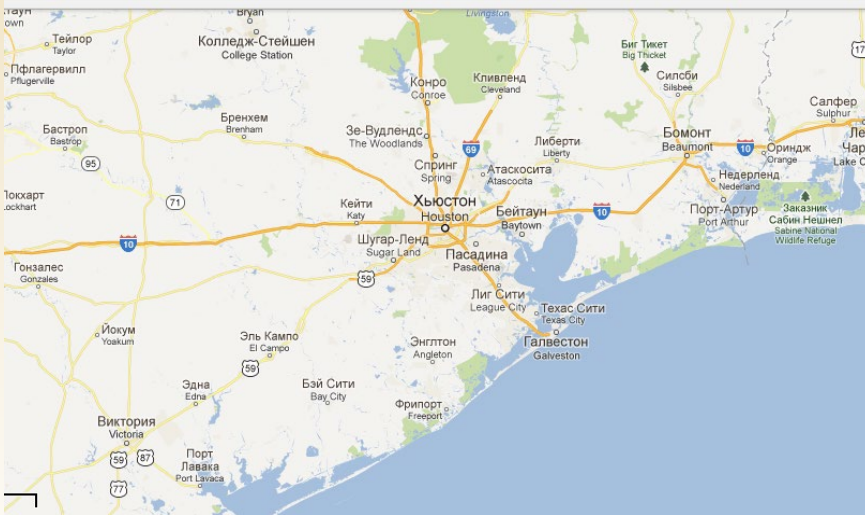


Чумные Вакцины Современные Тенденции

Владимир Л. Мотин, Ph.D., Профессор
Университет Техаса, Факультет Медицины,
г. Галвестон

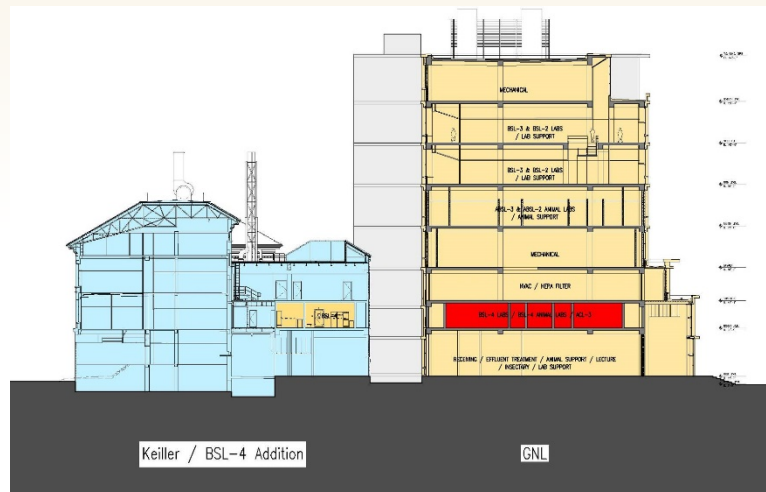
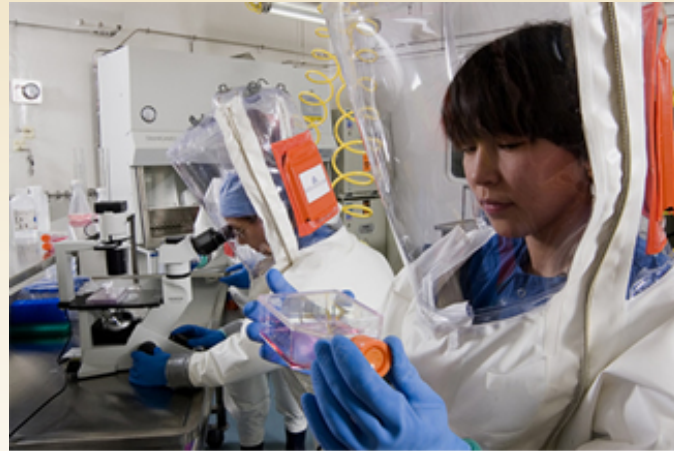
Алматы, 3 октября, 2019

Университет Техаса, Факультет Медицины, г. Галвестон, Техас



Бернардо де Галвес
испанский генерал-
губернатор

Национальная Галвестонская Лаборатория



По прежнему ли чума представляет угрозу?

Из доклада Всемирной Организации Здравоохранения (2018)

За последние годы в трех странах зарегистрировано наибольшее количество случаев человеческой чумы: Демократическая Республика Конго, Мадагаскар и Перу

2010 – 2015 в мире: 3,248 случаев чумы у людей, включая 584 смертельных исходов

2017 (Мадагаскар): 2,348 подтвержденных, вероятных и подозрительных на чуму случаев (76.3% легочная форма), включая 202 смертельных исходов

Разработка Предварительных Рекомендаций по Чумным Вакцинам

Семинар ВОЗ “Эффективность испытаний чумных вакцин: критерии, планирование испытаний, селекция места испытаний” Париж, Франция, 23 апреля, 2018

ВОЗ не рекомендует иммунизацию вакцинами предыдущего поколения (убитая цельно-клеточная или живая на основе EV), за исключением вакцинации персонала из группы с высоким риском заражения.

В настоящее время в разработке находятся 17 современных вакцинных кандидатов созданных частными или государственными лабораториями.

Субъединичные Чумные Вакцины

Капсулярный антиген F1

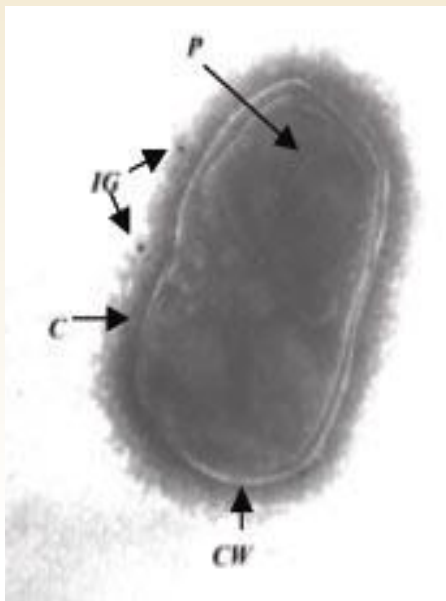
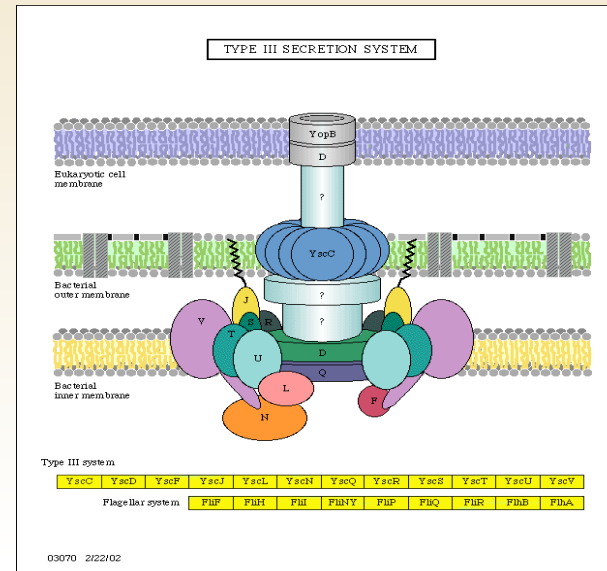


Фото любезно предоставлено
Д-ром А.П. Анисимовым

LcrV модуляторный белок Секретции 3 Типа (T3SS)



LcrV- секретлируемый белок, который также находится на конце иглы молекулярного шприца для инъекции факторов вирулентности в клетку хозяина

Суъединичные Вакцины на Основе Антигенов F1/ LcrV

Рекомбинантные антигены F1 + LcrV в смеси или в виде гибридного белка F1-LcrV.

Протекция обеспечивается в основном антителами.

Используются различные адъюванты (гидроксид алюминия, белок флагеллин, новый лиганд TLR4 молекула BECC438, другие)

Тестированы на многих животных моделях: мыши, крысы, морские свинки, кролики, нечеловекообразные приматы.

Проблемы: не защищают на модели африканских зеленых мартышек от легочной чумы в противоположность модели на *Synotomolgous* макаках. Вариабельный иммунный ответ к F1/LcrV вакцинам у людей.

Испытания данных вакцин находятся в наиболее завершенной стадии: закончена фаза 2 клинических испытаний на людях.

Включение других антигенов в основном с целью усилить Т-клеточный ответ: YscF-F1-LcrV; F1-LcrV-HSP70 *M.tb*; YopE-LcrV

Гетерологичные Бактериальные Векторные Системы

**Продукция F1, LcrV, и других антигенов в бактериальном носителе.
Оральная иммунизация.**

Salmonella typhimurium продуцирующая F1, LcrV, (and Psn): полная защита мышей от подкожного заражения, и частичная от интраназального.

Пробиотики *Lactobacillus plantarum* или *Lactococcus lactis* secreting LcrV, без продукции F1. В начальной стадии оценки.

Бактерия нормальной микрофлоры кишечника человека *Bacteroides thetaiotaomicron* продуцирующая F1 and LcrV: стабильные везикулы внешней мембраны (OMV)- нано частицы (20-200 нм) введенные животному интраназально. Сильный антительный, клеточный и местный иммунитет на слизистых оболочках у нечеловекообразных приматов. Исследования протективных свойств не проводилось (April 2019).

Бактерии *Yersinia pseudotuberculosis* продуцирующие F1 and LcrV: сильный антительный, клеточный и Th17 иммунитет, защита мышей от легочной чумы. Необходимо тестирование на других модельных животных, а также оценка безопасности вакцины.

Рациональная аттенюация *Y. pestis*

Живая чумная вакцина: генетическое делетирование определенных генов вирулентности. Похожа на живую вакцину EV, обеспечивающую ответ на многие антигены с выраженным Т-клеточным иммунитетом.

Липоротейн Брауна Lpp + локус прикрепления и инвазии Ail + ацетил трансфераза MsbB, высокий уровень протекции у мышей и крыс на модели бубонной и легочной чумы.

Липопротеин NlpD обеспечивает стабильность мембраны, вовлечен в транспорт железа. Мутант обеспечивал протекцию на мышах лучше, чем живая вакцина EV, но был неэффективен на модели морских свинок.

Другие мутанты со сниженной вирулентностью: *yopH*; ауксотрофы по ароматическому метаболизму *aroA* и биосинтезу гуанина *guaAB*, глобальному регулятору циклической АМФ- рецепторному белку Crp, двух-компонентной системе SmpB-SsrA, Dam метилазе и т.д.

Вирусные Векторные Системы

Продукция F1 и/или LcrV в вирусном носителе

Человеческий аденовирус типа 5 с дефектом репликации (Ad5): совместный проект лабораторий Мотина и Чопры в Техасском Университете. Продукция белков YscF, F1 и LcrV через оптимизацию кодонов. Оценка протективных свойств на мышах, крысах и нечеловекообразных приматах при подкожном, интраназальном и аэрозольном заражениях. Защита при однократном введении препарата или в гетерологичной системе праймирования-бустирования с субъединичной вакциной. **Проблема:** наличие у людей антител к аденовирусам, которая может быть частично решена интраназальной вакцинацией или использованием аденовирусов нечеловеческой природы.

Вирус везикулярного стоматита (VSV)- природный патоген домашнего скота, инфекции человека редки (ранее существующий иммунитет не является проблемой). VSV-LcrV рекомбинантный вирус, интраназальное введение. Защита слабая и требовала бустирования месяцем позже. Возможно конструкция нуждается в улучшении, например, сделав LcrV секретиремым.

Бактериофаг T4 *E. coli*: внедрение F1-V в наночастицу фага в район локализации малого белка внешнего капсида Soc. 100% защита мышей и крыс от легочной чумы. Этот же подход был применен для приготовления бивалентной вакцины против чумы и сибирской язвы.

Рекомбинантный вирус оспы енотов продуцирующий F1 и уменьшенную версию LcrV. Вводится в состав приманки для полевой вакцинации луговых собачек на территориях, эндемичных по чуме.

Вакцины на основе трансгенных растений

Продукция F1 и/или LcrV в различных растениях

Съедобные вакцины: F1-V продукция в томатах, мыши вакцинированы подкожно F1-V субъединичной вакциной и бустированы орально высушенными и растертыми в порошок томатами трансгенными по F1-V в сочетании с адъювантом, усиливающий местный иммунитет. Некоторая степень протекции.

Вирус табачной мозаики: продукция LcrV и F1 в хлоропластах листьев табака. Похожая стратегия вакцинации- сначала чистыми белковыми антигенами и потом бустирование орально грубым экстрактом трансгенного табака. Частичное выживание мышей при аэрозольном заражении.

Создание эффективной системы низкой стоимости для массовой продукции вакцинных белков.

ДНК Вакцины

Плаزمида, экспрессирующая LcrV, вводимая внутримышечно, внутрикожно или посредством генного пистолета в форме частиц, покрытых ДНК. Низкие сывороточные титры IgG, слабый уровень протекции мышей после подкожного заражения. Улучшенная протекция в комбинации с субъединичной вакциной.

ДНК вакцина на основе F1 антигена требовала бустирования очищенным белком F1. Не обеспечивала протекцию от аэрозольного заражения мышей, но защищала от подкожного заражения.

ДНК вакцина F1 и LcrV с совместной экспрессией цитокина IL-12 в качестве молекулярного адъюванта. Требовала бустирования с очищенным белковым антигеном.

ДНК вакцина экспрессирующая антигены чумного микроба YopB, YopD, YpkA, YscF, and Pla. Слабая или нулевая протекция.

Сравнительные Характеристики Вакцинных Кандидатов

Субъединичные вакцины

Приемлимый профиль безопасности.

Необходимо несколько доз для обеспечения защитного иммунитета

Протекция в основном обеспечена антителами.

Основаны только на нескольких антигенах, где ключевую роль играют компоненты F1 и LcrV.

Рассматриваются для превентивного применения для защиты популяции.

Вакцины на основе бактериальных и вирусных носителей

Обычно требуется только однократная доза иммунизации.

Позволяют создать иммунитет за короткий срок (примерно 10 дней после вакцинации).

Обеспечивают местный, гуморальный и клеточный иммунитет.

Пригодны для создания иммунитета в качестве быстрой меры реагирования.

Потенциальные проблемы с безопасностью для некоторых вакцин.

Иммунные Корреляции Протекции при Вакцинации Людей

Иммунный маркер протекции против чумы не установлен.

Иммунологические суррогаты протекции: местный иммунитет на слизистых оболочках для защиты от легочной чумы, системный гуморальный и клеточный иммунитет.

Пассивная защита мышей человеческой сывороткой после вакцинации.

Способность антител блокировать инъекцию факторов вирулентности посредством T3SS (для субъединичных вакцин на основе LcrV)

Уровень местного (Th17, sIgA), антительного (панель антигенов) и клеточного иммунитета (Т-клеточная пролиферация и цитокиновый ответ)

Conclusions

Нужно ли иметь более одной вакцины для превентивного применения для защиты популяции и для создания иммунитета в качестве быстрой меры реагирования?

Стратегия, при которой первоначальная вакцинация будет проводиться одним типом вакцины (например живой чумной), а бустирование- другим типом вакцины (например, субъединичной).

Необходимость увеличить длительность иммунитета.
Эффективность вакцины EB, используемой в настоящее время, менее одного года.