

Т.Е.Сизикова¹, В.Н.Лебедев¹, С.В.Борисевич¹, Д.А.Кутаев¹, И.В.Борисевич²

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ РАЗРАБОТКИ ВАКЦИН НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

¹ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад, Российская Федерация; ²ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Российская Федерация

Представитель рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae* вирус Эбола является этиологическим агентом особо опасной вирусной лихорадки, летальность которой достигает 88 %. По мнению ведущих специалистов, вакцинация является наиболее эффективным и экономичным способом защиты от развития эпидемии. Целью данного обзора является анализ современного состояния разработки вакцин нового поколения против болезни, вызванной вирусом Эбола. Установлено, что основными направлениями создания эффективных вакцин против лихорадки Эбола являются разработка вакцин на основе репликонов альфавирусов, вирусподобных частиц, разработка ДНК-вакцин и векторных рекомбинантных вакцин. В обзоре рассмотрены наиболее значимые результаты в направлении создания эффективных средств профилактики в отношении лихорадки Эбола. В настоящее время различными методами получены вакцинные препараты нового поколения, для некоторых из них продемонстрирована высокая защитная эффективность при испытаниях на низших приматах. Наиболее перспективной является векторная рекомбинантная вакцина на основе вируса везикулярного стоматита.

Ключевые слова: вирус Эбола, филловирусы, специфическая профилактика, векторные рекомбинантные вакцины, ДНК-вакцины, вирусподобные частицы, РНК-репликоны, аденовирус, вирус везикулярного стоматита.

T.E.Sizikova¹, V.N.Lebedev¹, S.V.Borisevich¹, D.A.Kutaev¹, I.V.Borisevich²

Current State of the Development of Next-Generation Vaccines against Ebola Virus Disease

¹The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation; ²Scientific Center on Expertise of Medical Application Products, Moscow, Russian Federation

Representative of *Ebolavirus* gender, *Filoviridae* family, Ebola virus is an etiological agent of particularly dangerous viral fever, the lethality of which comes up to 88 %. According to the leading specialists and experts in the sphere, vaccination is the most effective and cost-efficient method for the protection from epidemic spread. Objective of the review is to analyze current state of the development of next generation vaccines against Ebola fever. It is established that focus areas of the activities are the construction of vaccines on the basis of alpha-virus replicons, virus-like particles, and the development of DNA-vaccines and vector recombinant vaccines. The paper discusses the most significant achievements in the sphere of obtainment of potent therapies for prophylaxis as regards Ebola fever. To date manufactured, using various approaches, have been the next-generation vaccine preparations, for a number of which high protective capacity is demonstrated in the course of experiments on the nonhuman primates. The most advanced and prospective prototype is the vector recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccine.

Key words: Ebola virus, hemorrhagic fever, filoviruses, specific prophylaxis, vector recombinant vaccines, DNA-vaccines, virus-like particles, RNA-replicons, adenovirus, vesicular stomatitis virus.

Представитель рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae* вирус Эбола является этиологическим агентом одноименной особо опасной вирусной лихорадки, характеризующейся шоком, геморрагиями, мультиорганной недостаточностью и заканчивающейся летальным исходом в 50–90 % случаев [3, 10, 24].

В ходе эпидемии лихорадки Эбола в Либерии, Гвинее и Сьерра-Леоне, начавшейся в декабре 2013 г., на конец февраля 2015 г. умерло более 9000 человек, число погибших продолжает расти. В ходе данной эпидемии зарегистрированы случаи завоза болезни в неэндемичные регионы, в том числе в Западную Европу и США. В настоящее время мировым сообществом лихорадка Эбола рассматривается в качестве одной из глобальных угроз для человечества, что нашло отражение в ходе обсуждения мероприятий по борьбе с эпидемией на Совете Безопасности ООН.

Очевидно, что карантинные мероприятия способны лишь в какой-то мере ограничить распространение болезни, поэтому актуальным является вопрос о создании специфических медицинских иммуноби-

ологических средств защиты в отношении лихорадки Эбола. По мнению ведущих специалистов, наиболее эффективным и экономичным способом защиты от распространения эпидемических вспышек болезни в эндемичных и неэндемичных регионах вследствие неконтролируемого завоза возбудителя является вакцинация групп риска [2, 4, 11, 16].

Несмотря на то, что первая эпидемическая вспышка лихорадки Эбола зарегистрирована еще в 1976 г., эффективных коммерческих вакцин против нее, пригодных для массового применения, не создано до сих пор. Это видимо, объясняется тем, что затраты на разработку и производство вакцины ни в каком случае не окупались бы доходом от ее реализации на рынке медицинских товаров и услуг. Однако, ввиду глобальной угрозы, представляемой лихорадкой Эбола для здравоохранения, логистические конъюнктуры несомненно будут отложены на второй план.

В качестве основных направлений создания эффективных вакцин нового поколения в отношении лихорадки Эбола в настоящее время рассматривают

так называемые вакцины нового поколения, в перечне которых следует упомянуть вакцины на основе РНК-репликонов, вирусоподобных частиц, ДНК-вакцины, векторные рекомбинантные вакцины [1, 13, 14, 21, 22, 26, 28].

Следует подчеркнуть, что идеальная вакцина должна вызывать долговременный иммунитет при однократном введении, обладать перекрестной реактивностью по отношению к различным природным штаммам возбудителя и исключать риск возникновения поствакцинальных осложнений. Стоимость вакцины не должна препятствовать ее массовому применению.

В настоящее время на рынке медицинских товаров и услуг в отношении лихорадки Эбола отсутствуют вакцинные препараты, которые отвечают всем перечисленным условиям. Необходимо отметить, что сейчас актуальной задачей является не только создание препарата, предназначенного для иммунизации ограниченных по численности групп риска, но и разработка вакцины, пригодной для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах. В этой связи при характеристике каждого из указанных направлений создания вакцинных препаратов будут рассмотрены перспективы использования конкретных препаратов в качестве кандидатной вакцины против лихорадки Эбола, предназначенной для массовой иммунизации.

Следует отметить, что основные элементы стратегии получения защитных препаратов против лихорадки Эбола разработаны ранее, когда были получены рекомбинантные штаммы вируса вакцины, экспрессирующие гены нуклеопротеина (NP) или гликопротеина (GP) вируса Эбола. Указанные штаммы вируса вакцины защищали лабораторных животных (морские свинки, обезьяны) против летального заражения вирусом Эбола [цит. по 26]. Эти исследования позволили идентифицировать иммунодоминантные антигены (белки NP и GP вируса Эбола).

Вакцины на основе РНК-репликонов. Репликоном называют наименьший генетический элемент, способный к самовоспроизведению. РНК-репликоны представляют собой вирусные векторы, которые не только являются авирулентными, но и даже потенциально (в отличие от многих используемых в качестве живых вакцин аттенуированных штаммов) не способны к реверсии к дикому типу возбудителя. Автономность РНК-репликации дает возможность РНК-репликонам накапливаться до высоких уровней, при этом происходит стимуляция гуморальной и клеточной ветвей иммунного ответа.

В настоящее время наиболее перспективным направлением считается создание вирусных репликонов на основе альфавирусов. Репликон альфавирусов содержит: последовательность нуклеиновой кислоты (НК), кодирующую 5'-концевую последовательность альфавирусов, последовательность НК, кодирующую неструктурный белок альфавирусов, альфавирусный субгеномный промотор, внутреннюю последовательность рибосомальной НК, гетерологичную НК и по-

следовательность НК, кодирующую 3'-концевую последовательность альфавирусов [13, 15, 18, 21, 23, 25]. Гетерологичная НК может кодировать белки или пептиды, которые являются антигенами, индуцирующими факторы иммунного ответа в отношении различных инфекционных болезней.

Технология альфавирусных репликонов обладает большим потенциалом для создания следующих поколений вакцин против инфекционных болезней человека и животных. Проведена оценка бивалентной вакцины против вирусов Ласса и Эбола, основанных на векторной конструкции – РНК-репликоне аттенуированного штамма Венесуэльского энцефаломиелита лошадей [13, 21]. Авторами проведена оценка протективных свойств одновременно двух репликонов, экспрессирующих гликопротеины вирусов Ласса и Эбола, а также векторный репликон с двойной экспрессией генов GP данных возбудителей, причем каждый из них экспрессировался под контролем собственного 26S промотора. Результаты этих исследований выявили наличие экспрессии генов и трансляцию гликопротеинов обоих вирусов, к которым вырабатывались специфические антитела, связывающиеся с полноценными гликопротеинами обоих вирусов и обеспечивающие защиту животных от последующего заражения вирулентными штаммами возбудителей лихорадок Ласса и Эбола [21].

РНК-репликоны альфавирусов сочетают безопасность инактивированных с иммуногенностью живых аттенуированных вакцин. Преимуществом РНК-репликонов является их неспособность продуцировать инфекционное потомство, что имеет особое значение при создании вакцин в отношении особо опасных вирусных лихорадок. Однако стоимость создания альфавирусных РНК-репликонов, вероятно, ограничит возможность их применения в качестве препаратов для иммунизации небольших по численности групп риска.

Вакцины на основе вирусоподобных частиц. В последние 25 лет на основе достижений молекулярной биологии и генетической инженерии разработаны субъединичные вакцины, основанные на вирусоподобных частицах (ВПЧ). Использование таких частиц в качестве вакцинных препаратов дает следующие преимущества: антигенная структура этих частиц близка к таковой для нативного возбудителя; отсутствие способности к репликации обеспечивает их полную безопасность; отсутствие у иммунизируемого иммунитета к вирусу, используемому в качестве вектора, что может являться ограничивающим фактором для использования векторных рекомбинантных вакцин; возможность масштабного производства ВПЧ с использованием культур клеток млекопитающих или насекомых; возможность их использования для индуцирования гуморального и клеточного иммунитета [19, 32].

В настоящее время разработаны различные ВПЧ вируса Эбола. Так, ВПЧ, содержащие гликопротеин и белок VP40, были использованы для иммунизации белых мышей линий BALB/c и C57BL/6.

Последующее инфицирование животных вирусом Эбола в дозах 300–3000 ЛД₅₀ выявило высокую эффективность иммунизации [29]. Кроме того, проведено изучение эффективности ВПЧ вируса Эбола при иммунизации низших приматов (яванских макаков) и последующем заражении данным возбудителем [31]. Специалистами использованы ВПЧ, содержащие структурные белки гликопротеина, нуклеокапсида и VP40 вируса Эбола. Животные были трехкратно иммунизированы ВПЧ совместно с адьювантом. Через 28 сут после заключительной иммунизации животным вводили 1000 БОЕ вируса Эбола, подтип Заир. Несмотря на то, что титр вируснейтрализующих антител находился в диапазоне от 1:20 до 1:160, все иммунизированные животные выжили. Более того, ни у одного животного из группы иммунизированных не зарегистрировано таких признаков болезни, как сыпь, анорексия, потеря массы тела. В то же время все не иммунизированные инфицированные животные (контрольная группа) погибли на 6-е сутки после инфицирования.

Однако следует указать и на недостатки использования ВПЧ. Это необходимость многократной иммунизации, высокая стоимость вакцины и необходимость использования значительных производственных мощностей для ее серийного производства [30]. Эти недостатки, видимо, будут являться основными факторами, препятствующими использованию ВПЧ вируса Эбола в качестве вакцины для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах.

ДНК-вакцины. Одним из альтернативных способов амплификации целевых генов является использование невирусных конструкций, главным образом рекомбинантных плазмид [20]. Структура генетических элементов плазмидных векторов отражает функциональность плазмиды, объем производства и возможность использования ее в клинической практике. Плазида, как правило, содержит один элемент, ответственный за ее воспроизводство в микроорганизме, и остальные, которые отвечают за экспрессию целевого гена [20]. К несомненным достоинствам *E. coli* относится высокий выход биомассы плазмидной ДНК и хорошо отлаженный процесс ее выделения. Наличие липополисахаридов (ЛПС) на ее поверхностной мембране позволяет использовать для очистки плазмидной ДНК метод ионообменной хроматографии.

Специалистами проведено изучение иммунной и протективной активности ДНК-вакцины против вируса Эбола [1]. Самок белых мышей линии BALB/c методом генного ружья (*gen gun*) трехкрат-

но иммунизировали ДНК-вакциной вируса Эбола, содержащей вставку кДНК гена GP. Вводимая доза, в пересчете на ДНК, составляла от 0,25 до 0,50 мкг. Через 1 месяц после заключительной иммунизации животным опытной и контрольной групп внутривентриально вводили $1 \cdot 10^3$ БОЕ вируса Эбола, штамм Заир [1]. Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что, несмотря на отсутствие в сыворотках крови мышей ВНА перед разрешающим инфицированием вирусом Эбола, иммунизированные животные были полностью защищены. Однако полученные данные вряд ли позволяют говорить о том, что именно разработка ДНК-вакцин является наиболее перспективным направлением иммунопрофилактики лихорадки Эбола. Во-первых, до настоящего времени отсутствуют данные об эффективности ДНК-вакцин против лихорадки Эбола при испытании на низших приматах. Во-вторых, по отношению к ДНК-вакцинам существует тот же комплекс проблем, что и для вакцин на основе ВПЧ (необходимость многократной иммунизации, высокая стоимость). Кроме того, существующие пути доставки ДНК-вакцин в организм (электропорация, метод «*gen gun*» и упаковка в липосомы) являются малоприспособными для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах.

Векторные рекомбинантные вакцины. Векторная рекомбинантная вакцина представляет из себя совокупность целевого гена и вектора, который используют для его амплификации. Из вирусных векторов для создания вакцины против лихорадки Эбола в настоящее время чаще всего используют аденовирусы и вирус везикулярного стоматита. Специалистами разработана бивалентная векторная рекомбинантная вакцина против лихорадки Эбола при использовании в качестве вектора аденовируса человека [28]. Полученная генетически измененная конструкция содержала вставки генов гликопротеина вируса Эбола подтипов Заир и Судан. Испытание защитной эффективности разработанного препарата проведено на белых мышах линий BALB/c и C57BL/6. Животных двукратно внутривентриально иммунизировали векторной рекомбинантной вакциной в дозе (в пересчете на аденовирус) $1 \cdot 10^8$ БОЕ на особь. Интервал между иммунизациями составил 35 сут. Через 65 сут после первой иммунизации мышам внутривентриально вводили $1 \cdot 10^3$ БОЕ адаптированного к мышам штамма Заир ($\approx 3 \cdot 10^4$ ЛД₅₀) [28].

Показано, что разработанный вакцинный препарат полностью защищает белых мышей линий BALB/c и C57BL/6 от последующего инфицирования заведомо летальной дозой вируса Эбола.

Таблица 1

Результаты оценки иммуногенной и протективной активности ДНК-вакцины против вируса Эбола при испытании на мышах BALB/c [1]

Группа животных	Медиана титра ИФА-антител после заключительной иммунизации (обратная величина)	Медиана титра вируснейтрализующих антител после заключительной иммунизации (обратная величина)	Отношение числа выживших животных к общему числу инфицированных	Средний срок жизни до гибели, сут
Иммунизированные	3940	< 40 (73*)	7/7	-
Контроль	< 100	< 40	0/7	7

* Титр ВНА спустя 21 сут после инфицирования вирусом Эбола.

Бивалентная векторная рекомбинантная вакцина может рассматриваться в качестве кандидата для разработки на ее основе эффективной вакцины против лихорадки Эбола [28].

Для создания векторной рекомбинантной конструкции могут быть использованы различные аденовирусы – человека и высших приматов. Проведено испытание векторной рекомбинантной вакцины против лихорадки Эбола на основе аденовируса человекообразных обезьян – шимпанзе [12]. При относительно низкой иммунизирующей дозе ($5 \cdot 10^9$ частиц на 1 кг массы тела животного) 100 % иммунизированных морских свинок были защищены спустя 28 сут после иммунизации от внутрибрюшинного инфицирования адаптированным для данного вида животных возбудителем лихорадки Эбола, штамм Заир [12].

Проведены испытания протективных свойств векторных рекомбинантных вакцин против лихорадки Эбола на основе репликативно-дефектного аденовирусного вектора. Испытывали варианты рекомбинантных вакцин со вставками генов гликопротеина и нуклеопротеина вируса Эбола. В ходе исследований установлено, что наиболее важную роль в формировании протективного иммунного ответа играет именно гликопротеин. После однократного внутримышечного введения препарата в дозе $1 \cdot 10^{10}$ частиц на особь 100 % животных были защищены от введения вируса Эбола, штамм Заир, в дозе 100 БОЕ [26].

Использование аденовирусного вектора позволило создать мультивалентную вакцину против филовиральных геморрагических лихорадок. Векторная рекомбинантная вакцина содержала вставки генов гликопротеина и нуклеопротеина вирусов Эбола и Марбург. Яванских макаков массой 6–11 кг иммунизировали двукратно с интервалом 63 сут. Иммунизирующая доза (в пересчете на аденовирус) составила $4 \cdot 10^{10}$ БОЕ. Спустя 6 недель после бустерной иммунизации животных внутримышечно заражали вирусами Эбола (штамм Kikwit, подтип Заир) и Марбург (штамм Musoke), в дозе $1 \cdot 10^3$ БОЕ.

В качестве контроля использовали группу животных, иммунизированных аденовирусным вектором, не содержащим вставок генов филовирусов [27].

Полученные результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что поливалентная рекомбинантная векторная вакцина защищает животных от последующего инфицирования вирусами Эбола и Марбург в заведомо летальных дозах.

Несмотря на обнадеживающие результаты, полученные при испытаниях векторных рекомбинантных вакцин на основе аденовирусов, существует достаточно значимый фактор, который может препятствовать успешному применению указанных вакцин для иммунизации населения в эндемичных районах. Поскольку аденовирусные инфекции широко распространены среди людей, возможное наличие иммунитета к данным нозологическим формам будет препятствовать репликации генетически измененной конструкции при иммунизации. Другими ограничивающими факторами являются высокая величина иммунизирующей дозы и необходимость двукратной иммунизации. Вследствие этого в последнее время основное внимание уделяется векторным рекомбинантным вакцинам на основе вируса везикулярного стоматита (ВВС).

Показана высокая эффективность векторных рекомбинантных вакцин на основе ВВС [5, 6, 7, 8, 9]. Однократное введение яванским макакам поливалентной вакцины, состоящей из равных частей векторных рекомбинантных вакцин на основе ВВС со вставками генов GP трех подтипов вируса Эбола (Заир, Судан и Кот-д’Ивуар) и Марбург (штамм Musoke) в дозе $1 \cdot 10^7$ БОЕ (в пересчете на вирус везикулярного стоматита) защищало животных от внутримышечного введения вируса Эбола и вируса Марбург в дозе $1 \cdot 10^3$ БОЕ (для соответствующего возбудителя), проведенного спустя 28 сут после иммунизации. В качестве контроля, кроме не иммунизированных животных, использовали яванских макаков, иммунизированных только ВВС, и животных, имму-

Таблица 2

Результаты оценки иммуногенной и протективной эффективности мультивалентной векторной рекомбинантной вакцины против филовиральных геморрагических лихорадок на основе аденовируса [27]

Группа животных	Медиана титра ИФА-антител к вирусам Марбург/Эбола (обратная величина) после			Доля выживших животных, %
	первой иммунизации (спустя 14 сут)	бустерной иммунизации (перед инфицированием)	6 недель после инфицирования	
Иммунизированные векторной рекомбинантной вакциной. Последующее инфицирование вирусом Эбола	100/9000	3200/32000	3200/16000	100
Иммунизированные векторной рекомбинантной вакциной. Последующее инфицирование вирусом Марбург	120/10000	4000/10000	4000/8000	100
Введение аденовирусного вектора без вставок филовиральных генов. Последующее инфицирование вирусом Эбола	< 100/< 100	< 100/< 100	Гибель животных	0
Введение аденовирусного вектора без вставок филовиральных генов. Последующее инфицирование вирусом Марбург	< 100/< 100	< 100/< 100	««	0
Интактные животные, инфицированные вирусом Эбола	< 100/< 100	< 100/< 100	««	0
Интактные животные, инфицированные вирусом Марбург	< 100/< 100	< 100/< 100	««	0

Результаты изучения эффективности рекомбинантной вакцины против лихорадки Эбола на основе ВВС при последующем аэрозольном инфицировании яванских макак [5]

Группа животных	Медиана титра ИФА-антител (обратная величина) на 14-е/27-е/56-е сутки после иммунизации	Концентрация вируса в плазме крови на 6-е сутки после инфицирования, БОЕ/мл	Доля выживших животных, %	Средний срок жизни до гибели, сут
Иммунизированные	100/500/10000	0	100	НО
Контроль	< 10/< 10/ НО	5·10 ⁶	0	8

Примечание. НО – не определяли (либо в связи с гибелью всех животных, либо с полным отсутствием гибели).

низированных векторной рекомбинантной вакциной на основе ВВС со вставкой гена GP вируса Ласса. Все животные контрольных групп при инфицировании возбудителями лихорадок Марбург и Эбола (подтипы Заир и Судан) погибли, что свидетельствует о высокой специфической активности разработанной вакцины [9].

Поливалентная вакцина против лихорадки Эбола эффективна и в отношении инфекции, вызываемой новым подтипом вируса Эбола – Bundibugio, выделенным во время эпидемической вспышки в Уганде в 2007–2008 гг. [17].

В другой работе установлено, что векторная рекомбинантная вакцина против лихорадки Эбола на основе вируса везикулярного стоматита эффективно защищала от последующего инфицирования вирусом Эбола даже яванских макак с ослабленным иммунитетом (за счет предшествующего за 3 мес. до эксперимента инфицирования вирусом иммунодефицита обезьян). Учитывая особенности населения в эндемичных по отношению к вирусу Эбола регионах, это обстоятельство имеет важное практическое значение [6].

Особый интерес представляет работа, в которой изучена эффективность рекомбинантной вакцины против лихорадки Эбола на основе ВВС при последующем аэрозольном инфицировании яванских макак [5]. Иммунизирующая доза составила $2 \cdot 10^7$ БОЕ (в пересчете на ВВС), расчетная инфицирующая доза составляла $1 \cdot 10^3$ БОЕ вируса Эбола (подтип Заир, штамм Kikwit). Полученные данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что рекомбинантная вакцина против лихорадки Эбола на основе ВВС полностью защищала яванских макак от воздушно-капельного инфицирования вирусом Эбола.

Следует отметить, что рекомбинантная вакцина на основе ВВС во многом свободна от ряда недостатков (высокая иммунизирующая доза, необходимость проведения повторной иммунизации, биотехнологические проблемы наработки биомассы вакцины, дорогостоящие способы иммунизации и др.), которые в той или иной степени характерны для других вариантов вакцин нового поколения.

Таким образом, в настоящее время различными методами получены вакцинные препараты нового поколения против лихорадки Эбола, для ряда из которых продемонстрирована 100 % защитная эффективность при испытаниях на низших приматах, адекватно моделирующих соответствующие признаки болезни человека. В этой связи декларируемая по-

зиция ВОЗ о необходимости скорейшей разработки вакцины против лихорадки Эбола может быть объяснена только тем, что существуют объективные отличия процесса создания вакцин для иммунизации ограниченных «групп риска» и вакцин для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах. Важно отметить, что необходимость разработки вакцин нового поколения во многом обусловлена тем, что традиционный способ получения вакцин – создание их на основе аттенуированного штамма возбудителя, применительно к вакцинам против лихорадки Эбола недопустим, ввиду соображений безопасности.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dowling W., Thompson E., Badger C., Mellquist J.L., Garrison A.R., Smith J.M., Paragas J., Hogan R.J., Schmaljohn C. Influences of glycosylation on antigenicity, immunogenicity, and protective efficacy of Ebola virus GP DNA vaccines. *J. Virol.* 2007; 81(4):1821–37.
2. Emond R.T. Viral hemorrhagic fevers. *J. Infect.* 1986; 13:103–6.
3. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet.* 2011; 377:849–62.
4. Feldmann H., Jones S., Klenk H.D., Schnittler H.J. Ebola virus: From discovery to vaccine. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3:677–85.
5. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Geisbert J.B., Reed D.S., Feldmann F., Grolla A., Stroher U., Fritz E.A., Hensley L.E., Jones S.M., Feldmann H. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against aerosol challenge with Ebola and Marburg viruses. *Vaccine.* 2008; 26:6894–900.
6. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Lewis M.G., Geisbert J.B., Grolla A., Leung A., Paragas J., Matthias L., Smith M.A., Jones S.M., Hensley L.E., Feldmann H., Jahrling P.B. Vesicular stomatitis virus-based Ebola vaccine is well-tolerated and protects immunocompromised nonhuman primates. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11):1–9.
7. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Williams K.J.N., Geisbert J.B., Leung A., Feldmann F., Hensley L.E., Feldmann H., Jones S.M. Recombinant vesicular stomatitis virus vector mediators postexposure protection against Sudan Ebola hemorrhagic fever in nonhuman primates. *J. Virol.* 2008; 82(11):5664–8.
8. Geisbert T.W., Feldmann H. Recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccines against Ebola and Marburg virus infections. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1075–81.
9. Geisbert T.W., Geisbert J.B., Leung A., Daddario-DiCaprio K.M., Hensley L.E., Grolla A., Feldmann H. Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg virus and three species of Ebola virus. *J. Virol.* 2009; 83(14):7296–304.
10. Kiley M.P., Bowen E.T., Eddy G.A., Isaacson M., Johnson K.M., McCormick J.B., Murphy F.A., Pattyn S.R., Peters D., Prozesky O.W., Regnery R.L., Simpson D.I.H., Slenczka W., Sureau P. van der Groen G., Webb P.A., Wulff H. Filoviridae: A taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology.* 1982; 18:24–32.
11. Kobinger G.P., Croyle M., Feldmann H. Ebola and Marburg. Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases. London (UK): Academic Press; 2009. P. 25–37.
12. Kobinger G.P., Feldmann H., Zhi Y., Schumer G., Gao G., Feldmann F., Jones S., Wilson J.M. Chimpanzee adenovirus vaccine protects against Zaire Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 346:394–401.
13. Lee J.S., Groebner J.L., Hadjipanayis A.G., Negley D.L., Schmaljohn A.L., Welkos S., Smith L.A., Smith J.F. Multiagent vac-

cines vectored by Venezuelan equine encephalitis virus replicon elicits immune responses to Marburg virus and protection against anthrax and botulinum neurotoxin in mice *Vaccine*. 2006; 24:6886–92.

14. Lesley C.D., Schmaljohn C.S. DNA vaccines for biodefense. *Expert Rev. Vaccines*. 2009; 8:739–54.

15. Lundstrom K. Alphavirus vectors for vaccine production and gene therapy. *Expert Rev. Vaccines*. 2003; 2:447–59.

16. MDPI Viruses [Internet]. Special Issue “Advances in Filovirus Research 2012” [cited 23 March 2015]. Available from: http://www.mdpi.com/journal/viruses/special_issues/Filovirus.

17. Mire C.E., Geisbert J.B., Marzi A., Agans K.N., Feldmann H., Geisbert T.W. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against Bundibugyo ebolavirus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(12):1–11.

18. Nabel C., Yang Z., Sulliva N., Sanches A. Development of a preventive vaccine for filovirus infection in primates. Patent US 8,124 592 B2 2012.

19. Noad R., Roy P. Virus-like particles as immunogens. *Trends Microbiol.* 2003; 11:438–44.

20. Potential use of live viral and bacterial vectors for vaccines. WHO meeting, Geneva, 19–22 June, 1989. *Vaccine*. 1990; 8(5):425–37.

21. Pushko P., Geisbert J., Parker M., Jahrling P.B., Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75:11677–85.

22. Radoshitzky S.R., Kuhn J.H., de Kok-Mercado F., Jahrling P.B., Bavari S. Drug discovery technologies and strategies for Machupo virus and other New World arenaviruses. *Expert Opin. Drug Discov.* 2012; 7(7):613–32.

23. Rayner J.O., Dryga S.A., Kamrud K.I. Alphavirus vectors and vaccination. *Rev. Med. Virol.* 2002; 12:279–96.

24. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. Fields virology, Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. P. 1279–304.

25. Seregin A.V., Yun N.E., Poussard A.L., Peng B.-H., Smith J.F., Smith J.N., Milagros S., Paessler S. TC83 replicon vectored vaccine provides protection against Junin virus in guinea pigs. *Vaccine*. 2010; 28:4713–8.

26. Sullivan N.J., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Shedlock D.J., Xu L., Lamoreaux L., Custers J.H.H.V., Popernack P.M., Yang Z.Y., Pau M.G., Roederer M., Koup R.A., Goudsmit J., Jahrling P.B., Nabel G.J. Immune protection of nonhuman primates against Ebola virus with single low-dose adenovirus vectors encoding modified GPs. *PLoS Medicine*. 2006; 3(6):865–73.

27. Swenson D.L., Wang D., Luo M., Warfield K.L., Woraratanadharm J., Holman D.H., Dong J.Y., Pratt W.D. Vaccine to confer to nonhuman primates complete protection against multi-strain Ebola and Marburg virus infections. *J. Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15(3):460–7.

28. Wang D., Raja N.U., Trubey C.M., Juompan L.Y., Luo M., Woraratanadharm J., Deitz S.B., Yu.H., Swain B.M., Moore K.M., Pratt W.D., Hart M.K., Dong J.Y. Development of a cAdVax-based bivalent ebola virus vaccine that induces immune responses against both the Sudan and Zaire species of Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 80(6):2738–46.

29. Warfield K.L., Bosio C.M., Welcher B.C. Ebola virus-like particles protect from lethal Ebola virus infection. *J. Immunol.* 2005; 175:1184–91.

30. Warfield K.L., Javad M.A. Advances in virus-like particle vaccines for filoviruses. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1053–59.

31. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Kalina W.V., Aman M.J., Bavari S. Ebola virus-like particle-based vaccine protects nonhuman primates against lethal Ebola virus challenge. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):430–7.

32. Warfield K.L., Swenson G.G., Demmin G., Bavari S. Filovirus-like particle as vaccines and discovery tools. *Expert Rev. Vaccines*. 2005; 4:429–40.

References

1. Dowling W., Thompson E., Badger C., Mellquist J.L., Garrison A.R., Smith J.M., Paragas J., Hogan R.J., Schmaljohn C. Influences of glycosylation on antigenicity, immunogenicity, and protective efficacy of Ebola virus GP DNA vaccines. *J. Virol.* 2007; 81(4):1821–37.

2. Emond R.T. Viral hemorrhagic fevers. *J. Infect.* 1986; 13:103–6.

3. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet*. 2011; 377:849–62.

4. Feldmann H., Jones S., Klenk H.D., Schnittler H.J. Ebola virus: From discovery to vaccine. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3:677–85.

5. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Geisbert J.B., Reed D.S., Feldmann F., Grolla A., Stroher U., Fritz E.A., Hensley L.E., Jones S.M., Feldmann H. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against aerosol challenge with Ebola and Marburg viruses. *Vaccine*. 2008; 26:6894–900.

6. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Lewis M.G., Geisbert J.B., Grolla A., Leung A., Paragas J., Matthias L., Smith M.A., Jones S.M., Hensley L.E., Feldmann H., Jahrling P.B. Vesicular stomatitis virus-based Ebola vaccine is well-tolerated and protects immunocompromised nonhuman primates. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11):1–9.

7. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Williams K.J.N., Geisbert

J.B., Leung A., Feldmann F., Hensley L.E., Feldmann H., Jones S.M. Recombinant vesicular stomatitis virus vector mediators postexposure protection against Sudan Ebola hemorrhagic fever in nonhuman primates. *J. Virol.* 2008; 82(11):5664–8.

8. Geisbert T.W., Feldmann H. Recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccines against Ebola and Marburg virus infections. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1075–81.

9. Geisbert T.W., Geisbert J.B., Leung A., Daddario-DiCaprio K.M., Hensley L.E., Grolla A., Feldmann H. Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg virus and three species of Ebola virus. *J. Virol.* 2009; 83(14):7296–304.

10. Kiley M.P., Bowen E.T., Eddy G.A., Isaacson M., Johnson K.M., McCormick J.B., Murphy F.A., Pattyn S.R., Peters D., Prozesky O.W., Regnery R.L., Simpson D.I.H., Slenczka W., Sureau P., van der Groen G., Webb P.A., Wulff H. Filoviridae: A taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology*. 1982; 18:24–32.

11. Kobinger G.P., Croyle M., Feldmann H. Ebola and Marburg. Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases. London (UK): Academic Press; 2009. P. 25–37.

12. Kobinger G.P., Feldmann H., Zhi Y., Schumer G., Gao G., Feldmann F., Jones S., Wilson J.M. Chimpanzee adenovirus vaccine protects against Zaire Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 346:394–401.

13. Lee J.S., Groebner J.L., Hadjipanayis A.G., Negley D.L., Schmaljohn A.L., Welkos S., Smith L.A., Smith J.F. Multiagent vaccines vectored by Venezuelan equine encephalitis virus replicon elicits immune responses to Marburg virus and protection against anthrax and botulinum neurotoxin in mice *Vaccine*. 2006; 24:6886–92.

14. Lesley C.D., Schmaljohn C.S. DNA vaccines for biodefense. *Expert Rev. Vaccines*. 2009; 8:739–54.

15. Lundstrom K. Alphavirus vectors for vaccine production and gene therapy. *Expert Rev. Vaccines*. 2003; 2:447–59.

16. MDPI Viruses [Internet]. Special Issue “Advances in Filovirus Research 2012” [cited 23 March 2015]. Available from: http://www.mdpi.com/journal/viruses/special_issues/Filovirus.

17. Mire C.E., Geisbert J.B., Marzi A., Agans K.N., Feldmann H., Geisbert T.W. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against Bundibugyo ebolavirus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(12):1–11.

18. Nabel C., Yang Z., Sulliva N., Sanches A. Development of a preventive vaccine for filovirus infection in primates. Patent US 8,124 592 B2 2012.

19. Noad R., Roy P. Virus-like particles as immunogens. *Trends Microbiol.* 2003; 11:438–44.

20. Potential use of live viral and bacterial vectors for vaccines. WHO meeting, Geneva, 19–22 June, 1989. *Vaccine*. 1990; 8(5):425–37.

21. Pushko P., Geisbert J., Parker M., Jahrling P.B., Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75:11677–85.

22. Radoshitzky S.R., Kuhn J.H., de Kok-Mercado F., Jahrling P.B., Bavari S. Drug discovery technologies and strategies for Machupo virus and other New World arenaviruses. *Expert Opin. Drug Discov.* 2012; 7(7):613–32.

23. Rayner J.O., Dryga S.A., Kamrud K.I. Alphavirus vectors and vaccination. *Rev. Med. Virol.* 2002; 12:279–96.

24. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. Fields virology, Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. P. 1279–304.

25. Seregin A.V., Yun N.E., Poussard A.L., Peng B.-H., Smith J.F., Smith J.N., Milagros S., Paessler S. TC83 replicon vectored vaccine provides protection against Junin virus in guinea pigs. *Vaccine*. 2010; 28:4713–8.

26. Sullivan N.J., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Shedlock D.J., Xu L., Lamoreaux L., Custers J.H.H.V., Popernack P.M., Yang Z.Y., Pau M.G., Roederer M., Koup R.A., Goudsmit J., Jahrling P.B., Nabel G.J. Immune protection of nonhuman primates against Ebola virus with single low-dose adenovirus vectors encoding modified GPs. *PLoS Medicine*. 2006; 3(6):865–73.

27. Swenson D.L., Wang D., Luo M., Warfield K.L., Woraratanadharm J., Holman D.H., Dong J.Y., Pratt W.D. Vaccine to confer to nonhuman primates complete protection against multistrain Ebola and Marburg virus infections. *J. Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15(3):460–7.

28. Wang D., Raja N.U., Trubey C.M., Juompan L.Y., Luo M., Woraratanadharm J., Deitz S.B., Yu.H., Swain B.M., Moore K.M., Pratt W.D., Hart M.K., Dong J.Y. Development of a cAdVax-based bivalent ebola virus vaccine that induces immune responses against both the Sudan and Zaire species of Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 80(6):2738–46.

29. Warfield K.L., Bosio C.M., Welcher B.C. Ebola virus-like particles protect from lethal Ebola virus infection. *J. Immunol.* 2005; 175:1184–91.

30. Warfield K.L., Javad M.A. Advances in virus-like particle vaccines for filoviruses. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1053–59.

31. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Kalina W.V., Aman M.J., Bavari S. Ebola virus-like particle-based vaccine protects nonhuman primates against lethal Ebola virus challenge. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):430–7.

32. Warfield K.L., Swenson G.G., Demmin G., Bavari S. Filovirus-like particle as vaccines and discovery tools. *Expert Rev. Vaccines*. 2005; 4:429–40.

Authors:

Sizikova, T.E. Lebedev V.N., Borisevich S.V., Kутаев D.A. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation;
Borisevich I.V. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation.

Об авторах:

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В., Кутаев Д.А. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Сергиев Посад.
Борисевич И.В. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.

Получила 24.03.15.