

ОБЗОРЫ / REVIEWS

УДК 606:615.371:612.017.1
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256>

ШИФР СПЕЦИАЛЬНОСТЬ
03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)



Общая характеристика адъювантов и механизм их действия (часть 1)

Н. А. Алпатова*, Ж. И. Авдеева, С. Л. Лысикова, О. В. Головинская, Л. А. Гайдерова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

Актуальной проблемой современного здравоохранения является разработка новых вакцин и совершенствование уже используемых в медицинской практике, что обусловлено снижением иммунологической активности населения, появлением новых инфекций или активацией «старых», которые ранее считались побежденными. Неотъемлемой и важной частью современных вакцин являются адъюванты, которые стимулируют развитие иммунного ответа на антиген вакцины. Однако, несмотря на многочисленные усилия по их разработке, в настоящее время в медицинской практике применяется лишь небольшое количество адъювантов. Цель работы — систематизация данных литературы по анализу механизмов действия адъювантов, особенностей их структуры, состава и стимулирующих эффектов, которые опосредуют их иммуноадъювантные свойства. Обобщены сведения об адъювантах, входящих в состав зарегистрированных вакцин, приведена их характеристика, проанализированы молекулярные механизмы действия адъювантов с целью установления взаимосвязи их структуры и проявляемой активности, что является важным для разработки более эффективных и безопасных адъювантов. Представлены сведения о перспективных разработках по совершенствованию уже используемых адъювантов с целью усиления их стимулирующего действия. Сделан вывод о том, что ключевым направлением исследований в области повышения эффективности вакцинации является изучение механизмов, способствующих развитию эффективной защиты от возбудителей инфекции, а также способов стимулирования защитных реакций организма с помощью адъювантов, в первую очередь путем воздействия на систему врожденного иммунитета.

Ключевые слова: вакцина; адъювант; иммуногенность вакцин; инфекция; вирус; антиген; антитела; Т-клетки; В-клетки; иммунитет

Для цитирования: Алпатова НА, Авдеева ЖИ, Лысикова СЛ, Головинская ОВ, Гайдерова ЛА. Общая характеристика адъювантов и механизм их действия (часть 1). *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(4):245–256. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256>

* **Контактное лицо:** Алпатова Наталья Александровна; alpatova@expmed.ru

General Characteristics of Adjuvants and Their Mechanism of Action (Part 1)

N. A. Alpatova*, Zh. I. Avdeeva, S. L. Lysikova, O. V. Golovinskaya, L. A. Gayderova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

One of priority issues of the present-day healthcare system is development of new vaccines and improvement of existing ones due to decreasing immunocompetence of the population, emergence of new infections and re-emergence of old ones which were previously thought to be under control. Adjuvants have proven to be integral and important components of modern vaccines, as they enhance immune response to the vaccine antigen. However, despite a lot of effort put into their development, only a small number of adjuvants are currently used in clinical practice. The aim of the study was to systematise literature data on the adjuvants' mechanisms of action, their specific structure, composition, and stimulation effects that mediate their immunoadjuvant properties. The paper summarises data on adjuvants used as components in licensed vaccines, describes their characteristics, analyses molecular mechanisms of their action in order to establish correlation between their structure and activity, which is important for the development of more efficacious and safe adjuvants. The paper cites advanced developments aimed at enhancing stimulation effects of existing adjuvants. It concludes by stating that the key research area aimed at improving vaccination efficacy is the study of mechanisms that contribute to the development of effective protection against infectious agents, as well as analysis of how to use adjuvants to stimulate the body's defensive mechanisms, primarily by impacting the innate immunity.

Key words: vaccine; adjuvant; vaccine immunogenicity; infection; virus; antigen; antibody; T cells; B cells; immunity

For citation: Alpatova NA, Avdeeva ZhI, Lysikova SL, Golovinskaya OV, Gayderova LA. General characteristics of adjuvants and their mechanism of action (part 1). *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(4):245–256. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256>

* **Corresponding author:** Natalia A. Alpatova; alpatova@expmed.ru

Инфекционные заболевания стоят на втором месте после сердечно-сосудистых заболеваний в списке ведущих причин смертности населения в мире [1]. По данным ВОЗ на 2018 г., распространение вируса гриппа ежегодно приводит к 3–5 млн случаев тяжелых заболеваний и 290–650 тыс. смертей¹. Сообщается, что вирусом гепатита В инфицированы 257 млн человек, что привело к 887 тыс. смертей в 2015 г.² Для профилактики указанных заболеваний применяется вакцинация, конечной целью которой является формирование длительного напряженного специфического иммунитета против возбудителей инфекции [2].

Несмотря на значительные успехи практической медицины в области вакцинации, разработка эффективных и безопасных вакцин остается актуальной проблемой. Появившиеся в последнее время и вновь возвращающиеся заболевания, такие как тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) в 2003 г., пандемия гриппа H1N1 в 2009 г., геморрагическая лихорадка Эбола в 2014 г., пандемия коронавирусной инфекции COVID-19 в 2019–2020 гг., свидетельствуют о необходимости применения новых подходов к разработке вакцин [3–5].

Важной задачей также является создание более эффективных вакцин для лиц старшего возраста. С увеличением продолжительности жизни в результате хронических заболеваний у данной категории лиц накапливаются дефекты в работе иммунной системы, что сопровождается нарушением адекватного реагирования организма на введение вакцин. Об этом свидетельствуют результаты, полученные при вакцинации против вирусов гриппа или пневмонии лиц старше 65 лет [6].

Многие из наиболее эффективных и безопасных вакцин разработаны на основе живых, ослабленных возбудителей инфекции. При их применении в организме развивается инфекционный процесс с легким бессимптомным течением, в результате которого формируется длительный иммунитет, аналогичный тому, который наблюдается у лиц, перенесших инфекционное заболевание. Примерами живых аттенуированных вакцин являются вакцины против кори, паротита, краснухи, ветряной оспы, желтой лихорадки.

В ряде случаев вакцины, созданные на основе инактивированных возбудителей, очищенных и рекомбинантных антигенов (АГ), обладают недостаточной иммуногенностью, что требует введения адъювантов с целью стимуляции иммунного ответа, более интенсивного формирования специфических антител (АТ) и активации эффекторных функций Т-клеток [2, 7]. Адъюванты, увеличивая иммуногенность вакцин, повышают их эффективность, что обеспечивает более высокий уровень коллективного иммунитета в общей популяции вакцинированных лиц, а также способствуют повышению показателей сероконверсии в популяциях с меньшей восприимчивостью к вакцинации (например, в группах младенцев, пожилых людей и лиц с наличием иммунной недостаточности). Кроме того, введение адъюванта в состав вакцины позволяет снизить иммунизирующую дозу АГ, что повышает безопасность вакцины с сохранением ее иммуногенных свойств. Это крайне важно в условиях пандемии, когда требуется срочная крупномасштабная вакцинация, а расширение производства вакцины с целью выпуска большего объема продукции не представляется возможным (например, в случае возникновения пандемического вируса гриппа) [7–9].

Тенденции в разработке новых вакцин связаны с использованием генно-инженерных технологий, повышением эффективности и безопасности препаратов, в том числе и при

вакцинации лиц отдельных категорий (группы людей с хроническими заболеваниями, беременные женщины, лица старшего возраста и т.д.). При этом одним из наиболее важных вопросов является выбор подходящего адъюванта для усиления иммуногенности вакцин.

В настоящее время адъюванты разрабатываются и включаются в состав вакцин не только для повышения титра специфических АТ, но и для стимуляции развития адаптивного иммунного ответа на АГ вакцины, увеличения его продолжительности, изменения поляризации иммунного ответа, сокращения времени формирования иммунитета [10, 11]. Адъюванты, применяемые в клинической практике, различаются по своей физико-химической природе и в первую очередь характеризуются своими иммуностимулирующими свойствами. В связи с отсутствием обобщенных данных о механизмах действия адъювантов цель настоящего обзора является актуальной.

Цель работы — систематизация данных литературы по анализу механизмов действия адъювантов, особенностей их структуры, состава и стимулирующих эффектов, которые опосредуют их иммуноадъювантные свойства.

Механизмы действия адъювантов, входящих в состав зарегистрированных вакцин

Вакцины, как и естественные инфекции, действуют, активируя систему врожденного иммунитета, что, в свою очередь, способствует запуску и развитию антиген-специфического адаптивного иммунного ответа. Адъюванты способствуют формированию более выраженного адаптивного иммунного ответа на АГ вакцины путем активации разных звеньев системы врожденного иммунитета и (или) стимуляции процессов транспорта, процессинга и презентации АГ. Функционально адъюванты действуют прямо или косвенно на антиген-презентирующие клетки (АПК), включая дендритные клетки (ДК), и воспринимаются как молекулярные паттерны, связанные либо с инвазией инфекционного агента (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs)), либо с повреждением эндогенных клеточек (молекулярные паттерны, ассоциированные с опасностью (DAMPs)), тем самым активируя сенсорные пути и инициируя развитие иммунного ответа. Адъюванты PAMP-типа являются лигандами для Toll-подобных рецепторов (TLRs) и могут напрямую влиять на ДК, изменяя скорость формирования, выраженность, продолжительность, поляризацию адаптивного иммунного ответа. К адъювантам DAMP-типа относятся минеральные соли, масляные эмульсии, наночастицы и полиэлектролиты. Данные соединения оказывают стимулирующие эффекты на инфильтрацию иммунокомпетентных клеточек, презентацию АГ и созревание эффекторных клеточек [12, 13].

Первыми адъювантами, включенными в состав вакцин, были соединения алюминия. В течение многих лет они являлись практически единственными общепризнанными адъювантами, и только начиная с 1980-х гг. стали применяться новые виды адъювантов с разным механизмом действия. Проведены многочисленные исследования с использованием различных типов адъювантов с целью характеристики их стимулирующей активности и безопасности [1, 7, 12, 13].

В настоящее время регуляторными органами разных стран для использования в вакцинах для человека одобрены такие адъюванты, как соединения алюминия (гидроксид алюминия, фосфат алюминия и др.), масляные эмульсии (MF59, AS03),

¹ Influenza (Seasonal). WHO. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))

² Hepatitis B. WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>

адъювантные системы (AS04, AS01), синтетический олигонуклеотид, содержащий последовательности цитозинагуанина (CpG 1018), виросомы, полиоксидоний, совидон.

Возбудители различных инфекций имеют разные характеристики, которые играют важную роль в процессе формирования иммунного ответа у инфицированных лиц. При выборе адъювантов необходимо учитывать их особенности и механизм действия с целью стимуляции развития оптимального иммунного ответа с учетом уникальных свойств конкретных возбудителей [14].

Среди механизмов действия адъювантов выделяют следующие:

- образование депо в месте инъекции, что способствует увеличению времени контакта с АГ;
- действие адъюванта в качестве системы доставки АГ, что стимулирует процессы поглощения АГ АПК;
- активация системы врожденного иммунитета за счет передачи сигналов через мембранные и внутриклеточные паттерн-распознающие рецепторы (PRRs), что приводит к активации транскрипционных факторов и адаптерных белков, опосредуя выработку провоспалительных цитокинов, хемокинов и интерферонов (IFN) типа I;
- индукция секреции цитокинов и хемокинов, участвующих в активации и миграции иммунокомпетентных клеток;
- активация инфламматомы NLRP3 (способствует формированию воспалительной реакции и индукции выработки провоспалительных цитокинов);
- стимуляция активации и созревания АПК (повышение экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) и костимулирующих молекул, что способствует эффективной активации наивных Т-клеток), стимуляция процесса презентации АГ;
- индукция развития клеточного (Th1) и (или) гуморального (Th2) иммунного ответа;
- участие в реакции герминативных центров, стимуляция продукции высокоаффинных специфических IgG, стимуляция формирования В-клеток памяти при развитии гуморального иммунного ответа [10];
- стимуляция формирования центральных Т-клеток памяти и Т-эффекторных клеток памяти [14].

Характеристика адъювантов и их иммуностимулирующие свойства

Соединения алюминия

Наиболее распространенными адъювантами являются соединения алюминия, которые используются в вакцинах уже более 90 лет и входят в состав 146 зарегистрированных вакцин против многих инфекций по всему миру [15]. Соединения алюминия в зависимости от типа (гидроксид алюминия, фосфат алюминия, алюминицево-калиевые квасцы) характеризуются разными физико-химическими свойствами, которые играют важную роль в их иммуномодулирующем действии [1, 16].

Адъюванты на основе алюминия состоят из наноразмерных частиц, при этом частицы гидроксида алюминия имеют удлиненную форму и размер примерно $4 \times 2 \times 10$ нм, а частицы фосфата алюминия имеют форму пластинки с диаметром около 50 нм. Частицы образуют слабосвязанные пористые агрегаты, размер которых варьирует от 1 до 20 мкм в зависимости от адъюванта. На частицах гидроксида алюминия и (или) фосфата алюминия АГ адсорбируются за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий. В зависимости от типа солей алюминия их поверхностные заряды различаются. Гидроксид

алюминия несет положительный заряд при физиологическом значении pH 7,4 и связывает кислые белки. Фосфат алюминия заряжен отрицательно и, соответственно, связывает основные белки [16].

Наиболее часто используемым химическим веществом в качестве адъюванта является гидроксид алюминия. Однако, несмотря на его широкое распространение и многочисленные исследования по изучению механизмов его адъювантного действия, в полной мере данный вопрос не изучен.

На выраженность иммунного ответа, индуцированного применением гидроксида алюминия в качестве адъюванта, оказывают влияние такие факторы, как скорость адсорбции АГ, сила адсорбции, размер и однородность частиц гидроксида алюминия, доза адъюванта и природа АГ вакцины [17].

Предполагается, что адъювантное действие гидроксида алюминия проявляется за счет комбинации нескольких эффектов, таких как длительное высвобождение АГ (эффект депо); эффективное поглощение АПК частиц алюминия с адсорбированным АГ благодаря их дисперсной природе и оптимальному размеру; активация системы врожденного иммунитета (активация инфламматомы NLRP3, активация комплемента), стимуляция и дифференцировка CD4⁺ Т-клеток. Однако отсутствует единое мнение относительно важности каждого из указанных эффектов [18].

При изучении механизмов, опосредующих адъювантную активность соединений алюминия, одним из первых было предположение о наличии эффекта депо [19, 20]. В данном случае адъюванты усиливают реакцию на АГ, увеличивая время контакта с ними. В течение 2–6 ч после введения вакцины с соединениями алюминия в качестве адъюванта в месте инъекции отмечается образование инфильтрата, в котором преобладают нейтрофилы, макрофаги (МФ), ДК. Адъюванты способствуют взаимодействию АГ с клетками, следствием чего является усиление процессов поглощения и презентации АГ АПК [20, 21]. Предполагается, что увеличение продолжительности презентации АГ опосредовано снижением скорости деградации интернализированного АГ под влиянием адъювантов [22]. Можно заключить, что за счет ассоциации АГ с производными алюминия поддерживается высокая локальная концентрация АГ в течение времени, необходимого для привлечения и миграции АПК, опосредованных повышением секреции цитокинов, а также для индукции воспалительной реакции в месте введения [23, 24].

Однако ведущая роль эффекта депо в адъювантной активности соединений алюминия была поставлена под сомнение. Согласно более поздним данным, депо не является основным механизмом, посредством которого соединения алюминия проявляют свое адъювантное действие [25]. Кроме того, показано, что удаление места введения гидроксида алюминия через 2 ч после иммунизации не оказало влияния на развитие и выраженность адаптивного иммунного ответа лабораторных животных [26]. Вероятно, в течение короткого периода после введения эффект депо важен для иммуностимулирующего действия соединений алюминия, но они проявляют и другие стимулирующие эффекты, которые объясняют их адъювантные свойства [16].

Ранее в нескольких сообщениях отмечалось, что адъюванты в виде частиц активируют инфламматому NLRP3 с помощью нескольких механизмов и это способствует секреции провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины (IL): IL-1 β и IL-18 [27, 28]. В экспериментальных исследованиях H. Li с соавт. [29] установлено, что гидроксид алюминия вызывает активацию инфламматомы, стимулируя синтез IL-1 β

и IL-18 МФ и ДК. У мышей с дефицитом NLRP3, цитозольного адаптерного белка ASC и каспазы-1 наблюдалось снижение уровня гуморального иммунного ответа, индуцированного гидроксидом алюминия. В публикации P. Marrack с соавт. [30] сообщается, что адъюванты на основе алюминия способствуют активации инфламماسомы, вызывая повреждение и разрыв фаголизосом, генерируя активные формы кислорода, высвобождая из поврежденных тканей DAMPs, такие как мочевая кислота и АТФ. Однако авторы подчеркивают, что развитие NLRP3-воспаления и активация каспазы-1 не всегда необходимы для индукции гуморального иммунного ответа при введении соединений алюминия в качестве адъюванта [30]. Обобщая результаты многих исследований, G. Del Giudice с соавт. [31] отмечают, что активация инфламماسомы и роль IL-1 в проявлении адъювантного эффекта соединений алюминия при их введении человеку требует дальнейшего изучения.

Несмотря на то что способность соединений алюминия индуцировать развитие ответа системы врожденного иммунитета через активацию инфламماسомы NLRP3 и выработку провоспалительных цитокинов была отмечена, роль NLRP3 в их адъювантном действии в настоящее время остается спорной [28, 29, 32, 33].

Адъюванты на основе алюминия рассматриваются и как система доставки АГ. Отмечается, что частицы алюминия связываются с липидами мембраны ДК и изменяют их, вызывая активацию клеток, что способствует проникновению АГ через клеточную мембрану. Но при этом интернализации самих частиц ДК не происходит [34]. ДК играют важную роль в проявлении иммуностимулирующего эффекта алюминиевых адъювантов. В работе M. Koal с соавт. [35] отмечается, что при истощении популяции ДК наблюдалось снижение выраженности иммунного ответа. Кроме того, адъюванты на основе алюминия усиливают транспорт АГ с участием мигрирующих ДК от места инъекции в дренирующие лимфатические узлы [36]. Также соединения алюминия индуцируют дифференцировку моноцитов (МЦ) в ДК [16].

В последние годы рядом авторов изучено влияние гидроксида алюминия на стимуляцию первичных МЦ с целью выяснения механизмов, опосредующих активацию указанных клеток. Установлено, что адъювант активирует секрецию INF типа I, потенциально индуцируемую TLR- и (или) NOD-опосредованной передачей сигналов, развитие воспалительной реакции и процесс презентации АГ в комплексе с молекулами MHC классов I и II [37]. Выявлен ряд различий в ответе МЦ, стимулированных гидроксидом алюминия или комбинированной вакциной Инфанрикс® (Infanrix®), содержащей гидроксид алюминия в качестве адъюванта. Повышение продукции цитокина IL-10 отмечено при добавлении вакцины к суспензии МЦ, а при добавлении только гидроксида алюминия этого не наблюдалось. Стимуляция экспрессии генов IFN γ , IL-2 и IL-17A отмечена при добавлении к МЦ гидроксида алюминия, а при добавлении вакцины наблюдалось подавление экспрессии указанных генов. Повышенная экспрессия белков, индуцированных IFN типа I, не наблюдалась при добавлении вакцины в суспензию МЦ, но отмечена при стимуляции клеток гидроксидом алюминия. Полученные результаты свидетельствуют о том, что комбинация АГ и адъюванта оказывает влияние на ответ клеток системы врожденного иммунитета, индуцируемый вакциной [38].

В работе H. HogenEsch [39] отмечается, что одним из механизмов, опосредующим стимулирующий эффект соединений алюминия, является также активация системы комплемента, гуморального фактора врожденного иммунитета.

Результаты изучения роли эндогенных сигналов опасности, таких как ДНК, высвобождающаяся из поврежденных клеток хозяина, в адъювантном действии соединений алюминия представлены в работе T. Marichal с соавт. [40]. Показано, что после введения мышам гидроксида алюминия ДНК клеток хозяина становится доступна для расщепления ферментом (ДНКазой) и оказывает влияние на развитие антиген-специфических ответов Т- и В-клеток [40]. В исследованиях A. S. Mckee с соавт. [41] установлено, что соединения алюминия способствуют высвобождению ДНК хозяина в цитоплазму ДК, при этом в цитозоле ДНК индуцирует пути активации стимулятора генов IFN (STING), что увеличивает презентацию пептидов Т-клеткам в дренирующих лимфатических узлах.

Однако источник ДНК хозяина и механизм ее высвобождения остаются неясными. При изучении ранней реакции на введение адъювантов на основе алюминия установлено, что основными клетками, мигрирующими к месту инъекции в течение 2 ч, являются нейтрофилы. Вокруг места инъекции наблюдалось скопление нейтрофилов, а также наличие в ткани нитей ДНК, так называемых нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET). Предполагается, что соединения алюминия вызывают гибель нейтрофилов и это приводит к высвобождению внеклеточной ДНК, играющей значительную роль в их адъювантном действии [42].

Соединения алюминия способствуют развитию иммунного ответа Th2, стимулируют выработку цитокинов IL-4, IL-5 и IL-13, которые, повышая продукцию специфических АТ В-клетками, влияют на выраженность гуморального иммунного ответа [30]. Установлено, что соединения алюминия подавляют секрецию IL-12, что может быть причиной дифференцировки Т-клеток в клетки Th2 [43].

Считается, что адъюванты, содержащие алюминий, слабо индуцируют развитие реакций типа Th1, опосредующих формирование клеточного иммунитета для защиты организма от внутриклеточных инфекций [31]. Предполагается, что после введения вакцины указанные адъюванты активируют развитие иммуносупрессивных механизмов, и это ограничивает их способность вызывать развитие ответа Th1. Соединения алюминия усиливают секрецию МФ и ДК цитокина IL-10, обладающего противовоспалительными свойствами. Показано, что отсутствие передачи сигнала IL-10 не нарушает индуцированную гидроксидом алюминия инфильтрацию клеток к месту инъекции, но способствует усилению антиген-специфических ответов Th1. У мышей с дефицитом IL-10 не отмечено значительных изменений в продукции специфических IgG1 АТ после иммунизации с указанным адъювантом. В целом, эти результаты свидетельствуют о том, что введение гидроксида алюминия способствует выработке IL-10, который может блокировать ответы Th1. Возможно, это является одной из причин низкой эффективности гидроксида алюминия в качестве адъюванта для индукции клеточного иммунного ответа [44].

Высказано предположение, что недостаточная степень стимуляции соединениями алюминия системы врожденного иммунитета также может быть причиной развития слабого иммунного ответа Т-клеток [14]. Однако при применении адъювантной системы ASO4, включающей гидроксид алюминия и монофосфорилированный липид А (MPL), который является агонистом TLR4, отмечено формирование выраженного иммунного ответа Th1 [45].

Показано, что адъювантом, способствующим развитию как эффективного иммунного ответа смешанного типа Th1/Th2, так и формированию ответов цитотоксических Т-лимфоцитов, является бис-(3',5')-циклический димерный

аденозинмонофосфат (с-di-AMP). Отмечается, что комбинация с-di-AMP с гидроксидом алюминия способствует стимуляции не только гуморального ответа, но и развитию более выраженного клеточного иммунного ответа [46].

Представляют интерес результаты исследований по оценке нового адъюванта PAA:nanoalum на основе наночастиц алюминия (адъювант Alhydrogel®) и полимера полиакриловой кислоты (PAA), используемого в качестве стабилизирующего агента. Показано, что новый адъювант способствует увеличению иммуногенности противогриппозной вакцины и повышает ее защитный эффект при заражении животных летальной дозой вируса гриппа. Отмечается, что адъювант PAA:nanoalum вызывает развитие выраженного иммунного ответа не только по типу Th2, но и по типу Th1 [47]. В связи с этим он может быть рассмотрен в качестве кандидата для включения в состав вакцин, защищающих от туберкулеза, коклюша и малярии.

Таким образом, адъювантные свойства соединений алюминия опосредованы следующими механизмами: эффект депо, стимуляция фагоцитоза АГ АПК, нарушение целостности мембраны ДК, активация комплемента, стимуляция и дифференцировка CD4⁺ Т-клеток [20, 25].

MF59 (масляная эмульсия)

Первым после соединений алюминия, зарегистрированным в составе вакцин для медицинского применения, стал MF59, адъювант на основе эмульсии сквалена, разработанный компанией GlaxoSmithKline (GSK Vaccines). Эмульсия сквалена относится к типу «масло-в-воде», представлена в виде капель сквалена в непрерывной водной фазе, которые стабилизированы путем добавления двух неионных водорастворимых поверхностно-активных веществ (Tween 80 и Span 85) [48].

Все компоненты MF59 являются безопасными биологически разлагаемыми природными производными. Сквален является углеводородом тритерпенового ряда, он действует как предшественник холестерина, стероидных гормонов и витамина D. Природный сквален получают из печени акулы, полисорбат 80 и сорбитана триолеат 85 являются фармацевтическими веществами растительного происхождения.

Адъювант MF59 лицензирован для использования в вакцинах против пандемического и сезонного гриппа во многих странах. Отмечается, что вакцины против вируса гриппа, содержащие MF59, вызывают формирование более выраженного и продолжительного иммунитета по сравнению с противогриппозными вакцинами без адъюванта, а также более эффективны в профилактике гриппозной инфекции у детей и взрослых в возрасте от 6 до 72 лет [13, 49]. Считается, что этот эффект опосредован способностью MF59 усиливать миграцию и активацию АПК, активацию антиген-специфических CD4⁺ Т-клеток и стимулировать продукцию специфических гемагглютинирующих АТ [13].

Для эффективности адъювантов, относящихся к группе масляных эмульсий, решающим является присутствие липофильной фазы в форме мелких капель (средний размер капель масла составляет около 160 нм). Неэмульгированный сквален не проявляет адъювантного эффекта. Первоначально MF59 был разработан в качестве буфера для доставки АГ, однако при его использовании были обнаружены выраженные адъювантные эффекты, обусловленные его рецептурным составом [50].

В работе E. J. Ko, S. M. Kang [48] отмечается, что действие адъювантов на основе эмульсии сквалена не связано ни с эффектом депо, ни с активацией TLRs, ни с прямой стимуляцией TLR-зависимых сигнальных путей. Показано, что эффект MF59

не зависит от инфламмосомы NALP3, поскольку на интенсивность гуморального иммунного ответа, индуцированного MF59, не влияет отсутствие NALP3 или каспазы-1 у иммунодефицитных мышей. В исследовании A. Seubert с соавт. [51] при иммунизации мышей трехкомпонентной вакциной с адъювантом MF59 против *Neisseria meningitidis* серогруппы B (rMenB) установлено, что для усиления продукции специфических АТ необходима активация адаптерного белка MyD88, то есть передача сигналов происходит по сигнальному пути, независимому от TLRs.

M. Vono с соавт. [52] отмечают, что внутримышечная инъекция всегда сопровождается временным высвобождением АТФ, который действует как эндогенный сигнал опасности. Показано, что в присутствии MF59 высвобождение внеклеточной АТФ из мышц у мышей значительно усиливается. Возможно, АТФ стимулирует развитие иммунного ответа на вакцину, индуцированного адъювантом.

По сравнению с адъювантами на основе соединений алюминия MF59 активирует выработку более широкого спектра цитокинов/хемокинов, которые усиливают привлечение иммунокомпетентных клеток, в том числе и миелоидных CD11b⁺ ДК к месту инъекции [53]. Показано, что MF59 значительно повышает экспрессию CCR2, рецептора для CCL2, который является фактором хемотаксиса МЦ, а также CCL2, CCL3 (факторы хемотаксиса эозинофилов, базофилов и др. клеток) и CXCL8 (IL-8) [54].

Адъювант MF59 косвенно усиливает фагоцитоз и пиноцитоз АГ, при этом вместо прямого воздействия на процессы поглощения АГ ДК он стимулирует привлечение к месту инъекции клеток — предшественников ДК и их дифференцировку в ДК [55]. Показано, что MF59 также способствует дифференцировке МЦ в ДК, которые в дренирующих лимфатических узлах являются основными АПК, нагруженными АГ. Подчеркивается, что это коррелирует с усилением запуска в лимфатических узлах специфического ответа CD4⁺ Т-лимфоцитов, индуцированного АПК [56]. В публикации S. Calabro с соавт. [23] указано, что MF59 активирует и другие АПК, в том числе МЦ и МФ, а также усиливает их миграцию в лимфатические узлы.

Для выяснения роли CD4⁺ Т-клеток в адъювантном действии MF59 исследовали эффективность расщепленной вакцины против Т-зависимого АГ вируса гриппа, содержащей указанный адъювант, при иммунизации мышей с дефицитом CD4 (CD4KO) и мышей дикого типа [57]. Отмечается, что MF59 индуцировал выработку АТ с переключением синтеза изотипов IgG, а также способствовал повышению выживаемости животных, опосредованной ответом CD8⁺ Т-клеток, при их заражении летальной дозой вируса гриппа. MF59 усиливал миграцию различных клеток системы врожденного иммунитета и АПК, таких как CD11b⁺ ДК, к месту инъекции у мышей с дефицитом CD4. Авторы подчеркивают, что для стимулирующего действия MF59 важен уровень экспрессии молекул МНС класса II. Механизмы, опосредующие проявление адъювантных эффектов MF59, независимых от CD4 Т-клеток, еще предстоит определить. Тем не менее авторы подчеркивают, что MF59 способствует преодолению дефекта CD4⁺ Т-клеток в индукции протективного иммунитета при иммунизации Т-зависимой вакциной против вируса гриппа. Кроме того, CD4-независимый путь развития иммунного ответа может быть альтернативным механизмом для некоторых адъювантов [57, 58]. Результаты данного исследования имеют значение для изучения возможности повышения эффективности вакцинации у лиц с ослабленной иммунной реактивностью.

P. R. Pittman [59] отмечает, что по сравнению с соединениями алюминия введение MF59 приводит к образованию АТ

в более высоких титрах и индукции формирования эффекторных Т-клеток, способствуя развитию сбалансированного иммунного ответа смешанного типа Th1/Th2.

При введении человеку MF59 способствует развитию воспалительной реакции в более ранние сроки. Отмечается, что у детей уже в первый день после иммунизации противогриппозной вакциной с MF59 индуцируются ответы IFN типа I, а у детей, иммунизированных вакциной без адьюванта, ответы IFN типа I отсрочены и выражены слабее. Развитие ответа системы врожденного иммунитета в ранние сроки способствует индукции формирования антиген-специфических фолликулярных Т-хелперов (T_H -хелперов) через 7 суток после вакцинации, а также отмечено усиление выработки АТ у лиц, вакцинированных против вируса гриппа вакциной, содержащей MF59 [14]. В исследовании К. S. Reisinger с соавт. [60] установлено, что применение указанного адьюванта позволяет снизить дозу противогриппозной вакцины. При использовании широкого диапазона доз вакцины (от 3,75 до 30 мкг гемагглютинина) оптимальный иммунный ответ развивался при ее однократном введении в дозе, содержащей 3,75 мкг АГ A/California/7/2009 (H1N1) с адьювантом MF59, лицам взрослого населения (от 18 до 64 лет) и лицам старше 65 лет [60].

Таким образом, MF59 в качестве адьюванта способствует выработке цитокинов и хемокинов, привлечению клеток к месту инъекции. Активированные АПК, поглотившие АГ, мигрируют в дренирующие лимфатические узлы, где участвуют в примировании наивных $CD4^+$ Т-клеток. Привлечение иммунных клеток под воздействием хемокинов является ключевой характеристикой механизма действия MF59.

AS03 (масляная эмульсия)

Еще одним адьювантом, относящимся к эмульсии «масло-в-воде» на основе сквалена, является AS03, который состоит из поверхностно-активного вещества полисорбата 80 и двух биоразлагаемых масел — сквалена и DL- α -токоферола — наиболее биодоступной формы витамина E [61].

Использование AS03 в качестве адьюванта, как и MF59, способствует выработке цитокинов и хемокинов в мышцах и дренирующих лимфатических узлах, усилению миграции клеток и привлечению их к месту инъекции. AS03 также стимулирует поглощение АГ АПК, в частности МЦ и ДК, которые затем мигрируют в лимфатические узлы, где происходит презентация АГ наивным $CD4^+$ Т-клеткам. В процессах, способствующих повышению миграции иммунокомпетентных клеток, участвует и DL- α -токоферол, который обладает восстанавливающими свойствами и выступает в качестве дополнительного иммуностимулятора [14, 62]. В исследовании, проведенном на мышах, показано, что AS03 индуцирует изменения экспрессии генов хемокинов как в месте инъекции, так и в дренирующих лимфатических узлах в течение 4 ч после введения. Однако изменения, наблюдаемые в лимфатических узлах, были временными и уменьшались через сутки после инъекции. Отмечается, что этот ранний ответ в основном опосредован DL- α -токоферолом [62]. В исследованиях с использованием модели *in vivo* показано, что при отсутствии DL- α -токоферола в AS03 изменяется профиль ответа системы врожденного иммунитета и наблюдается более низкий уровень гуморального иммунного ответа. Подчеркивается, что в группе животных, иммунизированных AS03, содержащим α -токоферол, наблюдалась продукция АТ в более высоких титрах. Первичными клетками-мишенями для

DL- α -токоферола являются МЦ и МФ, которые отвечают за выработку хемокинов в ответ на введение AS03. Отмечено активирующее влияние DL- α -токоферола на экспрессию хемокинов CCL2, CCL3, CXCL1, а также IL-6 и гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора [62].

С использованием модели трансгенных мышей с репортером гена люциферазы-NF- κ B показано, что адьювант AS03 индуцирует активацию фактора транскрипции NF- κ B, однако активация NF- κ B ограничена местом инъекции и лимфатическими узлами, что указывает на развитие локализованного ответа на адьювант [13, 62]. Анализируя результаты изучения влияния адьювантов на ответ системы врожденного иммунитета при введении человеку, I. Sarkar с соавт. [14] отмечают, что MF59 и AS03 способствуют раннему развитию воспалительной реакции, что совпадает с результатами исследований, проведенных на животных.

При изучении иммуностимулирующих свойств AS03 на раннем этапе развития иммунного ответа показано, что адьювант нарушает липидный обмен в моноцитарных клетках, что приводит к индукции стресса эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и активации ответа на развернутый белок (Unfolded protein response, UPR) [63]. Обнаружено, что дифференцировка T_H -хелперов и повышение аффинности специфических АТ зависят от ответа на UPR. На экспериментальной модели с использованием иммунодефицитных мышей, у которых отсутствует киназа IRE1 α /Ern1 в миелоидных клетках, показано, что недостаток экспрессии киназы, являющейся сенсором стрессовых сигналов ЭПР, приводит к подавлению дифференцировки наивных $CD4^+$ Т-клеток в T_H -хелперы, а также к уменьшению выработки IL-21, участвующего в образовании плазматических клеток и продукции АТ высокой аффинности. Отмечено, что недостаток IRE1 α /Ern1 в МЦ/МФ способствует снижению экспрессии IL-6, который играет решающую роль в дифференцировке клеток T_H -хелперов, а также в выработке IL-21 указанными клетками и в продукции АТ [63]. Таким образом, AS03 и MF59 в составе вакцин за счет стимуляции индукции ответа T_H -хелперов способствуют развитию более выраженного гуморального иммунного ответа по сравнению с соединениями алюминия, используемыми в качестве адьювантов [14].

Показана значимость MF59 и AS03 как адьювантов для вакцин против вируса птичьего гриппа А (H7N9). Отмечается, что после введения двух доз вакцины H7N9, содержащей 15 мкг гемагглютинина, без адьюванта, с адьювантами AS03 или MF59, гемагглютинирующие АТ в титре 1:40 были выявлены у 2, 57 и 84% в группах вакцинированных лиц соответственно [9]. В исследованиях Р. Moris с соавт. [64] установлено, что AS03 стимулирует выработку нейтрализующих АТ и развитие специфического иммунного ответа $CD4^+$ Т-лимфоцитов, способствует формированию как В-клеток, так и Т-клеток иммунологической памяти.

Моновалентная вакцина против вируса гриппа А (H5N1) с адьювантом AS03 была лицензирована FDA в 2013 г.³ [14]. В настоящее время AS03 входит в состав лицензированных вакцин против препандемического гриппа H5N1 (моновалентная вакцина) и пандемического гриппа H1N1 (трехвалентная вакцина). Вакцины, содержащие AS03 в качестве адьюванта, применялись при вакцинации в период пандемии свиного гриппа. Несмотря на результаты исследований, свидетельствующие о том, что AS03 улучшает иммуногенность вакцин, изучение механизма, опосредующего его стимулирующий эффект, продолжается.

³ Influenza A (H5N1) Virus Monovalent Vaccine, Adjuvanted. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/influenza-h5n1-virus-monovalent-vaccine-adjuvanted>

Адьювантные системы

Одним из перспективных подходов к повышению эффективности вакцин является сочетание в их рецептурном составе нескольких адьювантов. Такими примерами являются адьювантные системы ASO1 и ASO4.

ASO1 (адьювантная система), разработанная более 20 лет назад, представляет собой адьювант на основе липосом и состоит из двух иммуностимуляторов — монофосфорилированного липида А (MPL) и сапонина (QS-21) [65].

Липосомы являются синтетическими наносферами, состоящими из фосфолипидных бислоев, которые инкапсулируют АГ и выступают в качестве средств их доставки. Липосомы используются в вакцинных препаратах против гриппа, хламидиоза, малярии и туберкулеза. Отмечается, что совместное введение АГ с катионными липосомами приводит к индукции более сильного антиген-специфического иммунного ответа, чем при применении нейтральных или анионных липосом [65].

Монофосфорилированный липид А (MPL) (3-О-дезацил-4'-монофосфорилилипид А) является детоксицированным синтетическим производным липополисахарида (LPS) *Salmonella minnesota*. MPL сохраняет адьювантную активность LPS, но при этом обладает минимальной токсичностью [66].

MPL как агонист TLR4 индуцирует активацию системы врожденного иммунитета при связывании с указанным рецептором, стимулируя транскрипционную активность ядерного фактора NF-κB, что приводит к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов и IFNγ и в дальнейшем к развитию иммунного ответа Th1. Кроме того, MPL повышает продукцию хемокинов, при этом такие хемокины, как CCL2 и CCL3, способствуют миграции в зону инъекции МЦ, МФ и ДК [65, 66].

Оказывая влияние на систему врожденного иммунитета и на формирование адаптивного иммунного ответа, адьюванты индуцируют ряд путей передачи сигналов. В экспериментальных исследованиях С. Сөкис с соавт. [67] показано, что MPL при связывании с TLR4 селективно активирует сигнальный путь MAPK p38, что индуцирует выработку фактора некроза опухоли альфа (TNFα), IL-10, IFNγ-индуцированного белка 10 (IP-10). М. Соссиа с соавт. [68] отмечают, что введение вакцин против малярии и опоясывающего герпеса с ASO1 способствует продукции IFNγ NK-клетками в лимфатических узлах и CD8⁺ Т-клетками.

Сапонин (QS-21) выделен из коры дерева *Quillaja saponaria* и является одним из наиболее эффективных адьювантов, известных в настоящее время. В доклинических исследованиях при введении мышам, морским свинкам и обезьянам QS-21 проявлял выраженный адьювантный эффект в отношении широкого круга АГ. Показано, что при добавлении в вакцину он стимулирует иммунные реакции типа Th1 и Th2 [69]. Однако механизм действия QS-21 до конца не изучен. Высказываются гипотезы о том, что QS-21 может способствовать поглощению АГ АПК путем связывания с поверхностными лектинами клеток через их углеводные домены, что приводит к активации цитокинов, усиливающих ответ Т- и (или) В-клеток [70]. Отмечается, что экзогенные АГ и QS-21 поглощаются ДК в результате холестерин-зависимого эндоцитоза, при котором высокое сродство QS-21 к эндосомальному мембранному холестерину приводит к дестабилизации мембраны и образованию пор. После процессинга АГ внутри клетки пептиды в комплексе с молекулами МНС класса I представляются на поверхности ДК наивным CD8⁺ Т-лимфоцитам, способствуя формированию цитотоксических Т-лимфоцитов [69, 70].

В исследованиях *in vitro*, проведенных с использованием АПК мышей (ДК и МФ), QS-21 охарактеризован как активатор инфламматомы NLRP3. Показано, что QS-21 в сочетании с MPL активирует белковый комплекс ACS-NLRP3, что вызывает индукцию синтеза провоспалительных цитокинов IL-1β/IL-18, которые способствуют созреванию клеток Th17 или формированию ответа Th1, опосредованного IFN, соответственно. Однако в условиях *in vivo* стимулирующего действия QS-21 в активации NLRP3 не наблюдалось [71]. Отмечается, что QS-21 в составе липосом активирует ДК человека, стимулируя холестерин-зависимый эндоцитоз с последующей дестабилизацией липосом и активацией тирозинкиназы Syk, которая участвует в передаче сигналов от мембранных рецепторов, включая В-клеточный рецептор, а также в регуляции иммунного ответа [31].

При введении мышам поверхностного антигена гепатита В HBsAg в сочетании с адьювантной системой ASO1 отмечена ранняя продукция IFNγ, пик концентрации которого (300 пг/мл) наблюдался через 6 ч после иммунизации, в то время как отдельно взятые MPL или QS-21 не индуцировали аналогичный уровень продукции IFNγ. Вероятно, стимулирующий эффект ASO1 является результатом синергетического действия MPL/QS-21. С. Сөкис с соавт. [67] подчеркивают, что активация провоспалительных сигнальных путей имеет потенциальные возможности для индукции развития Т-хелперов определенной направленности. Однако определение роли этих путей передачи сигналов при развитии иммунного ответа в организме человека требует дальнейшего изучения.

В публикации М. А. Lacaille-Dubois [72] отмечается, что адьювантный эффект сапонина зависит от MyD88-опосредованного сигнального пути рецептора IL-18. По мнению автора, ASO1 эффективен при стимуляции иммунного ответа, опосредованного CD4⁺ Т-клетками, и является перспективным адьювантом для включения в вакцины против различных вирусных инфекций. Усиление выраженности адаптивного иммунного ответа под влиянием ASO1 зависит от синергетического эффекта QS-21 и MPL [72].

Обобщая результаты изучения механизма действия QS-21, можно заключить, что его стимулирующее влияние на развитие гуморального и клеточного иммунного ответа опосредовано:

- воздействием на АПК и Т-клетки, что приводит к активации синтеза цитокинов Th1 и способствует элиминации внутриклеточных патогенов;
- активацией инфламматомы NLRP3 в АПК и последующей продукции цитокинов IL-1β и IL-18, важных для развития ответа Th1;
- синергетическим эффектом MPL и QS-21, инкапсулированных в липосоме, проявляющимся в раннем ответе IFNγ, что способствует повышению иммуногенности вакцины [73].

Несмотря на то что адьювантные свойства QS-21 изучались на этапе клинических исследований многих вакцин, адьювантная система ASO1 входит в состав только двух вакцин, зарегистрированных EMEA: против малярии (Mosquirix™) и опоясывающего герпеса (Shingrix™), разработанных компанией GlaxoSmithKline⁴ [74].

Исследования безопасности и эффективности вакцины Mosquirix™ свидетельствуют о том, что у детей 5–17 месяцев и младенцев 6–12 недель после первых трех инъекций в течение последующих 18 месяцев были предотвращены случаи развития тяжелого течения малярии [75].

Инфицирование *Herpes zoster* может привести к серьезным осложнениям, включая постгерпетическую невралгию. На

⁴ Mosquirix H-W-2300. EMA. <https://www.ema.europa.eu/en/mosquirix-h-w-2300>
Shingrix. EMA. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/shingrix>

основании результатов исследований фазы I/II показано, что субъединичная вакцина, содержащая рекомбинантный гликопротеин Е вируса ветряной оспы в качестве АГ и адьювантную систему AS01, хорошо переносится и обладает высокой иммуногенностью, индуцируя развитие клеточно-опосредованного и гуморального иммунного ответа. В 2017 г. FDA лицензировало вакцину Shingrix™, которая при введении человеку обеспечивает более сильную защиту от *H. zoster* по сравнению с живой аттенуированной вакциной Zostavax® [76].

Впервые введенная в клиническую практику в 1921 г. вакцина Bacillus Calmette-Guérin (BCG) является единственной в настоящее время лицензированной вакциной от туберкулеза. Она защищает детей от менингеальных и тяжелых форм туберкулеза с летальным исходом, но имеет ограниченные возможности для защиты подростков и взрослых от легочной формы туберкулеза, что является основной причиной высокого уровня заболеваемости и смертности этой возрастной группы населения. Существует острая необходимость в создании новой улучшенной вакцины против возбудителя этого заболевания, которое стало причиной глобальной угрозы для здоровья человечества. Новая разрабатываемая вакцина M72/AS01 содержит рекомбинантный белок слияния, полученный из двух АГ *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb32A и Mtb39A) и AS01. Анализ результатов клинического исследования I/II фазы M72/AS01 показал, что вакцина клинически хорошо переносится, отмечено формирование выраженного ответа специфических CD4⁺ Т-клеток типа Th1, ко-экспрессирующих CD40L, IL-2, INFα и INFγ, а также отмечена выработка специфических АТ в высоких титрах. В клиническом исследовании IIb фазы, проведенном на ВИЧ-инфицированных взрослых, латентно инфицированных *M. tuberculosis*, показано, что M72/AS01 обеспечивает защиту от активного туберкулеза легких у 54% лиц данной группы [77]. Указанные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшей оценки вакцины M72/AS01 с целью изучения возможности ее использования для борьбы с туберкулезом.

Таким образом, MPL активирует АПК через TLR4; QS-21 активирует инфламмасому NLRP3, что индуцирует синтез IL-1β и IL-18. При этом MPL и QS-21 действуют синергетически, увеличивая выработку хемокинов, стимулируя миграцию МЦ и ДК. В лимфатических узлах активированные ДК индуцируют дифференцировку наивных CD4⁺ Т-клеток в CD4⁺ Т-клетки памяти и CD4⁺ Т-эффекторные клетки. Цитокины, секретируемые CD4⁺ Т-эффекторными клетками, стимулируют дифференцировку наивных В-клеток в плазматические клетки и В-клетки памяти.

AS04 (адьювантная система). Соединения алюминия использовались в качестве платформы для разработки и изучения новых адьювантов, состоящих из сорбированных на них различных агонистов TLRs. К таким адьювантам относится AS04, который содержит MPL, адсорбированный на гидроксиде алюминия. В настоящее время зарегистрированы две вакцины, содержащие AS04: бивалентная вакцина против вируса папилломы человека (HPV) (Cervarix®) (зарегистрирована в Российской Федерации), которая является первой вакциной с адьювантом AS04, и вакцина против вируса гепатита В (HBV) (Fendrix), рекомендуемая для вакцинации пациентов, находящихся на гемодиализе (зарегистрирована EMEA)⁵ [74].

Показано, что MPL способствует развитию иммунного ответа в более ранние сроки. После введения экспериментальным животным MPL или AS04 через 3–6 ч в месте инъекции отмечена индукция синтеза цитокинов, которые усиливают миграцию различных иммунных клеток и их привлечение в мыш-

цы и дренирующие лимфатические узлы [31]. Отмечается, что гидроксид алюминия не обладает синергетическим действием с MPL, его присутствие важно для повышения продолжительности иммунного ответа за счет эффекта депо, а также для стабилизации MPL и АГ в вакцине [66].

AS04 способствует развитию местной воспалительной реакции, участвует в активации транскрипционного фактора NF-κB, стимулирует продукцию цитокинов. Для проявления адьювантной активности AS04 в индукции оптимального иммунного ответа необходимо его совместное локальное введение с АГ одновременно или в течение 24 ч [31, 66]. Это способствует увеличению количества активированных МЦ и ДК, нагруженных АГ, в дренирующих лимфатических узлах, созреванию ДК, которые активируют наивные Т-клетки [66]. В целом эти результаты свидетельствуют о том, что адсорбция MPL на гидроксиде алюминия усиливает иммунный ответ на вакцину за счет быстрого запуска секреции цитокинов в месте инъекции и оптимальной активации АПК.

AS04 является эффективным адьювантом, опосредующим также развитие и гуморального иммунного ответа. В публикации G. Del Giudice [31] отмечается, что у человека при использовании AS04 в качестве адьюванта в вакцинах против вируса гепатита В и вируса папилломы человека вместо одного гидроксида алюминия индуцируется более высокий уровень АТ, что указывает на адьювантный эффект MPL.

Известно, что соединения алюминия не индуцируют развитие ответа CD8⁺ Т-клеток. Однако в сочетании с MPL гидроксид алюминия способствует формированию ответа Th1, как это выявлено при применении AS04 [66]. При введении АГ вирусоподобных частиц белка L1 вируса папилломы человека (HPV-16 и HPV-18) с AS04 отмечен более высокий уровень синтеза IFNγ, маркера иммунного ответа Th1, а также IL-2 по сравнению с использованием только гидроксида алюминия в качестве адьюванта [78, 79]. Вероятно, AS04 более эффективен в индукции механизмов, направляющих дифференцировку CD4⁺ Т-клеток, что способствует развитию ответа Th1 [1]. В связи с этим преимуществом AS04 при его включении в состав вакцин является индукция развития выраженных иммунных реакций Th1 [77].

Агонисты TLRs, используемые в качестве адьювантов, повышают экспрессию поверхностных маркеров на В-клетках, участвующих в презентации АГ (молекулы МНС классов I и II), и костимулирующих молекул, участвующих во взаимодействии с Т-клетками (CD40, CD80 и CD86), что способствует повышению продукции специфических АТ [80]. При введении вакцины против HPV с адьювантом AS04 наблюдалось формирование нейтрализующих АТ в высоких титрах на слизистой оболочке шейки матки у женщин в возрасте 15–55 лет. Значимость вклада MPL в адьювантный эффект AS04 для указанной вакцины подтверждена результатами клинических исследований, согласно которым показано, что адьювант стимулирует образование специфических АТ и способствует формированию В-клеток памяти. Отмечается, что вакцина вызывает перекрестную защиту от некоторых других онкогенных вирусов типов HPV (в частности, HPV-31, 33 и 45), не содержащихся в вакцине [81, 82].

У пациентов, находящихся на гемодиализе, не формируется напряженный иммунитет при вакцинации, в том числе и против HBV. Новая рекомбинантная вакцина против HBV, содержащая в своем составе AS04 в качестве адьюванта (HBV-AS04), отличается более высокой иммуногенностью при применении в указанной группе вакцинируемых лиц. Отмечается, что переносимость HBV-AS04 была удовлетворительной, проявление побочного действия наблюдалось в незначительной степени [83].

⁵ Fendrix. EMA. www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/fendrix

Заключение

Одним из наиболее важных вопросов при разработке эффективных и безопасных вакцин является выбор подходящего адъюванта, который обладает выраженным иммуногенным потенциалом и отвечает требованиям безопасности при использовании в медицинской практике. Лучшим адъювантом считается тот, который способствует развитию наиболее выраженного специфического иммунного ответа и представляет наименьший риск для здоровья человека.

Важным этапом в создании безопасных и эффективных адъювантов является разработка масляных эмульсий (например, MF59) и адъювантных систем (например, комбинация гидроксида алюминия и MPL (AS04)), которые успешно использовались при вакцинации миллионов людей. Указанные адъюванты могут рассматриваться в качестве платформы для разработки составов следующего поколения адъювантов, таких как эмульсии на основе синтетических, дрожжевых или растительных масел и адъюванты на основе синтетических лигандов TLR4. Такие достижения расширяют доступность определенных адъювантов с более понятным механизмом действия, которые могут быть получены в промышленных масштабах.

Понимание механизмов действия существующих адъювантов требует дальнейшего совершенствования, поскольку имеет решающее значение для использования потенциала существующих и новых адъювантов в стимуляции развития оптимального иммунного ответа против различных возбудителей инфекции.

Во второй части статьи будут представлены данные, касающиеся характеристики и механизмов действия таких адъювантов, как синтетический олигодезоксирибонуклеотид, содержащий последовательности цитозина-гуанина (CpG 1018), виросомы, полиоксидоний, совидон, также входящих в состав зарегистрированных вакцин. Кроме того, будут обобщены сведения об эффектах адъювантов, используемых в исследованиях по разработке вакцин против коронавирусов SARS-CoV и MERS-CoV.

Окончание следует.

Вклад авторов. *Н. А. Алпатова* — написание, доработка текста рукописи; *Ж. И. Авдеева* — идея исследования, обобщение материала и формулировка выводов исследования; *С. Л. Лысикова* — сбор и систематизация данных; *О. В. Головинская* — концепция и дизайн исследования; *Л. А. Гайдерова* — окончательное утверждение версии рукописи для публикации.

Authors' contributions. *Natalia A. Alpatova*—writing, revising the text; *Zhanna I. Avdeeva*—proposing the idea of the study, consolidation of data, formulation of study findings; *Svetlana L. Lysikova*—data collection and systematisation; *Olga V. Golovinskaya*—elaboration of the study concept and design; *Lidia A. Gayderova*—final approval of the paper version to be published.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР ААААА18-118021590046-9).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9).

Конфликт интересов. Ж. И. Авдеева является членом редакционной коллегии журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение».

Conflict of interest. Zhanna I. Avdeeva is a member of the Editorial Board of the *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

Литература/References

- Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, Sun B. Vaccine adjuvants: understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. *Vaccine*. 2019;37(24):3167–78. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.04.055>
- Медуницын НВ, Миронов АН, Мовсесянц АА. *Теория и практика вакцинологии*. М.: РЕМЕДИУМ; 2015. [Medunitsyn NV, Mironov AN, Movsesyants AA. *Theory and practice of vaccinology*. Moscow: REMEDIUM; 2015 (In Russ.)]
- Chan EH, Brewer TF, Madoff LC, Pollack MP, Sonricker AL, Keller M, et al. Global capacity for emerging infectious disease detection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(50):21701–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1006219107>
- WHO Ebola Response Team, Aylward B, Barboza P, Bawo L, Bertherat E, Bilivogui P, et al. Ebola virus disease in West Africa — the first 9 months of the epidemic and forward projections. *N Engl J Med*. 2014;371(16):1481–95. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411100>
- Gupta T, Gupta SK. Potential adjuvants for the development of a SARS-CoV-2 vaccine based on experimental results from similar coronaviruses. *Int Immunopharmacol*. 2020;86:106717. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106717>
- Falsey AR, Treanor JJ, Tornieporth N, Capellan J, Gorse GJ. Randomized, double-blind controlled phase 3 trial comparing the immunogenicity of high-dose and standard-dose influenza vaccine in adults 65 years of age and older. *J Infect Dis*. 2009;200(2):172–80. <https://doi.org/10.1086/599790>
- Leroux-Roels G. Unmet needs in modern vaccinology: adjuvants to improve the immune response. *Vaccine*. 2010;28(Suppl 3):25–36. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.021>
- Banzhoff A, Gasparini R, Laghi-Pasini F, Staniscia T, Durando P, Montomoli E, et al. MF59-adjuvanted H5N1 vaccine induces immunologic memory and heterotypic antibody responses in non-elderly and elderly adults. *PLoS ONE*. 2009;4(2):e4384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004384>
- Jackson LA, Campbell JD, Frey SE, Edwards KM, Keitel WA, Kotloff KL, et al. Effect of varying doses of a monovalent H7N9 influenza vaccine with and without AS03 and MF59 adjuvants on immune response: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2015;314(3):237–46. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.7916>
- Reed SG, Orr MT, Fox CB. Key roles of adjuvants in modern vaccines. *Nat Med*. 2013;19(12):1597–608. <https://doi.org/10.1038/nm.3409>
- Powell BS, Andrianov AK, Fusco PC. Polyionic vaccine adjuvants: another look at aluminum salts and polyelectrolytes. *Clin Exp Vaccine Res*. 2015;4(1):23–45. <https://doi.org/10.7774/cevr.2015.4.1.23>
- Coffman RL, Sher A, Seder RA. Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity*. 2010;33(4):492–503. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.002>
- Harandi AM. Systems analysis of human vaccine adjuvants. *Semin Immunol*. 2018;39:30–4. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2018.08.001>
- Sarkar I, Garg R, van Drunen Littel-van den Hurk S. Selection of adjuvants for vaccines targeting specific pathogens. *Expert Rev Vaccines*. 2019;18(5):505–21. <https://doi.org/10.1080/14760584.2019.1604231>
- Alving CR, Matyas GR, Torres O, Jalah R, Beck Z. Adjuvants for vaccines to drugs of abuse and addiction. *Vaccine*. 2014;32(42):5382–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.07.085>
- HogenEsch H, O'Hagan DT, Fox CB. Optimizing the utilization of aluminum adjuvants in vaccines: you might just get what you want. *NPJ Vaccines*. 2018;3:51. <https://doi.org/10.1038/s41541-018-0089-x>

17. He P, Zou Y, Hu Z. Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism. *Hum Vaccin Immunother.* 2015;11(2):477–88. <https://doi.org/10.1080/21645515.2014.1004026>
18. Trier NH, Güven E, Skogstrand K, Ciplys E, Slibinskas R, Houen G. Comparison of immunological adjuvants. *APMIS.* 2019;127(9):635–41. <https://doi.org/10.1111/apm.12976>
19. Glennly AT, Pope CG, Waddington H, Wallace U. Immunology notes. XXIII. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *J Pathol Bacteriol.* 1926;29:31–40. <http://dx.doi.org/10.1002/path.1700290106>
20. Awate S, Babuik LA, Mutwiri G. Mechanisms of action of adjuvants. *Front Immunol.* 2013;4:114. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00114>
21. Aimaniananda V, Haensler J, Lacroix-Desmazes S, Kaveri SV, Bayry J. Novel cellular and molecular mechanisms of induction of immune responses by aluminum adjuvants. *Trends Pharmacol Sci.* 2009;30(6):287–95. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.03.005>
22. Ghimire TR, Benson RA, Garside P, Brewer JM. Alum increases antigen uptake, reduces antigen degradation and sustains antigen presentation by DCs in vitro. *Immunol Lett.* 2012;147(1-2):55–62. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2012.06.002>
23. Calabro S, Tortoli M, Baudner BC, Pacitto A, Cortese M, O'Hagan DT, et al. Vaccine adjuvants alum and MF59 induce rapid recruitment of neutrophils and monocytes that participate in antigen transport to draining lymph nodes. *Vaccine.* 2011;29(9):1812–23. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.12.090>
24. Lu F, Hogenesch H. Kinetics of the inflammatory response following intramuscular injection of aluminum adjuvant. *Vaccine.* 2013;31(37):3979–86. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.107>
25. Apostólico JS, Lunardelli VA, Coirada FC, Boscardin SB, Rosa DS. Adjuvants: classification, *modus operandi*, and licensing. *J Immunol Res.* 2016;2016:1459394. <https://doi.org/10.1155/2016/1459394>
26. Hutchison S, Benson RA, Gibson VB, Pollock AH, Garside P, Brewer JM. Antigen depot is not required for alum adjuvant activity. *FASEB J.* 2012;26(3):1272–9. <https://doi.org/10.1096/fj.11-184556>
27. Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, Samstad EO, Kono H, Rock KL, et al. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol.* 2008;9(8):847–56. <https://doi.org/10.1038/ni.1631>
28. Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W, Sutterwala FS, Flavell RA. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature.* 2008;453(7198):1122–6. <https://doi.org/10.1038/nature06939>
29. Li H, Willingham SB, Ting JP, Re F. Cutting edge: inflammasome activation by alum and alum's adjuvant effect are mediated by NLRP3. *J Immunol.* 2008;181(1):17–21. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.1.17>
30. Marrack P, McKee AS, Munks MW. Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(4):287–93. <https://doi.org/10.1038/nri2510>
31. Del Giudice G, Rappuoli R, Didierlaurent AM. Correlates of adjuvant activity: a review on adjuvants in licensed vaccines. *Semin Immunol.* 2018;39:14–21. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2018.05.001>
32. Franchi L, Núñez G. The Nlrp3 inflammasome is critical for aluminium hydroxide-mediated IL-1 β secretion but dispensable for adjuvant activity. *Eur J Immunol.* 2008;38(8):2085–9. <https://doi.org/10.1002/eji.200838549>
33. McKee AS, Munks MW, MacLeod MKL, Fleenor CJ, Van Rooijen N, Kappler JW, Marrack P. Alum induces innate immune responses through macrophage and mast cell sensors, but these sensors are not required for alum to act as an adjuvant for specific immunity. *J Immunol.* 2009;183(7):4403–14. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900164>
34. Flach TL, Ng G, Hari A, Desrosiers MD, Zhang P, Ward SM, et al. Alum interaction with dendritic cell membrane lipids is essential for its adjuvant activity. *Nat Med.* 2011;17(4):479–87. <https://doi.org/10.1038/nm.2306>
35. Kool M, Soullié T, van Nimwegen M, Willart MAM, Muskens F, Jung S, et al. Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells. *J Exp Med.* 2008;205(4):869–82. <https://doi.org/10.1084/jem.20071087>
36. Liang F, Lindgren G, Sandgren KJ, Thompson EA, Francica JR, Seubert A, et al. Vaccine priming is restricted to draining lymph nodes and controlled by adjuvant-mediated antigen uptake. *Sci Transl Med.* 2017;9(393):eaal2094. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aal2094>
37. Kooijman S, Brummelman J, van Els CACM, Marino F, Heck AJR, Mommen GPM, et al. Novel identified aluminum hydroxide-induced pathways prove monocyte activation and pro-inflammatory preparedness. *J Proteomics.* 2018;175:144–55. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.12.021>
38. Kooijman S, Brummelman J, van Els CACM, Marino F, Heck AJR, van Riet E, et al. Vaccine antigens modulate the innate response of monocytes to Al(OH) $_3$. *PLoS One.* 2018;13(5):e0197885. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197885>
39. Hogenesch H. Mechanisms of stimulation of the immune response by aluminium adjuvants. *Vaccine.* 2002;20(Suppl 3):S34–9. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(02\)00169-X](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(02)00169-X)
40. Marichal T, Ohata K, Bedoret D, Mesnil C, Sabatel C, Kobiyama K, et al. DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. *Nat Med.* 2011;17(8):996–1002. <https://doi.org/10.1038/nm.2403>
41. McKee AS, Burchill MA, Munks MW, Jin L, Kappler JW, Friedman RS, et al. Host DNA released in response to aluminum adjuvant enhances MHC class II-mediated antigen presentation and prolongs CD4 T-cell interactions with dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110(12):E1122–31. <https://doi.org/10.1073/pnas.1300392110>
42. Stephen J, Scales HE, Benson RA, Erben D, Garside P, Brewer JM. Neutrophil swarming and extracellular trap formation play a significant role in Alum adjuvant activity. *NPJ Vaccines.* 2017;2:1. <https://doi.org/10.1038/s41541-016-0001-5>
43. Mori A, Oleszycka E, Sharp FA, Coleman M, Ozasa Y, Singh M, et al. The vaccine adjuvant alum inhibits IL-12 by promoting PI3 kinase signaling while chitosan does not inhibit IL-12 and enhances Th1 and Th17 responses. *Eur J Immunol.* 2012;42(10):2709–19. <https://doi.org/10.1002/eji.201242372>
44. Oleszycka E, McCluskey S, Sharp FA, Muñoz-Wolf N, Hams E, Gorman AL, et al. The vaccine adjuvant alum promotes IL-10 production that suppresses Th1 responses. *Eur J Immunol.* 2018;48(4):705–15. <https://doi.org/10.1002/eji.201747150>
45. Didierlaurent AM, Morel S, Lockman L, Giannini SL, Bisteau M, Carlsen H, et al. AS04, an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. *J Immunol.* 2009;183(10):6186–97. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901474>
46. Ebensen T, Delandre S, Prochnow B, Guzmán CA, Schulze K. The combination vaccine adjuvant system alum/c-di-AMP results in quantitative and qualitative enhanced immune responses post immunization. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:31. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00031>
47. Orr MT, Khandhar AP, Seydoux E, Liang H, Gage E, Mikasa T, et al. Reprogramming the adjuvant properties of aluminum

77. Van der Meeren O, Hatherill M, Nduba V, Wilkinson RJ, Muyoyeta M, Van Brakel E, et al. Phase 2b controlled trial of M72/AS01_E vaccine to prevent tuberculosis. *N Engl J Med*. 2018;379(13):1621–34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803484>
78. Burny W, Callegaro A, Bechtold V, Clement F, Delhaye S, Fissette L, et al. Different adjuvants induce common innate pathways that are associated with enhanced adaptive responses against a model antigen in humans. *Front Immunol*. 2017;8:943. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00943>
79. Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only. *Vaccine*. 2006;24(33-34):5937–49. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.06.005>
80. Keam SJ, Harper DM. Human papillomavirus types 16 and 18 vaccine (recombinant, AS04 adjuvanted adsorbed) [Cervarix™]. *Drugs*. 2008;68(3):359–72. <https://doi.org/10.2165/00003495-200868030-00007>
81. Toussi DN, Massari P. Immune adjuvant effect of molecularly-defined toll-like receptor ligands. *Vaccines (Basel)*. 2014;2(2):323–53. <https://doi.org/10.3390/vaccines2020323>
82. Garçon N, Morel S, Didierlaurent A, Descamps D, Wettendorff M, Van Mechelen M. Development of an AS04-adjuvanted HPV vaccine with the adjuvant system approach. *BioDrugs*. 2011;25(4):217–26. <https://doi.org/10.2165/11591760-000000000-00000>
83. Fabrizi F, Tarantino A, Castelnovo C, Martín P, Messa P. Recombinant Hepatitis B vaccine adjuvanted with as04 in dialysis patients: a prospective cohort study. *Kidney Blood Press Res*. 2015;40(6):584–92. <https://doi.org/10.1159/000368534>

Об авторах / Authors

Алпатова Наталья Александровна, канд. биол. наук. *Natalia A. Alpatova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6807-508X>

Авдеева Жанна Ильдаровна, д-р мед. наук, проф. *Zhanna I. Avdeeva*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9377-1378>

Лысикова Светлана Леонидовна, канд. мед. наук. *Svetlana L. Lysikova*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7864-8972>

Головинская Ольга Вячеславовна, канд. мед. наук. *Olga V. Golovinskaya*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6966-9859>

Гайдерова Лидия Александровна, канд. мед. наук. *Lidia A. Gayderova*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6176-5934>

Поступила 14.09.2020

После доработки 28.10.2020

Принята к публикации 04.12.2020

Received 14 September 2020

Revised 28 October 2020

Accepted 4 December 2020