., Bell T.M., Bearss J.J., et al. A DNA vaccine delivered by dermal electroporation fully protects cynomolgus macaques against Lassa fever. *Hum. Vaccines Immunother.* 2017; 13(12): 2902–11. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1356500>.
60. Safety, Tolerability and Immunogenicity of INO-4800 in Healthy Volunteers. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04336410> (accessed December 15, 2020).
61. Dose-ranging Study: Safety, Tolerability and Immunogenicity of INO-4500 in Healthy Volunteers in Ghana; 2019. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04093076> (accessed December 15, 2020).
62. McCormick J.B., Mitchell S.W., Kiley M.P., Ruo S., Fisher-Hoch S.P. Inactivated Lassa virus elicits a non protective immune response in rhesus monkeys. *J. Med. Virol.* 1992; 37(1): 1–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890370102>.
63. Cai Y., Iwasaki M., Motooka D., Liu D.X., Yu S., Cooper K., et al. A lassa virus live-attenuated vaccine candidate based on rearrangement of the intergenic region. *mBio*. 2020; 11(2): e00186–20. <https://doi.org/10.1128/mbio.00186-20>.
64. Cai Y., Ye C., Cheng B., Nogales A., Iwasaki M., Yu S., et al. A lassa fever live-attenuated vaccine based on codon deoptimization of the viral glycoprotein gene. *mBio*. 2020; 11(1): e00039–20. <https://doi.org/10.1128/mbio.00039-20>.
65. Kainulainen M.H., Spengler J.R., Welch S.R., Coleman-McCray J.D., Harmon J.R., Klens J.D., et al. Use of a scalable replicon-particle vaccine to protect against lethal Lassa virus infection in the Guinea pig model. *J. Infect. Dis.* 2019; 217(12): 1957–66. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy123>.
66. Pushko P., Geisbert J., Parker M., Jahrling P., Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect Guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75(23): 11677–85. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.23.11677-11685.2001>.