

УДК 579.61,604.6:615.371

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТУБЕРКУЛЕЗА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ (ОБЗОР)

© 2020 г. Н. И. Надолинская¹ *, Д. С. Карпов², А. В. Гончаренко¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
“Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия
*e-mail: nioriss@gmail.com

Поступила в редакцию 16.03.2020 г.

После доработки 13.04.2020 г.

Принята к публикации 22.04.2020 г.

Несмотря на усилия мирового медицинского и научного сообщества, туберкулез остается основной причиной смерти от инфекционных заболеваний. Ожидания положительного эффекта от применения разработанных новых противотуберкулезных препаратов не оправдались, и внимание исследователей в значительной степени обращено на создание новых микобактериальных штаммов для вакцинопрофилактики туберкулеза. Предлагаемый обзор содержит современную информацию о существующих вакцинных штаммах и разработке новых генно-инженерных штаммов для профилактики туберкулеза, а также для профилактики и лечения других заболеваний. В обзор включена актуальная информация о корреляции между вакцинацией БЦЖ и частотой и тяжестью протекания COVID-19.

Ключевые слова: туберкулез, БЦЖ, вакцина, рекомбинантная вакцина

DOI: 10.31857/S0555109920050128

Туберкулез – инфекционное заболевание, вызываемое *Mycobacterium tuberculosis* (МТБ), остается основной причиной смерти от инфекционных заболеваний во многих странах [1]. На сегодняшний день лечение туберкулеза представляет собой комбинированную антибиотикотерапию в течение 6–9 мес., вызывающую значительные побочные эффекты. В настоящее время стратегия Всемирной организации здравоохранения по борьбе с туберкулезом направлена на усиление профилактики заболевания [2] и по всему миру ведется активная работа по разработке улучшенных противотуберкулезных вакцин, некоторые из которых вступили в стадию клинических исследований.

Бацилла Кальмета–Герена (БЦЖ), *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) на сегодняшний день остается единственной вакциной против туберкулеза, успешно защищает от туберкулеза (ТБ) детей, но обеспечивает только частичную защиту от респираторных форм ТБ подростков и взрослых. Альберт Кальмет и Камиль Герен получили БЦЖ от возбудителя туберкулеза крупного рогатого скота *Mycobacterium bovis* путем непрерывного пассирования в течение нескольких лет, что привело к ослаблению штамма. БЦЖ применяется для вакцинации с 1921 г. и приводит также к уменьшению общей детской смертности за счет неспеци-

фического иммуномодулирующего действия микобактериальной вакцинации. Хотя БЦЖ внесла значительный вклад в профилактику ТБ [3], потеря нескольких доминирующих антигенов и ключевых молекулярных признаков патогенных микобактерий может объяснить ее ограничение в профилактике туберкулеза взрослого населения. Предлагаемый обзор содержит современные данные о существующих штаммах БЦЖ, о разработке генетически модифицированных вакцинных штаммов, возможно, способных заменить БЦЖ, оптимальном пути доставки вакцины в организм, а также в нем обсуждаются возможности использования БЦЖ для борьбы с другими заболеваниями.

Штаммы БЦЖ и их генеалогия. Основное отличие БЦЖ от исходного штамма *M. bovis* – отсутствие нескольких сегментов генома, в частности, так называемого региона различия (region of difference 1, RD1) [4]. Он кодирует иммунодоминантные антигены, такие как ESAT6, CFP10 и уникальную микобактериальную систему секреции ESX-1 типа II (T7SS) [5, 6]. Потеря ESX-1 привела к утрате способности БЦЖ проникать из фагосомы в цитозоль, что явилось мощным фактором аттенуации штамма.

В настоящее время выделяется довольно большое количество штаммов БЦЖ, что обусловлено особенностями условий поддержания линий в

разных странах [7]. Интересно отметить, что первый дочерний штамм БЦЖ, полученный от исходной культуры, был зарегистрирован в России в 1940 г. [8].

Бер с соавт. [9] исследовали генеалогию распространения БЦЖ и объединили штаммы в группы на основе информации о количестве копий гена IS6110 (инсерционный элемент, характерный только для группы микобактерий, вызывающих туберкулез) и наличию или отсутствию гена *mp164* (консервативный антиген МТБ, используемый для диагностики). Исследование обнаружило синонимичные штаммы под разными названиями и было проведено их объединение для упрощения типирования [10].

Говоря о генетических особенностях штаммов БЦЖ, интересно рассмотреть один из них более подробно. При изучении штамма VCG-Prague была обнаружена мутация гена *phoP* в виде однонуклеотидной вставки, которая приводила к разрушению С-концевого ДНК-связывающего домена [11, 12]. Эта мутация специфична для VCG-Prague и не обнаруживается в других штаммах БЦЖ [13]. PhoP является регулятором ответа двухкомпонентной системы PhoP-PhoR, которая позитивно регулирует более 40 генов в МТБ, включая два важных протективных антигена (Ag85A, RPE18), которые используются для конструирования субъединичных вакцин [14, 15]. Таким образом, возникло предположение, что низкая иммуногенность VCG-Prague может быть результатом мутации *phoP*. Показано, что комплементация мутации аллелем *M. bovis phoP* действительно восстанавливает иммуногенность VCG-Prague. Также сверхэкспрессия аллеля *M. bovis phoP-phoR* в VCG-Japan с полноценной копией *phoP-phoR* еще более повышает иммуногенность и защитную эффективность этого вакцинного штамма. Вакцинация мышей C57BL/6 рекомбинантным штаммом rVCG-Japan/PhoPR индуцировала более высокие уровни продукции интерферона- γ (IFN- γ) CD4⁺ Т-клетками, чем при использовании VCG-Japan. Морские свинки, вакцинированные rVCG-Japan/PhoPR, были лучше защищены от заражения МТБ, чем те, которые иммунизированы VCG-Japan, демонстрируя значительно более длительное время выживания, сниженные бактериальные нагрузки и менее тяжелую патологию. В результате этих исследований идентифицировали генетическую модификацию, которая может применяться для создания новых рекомбинантных вакцин БЦЖ.

Способы защиты микобактерий от иммунной системы инфицированного хозяина. После проникновения в организм клетки МТБ сталкиваются с первым эшелом защиты в виде фагоцитирующих клеток. Фагоцитированная бактерия подвергается кислотному стрессу, воздействию активных

форм кислорода и азота (ROS и RNS), гидролитических ферментов и катионных антимикробных пептидов. Низкий pH внутри созревающей фагосомы активирует ферменты, которые разлагают бактериальные липиды и белки [16, 17]. Однако микобактерии выработали различные пути адаптации к бактерицидной среде созревающей фагосомы. В частности, они уходят от действия бактерицидных механизмов, блокируя протонный “насос”, подкисляющий содержимое фагосом, и ингибируют слияние фагосом и лизосом [18, 19]. С понижением pH МТБ может изменить свой метаболизм и использовать вместо цикла Кребса глиоксилатный путь, что уменьшает синтез НАДН и высвобождение CO₂. Таким образом, дополнительный углерод затем может быть использован для синтеза липидов или других метаболитов для дальнейшего снижения преодоления стресса [20]. Так, согласно исследованиям, синтез гиперфосфорилированных гуаниновых нуклеотидов (p)ppGpp необходим для выживания микобактерий в неблагоприятных условиях, включая и окислительно-восстановительный стресс [21]. Другой механизм ответа на закисление среды – выработка аммиака для повышения pH. МТБ используют для этого оперон *ompATb* (необходим для функционирования при пониженном pH), источником аммиака служит аспарагин [22]. Уреазный оперон также вносит вклад в защелачивание среды [23]. Следует добавить, что микобактериальная уреаза участвует в предотвращении нормальной экспрессии молекул МНС класса II, которые участвуют в связывании антигенов и презентации их Т-клеткам на клеточной поверхности [24]. Кроме того, в ответе на окислительный стресс МТБ также задействует эрготионеиновые, тиоловые и тиоредоксиновые системы, и описанную выше систему PhoP-PhoR [25].

Блокировав образование фаголизосомы, микобактерия разрушает мембрану фагосомы с помощью системы секреции ESX-1, что позволяет туберкулезным антигенам и самим бактериям выходить в цитозоль [19, 26]. Напротив, БЦЖ не имеет ESX-1 и остается внутри фагосомы хозяина, поэтому антигены и бактериальная ДНК не попадают в цитозоль [5, 6, 27]. Исследования показали, что иммунный ответ инфицированных микобактериями макрофагов характеризуется сниженной экспрессией генов МНС класса II и других генов, индуцируемых IFN- γ . Одним из механизмов подавления экспрессии МНС II является специфическое ингибирование путем деацетилирования гистонов, что приводит к снижению ответов CD4⁺ Т-клеток [28, 29]. CD4⁺ Т-клетки дифференцируются в Т-клетки центральной памяти (T_{CM}), которые, в свою очередь, дифференцируются в клетки эффекторной памяти T_{EM}, эффекторные клетки Th1 или Th17, далее они мигрируют и осу-

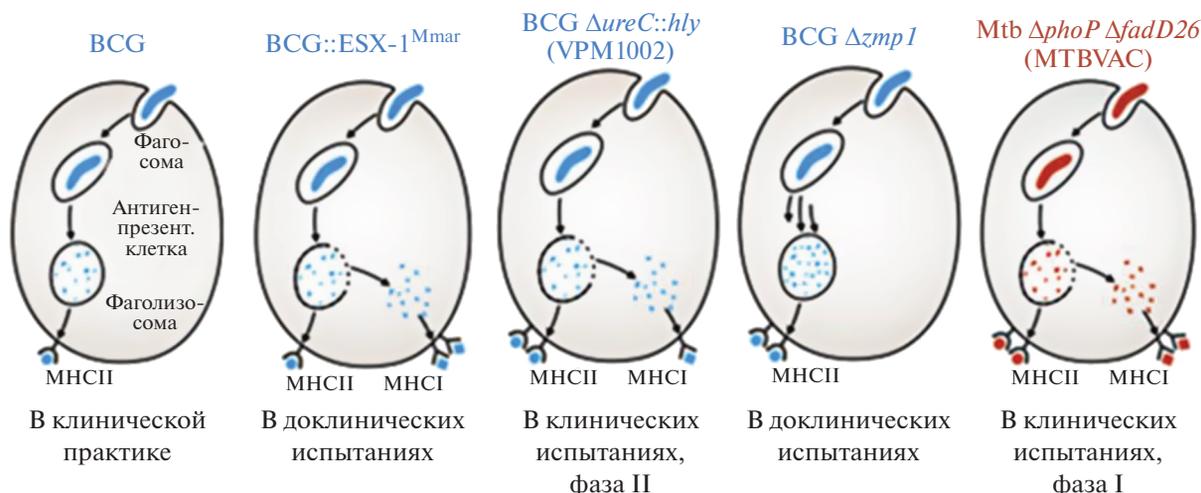


Рис. 1. Кандидатные вакцинные штаммы с проницаемой фагосомой [37].

шествовать свои эффекторные функции в инфицированных тканях. Когда $CD4^+$ Т-клетки прибывают в место инфекции, они сталкиваются с агрегатами МТБ-содержащих макрофагов и других иммунных клеток и вместе образуют плотную клеточную структуру, называемую гранулемой. $CD4^+$ Т-клетки секретируют цитокины, которые активируют инфицированные макрофаги для контроля роста бактерий и привлечения большего количества иммунных клеток к грануле [30]. Присутствие микобактериальной ДНК в цитозоле приводит к активации инфламмосом NLRP3 и AIM-2, высвобождению интерферонов и увеличению аутофагии и апоптоза [20, 31, 32], что в конечном итоге может привести к лучшей индукции ответов Т-клеток [33].

Во время развития заболевания увеличивается количество МТБ-специфичных $CD8^+$ Т-клеток, но их роль в защитном иммунитете не ясна. Было показано, что истощение $CD8^+$ клеток приводит к снижению протективности вакцинации БЦЖ [34]. В то же время даже высокий уровень индуцированных вакцинацией $CD8^+$ -клеток не влияет на пролиферацию МТБ и не приводит к распознаванию МТБ-инфицированных макрофагов [35].

Роль гуморального иммунитета при инфекции МТБ остается спорной, однако показано, что индивидуумы с латентной туберкулезной инфекцией и активным заболеванием имеют различные МТБ-специфические гуморальные ответы и обладают различными паттернами гликозилирования антител [36].

Пути повышения протективности БЦЖ. BCG::ESX-1. Несколько кандидатов в рекомбинантные вакцины БЦЖ были сконструированы так, чтобы обеспечить разрушение мембраны фагосомы клетками вакцинного штамма (рис. 1) [37].

Как обсуждалось выше, у штамма БЦЖ утрачены гены, необходимые для секреции типа VII (T7S) ESX-1, предназначенные для секреции белков, играющих ключевую роль во взаимодействиях хозяина с патогеном [38, 39].

Основная система ESX-1 состоит из АТФазы EssB-D, которые образуют трансмембранную структуру в виде канала. Цитозольные компоненты системы ESX-1 представлены АТФазой EssA, шаперонами EspD-H и секретируемыми субстратными белками EsxA-B, PE35-PPE68, EspA-C и EspE. Другие важные эффекторы, которые секретируются этой системой – антигенная мишень раннего секретирования 6 кДа (early secreted antigenic target of 6 kDa, ESAT-6) и белок культурального фильтрата 10 кДа (culture filtrate protein of 10 kDa, CFP-10). Белки секретируются в виде гетеродимера, связываясь с ядерными компонентами системы ESX-1 [40], что вызывает каскад неспецифических иммунных реакций [41–43]: активацию AIM-2 и NLRP3, повышение секреции интерлейкина-1b (IL-1b) и/или IL-18 [30, 31, 44] и активацию циклической синтазы GMP-AMP (сGas), стимулятора генов интерферона (STING) и TANK-связывающей киназы 1 (TBK1). Последний сигнальный каскад приводит к образованию интерферонов типа I (IFN) [17]. Помимо неспецифической иммунной активации, секретируемые эффекторы ESX-1 также индуцируют специфические реакции Th1-клеток с сильным защитным потенциалом [45].

Посредством гетерологичной экспрессии области *esx-1* *Mycobacterium marinum* в БЦЖ была создана рекомбинантная БЦЖ, обладающая ESX-1-активностью (BCG::ESX-1^{Mmar}), которая индуцирует цепочку сGas/STING/TBK1/IRF-3/интерферон I и усиливает воспалительную активность AIM2 и NLRP3, что стимулирует образование эффектор-

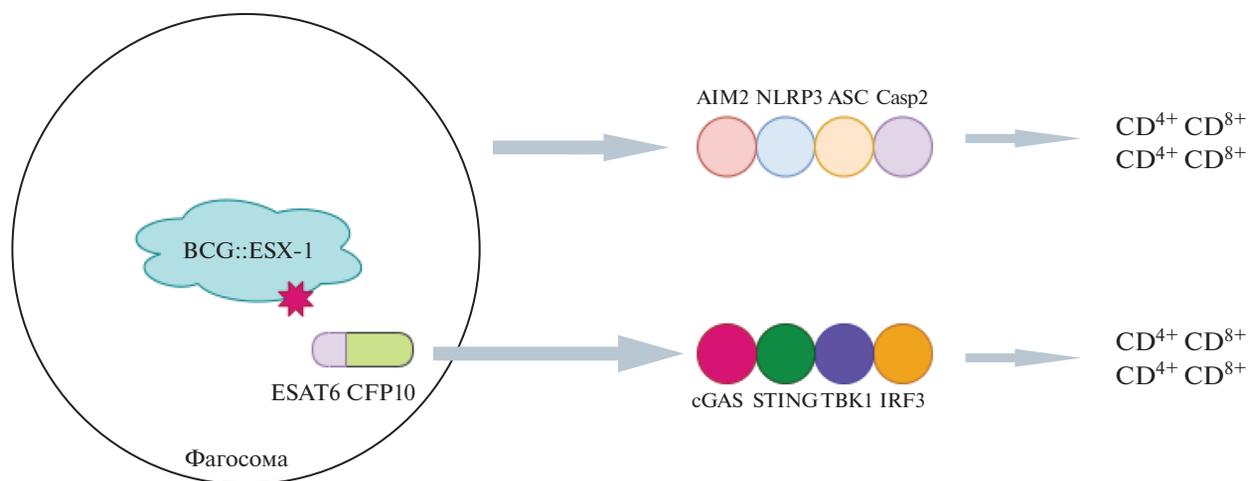


Рис. 2. Схематичный механизм повышенной защиты BCG::ESX-1^{Mmar} [46].

ных CD8⁺ и CD4⁺ Th1-клеток (рис. 2) [46]. Важно отметить, что штамм BCG::ESX-1^{Mmar} характеризовался низкой вирулентностью и обеспечивал более эффективную защиту по сравнению с исходным штаммом БЦЖ при заражении высоковирулентным МТБ.

BCG *ΔureC::hly* (VPM1002) и производные. VPM1002 представляет собой рекомбинантный штамм гBCG *ΔureC::hly*, в котором ген уреазы С был заменен геном *hly*, кодирующим листериолизин О (LLO), из *Listeria monocytogenes* [47]. Уреаза С препятствует закислению фагосом, содержащих микобактерии, путем образования аммиака, и тем самым ингибирует созревание фаголизосом и способствует выживанию микобактерий внутри макрофагов [48, 49]. Уменьшение продукции уреазы С приводит к подкислению фагосом, что способствует образованию фаголизосом [50]. LLO представляет собой холестеринзависимый цитолизин, который образует трансмембранные поры в фаголизосоме, позволяя *L. monocytogenes* выйти в цитозоль [50, 51]. Его экспрессия в VPM1002 приводила к высвобождению антигенов и бактериальной ДНК в цитозоль, вызывая аутофагию, активацию воспаления и апоптоз. VPM1002 продемонстрировал существенное повышение иммуногенности, эффективности и безопасности по сравнению с БЦЖ в доклинических исследованиях, успешно прошел клинические испытания I и II фаз. Продолжаются клинические испытания II/III фазы в Индии. Вакцина прошла I фазу клинических испытаний в Германии и Южной Африке, продемонстрировав ее безопасность и иммуногенность у молодых людей. Она также была успешно опробована в фазе IIa рандомизированного клинического исследования на здоровых новорожденных в Южной Африке и в настоящее время проходит фазу IIb исследования на ВИЧ-инфицированных новорожденных [52].

Производные второго поколения гBCG *ΔureC::hly* секретируют цитокины для усиления иммуногенности [53] и ауксотрофны по витамину B₆ [54]. Кроме того, получен штамм гBCG *ΔureC::hly ΔnuoG*, deletированный по гену антиапоптотической вирулентности *nuoG*, предотвращающего апоптоз инфицированных клеток [55]. Для мышей вакцинация гBCG *ΔureC::hly ΔnuoG* оказалась более безопасной, чем вакцинация немодифицированной БЦЖ, и более протективной по сравнению с гBCG *ΔureC::hly*, значительно снижала МТБ-нагрузку в легких мышей, уменьшала патологические проявления в легких и усиливала иммунные реакции. Транскриптомный анализ дренирующих лимфатических узлов после вакцинации либо гBCG *ΔureC::hly*, либо гBCG *ΔureC::hly ΔnuoG* продемонстрировал более раннюю и более сильную индукцию иммунных ответов, чем при использовании немодифицированной БЦЖ. Таким образом, гBCG *ΔureC::hly ΔnuoG* является многообещающим кандидатом на вакцину с улучшенной эффективностью и безопасностью [55].

БЦЖ, экспрессирующая перфринголизин О. Недостатком гBCG *ΔureC::hly* является активность LLO в узком диапазоне pH. Был создан штамм БЦЖ, экспрессирующий перфринголизин О (Pfo) – цитолизин *Clostridium perfringens* [56]. Чтобы уменьшить его цитотоксический эффект, использовали мутантную форму этого белка, содержащую замену G137Q (PfoA_{G137Q}). Мутация значительно уменьшила период полураспада белка, что привело к устранению его цитотоксичности. Для полученного штамма гBCG, обозначенного AERAS-401 (BCG₁₃₃₁ *ΔureC::ΩpfoA_{G137Q}*), было подтверждено отсутствие активности уреазы. Секретция биологически активного гемолизина была показана с помощью лизиса эритроцитов овцы в присутствии супернатанта рекомбинантного штамма. Кроме

того, было показано, что AERAS-401 оказался менее вирулентным для мышей с иммунодефицитом по сравнению с родительским штаммом БЦЖ.

BCG Δ zmp1. Было установлено, что удаление гена металлопротеазы цинка *zmp1* ослабляет МТБ и способствует усилению неспецифического иммунитета, воспалительных и IL-1-зависимых иммунных механизмов при инфицировании мутантным штаммом. Аналогичная делеция была получена у БЦЖ, и эксперименты по иммунизации *in vitro* и *in vivo* на мышцах и морских свинках показали, что делеционный мутант BCG Δ zmp1 является более иммуногенным, и также усиливает презентацию антигенов в составе МНСII [57]. Кроме того, один из ингибиторов *Zmp1* был способен снижать выживаемость МТБ в первичных макрофагах человека [58]. Таким образом, BCG Δ zmp1 ожидает дальнейшей оценки и клинических испытаний.

rBCG-SOCS1DN. Среди разнообразных механизмов ухода МТБ от иммунной системы хозяина – индукция экспрессии супрессора цитокинов SOCS1 клетками хозяина, что приводит к подавлению передачи сигналов цитокинов и нарушению передачи сигналов JAK/STAT, участвующих в врожденном иммунитете и последующем адаптивном иммунитете. Реализация этого механизма вакцинным штаммом БЦЖ может быть причиной недостаточной протективности вакцины. Был получен штамм БЦЖ (rBCG-SOCS1DN), секретирующий доминантно-негативный мутантный вариант SOCS1. Показано, что иммунизация rBCG-SOCS1DN усиливала активацию дендритных клеток костного мозга и активацию Т-клеток по сравнению с клетками контрольного штамма БЦЖ, повышала уровень продукции цитокинов IFN- γ , TNF- α и IL-6. Кроме того, у мышей, иммунизированных rBCG-SOCS1DN, было отмечено значительное снижение количества КОЕ МТБ в легких и селезенке по сравнению с таковыми у контрольных мышей, иммунизированных БЦЖ, после инфицирования высокопатогенным штаммом МТБ. Из полученных данных вытекает новая концепция рекомбинантной вакцины БЦЖ как инструмента для иммуномодулирования цитокинов в клетках-хозяевах [59].

Вакцины на основе МТБ. Осуществляются попытки получить вакцинный штамм из МТБ путем его аттенуации с помощью удаления RD1 локуса в результате нарушения синтеза кофактора (*panCD*) и биосинтеза аминокислот (*leuD*, *lysA*) [60]. Исследованные штаммы с различными комбинациями этих мутаций показали протективность и иммуногенность в моделях с мышами, морскими свинками и приматами.

Наиболее успешным оказался вакцинный штамм МТВVAC – МТВ Δ phoP Δ fadD26, производное штамма МТБ МТ103. Он был сконструирован пу-

тем создания двух независимых стабильных генетических делеций в генах *phoP* и *fadD26*, кодирующих два основных фактора вирулентности [61]. Уже упоминавшийся ген *phoP*, который кодирует фактор транскрипции двухкомпонентной системы вирулентности PhoPR, и ген *fadD26*, участвующий в биосинтезе и экспорте димикоцерозатов фтиоцерола (PDIM), – основные связанные с вирулентностью липидов клеточной стенки МТБ [62, 63]. В доклинических оценках МТВ Δ phoP Δ fadD26 имел сравнимую безопасность с БЦЖ, но лучшую иммуногенность и защитную эффективность [61, 64].

На настоящий момент МТВVAC является единственной живой аттенуированной вакциной на основе человеческого патогена, которая после почти 20 лет исследований успешно прошла клинические испытания в качестве профилактической вакцины у новорожденных (вместо БЦЖ) и в качестве профилактической вакцины у подростков и взрослых (получивших прививку БЦЖ при рождении). МТВVAC сохраняет большинство Т-клеточных эпитопов, описанных для ТБ, включая основные иммунодоминантные антигены ESAT-6 и CFP-10 RD1. Исследования показали, что МТВVAC-индуцированный иммунитет к ESAT-6 и CFP-10 коррелирует с лучшей протективностью по сравнению с БЦЖ [65].

Сравнение БЦЖ и МТВVAC показало, что ассоциированный с МТВVAC иммунитет длится дольше, чем иммунитет БЦЖ, когда вводится в виде однократной дозы [66].

Пути доставки БЦЖ в организм. В настоящее время вакцинация БЦЖ производится подкожно, однако существуют и другие способы [67]: через слизистые оболочки (перорально, интраназально, аэрозольно) или внутривенно. Ниже будет рассмотрено возможное влияние выбора пути вакцинации на ее эффективность.

Последние исследования показывают возрождение интереса к пероральному введению БЦЖ, в свое время от него отказались в пользу подкожного в связи с загрязнением вакцины туберкулезом в Любеке. Однако, некоторые данные демонстрируют повышение эффективности защиты, если вместе с традиционной подкожной вакцинацией использовать пероральную [68, 69].

Другой метод доставки БЦЖ – интраназальный. Данный вариант введения БЦЖ в организм продемонстрировал достаточную эффективность в исследовании на мышях [70, 71]. Однако, по сравнению с другими путями, тоже использующими слизистую оболочку, интраназальный обладает определенными недостатками. Так, по некоторым данным, он сопряжен с опасностью развития паралича лицевого нерва (паралича Белла) [72].

Существует, кроме того, аэрозольное введение БЦЖ. Так, у макак и морских свинок было показано преимущества защитных свойств такого пути

перед подкожным [73, 74]. Было проведено исследование, демонстрирующее повышение иммунного ответа именно при аэрозольном введении вакцины [75, 76]. У людей также проводилась аэрозольная вакцинация БЦЖ, данный вариант может быть перспективным [77].

Дарра с соавт. изучили влияние внутривенного способа введения БЦЖ на приматах [78]. В этом исследовании они показали способность БЦЖ давать очень высокую степень защиты при таком варианте доставки: у шести из десяти макаков инфекция не была детектирована; девять из десяти показывали высокую защищенность. Внутривенная иммунизация индуцировала значительно более сильные Т-клеточные ответы в крови, селезенке, бронхоальвеолярном лаваже и лимфатических узлах легких, чем другие способы вакцинации.

Обобщая данные о различных способах доставки БЦЖ в организм, можно отметить, что при доставке через слизистые оболочки наблюдается повышение защиты от микобактерий в сравнении с принятым сейчас подкожным способом вакцинирования; в то же время, внутривенная вакцинация, по-видимому, обладает еще более сильным эффектом, но потенциально более опасна.

Использование БЦЖ для борьбы с другими заболеваниями. Известно, что вакцинация БЦЖ приблизительно вдвое снижает смертность в первые 6–12 мес. жизни [79], скорее всего, из-за стимуляции неспецифического иммунитета, приводящего к повышению устойчивости к респираторным заболеваниям и сепсису у новорожденных [80, 81]. Было показано, что вакцинация БЦЖ дает положительные неспецифические иммунные эффекты, приводящие к улучшению реакции на другие немикобактериальные патогенные микроорганизмы. В частности, вакцинация БЦЖ значительно увеличивает секрецию IL-1 β , который играет важную роль в противовирусном иммунитете [82]. Вакцинированные БЦЖ мыши были устойчивее к вирусу коровьей оспы, и у них был зарегистрирован повышенный уровень продукции гамма-интерферона CD4⁺ клетками [83]. Феномен иммунного эффекта после гетерологичной вакцинации, получивший название “тренированный иммунитет”, предположительно вызван метаболическими и эпигенетическими изменениями, приводящими к стимулированию активности генетических областей, кодирующих провоспалительные цитокины [84].

Благодаря своим иммуностимулирующим свойствам БЦЖ является стандартной терапией для предотвращения рецидивов после операции в случае немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря [85]. Инстилляция БЦЖ в мочевой пузырь способствует противоопухолевой активности, вероятно, за счет стимулирования рекрутирования CD4⁺ Т-клеток, нейтрофилов и лимфоцитов, а

также активации иммунных клеток для устранения раковых клеток уротелия, инфицированных БЦЖ [85–87]. Канно с соавт. [88] получили штаммы rBCG, экспрессирующие *Bordetella pertussis* токсин (SIPT), для дальнейшего использования в качестве альтернативной иммунотерапии для модели рака мочевого пузыря у мышей и показали их большую эффективность в иммунотерапии [88].

Текущие исследования направлены на выявление клинических параметров и биомаркеров, которые могут предсказать индивидуальный ответ на терапию БЦЖ [89, 90]. Поскольку побочные эффекты приводят к прекращению терапии БЦЖ у некоторых пациентов, BCG *DureC::hly* в настоящее время тестируется в качестве замены в фазе II клинических испытаний.

Осуществляются попытки лечения меланомы с использованием рекомбинантных штаммов БЦЖ [91]. Наиболее успешными оказались варианты БЦЖ, экспрессирующие интерлейкин-2 (rBCG-IL-2) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (rBCG-GM-CSF).

Другим возможным приложением БЦЖ может стать создание новых инструментов для борьбы с ВИЧ. На основе описанного выше вакцинного штамма MТВVAC, был создан рекомбинантный штамм MТВVAC.H1VA2аихо, в качестве двойной вакцины против туберкулеза и ВИЧ [92]. Эта вакцина против туберкулеза и ВИЧ обладает сходной протективностью с родительским штаммом MТВVAC при заражении МТБ у мышей и оказалась более безопасной, чем БЦЖ и MТВVAC для мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом. Вакцина MТВVAC.H1VA2аихо, усиленная модифицированным вирусом коровьей оспы Ankara (MVA).H1VA, индуцировала специфические для ВИЧ-1 и МТБ Т-клеточные ответы и ВИЧ-1-специфические CD8⁺ Т-клетки.

Был проведен анализ текущих эпидемиологических данных инфекции COVID-19, который выявил корреляцию между вакцинацией БЦЖ и снижением заболеваемости и смертностью от COVID-19 во всем мире [93]. Было обнаружено, что страны, не практикующие вакцинацию БЦЖ (Италия, Нидерланды, США) пострадали от пандемии сильнее, чем страны с всеобщей и давней политикой вакцинации БЦЖ. Страны с поздним началом всеобщей вакцинации БЦЖ (Иран, 1984) имеют более высокую смертность, что согласуется с идеей о том, что БЦЖ защищает привитое пожилое население. Поскольку показано, что вакцинация БЦЖ обеспечивает широкую защиту от вирусных инфекций и сепсиса [94], вероятно, защитный эффект БЦЖ может быть не связан напрямую с защитой от COVID-19. Тем не менее, обнаружено, что вакцинация БЦЖ коррелировала с уменьшением числа зарегистрированных случаев COVID-19. Это позволяет предположить, что

БЦЖ может предоставить некоторую защиту и непосредственно от COVID-19. Широкое использование вакцины БЦЖ в популяции может снизить количество носителей, и в сочетании с другими мерами может замедлить или остановить распространение COVID-19.

Масштабное исследование III клинической фазы покажет, эффективен ли рекомбинантный вариант БЦЖ VPM1002 против COVID-19. Исследование будет проведено на группах пожилых людей и работников здравоохранения, наиболее подверженных риску заболевания [95].

Таким образом, многочисленные исследования показывают, что БЦЖ остается многообещающей основой для генетических модификаций, способных повысить эффективность вакцины. Кроме того, адьювантные свойства БЦЖ, достаточная емкость ее генома и внутриклеточная локализация патогена позволяет рассматривать перспективы использования БЦЖ в качестве аттенуированного вектора для различных, в том числе вирусных антигенов. Неспецифические иммунотерапевтические эффекты БЦЖ делают вакцинацию ей потенциально новым инструментом в борьбе с COVID-19 и, вероятно, с другими инфекционными заболеваниями.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 1901500149А).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Global Tuberculosis Report. World Health Organization, 2017. Geneva. 147 p.
- Uplekar M., Weil D., Lonroth K., Jaramillo E., Lienhardt C., Dias H. et al. // *Lancet*. 2015. V. 385. № 9979. P. 1799–1801.
- De Gijzel D., von Reyn C.F. // *Int. J. Infect. Dis.* 2019. V. 80. P. S6–S8.
- Lewis K., Reiling L., Guinn K., Hickey M., Smith S., Behr M., Sherman D. // *Bone*. 2011. V. 23. № 1. P. 1–7.
- Demangel C., Hinds J., Neyrolles O., Butcher P., Leclerc C., Cole S., Brosch R. // *Infect. Immun.* 2006. V. 74. № 1. P. 88–98.
- Simeone R., Bottai D., Brosch R. // *Curr. Opin. Microbiol.* 2009. V. 12. № 1. P. 4–10.
- Левин Д.Т., Обухов Ю.И., Александрова Н.В., Волкова Р.А., Эльберт Е.В., Альварес Фигероа М.В., Проконенко А.В., Луданный Р.И. // Биопрепараты. Профилактика, диагностики, лечение. 2016. V. 16. P. 49–54.
- Corran P., Griffiths E. // World Health Organization. WHO Technical Report Series № 980. Geneva, Switzerland. 2012. 509 p.
- Behr M., Small P. // *Vaccine*. 1999. V. 17. № 7–8. P. 915–922.
- Fomukong N., Dale J., Osborn T., Grange J. // *J. Appl. Bacteriol.* 1992. V. 72. № 2. P. 126–133.
- Ahn S., Tran V., Leung A., Ng M., Li M., Liu J. // *Mol. Ther.* 2018. V. 26. № 12. P. 2863–2874.
- Sun R., Skeiky Y., Izzo A., Dheenadhayalan V., Imam Z., Penn E., et al. // *Vaccine*. 2009. V. 27. № 33. P. 4412–4423.
- Abdallah A., Hill-Cawthorne G., Otto T., Coll F., Guerra-Assunção J., Gao G., et al. // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. № October P. 1–15.
- Andersen P., Kaufmann S. // *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014. V. 4. № 6. pii: a018523.
- Walters S.B., Dubnau E., Kolesnikova I., Laval F., Daffe M., Smith I. // *Mol. Microbiol.* 2006. V. 60. № 2. P. 312–330.
- Flannagan R., Cosío G., Grinstein S. // *Nat. Rev. Microbiol.* 2009. V. 7. P. 355–366.
- Stanley S., Johndrow J., Manzanillo P., Cox J. S. // *J. Immunol.* 2007. V. 178. № 5. P. 3143–3152.
- Van der Wel N., Hava D., Houben D., Fluitsma D., van Zon M., Pierson J., Brenner M., Peters P. // *Cell*. 2007. V. 129. № 7. P. 1287–1298.
- Kaufmann S. // *Trends Immunol.* 2012. V. 33. № 7. P. 373–379.
- Gengenbacher M., Nieuwenhuizen N.E., Kaufmann S. // *Curr. Opin. Immunol.* 2017. V. 47. P. 8–16.
- Baker J., Dechow S., Abramovitch R. // *Trends Microbiol.* 2019. V. 27. № 11. P. 942–953.
- Prusa J., Zhu D., Stallings C. // *Pathog. Dis.* 2018. V. 76. № 5. P. 1–13.
- Song H., Huff J., Janik K., Walter K., Keller C., Ehlers S. et al. // *Mol. Microbiol.* 2011. V. 80. P. 900–18.
- Mukai T., Maeda Y., Tamura T., Miyamoto Y., Maki-no M. // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2008. V. 53. P. 96–106.
- Sendide K., Deghmane A., Reyraat J., Talal A., Hmama Z. // *Infect Immun.* 2004. V. 72. P. 4200–9.
- Gengenbacher M., Kaufmann S. // *FEMS Microbiol. Rev.* 2012. V. 36. № 3. P. 514–532.
- Saiga H., Nieuwenhuizen N., Gengenbacher M., Koehler A., Schuerer S., Moura-Alves P. et al. // *J. Infect. Dis.* 2015. № 1. P. 1–25.
- Wang Y., Curry H., Zwilling B., Lafuse W. // *J. Immunol.* 2005. V. 174. № 9. P. 5687–5694.
- Andersen P., Scriba T. // *Nat. Rev. Immunol.* 2019. V. 19. № 9. P. 550–562.
- Fulton S., Reba S., Pai R., Pennini M., Torres M., Harding C., Boom W. // *Infect. Immun.* 2004. V. 72. № 4. P. 2101–2110.
- Dorhoi A., Nouailles G., Jörg S., Hagens K., Heinemann E., Pradl L. et al. // *Eur. J. Immunol.* 2012. V. 42. № 2. P. 374–384.
- Kupz C., Er U., Stäber M., Perdomo A., Dorhoi A., Brosch R., Kaufmann S. // *J. Clin. Invest.* 2016. V. 126. № 6. P. 2109–2122.
- Tzelepis F., Verway M., Daoud J., Gillard J., Hassani-Ardakani K., Dunn J. et al. // *J. Clin. Invest.* 2015. V. 125. № 2. P. 752–768.
- Chen C., Huang D., Wang R., Shen L., Zeng G., Yao S. et al. // *PLoS pathogens*. 2009. V. 5. № 4. e1000392.
- Lindenstrom T., Aagaar, C., Christensen D., Agger E., Andersen P. // *Eur. J. Immunol.* 2014. V. 44. P. 1699–1709.
- Lu L., Chung A., Rosebrock T., Ghebremichael M., Yu W., Grace P. et al. // *Cell*. 2016. V. 167. № 2. P. 433–443.

37. Mavi P.S., Singh S., Kumar A. // *Antioxid. Redox Signal.* 2019. P. 1–59.
<https://doi.org/10.1089/ars.2019.7867>
38. Gröschel M., Sayes F., Simeone R., Majlessi L., Brosch R. // *Nat. Rev. Microbiol.* 2016. V. 14. № 11. P. 677–691.
39. Augenstreich J., Arbues A., Simeone R., Haanappel E., Wegener A., Sayes F. et al. // *Cell. Microbiol.* 2017. V. 19. № 7. P. 1–19.
40. Tiwari S., Casey R., Goulding C., Hingleywilson, S., Jacobs W. // *Microbiol Spectr.* 2019. V. 7.
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec>
41. Collins A., Cai H., Li T., Franco L., Li X., Nair R. et al. // *Cell Host Microbe.* 2015. V. 17. № 6. P. 820–828.
42. Wassermann R., Gulen M., Sala C., Perin S., Lou Y., Rybniker J. et al. // *Cell Host Microbe.* 2015. V. 17. № 6. P. 799–810.
43. O. W., Bell S., MacDuff D., Kimmey J., Elie D., Olivias J. et al. // *Cell Host Microbe.* 2015. V. 17. № 1. P. 811–819.
44. Wong K., Jacobs W. // *Cell. Microbiol.* 2011. V. 13. № 9. P. 1371–1384.
45. Brodin P., Majlessi L., Brosch R., Smith D., Bancroft G., Clark S. et al. // *J. Infect. Dis.* 2004. V. 190. № 1. P. 115–122.
46. Gröschel M., Sayes F., Shin S., Frigui W., Pawlik A., Orgeur M. et al. // *Cell Rep.* 2017. V. 18. № 11. P. 2752–2765.
47. Grode L., Ganoza C., Brohm C., Weiner J., Eisele B., Kaufmann S. // *Vaccine.* 2013. V. 31. № 9. P. 1340–1348.
48. Reyrat J., Berthet F., Gicquel B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. № 19. P. 8768–8772.
49. Gordon M., D'Arcy Hart A., Young P. // *Nature.* 1980. V. 286. № 5768. P. 79–80.
50. Hamon M.A., Ribet D., Stavru F., Cossart P. // *Trends Microbiol.* 2012. V. 20. № 8. P. 360–368.
51. Shaughnessy L., Hoppe A., Christensen K., Swanson J. // *Cell. Microbiol.* 2006. V. 8. № 5. P. 781–792.
52. Nieuwenhuizen N., Kulkarni P., Shaligram U., Cotton M., Rentsch C., Eisele B., Grode L., Kaufmann S. // *Front. Immunol.* 2017. V. 8. № SEP. P. 1–9.
53. Rao M., Vogelzang A., Kaiser P., Schuerer S., Kaufmann S., Gengenbacher M. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 11. P. 1–10.
54. Gengenbacher M., Vogelzang A., Schuerer S., Lazar D., Kaiser P., Kaufmann S. // *MBio.* 2014. V. 5. № 3. P. 1–8.
55. Gengenbacher M., Nieuwenhuizen N., Vogelzang A., Liu H., Kaiser P., Schuerer S. et al. // *MBio.* 2016. V. 7. № 3. P. 1–10.
56. Sun R., Skeiky Y., Izzo A., Dheenadhayalan V., Imam Z., Penn E. et al. // *Vaccine.* 2009. V. 27. № 33. P. 4412–4423.
57. Sander P., Clark S., Petretera A., Vilaplana C., Meuli M., Selchow P. et al. // *Vaccine.* 2015. V. 3. № 11. P. 1353–1359.
58. Paolino M., Brindisi M., Vallone A., Butini S., Campiani G., Nannicini C. et al. // *ChemMedChem.* 2018. V. 13. № 5. P. 422–430.
59. Mizuno S., Soma S., Inada H., Kanuma T., Matsuo K., Yasutomi Y. // *J. Immunol.* 2019. V. 203. № 1. P. 188–197.
60. Sambandamurthy V., Derrick S., Jalapathy K., Chen B., Russell R., Morris S., Jacobs W. // *Infect. Immun.* 2005. V. 73. № 2. P. 1196–1203.
61. Arbues A., Aguilo J., Gonzalo-Asensio J., Marinova D., Uranga S., Puentes E. et al. // *Vaccine.* 2013. V. 31. № 42. P. 4867–4873.
62. Cox J., Chess B., McNeil M., Jacobs W. // *Nature.* 1999. V. 402. № 6757. P. 79–83.
63. Kirksey M., Tischler A., Siméone R., Hisert K., Uplekar S., Guilhot C., McKinney J. // *Infect. Immun.* 2011. V. 79. № 7. P. 2829–2838.
64. Aguilo N., Uranga S., Marinova D., Monzon M., Badiola J., Martin C. // *Tuberculosis.* 2016. V. 96. P. 71–74.
65. Gonzalo-Asensio J., Marinova D., Martin C., Aguilo N. // *Front. Immunol.* 2017. V. 8. № 12. P. 1–8.
66. Clark S., Lanni F., Marinova D., Rayner E., Martin C., Williams A. // *J. Infect. Dis.* 2017. V. 216. № 5. P. 525–533.
67. Tanner R., Villarreal-Ramos B., Vordermeier H., McShane H. // *Front. Immunol.* 2019. V. 10. № @. P. 5–7.
68. Hoft D., Brown R., Belshe R. // *Clin. Infect. Dis.* 2000. V. 30. № 3. P. S217–S222.
69. Monteiro-Maia R., de Pinho R. // *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2014. V. 109. № 6. P. 838–845.
70. Falero-Diaz G., Challacombe S., Banerjee D., Douce G., Boyd A., Ivanyi J. // *Vaccine.* 2000. V. 18. № 28. P. 3223–3229.
71. Lyadova I., Vordermeier H., Eruslanov E., Khaidukov S., Apt A., Hewinson R. // *Clin. Exp. Immunol.* 2001. V. 126. № 2. P. 274–279.
72. Mutsch M., Zhou W., Rhodes P., Bopp M., Chen R., Linder T., Spyr C., Steffen R. // *N. Engl. J. Med.* 2004. V. 350. № 9. P. 896–903.
73. Barclay W., Busey W., Dalgard D., Good R., Janicki B., Kasik J. et al. // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1973. V. 107. № 3. P. 351–358.
74. Garcia-Contreras L., Wong Y., Muttill P., Padilla D., Sadoff J., De Rouse J., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. № 12. P. 4656–4660.
75. Dijkman K., Sombroek C., Vervenne R., Hofman S., Boot C., Remarque E. et al. // *Nat. Med.* 2019. V. 25. № 2. P. 255–262.
76. Scriba T., Nemes E. // *Nat. Med.* 2019. V. 25. № 2. P. 199–201.
77. Thomas Z., McShane H. // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2014. V. 109. № 3. P. 175–181.
78. Darrah P., Zeppa J., Maiello P., Hackney J., Wadsworth M., Hughes T. et al. // *Nature.* 2020. V. 577. № 7788. P. 95–102.
79. Higgins J., Soares-Weiser K., López-López J., Kakourou A., Chaplin K., Christensen H. et al. // *BMJ.* 2016. V. 355.
80. Aaby P., Whittle H., Benn C. // *BMJ.* 2012. V. 345. № 7864. P. 1–6.
81. Aaby P., Kollmann T., Benn C. // *Nat. Immunol.* 2014. V. 15. № 10. P. 895–899.
82. Kleinnijenhuis J., Quintin J., Preijers F., Benn C., Joosten L., Jacobs C. et al. // *J. Innate Immun.* 2014. V. 6. P. 152–158.

83. Mathurin K., Martens G., Kornfel H., Welsh R. // *J. Virol.* 2009. V. 83. P. 3528–3539.
84. Netea M., Joosten L., Latz E., Mills K., Natoli G., Stunnenberg H., O'Neill L., Xavier R. // *Science*. 2016. V. 352. № 6284. aaf1098.
85. Zheng Y., Naguib Y., Dong Y., Shi Y., Bou S., Cui Z. // *Expert Rev. Vaccines*. 2015. V. 14. № 9. P. 1255–1275.
86. Pichler R., Fritz J., Zavadil C., Schäfer G., Culig Z., Brunner A. // *Oncotarget*. 2016. V. 7. № 26. P. 39916–39930.
87. Suttman H., Riemensberger J., Bentien G., Schmaltz D., Stöckle M., Jocham D., Böhle A., Brandau S. // *Cancer Res.* 2006. V. 66. № 16. P. 8250–8257.
88. Kanno A., Goulart C., Leite L., Pagliarone A., Nascimento I. // *Biomed Res. Int.* 2019. V. 2019. P. 9630793.
89. Steinberg R., Thomas L., Mott S., O'Donnell M. // *Bl. Cancer*. 2016. V. 2. № 2. P. 215–224.
90. Zhang N., Jiang G., Liu X., Na R., Wang X., Xu J. // *Biomed Res. Int.* 2016. V. 2016. P. 9859021.
91. Benitez M., Bender C., Oliveira T., Schachtschneider K., Collares T., Seixas F. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2019. V. 103. № 19. P. 7903–7916.
92. Broset E., Saubi N., Guitart N., Aguilo N., Uranga S., Kilpeläinen A. et al. // *Mol. Ther. – Methods Clin. Dev.* 2019. V. 13. P. 253–264.
93. Miller A., Reandelar M., Fasciglione K., Roumenova V., Li Y., Otazu G. // *medRxiv* (preprint). 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.20042937>
94. Moorlag S., Arts R., van Crevel R., Netea M. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2019. V. 25. P. 1473–1478.
95. Max Planck Society, 2020. <https://medicalxpress.com/news/2020-03-vaccinebcg-immune-boost-coronavirus.html>

Vaccines Against Tuberculosis: Problems and Prospects (Review)

N. I. Nadolinskaia^{a,*}, D. S. Karpov^b, and A. V. Goncharenko^a

^a*Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences”, Moscow, 119071 Russia*

^b*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

*e-mail: nioriss@gmail.com

Despite the efforts of the global medical and scientific community, tuberculosis remains the leading cause of death from infectious diseases. The expectation of success associated with the development of new anti-TB drugs was not justified, and the attention of researchers was largely drawn to the creation of new mycobacterial strains for vaccination against tuberculosis. The proposed review contains current information about existing vaccine strains and the development of new genetically engineered strains for the prevention of tuberculosis, as well as for the prevention and treatment of other diseases. The review includes relevant information on the correlation between BCG vaccination and the frequency and severity of COVID-19 infection.

Keywords: tuberculosis, BCG, vaccine, recombinant vaccine