

ВИРУС ЛАССА: ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФЕКЦИОННОГО АГЕНТА, БИОЛОГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОГЕНЕЗА, ВАРИАНТЫ ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Казачинская Е.И.^{1,2}, Арипов В.С.², Зайковская А.В.²,
Шестопапов А.М.¹

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»
Министерства науки и высшего образования РФ, г. Новосибирск, Россия

² ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора,
р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Резюме. Вирус Ласса (*Lassa virus*, LASV), отнесенный к роду *Mammarenavirus* семейства *Arenaviridae*, является этиологическим агентом лихорадки Ласса (ЛЛ) – заболевания, широко распространенного в Африке и которое протекает без симптомов в среднем у четырех из пяти инфицированных. Ежегодная заболеваемость колеблется от 100 до 500 тыс. зарегистрированных клинических случаев с летальностью 1-2% от этого числа, но среди госпитализированных пациентов с тяжелыми симптомами геморрагической лихорадки этот показатель может быть от 14 до 89,5%. Открытое кровотечение и нарушения ЦНС (судороги, тремор, дезориентация и кома) являются признаками неблагоприятного исхода. Смерть наступает от полиорганной недостаточности. У тяжело переболевших людей при медленно протекающей реконвалесценции возможны рецидивы заболевания и осложнения – пневмонии, миокардиты, психозы, потеря слуха.

На эндемичных территориях передача вируса происходит алиментарным, воздушно-пылевым и воздушно-капельным путем от зоонозного источника – грызунов вида «африканская многососковая крыса» (*Mastomys natalensis*), при случайном контакте людей с выделениями (мочой, калом, слюной) животных, а также при разделывании тушек и употреблении в пищу. Для этих грызунов характерно бессимптомное носительство, сопровождаемое пожизненной персистенцией вируса. Описаны случаи передачи вируса от человека к человеку через кровь или другие биологические жидкости организма заболевших. Больной человек является источником инфекции в течение двух месяцев, т.к. вирус циркулирует в крови на фоне высокого уровня антител. Инфицирование медицинских работников происходит при экстренных хирургических операциях или при несоблюдении правил контактных мер предосторожности. В настоящее время, при продолжающейся с 2016 г. вспышке ЛЛ в Нигерии, в больницах зарегистрированы 22 и 8%-ные уровни летальности пациентов и медицинских работников соответственно. В течение 1969-2016 гг. описано 33 импортированных случая этой болезни из Западной Африки на не эндемичные территории (в США, Канаду, Великобританию, Нидерланды, Германию, Израиль и Японию). Летальность среди этих заболевших составила 39%.

Адрес для переписки:

Казачинская Елена Ивановна
ФБУН «Государственный научный центр вирусологии
и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора
630559, Россия, Новосибирская обл., р. п. Кольцово, 32-1.
Тел.: 8 (909) 530-74-41.
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

Address for correspondence:

Kazachinskaya Elena I.
Vector State Research Centre of Virology and Biotechnology
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region,
Koltsovo, 32-1.
Phone: 7 (909) 530-74-41.
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

Образец цитирования:

Е.И. Казачинская, В.С. Арипов, А.В. Зайковская,
А.М. Шестопапов «Вирус Ласса: характеристика
инфекционного агента, биологические модели для
исследования патогенеза, варианты вакцинных
препаратов» // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23,
№ 1. С. 35-48. doi: 10.15789/1563-0625-LVC-2060
© Казачинская Е.И. и соавт., 2021

For citation:

E.I. Kazachinskaya, V.S. Aripov, A.V. Zaikovskaya,
A.M. Shestopalov “Lassa virus: characterization of infectious
agent, biological models for pathogenesis studies and variants
of vaccine”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2021, Vol. 23, no. 1, pp. 35-48.
doi: 10.15789/1563-0625-LVC-2060
DOI: 10.15789/1563-0625-LVC-2060

Отсутствие профилактических вакцин и специфических терапевтических препаратов является основной проблемой для профилактики ЛЛ, в связи с этим в данном обзоре рассматриваются биологические модели (культуры клеток и животные), подходящие для изучения патогенеза этой болезни, доклинического исследования специфической активности и безвредности кандидатных вакцин, а также варианты этих разработок на основе таких платформ, как: инактивированный LASV и его ДНК, реассортант аренавируса Мопея, аттенуированные штаммы вирусов желтой лихорадки и кори, рекомбинантные и репликативно-дефектные вирусы (осповакцины, венесуэльского энцефалита лошадей, везикулярного стоматита крупного рогатого скота, аденовируса шимпанзе) и вирусоподобные частицы.

Ключевые слова: вирус Ласса (Lassa virus, LASV), лихорадка Ласса (ЛЛ), биологические модели, вакцины

LASSA VIRUS: CHARACTERIZATION OF INFECTIOUS AGENT, BIOLOGICAL MODELS FOR PATHOGENESIS STUDIES AND VARIANTS OF VACCINE

Kazachinskaya E.I.^{a,b}, Aripov V.S.^b, Zaikovskaya A.V.^b,
Shestopalov A.M.^a

^a Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

^b Vector State Research Centre of Virology and Biotechnology, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Abstract. Lassa virus (LASV) is classified into genus *Mammarenavirus* of *Arenaviridae* family. This virus is etiological agent of Lassa fever (LF) which is widespread in Africa. On average, in four out of five infected people, LF occurs without symptoms. The annual incidence ranges from 100,000 to 500,000 registered clinical cases, at a mortality rate of 1-2%. Among hospitalized patients with severe symptoms of hemorrhagic fever, this figure may be from 14 to 89.5%. Signs of an adverse outcome in LF are open bleeding and disorders of CNS (convulsions, tremor, disorientation and coma). Death occurs from multiple organ failure. Severely ill people recover slowly and may have relapses and complications such as pneumonia, myocarditis, psychosis, and hearing loss.

Transmission of the virus in endemic territories occurs by alimentary way, air-dust and airborne droplets from a zoonotic source – rodents of the species African multimammate rat (*Mastomys natalensis*), by accidental contacts of people with their secretions (urine, feces, saliva) as well as when butchering carcasses and eating rodents. These animals are characterized by asymptomatic carrier and life-long persistence of the virus. Cases of transmission of the virus from person to person through the blood or other body fluids of patients are described. A sick person is contagious for two months, because the virus circulates in the blood despite high levels of antibodies. Infection of medical staff occurs during emergency surgical operations, or when the rules of contact precautions are not observed. Currently, with the ongoing LF outbreak in Nigeria, since 2016, hospitals have registered mortality rates of 22 and 8% for patients and health workers, respectively. During 1969-2016, 33 imported cases of this disease were described from West Africa to non-endemic territories (in the USA, Canada, Great Britain, the Netherlands, Germany, Israel and Japan). The mortality rate among these patients was 39%.

The lack of prophylactic vaccines and specific therapeutic drugs is the major challenge for the prevention of LF. Thus, this review considers biological models (cell cultures and animals) that are suitable for studying the pathogenesis of this disease, preclinical studies of the specific activity and harmlessness of candidate vaccines, as well as options for these developments based on the platforms such as inactivated LASV and its DNA, the reassortant of *Mopeia* arenavirus, and measles virus attenuated strains, recombinant and replication-defective viruses (smallpox vaccine, Venezuelan equine encephalitis, bovine vesicular stomatitis, adenovirus of chimpanzee) and virus-like particles.

Keywords: Lassa virus (LASV), Lassa fever (LF), biological models, vaccines

Введение

Вирус Ласса (Lassa virus, LASV) является этиологическим агентом лихорадки Ласса (ЛЛ) – антропозоонозного заболевания, широко распространенного в Африке, на территориях таких стран, как Нигерия, Сьерра-Леоне, Либерия, Кот-д’Ивуар, Гвинея, Мали, Сенегал, Буркина-Фасо, Центральноафриканская Республика и Мозамбик, где обитают грызуны вида «африканская многососковая крыса» (*Mastomys natalensis*) – основные переносчики LASV. Для этих животных характерно бессимптомное носительство и пожизненная персистенция вируса, который выделяется с мочой, калом, слюной и сохраняет свои свойства при высушивании. Заражение людей, проживающих на эндемичных территориях, происходит алиментарным, воздушно-пылевым, воздушно-капельным путем в течение всего года, а пик заболеваемости приходится на сезон дождей (январь–декабрь), когда грызуны поселяются в человеческих жилищах. Вспышки болезни чаще всего возникают в бедных сельских районах из-за случайного контакта людей с выделениями, оставленными животными на продуктах питания в результате недостаточно надежной практики их хранения. Например, с мочой грызунов выделяется от одной до 10 тыс. инфекционных частиц в миллилитре. Кроме того, известно, что при скудном рационе местные жители употребляют грызунов в пищу. Заражение также может произойти и при разделывании тушек [1, 4, 47].

ЛЛ отличается от других аренавирусных инфекций (например, аргентинской и боливийской лихорадок, вызванных вирусами Хунин и Мачупо соответственно) тем, что передача вируса может происходить и от человека к человеку через инфицированную кровь или другие жидкости организма [56]. Ежегодная заболеваемость ЛЛ в Африке колеблется от 100 до 500 тыс. клинических случаев при общем показателе летальности 1-2% от этого числа. Но среди госпитализированных пациентов с тяжелыми симптомами геморрагической лихорадки показатель может быть от 14 до 89,5% [56]. Данные по летальности в разных источниках сильно варьируют, отмечается связь географического расположения вспышек с симптомами болезни, вероятно, из-за различной вирулентности циркулирующих генотипов LASV. Однако роль конкретного генотипа в тяжести заболевания пока неизвестна [1]. Изоляты LASV генотипически разделены на шесть линий (I–VI). Из них I–III линии локализуются в Нигерии, IV циркулируют в Сьерра-Леоне, Гвинея, Либерии и Кот-д’Ивуаре, V – в Мали и Кот-д’Ивуаре [38] и линия VI, в которую включили изолят Како, недавно выделенный в Нигерии от вида лесной

мышы (*Hylomyscus pamfi*) [43]. Резкое увеличение случаев ЛЛ в Нигерии в 2018 г. активизировало исследования возможного появления нового генотипа с более высокой скоростью передачи от человека к человеку [32].

В среднем, у четырех из пяти инфицированных ЛЛ протекает без симптомов. Примерно 15-20% случаев инфекции приводят к заболеваниям средней и тяжелой степени тяжести. Болезнь обычно начинается с лихорадки и множества других неспецифических проявлений, таких как недомогание, боль в груди и в горле, головная боль, кашель, миалгия и желудочно-кишечные симптомы (тошнота, рвота и диарея). При тяжелом течении ЛЛ примерно в 30% возникает открытое кровотечение, что является признаком неблагоприятного исхода. На последних стадиях тяжелой болезни также наблюдаются признаки нарушения ЦНС – судороги, тремор, дезориентация и кома. Смерть наступает от полиорганной недостаточности между 10-14-ми сутками после появления симптомов. У тяжело переболевших реконвалесценция протекает медленно, возможны рецидивы заболевания и осложнения – пневмонии, миокардиты, психозы. Потеря слуха может произойти как при тяжелой, так и легкой формах ЛЛ. Слух частично восстанавливается через 1-3 месяца только у половины из переболевших [4, 47, 49]. Тяжелое течение болезни у беременных приводит к гибели матерей, эмбрионов, плодов и новорожденных детей [42]. Инфицирование медицинских работников происходит при экстренных хирургических операциях или при несоблюдении правил контактных мер предосторожности. В настоящее время, при продолжающейся с 2016 г. вспышке этой болезни в Нигерии, в больницах зарегистрированы 22 и 8%-ные уровни летальности пациентов и медицинских работников соответственно [17].

Описано 33 импортированных случая ЛЛ из Западной Африки на не эндемичные территории (в США, Канаду, Великобританию, Нидерланды, Германию, Израиль и Японию) в течение 1969–2016 гг. Летальность среди этих заболевших составила 39% [33]. По последним данным, в конце ноября 2019 г. два врача из Нидерландов заразились при оперировании беременной женщины в городе Масанга в Сьерра-Леоне. Один из них скончался в госпитале после эвакуации на родину. Также из Сьерра-Леоне с подозрениями на ЛЛ были эвакуированы трое граждан Великобритании, контактировавшие с голландскими врачами [7].

1. Характеристика инфекционного агента

LASV, впервые выделенный в 1969 г. из биологического материала заболевших и погибших пациентов в госпитале города Ласса (в Ниге-

рии) [10], с 2014 г., по данным Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), отнесен к роду *Mammarenavirus* (содержащему в настоящее время 35 отдельных видов) семейства *Arenaviridae* [37]. Название семейства произошло от латинского слова «arena» (песок) из-за общей морфологической характеристики, выявляемой при электронной микроскопии — это крупные однородные гранулы размером 20-25 нм в составе вирионов, представляющие собой нефункциональные клеточные рибосомы, роль которых пока не ясна. Аренавирусы имеют сферическую форму вириона с диаметром от 70 до 150 нм, двойную липидную оболочку и гладкую поверхность с Т-образными шипами, состоящими из трех молекул гликопротеина (glycoprotein, GP) [40, 60]. Геном LASV, как и других представителей семейства, представляет собой молекулу РНК и состоит из двух сегментов — большого L (large) и малого S (small) размером 7 и 3,4 kb соответственно, соединенных консервативными комплементарными последовательностями на 3' и 5' концах. L-сегмент обладает амбисентной стратегией кодирования, т.е. имеет участки как негативной, так и позитивной нитевой РНК и кодирует РНК-зависимую РНК полимеразу (белок L) и цинк-связывающий Z белок. Считается, что Z-белок функционирует как матричный белок и отвечает за образование вирусных частиц. S-сегмент кодирует нуклеопротеин (nucleoprotein, NP) и предшественник гликопротеина (glycoprotein precursor, GPC). Белки L и NP ассоциированы с геномной РНК в рибонуклеопротеидные и нуклеокапсидные комплексы. В состав GPC входит стабильный сигнальный пептид (stable signal peptide, SSP), имеющий функции шаперона для белка GP и необходимый для его процессинга в GP1 (эктодомен), и GP2 (трансмембранный домен), при инфицировании связывающие клеточный рецептор и опосредующие слияние соответственно [47]. Есть данные, что нуклеопротеин (NP) и белок Z нарушают противовирусный клеточный ответ, ингибируя синтез интерферона типа I (IFN-I) [19].

LASV имеет широкий тропизм к клеткам печени, селезенки, надпочечников, почек и других органов. Для рецепторо-опосредованного эндоцитоза основным рецептором для GP1 LASV служит α -дистрогликан (α -dystroglycan, α -DG) [47]. Профессиональные антиген-презентирующие клетки (АПК), такие как макрофаги и дендритные, являются первичными клетками-мишенями для LASV и поддерживают его репликацию. В результате инфицированные АПК не проходят стадии активации и созревания, что приводит к неэффективной обработке

и представлению антигена специализированным лимфоцитам. Т-клетки субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺, специфичные как к гликопротеиновому комплексу (GP1, GP2), так и к нуклеопротеину (NP) LASV, активируются в ранние сроки инфекции и сохраняются у выживших в течение многих лет, нарушение же клеточного иммунитета приводит к виремии. Иммуноферментная оценка антигемии в сыворотках крови пациентов показала, что это маркер неблагоприятного исхода заболевания [55].

Роль гуморального иммунного ответа при заражении LASV менее ясна. Индукция антител классов IgM и IgG обычно слабая, особенно низкий уровень нейтрализующих антител. Это может быть связано со структурными особенностями гликопротеинового комплекса, содержащего гликаны, закрывающие/ограничивающие доступ антител к вирусным эпитопам [31]. Продукция антител и их концентрация при ЛЛ не коррелирует с исходом заболевания [4]. Нейтрализующие антитела обнаруживаются в сыворотке крови только через несколько месяцев после разрешения от острой инфекции и их титр продолжает расти, возможно, из-за наличия персистирующего вируса, стимулирующего В-клетки. У переболевших и выживших лиц антитела специфичны, в первую очередь, к белкам GP и NP. Исследования антигенной структуры LASV с помощью человеческих рекомбинантных моноклональных антител (МКА) позволили выявить детерминанты, вызывающие синтез нейтрализующих антител — это эпитопы в последовательности аминокислот белков GP1, GP2 и NP соответственно [50]. Показано, что применение человеческих рекомбинантных МКА, специфичных к эпитопам белка GP, способствовало защите морских свинок и приматов от летальной инфекции [40].

2. Биологические модели

2.1. Культуры клеток

Впервые LASV был выделен на линии Vero (культуре клеток почки африканской зеленой мартышки), оказавшейся чувствительной для него культурой. Арбовирусное происхождение вновь открытого вируса было исключено, т.к. культуры клеток комаров вида *Aedes aegypti* и *A. albopictus* не способствовали его репликации [10]. Урожай изолята LASV из Сьерра-Леоне был получен в высоких титрах — 10⁵-10⁶ БОЕ/мл (бляшкообразующих единиц на мл) при культивировании на Vero, а также на клеточных линиях почек свиньи, диплоидных и первичных клетках почек эмбрионов человека. Методом иммунофлуоресценции, с использованием специфических антител, было показано, что до 80% монослоя этих клеток инфицированы. Вирус воспроизводился в титрах 10⁴-10⁵ БОЕ/мл

на клеточных линиях: почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21), почки африканской зеленой мартышки (CV-1), раковой опухоли шейки матки (HeLa), амниона человека (FL), эпидермоидной карциномы гортани человека (her-2) и почки собаки. Формирование бляшек под слоем агара наблюдали только на монослое клеток CV-1 и Vero, а в первичных фибробластах куриного эмбриона LASV не реплицировался [35].

In vitro установлено, что дифференцировка первичных моноцитов человека в дендритные клетки усиливает прикрепление и проникновение LASV через молекулы маннозы, расположенные на N-концевой части его субъединицы GP1 [25]. Дендритные клетки человека обеспечивают высокий уровень репликации LASV без цитопатического эффекта. Взаимодействующие с ними Т-клетки не активируются и не пролиферируют и, соответственно, не проявляют цитотоксичности. Макрофаги поддерживают вирусную репликацию также без цитопатического эффекта, но при этом происходит активация/пролиферация нормальных киллеров (NK) и усиление их цитотоксических функций [51].

На культурах клеток мышинных и куриных фибробластов, а также на культуре клеток HEK293T (клетках почки эмбриона человека), недавно было показано, что успешная инфекция LASV требует рН-зависимого переключения конформации его гликопротеина с первичного α -DG рецептора на основной компонент мембраны лизосомы — лизосом-ассоциированный мембранный белок 1 (lysosome-associated membrane protein 1, LAMP1) [29]. Культуру клеток HEK293T также использовали для исследования альтернативных клеточных рецепторов для входа LASV, а культуру клеток Vero в качестве контроля экспрессии α -DG. Было обнаружено, что Т-клеточный иммуноглобулин-муциновый рецептор TIM-1 (T cell immunoglobulin mucin domain) и без надлежащего гликозилирования опосредует инфицирование клеток этим вирусом [9].

2.2. Животные для моделирования ЛЛ

Моделирование ЛЛ на животных имеет большое значение для получения данных о маркерах иммунитета при заражении инфекционным препаратом LASV, а также об иммуногенности и эффективности кандидатных вакцин [47]. В природе LASV имеет ограниченное число видов-хозяев. Кроме основного резервуара (*M. natalensis*), пока что обнаружено только два вида грызунов (*M. erythroleucus* и *Hylomyscus pamfi*), которые также могут участвовать в циркуляции вируса [43]. Для этих грызунов характерно бессимптомное носительство, сопровождаемое пожизненной персистенцией вируса,

который выделяется с мочой, калом, слюной и сохраняется в этих выделениях при высушивании [1]. У людей ЛЛ может развиваться до геморрагической формы, с многочисленными осложнениями и летальным исходом. Но на основании того факта, что приблизительно у 80% инфицированных болезнь протекает в легкой форме или бессимптомно [49], а больной человек является источником инфекции в течение двух месяцев и вирус циркулирует в крови на фоне высокого уровня антител [4], можно сделать предположение, что иммунный ответ грызунов и человека при инфицировании LASV имеет некоторое сходство.

Мыши могут быть экономичной моделью для исследования, но патогенность LASV зависит от вида или линии хозяина, его возраста и способа инфицирования [47]. За исключением молодых взрослых мышей линии CBA/J, инфицированных непосредственно в мозг, что приводит к фатальному судорожному иммунопатологическому заболеванию [59], инбредные лабораторные животные обладают высокой устойчивостью к экспериментальной ЛЛ, особенно при использовании парентеральных путей заражения (подкожно или внутрибрюшинно). Только мыши с иммунодефицитной системой, т.е. с отсутствием на клетках рецептора для интерферонов, могут быть восприимчивы к LASV. Например, на мышинной линии C57BL/6 (*Ifnar*^{B6}) — модели летальной для LASV, было показано, что комбинированная терапия рибавирина с фавипиравиром приводила к синергической активности этих препаратов и способствовала 100%-му выживанию животных [45]. Трансплантация клеток-предшественников костного мозга человека облученным мышам линии C57BL/6 (*Ifnar*^{B6}), приводила к смертельной инфекции, связанной с отеком, вирусемией и повреждением печени. Такая иммунопатология является ключевым компонентом патогенеза LASV, зависит от популяции CD8⁺Т-клеток и напрямую коррелирует с геморрагическими проявлениями. Несмотря на применимость таких животных для тестирования *in vivo* противовирусного лечения, иммунодефицитные мыши не могут быть использованы для анализа механизмов полноценного иммунитета [44].

Линии морских свинок: инбредных (штамм 13) и аутбредных (Hartley) являются наиболее широко принятой моделью для изучения ЛЛ и испытания кандидатных вакцинных препаратов. Необходимо учитывать, что патогенность вирусных штаммов также зависит от линии этого хозяина. Например, внутрибрюшинное заражение инбредных морских свинок вирусным штаммом Josiah приводит к развитию лихорадки, потери веса и к 100%-ной гибели в течение

двух недель. В то же время у аутбредных морских свинок при инфицировании этим вирусным штаммом летальность составляет от 30 до 60%. У заболевших животных наблюдается лимфопения, нейтрофилия и снижение уровня сывороточного альбумина. Виремия выявляется на 4-е сутки после заражения и ее уровень достигает пика на 10-12-е сутки. Высокие титры вируса обнаруживаются также в лимфатических узлах, слюнных железах и внутренних органах — селезенке, поджелудочной железе, легких, печени, сердце, мозге, почках и надпочечниках. При этом, вирусные титры у свинок линии Hartley обычно ниже, чем у инбредных. Также показано, что инфекция LASV у морских свинок может быть более миокардиотропной и менее гепатотропной, чем у людей [46]. Адаптация штамма Josiah к морским свинкам линии Hartley в течение 4 внутрибрюшинных пассажей в дозе 10^4 TCID₅₀/мл (tissue cytopathic infectious doses, 50%-ных тканевых цитопатических инфицирующих доз/мл) приводит к развитию болезни и равномерной гибели животных [53]. На инбредных морских свинках (штамма 13) протестировано несколько изолятов LASV, отнесенных к разным линиям. Изоляты: GA391 (выделен в Нигерии, генотип III), Josiah (Нигерия, IV) и Z-132 (Liberia, IV) оказались на 100% смертельны для всех инфицированных животных в течение 10-18 суток после заражения. Заражение изолятами Soromba-R (Mali, V) и Pinneo (Нигерия, I) не приводило к развитию летальной инфекции, но наблюдались такие симптомы, как вялость и потеря веса между 10-12-ми сутками после инфицирования [52].

Кролики не чувствительны к заражению LASV. Нативный инфекционный и инактивированный антигены одинаково индуцировали синтез специфических антител, уровень которых был пропорционален дозе антигенов при инокуляции и продолжительности времени при инфицировании [3]. У лошадей не развивалась персистирующая инфекция при их инфицировании LASV [2]. Модель развития болезни и/или летальности на основе сирийского хомячка, используемая в настоящее время для изучения патогенеза многих вирусов, для ЛЛ пока не описана в литературе.

В литературе также нет данных об инфицировании человека от обезьян в естественных условиях, тем не менее наиболее информативной опытной моделью для изучения патогенеза ЛЛ являются приматы [1]. Виремия у макак вида «резус» (*Macaca mulatta*) появлялась через 5-10 суток после подкожного заражения штаммом Josiah LASV (в дозе $10^{6.1}$ БОЕ/мл) и ее титр увеличивался в течении болезни. Вирус был обнаружен

в глазной и спинномозговой жидкости, лимфатических узлах и во многих внутренних органах — почках, надпочечниках, селезенке, печени, сердце, легких, кишечнике, поджелудочной железе, костном и головном мозге, тимусе, скелетных мышцах, яичниках, мочевом пузыре, что говорит о его активной репликации в клетках этих тканей. Как правило, наибольшее количество вируса находилось в селезенке, печени, надпочечниках, костном мозге и кишечнике. Был повышен и уровень сывороточных трансаминаз. Подобно ЛЛ у человека, тяжелая патология наблюдалась в печеночной, почечной и селезеночной ткани. Лечение животных рибавирином, начатое в день вирусной прививки или через пять суток после заражения, способствовало развитию легкого клинического заболевания и более тяжелого заболевания соответственно. Тем не менее, независимо от времени начала лечения в этом эксперименте, ни одно животное не погибло [57].

Клинические проявления при инфицировании штаммом Josiah LASV у обезьян вида «макака-крабоед» (*Macaca fascicularis*) — лихорадка, потеря веса, депрессия и острый респираторный синдром. Кроме того, наблюдаются тромбоцитопения, лимфопения, увеличение селезенки и лимфатических узлов, а также патологические изменения в печени, легких и эндотелии (такие же симптомы обычно проявляются и у заболевших людей). Виремия у макак может быть обнаружена через 5-10 суток после заражения и ее титр увеличивается до момента гибели животного. Высокие уровни виремии и ферментов печени, низкие уровни активации Т-клеток и провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-8, TNF α и IP-10), выраженная патология в клетках печени и высокая продукция IL-6 являются прогнозами фатального исхода заболевания инфицированных животных, как и у людей с тяжелой формой ЛЛ. Наличие мультифокальных тяжелых поражений ЦНС является дополнительной характеристикой терминального заболевания у макак-крабоедов [27]. Истощение популяции Т-клеток происходит при тяжелой инфекции у этих животных, в то время как нормальные Т-клеточные реакции контролируют вирусную репликацию. Показано, что у экспериментально инфицированных макак отсутствие Т-клеточного ответа коррелирует с летальностью [6].

У обыкновенных игрунгов (мармозеток) (*Callithrix jacchus*), инфицированных штаммом Josiah LASV, развивается системное заболевание с лихорадкой и потерей веса, высоким уровнем виремии и вирусной РНК в тканях, повышением активности ферментов печени. Гистопатологические исследования выявляют мульти-

фокальный некроз печени и надпочечников, интерстициальный нефрит и лимфоидное истощение. Эта модель уже была успешно использована для характеристики ряда вирусных заболеваний, в том числе аренавирусных инфекций, вызванных вирусом Хунин (Junin virus, JUNV) и лимфоцитарного хориоменингита (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV). Небольшие размеры мармозеток (от 320 до 450 г, когда они содержатся в неволе) по сравнению с макаками могут позволить сократить расходы, связанные с исследованием эффективности вакцинных препаратов против LASV [11].

Отсутствуют данные по заражению приматов вирусными штаммами разных генетических типов. Кроме исследований со штаммом Josiah LASV, для летального заражения макак-крабоедов описано только использование штамма Z-132 [52].

3. Варианты конструирования вакцинных препаратов

Необходимость разработки вакцин против новых вирусных патогенов стала очевидной во время эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ) в Западной Африке в 2014–2016 гг. Неотложность и важность превентивных мер против заражения LASV также очевидна, т.к. в настоящее время в Нигерии происходит беспрецедентно крупный всплеск случаев ЛЛ с высоким уровнем летальности [37]. LASV характеризуется значительным генетическим разнообразием, что затрудняет разработку вакцины [1]. Выделено несколько генотипов этого вируса, циркулирующих в разных регионах Африки [32, 38, 43]. Эпидемиологические наблюдения за ЛЛ в Западной Африке показывают, что выживание от впервые встреченной инфекции обеспечивает долгосрочную защиту от смертельного заболевания в будущем. Есть предположение, что повторное заражение другим вирусным генотипом дополнительно способствует повышению иммунитета [34]. Так как молекулярный патогенез LASV и иммунные механизмы защиты не полностью понятны, ценность животных моделей в прогнозировании исходов вакцинации может быть ограничена. По этим причинам, по мнению исследователей из США и Великобритании, эффективное продвижение перспективных кандидатных вакцин для клинических испытаний будет иметь решающее значение для характеристики иммунитета, опосредованного вакциной [47]. Учитывая ежегодную заболеваемость ЛЛ, вакцинация, скорее всего, будет проходить в эндемичных районах Западной Африки через путь одобрения и испытания эффективности сразу на людях, а не через "Animal

Rule", как обычно принято для таких исследований [39].

3.1. Инактивированная вакцина

Вакцина на основе препарата LASV, обработанного γ -радиацией, индуцировала синтез антител, специфичных к структурным белкам LASV, но не предотвращала вирусной репликации и гибели макак-резус в результате инфицирования даже на фоне высокого уровня антител. На момент гибели иммунизированных и контрольных животных уровень титров вируса в сыворотках крови и органах не отличались [39].

3.2. ДНК-вакцина

ДНК-конструкция оптимизирована кодами для повышения экспрессии нуклеотидной последовательности GPC штамма Josiah у видов-реципиентов (морских свинок или макак). Морские свинки (линия штамм 13), вакцинированные трижды путем дермальной электропорации в дозе по 100 мкг ДНК, были полностью защищены при внутримышечном заражении летальной дозой 10^3 БОЕ/мл штамма Josiah LASV. Свинки оставались афебрильными, без признаков заболевания и виремии (по сравнению с контрольными инфицированными животными) до конечной точки эксперимента (до 28-ми суток от инфицирования). Титры нейтрализующих антител достигали максимума на 21-е сутки от инфицирования и затем убывали. Тем не менее при повторном заражении через 120 суток после окончания первого эксперимента, иммунизированные животные не заболели [13]. Впоследствии макаки-крабоеды получали две или три дозы ДНК (10 мг однократно при инъекции путем дермальной электропорации по 2,5 мг в четыре разных места). Иммунизация индуцировала синтез нейтрализующих антител. Через пять недель после окончательной вакцинации животные подвергались заражению в дозе 10^3 БОЕ/мл штамма Josiah, но никаких симптомов болезни, лихорадки или виремии у вакцинированных приматов не было обнаружено [14]. ДНК-конструкция INO-4500 против LASV в настоящее время является самым продвинутым вакцинным препаратом и первым, который предполагается для введения добровольцам для оценки безопасности, переносимости и эффективности. Этот кандидат имеет дополнительные преимущества по сравнению с рекомбинантными вирусными векторными платформами по относительной простоте конструкции, скорости изготовления и условий хранения. Но обычно ДНК-вакцины обладают низкой иммуногенностью, что требует многократных доз, доставляемых с помощью дермальной электропорации. В сельских эндемичных районах Африки будет сложно внедрить в широкое применение этот метод, особенно во время вспышек. В связи с этим,

ДНК-вакцина, скорее всего, будет применяться к локализованным группам, т.е. среди сотрудников больниц [47].

3.3. Реассортантная платформа

Разработан кандидат на основе непатогенного для человека клона ML29 реассортанта аренавируса Морепя (Morepia, MOPV) с LASV при смешанном их культивировании на культуре клеток Vero. Геном гибридного клона ML29 имеет генотипические характеристики L-сегмента РНК MOPV (штамм An20410) и S-сегмента РНК LASV (штамм Josiah), сохраняя непатогенный профиль MOPV и желаемую индукцию сильных защитных иммунологических реакций против LASV. Однократная подкожная инъекция в дозе 10^3 БОЕ/мл полностью защищала морских свинок (штамм 13) от трех LD₅₀ (50%-х летальных доз), без виремии, клинических проявлений и биохимических нарушений. Гистологическое исследование не выявило в тканях иммунизированных животных каких-либо поражений, подобных у контрольных инфицированных морских свинок. Антитела класса IgG, в основном не нейтрализующие и специфичные к белку NP, были обнаружены уже в конце первой недели иммунизации и их титры достигли пика (выше, чем 10^4 /мл) вскоре после инфицирования [12]. Однократная подкожная инъекция клона ML29 в дозе 10^3 БОЕ/мл индуцировала увеличение количества Т-клеток (CD14⁺ и CD3⁺), была безопасна, иммуногенна и эффективна при подкожном же инфицировании обыкновенных игрунков штаммом Josiah LASV также в дозе 10^3 БОЕ/мл. Из шести иммунизированных животных виремия наблюдалась у одного, но дожившего до конечной точки исследования на 35-е сутки [36]. В ответ на обеспокоенность по поводу безопасности применения реассортантной вакцины в Африке в популяции людей, инфицированных вирусом иммунодефицита, проведено исследование на макаках-резус. Эти животные на поздней стадии после инфицирования вирусом иммунодефицита обезьян были параллельно иммунизированы реассортантом ML29. В результате макаки-резус не проявили клинических признаков ЛЛ или хронической инфекции. У всех вакцинированных животных обнаружены ML29-специфические клеточные и гуморальные иммунные реакции. Но, несмотря на продемонстрированные преимущества этой платформы, ML29 пока недостаточно исследован в плане риска его возвращения к дикому генотипу LASV [61].

3.4. На основе аттенуированного штамма вируса желтой лихорадки

Аттенуированный штамм 17D вируса желтой лихорадки (Yellow fever virus, YFV17D) был получен в 1948 г. при серийном пассировании штамма Asibi дикого типа YFV в тканях раз-

вивающегося куриного эмбриона [22]. Штамм YFV17D является единственной лицензированной живой вакциной против флавивируса (*Flavivirus*) и используется для разработки экспериментальных химерных вакцин, индуцирующих синтез антител, нейтрализующих другие антигенно-родственные патогены. Например, платформа YFV17D имеет превосходные показатели безопасности и эффективности вакцин против флавивирусов, вызывающих такие болезни, как Японский энцефалит, лихорадка денге, Зика и Западного Нила [18]. Отдельные векторы, содержащие нуклеотидные последовательности полного гена GPC штамма AV LASV или только его части GP1+GP2 штамма Josiah, вставленные между последовательностями генов E и NS1 генома YFV17D, обеспечивали защиту морских свинок (линии штамм 13) на 80 и 83% соответственно, от инфицирования гомологичными видами вирусов в дозах 10^5 БОЕ/мл и 5×10^6 БОЕ/мл [8, 30].

3.5. На основе вируса кори

Вакцина против вируса кори (Measles virus, MV) на основе аттенуированного штамма Schwarz, проверенная на безопасность в мире за период 40 лет при введении 2 млрд детей, обеспечивает пожизненную защиту от болезни при однократной дозе. Для изучения защиты от других опасных вирусов, например, иммунодефицита и папилломы человека, Западного Нила, денге, гепатита В, Чикунгунья, Нипах, Эбола и др., аттенуированный MV был преобразован в химерный рекомбинантный вакцинный вектор. Разработан вектор MV и для LASV (GPC+NP) и большая емкость вставки чужеродных генов позволила получить стабильный выход целевых антигенов в организме иммунизированных животных. Показано, что разовая доза MV-LASV (GPC+NP) защищает макака-резус от летальной инфекции [23]. Однако такой подход в конструировании вакцины имеет практическую проблему, т.к. многие серологические диагностические наборы на ЛЛ основаны на обнаружении антител, специфичных к белку NP LASV. Если этот белок будет включен в вакцину, тогда не будет четкого диагностического маркера для отличия вакцинированных лиц от инфицированных [47].

3.6. На основе рекомбинантного вируса осповакцины

В 1987 г. описана первая вакцина против ЛЛ на основе рекомбинантного вируса осповакцины штамма Lister (vaccinia virus-vectored vaccines, VVVV-NP), экспрессирующего ген белка NP LASV. Эта вакцина при исследовании на беспородных морских свинках линии Hartley при их заражении в дозе 10^7 БОЕ/мл нигерийским штаммом GA391, была эффективна на 100%. У вакцини-

рованных свинок не было признаков заболевания и вирус не был обнаружен в сыворотках крови, в то время как все контрольные животные погибли между 14-16-ми сутками от инфекции с обычным течением заболевания, включающим пирексию (лихорадку), анорексию, виремию [15]. Использование инбредной линии морских свинок (штамм 13), адаптированной к вирусному штамму Josiah, подтвердило защитную эффективность на 94 и 97% различных VVVV (VVVV-NP или VVVV-GP), экспрессирующих гены NP или GP LASV соответственно [41]. При подкожной иммунизации макак-крабоедов и их инфицировании (также подкожно в дозе 10^3 - 10^4 БОЕ/мл штаммом Josiah) результаты были противоречивые, от нулевой эффективности (при использовании VVVV-NP или VVVV-GP) и до 67% (при использовании VVVV-GPC) [21]. У вида «макака-резус» эффективность VVVV-NP и VVVV-GPC была на 43 и 100% соответственно [21, 20]. Рекомбинантный вирус осповакцины (штамм NYBH), экспрессирующий комплекс GPC, защищал макак-резус на 100% от инфицирования штаммом Josiah в дозе 10^9 БОЕ/мл [20]. И этот же осповакцинный вектор (штамм NYBH) VVVV-GPC или VVVV-GPC+NP был эффективен на макаках (видов «резус» и «крабоед») на 88 и 90% соответственно [21].

3.7. На основе вируса венесуэльского энцефалита лошадей

Репликативно-дефектные вирусные платформы вируса венесуэльского энцефалита лошадей (Venezuelan equine encephalitis virus, VEEV) осуществляют трансдукцию целевых генов, выполняя только один цикл репликации. Таким образом, они поддерживают предпочтительный профиль безопасности инактивированных вакцин, обладая при этом большей иммуногенностью. С использованием репликонов VEEV (экспрессирующих гены NP или GPC LASV) для иммунизации морских свинок (линии штамм 13, адаптированной к вирусному штамму Josiah), продемонстрированы протективные свойства (100%-ная защита) при инфицировании этих животных вирусом в дозе 10^7 БОЕ/мл. Однако для обеспечения такого результата требовалось три дозы препарата репликонов, что не подходит для предполагаемого использования вакцины среди африканского населения, проживающего в эндемичных сельских районах с отсутствием надежной инфраструктуры здравоохранения. Такие вакцинные препараты целесообразно использовать для медицинского и военного персонала, которые более организованы и доступны для повторной иммунизации [48]. Разработана мультвалентная рекомбинантная конструкция VEEV, кодирующая ген GPC отдаленно-родственных штаммов линий I (LP) и IV (Josiah) LASV и защищающая от гибели инбред-

ных мышей линии CBA/J посредством индуцированных перекрестно-реактивных многофункциональных Т-клеточных ответов [58].

3.8. На основе вируса везикулярного стоматита крупного рогатого скота

Вирус везикулярного стоматита (Vesicular stomatitis virus, VSV) является естественным патогеном домашнего скота, вызывая потерю молока, везикулярные поражения вокруг сосков, рта и копыт. Люди могут заразиться при контакте с животными в сельской местности. VSV-инфекция у людей обычно протекает бессимптомно, иногда развивается лихорадка с миалгией, головной болью и тошнотой. Но безопасность рекомбинантного VSV (rVSV) для людей в Западной Африке недавно была показана в фазе III клинических испытаний вакцины на платформе rVSV против вируса Эбола [16]. Преимущества вакцины на основе rVSV состоят в высоком уровне ее иммуногенности и практическом отсутствии в человеческой популяции иммунитета к этому вектору, который может значительно снизить эффективность вакцины. Ограничения этой платформы заключаются в отсутствии термостабильной формы и реактогенности, проявляющейся в виде лихорадки, головной боли, усталости и миалгии [28].

В первом исследовании, характеризующим вакцину на основе rVSV-GPC против LASV штамма Josiah, макаки-крабоеды были вакцинированы внутримышечно с однократной дозой 2×10^7 БОЕ/мл. На момент инфицирования у всех животных индивидуальный уровень нейтрализующих антител класса IgG был в титре 1/320 и все они выжили после внутримышечного заражения в дозе 10^4 БОЕ/мл вирусным штаммом Josiah, несмотря на кратковременную виремию у двух макак, у которых, тем не менее, не развилась лихорадка или другие симптомы, а также не было изменений в биохимических показателях крови. У трех из четырех вакцинированных макак после заражения была обнаружена продукция CD8⁺ лимфоцитами гамма интерферона (interferon gamma, IFN γ) и фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor alpha, TNF α). Таким образом, показано, что оба типа иммунного ответа играют важную роль в защите от LASV [24]. Учитывая значительные генетические различия между генотипами LASV, далее была исследована возможность перекрестной защиты, вызываемой этой конструкцией rVSV-GPC-LASV (Josiah), против различных географических изолятов LASV: из Сьерре-Леоне (штамм Josiah, линия IV), из Либерии (штамм Z-132, линия IV), из Мали (штамм Soromba-R, линия V) и из Нигерии (штамм Pinneo, линия I) на морских свинках (линия штамм 13) при их внутрибрюшинной иммунизации в дозе 10^6 БОЕ/мл и последующем заражении инфекционным материалом в дозе 10^4 БОЕ/мл.

В результате заражение штаммами Josiah и Z-132 приводило к 100%-ной гибели контрольных животных, а иммунизированные выживали без признаков заболевания. Инфекции, вызванные штаммами Soromba-R и Pinneo, не были полностью смертельны для контрольной группы, однако наблюдались признаки болезни (летаргия и потеря веса) в течение 10 суток. У вакцинированных животных признаков болезни зафиксировано не было [60]. На макаках-крабоедах также показано, что внутримышечная иммунизация с rVSV-GPC-LASV (Josiah) (в дозе 7×10^7 БОЕ/мл) защищала их от болезни при внутримышечном инфицировании препаратом штамма Z-132 в дозе 10^4 TCID₅₀/мл. У контрольных приматов проявлялись симптомы заболевания к 13-м суткам после заражения [24]. Вспышка ЛЛ, продолжающаяся в настоящее время в Нигерии, по данным секвенирования, вызвана изолятами LASV, относящимися к линиям II и III [32], поэтому rVSV-GPC-LASV (Josiah) необходимо проверять на эффективность и против этих вирусных генотипов [47].

3.9. На основе аденовируса шимпанзе

Рекомбинантные аденовирусные вектора (Adeno-based vaccines, AdV) уже давно исследуются в качестве вакцинных платформ, однако наличие в сыворотках крови людей нейтрализующих антител, специфичных к человеческим штаммам AdV, ингибирует иммуногенность и защитную эффективность таких препаратов. Обойти эту проблему стало возможным с использованием AdV приматов. Вектор ChAdOx1 является производным от штамма Y25 AdV шимпанзе с удалением гена, кодирующего наружный вирусный гликопротеин E1 и, соответственно, некомпетентного к репликации. Несмотря на отсутствие репликации, вектор ChAdOx1-GP-LASV при разовой иммунизации продемонстрировал защитную эффективность GP-специфических антител на модели летальной ЛЛ (на морских свинках линии Hartley) против штамма Josiah. Дополнительные исследования на беспородных мышах линии CD1 дали доказательства индукции перекрестно-реактивных Т-клеточных ответов на белок GP LASV штаммов, относящихся к линиям I-III [47].

3.10. Вирусоподобные частицы

Использование модифицированного вектора VVVV штамм Ankara, дефектного по репликации, но экспрессирующего гены GPC и матричного белка Z, приводит к формированию вирусоподобных частиц (virus-like particle, VLPs) в культуре клеток. Иммуногенность и эффективность VLPs испытана на мышах линии CBA/J, и показано, что однократная доза (нет данных по концентрации) на 100% защищает этих животных от летальной дозы реассортанта ML29 MOPV/LASV, доставляемого непосредственно в мозг. При этом VLPs индуцировали низкие уров-

ни антител, но стимулировали CD4⁺ и CD8⁺Т-клеточные реакции [54].

Заключение

LASV опасен для человеческой популяции, т.к. передача вируса может происходить как от зоонозного источника в Африке алиментарным, воздушно-пылевым, воздушно-капельным путем, так и от человека к человеку через инфицированную кровь или другие жидкости организма заболевших людей на эндемичных территориях или при импортированных случаях. Данные по летальности от ЛЛ в разных источниках сильно варьируют, отмечается связь географического расположения вспышек с клиническими симптомами, вероятно, из-за различной вирулентности циркулирующих вирусных генотипов. Клеточные иммунные ответы играют основную роль в обеспечении защиты при заражении LASV. Показано, что нарушение функции клеточного иммунитета при ЛЛ приводит к виремии и является плохим прогностическим признаком. При благоприятном течении болезни в ранние сроки активируются Т-клетки субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺, специфичные как к гликопротеиновому комплексу (GP1, GP2) так и к нуклеопротеину (NP) LASV. Продукция же антител после инфицирования LASV не коррелирует с исходом заболевания, и больной человек является источником инфекции в течение двух месяцев, т.к. вирус циркулирует в крови на фоне высокого уровня антител. Нейтрализующие антитела обнаруживаются в сыворотке крови заболевших только через несколько месяцев после разрешения от острой инфекции и специфичны, в первую очередь, к белкам GP и NP. Разрабатываемые вакцины нацелены на индукцию антител, специфичных к этим белкам. Использование живых аттенуированных вирусов или рекомбинантных векторов является привлекательным подходом к разработке профилактических препаратов против ЛЛ, т.к. обеспечивают более эффективный естественный путь для представления вирусных антигенов клеткам иммунной системы. Из мелких животных моделей ЛЛ для испытания вакцин против LASV подходят мыши и морские свинки, но необходимо учитывать, что патогенность вирусных штаммов зависит вирусного генотипа и линии животного-хозяина. Хотя в литературе нет данных об инфицировании человека LASV от обезьян в естественных условиях, тем не менее наиболее информативной опытной моделью для изучения патогенеза ЛЛ и эффективного испытания вакцин являются приматы.

Конфликт интересов

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

Список литературы / References

1. Андаев Е.И., Мельникова О.В., Титенко А.М. Санитарная охрана территории от завоза и распространения особо опасных вирусных инфекций. Сообщение 5. Лихорадка Ласса // Проблемы особо опасных инфекций, 2008. Т. 95, № 1. С. 17-22. [Andaev E.I., Melnikova O.V., Titenko A.M. Sanitary protection of the territories from delivery and distribution of especially dangerous viral infections. Message 5. Lassa Fever. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2008, Vol. 95, no. 1, pp. 17-22. (In Russ.)]
2. Краснянский В.П., Градобоев В.Н., Борисевич И.В., Потрываева Н.В., Черникова Н.К., Тиманьков Г.Д. Разработка и изучение свойств иммуноглобулина против лихорадки Ласса // Вопросы вирусологии, 1997. Т. 42, № 4. С. 168-171. [Krasnyansky V.P., Gradoboev V.N., Borisevich I.V., Petryaeva N.I., Chernikova N.T., Timenkov G.D. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 1997, Vol. 42, no. 4, pp. 168-171. (In Russ.)]
3. Орлова С.В., Годнева А.Т., Игнатъев Г.М., Быстрова С.И. Иммунизация кроликов вирусом Ласса // Вопросы вирусологии, 1990. Т. 35, № 1. С. 59-61. [Orlova S.V., Godneva A.T., Ignatiev G.M., Bystrova S.I. Immunization of rabbits with Lassa virus. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 1990, Vol. 35, no. 1, pp. 59-61. (In Russ.)]
4. Шатохина И.А., Тимофеев М.А. Геморрагическая лихорадка Ласса // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение, 2015. № 1. С. 39-44. [Shatokhina I.A., Timofeev M.A. Lassa hemorrhagic fever. *Infektsionnye bolezni: Novosti. Mneniya. Obuchenie = Infectious Diseases: News. Opinions. Training*, 2015, no. 1, pp. 39-44. (In Russ.)]
5. Abreu-Mota T., Hagen K.R., Cooper K., Jahrling P.B., Tan G., Wirblich C., Johnson R.F., Schnell M.J. Non-neutralizing antibodies elicited by recombinant Lassa-Rabies vaccine are critical for protection against Lassa fever. *Nat. Commun.*, 2018, Vol. 9, no. 1, 4223. doi: 10.1038/s41467-018-06741-w.
6. Baize S., Marianneau P., Loth P., Reynard S., Journeaux A., Chevallier M., Tordo N., Deubel V., Contamin H. Early and strong immune responses are associated with control of viral replication and recovery in lassa virus-infected cynomolgus monkeys. *J. Virol.*, 2009, Vol. 83, no. 11, pp. 5890-5903.
7. BBC NEWS. Lassa fever 'at risk' Britons sent home from Sierra Leone. 2019. Available at: <https://www.bbc.com/news/health-50543489>.
8. Bredenbeek P.J., Molenkamp R., Spaan W.J.M., Deubel V., Marianneau P., Salvato M.S., Moshkoff D., Zapata J., Tikhonov I., Patterson J., Carrion R., Ticer A., Brasky K., Lukashevich I.S. A recombinant yellow fever 17D vaccine expressing Lassa virus glycoproteins. *J. Virol.*, 2006, Vol. 345, no. 2, pp. 299-304.
9. Brouillette R.B., Phillips E.K., Patel R., Mahauad-Fernandez W., Moller-Tank S., Rogers K.J., Dillard J.A., Cooney A.L., Martinez-Sobrido L., Okeoma C., Maury W. TIM-1 Mediates dystroglycan-independent entry of Lassa virus. *J. Virol.*, 2018, Vol. 92, no. 16, pp. 1-15.
10. Buckley S.M., Casals J. Lassa fever, a new virus disease of man from West Africa. 3. Isolation and characterization of the virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1970, Vol. 19, no. 4, pp. 680-691.
11. Carrion R.J., Brasky K., Mansfield K., Johnson C., Gonzales M., Ticer A., Lukashevich I., Tardif S., Patterson J. Lassa virus infection in experimentally infected marmosets: liver pathology and immunophenotypic alterations in target tissues. *J. Virol.*, 2007, Vol. 81, no. 12, pp. 6482-6490.
12. Carrion R.J., Patterson J.L., C. Johnson, M. Gonzales, Moreira C.R., Ticer A., Brasky K., Hubbard G.B., Moshkoff D., Zapata J., Salvato M.S., Lukashevich I.S. A ML29 reassortant virus protects guinea pigs against a distantly related Nigerian strain of Lassa virus and can provide sterilizing immunity. *Vaccine*, 2007, Vol. 25, no. 20, pp. 4093-4102.
13. Cashman K.A., Broderick K.E., Wilkinson, E.R., Shaia C.I., Bell T.M., Shurtleff A.C., Spik K.W., Badger C.V., Gutteri M.C., Sardesai N.Y., Schmaljohn C.S. Enhanced efficacy of a codon-optimized DNA vaccine encoding the glycoprotein precursor gene of Lassa virus in a guinea pig disease model when delivered by dermal electroporation. *Vaccines*, 2013, no. 1, pp. 262-277.
14. Cashman K.A., Wilkinson E.R., Shaia C.I., Facemire P.R., Bell M., Bearss J.J., Shamblin J.D., Wollen S.E., Broderick K.E., Sardesai N.Y., Schmaljohn C.S. A DNA vaccine delivered by dermal electroporation fully protects cynomolgus macaques against Lassa fever. *Hum. Vaccines Immunother.*, 2017, Vol. 13, no. 12, pp. 2902-2911.
15. Clegg C., Lloyd G. Vaccinia recombinant expressing Lassa-virus internal nucleocapsid protein protects guineapigs against Lassa fever. *Lancet*, 1987, Vol. 2, no. 8552, pp. 186-188.
16. Coller B.G., Blue J., Das R., Dubey S., Finelli L., Gupta S., Helmond F., Grant-Klein R.J., Liu K., Simon J., Troth S., Van Rhee S., Waterbury J., Wivel A., Wolf J., Heppner D.G., Kemp T., Nichols R., Monath T.P. Clinical development of a recombinant Ebola vaccine in the midst of an unprecedented epidemic. *Vaccine*, 2017, Vol. 35, no. 35, pp. 4465-4469.
17. Dan-Nwafor C.C., Furuse Y., Ilori E.A., Ipadeola O., Akabike K.O., Ahumibe A., Ukponu W., Bakare L., Okwor T.J., Joseph G., Mba N.G., Akano A., Olayinka A.T., Okoli I., Okea R.A., Makava F., Ugbogulu N., Oladele S., Namara G., Muwanguzi E.N., Naidoo D., Mutbam S.K., Okudo I., Woldetsadik S.F., Lasuba C.L., Ihekweazu C. Measures to control protracted large Lassa fever outbreak in Nigeria, 1 January to 28 April 2019. *Euro Surveill.*, 2019, Vol. 24, no. 20, 1900272. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.20.1900272.

18. Durbin A., Wilder-Smith A. An update on Zika vaccine developments. *Expert Rev. Vaccines*, 2017, Vol. 16, no. 8, pp. 781-787.
19. Fan L., Briese T., Lipkin W.I. Z proteins of New World arenaviruses bind RIG-I and interfere with type I interferon induction. *J. Virol.*, 2010, Vol. 84, no. 4, pp. 1785-1791.
20. Fisher-Hoch S.P., McCormick J.B., Auperin D., Brown B.G., Castor M., Perez G., Ruo S., Conaty A., Brammer L., Bauer S. Protection of rhesus monkeys from fatal Lassa fever by vaccination with a recombinant vaccinia virus containing the Lassa virus glycoprotein gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, Vol. 86, no. 1, pp. 317-321.
21. Fisher-Hoch S.P., Hutwagner L., Brown B., McCormick J.B. Effective vaccine for lassa fever. *J. Virol.*, 2000, Vol. 74, no. 15, pp. 6777-6783.
22. Fox J.P., Fonseca da Cunha J., Kossobudzki S.L. Additional observations on the duration of humoral immunity following vaccination with the 17D strain of yellow fever virus. *Am J. Hyg.*, 1948, Vol. 47, no. 1, pp. 64-70.
23. Frantz P.N., Teeravechyan S., Tangy F. Measles-derived vaccines to prevent emerging viral diseases. *Microbes Infect.*, 2018, Vol. 20, no. 9, pp. 493-500.
24. Geisbert T.W., Jones S., Fritz E.A., Shurtleff A.C., Geisbert J.B., Liebscher R., Grolla A., Ströher U., Fernando L., Daddario K.M., Guttieri M.C., Mothé B.R., Larsen T., Hensley L.E., Jahrling P.B., Feldmann H. Development of a new vaccine for the prevention of Lassa fever. *PLoS Med.*, 2005, Vol. 2, no. 6, pp. 537-545.
25. Goncalves A.R., Moraz M.L., Pasquato A., Helenius A., Lozach P.Y., Kunz S. Role of DC-SIGN in Lassa virus entry into human dendritic cells. *J. Virol.*, 2013, Vol. 87, no. 21, pp. 11504-11515.
26. Hallam H.J., Hallam S., Rodriguez S.E., Barrett A.D.T., Beasley D.W.C., Chua A., Ksiazek T.G., Milligan G.N., Sathiyamoorthy V., Reece L.M. Baseline mapping of Lassa fever virology, epidemiology and vaccine research and development. *N.P.J. Vaccines*, 2018, Vol. 3, pp. 1-12.
27. Hensley L.E., Smith M.A., Geisbert J.B., Fritz E.A., Daddario-DiCaprio K.M., Larsen T., Geisbert T.W. Pathogenesis of Lassa fever in cynomolgus macaques. *J. Virol.*, 2011, 205. doi: 10.1186/1743-422X-8-205.
28. Heppner D.G.J., Kemp T.L., Martin B.K., Ramsey W.J., Nichols R., Dasen E.J., Link C.J., Das R., Xu Z.J., Sheldon E.A., Nowak T.A., Monath T.P.; V920-004 study team. Safety and immunogenicity of the rVSVG-ZEBOV-GP Ebola virus vaccine candidate in healthy adults: a phase 1b randomised, multicentre, double-blind, placebo-controlled, dose-response study. *Lancet Infect. Dis.*, 2017, Vol. 17, no. 8, pp. 854-866.
29. Jae L.T., Raaben M., Herbert A.S., Kuehne A.I., Wirchnianski A.S., Soh T.K., Stubbs S.H., Janssen H., Damme M., Saftig P., Whelan S.P., Dye J.M., Brummelkamp T.R. Virus entry requires a trigger-induced receptor switch. *Science*, 2014, Vol. 344, no. 6191, pp. 1506-1510.
30. Jiang X., Dalebout T.J., Bredenbeek P.J., Carrion R.J., Brasky K., Patterson J., Goicochea M., Bryant J., Salvato M.S., Lukashevich I.S. Yellow fever 17D-vectored vaccines expressing Lassa virus GP1 and GP2 glycoproteins provide protection against fatal disease in guinea pigs. *Vaccine*, 2011, Vol. 29, no. 6, pp. 1248-1257.
31. Jiang X., Huang Q., Wang W., Dong H., Ly H., Liang Y., Dong C. Structures of arenaviral nucleoproteins with triphosphate dsRNA reveal a unique mechanism of immune suppression. *J. Biol. Chem.*, 2013, Vol. 288, no. 23, pp. 16949-16959.
32. Kafetzopoulou L.E., Pullan S.T., Lemey P., Suchard M.A., Ehichioya D.U., Pahlmann M., Thielebein A., Hinzmann J., Oestereich L., Wozniak D.M. et al. Metagenomic sequencing at the epicenter of the Nigeria 2018 Lassa fever outbreak. *Science*, 2019, Vol. 363, no. 6422, pp. 74-77.
33. Kofman A., Choi M.J., Rollin P.E. Lassa Fever in Travelers from West Africa, 1969-2016. *Emerg. Infect. Dis.*, 2019, Vol. 25, no. 2, pp. 245-248.
34. Lukashevich I.S. Advanced vaccine candidates for Lassa fever. *Viruses*, 2012, Vol. 4, no. 11, pp. 2514-2557.
35. Lukashevich I.S., Maryankova R.F., Fidarov F.M. Reproduction of Lassa virus in different cell cultures. *Acta Virol.*, 1983, Vol. 27, no. 3, pp. 282-285.
36. Lukashevich I.S., Carrion R.J., Salvato M.S., Mansfield K., Brasky K., Zapata J., Cairo C., Goicochea M., Hoosien G.E., Ticer A., Bryant J., Davis H., Hammamieh R., Mayda M., Jett M., Patterson J. Safety, immunogenicity, and efficacy of the ML29 reassortant vaccine for Lassa fever in small non-human primates. *Vaccine*, 2008, Vol. 26, no. 41, pp. 5246-5254.
37. Maes P., Alkhovsky S.V., Bào Y., Beer M., Birkhead M., Briese T., Buchmeier M.J., Calisher C.H., Charrel R.N., Choi I.R., Kuhn J.H. Taxonomy of the family Arenaviridae and the order Bunyavirales: update 2018. *Arch. Virol.*, 2018, Vol. 163, no. 8, pp. 2295-2310.
38. Manning J.T., Forrester N., Paessler S. Lassa virus isolates from Mali and the Ivory Coast represent an emerging fifth lineage. *Front. Microbiol.*, 2015, no. 6, 1037. doi: 10.3389/fmicb.2015.01037
39. McCormick J.B., Mitchell S.W., Kiley M.P., Ruo S., Fisher-Hoch S.P. Inactivated Lassa virus elicits a non protective immune response in rhesus monkeys. *J. Med. Virol.*, 1992, Vol. 37, no. 1, pp. 1-7.
40. Mire C.E., Cross R.W., Geisbert J.B., Borisevich V., Agans K.N., Deer D.J., Heinrich M.L., Rowland M.M., Goba A., Momoh M., Boisen M.L., Grant D.S., Fullah M., Khan S.H., Fenton K.A., Robinson J.E., Branco L.M.,

Garry R.F., Geisbert T.W. Human-monoclonal-antibody therapy protects nonhuman primates against advanced Lassa fever. *Nat. Med.*, 2017, Vol. 23, no. 10, pp. 1146-1149.

41. Morrison H.G., Bauer S.P., Lange J.V., Esposito J.J., McCormick J.B., Auperin D.D. Protection of guinea pigs from Lassa fever by vaccinia virus recombinants expressing the nucleoprotein or the envelope glycoproteins of Lassa virus. *J. Virol.*, 1989, Vol. 171, no. 1, pp. 179-188.

42. Okogbenin S., Okoeguale J., Akpede G., Colubri A., Barnes K.G., Mehta S., Eifediyi R., Okogbo F., Eigbefoh J., Momoh M., Rafiu M., Adomeh D., Odia I., Aire C., Atafo R., Okonofua M., Pahlman M., Becker-Ziaja B., Asogun D., Okokhere P., Happi C., Günther S., Sabeti P.C., Ogbaini-Emovon E. Retrospective cohort study of Lassa fever in pregnancy, Southern Nigeria. *Emerg. Infect. Dis.*, 2019, Vol. 25, no. 8, pp. 1494-1500.

43. Olayemi A., Cadar D., Magassouba N., Obadare A., Kourouma F., Oyeyiola A., Fasogbon S., Igbokwe J., Rieger T., Bockholt S., Jérôme H., Schmidt-Chanasit J., Garigliany M., Lorenzen S., Igbahenah F., Fichet J.N., Ortsega D., Omilabu S., Günther S., Fichet-Calvet E. New hosts of the Lassa virus. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, no. 25280, pp. 1-6.

44. Oestereich L., Lüdtke A., Ruibal P., Pallasch E., Kerber R., Rieger T., Wurr S., Bockholt S., Pérez-Girón J.V., Krasemann S., Günther S., Muñoz-Fontela C. Chimeric Mice with Competent Hematopoietic Immunity Reproduce Key Features of Severe Lassa Fever. *PLoS Pathog.*, 2016, Vol. 12, no. 5, pp. 1-22.

45. Oestereich L., Rieger T., Lüdtke A., Ruibal P., Wurr S., Pallasch E., Bockholt S., Krasemann S., Muñoz-Fontela C., Günther S. Efficacy of favipiravir alone and in combination with ribavirin in a lethal, immunocompetent mouse model of Lassa fever. *J. Infect Dis.*, 2016, Vol. 213, no. 6, pp. 934-938.

46. Peters C.J., Jahrling P.B., Liu C.T., Kenyon R.H., McKee K.T.J., Barrera Oro J.G. Experimental studies of arenaviral hemorrhagic fevers. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1987, Vol. 134, pp. 5-68.

47. Purushotham J., Lambe T., Gilbert S.C. Vaccine platforms for the prevention of Lassa fever. *Immunol. Lett.*, 2019, Vol. 215, pp. 1-11.

48. Pushko P., Geisbert J., Parker M., Jahrling P., Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.*, 2001, Vol. 75, no. 23, pp. 11677-11685.

49. Richmond J.K., Baglolle D.J. Lassa fever: epidemiology, clinical features, and social consequences. *BMJ*, 2003, Vol. 327, no. 7426, pp. 1271-1275.

50. Robinson J.E., Hastie K.M., Cross R.W., Yenni R.E., Elliott D.H., Rouelle J.A., Kannadka C.B., Smira A.A., Garry C.E., Bradley B.T., Garry R.F. Most neutralizing human monoclonal antibodies target novel epitopes requiring both Lassa virus glycoprotein subunits. *Nat. Commun.*, 2016, Vol. 7, pp. 1-14.

51. Russier M., Pannetier D., Baize S. Immune responses and Lassa virus infection. *Viruses*, 2012, Vol. 4, no. 11, pp. 2766-2785.

52. Safronetz D., Mire C., Rosenke K., Feldmann F., Haddock E., Geisbert T., Feldmann H. A recombinant vesicular stomatitis virus-based Lassa fever vaccine protects guinea pigs and macaques against challenge with geographically and genetically distinct Lassa viruses. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2015, Vol. 9, no. 4, pp. 1-14.

53. Safronetz D., Rosenke K., Westover J.B., Martellaro C., Okumura A., Furuta Y., Geisbert J., Saturday G., Komeno T., Geisbert T.W., Feldmann H., Gowen B.B. The broad-spectrum antiviral Favipiravir protects guinea pigs from lethal Lassa virus infection post-disease onset. *Sci. Rep.*, 2015, Vol. 5, no. 14775, pp. 1-11.

54. Salvato M.S., Domi A., Guzmán-Cardozo C., Medina-Moreno S., Zapata J.C., Hsu H., McCurley N., Basu R., Hauser M., Hellerstein M., Guirakhoo F. A Single dose of modified vaccinia Ankara expressing Lassa virus-like particles protects mice from lethal intra-cerebral virus challenge. *Pathogens*, 2019, Vol. 8, no. 133, pp. 1-14.

55. Schaeffer J., Carnec X., Reynard S., Mateo M., Picard C., Pietrosemoli N., Dillies M.A., Baize S. Lassa virus activates myeloid dendritic cells but suppresses their ability to stimulate T cells. *PLoS Pathog.*, 2018, Vol. 14, no. 11, pp. 1-25.

56. Shaffer J.G., Schieffelin J.S., Gbakie M., Alhasan F., Roberts N.B., Goba A., Randazzo J., Momoh M., Moon T.D., Kanneh L., Levy D.C., Podgorski R.M., Hartnett J.N., Boisen M.L., Branco L.M., Samuels R., Grant D.S., Garry R.F. Viral hemorrhagic fever consortium. A medical records and data capture and management system for Lassa fever in Sierra Leone: Approach, implementation, and challenges. *PLoS ONE*, 2019, Vol. 14, no. 3, pp. 1-20.

57. Stephen E.L., Eddy G.A., Johnson K.M., Jahrling P.B., Hesse R.A., Callis R.T. Lassa virus infection of rhesus monkeys: pathogenesis and treatment with ribavirin. *J. Infect. Dis.*, 1980, Vol. 141, no. 5, pp. 580-589.

58. Thompson J.M., Whitmore A.C., Staats H.F., Johnston R.E. Alphavirus replicon particles acting as adjuvants promote CD8⁺ T cell responses to co-delivered antigen. *Vaccine*, 2008, Vol. 26, no. 33, pp. 4267-4275.

59. Uckun F.M., Petkevich A.S., Vassilev A.O., Tibbles H.E., Titov L. Stampidine prevents mortality in an experimental mouse model of viral hemorrhagic fever caused by lassa virus. *BMC Infect. Dis.*, 2004, Vol. 4, no. 1, pp. 1-7.

60. Warner B.M., Safronetz D., Stein D.R. Current research for a vaccine against Lassa hemorrhagic fever virus. *Drug Des. Devel. Ther.*, 2018, Vol. 12, pp. 2519-2527.

61. Zapata J.C., Poonia B., Bryant J., Davis H., Ateh E., George L., Crasta O., Zhang Y., Slezak T., Jaing C., Pauza C.D., Goicochea M., Moshkoff D., Lukashevich I.S., Salvato M.S. An attenuated Lassa vaccine in SIV-infected rhesus macaques does not persist or cause arenavirus disease but does elicit Lassa virus-specific immunity. *J. Virol.*, 2013, Vol. 10, no. 52, pp. 1-11.

Авторы:

Казачинская Е.И. — д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Новосибирск; ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Арипов В.С. — аспирант, стажер-исследователь отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Зайковская А.В. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Шестопалов А.М. — д.б.н., профессор, заведующий отделом экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Новосибирск, Россия

Authors:

Kazachinskaya E.I., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Department of Experimental Pathogenesis Modeling of Infectious Diseases, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk; Leading Research Associate, Department of Bioengineering, Vector State Research Centre of Virology and Biotechnology, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Aripov V.S., Postgraduate Student, Research Trainee, Department of Bioengineering, Vector State Research Centre of Virology and Biotechnology, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Zaikovskaya A.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department “Collection of Microorganisms”, Vector State Research Centre of Virology and Biotechnology, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Shestopalov A.M., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Department of Experimental Pathogenesis Modeling of Infectious Diseases, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 26.05.2020
Принята к печати 28.11.2020

Received 26.05.2020
Accepted 28.11.2020